

## Annexe 4 au rapport d'expertise « radiofréquences et cancer »

Septembre 2024

### Tables des matières

1	Synthèses des publications issues des rapports d'expertise de l'Anses 2013 et 2016 (données mécanistiques) .....	2
2	Synthèses des publications issues de la recherche bibliographique sur la période 2013-2021 (données mécanistiques).....	20
2.1	Bonne qualité méthodologique.....	20
2.2	Limites méthodologiques mineures.....	46
2.3	Limites méthodologiques majeures.....	163

Note : les synthèses d'articles scientifiques présentées dans cette annexe sont des données de travail, rédigées par les experts du groupe de travail « radiofréquences et cancer », utilisées pour préparer les discussions sur l'élaboration du niveau de preuve des données mécanistiques.

# 1 Synthèses des publications issues des rapports d'expertise de l'Anses 2013 et 2016 (données mécanistiques)

- *Aït-Aïssa, S., et al. (2010) « In Situ Detection of Gliosis and Apoptosis in the Brains of Young Rats Exposed in Utero to a Wi-Fi Signal »*

[Développement]

Aït-Aïssa *et al.* (2010) ont exposé des rates en gestation à un signal Wi-Fi de 2,45 GHz, avec des DAS de 0, 0,08, 0,4 et 4 W/kg, durant les 2 dernières semaines de gestation. À l'issue de cette exposition in utero quotidienne (2 h/j, 5 j/semaine), chaque portée obtenue a été divisée en 2 groupes, l'un exposé jusqu'à 5 semaines après la naissance et l'autre pas. L'exposition n'a pas induit d'activation astrocytaire ou d'apoptoses neuronale dans différentes régions des cerveaux immatures des rats.

- *Aït-Aïssa, S., et al. (2012) « In Utero and Early-Life Exposure of Rats to a Wi-Fi Signal: Screening of Immune Markers in Sera and Gestational Outcome »*

[Développement]

Aït-Aïssa *et al.* (2012) ont évalué l'impact de l'exposition aux radiofréquences de 2,45 GHz, avec des DAS de 0, 0,08, 0,4 et 4 W/kg, durant les 2 dernières semaines de gestation (2 h/j, 5 j/semaine) sur le système immunitaire de la descendance 5 semaines après l'exposition. Des dosages d'anticorps sériques dirigés contre des antigènes liés à l'auto-immunité, l'inflammation, du stress oxydant ou de peroxydation lipidique ont été réalisés. L'exposition n'a modifié aucun paramètre associé à la gestation (nombre de nouveau-nés, durée gestation, poids des petits, de la mère...), de même, qu'aucune différence n'a été trouvée dans la production de néo-antigènes associés à l'inflammation, l'immunité, le stress oxydant et peroxydation lipidique.

- *Arendash, G. W., et al. (2010a). "Electromagnetic field treatment protects against and reverses cognitive impairment in Alzheimer's disease mice."*

[Cerveau]

Arendash *et al.* (2010) ont étudié in vivo les effets d'une exposition chronique de 7 mois (générateur 918 MHz, 2 fois 1 h/jour matin et soir, DAS = 0,25 W/kg) sur plusieurs marqueurs de stress oxydant (enzymes de réparation de l'ADN ou antioxydantes (SOD et GSH) et protéines carbonyl), chez des souris âgées de 9,5 mois transgéniques (Tg) porteuses de la mutation humaine APP<sup>sw</sup> de la maladie d'Alzheimer et leurs contrôles non transgéniques (NT). Les résultats montrent : • dans l'hippocampe, que l'exposition chronique aux radiofréquences n'affecte pas les divers paramètres chez les souris Tg alors que ceux-ci sont diminués chez les souris NT : les auteurs interprètent ces résultats comme une baisse du stress oxydant ; • dans le cortex cérébral, aucun effet n'est observé dans les deux souches de souris.

- *Bas, O., E. Odaci, et al. (2009a). "900 MHz electromagnetic field exposure affects qualitative and quantitative features of hippocampal pyramidal cells in the adult female rat."; Sonmez, O. F., E. Odaci, et al. (2010). "Purkinje cell number decreases in the adult female rat cerebellum following exposure to 900 MHz electromagnetic field."*

[Cerveau]

Deux études publiées par un même groupe (Bas, Odaci *et al.* 2009a; Sonmez, Odaci *et al.* 2010) se sont intéressées à la morphologie et à la mort cellulaire. Dans la première, des rates

âgées de 12 semaines (6 rates/groupe) ont été exposées à un signal CW à 900 MHz pendant 28 jours (1 h/jj, DAS de 2 W/kg au niveau de la tête) (Bas *et al.*, 2009a). Dans la seconde, des rates âgées de 16 semaines (5-6 rates / groupe) ont subi la même exposition (même signal, même durée et même DAS) (Sonmez *et al.*, 2010). Dans les deux cas, les animaux exposés ont été comparés aux animaux des groupes témoin-négatif et témoin-cage. Dans ces deux études : • l'exposition induit une diminution significative de 15-16 % du nombre total de cellules de Purkinje dans le cervelet et de cellules pyramidales dans l'hippocampe ; • la présence de *dark cells* a été mise en évidence au niveau de l'hippocampe. Si la méthode de comptage des neurones utilisant la stéréologie est irréprochable, la présence de ces dark neurones sur coupes histologiques colorées au violet de crésyl pourrait-être le résultat d'artéfacts liés à la fixation et au traitement post-mortem du tissu (Jortner 2006) ; la méthode de référence d'évaluation des dark cells étant la fluorojade. Les auteurs situent leur étude dans le cadre des effets des ondes sur l'enfant et l'adolescent, cependant, l'exposition a concerné des rates âgées de 3 mois au début de l'expérience, âge considéré comme adulte jeune chez cette espèce.

- Bouji, M., A. Lecomte, et al. (2012). "Effects of 900 MHz radiofrequency on corticosterone, emotional memory and neuroinflammation in middle-aged rats."

[Cerveau]

Bouji *et al.* (2012) ont étudié chez des rats jeunes (6 semaines) et d'âge moyen (12 mois), la neuroinflammation en mesurant l'expression de la GFAP dans le cortex, l'hippocampe et le striatum, ainsi que les interleukines IL-1 $\beta$  et IL-6 dans le cortex, le cervelet, les régions sous corticales et les bulbes olfactifs. Les rats ont été exposés 15 min à un générateur de signal type GSM (900 MHz, DAS de 6 W/kg) : • aucun effet sur la GFAP et l'IL-1 $\beta$  n'a été observée ; • seule une augmentation modérée de l'IL-6 dans les bulbes olfactifs chez les rats de 12 mois a été constatée.

- Campisi, A., M. Gulino, et al. (2010). "Reactive oxygen species levels and DNA fragmentation on astrocytes in primary culture after acute exposure to low intensity microwave electromagnetic field."

[Cerveau]

Campisi *et al.* (2010) ont exposé des cellules astrogliales primaires, prélevées sur des rats nouveau-nés, à un rayonnement électromagnétique (fréquence de 900 MHz, dP = 0,26 W/m<sup>2</sup>), en mode continu ou modulé en amplitude à 50 Hz, pendant 5, 10 ou 20 min. Trois paramètres ont été investigués : la viabilité cellulaire (par le test MTT et la mesure de la lactate déshydrogénase (LDH)), le stress oxydant (par la mesure de la production de ROS) et la fragmentation de l'ADN (par le test des comètes). Les observations des auteurs sont les suivantes : • aucune augmentation significative de mort cellulaire chez les cellules exposées. Bien que de fréquences proches des systèmes de téléphonie GSM, le type d'exposition mis en oeuvre dans cette étude ne peut pas être considéré comme équivalent. Aucune augmentation significative du stress oxydant n'est observé chez les cellules exposées.

- Dasdag, S., M. Z. Akdag, et al. (2009). "Effect of mobile phone exposure on apoptotic glial cells and status of oxidative stress in rat brain."

[Cerveau]

Dasdag *et al.* (2009) ont étudié, sur des rats mâles Wistar, les effets d'une exposition chronique de 10 mois (2 h/jour) à un signal de type GSM 900 MHz avec un DAS entre 0,17 et 0,58 W/kg. Les marqueurs du stress oxydant ont été mesurés par l'activité de la catalase, la

capacité totale antioxydante (TAC), le statut oxydant total (TOS) et l'index de stress oxydant (TOS/TAC) sur homogénat de cerveau entier. Les résultats montrent que : • l'exposition aux radiofréquences augmente tous les paramètres mesurés ; • l'index de stress oxydant n'est pas modifié ; • l'activité de la caspase 3 et du facteur p53 diminue significativement chez les rats exposés par rapport aux rats témoins négatifs et témoin-cage, pouvant signifier une baisse de l'apoptose. Par ailleurs, en comparaison aux groupes témoins (témoin-négatif et témoin-cage), les auteurs ont été observées chez les rats exposés : • une diminution significative des activités de la caspase 3, suggérant une baisse de l'apoptose ; • une diminution significative du facteur p53, suggérant une augmentation de la prolifération cellulaire. Des limites sont à signaler. L'exposition n'a pas été bien contrôlée et les analyses ont été réalisées sur cerveau entier de rat, ce qui n'est pas très pertinent. Les résultats sont discutés par les auteurs comme démontrant un effet des radiofréquences, sans prendre en compte le fait qu'ils ne sont pas en accord avec la littérature qui montre soit une augmentation du stress oxydant et de l'apoptose, soit une absence d'effet.

- *Ding, G. R., X. W. Wang, et al. (2009). "Comparison of Hsps expression after radio-frequency field exposure in three human glioma cell lines."*

[Cerveau]

Ding *et al.* (2009) ont analysé l'effet d'une exposition radiofréquences (1 950 MHz, DAS de 1 à 10 W/kg) sur l'expression des HSP, dans des lignées cellulaires tumorales humaines dérivées de gliomes (Ding, Wang *et al.* 2009). Cependant, l'article ne donne aucune indication sur la partie expérimentale liée à l'exposition. L'observation de l'apparition de protéines est effectuée dans un temps trop court après l'induction de l'expression génique, de plus ces protéines sont en partie constitutives et déjà présentes dans les cellules. Enfin, cette étude, basée sur l'analyse visuelle (sans assistance informatique) de la morphologie des cellules, n'a pas été réalisée en aveugle et l'intensité du marquage fluorescent n'a pas été correctement quantifiée ;

- *Dragicevic, N., P. C. Bradshaw, et al. (2011). "Long-term electromagnetic field treatment enhances brain mitochondrial function of both Alzheimer's transgenic mice and normal mice: a mechanism for electromagnetic field-induced cognitive benefit?"*

[Cerveau]

Une étude similaire du même groupe sur la fonction mitochondriale, en lien avec l'amélioration des performances cognitives observées chez les souris exposées aux radiofréquences a montré qu'un mois d'exposition dans des conditions similaires à l'étude précédente (DAS de 0,25 à 1,05 W/kg) chez des souris Tg et NT de 15-17 mois, induit : • chez les souris Tg : une baisse très importante des ROS mitochondriaux dans le cortex cérébral et l'hippocampe, mais pas dans le striatum et l'amygdale ; • chez les souris NT : aucune différence n'apparaît entre les animaux témoins et exposés, quelle que soit la structure cérébrale considérée (Dragicevic, Bradshaw *et al.* 2011). Dans cette étude, les souris Tg sont porteuses de deux mutations APPsw et PS1 (préséniline 1) et présentent un phénotype de type Alzheimer plus précoce et plus sévère que celles porteuses de la mutation APPsw seule (voir Arendash *et al.*, 2010). Les auteurs mettent en lien les effets bénéfiques d'un traitement chronique aux radiofréquences sur la cognition, en particulier chez les souris Tg, avec une amélioration de la fonction mitochondriale, elle-même liée à l'augmentation de la forme soluble du peptide A $\beta$ 1-40 qui est responsable sous forme agrégée (oligomères) des dysfonctionnements de la mitochondrie chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. Il est intéressant de noter que les effets observés dépendent du génotype de la souris, transgénique ou contrôle (non transgénique).

En effet, les deux mutations APPsw et APPsw+PS1 diffèrent en particulier par la sévérité et la précocité des troubles en lien avec les pathologies de type Alzheimer. Les effets observés sont également dépendants de la structure cérébrale ; l'hippocampe et le cortex cérébral apparaissant comme plus sensibles que le striatum ou l'amygdale. Enfin, l'âge des souris (9,5 mois vs 15-17 mois), ainsi que la durée de l'exposition (1 mois vs 7 mois) sont à prendre en considération.

- *Esmekaya, M. A., C. Ozer, et al. (2011b). "900 MHz pulse-modulated radiofrequency radiation induces oxidative stress on heart, lung, testis and liver tissues."*

[Poumons][Foie]

Esmekaya *et al.* (2011b) ont exposé des rats Wistar mâles à un signal GSM (900 MHz, DAS de 1,20 W/kg) 20 min par jour pendant 3 semaines consécutives. Trois groupes ont été constitués : un groupe contrôle-cage, un groupe témoin et un groupe exposé. Après exposition, le foie, le cœur, les poumons et les testicules ont été prélevés, le niveau de peroxydation lipidique (exprimé en concentration équivalente de malondialdéhyde), le niveau de glutathion et les quantités de NOx ont été déterminés. L'étude met en évidence :

- une augmentation significative de la peroxydation lipidique et des niveaux de NOx ;
- une diminution significative de la concentration en glutathion dans les 4 organes étudiés ;
- aucune différence entre le groupe contrôle-cage et le groupe témoin.

L'exposition est clairement détaillée, mais il semblerait que le DAS ne soit pas homogène au sein des cages.

- *Falzone, N., C. Huyser, et al. (2010). "Mobile phone radiation does not induce pro-apoptosis effects in human spermatozoa."*

[Système reproducteur]

Falzone *et al.* (2010) ont exploré des paramètres relatifs à l'apoptose (activité caspase 3, externalisation de la phosphatidylsérine, induction de cassures de l'ADN) et la génération de ROS à partir de spermatozoïdes humains issus de 12 donneurs. Les échantillons ont été exposés à des rayonnements électromagnétiques modulés de type GSM 900 MHz (1 h, DAS de 2 ou 5,7 W/kg). L'exposition était contrôlée. Les leucocytes ont été séparés des spermatozoïdes afin d'éviter la production contaminante de ROS, ce qui renforce la fiabilité de cette étude.

- Aucune différence significative n'a été observée entre les échantillons exposés et les témoins.

- *Falzone, N., C. Huyser, et al. (2011). "The effect of pulsed 900-MHz GSM mobile phone radiation on the acrosome reaction, head morphometry and zona binding of human spermatozoa."*

[Système reproducteur]

L'année suivante, la même équipe, utilisant les mêmes conditions d'exposition (mais un DAS de 2 W/kg uniquement, champs modulés) sur le même nombre d'échantillons, a analysé les effets des radiofréquences sur la morphométrie du sperme humain et la réaction de l'acrosome. Les auteurs ont conclu :

- à des effets néfastes sur la morphométrie des spermatozoïdes ;
- à une diminution de leur capacité de fixation à la zone pellucide de l'ovocyte (test Hemizona assay, HZA) ;



- aucune détérioration de la motilité des spermatozoïdes n'a toutefois été observée.
- *Finnie, J. W., G. Chidlow, et al. (2009b). "Heat shock protein induction in fetal mouse brain as a measure of stress after whole of gestation exposure to mobile telephony radiofrequency fields."*

[Cerveau]

Finnie *et al.* (2009b) ont exploré l'expression de protéines de stress (HSP 25, 32, 70) dans le cerveau de fœtus de souris exposées à un signal GSM 900 MHz, 60 min par jour de J1 à J19 de la gestation. Le DAS était de 4 W/kg et la température régulée. Trois groupes (exposé, témoin, témoin-cage) de 10 souris ont été inclus dans l'étude. Des mesures ont été effectuées par immunohistochimie sur les cerveaux de fœtus (un par portée) à la fin de la gestation. La protéine HSP 25, exprimée constitutivement, a servi de marqueur positif. • Aucune différence d'expression des protéines de stress inductibles (HSP 32 et 70) n'a été observée entre les différents groupes au niveau du cerveau des fœtus (Finnie, Chidlow *et al.* 2009b). Les auteurs suggèrent que l'expression de ces protéines peut être relativement éphémère (de quelques heures à quelques jours, suivant les modèles utilisés) et, donc, peut être difficile à mettre en évidence.

- *Finnie, J. W., Z. Cai, et al. (2010). "Microglial activation as a measure of stress in mouse brains exposed acutely (60 minutes) and long-term (2 years) to mobile telephone radiofrequency fields."*

[Cerveau]

Finnie *et al.* (2010) ont étudié l'expression de la protéine Iba1 (*Ionised calcium Binding Adaptator molecule 1*) (un marqueur de l'activation de la microglie) chez la souris, après une exposition soit aiguë (1 h), soit chronique (2 ans, 5 j/semaine) à un générateur de type GSM (900 MHz, DAS de 4 W/kg). Les résultats ne montrent aucun effet de l'exposition dans le cortex cingulaire et l'hippocampe. Les résultats ne montrent aucune modification dans les niveaux d'expression d'Iba1 (*Ionised calcium Binding Adaptator molecule 1*), un marqueur de l'activation de la microglie. L'utilisation de contrôles positifs permet de valider l'absence d'effet observé après l'exposition aux radiofréquences.

- *Franzellitti, S., P. Valbonesi, et al. (2010). "Transient DNA damage induced by high-frequency electromagnetic fields (GSM 1.8 GHz) in the human trophoblast HTR-8/SVneo cell line evaluated with the alkaline comet assay."*

[Développement]

L'étude de Franzellitti, S., *et al.* 2010 expose la lignée de trophoblastes humains en culture (HTR-8/SV neo), pendant 4, 16 ou 24 h à des radiofréquences de 1,8 GHz en ondes continues (CW, (DAS de 2 W/kg) ou GSM-Talk (exposition intermittente : 5 min de champ activé, 10 min de champ désactivé). Les signaux GSM-217 Hz et GSM-Talk induisent une augmentation de la fragmentation de l'ADN (test des comètes) après 16 et 24 h d'exposition, alors que l'exposition en mode CW non modulé est inefficace. Cependant, il faut noter un retour à niveau normal d'intégrité de l'ADN, 2h après la fin de l'exposition.

- *Grigoriev, Y. G., O. A. Grigoriev, et al. (2010a). "Confirmation studies of Soviet research on immunological effects of microwaves: Russian immunology results."*

[Système immunitaire]

Ces travaux de réplication avaient pour but de confirmer, ou infirmer, les travaux russes datant des années 1970 et ayant conduit à l'établissement de valeurs limites d'exposition aux champs électromagnétiques en vigueur dans ce pays. Il avait alors été mis en évidence un effet délétère des radiofréquences sur le système immunitaire, ainsi qu'un effet tératogène.

Cette absence d'effet n'est pas confirmée par les travaux de réplication de Grigoriev *et al.* publiés en 2010. Les résultats de ce groupe montrent une augmentation de la réponse inflammatoire 14 jours après exposition. Cette augmentation est plus marquée pour le cerveau (Grigoriev, Grigoriev *et al.* 2010a). La divergence de résultats entre les deux équipes peut s'expliquer également par la différence entre les méthodes de détection employées. Grigoriev *et al.* (2010a) ont reproduit en tout point les travaux historiques, avec utilisation de la méthode CFA pour détecter la réponse immunitaire.

- Grigoriev, Y. G., V. F. Mikhailov, *et al.* (2010d). "Autoimmune processes after long-term low-level exposure to electromagnetic fields part 4. Oxidative intracellular stress response to the long-term rat exposure to nonthermal RF EMF."

[Système immunitaire]

Grigoriev *et al.* (2010d) ont complété les résultats obtenus en CFA par des analyses ELISA. Ces résultats montrent une augmentation des anticorps anti-acides gras à chaîne courte, 7 jours après exposition (Grigoriev, Mikhailov *et al.* 2010d). Les niveaux sont cependant normalisés au 14ème jour.

Il existe donc des divergences entre les résultats des équipes française et russe, malgré une méthodologie rigoureuse et des conditions d'exposition identiques.

- Grigoriev, Y. (2011). "Comments from the Russian group on Repacholi *et al.* "An international project to confirm soviet era results on immunological and teratological effects of RF field exposure in wistar rats and comments on Grigoriev *et al.* [2010]".

[Système immunitaire]

Grigoriev *et al.* ont répondu à ces critiques en reconnaissant les limites du protocole CFA et en attribuant en outre les différences de résultats observés avec l'équipe française à un ensemble de facteurs environnementaux (saison, poids).

- Guler, G., A. Tomruk, *et al.* (2010). "The effect of radiofrequency radiation on DNA and lipid damage in non-pregnant and pregnant rabbits and their newborns."

[Cerveau]

L'oxydation de l'ADN a également été étudiée par Guler *et al.* (2010) sur des lapines. Celles-ci ont été exposées à un signal de type GSM 1 800 MHz, 15 min par jour, pendant 7 jours (de J15 à J22 pour les femelles en gestation). L'expérimentation a été conduite sur 4 groupes de 9 animaux chacun : femelles en gestation ou non, exposées ou non. Les cerveaux des mères et d'un nouveau-né par portée ont été prélevés afin d'en extraire l'ADN. La présence de 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) (un marqueur de l'oxydation de l'ADN) a été recherchée et quantifiée par HPLC. Les auteurs ont mis en évidence : • une augmentation statistiquement significative de la 8-OHdG (désoxyguanosine) chez les femelles exposées ; • aucune différence chez les nouveau-nés.

- Hirose, H., A. Sasaki, *et al.* (2010). "1950 MHz IMT-2000 field does not activate microglial cells in vitro."

[Cerveau]

Hirose *et al.* (2010) ont étudié les effets d'une exposition de 2 h à un signal W-CDMA (1 950 MHz, DAS de 0,2-0,8 et 2 W/kg) sur des cultures de cellules microgliales. Vingt-quatre ou 72 h après la fin de l'exposition, les auteurs ont d'abord mesuré par immunohistochimie les cellules positives pour le complexe majeur d'histocompatibilité (MHC classe II), le TNF $\alpha$  et l'interleukine IL-1 $\beta$ . La température a été mesurée et des contrôles positifs

(lipopolysaccharides ou LPS, et interféron- $\gamma$ ) ont été inclus. Les auteurs ont ensuite mesuré l'induction des cytokines proinflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL1- $\beta$  et IL-6), 24 et 72 h après 2 h d'exposition aux champs électromagnétiques. • Aucun effet significatif n'a été mis en évidence par [Cerveau] Rapport aux cellules témoins et ce, quels que soient le marqueur de neuroinflammation recherché et le niveau de DAS • Les résultats obtenus ne montrent aucune différence significative reproductible entre les cultures exposées et celles non exposées sur l'induction des cytokines pro-inflammatoires. L'utilisation de témoins positifs permet de montrer la validité des tests utilisés. L'expérience a été menée en aveugle, avec des réplicats indépendants. L'analyse statistique est correcte.

- *Imai, N., M. Kawabe, et al. (2011). "Effects on rat testis of 1.95-GHz W-CDMA for IMT-2000 cellular phones."*

[Système reproducteur]

Imai *et al.* (2011) ont exposé des rats mâles (3 groupes de 24 animaux chacun : témoins et 2 niveaux d'exposition) à des radiofréquences de type GSM 1 950 MHz (5 h par jour pendant 5 semaines, à deux valeurs de DAS différentes, 0,08 et 0,4 W/kg). Au terme de l'expérimentation, le poids du corps et des organes reproducteurs (testicule, épидидyme, vésicule séminale, prostate), le nombre de spermatozoïdes, leur motilité et les anomalies morphologiques ont été examinés.

- L'étude conclut à une absence d'effet sur la fertilité et la qualité du sperme.

Le fait que l'étude ait été conduite sur un nombre d'animaux relativement conséquent augmente sa portée.

- *Ivanov, A. A., Y. G. Grigoriev, et al. (2010). "Autoimmune processes after long-term low-level exposure to electromagnetic fields (experimental results) part 3. The effect of long-term nonthermal RF EMF exposure on complement-fixation antibodies against homogenous tissue."*

[Système immunitaire]

Les résultats de l'article complémentaire de Grigoriev *et al.*, où une différence significative est observable entre les groupes témoin et témoin-cage, soulignent l'absence de spécificité de cette méthode (Ivanov, Grigoriev *et al.* 2010). Cette différence est alors attribuée à un effet du stress lié aux différences de manipulations inter-groupes.

- *Jiang, B., J. Nie, et al. (2012). "Adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: primary DNA damage."*

[Sang et plasma]

Jiang *et al.* (2012) se sont intéressés à l'effet d'une exposition aux radiofréquences précédant une exposition à des rayonnements ionisants de type gamma. Dans leurs expérimentations, les auteurs ont exposé plusieurs groupes de souris à un signal continu de 900 MHz (1,2 W/m<sup>2</sup>, soit un DAS de 548 mW/kg) durant 1, 3, 5, 7 ou 14 jours (4 h/jour) suivi d'une exposition gamma (3 Gy). Les rayonnements ionisants (gamma), connus pour induire des dommages de l'ADN tels que des alkylations de bases ou des fragmentations simple brin, ont été utilisés comme contrôle positif. Un test des comètes a été réalisé sur les leucocytes. Aucune différence significative n'est observable chez les animaux pré-exposés pendant une journée aux radiofréquences. Pour les groupes recevant 3, 5, 7 et 14 jours d'exposition aux radiofréquences, une diminution progressive et significative des dommages de l'ADN est observée en comparaison du contrôle positif. Ces résultats suggèrent la mise en place d'une réponse adaptative liée à l'exposition aux radiofréquences. Les auteurs ne fournissent aucune



explication mais indiquent de possibles pistes de réflexions sur la mise en place de cette réponse (l'exposition aux radiofréquences améliorerait l'efficacité ou la cinétique de la réparation de l'ADN, peut-être en augmentant la concentration intracellulaire en enzymes impliquées dans ce processus). Ils précisent en outre que le faible nombre d'animaux par condition (5 souris/groupe) ne permet pas de conclure.

- *Kesari, K. K. and J. Behari (2009). "Fifty-gigahertz microwave exposure effect of radiations on rat brain."*

[Cerveau]

Kesari *et al.* (2009) ont mis en œuvre une fréquence de 50 GHz ne rentrant pas dans le cadre du [Cerveau] bien que qualité suffisante. L'argument était alors que ces radiofréquences ne pénètrent pas ou très peu dans le cerveau. Elles rentent cependant dans le champ du présent travail. Les auteurs exposent des rats mâles adultes Wistar à 50GHz (DAS de  $8 \cdot 10^{-4}$  W/kg ; 2h/j) pendant 45 jours entraîne une diminution de l'activité de la GSH-Px et de la SOD, alors que l'activité de la CAT est augmentée dans le cerveau du groupe exposé

- *Kesari, K. K. and J. Behari (2010a). "Effects of microwave at 2.45 GHz radiations on reproductive system of male rats."*

[Cerveau][Système reproducteur]

Kesari *et al.* (2010a) ont étudié le stress oxydant et l'effet clastogène des radiofréquences à 2,45 GHz modulées à 50 Hz, sur le cerveau en développement de jeunes rats. Les animaux (n = 6) ont été exposés 2 h/j durant 35 jours, à la densité de puissance de 0,34 mW/cm<sup>2</sup>, soit un DAS calculé de 0,11 W/kg. Les auteurs ont dosé l'activité de certaines enzymes impliquées dans les défenses cellulaires contre les ROS (superoxyde dismutase, catalase, glutathion peroxydase). Ils ont également effectué un test des comètes pour évaluer l'intégrité de l'ADN. Dans le cerveau des animaux exposés, les auteurs observent : • une augmentation du stress oxydant ; • une augmentation des cassures double brin de l'ADN. Dans les testicules, les résultats sont :

- une augmentation du nombre de cellules apoptotiques dans les testicules ;
- une modification de l'activité des enzymes anti-oxydantes (diminution des activités glutathion peroxydase (GPx) et superoxyde dismutase (SOD) associée à une augmentation de l'activité catalase (CAT)), reflet d'une surproduction de ROS.

L'exposition est caractérisée, mais le mode de calcul du DAS n'a pas été fourni. Les effectifs d'animaux utilisés sont faibles (n = 6 dans chacun des groupes, exposés / non exposés), mais l'expérience a été reproduite 3 fois.

- *Khalil, A. M., A. M. Alshamali, et al. (2011). "Detection of oxidative stress induced by mobile phone radiation in tissues of mice using 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine as a biomarker."*

[Cerveau][rate]

Khalil *et al.* (2011) ont exposé des souris balb/c à un signal GSM (900 MHz, DAS de 1 W/kg) 30 min par jour pendant 30 jours. Vingt-quatre heures après exposition, les animaux ont été euthanasiés et le sérum, le cerveau et la rate prélevés. L'ADN a été purifié pour chacun de ces organes, et la mesure de 8-oxodésoxyguanosine a été réalisée à l'aide de la technique ELISA. • Aucune différence n'a été constatée entre le groupe exposé et le groupe témoin, quel que soit l'organe considéré. Le système d'exposition est contrôlé et l'expérience a été répétée 3 fois. Les auteurs signalent cependant que l'utilisation de leur méthode ne permet

qu'une vision partielle des dommages sur l'ADN liés au stress oxydant.

- *Laudisi, F. et al. (2012) « Prenatal Exposure to Radiofrequencies: Effects of WiFi Signals on Thymocyte Development and Peripheral T Cell Compartment in an Animal Model »*

[développement][Système immunitaire]

Laudisi *et al.* (2012) ont exploré les conséquences de l'exposition de souris pendant la gestation à un signal Wi-Fi à 2,45 GHz (DAS de 4 W/kg) pendant les 2 dernières semaines de gestation, sur le système immunitaire (compartiment des cellules T) de la descendance 5 et 26 semaines après la naissance. Aucune anomalie n'a été observée sur le nombre de cellules, le phénotype et la prolifération des thymocytes, précurseurs des cellules T, chez les mâles et les femelles, à 5 ou 24 semaines après la naissance. De même, ni la fréquence ni la prolifération des cellules CD4/CD8 et la production de cytokines n'ont pas été affectés par l'exposition.

- *Lee, H. J., J. K. Pack, et al. (2010). "The lack of histological changes of CDMA cellular phonebased radio frequency on rat testis."*

[Système reproducteur]

Lee *et al.* (2010) ont étudié, sur des rats mâles, les effets de l'exposition aux radiofréquences (CDMA, 848,5 MHz, DAS = 2 W/kg) sur la fertilité et la spermatogenèse. L'exposition s'est déroulée par tranches de 2 séquences quotidiennes de 45 min séparées de 15 min, 5 jours par semaine durant 12 semaines. L'exposition est contrôlée, homogène et reproductible et le nombre d'animaux conséquent (n = 20 dans chacun des 2 groupes, exposés et témoins). Les paramètres du stress oxydant et de l'apoptose ont été mesurés dans les testicules et l'épididyme. Les résultats sont les suivants :

- aucun effet n'a été observé concernant le spermogramme ;
- aucun effet n'a été observé sur la morphologie et l'histologie des organes reproducteurs ;
- *Lee, H. J., Y. B. Jin, et al. (2012). "The effects of simultaneous combined exposure to CDMA and WCDMA electromagnetic fields on rat testicular function."*

[Système reproducteur]

Lee *et al.* (2012) ont étudié les effets de l'exposition simultanée aux champs électromagnétiques CDMA et WCDMA (DAS de 2 W/kg chacun (4 W/kg au total), 45 min par jour, 5 jours par semaine pendant 12 semaines) sur la fonction testiculaire du rat. Les paramètres mesurés comprenaient la concentration en testostérone du sérum, le nombre et la morphologie des spermatozoïdes dans l'épididyme, la peroxydation lipidique et l'apoptose dans les testicules (méthode TUNEL et paramètres biochimiques en lien avec le processus apoptotique). La température rectale des animaux a également été contrôlée.

- Les auteurs concluent à l'absence d'effet de l'exposition combinée CDMA/WCDMA-RF sur le système reproducteur mâle chez le rat.
- *Lerchl, A. (2012). "Letter on 'The effect of pulsed 900-MHz GSM mobile phone radiation on the acrosome reaction, head morphometry and zona binding of human spermatozoa' by Falzone et al. (Int J Androl 34: 20-26, 2011)."*

[Système reproducteur]

Selon Lerchl (2012), l'importance (50 %) de l'altération morphologique des spermatozoïdes

semble incompatible avec une absence de modification de leur viabilité et le fait qu'ils soient fonctionnels dans un test HZA. Toutefois, selon les auteurs, les altérations de l'acrosome mises en évidence dans l'étude de la morphologie sont cohérentes. Ces résultats pourraient être compatibles avec une élévation de la température ou témoigner d'une autre action spécifique.

- *Liu, Y. X., J. L. Tai, et al. (2012). "Exposure to 1950-MHz TD-SCDMA electromagnetic fields affects the apoptosis of astrocytes via caspase-3-dependent pathway."*

[Cerveau]

Liu YX. *et al.* (2012) ont exposé des cellules non neuronales en cultures (astrocytes en culture primaire et cellules C6 de gliome) à un signal de 1 950 MHz (TD-SCDMA) pendant 12, 24 ou 48 h (DAS de 5,36 W/kg). La prolifération, la croissance et la morphologie cellulaire, l'apoptose (expression des gènes bax et bcl-2, activité de la caspase-3, test AnnexinV/PI), ainsi que l'induction de tumeurs in vivo chez des souris *nude* ont été étudiées : une exposition de 12 h ou 24 h n'affecte ni la croissance, ni la morphologie, ni l'apoptose des astrocytes en culture ; en revanche, si l'exposition est prolongée jusqu'à 48 h, la morphologie des astrocytes est altérée, la croissance cellulaire inhibée et une mort cellulaire de type apoptotique apparaît, confirmée par l'ensemble des tests spécifiques réalisés ; cependant, dans les cellules de gliome en culture, aucun des paramètres n'est altéré par l'exposition aux radiofréquences quelle que soit sa durée (12, 24, 48 h) ; voir résultats sur l'induction de tumeurs au § 9.2.1 (Liu, Tai *et al.* 2012). Le système d'exposition est reproductible et bien contrôlé. L'apoptose est abordée sous 3 aspects qui donnent des résultats concordants, les résultats sont convaincants.

- *Maaroufi K, et al. (2009) Effects of prolonged iron overload and low frequency electromagnetic exposure on spatial learning and memory in the young rat; Maaroufi K, et al. (2011) Oxidative stress and prevention of the adaptive response to chronic iron overload in the brain of young adult rats exposed to a 150 kilohertz electromagnetic field; Maaroufi, K., et al. (2014) Spatial learning, monoamines and oxidative stress in rats exposed to 900 MHz*

[Cerveau]

Maaroufi *et al.*, ont publié une série de 3 articles visant à étudier les effets exposition aux radiofréquences seules ou combinées à un traitement au fer sur des rats juvéniles (Maaroufi *et al.*, 2009, 2011 et 2014). Les résultats de l'article de 2009 sont détaillés dans le paragraphe 5.5.2.2. Les rats âgés de 4 semaines ont été exposés à un signal de 150 kHz (intensité 5 mA/m) (Maaroufi *et al.*, 2009 et 2011) ou à un signal GSM 900 MHz (Maaroufi *et al.*, 2014) 1 h / j pendant 21 jours consécutifs. Le DAS a été évalué entre 0,05 et 0,18 W/kg. Trois groupes ont été réalisés : un groupe exposé aux radiofréquences seules, un groupe d'exposition factice et un groupe exposé aux radiofréquences recevant en parallèle une injection quotidienne de sulfate de fer. Des travaux antérieurs ont montré que l'administration de sulfate de fer produit une accumulation de fer dans le cerveau, qui est une hypothèse physiopathologique de maladies neurodégénératives. Le stress oxydant a été évalué en dosant la concentration de l'acide thiobarbiturique (TBARS), de superoxyde dismutase (SOD) et de catalase (CAT) dans le cervelet, le striatum, l'hippocampe et le cortex préfrontal. Alors que le traitement au sulfate de fer n'induit pas de stress oxydatif chez les rats, il stimule les défenses antioxydantes notamment dans le cervelet et le cortex frontal. En revanche, l'exposition aux radiofréquences stimule la peroxydation lipidique principalement dans le cervelet, sans affecter les défenses antioxydantes. De plus, en situation de co-exposition radiofréquences + sulfate de fer, la peroxydation lipidique est légèrement supérieure à celle observée pour l'exposition aux radiofréquences seules. La coexposition radiofréquences + sulfate de fer abolit l'augmentation des défenses antioxydantes observées lors de l'administration du fer seul (Maaroufi *et al.*,

2011). Les manipulations sur le stress oxydant ont été répliquées dans l'étude de 2014, dans laquelle aucun des 2 traitements n'induit de stress oxydant global, bien que quelques variations complexes de certains paramètres du stress oxydant aient été relevées. Des lacunes dans la description du protocole d'exposition (méthode d'estimation du champ électrique, pesée du rat pour connaître la variation du DAS, etc.) rendent délicate l'interprétation des résultats. De plus, il est regrettable qu'aucun groupe ayant reçu du sulfate de fer sans exposition aux radiofréquences n'ait été inclus dans l'étude.

- *Maskey, D., J. Pradhan, et al. (2010b). "Chronic 835-MHz radiofrequency exposure to mice hippocampus alters the distribution of calbindin and GFAP immunoreactivity."*

[Cerveau]

Maskey *et al.* (2010b) ont étudié les effets d'une exposition chronique pendant 3 mois (8 h/j) à un signal de type CDMA (DAS de 1,6 W/kg) sur l'hippocampe de jeunes souris mâles âgées de 6 semaines (10 souris / groupe). Le calcul du DAS repose sur une estimation du champ dans la cage et non sur une mesure directe. Ils ont mesuré aussi l'expression de la GFAP dans trois sous-régions de l'hippocampe. Le résultat suivant a été mis en évidence : • une altération de la viabilité cellulaire (correspondant à une augmentation du marquage TUNEL) ; • une augmentation significative du marquage GFAP ; • une baisse de la calbindine ; • la présence de cellules apoptotiques. Selon les auteurs, celle-ci est à mettre en lien avec une augmentation de l'inflammation et de l'expression de protéines liant le calcium (telles que la calbindine D28-k et la calretinine) (voir § 7.1.1.2) (Maskey, Pradhan *et al.* 2010b). L'exposition semble correctement maîtrisée.

- *Ozgur, E., G. Guler, et al. (2010). "Mobile phone radiation-induced free radical damage in the liver is inhibited by the antioxidants N-acetyl cysteine and epigallocatechin-gallate."*

[Foie]

Ozgur *et al.* (2010) ont exposé des cochons d'Inde 10 ou 20 min pendant 7 jours à un signal GSM 1 800 MHz avec un DAS calculé de 0,38 W/kg. Les résultats montrent :

- une augmentation de la peroxydation lipidique et du stress nitrosatif ;
- une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes SOD, myéloperoxydase (MPO) et GSH-Px pour les animaux exposés 20 min ;
- Les niveaux de malondialdéhyde (MDA) (marqueur de la peroxydation lipidique) et d'acide nitrique total (NOx) (marqueur de stress nitrosatif) étaient significativement plus élevés chez les animaux exposés 20 min par rapport à ceux exposés 10 min ;
- Le traitement aux anti-oxydants EGCG (épigallocatechin-gallate) a significativement atténué l'augmentation de MDA dans le groupe exposé 20 min aux radiofréquences et de manière non significative dans celui exposé 10 min. Il a également atténué l'augmentation de NOx de manière significative dans le groupe exposé 20 min (effet protecteur). Bien que le système d'exposition soit correct, les résultats de cet article soulèvent plusieurs interrogations, notamment en raison de l'existence d'écarts-types étonnamment petits pour une étude *in vivo*. Il est à noter que ce travail n'a pas été réalisé en aveugle. Ces résultats d'intérêt mériteraient d'être confirmés (en particulier chez d'autres espèces).

- *Poullétier de Gannes, F. P., M. Taxile, et al. (2009). "A confirmation study of Russian and Ukrainian data on effects of 2450 MHz microwave exposure on immunological processes and teratology in rats."*

#### [Système immunitaire]

Ces travaux de réplication avaient pour but de confirmer, ou infirmer, les travaux russes datant des années 1970 et ayant conduit à l'établissement de valeurs limites d'exposition aux champs électromagnétiques en vigueur dans ce pays. Il avait alors été mis en évidence un effet délétère des radiofréquences sur le système immunitaire, ainsi qu'un effet tératogène.

En 2009, Poullétier de Gannes *et al.* ont publié la première tentative de réplication de l'étude, mais avec une technique différente (ciblée sur certains anticorps choisis et avec le test ELISA). Dans ce travail, l'équipe française n'avait observé aucun effet des radiofréquences sur le système immunitaire (Poullétier de Gannes, Taxile *et al.* 2009), contrairement à l'équipe de Grigoriev *et al.* Les auteurs attribuent cette différence aux méthodes utilisées au cours de l'étude immunologique, la méthode de « réaction de fixation du complément » (CFA) utilisée par Grigoriev *et al.* étant très peu spécifique, contrairement à la technique ELISA, qui est la méthode actuelle de référence. Étant donné qu'ils n'ont pas comparé les deux méthodes, il n'est pas possible de vérifier cette hypothèse.

- *Poullétier de Gannes, F. (2011). "Effect of Exposure to the Edge Signal on Oxidative Stress in Brain Cell Models."*

#### [Cerveau]

Poullétier de Gannes *et al.* (2011) ont utilisé des cultures de cellules de lignées humaines de neurones (SH-SY5Y), d'astrocytes (U87) et de microglie (CHME5) ainsi que des cultures primaires de neurones de rat. Celles-ci ont été soumises à un signal de type GSM (EDGE) à 1 800 MHz pendant 1 ou 24 h, avec un DAS de 2 ou 10 W/kg. Les effets sur la production de ROS mesurés par cytométrie de flux ont été évalués soit immédiatement après les 24 h d'exposition, soit 24 h après 1 h d'exposition. Un contrôle positif à la roténone a été inclus dans l'étude. • Les résultats ne montrent aucun effet de l'exposition aux radiofréquences, quels que soient la durée ou le DAS.

- *Poullétier de Gannes, F., B. Billaudel, et al. (2013). "Rat fertility and embryo fetal development: influence of exposure to the Wi-Fi signal."*

#### [Système reproducteur]

Poullétier de Gannes *et al.* (2013) ont évalué les effets de l'exposition à un signal Wi-Fi de 2,45 GHz (1 h / j, 6 j / semaine pendant 3 semaines) sur le système reproducteur de jeunes rats mâles (âge : 6 semaines).

- Les résultats, aux niveaux macroscopique et microscopique, ne montrent aucun effet de l'exposition aux radiofréquences sur le système reproducteur mâle chez le rat.

- *Repacholi, M., J. Buschmann, et al. (2011). "An international project to confirm Soviet-era results on immunological and teratological effects of RF field exposure in Wistar rats and comments on Grigoriev et al. [2010]."*

#### [Système immunitaire]

Repacholi *et al.* (2010) ont comparé les résultats de Poullétier de Gannes *et al.* (2009) et Grigoriev *et al.* (2010) et se sont attachés à montrer que les résultats de l'équipe russe souffraient de défauts concernant aussi bien les protocoles utilisés (technique CFA obsolète) que l'interprétation des résultats



- *Sambucci, M., F. Laudisi, et al. (2010). "Prenatal exposure to non-ionizing radiation: effects of WiFi signals on pregnancy outcome, peripheral B-cell compartment and antibody production."*

[développement][Système immunitaire]

Sambucci *et al.* 2010 ont étudié, chez la souris, les effets d'une exposition corps entier à 2,45 GHz, avec un DAS de 4 W/kg, 2 h/jour pendant 14 jours consécutifs commençant 5 j après l'accouplement sur le poids des souris, des paramètres du système immunitaire, l'expression des immunoglobulines IgG et IgM sériques, la prolifération des cellules de la rate en culture et le nombre de lymphocytes B, ces paramètres ayant été évaluées 5 et 26 semaines après la naissance. L'étude ne trouve aucun effet précoce ou tardif sur plusieurs paramètres immunitaires, dont la production d'anticorps et la prolifération des cellules B dues à l'exposition prénatale. Cependant, les auteurs montrent un possible effet d'un stress généré par l'exposition pendant la gestation, sur le système immunitaire puisqu'il y a des différences dans les concentrations en immunoglobulines, le nombre de cellules spléniques et la prolifération des cellules B entre le groupe témoin-cage (sans stress) et les groupes témoin-exposition et exposés.

- *Sannino, A., et al. (2009a). "Human fibroblasts and 900 MHz radiofrequency radiation: evaluation of DNA damage after exposure and co-exposure to 3-chloro-4-(dichloromethyl)- 5-hydroxy-2(5h)-furanone (MX)."*

[Sang et plasma][peau]

Sannino *et al.* (2009a) ont analysé l'effet d'une pré-exposition aux radiofréquences sur la réponse adaptative de lymphocytes humains, après traitement des cellules par un agent génotoxique connu (la mitomycine C, MMC). Les cellules sanguines ont été prélevées sur des donneurs sains, non fumeurs, puis les cellules ont été pré-exposées (ou non) à un signal GSM (900 MHz modulé), pendant 20 h. Le système d'exposition (générateur et antennes *Wire patch cells*) n'est pas décrit dans la publication (il faut se reporter à des publications antérieures). Il permet vraisemblablement une exposition reproductible, mais celle-ci n'a pas fait l'objet de mesures. En effet, il n'y a pas de dosimétrie et le DAS a seulement fait l'objet d'une modélisation numérique (le DAS moyen est estimé à 1,25 W/kg, avec un pic à 10 W/kg). Les radiofréquences n'ont pas d'effet sur l'indice de prolifération ou le nombre de micronoyaux. Après une pré-exposition de 24 h à la MMC ou aux radiofréquences, les cellules, exposées ou non aux radiofréquences, ont été traitées à une dose unique et délétère de MMC (100 ng/mL) pendant 24 h supplémentaires. Le nombre de micronoyaux induits par ce traitement chimique a ensuite été quantifié. Il ressort de cette étude que le nombre de micronoyaux diminue significativement quand les cellules ont été préexposées aux radiofréquences, ce qui suggère l'existence d'une réponse adaptative.

Cette même équipe a conduit des travaux identiques en 2011 selon le même protocole et les mêmes conditions d'expositions. Dans ce travail, les chercheurs confirment leurs résultats obtenus en 2009 et précisent que la réponse adaptative caractérisée par une baisse du nombre de micronoyaux n'est significative que lorsque l'exposition aux radiofréquences est réalisée durant la phase S du cycle cellulaire.

Quels que soient le test, la durée de l'exposition aucun effet génotoxique ou co-génotoxique n'a été mis en évidence dans les cultures primaires de fibroblastes cutanés humains

- *Şekeroğlu, V., et al., (2012) Cytotoxic and genotoxic effects of high frequency electromagnetic fields (GSM 1800 MHz) on immature and mature rats.*

[Sang et plasma]

Şekeroğlu *et al.* (2012) ont également étudié les effets cytotoxiques et génotoxiques d'une

exposition de 45 jours (2 h / j) sur les cellules de la moelle osseuse issues de jeunes rats exposés à partir de l'âge 15 jours post-natal ou de rats adultes exposés à partir de l'âge de 10 semaines. De plus, les auteurs ont testé la possibilité d'une récupération au cours des 15 jours suivant la fin de l'exposition. L'étude a porté sur 6 groupes de rats (n = 8 / groupe), 3 groupes par catégorie d'âge (immature vs mature) avec 2 groupes de rats contrôle cages), 2 groupes de rats exposés pendant 45 jours (DAS = 0,37 W/kg pour rats immatures, DAS = 0,49 W/kg pour les rats adultes) et 2 groupes de rats exposés et testés après un délai de 15 jours post-exposition. Immédiatement après exposition, les résultats montrent une augmentation significative de la fréquence des aberrations chromosomiques (CA), et des micronoyaux (MN) chez les rats exposés, juvéniles ou matures, avec une fréquence plus élevée chez les animaux jeunes. Le type de lésion d'ADN le plus retrouvé est la fragmentation des brins. Chez les rats juvéniles, la période de récupération diminue la formation de CA et de MN. L'index mitotique (IM) et le rapport des érythrocytes polychromatiques (PCEs) sont significativement diminués chez les rats exposés (matures et immatures) et restent bas même après la période de récupération. Les auteurs concluent sur la nécessité d'études complémentaires pour comprendre les effets des radiofréquences sur l'ADN et les mécanismes de réparation et pour déterminer les limites d'exposition environnementale, en particulier pour les enfants. L'exposition semble homogène pour tous les rats, et bien que la puissance soit élevée, les niveaux de champs ne donnent pas d'effets thermiques.

- *Terro, F., A. Magnaudeix, et al. (2012). "GSM-900MHz at low dose temperature-dependently downregulates alpha-synuclein in cultured cerebral cells independently of chaperonemediated-autophagy."*

[Cerveau]

Terro *et al.* (2012) ont également exposé des neurones corticaux de rat en culture primaire pendant 24 h à un signal GSM continu de 900 MHz (DAS de 0,25 W/kg). • L'étude n'a pas mis en évidence de changement de la morphologie des noyaux (coloration de DAPI), ni de modification du clivage de la caspase 3 (marqueur d'apoptose) (Terro, Magnaudeix *et al.* 2012). L'intérêt majeur de cette étude, outre le fait que le système d'exposition est bien maîtrisé, reproductible et avec une mesure de la température, réside dans la présence de plusieurs témoins positifs (température, induction de l'apoptose par un inducteur connu) qui consolident les résultats négatifs obtenus. Ils ont aussi étudié l'expression de protéines de choc thermique (HSP40 et 90 et HSC70) dans le cadre du processus d'autophagie dépendant des protéines chaperonnes (CMA pour *chaperone-mediated autophagy*). L'autophagie a été évaluée par : la quantification des protéines spécifiques comme LAMP-2A et des protéines de choc thermique HSP40 et 70, la distribution des lysosomes actifs et l' $\alpha$ -synucléine, un substrat de la CMA impliqué dans certaines pathologies neurogénératives comme la maladie de Parkinson, où elle s'accumule sous forme d'oligomères, devenant ainsi neurotoxique. Un contrôle de la température (37,5°C correspondant à l'augmentation de 0,5°C induite par les radiofréquences), ainsi qu'un contrôle positif pour la CMA (privation de sérum pendant 48 h) ont été inclus. Les résultats montrent : • une augmentation de 26 % de l'expression de HSC70 ; • une baisse légère (< 10 %) de celle de l'HSP90 ; • une baisse de l' $\alpha$ -synucléine ; • aucun effet de l'exposition sur les paramètres de la CMA (Terro, Magnaudeix *et al.* 2012). Les auteurs concluent que ces modifications considérées comme modestes sont vraisemblablement liées à l'augmentation de la température (+0,5°C) car des effets similaires sont observés dans des cultures contrôles exposées à une température équivalente à celle obtenue après exposition aux radiofréquences

- Tomruk, A., G. Guler, et al. (2010). "The influence of 1800 MHz GSM-like signals on hepatic oxidative DNA and lipid damage in nonpregnant, pregnant, and newly born rabbits."

[Foie]

Le système d'exposition est contrôlé et l'expérience a été répétée 3 fois. Les auteurs signalent cependant que l'utilisation de leur méthode ne permet qu'une vision partielle des dommages sur l'ADN liés au stress oxydant. Enfin, l'oxydation de l'ADN au niveau du foie a été étudiée par l'équipe d'Ozgur, sur des lapines.

Celles-ci ont été exposées à un signal de type GSM 1 800 MHz, 15 min par jour, pendant 7 jours (de J15 à J22 pour les femelles en gestation). L'expérimentation a été conduite sur 4 groupes de 9 animaux chacun : femelles en gestation ou non, exposées ou non. Les auteurs ont utilisé la même méthodologie que pour l'étude du cerveau (voir § 7.1.1.3.2) pour analyser l'état d'oxydation de l'ADN au niveau du foie des animaux. Les auteurs ont observé :

- une augmentation de la peroxydation lipidique dans le foie des animaux exposés pour les lapines non gestantes et les nouveau-nés issus de mères exposées ;
  - aucune différence d'oxydation de l'ADN entre les groupes exposés et non exposés (Tomruk, Guler et al. 2010).
- Trillo, M. A., M. A. Cid, et al. (2011). "Cytostatic response of NB69 cells to weak pulse-modulated 2.2 GHz radar-like signals."

[Foie]

Trillo et al. (2011) ont exposé des lignées cellulaires tumorales humaines d'hépatocarcinome (HepG2) et de neuroblastome (NB69) à un signal radiofréquences faible (2,2 GHz pendant 24 h, DAS = 23 mW/kg, avec une puissance crête de 46 W/kg, en mode radar avec impulsions de 5 µs à un taux de répétition de 100 pps). Les résultats sont les suivants :

- une diminution significative mais légère de la prolifération cellulaire ;
  - une réponse cytotatique dans des cellules de neuroblastomes humains, mais pas dans les cellules du foie étudiées, ont été observées chez les cellules exposées.
- Xu, S., Z. Zhou, et al. (2010). "Exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation induces oxidative damage to mitochondrial DNA in primary cultured neurons."

[Cerveau]

Xu et al. (2010) ont exposé des cellules nerveuses (neurones primaires de rats nouveau-nés) à des radiofréquences de type GSM 1 800 MHz (DAS de 2 W/kg) pendant 24 h, avec cycles alternant 5 min « on » et 10 min « off ». La température a été mesurée et maintenue à 37°C dans un incubateur. Les auteurs ont analysé les niveaux d'oxydation de l'ADN en recherchant la présence d'une forme oxydée de la guanine (la 8-hydroxyguanine (8-OHdG)). Ils se sont intéressés à l'ADN mitochondrial (ADNmt) et ont montré, après exposition : • une augmentation significative de la production de ROS ; • une augmentation significative de la 8-hydroxyguanine (un marqueur d'oxydation de l'ADN) ; • la présence de 8-OHdG co-localisée avec un marqueur spécifique aux mitochondries, ce qui laisse supposer que seul le génome mitochondrial est touché, mais pas l'ADN nucléaire ; • une modification dans la transcription des gènes codés par le génome mitochondrial, liée sans doute à une baisse du nombre de copies de cet ADN auxiliaire (c'est-à-dire une baisse du nombre de copies d'ADNmt et des transcrits d'ARN mitochondrial) ; • qu'un prétraitement à la mélatonine, 4 h avant l'exposition, empêche les effets délétères de l'exposition (Xu, Zhou et al. 2010). Le système d'exposition

est peu détaillé. L'étude a été conduite en aveugle. Si la présence d'un témoin positif (péroxyde d'hydrogène) renforce les résultats, il manque un témoin de l'exposition à la mélatonine (dissoute dans l'éthanol) pour attribuer les effets bénéfiques à la mélatonine seule. De plus, les statistiques ne sont pas adéquates (test de *student* pour analyse de 5 groupes). Les résultats de cette étude sont donc à prendre en compte avec réserves.

- *Yang, A. (2010). "The role of the JAK2-STAT3 pathway in pro-inflammatory responses of EMFstimulated N9 microglial cells."*

[Cerveau]

Yang *et al.* (2010) ont étudié *in vitro*, sur culture de cellules microgliales N9 de souris, la réponse inflammatoire par la mesure de l'expression des marqueurs CD11b, TNF $\alpha$  et de la NO synthétase inductible (iNOS) après une exposition de 20 min à un signal de 2,45 GHz et un DAS de 6 W/kg. La température du milieu est maintenue à 37°C. Ils ont également étudié la voie JAK-STAT3, qui joue un rôle important dans l'activation de la microglie. Après l'exposition aux radiofréquences, les données montrent : • une augmentation significative de CD11b, du TNF $\alpha$ , de la iNOS ; • la phosphorylation de JAK2 et STAT3 ; • que l'exposition des cultures cellulaires à un inhibiteur de JAK (P6) bloque l'ensemble de la réponse aux radiofréquences (i.e., augmentation de CD11b, TNF $\alpha$  et iNOS) (Yang 2010). Cette étude complète utilise des techniques complémentaires et quantitatives. Cependant, l'exposition à un DAS de 6 W/kg ne permet pas d'exclure d'éventuels effets thermiques.

- *Zeni, O., A. Sannino, et al. (2012b). "Radiofrequency radiation at 1950 MHz (UMTS) does not affect key cellular endpoints in neuron-like PC12 cells."*

[Cerveau]

Zeni *et al.* (2012b) ont exposé pendant 24 h des cellules de phéochromocytome (PC12) (*neuronlike*) en culture à un système modélisant la technologie 3G (signal UMTS à 1 950 MHz) avec un DAS de 10 W/kg. Les effets de l'exposition sur la viabilité cellulaire, l'apoptose et l'intégrité de l'ADN ont été mesurés soit immédiatement, soit après un délai de 24 h. La température de l'eau circulant dans l'enceinte contenant les cultures a également été vérifiée. Pour chacun des paramètres étudiés, des témoins négatifs (placés dans un incubateur à 37°C) et positifs (traités par un agent pharmacologique connu pour affecter les paramètres étudiés) ont été inclus, en plus des cultures témoins (exposition factice). • L'étude ne montre aucun effet de l'exposition sur les divers paramètres étudiés. L'intérêt de cette étude est d'aborder les effets d'un système de type 3G. Les techniques utilisées sont pertinentes et de nombreux contrôles ont été réalisés. Deux autres études ont été analysées par le groupe de travail, mais leurs conclusions ne peuvent pas être utilisées pour évaluer les effets des radiofréquences sur le nombre, la morphologie des neurones et la mort cellulaire, en raison d'importants biais méthodologiques :

- *Zeni, O., et al. (2012a). "Induction of an adaptive response in human blood lymphocytes exposed to radiofrequency fields: influence of the universal mobile telecommunication system (UMTS) signal and the specific absorption rate."*

[Sang et plasma]

Cette thématique a été de nouveau explorée par le même groupe en 2012 dans des conditions d'expositions différentes. Zeni *et al.* (2012a) ont pré-exposé des lymphocytes humains à un signal UMTS pendant 20 h (1 950 MHz avec 4 niveaux de DAS allant de 0,15 à 1,25 W/kg). Le comptage du nombre de micronoyaux après traitement à la mitomycine C (100 ng/mL)

montre l'existence d'une réponse adaptative pour les échantillons pré-traités aux radiofréquences, spécifiquement à un DAS de 0,3 W/kg.

Face à ces résultats et en rapport avec les résultats précédemment évoqués obtenus en bande GSM, les auteurs concluent que la réponse adaptative est dépendante de la fréquence, ainsi que du type de signal et du DAS. Il faut toutefois noter que les résultats présentent une grande variabilité.

- *Zhijian, C., et al. (2009). "Influence of 1.8-GHz (GSM) radiofrequency radiation (RFR) on DNA damage and repair induced by X-rays in human leukocytes in vitro."*

[Sang et plasma]

Zhijian *et al.* (2009) ont également travaillé sur des cellules sanguines humaines. Des leucocytes ont été prélevés sur 4 donneurs sains. Les cellules ont été pré-exposées à un signal GSM (1 800 MHz modulé, DAS de 2 W/kg) pendant 24 h et de façon intermittente (5 min avec exposition, suivies de 10 min sans). Elles ont ensuite été soumises à un rayonnement ionisant génotoxique (rayons X à différentes doses, de 0,25 à 2 Gy). Le test des comètes a été réalisé 0, 15, 45, 90, 150 et 240 min après l'irradiation pour suivre la cinétique de réparation de l'ADN. Il ressort de cette étude que l'exposition aux radiofréquences n'induit pas de cassures directes et que la pré-exposition n'a pas d'impact sur le nombre de cassures induites par les rayons X, ni sur la capacité des cellules à réparer ces dégâts.

Les résultats obtenus diffèrent d'autres études publiées par la même équipe (en 2007 et 2010). Il est possible qu'en fonction de l'agent mutagène choisi, le type de dommage à l'ADN et donc le type de mécanisme impliqué dans la réparation diffère. De plus, les résultats varient en fonction des donneurs et des conditions testées dans l'étude (différence significative chez le donneur 3 pour la série d'expériences à 1 Gy et chez le donneur 4 pour la série à 0,25 Gy). Cependant, le faible nombre de donneurs (4 seulement) ne permet pas d'interpréter ces différences.

- *Zhijian, C., et al. (2010). "Impact of 1.8-GHz radiofrequency radiation (RFR) on DNA damage and repair induced by doxorubicin in human B-cell lymphoblastoid cells."*

[Sang et plasma]

Après avoir travaillé sur des cultures primaires de cellules sanguines, la même équipe (Zhijian *et al.* 2010) a refait une série d'expériences en utilisant une lignée de cellules B-lymphoblastoïdes humaines. Le même mode d'exposition a été utilisé (GSM, 1 800 MHz modulé, DAS = 2W/kg). Les cellules ont été préexposées pendant 24 h avant de subir un traitement génotoxique. Contrairement à l'étude précédente, les cellules n'ont pas été irradiées aux rayons X, mais ont été traitées pendant 2 h à différentes doses de doxorubicine, agent intercalant au niveau de l'ADN. Différentes combinaison d'expositions ont été testées, avec un traitement aux radiofréquences soit avant, soit pendant, soit après l'exposition à la doxorubicine, pendant des durées variables. Le test des comètes a été réalisé 0, 6, 12, 18 et 24 h après le traitement à la doxorubicine.

Aucun effet génotoxique n'a été retrouvé après une simple exposition aux radiofréquences. Cependant, l'exposition combinée et prolongée des radiofréquences et de la doxorubicine (exposition aux radiofréquences avant, pendant et après le traitement à la doxorubicine) semble influencer sur l'efficacité de la réparation. En effet, dans ces conditions, et contrairement au témoin, les auteurs mesurent toujours un nombre élevé de cassures, 6 h et 12 h après le traitement génotoxique. Si le temps de récupération est prolongé, alors les différences s'estompent et le niveau de cassures revient à la normale).



L'irradiation aux rayons X provoque un effet génotoxique et les résultats suggèrent que la coexposition n'induirait pas une inhibition, mais plutôt un ralentissement de la réparation de l'ADN. La pré-exposition est un paramètre important pour l'observation de cet effet, qui semble indiquer un effet contraire à celui d'une réponse adaptative.

- Ziemann, C., et al. (2009). "Absence of genotoxic potential of 902 MHz (GSM) and 1747 MHz (DCS) wireless communication signals: In vivo two-year bioassay in B6C3F1 mice."

[Sang et plasma]

Ziemann *et al.* (2009) s'inscrit dans la continuité des travaux PERFORM-A1 publiés par Tilleman *et al.* (2007). Les auteurs ont cherché à identifier l'effet génotoxique d'une exposition chronique chez la souris (n=1 170) par le test des micronoyaux. Après 2 années d'exposition à un signal GSM 900 MHz ou GSM 1800 MHz (DAS de 0,4, 1,3 ou 4 W/kg), 2 h/jour, 5 j/semaine, l'apparition de micronoyaux a été explorée au sein des cellules sanguines. Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence quelles que soient les conditions d'exposition. Cette étude a utilisé un protocole très rigoureux et un nombre très important d'animaux, ce qui lui donne un poids et une puissance statistique particulièrement forts.

## 2 Synthèses des publications issues de la recherche bibliographique sur la période 2013-2021 (données mécanistiques)

### 2.1 Bonne qualité méthodologique

- *Aktas, S., et al. (2019) Ameliorative effects of paricalcitol against 1800-MHz mobile phone radiation-induced skin damage in rats*

[Peau]

L'étude de Aktas *et al.*, 2019, vise à évaluer les effets d'une exposition à des radiofréquences sur le stress oxydant et les propriétés mécaniques de la peau de rats exposés 1h h/jour pendant 4 semaines, et le possible rôle protecteur du paricalcitol, un analogue de la vitamine D.

28 rats mâles Wistar adultes disposés dans un carrousel sont exposés 1h/jour, 7 jours/semaine, pendant 4 semaines à un signal incident de 1800 MHz, à un niveau de 6 V/m soit un DAS local indiqué à 0,0042 W/kg. L'exposition physique de cette étude est de bonne qualité, assurée par une mesure du champ et une simulation numérique du DAS. Cette exposition est représentative d'une exposition de type téléphonie mobile à faible niveau.

Les animaux sont sacrifiés un jour après la fin de l'exposition. La peau est prélevée sur le dos pour des analyses biomécaniques, biochimiques et histologiques. La température de surface est mesurée avec une caméra thermique infrarouge à la fin de l'exposition.

Dans les surnageants de peaux broyées, la concentration en MDA du groupe radiofréquences est supérieure à celle du groupe témoin-exposition ou groupe paricalcitol. Pour le groupe radiofréquences + paricalcitol, la concentration est inférieure à celle du groupe radiofréquences seuls. Dans le groupe radiofréquences, l'activité de la SOD est inférieure à celle des groupes témoin-exposition ou paricalcitol. Dans le groupe radiofréquences + paricalcitol, elle est inférieure à celle du groupe radiofréquences seuls.

Dans le groupe radiofréquences, l'activité de la CAT est inférieure à celle des autres groupes. Dans le groupe radiofréquences + paricalcitol, elle est inférieure à celle des groupes témoin-exposition ou paricalcitol. Dans le groupe radiofréquences, le nombre de mastocytes est supérieur à celui des autres groupes et il n'y a aucune différence entre les groupes témoin-exposition, paricalcitol et radiofréquences + paricalcitol. Les propriétés biomécaniques sont identiques dans le groupe témoin-exposition et le groupe radiofréquences. Dans le groupe radiofréquences, les faisceaux de collagène sont minces, moins denses et désorganisés. Dans le groupe radiofréquences + paricalcitol, ils sont plus épais, plus denses et mieux organisés.

Les auteurs concluent que l'exposition au rayonnement radiofréquences 1800 MHz provoque une diminution de la qualité biomécanique et de la structure de la peau, due au stress oxydatif et à l'activation des mastocytes. Ces paramètres sont améliorés par le paricalcitol. A noter qu'il n'y a pas de groupe témoin-cage.

- *Alkis, M. E., et al. (2019) "Single-strand DNA breaks and oxidative changes in rat testes exposed to radiofrequency radiation emitted from cellular phones"*

[Système reproducteur]

Alkis *et al.* (2019) ont voulu examiner les effets d'une exposition à long terme à différentes fréquences de radiofréquences sur les cassures de l'ADN simple brin et les changements

oxydatifs dans le tissu testiculaire des rats. Pour cela, 28 rats Sprague-Dawley mâles ont été divisés au hasard en quatre groupes. Trois groupes ont été exposés aux radiations émises par des générateurs radiofréquences 2 h/jour pendant 6 mois. L'exposition est réalisée à l'aide d'un carrousel, constitué d'une antenne en son centre avec les animaux positionnés radialement avec leur tête à proximité de l'antenne. L'étude est effectuée avec des signaux GSM à la fréquence de 900, 1800 et 2100 MHz. Le système permet de réaliser une exposition principalement de la tête. Il est classiquement utilisé pour s'approcher d'une exposition à un téléphone mobile positionné à proximité de la tête. Le groupe témoin a été maintenu dans les mêmes conditions expérimentales, mais le générateur de radiofréquences était éteint. Immédiatement après la dernière exposition, les testicules ont été prélevés et les dommages à l'ADN, la 8-hydroxydéoxyguanosine (8-OHdG), le malondialdéhyde (MDA), l'état antioxydant total (TAS), l'état oxydant total (TOS) et l'indice de stress oxydatif (OSI) ont été analysés. Les résultats de cette étude ont indiqué que les radiofréquences a augmenté le TOS, l'OSI, le MDA et la 8-OHdG ( $p < 0,05$ ). Les niveaux de TAS dans le groupe exposé étaient inférieurs à ceux du groupe fictif ( $p < 0,05$ ). En termes de dommages à l'ADN, les intensités de queue dans le test des comètes étaient plus élevées dans les groupes exposés ( $p < 0,05$ ). Cette étude a démontré que l'exposition à long terme aux radiofréquences émis par les téléphones cellulaires peut causer un stress oxydatif et des dommages oxydatifs à l'ADN dans le tissu testiculaire du rat et peut générer des cassures simple brin de l'ADN à des fréquences élevées (1800 et 2100MHz). Ces résultats ont montré que certaines radiofréquences émis par les téléphones cellulaires ont le potentiel d'entraîner des dommages cellulaires dans les testicules.

La dosimétrie aurait mérité un peu plus de précision avec notamment une valeur moyenne corps entier, et tête seule. De même, on peut s'interroger sur les valeurs DAS moyenné sur 1 et 10 g au niveau de la cible. Enfin, on peut regretter que les valeurs de champs et de densité de puissance mesurées ne soient pas précisées, et que la valeur de DAS correspondant à l'exposition ne soit pas clairement mentionnée. Cette étude permet cependant de conclure qu'une exposition prolongée aux radiofréquences émis par les téléphones cellulaires pourrait provoquer un stress oxydatif et des dommages oxydatifs à l'ADN dans le tissu testiculaire des rats et générer des cassures simples de l'ADN à des fréquences élevées (1800 et 2100 MHz). Sur la base des résultats de cette étude, il est possible de supposer que l'exposition aux radiofréquences pourrait causer l'infertilité.

- *Atlı Şekeroğlu, Z., et al. (2013) "Evaluation of the cytogenotoxic damage in immature and mature rats exposed to 900 MHz radiofrequency electromagnetic fields"*

[Sang et plasma]

L'étude de Atlı Şekeroğlu *et al.*, de 2013 a analysé les effets génotoxiques (aberrations chromosomiques, CA; micronoyaux, MN) et cytotoxiques (index mitotique, MI ; ration érythrocytes immatures/matures) d'une exposition à 900 MHz en ondes continues, suivie ou non d'une période de récupération de 15 jours après exposition, dans les cellules de la moelle osseuse de rats immatures (2 semaines) et matures (10 semaines). Les rats sont irradiés 2 heures par jour durant 45 jours. Un champ électrique moyen mesuré est de 28.1 V/m moyen pour les rats immatures, soit un DAS corps entier calculé compris entre 0,38 et 0,78 W/kg, et de 20 V/m pour les rats matures, soit un DAS compris entre 0,31 et 0,52 W/kg. Le niveau d'exposition se situe à la limite, voire au-delà du seuil défini par l'Icnirp pour les travailleurs. L'exposition correspond à un rayonnement de téléphonie mobile de niveau élevé. Il y a six groupes de 8 rats. Les fréquences d'aberrations chromosomiques (CA) et de micronoyaux (MN) sont augmentées dans les groupes de rats immatures et matures exposés. Bien qu'après la période de récupération de 15 jours, la fréquence de CA et MN diminue, ces valeurs ne reviennent pas aux valeurs des groupes témoin-exposition. On peut noter que l'amplitude des

anomalies CA et MN est plus élevée dans le groupe des rats immatures que dans le groupe de rats matures. L'index mitotique (MI) diminue dans le groupe immature et mature et le ratio érythrocytes polychromatiques PCE (immatures)/monochromatiques NCE (matures) est diminué dans les groupes exposés. Bien qu'après la période de récupération de 15 jours, l'index mitotique et le ratio PCE/NCE augmentent, ces valeurs ne reviennent pas aux valeurs des groupes témoin-expositions. Les auteurs concluent que l'exposition in vivo de rats immatures et matures à des radiofréquences de 900MHz, entraîne des effets cytotoxiques et génotoxiques dans les cellules de la moelle osseuse. De plus, une période de récupération de 15 jours est insuffisante pour restaurer des niveaux identiques à ceux des animaux témoin-exposition. Les effets sont plus marqués chez les rats immatures.

- *Delen, K et al. (2021) Effects of 2600 MHz Radiofrequency Radiation in Brain Tissue of Male Wistar Rats and Neuroprotective Effects of Melatonin*

[Cerveau]

Delen *et al.* (2021) ont étudié les effets de radiofréquences à 2 600 MHz et le rôle potentiellement protecteur de la mélatonine sur la biochimie redox et l'histologie des tissus cérébraux de rats mâles. Les rats sont disposés dans des cages en plastique. Une source de laboratoire de 100 mW alimente une antenne cornet, durant 30 min, 5 jours/semaine, pendant 30 jours. La fréquence est de 2600 MHz, à un niveau exprimé en champ incident de 21,74 V/m, pour un DAS indiqué de 0,297 W/kg. 36 rats Wistar albinos sont répartis en six groupes de 6 rats : contrôle cage, contrôle exposition, radiofréquences, mélatonine, contrôle exposition mélatonine, mélatonine et radiofréquences mélatonine. Les animaux du groupe mélatonine ont reçu une injection sous-cutanée de mélatonine (7 jours/semaine, 10 mg/kg/jour) pendant 30 jours. A la fin des expositions, les rats sont sacrifiés, un hémisphère du tissu cérébral est conditionné pour les analyses des dommages oxydatifs, l'autre est observé en histologie.

Les niveaux de MDA, NOx, MPO, GSH, SOD et GSH-Px dans le surnageant du tissu broyé en utilisant des kits ELISA. Les résultats ont été exprimés en ng/ml pour SOD, GSH-Px et MPO, en nmol/ml pour MDA, en mol/g pour Nox et en mg/L pour GSH. Analyses histochimique et immunohistochimique pour analyser la protéine acide fibrillaire gliale et l'apoptose par un test TUNEL.

L'exposition aux radiofréquences entraîne une diminution statistiquement significative des niveaux de GSH, GSH-Px et SOD et une augmentation significative des niveaux de MPO, MDA et NOx ( $P < 0,005$ ). Aucune différence significative n'est trouvée entre (1) les groupes Cage-Control et contrôles exposition, (2) les groupes Mélatonine et contrôles exposition Mélatonine, (3) les groupes Cage-Control et Mélatonine, (4) les groupes contrôles exposition et contrôles exposition Mélatonine. On observe que l'administration de mélatonine diminuait les effets oxydatifs des radiofréquences ( $P < 0,005$ ).

Dans le groupe radiofréquences, les vaisseaux sanguins sont dilatés et certains neurones sont apoptotiques dans le cortex et dans les CA1 et CA3 de l'hippocampe certains neurones ont montré un placement aléatoire et sont en nombre diminué. Dans le groupe mélatonine + radiofréquences, les vaisseaux sanguins sont toujours dilatés et des neurones une morphologie anormale dans le cortex. La région CA3 de l'hippocampe était similaire aux groupes cage-témoin cependant une dilatation vasculaire, un œdème autour des neurones et des cellules de la névroglie ont été observés dans la région CA1 de l'hippocampe, mais globalement la structure était généralement similaire à celle des groupes témoins en cage. L'immunoréactivité de la GFAP est significativement plus élevée dans le groupe radiofréquences que dans les groupes contrôle cage, simulacre et radiofréquences mélatonine. Le marquage GFAP dans le groupe radiofréquences mélatonine est comparable aux valeurs

des témoins.

Dans le groupe radiofréquences, un grand nombre de neurones et de cellules de la névroglie sont TUNEL positives. Dans le groupe radiofréquences mélatonine, les valeurs de l'indice apoptotique sont significativement inférieures à celles du groupe radiofréquences ( $P < 0,05$ ) et elles sont significativement plus élevées que celles des groupes mélatonine et mélatonine fictive. Globalement, cette étude montre que l'exposition aux radiofréquences altère le tissu cérébral et que la mélatonine exogène à forte dose pourrait réduire les effets indésirables des radiofréquences.

L'exposition physique de cette étude est de très bonne qualité, précisément décrite et justifiée. Le DAS est obtenu par simulation numérique et illustré par des coupes 2D. Le niveau d'exposition correspond à une exposition modérée à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile.

- *Djindjic, B., et al. (2019) "Effects of silica-rich water on systemic and peritoneal inflammation in rats exposed to chronic low-level (900-MHz) microwave radiation"*

[Sang et plasma][Système immunitaire]

Djindjic *et al.* (2019) ont évalué les effets de la consommation d'eau riche en silice sur l'inflammation systémique et péritonéale chez des rats exposés de manière chronique à des radiofréquences de faible amplitude. Un dispositif assure l'exposition corps entier de rats âgés de 1 mois dans des cages en polycarbonate, à 900 MHz, 4 h/jour pendant 3 mois. La fréquence et le niveau d'exposition (0,88 à 1,9 V/m, pour un DAS estimé de 0,048 à 1,142 W/kg) étaient représentatifs de l'exposition de la téléphonie mobile. Les rats ont été répartis en 4 groupes de 7 animaux : témoin-exposition alimentés en eau riche en silice (EW) ; témoin-exposition alimentés en eau standard (SW) ; exposés aux radiofréquences et alimentés en eau riche en silice (MW+EW) ; exposés aux radiofréquences et alimentés en eau standard (MW+SW). Le système immunitaire a été étudié *via* la mesure des quantités de cytokines IL-2, IL-10 et de TNF- $\alpha$  dans les prélèvements sériques puis dans les macrophages en culture (IL-10 et TNF) ; le matériau d'étude était stimulé ou non par du LPS. La phagocytose des macrophages a été évaluée par l'incorporation de rouge neutre.

La production de TNF- $\alpha$  dans le sérum de rats est augmentée par l'exposition des rats et cet effet est inhibé par une eau de boisson riche en silice. De même, des niveaux sériques d'IL-2 sont significativement plus élevés chez les rats exposés aux radiofréquences et l'eau riche en silice supprime cette augmentation. D'autre part, les rats exposés et buvant une eau riche en silice ont des niveaux systémiques d'IL-10 significativement plus élevés que les rats des autres groupes. La production de TNF- $\alpha$  par les macrophages péritonéaux qui est augmentée par les radiofréquences et/ou par du LPS, est bloquée en présence d'eau riche en silice alors que la production d'IL-10, diminuée avec les radiofréquences et/ou le LPS, est augmentée avec l'eau riche en silice. L'exposition a augmenté de manière significative l'activité phagocytaire des macrophages (*uptake* de rouge neutre) et celle-ci est diminuée par l'eau riche en silice. Les auteurs concluent que l'eau riche en silice s'oppose à la production de cytokines pro-inflammatoires et pourrait être un modulateur pertinent des effets chronique des radiofréquences sur l'inflammation systémique et péritonéale. Il est montré qu'une exposition discontinue (900 MHz, 4 h/jour) mais chronique (3 mois) de faible amplitude (1 à 2 V/m) entraîne des modifications du système immunitaire de rats. Ils concluent que la consommation d'une eau riche en silice pourrait protéger des effets des radiofréquences sur l'activité phagocytaire des macrophages et la sécrétion de cytokines pro et anti-inflammatoires.

Le système d'exposition est correct, même si la dosimétrie est peu détaillée. Les paramètres étudiés sont en adéquation avec l'objectif de l'étude, qui est de bonne qualité au regard des



critères définis pour cette expertise. Les auteurs auraient pu discuter la différence de niveau de sécrétion de TNF dans le sérum et surnageant de culture avec et sans radiofréquences et selon la nature de l'eau. Le nombre de macrophages péritonéaux et circulants auraient également pu être comparés entre les groupes.

- *Duan, W, et al. (2015) "Comparison of the genotoxic effects induced by 50 Hz extremely low-frequency electromagnetic fields and 1800 MHz radiofrequency electromagnetic fields in GC-2 cells."*

[Système reproducteur]

Duan *et al.* (2015) ont standardisé les conditions d'exposition et exploré la génotoxicité potentielle de champs électromagnétiques. Deux systèmes d'exposition sont utilisés pour cette étude. Les deux systèmes sont commercialisés et parfaitement caractérisés. L'un permettant d'exposer à des signaux ELF 50 Hz est basé sur des bobines et l'autre à des signaux radiofréquences à 1800 MHz via l'utilisation de guide d'onde rectangulaire. Il permet d'exposer aux radiofréquences six boîtes de Petri par guide d'onde, à un signal GSM à la fréquence de 1800 MHz. L'exposition est discontinue, avec des durées de 5 min et 10 min de présence et d'absence de radiofréquences, respectivement. L'exposition est effectuée durant 24 h. Un contrôle complet des paramètres d'exposition est présent, permettant également des expérimentations en aveugle. Une lignée cellulaire GC-2 dérivée de spermatozoïdes de souris a été exposée de façon intermittente (5 minutes de marche et 10 minutes d'arrêt) à des EMF-ELF 50 Hz d'une intensité de 1, 2 ou 3 mT ou à des radiofréquences en mode GSM-Talk à des taux d'absorption spécifiques (TAS) de 1, 2 ou 4 W/kg. Après une exposition de 24 heures, les auteurs ont constaté que ni les EMF-ELF ni les radiofréquences n'ont affecté la viabilité des cellules en utilisant le kit de comptage cellulaire 8. Grâce à l'utilisation d'un test alcalin des comètes et de l'immunofluorescence contre les foyers c-H2AX, les auteurs ont constaté que l'exposition aux EMF-ELF entraînait une augmentation significative des ruptures de brins d'ADN à 3mT, alors que l'exposition aux radiofréquences n'avait pas assez d'énergie pour produire de tels effets. En utilisant un test alcalin des comètes modifié par la formamidopyrimidine ADN glycosylase (FPG), les auteurs ont observé que l'exposition aux radiofréquences induisait de manière significative des dommages oxydatifs aux bases de l'ADN à une valeur SAR de 4 W/kg, alors que l'exposition aux ELF-EMF ne le faisait pas.

Le système d'exposition a été développé et parfaitement caractérisé pour effectuer des expositions *in vitro*, avec des intensités de DAS de 1, 2 et 4 W/kg au niveau des limites d'exposition locale chez l'humain. Cette étude permet également de comparer des conditions d'exposition aux basses fréquences et radiofréquences. La qualité de cet outil permet de conclure que les basses fréquences et les radiofréquences ont une génotoxicité potentielle dans les mêmes conditions, mais que le mécanisme sous-jacent est différent. Cette différence peut être attribuée aux différentes fréquences des basses fréquences (1-300 Hz, principalement 50/60 Hz) et des radiofréquences (10 kHz-300 GHz). Les niveaux d'exposition de 3 mT pour les basses fréquences et de 4 W/kg pour les radiofréquences qui produisent des dommages à l'ADN sont plus élevés que les niveaux admissibles actuels, qui n'ont peut-être aucune signification pour les expositions humaines réelles, mais qui fournissent des informations mécanistes sur les expositions à forte dose.

- *Gibot, L, et al. (2019) Evaluations of Acute and Sub-Acute Biological Effects of Narrowband and Moderate-Band High Power Electromagnetic Waves on Cellular Spheroids.*

[Peau]

Le but de l'étude de Gibot *et al.* (2019) est d'évaluer les effets biologiques aiguës et subaiguës

des ondes électromagnétiques de haute puissance à bande étroite et à bande modérée sur des sphéroïdes de fibroblastes dermiques humains normaux ou de cellules tumorales (HCT116). Dans cette étude, quatre systèmes d'exposition sont utilisés. Ils sont associés à deux types de signaux de fortes amplitudes. L'un est basé sur une sinusoïde à 1,5 GHz de 4  $\mu$ s de durée, l'autre est de type impulsionnel de durée 15 ns avec une largeur spectrale d'environ 200 MHz. Deux systèmes sont basés sur le rayonnement à travers un réflecteur d'une source qui vient illuminer les échantillons placés dans une ou plusieurs boîtes de Petri. Dans ce dernier cas, les boîtes de Petri sont empilées en insérant une boîte de Petri vide entre deux boîtes contenant les cibles biologiques. Deux autres systèmes sont basés sur une structure à propagation guidée, qui s'apparente à une cellule TEM, dans lequel sont insérés les échantillons. Ces derniers sont placés dans un container diélectrique spatialement dimensionné pour optimiser l'homogénéité du champ électrique. L'un est basé sur une sinusoïde à 1,5 GHz de 4  $\mu$ s de durée, l'autre est de type impulsionnel de durée 15 ns avec une largeur spectrale d'environ 200 MHz. Les paramètres des signaux varient pour les deux signaux : i) 5 000 et 100 000 impulsions, répétées 1, 20 ou 40 fois toutes les 15 s ; ii) 2 500 ou 5 000 impulsions avec une récurrence de 100 ou 200 Hz. La dosimétrie est basée sur le champ électrique, obtenu par la mesure ou l'expérimentation et donne des valeurs comprises en 40 et 190 kV/m. Les mesures et estimations numériques de la température dans les échantillons exposés, peuvent atteindre jusqu'à 12,6°C. En biologie, ont été étudiés l'aspect macroscopique des cellules, la croissance, l'intégrité de la membrane plasmique, l'induction de l'apoptose, la teneur en ATP et le potentiel mitochondrial après l'exposition des sphéroïdes à des signaux électromagnétiques. La croissance des sphéroïdes sur une période de 10 jours n'est absolument pas modifiée que les sphéroïdes aient subi une seule exposition ou deux dans un intervalle de 24 h (des sphéroïdes exposés à un champ électrique électroperméabilisant ont servi de contrôle positif). La perméabilité membranaire n'est pas non plus altérée (coloration iodure de propidium) et il n'y a pas d'induction d'apoptose (activation des caspases 3 et 7) (contrôle positif stéroïde traitée à la staurosporine), pas de diminution de la teneur en ATP ni du potentiel de membrane mitochondriale. Dans les conditions expérimentales les plus sévères (100 000 impulsions, 500 Hz, 20 kV/m) l'augmentation de température était d'environ 2,6 °C ce qui réchauffait le milieu liquide et échauffait le récipient en céramique, qui transmettait ensuite sa chaleur aux parties métalliques de l'applicateur, les auteurs considèrent donc que les conséquences sur les cellules étaient négligeables.

En conclusion, les champs électromagnétiques à bande étroite de 1,5 GHz avec un niveau d'amplitude incident de 40 kV/m et les champs électriques à bande modérée de 150 MHz avec une amplitude de 72,5 à environ 200 kV/m ne provoquent, sur une période de 10 jours post-exposition) aucune altération significative sur les sphéroïdes de cellules normales ou tumorales en termes de croissance, mortalité, intégrité de la membrane et des mitochondries.

- *Hernández-Bule, M. L., et al. (2014) "Electric stimulation at 448 kHz promotes proliferation of human mesenchymal stem cells"*

[Développement]

Le but du travail de Hernández-Bule *et al.* (2014) est de déterminer si le transfert électrique capacitif-résistif (CRET) (thérapie électrothermique) délivré de manière intermittente à une fréquence électrique de 448 kHz à une densité de courant subthermique de 50  $\mu$ A/mm<sup>2</sup> peut moduler la prolifération et/ou différenciation des cellules souches adipeuses (ADSC) de 4 donneurs sains (2 hommes âgés de 65 et 69 ans et 2 femmes âgés de 35 et 39 ans). Des analyses pour évaluer d'une part la viabilité et la prolifération cellulaire (nombre de cellules, XTT, cycle cellulaire en cytométrie en flux, immunofluorescence et Western Blot (PCNA et pERK1) et d'autre part la capacité multipotentielle de différenciation adipogénique,

chondrogénique ou ostéogénique des cellules souches adipeuses (ADSC) ont été réalisées après une exposition de courte période répétée (5 min On/4 h Off) à 448 kHz (thérapie CRET) à une dose subthermique de 50  $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ . Globalement, l'exposition stimule la prolifération des cellules ADSC mais n'altère leur capacité à se différencier. L'induction de la prolifération est dépendante du passage auquel sont exposées les cellules. En effet aux passages très précoces la prolifération n'est pas induite et aux passages tardifs une senescence pourrait survenir. En conclusion, les résultats montrent qu'une exposition intermittente à un stimulus électrique de 448 kHz à une densité de courant sub-thermique de 50  $\mu\text{A}/\text{mm}^2$  induit une régulation positive de la voie de signalisation ERK1/2 et favorise la prolifération dans les cellules souches mésenchymateuses obtenues à partir de donneurs humains sains. Les résultats montrent que le traitement CRET favorise la prolifération cellulaire sans modifier la multi-potentialité des cellules souches pour une différenciation adipogénique, chondrogénique ou ostéogénique ultérieure.

- Jeong, Y. J., et al. (2018) "Impact of Long-Term RF-EMF on Oxidative Stress and Neuroinflammation in Aging Brains of C57BL/6 Mice"

[Cerveau]

L'étude de Jeong *et al.* (2018) s'intéresse à l'effet d'une exposition du vieillissement de souris en absence ou en présence de radiofréquences. Le système d'exposition utilisé pour l'étude est bien décrit, il utilise un générateur de signal W-CDMA à 1950MHz (très proche s'un signal 3G réel) à une puissance de 52W. Le signal est envoyé dans une chambre réverbérante contenant les cages des animaux. Le DAS moyen corps entier pour les souris a été calculé numériquement et vaut 5 W/kg. Les conditions expérimentales (température, hygrométrie, ...) sont maîtrisées et contrôlées. Après avoir été caractérisées à 3 mois, des souris C57BL / 6 d'âge moyen (âgées de 14 mois) ont été exposées à des champs électromagnétiques de 1950 MHz pendant 8 mois (2 h / jour, 5 j / semaine). Par rapport au groupe jeune souris, les taux de marqueurs de dommages d'oxydations protéiques (3-nitro-tyrosine) et lipidiques (4-hydroxy-2-nonéol) sont significativement augmentés dans le cerveau des souris âgées. En outre, les niveaux de marqueurs pour les dommages de l'ADN (8-hydroxy-2'-désoxyguanosine, p53, p21, H2AX et Bax), pour l'apoptose (caspase-3 clivée et poly (ADP-ribose) polymérase 1 clivée (PARP-1)), pour les astrocytes (GFAP) et la microglie (Iba-1) sont significativement plus élevés dans le cerveau des souris âgées. Cependant, une exposition à long terme aux radiofréquences n'a pas modifié les niveaux de stress oxydant, ni des autres marqueurs dans le cerveau de souris âgées. De plus, une exposition à long terme aux radiofréquences n'a pas modifié l'activité locomotrice chez les souris âgées. Par conséquent, ces résultats indiquent que l'exposition à long terme aux radiofréquences n'a pas influencé le stress oxydant induit par l'âge ou la neuro-inflammation chez les souris C57BL / 6.

- Kang, K. A., et al. (2014) "Effects of combined radiofrequency radiation exposure on levels of reactive oxygen species in neuronal cells"

[Cerveau][Peau]

Kang *et al.* (2014) ont quantifié la production d'espèces réactives de l'oxygène par les radiofréquences dans 3 lignées cellulaires neuronales (neuroblastome humain SH-SY5Y, gliome humain U87, phéochromocytome de rat PC12) et une lignée de fibroblastes embryonnaire de souris (NIH3T3). Le système d'exposition est constitué d'une ligne de transmission radial. Huit boîtes de Petri de 65 mm de diamètre sont placées dans la chambre d'exposition. La température de la chambre et le taux de CO<sub>2</sub> est sont maintenus autour de 37°C et 5% respectivement. Le système est décrit en détail dans un travail précédent des mêmes auteurs. Les niveaux d'exposition aux deux fréquences sont de 2 W/kg, pour une

durée de 2 h. Une mesure de température est effectuée dans l'échantillon, deux fois par seconde. Les expériences sont faites soit avec des radiofréquences seules soit avant un traitement par des agents chimiques pro-oxydants, le peroxyde d'hydrogène et la ménadione. L'exposition aux radiofréquences implique une combinaison de 837 et 1950 MHz. Elle est bien contrôlée pour les effets thermiques et dure deux heures. Ensuite, les cellules sont remises en culture pour différents temps (jusqu'à 12h) en présence de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ou de ménadione. Aucune différence significative n'est observée pour ces différents groupe dans la mesure des ROS par la sonde DCFH-DA analysée par cytométrie en flux. Seuls quelques points sporadiques (alors que 3 ou 4 temps sont testés par expérience) montrent un effet faible des radiofréquences (10 ou 20 % d'excès par rapport aux contrôle) : U87 à 6h et PC12 à 12h avec les radiofréquences seules, ainsi que NIH3T3 à 1h avec les radiofréquences + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (p<0,05).

Cette étude qui n'étudie qu'un seul paramètre lié au stress oxydant est bien conçue. Le système d'exposition est tout à fait pertinent pour ce type d'étude multi-signaux, *in vitro*. L'exposition s'apparente à une condition où deux sources, l'une à 837 MHz et l'autre à 1950 MHz, induiraient des niveaux de DAS équivalents. Ces derniers correspondent à la restriction de base dans la tête, à savoir 2 W/kg sur 10 gr de tissus contigu. Le travail montre une absence d'induction des espèces réactives de l'oxygène visualisées par le test DFCH-DA dans quatre lignées cellulaires mammifère, dont deux cancéreuses neuronales humaines. Le travail montre également que, dans la limite de la sensibilité du test et dans les conditions d'exposition (1 séance de 2h), les radiofréquences n'ont pas d'effet synergique sur la production de ROS par le peroxyde d'hydrogène ou la ménadione.

- *Kim, J. H., et al. (2018b) Exposure to 835 MHz radiofrequency electromagnetic field induces autophagy in hippocampus but not in brain stem of mice*

[Cerveau]

Dans la présente étude, Kim, J. H., et al. (2018) ont cherché à savoir si l'autophagie est déclenchée dans l'hippocampe ou le tronc cérébral après une exposition à des radiofréquences de 835 MHz chez des souris C57BL/6 de 6 semaines. Les souris sont disposées dans de grandes cages anéchoïques et l'exposition est assurée par une baie constituée d'un générateur de fonction, d'un amplificateur et d'une antenne cornet. La fréquence est de 835MHz, 5 h/jours pendant 12 semaines, à 4 W/kg correspondant à un champ incident indiqué dans la publication en référence à 59 V/m. L'exposition physique est de très bonne qualité et la chaîne d'exposition est bien détaillée dans la publication de référence "Maskey 2010". La dosimétrie est justifiée par simulation numérique. L'exposition est du même ordre de grandeur que l'exposition maximale à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Les souris du groupe témoin-exposition sont gardées dans le même modèle de cage que les souris exposées. Les effets sont recherchés dans l'hippocampe et le tronc cérébral. Les niveaux d'expression des transcrits de Beclin 1, Beclin 2, Atg9A, Atg4A, Atg4B, Atg5, LC3A et LC3B ont été évalués par RT-qPCR et l'expression de certaines des protéines correspondantes, validée par WB. La microscopie électronique à transmission (TEM) a permis de suivre l'ultrastructure dans les 2 structures cérébrales. Dans l'hippocampe, les niveaux d'expression des transcrits Atg9A, Atg4B, de LC3A et B et de la Beclin 1 et 2 sont significativement augmentés. Dans le tronc cérébral, l'expression du transcrit codant pour LC3A est significativement augmentée et celle d'Atg4A est significativement diminuée. La quantification par WB de l'expression de Beclin 1, p62 et LC3B-II dans l'hippocampe après exposition indique une augmentation significative de LC3BII, une diminution significative de p62 et pas d'effet sur celle de beclin 1. Dans le tronc cérébral, l'expression des protéines LC3B-II, et Beclin 1 et p62 n'est pas modifiée. La TEM révèle un plus grand nombre de vacuoles autophagiques dans les neurones de l'hippocampe mais pas du tronc cérébral après



exposition. Les auteurs concluent que les résultats suggèrent que la voie de l'autophagie est fortement activée dans l'hippocampe après exposition aux radiofréquences

- *Koyama, S, et al. (2016a) "Twenty four-hour exposure to a 0.12 THz electromagnetic field does not affect the genotoxicity, morphological changes, or expression of heat shock protein in HCE-T cells."*

[Céil]

Koyama *et al.* (2016) recherche si une exposition de 24 heures à un champ électromagnétique de 0,12 THz à 5 mW/cm<sup>2</sup> peut affecter la génotoxicité, la morphologie ou l'expression de la protéine de choc thermique des cellules épithéliales cornéennes humaines immortalisées par SV40 (HCE-T). Aucune augmentation statistiquement significative de la fréquence du micronoyau (MN) des cellules exposées n'est observée par rapport aux témoins-exposition et incubateur alors que la fréquence MN des cellules traitées avec de la bléomycine pendant 1 h (témoin positif) a augmenté de manière significative. Il n'y a de changement morphologique significatif dans les cellules exposées et l'expression des protéines de choc thermique (Hsp27, Hsp70 et Hsp90α) n'est pas non plus significativement différente par rapport aux témoins. Cette publication présente une dosimétrie sérieuse, avec un applicateur spécifique validé par simulation numérique ; les travaux sont reproductibles. Cette exposition peut être représentative du rayonnement de futurs dispositifs de téléphonie à moyen ou long terme. Le travail biologique est de qualité. En conclusion les résultats montrent que l'exposition pendant 24h à un rayonnement de 0,12 THz à 5 mW/cm<sup>2</sup> n'a pas d'effet sur la formation de MN, les changements morphologiques et l'expression de Hsp dans les cellules HCE-T épithéliales cornéennes humaines.

- *Koyama, S, et al. (2019) "Long-term exposure to a 40-GHz electromagnetic field does not affect genotoxicity or heat shock protein expression in HCE-T or SRA01/04 cells."*

[Céil]

Koyama *et al.* (2020) recherchent si une exposition de 24 heures à un champ électromagnétique de 40 GHz à 1 mW/cm<sup>2</sup> peut affecter la génotoxicité (micronoyaux et cassures de l'ADN) ou l'expression des protéines de choc thermique (HSP27, HSP70 et Hsp90α) des cellules épithéliales cornéennes humaines (HCE-T) ou des cellules épithéliales du cristallin humain (SRA01/04).

Aucune augmentation statistiquement significative de la fréquence du micronoyau (MN) ou les cassures de l'ADN (test des comètes) dans les cellules épithéliales cornéennes humaines HCE-T ou les cellules épithéliales du cristallin humain SRA01/04 exposées 24h à des ondes millimétriques de 40 GHz à 1 mW/cm<sup>2</sup> par rapport aux témoins-exposition ou incubateur. Dans les deux lignées exposées, l'expression des protéines de choc thermique HSP27, HSP70 et Hsp90α n'est pas significativement modifiée par l'exposition à 40 GHz.

En conclusion, ces résultats indiquent que l'exposition pendant 24h à des ondes millimétriques de 40 GHz à 1 mW/cm<sup>2</sup> n'ont pas d'effet sur la formation de MN, les ruptures de brins d'ADN ou l'expression de Hsp dans les cellules épithéliales cornéennes humaines (HCE-T) ou les cellules épithéliales du cristallin humain (SRA01/04).

Cette publication présente une dosimétrie sérieuse, avec un applicateur spécifique validé par simulation numérique ; les travaux sont reproductibles. Cette exposition peut être représentative du rayonnement de dispositifs de téléphonie à moyen ou long terme.



- *Koyama, S., et al. (2016b) "Effects of long-term exposure to 60 GHz millimeter-wavelength radiation on the genotoxicity and heat shock protein (HSP) expression of cells derived from human eye"*

[Œil]

Dans cette étude, Koyama *et al.* (2016) ont évalué les effets de l'exposition à un rayonnement de longueur d'onde millimétrique sur la génotoxicité cellulaire et les réponses au stress en utilisant des cellules HCE-T et SRA01/04. Les échantillons biologiques sont exposés à un champ de 60 GHz, pour une densité de puissance incidente de 1mW/cm<sup>2</sup>, pendant 24h. Aucun effet n'a été détecté sur la formation de micronoyaux (MN), les cassures simple brin dans l'ADN (visualisés avec la *comet assay*) et l'expression de Hsp27, 70 et 90α. Cette publication présente une dosimétrie sérieuse, avec un applicateur spécifique validé par simulation numérique ; les travaux sont reproductibles. Cette exposition peut être représentative du rayonnement de futurs dispositifs de téléphonie à moyen ou long terme. Elle permet de conclure que l'exposition des cellules à un rayonnement d'une longueur d'onde de l'ordre du millimètre à 60 GHz ne semble pas avoir d'effets négatifs ou positifs sur la génotoxicité ou l'expression de Hsp des cellules HCE-T et SRA01/04 cultivées dans nos conditions expérimentales spécifiques.

- *Kumar, G., et al. (2015) "A genotoxic analysis of the hematopoietic system after mobile phone type radiation exposure in rats"*

[Sang et plasma]

L'étude de Kumar *et al.*, 2015 a analysé les effets d'exposition aux radiofréquences à 900 et 1800MHz en mode CW ou mode pulsé aux DAS de 2 et 10W/kg (justifié par simulation numérique), sur le système hématopoïétique chez des jeunes rats mâles Sprague-Dawley de 4 semaines. Des échantillons d'os sont disposés dans une cellule TEM à 900 MHz pour un DAS de 2 à 10 W/kg et une durée de 90 min. D'autres échantillons sont disposés dans une GTEM alimentée à 1800 MHz pour un DAS de 2,5 à 12,4 W/kg et une durée de 120 min. L'exposition est comparable au rayonnement d'un appareil de téléphonie mobile à niveau élevé. Dans les cellules du système hématopoïétique, fraîchement isolées de la moelle osseuse, la prolifération cellulaire n'est pas modifiée et on observe aucune C fragmentation de l'ADN après exposition à des radiofréquences 900 et 1800 MH pendant 90 ou 120 min.

- *Lameth, J., et al. (2017) "Acute Neuroinflammation Promotes Cell Responses to 1800 MHz GSM Electromagnetic Fields in the Rat Cerebral Cortex"*

[Cerveau]

Lameth *et al.* (2017) ont étudié l'impact d'une exposition GSM sur des paramètres de l'inflammation dans le cortex de rats adultes (âgés de 2 mois) et de ratons (âgés de 14 jours) mâles traités au LPS. Le système d'exposition utilisait un générateur de signal capable de créer un signal de type GSM à 1800 MHz conforme à la norme<sup>[1]</sup>. Il était divisé en 4 branches, reliées à des antennes boucles capables d'exposer 4 animaux simultanément. Les antennes étaient placées directement sur la tête des rats. La puissance de sortie a été ajustée pour avoir une exposition des rats avec un DAS moyenné de 2,9 W/kg. Cette valeur a été déterminée par une simulation de type FDTD et vérifiée expérimentalement par mesure du DAS à l'aide d'un fantôme homogène de rats. Plusieurs groupes de 6 adultes ou de 5 à 7 jeunes animaux ont été exposés :

Les auteurs montrent que le LPS (lipopolysaccharide) induit la surexpression d'une série de cytokines pro-inflammatoires (TNF-α X3, IL1β x10, CCL2 X2, NOS2 X1.3, NOX2 x4 avec

$p < 0,05$  chez l'adulte ; TNF- $\alpha$  X1.6, IL1 $\beta$  x6, CCL2 x1.8, NOX2 X5 chez le raton, mais avec une diminution de IL6 et NOS (x0,7 et x0,25)  $p < 0,05$ ). L'exposition aux radiofréquences diminue de 60 % et 56 %, comparée à un traitement au LPS seul, l'expression de IL1 $\beta$  et NOX2 chez le raton. Chez le rat adulte, le seul effet observé est une baisse de 50 % de IL1 $\beta$  24h après exposition au signal GSM. Tous ces effets disparaissent à 72 h. Aucune modulation significative de l'expression de ces cytokines n'est observée après exposition aux radiofréquences seules. Les auteurs rapportent aussi une augmentation de l'espace occupé par les cellules microgliales dans le cortex des adultes traités au LPS puis au signal GSM comparé au LPS seul. Cet effet s'accompagne dans les animaux LPS/GSM d'une baisse de la phosphorylation de la protéines GluA1 impliquée dans la neurotransmission.

L'étude est de bonne qualité au regard des critères définis pour cette expertise. L'expression d'une large gamme de gènes liés à l'inflammation permet d'obtenir des résultats sûrs. L'imagerie est bien conduite et l'étude de la phosphorylation, en ciblant trois sérines sur deux protéines différentes, est assez spécifique. Une information importante à mettre en avant dans cette étude bien menée est l'absence d'effet pro- ou anti-inflammatoire de l'exposition au signal GSM seul. Il faut noter que ces réponses cellulaires ont été observées sous exposition à des radiofréquences de puissance au-dessus des limites fixées pour la sécurité du grand public (2 W/kg). Aucun effet non plus n'est observé sur la couverture du cortex par les cellules microgliales. Quand l'exposition GSM a lieu après un traitement au LPS, une effet anti-inflammatoire certain mais partiel est induit par l'exposition GSM. Une meilleure couverture des cellules microgliales est aussi induite, de même qu'une baisse de la phosphorylation de protéines de la neurotransmission.

- Lameth, J., et al. (2020) "Effects of a Single Head Exposure to GSM-1800 MHz Signals on the Transcriptome Profile in the Rat Cerebral Cortex: Enhanced Gene Responses Under Proinflammatory Conditions"

[Cerveau]

Lameth *et al.* (2020) ont étudié l'impact de radiofréquences sur la modulation de l'expression de gènes. Leur système d'exposition était identique à celui utilisé dans Lameth *et al.* (2014) La puissance de sortie de 0,2 W a permis une exposition des rats avec un DAS moyenné de 3,22 W/kg. Cette valeur a été déterminée par une simulation de type FDTD et vérifiée expérimentalement par mesures du DAS à l'aide d'un fantôme homogène de rats.

Les auteurs montrent par RNA-seq que parmi les près de 12 000 gènes modulés dans le cortex de rats (groupes de 6 ou 7) traités au LPS +/- GSM, 321 diffèrent entre LPS/témoin-exposition et LPS/GSM. 79 sont surexprimés et 49 réprimés avec des *fold change* de 1,89 au maximum et une moyenne 1,29, la limite pour être retenue étant fixée à 1,2. Les fonctions affectées sont liées aux composants cellulaires (noyau, réticulum endoplasmique, centrosome), la phosphorylation sérine/thréonine, la transcription et la réplication de l'ADN, les complexes de phosphatases et surtout l'ubiquitinylation. La quantification par RT-qPCR de gènes spécifiques montre que les cellules les plus affectées dans les rats LPS+GSM sont les cellules gliales de différents types. Dans les rats LPS, l'exposition GSM induit environ 80 % de baisse d'expression de gènes caractéristiques, sauf dans les neurones (Micu3 x2). Le RT-qPCR montre aussi un effet des GSM sur certaines cytokines pro inflammatoires induites par le LPS. IL1 $\beta$  et CCL5 baissent de 50% dans rats LPS+GSM comparé à LPS seul. Aucun de ces effets n'est retrouvé dans le cortex de rat « wild-type » exposés aux radiofréquences seules. Aucun effet significatif n'est observé non plus pour une exposition GSM vs témoin-exposition dans le cortex de rats hSOD1G93A (des tendances mais à  $p > 0,05$ ). L'analyse PCR montre une inflammation de la moelle épinière mais pas du cortex le modèle hSOD1G93A.

Cette étude est bien menée et mérite d'être incluse. Seules quelques limites mineures sont relevées. Elles concernent le manque de quelques contrôles mais sur des points secondaires du travail. La conclusion majeure est l'absence de modulation par les radiofréquences de l'expression génique dans le cortex de rats exposés en l'absence de stress inflammatoire. Après induction de l'inflammation par du LPS, 3% des gènes sont légèrement modulés par les radiofréquences, notamment l'homéostasie des protéines (ubiquitinylation) et la signalisation intracellulaire. Aucun des autres paramètres mesurés dans l'étude (expression des différents types cellulaires, cytokine, etc.) n'est modifié par l'exposition au signal GSM seul.

- *Lerchl, A et al. (2020) No Increased DNA Damage Observed in the Brain, Liver, and Lung of Fetal Mice Treated With Ethylnitrosourea and Exposed to UMTS Radiofrequency Electromagnetic Fields*

[Cerveau][Foie][Poumons]

L'utilisation généralisée des téléphones mobiles et des dispositifs de communication basés sur le Wi-Fi rend inévitable l'exposition aux champs électromagnétiques de radiofréquence (RF-EMF). Des souris sont maintenues dans un carrousel de guides d'onde alimentés par un signal de type téléphonie mobile au standard UMTS à 1960 MHz. L'exposition est indiquée à 30 V/m soit 0,4 W/kg et 9,5 V/m soit 0,04 W/kg. Les résultats de cette étude sont analysés en double aveugle au sens où les expérimentateurs ne sont pas informés des animaux exposés ou pas. Des expériences précédentes ont révélé les effets promoteurs de tumeurs des radiofréquences chez des souris adultes traitées par des carcinogènes *in utero*. Pour prolonger ces recherches, les auteurs ont vérifié si ces effets étaient dus à la co-cancérogénicité des radiofréquences, qui se manifesterait par une augmentation des lésions de l'ADN. Comme dans les expériences précédentes, des souris gravides ont été exposées à des radiofréquences (norme *Universal Mobile Telecommunication System* [UMTS], environ 1960 MHz) à partir du 7<sup>e</sup> jour post-conceptionnel (p.c.) à 0 (simulacre), 0,04 et 0,4 W/kg de DAS. Au jour 14 p.c., les souris ont reçu une injection d'éthylnitrosouree (ENU, 40 mg/kg), un agent cancérogène. À trois moments précis, 24, 36 et 72 heures plus tard, les femelles gravides ont été sacrifiées et les fœtus (n = 24-57) ont été prélevés. Un colorant (cy3) spécifique des adduits adényliques a été utilisé pour détecter les dommages à l'ADN par microscopie à fluorescence dans le cerveau, le foie et les poumons de chaque fœtus. Comparativement au contrôle (0 W/kg de DAS), l'exposition aux radiofréquences n'a eu aucun effet sur la formation d'adduits d'ADN dans les tissus inspectés.

L'exposition correspond à une exposition assez élevée de signaux de la téléphonie mobile. Les moyens expérimentaux et la dosimétrie sont de très bonne qualité. Les analyses menées en double aveugle contribuent à la qualité de ces travaux. Les auteurs concluent que l'augmentation de la formation d'adényl d'ADN par l'exposition aux radiofréquences n'est pas une explication valable des effets promoteurs de tumeurs précédemment signalés des radiofréquences-RMF. Ces résultats peuvent aider à mieux comprendre les effets biologiques de l'exposition aux radiofréquences dans le contexte de la malignité.

- *Lin, Y. Y., et al. (2017) "1950MHz radio frequency electromagnetic radiation inhibits testosterone secretion of mouse leydig cells"*

[Système reproducteur]

Lin *et al.* (2017) étudient l'impact des radiofréquences sur la production *in vitro* de testostérone dans des cellules de souris. Le système d'exposition est constitué d'un dispositif commercialisé basé sur l'utilisation de guide d'onde rectangulaire. Il permet d'exposer six boîtes de Petri dans chaque guide d'onde, à un signal GSM à la fréquence de 1960 MHz. L'exposition est effectuée durant 24 h. Un contrôle complet des paramètres d'exposition est

présent. Les cellules interstitielles du testicule, également appelées cellules de Leydig, supportent la spermatogenèse. L'exposition aux radiofréquences provoque une inhibition de la prolifération, des modifications de la distribution du cycle cellulaire et le dysfonctionnement de la sécrétion de testostérone dans les cellules TM3. Cependant, ces effets n'ont pas provoqué l'apoptose des cellules TM3.

Le système d'exposition a été développé et parfaitement caractérisé pour effectuer des expositions in vitro, avec des intensités de DAS de 3 W/kg au niveau des limites d'exposition locale chez l'humain. Les résultats biologiques sont aussi de qualité. L'inhibition de la prolifération des cellules TM3 découlerait de changements dans la distribution du cycle cellulaire et conduirait au dysfonctionnement de la sécrétion de testostérone dans les cellules TM3. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour explorer les mécanismes moléculaires impliqués dans la suppression de la prolifération des cellules TM3 ainsi que la sécrétion de testostérone induite par radiofréquences-EMR sur la fonction de reproduction masculine.

- Liu, Q., et al. (2015) "Electromagnetic radiation at 900 MHz induces sperm apoptosis through bcl-2, bax and caspase-3 signaling pathways in rats"

[Système reproducteur]

Le groupe de Liu *et al.* (2015) étudie l'impact de radiofréquences sur les spermatozoïdes de rats. Une antenne dipôle à 900 MHz est placée au centre de deux cylindres concentriques (de rayon 7 et 13 cm), délimitant un espace dans lequel les animaux sont placés et exposés. Le niveau d'exposition est de 0,66 W/kg. Le pourcentage de spermatozoïdes apoptotiques dans le groupe exposé est augmenté de 91,42 % par rapport au groupe témoin. De plus, la concentration de ROS dans le groupe d'exposition a augmenté de 46,21 %, tandis que le TAC a diminué de 28,01 %. L'exposition a diminué l'expression des protéines et de l'ARNm de bcl-2 et augmenté celle de bax, du cytochrome c et de la caspase-3. Ce travail, présentation des limites mineures dans la description trop succincte du système d'exposition, apporte des données intéressantes quant à la réponse d'organes reproducteurs. Le niveau d'exposition est proche des limites hautes d'exposition des personnes pour une configuration corps entier.

- López-Furelos, A., et al. (2016) Evidence of cellular stress and caspase-3 resulting from a combined two-frequency signal in the cerebrum and cerebellum of sprague-dawley rats

[Cerveau]

Le but du travail de López-Furelos, A., *et al.* (2016) est d'étudier les effets non thermiques du SAR sur les hémisphères cérébraux ou cérébelleux de rats exposés in vivo à des signaux de champs électromagnétiques (CEM) combinés à 900 et 2450 MHz. 40 rats Sprague-Dawley sont divisés en 4 groupes de 10 et les rats sont exposés individuellement dans une GTM à un signal radiofréquence entretenu de 900 MHz (grpe I), ou de 2450 MHz (grpe II), ou une combinaison de ces 2 fréquences (grpe III), durant 1 ou 2 heures ou non exposés (grpe IV). L'exposition physique est de très bonne qualité. La chaîne d'exposition est très détaillée, la dosimétrie est précise et justifiée : les champs aux diverses fréquences et puissances sont de l'ordre de 50 V/m, correspondant à des DAS dans le corps de 0,04 à 0,09 W/kg, et des DAS dans la tête de 0,02 à 0,2 W/kg, à un niveau comparable à celui de la téléphonie mobile. Après exposition sont mesurés la température et les expressions de la GSP90, GST 70 et de la caspase 3. La température rectale chez les animaux exposés à 2 watts ou 4 watts ou combiné ne présente pas de différence significative par rapport à la température rectale du groupe témoin excepté pour le groupe exposé aux fréquences combinées de 900 et 2450 MHz à la puissance de 2 watts ( $p = 0,029$ ). Après une exposition à la puissance 4 watts, la température



rectale des groupes 900 MHz et 2450 MHz diminue significativement après irradiation par comparaison avec leur température avant irradiation ( $p=0,007$ ). Il y a une ambiguïté pour le groupe exposition combinée (grpe 3), le tableau IV n'indiquant pas de différence avant et après irradiation alors que dans le texte il est indiqué une diminution significative ( $p= 0,012$ ) Dans tous les groupes exposés à la puissance de 4 watts pas de différence de température par rapport au groupe témoin. Expression de HP90 : dans le cortex cérébral à 2 watts La différence des valeurs moyennes de HSP-90 aux deux niveaux droite/gauche des hémisphères du cortex est statistiquement significative ( $p =0,011$ ) mais les mêmes effets sont observés chez les témoins. A la puissance de 4 watts des différences significatives par rapport aux témoins dans les valeurs HSP-90 ont été détectées entre les hémisphères droit et gauche des groupes I ( $p < 0,001$ ), II ( $p = 0,041$ ) et III ( $p = 0,042$ ), mais pas en Groupe IV ( $p = 0,625$ ). Les effets dans les hémisphères cérébraux ne dépendaient pas des niveaux de puissance des radiofréquences. Expression de HSP70 : HSP-70 A 2 Watts, il n'y a pas de différence du niveau d'expression de la HSP70 entre les lobes gauches et droits dans tous les groupes. A 4 watts la HSP70 augmente dans le lobe gauche par rapport au lobe droit dans les groupes 1 et 2 ( $p < 0,003$ ) et II ( $p = 0,003$ ). Les différences sont indépendantes de la puissance et de la fréquence. Caspase-3, à 2 watts le niveau d'expression de la caspase 3 est significativement plus élevé dans les lobes droits des groupes I ( $p < 0,006$ ) et III ( $p = 0,003$ ) mais sans différence entre ces deux groupes, alors que ce niveau ne varie pas dans le groupe 2 et le groupe témoin. Cervelet HSP 90 à 2 watts pas de différence significative entre le côté droit et le côté gauche du cervelet quel que soit le groupe. AHSP90 est significativement augmenté dans le lobe gauche des groupes 1 et 2 ( $p = 0,003$ ) et ( $p <0,001$ ) alors qu'il n'y a pas de différence entre les lobes dans les groupes 3 et 4. 4 watts L'augmentation dans les groupes 1 et 2 est statistiquement différente du groupe témoin à 4 watts et l'augmentation est statistiquement plus importante dans le groupe 1 par rapport au groupe 2. HSP-70 La HSP 70 est plus élevée dans le cervelet gauche que dans le cervelet droit à 2 et 4 watts dans tous les groupes sauf le groupe 4 témoin 4 watts. A deux watts, les effets observés ne sont pas dépendants de l'exposition (valeurs identiques dans tous les groupes y compris le témoin). A 4 watts, l'augmentation est significative par rapport au témoin pour les groupes 1 et 2 ( $p = 0,004$  ; ( $p < 0,001$ ) mais sans différence si l'on compare les groupes 1 et 2. La caspase 3 est plus exprimée dans le lobe gauche que dans le lobe droit, à 2 watts l'augmente est significativement plus importante dans les groupes 1 et 2 ( $p < 0,001$  dans les deux cas) sans différence entre ces deux groupes et à 4 watts, l'augmentation est statistiquement plus importante dans le groupe 2 ( $p = 0,018$ ).

En conclusion, une exposition combinée à deux fréquences 900 et 2450 MHz sur le tissu nerveux du rat provoque une absorption d'énergie résultant des signaux combinés, mais ne semble pas être la somme des deux SAR. L'effet biologique du stress cellulaire dans le cortex et/ou cervelet est davantage lié à la nature du signal plutôt qu'une action additive des deux fréquences combinées, ce qui suggère la possibilité de la prépondérance d'un seul mécanisme d'action lorsque plusieurs signaux agissent sur le tissu. Les signaux sous-thermiques des deux fréquences combinées constituent un signal non linéaire sans relation linéaire de cause à effet.

- Lu, Y., et al. (2014) "Differential pro-inflammatory responses of astrocytes and microglia involve STAT3 activation in response to 1800 MHz radiofrequency fields"

[Cerveau]

Lu et al. (2014) ont exposé deux lignées murines d'astrocytes et de microgliocytes cultivés *in vitro* à des radiofréquences (1800 MHz). Le but de l'étude était de définir si, à cette fréquence, les ondes électromagnétiques activent ces deux types cellulaires et, si oui, de caractériser leur



réponse inflammatoire et de définir si la protéine STA3 est impliquée dans cette activation.

Le système d'exposition a permis l'exposition de 6 boîtes de Petri de 35 mm de diamètre simultanément. Le signal émis était représentatif d'une modulation GSM (1800 MHz, modulé à 217 Hz). L'exposition était contrôlée par la mesure et l'acquisition du champ magnétique et de la température. Le niveau moyen d'exposition était de 2 W/kg, ce qui correspond à un niveau de DAS crête de 16 W/kg (1/8 du temps). Le dispositif permettait une exposition en aveugle. Les cellules ont été exposées aux radiofréquences pendant 1, 3, 6, 12 et 24 h (intermittence 5 min *on*, 10 min *off*). Les réponses cellulaires ont été interprétées par rapport aux deux types cellulaires non exposés (témoins négatifs) et par rapport aux deux types cellulaires exposés à du LPS (connu pour activer et induire une réponse inflammatoire ; témoins positifs). La réponse inflammatoire a été caractérisée par l'analyse de l'expression d'un ensemble de cibles connues comme étant impliquées dans l'activation et la réponse inflammatoire (ARN et protéines), par le relargage de certaines de ces protéines dans le milieu de culture des cellules exposées. Pour caractériser les mécanismes d'activation des astrocytes et des microglies, d'une part l'expression de la protéine STAT3 et sa phosphorylation ont été étudiées et d'autre part son interaction avec l'ADN a été qualifiée.

Les auteurs concluent que les astrocytes et les microglies sont activés par une exposition à une fréquence de 1800 MHz dès 3 h d'exposition. Cependant, les voies et mécanismes d'activation ne sont pas les mêmes dans les deux types cellulaires.

L'étude est de bonne qualité au regard des critères définis pour cette expertise. Les deux lignées murines de cellules microgliales et astrocytes utilisées sont deux types cellulaires importants pour maintenir l'homéostasie du système nerveux central. Les paramètres mesurés sont pertinents et permettent de mesurer l'activation de ces cellules, de déterminer quelles sont les cytokines impliquées et de définir si l'activation de la protéine STA3 joue un rôle dans cette activation. Les résultats sont reproductibles. Les données obtenues sur les témoins positifs et les témoins négatifs permettent de formuler des conclusions.

- *Miyakoshi, J, et al. (2019) "Effects of Exposure to 5.8 GHz Electromagnetic Field on Micronucleus Formation, DNA Strand Breaks, and Heat Shock Protein Expressions in Cells Derived From Human Eye."*

[Œil]

Miyakoshi *et al.* (2019) ont exposé des cellules épithéliales cornéennes humaines (HCE-T) dérivées de l'œil humain à des champs électromagnétiques. Les échantillons biologiques sont exposés dans un dispositif à base de guide d'onde, de telle sorte que l'exposition est à 1 mW/cm<sup>2</sup>, à 5,8 GHz, pendant 24 h. Il n'y a pas eu d'augmentation de température due à l'exposition à 5,8 GHz. Aucune augmentation statistiquement significative de la fréquence des micronoyaux (MN), de ruptures de brins d'ADN et d'expression des protéines de choc thermique (hsp70) dans les cellules exposées à un champ de 5,8 GHz à 1 mW/cm<sup>2</sup> (le niveau public général de l'Inirp) n'a été observée par rapport aux contrôles exposés à l'état simulé (témoin-exposition) ou en incubateur. Un contrôle positif (bléomycine) a également été utilisé pour valider la technique. Cette étude est similaire à celle effectuée par Koyama en 2016 mais la fréquence utilisée était différente (60 MHz).

La dosimétrie est sommaire car seule la densité de puissance est indiquée, sans caractérisation de l'hétérogénéité du champ sur le volume de l'échantillon. Cette exposition est néanmoins reproductible et représentative de signaux télécom ou de transfert d'énergie sans fil.

- *Ohtani, S., et al. (2015) "The effects of radio-frequency electromagnetic fields on T cell function during development"*

[Système endocrinien][Système reproducteur][Système immunitaire][Développement]

Ohtani *et al.* (2015) ont conçu les présentes analyses de cytométrie en flux et de PCR en temps réel dans le but d'évaluer l'activation, la différenciation et l'équilibre Th1/Th2 des lymphocytes T chez des rats Sprague Dawley après une exposition chronique à des radiofréquences (W-CDMA ; 2,14 GHz à 0,2 W/kg).

Des rats femelles de 10 semaines ont été accouplés avec des rats mâles également âgés de 10 semaines. Le lendemain de l'accouplement, les individus ont été sélectionnés et la présence de spermatozoïdes a été confirmée à l'aide de frottis vaginaux et de tests microscopiques. Les femelles enceintes ont été élevées individuellement et assignées au hasard à des groupes exposés aux radiofréquences (n=12) ou de manière factice (témoin-exposition; n=12). Les rats ont été logés dans des cages en acrylique dans une salle pour animaux avec un cycle de 12 h de lumière et de 12h d'obscurité. Les cages étaient placées dans un dispositif qui assure l'exposition corps entier des rats à une fréquence de 2,14 GHz, 20 h/jour pendant 9 semaines consécutives, à un DAS indiqué à 0,2 W/kg. La température et l'humidité relative ont respectivement été maintenues à 23±1 °C et 50±5 %. Une poussée par cytométrie en flux de la composition des cellules T a été effectuée, en utilisant une série de marquage. Seize gènes importants dans le contrôle de la composition de cette population (certains types cellulaires associés à des maladies auto-immunes en particulier) ont été étudiés dans la rate et le thymus. Un test ELISA dans le sérum a été réalisé pour une interleukine dont le gène est surexprimé.

À l'exception des réponses transcriptionnelles dans les tissus du thymus (Il4, Il5 et Il23a) et de la rate (Il5), les données suivantes n'ont montré aucune différence entre les rats exposés et témoins au cours du développement. Plus précisément, aucun changement dans les populations de lymphocytes T auxiliaires, de lymphocytes T CD4/CD8 cytotoxiques, d'interactions activant les lymphocytes T CD28–CD80/86, de populations de lymphocytes T régulateurs CD4 + CD25 + activés ou d'expression des gènes TGF-beta, Ifng ou IL17alpha n'a été observé. De même, l'exposition aux radiofréquences n'a eu aucun effet sur les concentrations sériques d'IL-4, indiquant aucun effet sur l'équilibre Th1/Th2. Prises ensemble, l'exposition aux radiofréquences dans les conditions décrites ne présente, d'après les conclusions des auteurs, aucun problème de sécurité en ce qui concerne les fonctions immunitaires au cours du développement. En résumé, cette étude montre les effets de l'exposition aux signaux radiofréquences W-CDMA 2,1 GHz sur la cinétique et la régulation des lymphocytes T et sur l'équilibre Th1/Th2 à travers les stades de développement chez le rat. Bien que certains transcrits associés au paradigme Th1/Th2 aient été régulés à la hausse dans le thymus et la rate après une exposition aux radiofréquences, aucun changement dans les protéines de la cinétique et de la régulation des lymphocytes T n'a été observé. Les auteurs concluent que l'exposition chronique à des radiofréquences sans fièvre n'affecte pas la fonction des lymphocytes T au stade du développement.

Le système d'exposition et la dosimétrie sont de bonne qualité. La raison pour laquelle la totalité des protéines des gènes modulés n'est pas quantifiée n'est pas claire ; une explication pourrait être que leurs auteurs n'ont pas observé d'effet sur la composition de la population cellulaire. Mis à part cela, l'ensemble des paramètres suivi est informatif et complémentaire. Le nombre d'animaux est limité, mais l'étude reste de bonne qualité au regard des critères définis pour cette expertise.

- *Okatan, DÖ, et al. (2018) "Continuous 900-megahertz electromagnetic field applied in middle and late-adolescence causes qualitative and quantitative changes in the ovarian morphology, tissue and blood biochemistry of the rat."*

[Système reproducteur]

Okatan *et al.* (2018) étudient l'impact des radiofréquences sur les ovaires chez la rate. Des groupes de 24 rates sont disposés dans une cage en plexiglas, exposés par une antenne dipôle à 900 MHz, à un niveau de l'ordre de 10 V/m, durant une heure/jour du 35<sup>ème</sup> au 59<sup>ème</sup> jour de gestation. Les champs électromagnétiques de 900 MHz appliqués au milieu et à la fin de l'adolescence peuvent entraîner des changements dans la morphologie et la biochimie de l'ovaire de rat. L'exposition à un CEM de 900 MHz au milieu et à la fin de l'adolescence augmente le stress oxydant dans l'ovaire et conduit à une altération de la morphologie ovarienne, de la qualité du follicule et à une diminution de l'activité mitotique et du nombre de follicules secondaires.

La dosimétrie en champ électrique de cette étude est de qualité correcte et correspond à un rayonnement de niveau modéré à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Le DAS est obtenu n'est pas justifié. Cette exposition est néanmoins reproductible. D'un point de vue biologique, l'étude est bien réalisée. Elle apporte des données intéressantes sur la réponse d'organes reproducteur à une exposition radiofréquences.

- *Perera, PGT, et al. (2018) Exposure to high-frequency electromagnetic field triggers rapid uptake of large nanosphere clusters by pheochromocytoma cells.*

[Système endocrinien]

Les suspensions des cellules PC 12 sont soumises à trois cycles consécutifs de traitement EMF de 30 s avec un taux d'absorption spécifique (DAS) de  $1,17 \text{ kW kg}^{-1}$ , avec des cellules refroidies entre les expositions pour réduire le chauffage diélectrique en vrac. L'exposition aux CEM a entraîné une augmentation transitoire de la perméabilité membranaire pendant 9 min dans 90 % des cellules traitées, comme le démontre l'internalisation rapide des nanosphères de silice (diamètre  $d$  23,5 nm) et de leurs amas observés ( $d \approx 63 \text{ nm}$ ). En revanche, les cellules PC 12 qui ont reçu un traitement thermique équivalent se sont comportées de manière similaire aux témoins non traités. La morphologie et la croissance des cellules traitées aux CEM n'ont pas été modifiées, ce qui indique que les cellules PC 12 étaient capables de rester viables après l'exposition aux CEM. L'activité métabolique des cellules PC 12 traitées par CEM est similaire à celle des échantillons traités thermiquement et témoins, sans différence dans la concentration totale en protéines et pour la libération de lactate déshydrogénase (LDH) entre ces groupes.

Ces résultats fournissent de nouvelles informations sur les mécanismes de l'activité biologique induite par les CEM dans les cellules de mammifères, suggérant une utilisation possible des CEM pour faciliter le transport efficace des biomolécules, des colorants et des traceurs, et du matériel génétique à travers la membrane cellulaire dans l'administration de médicaments et la thérapie génique.

Le DAS de  $1,17 \text{ kW/kg}$  est très élevé. Ce niveau d'exposition n'est pas représentatif d'un champ à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Néanmoins, la démarche expérimentale choisie consistant à répliquer l'élévation de température avec une source de chaleur qui n'est pas radiofréquence permet d'isoler la contribution intrinsèque des radiofréquences. A ce titre, l'exposition physique de ces travaux est de bonne qualité. Ces résultats fournissent de nouvelles informations sur les mécanismes de l'activité biologique induite par les CEM dans les cellules de mammifères, suggérant une utilisation possible des

CEM pour faciliter le transport efficace des biomolécules, des colorants et des traceurs, et du matériel génétique à travers la membrane cellulaire dans l'administration de médicaments et la thérapie génique.

- *Rosado, M. M., et al. (2014) "Effects of GSM-modulated 900MHz radiofrequency electromagnetic fields on the hematopoietic potential of mouse bone marrow cells"*

[Sang et plasma][Système immunitaire]

Rosado *et al.* (2014) ont comparé l'impact d'une exposition à des radiofréquences sur le potentiel de reconstitution hématopoïétique de cellules de la moelle osseuse (CMO) de souris. Cette étude fait suite à une étude du même groupe (Prisco *et al.* 2018), dans laquelle les auteurs avaient montré que des CMO issues de fémurs de souris exposées à des radiofréquences pouvaient reconstituer les compartiments hématopoïétiques central et périphérique lorsqu'elles étaient implantées chez des souris C57BL/6 irradiées aux rayons X.

Un dispositif sous forme de cellule GTEM assure l'exposition corps entier de souris de 12 semaines maintenues dans des cages en plastique, à 900 MHz, 2h/jour, 5 j/semaine, pendant 4 semaines consécutives (DAS estimé à 2 W/kg). Trois groupes de souris ont été utilisés avec 8 souris/groupe) : témoins cage ; témoin-exposition; exposé corps entier. Vingt-quatre heures après la dernière exposition, les CMO des fémurs des 3 groupes de souris ont été récoltées transplantées chez des souris déficientes. Afin de suivre le potentiel de reconstitution hématopoïétique des cellules implantées, des tests ont été réalisés dans le thymus et la rate : test Elisa (dosage de l'interféron gamma), test de prolifération en présence de concanavaline A et de thymidine tritiée, cytométrie en flux (identification des sous-populations de lymphocytes T et B), selon :

- des souris C57BL/6 transplantées, 1 h après une irradiation corps entier à 9 Gy de rayons X, avec les CMO des souris témoins cage, témoin-exposition ou exposées. Dans le thymus, 12 semaines après la transplantation, pas de différence entre les différents groupes de souris (nombre de thymocytes, prolifération cellulaire – réponse identique après stimulation à la concanavaline A – et répartition des différents stades de maturation des thymocytes). Les mêmes résultats sont observés 3 et 6 semaines après la transplantation. Dans la rate, le nombre de cellules spléniques, les pourcentages de lymphocytes B (IgM+)/T (CD3+), leur prolifération et la production d'interféron gamma (IFN-g) sont similaires dans les 3 groupes de souris. Les auteurs concluent que les CMO des souris témoin cage, témoin-exposition ou exposées sont capables de reconstituer des lymphocytes B et T matures dans le thymus et la rate de souris receveuses irradiées aux rayons X.
- Le modèle B part du principe que des CMO de différentes souris donneuses peuvent entrer en compétition au sein d'un même hôte. Des souris Rag2<sup>-/-</sup> déficientes en lymphocytes ont été transplantées avec des mélanges de CMO provenant : (1) de souris témoin-cage et témoin-exposition ; (2) de souris témoin-exposition et exposées ; de souris témoin-cage et exposées. Dans le thymus, 12 semaines après la transplantation, les souris receveuses ont un nombre normal de cellules et des fréquences normales de lymphocytes pour les CMO issues de souris témoins exposition et exposées. À l'inverse, lorsque les CMO des souris témoin-exposition sont en concurrence avec les CMO issues de souris témoin-cage, ces dernières ont montré un avantage compétitif pour générer les sous-populations de thymocytes. Le même résultat est observé avec des CMO issues de souris témoin-cage qui exercent un avantage compétitif en présence de CMO issues de souris exposées. Les auteurs concluent que le stress généré chez les témoin-exposition ou l'exposition aux radiofréquences des souris donneuses a un impact négatif sur la capacité de leurs



CMO à reconstituer les compartiments lymphocytaires chez les souris receveuses. Ils concluent également que la capacité des CMO à entrer en compétition pour la reconstitution du thymus n'est pas été affectée par l'exposition aux radiofréquences. Par contre, dans la rate, les CMO de toutes les conditions participent de façon équivalente pour reconstituer les lymphocytes B et T. Donc l'exposition aux radiofréquences n'affecte la capacité des CMO à entrer en compétition pour la reconstitution en lymphocytes B et T matures de la rate.

Les auteurs concluent qu'il n'y a aucun effet d'une exposition *in vivo* à des radiofréquences modulées sur la capacité de cellules précurseurs de moelle osseuse à coloniser les organes lymphoïdes et à se différencier en lymphocytes T et B phénotypiquement et fonctionnellement matures. Le système d'exposition et la dosimétrie sont de bonne qualité. L'expérience est bien menée et est de bonne qualité au regard des critères définis pour cette expertise.

- *Sahin, D., et al. (2016) "The 2100 MHz radiofrequency radiation of a 3G-mobile phone and the DNA oxidative damage in brain"*

[Cerveau]

L'étude de Sahin *et al.*, 2016 a cherché à évaluer l'effet d'un rayonnement de 2100 MHz simulant un téléphone mobile 3G sur le cerveau de rattes pendant 10 et 40 jours d'exposition. L'exposition est réalisée à l'aide d'une antenne cornet placée à 12 cm au-dessus de l'animal. Le signal à la fréquence de 2100 MHz est modulé pour obtenir un signal de type 3G. Le système est pertinent pour une condition d'exposition corps entier, type champ lointain d'un signal 3G 2100 MHz. L'exposition est réalisée à l'aide d'une antenne cornet placée à 12 cm au-dessus de l'animal. Le signal à la fréquence de 2100 MHz est modulé pour obtenir un signal de type 3G. L'exposition dure 6 h par jour, 5 jours consécutifs par semaine, durant 2 semaines ou durant 8 semaines, correspondant à 10 et 40 jours d'exposition. La densité de puissance est de 0,025 mW/cm<sup>2</sup>, et une estimation du DAS est donnée 0,015 W/kg. Une mesure de DAS sur un fantôme aurait permis de valider l'estimation analytique du DAS. La puissance est contrôlée et enregistrée tout au long des expérimentations. Les niveaux de dommages oxydatifs à l'ADN (8-OH-dG) et de malondialdéhyde (MDA) ont mesurés dans le cerveau des rattes. L'exposition entraîne l'augmentation des dommages oxydatifs de l'ADN après 10 jours d'exposition mais une diminution après 40 jours d'exposition par rapport aux groupes témoins. De plus une diminution du produit final de peroxydation lipidique, le MDA est observée après 40 jours d'exposition. La diminution des quantités de dommages mesurées après les 40 jours d'exposition pourrait être refléter des mécanismes accrus de réparation de l'ADN.

- *Schuermann, D., et al. (2020) "Assessment of genotoxicity in human cells exposed to modulated electromagnetic fields of wireless communication devices"*

[Poumons]

Schuermann *et al.* (2020) ont étudié les effets génotoxiques de l'exposition à des radiofréquences (1950 et 2450 MHz) sur des cultures primaires de fibroblaste de poumon (MRC-5) et sur des cellules d'ostéosarcomes humains (U-2 OS). Des cellules immortalisées de trophoblastes humains (HTR-8/SVneo) ont également été utilisées et des cellules exprimant le gène XRCC1 étiqueté GFP (GFP-tagged XRCC1) ont été générées. Les expériences ont été menées en parallèle dans deux laboratoires différents et les résultats ont été comparés. Deux systèmes commerciaux de la société ITIS (sXc1950 et sXcLive2450), insérés dans un incubateur et couplés à un générateur de signal ont été utilisés. Les cellules ont été soumises à 4 types de signaux différents : GSM, UMTS, Wi-Fi et RFID, à deux fréquences porteuses différentes (1950 et 2450 MHz). Les valeurs des DAS moyen pour les



expositions radiofréquences étaient de 0 (pour les témoin-exposition), 0,5, 2 et 4,9W/kg. Les temps d'exposition variaient entre 1, 4, 16 et 24 h. Des techniques classiques et avancées (lecture robotisée) de toxicologie génétique et de réparation de l'ADN ont été utilisées. En plus des témoin-exposition, des témoins positifs ont été utilisés. Les différentes expériences ont été menées avec un nombre d'animaux compris entre 3 et 6.

Parmi toutes les expériences effectuées, seule une expérience a montré une tendance mais non significative, avec des dommages à l'ADN réduits à 16 h ( $p < 0,079$ ) et induits à 24 h sur les cellules MRC5 traitées au PARPi et exposées au signal UMTS à 4,9 W/kg ( $p < 0,075$ ). Toutes les autres expériences n'ont montré aucun effet significatif entre les témoin-exposition et les traitées. Les résultats ne montrent aucune différence significative entre les groupes non-exposés et les groupes exposés, quelles que soient les techniques employées pour évaluer des effets génotoxiques (classiques ou avancées). Les auteurs concluent que les GSM, UMTS, Wi-Fi et RFID (à 1950 et 2450 MHz, en continue ou intermittent) n'induisent pas de dommages à l'ADN et n'altèrent pas les capacités de réparation de l'ADN des différentes lignées cellulaires testées.

Les conditions expérimentales (champ électromagnétique et température) sont maîtrisées et contrôlées. L'étude est réalisée en double aveugle et dans deux laboratoires différents, qui ont utilisés les mêmes modèles cellulaires, qu'ils ont exposés dans les mêmes conditions. Des expositions à différents types et fréquences de radiofréquences ont été testés sur des temps courts et longs, le tout avec de très bons témoins. Cette étude est de bonne qualité au regard des critères définis pour cette expertise. Le groupe de travail note toutefois qu'un des supports financiers de l'étude est la *Swiss Research Foundation for Electricity and Mobile Communication*, qui pourrait avoir influencer les résultats.

- *Shahin, S, et al. (2018a) "2.45 GHz microwave radiation induced oxidative and nitrosative stress mediated testicular apoptosis: Involvement of a p53 dependent bax-caspase-3 mediated pathway."*

[Système reproducteur]

Shahin *et al.*, 2018, ont étudié la voie de signalisation associée à l'apoptose testiculaire induite par une accumulation de radicaux libres et un déséquilibre redox consécutive à une exposition aux radiofréquences de 2,45 GHz, ainsi que le degré de sévérité en augmentant la durée d'exposition de 15 à 60 jours. 40 souris ont été réparties en 4 groupes (10/souris/groupe) avec un groupe non exposé, un groupe exposé à 2h/jour à 2,45GHz (DAS de 0,0146 W/kg) pendant 15 jours, un groupe pendant 30 jours et un groupe pendant 60 jours. Les souris du groupe témoin ont été soumises à une exposition fictive pendant 60 jours (pas de contrôle cage). L'exposition physique décrite en terme de densité de puissance dans la publication en référence est correcte. Le DAS n'est pas justifié. Malgré cette limitation mineure, l'exposition physique est reproductible, elle correspond à un niveau d'exposition modéré de signaux de téléphonie mobile. La température rectale de toutes les souris a été surveillée pendant le premier et les trois derniers jours d'exposition. Le dosage de la testostérone a été fait par test Elisa dans le plasma. Le dosage des niveaux de ROS, NO et MDA, des enzymes antioxydantes (SOD, CAT et GPx), et l'expression du cytochrome C par western blot, ont été faits dans 10 testicules gauches et 5 droites. Les épидидymes ont servi à définir le nombre et la viabilité des spermatozoïdes. Les 5 testicules droits restants ont été fixés et colorés HE et utilisés pour l'expression par immunofluorescence des protéines/enzymes apoptotiques tels que p53, Bax, Bcl-2, Bcl-xL, pro-caspase-3, active/clivée-caspase-3, et PARP-1 clivée/non clivée.

Une diminution du nombre et de la viabilité des spermatozoïdes a été observée dans tous les

groupes de souris irradiées par les radiofréquences et les effets sont statistiquement durée-dépendant. La concentration de testostérone diminue significativement avec la durée d'exposition. Une augmentation, durée-dépendante, du niveau de ROS, NO et MDA a été observée dans les testicules des souris exposées. L'activité des enzymes anti-oxydants SOD, CAT et GPx est diminuée et le degré de diminution est plus important lorsque la durée de l'exposition augmente. L'expression de p53, Bax, de la caspase-3 active augmente alors que l'expression de Bcl-xL, Bcl-2, pro-caspase-3 et PARP-1 est significativement diminuée après exposition et l'effet augmente avec la durée. L'expression du cytochrome C est significativement augmentée et l'effet est durée-dépendant. Les auteurs concluent que le rayonnement radiofréquences de 2,45 GHz induit la formation et l'accumulation excessive de radicaux libres dans le tissu testiculaire et active l'apoptose via la voie apoptotique médiée par p53 et dépendante de Bax-caspase-3. La conséquence peut être un état similaire à l'infertilité et plus la durée d'exposition augmente, plus la gravité des lésions augmente.

- *Sokolovic, D., et al. (2015) "The effects of melatonin on oxidative stress parameters and DNA fragmentation in testicular tissue of rats exposed to microwave radiation"*

[Système reproducteur]

L'étude de Sokolovic, 2015 a consisté à évaluer l'effet d'un traitement à la mélatonine sur les paramètres du stress oxydatif et la fragmentation de l'ADN dans les testicules de rats exposés à 900MHz, 4 h/jour pendant 40 et 60 jours avec un DAS de 0,043–0,135 W/kg et à un niveau de 9,88 à 18,356 V/m. Le système d'exposition physique de cette étude et la dosimétrie associée est très sommaire et le DAS est très peu justifié. Cette exposition est néanmoins reproductible et correspond à un niveau modéré d'exposition aux rayonnements de la téléphonie mobile. Il y a 3 cages avec 7 rats pour chaque groupe. Les paramètres étudiés sont : dosage du MDA, de l'oxydation des protéines (contenu en protéines carbonylées), activité de la catalase, de la DNase alcaline, (DNase I), acide (DNase II), de la xanthine oxydase (dosage acide urique). Les concentrations de MDA (après 20, 40 et 60 jours d'exposition) et la teneur en protéines carbonylées (après 40 et 60 jours d'exposition) dans les testicules des rats exposés, sont significativement plus élevées que dans le groupe témoin ( $p < 0,001$ ). L'activité de la catalase est significativement diminuée chez les rats exposés (après les 3 temps d'exposition ;  $p < 0,05$ ) alors que celle de la xanthine oxydase diminue seulement après 40 et 60 jours d'exposition. L'activité des DNase I et II est augmentée après les 3 temps d'exposition pour la DNase I mais après 40 et 60 jours pour la DNase II. La mélatonine n'est pas efficace pour contrecarrer tous les effets de l'exposition. Les auteurs concluent que la mélatonine exerce de forts effets protecteurs dans les testicules de rats exposés aux micro-ondes en diminuant le stress oxydatif et la fragmentation de l'ADN. Les effets protecteurs seraient partiellement dus à des effets sur l'activité de la xanthine oxydase, en particulier après une exposition prolongée.

- *Suzuki, S., et al. (2017) "Influence of radiofrequency-electromagnetic waves from 3rd-generation cellular phones on fertilization and embryo development in mice"*

[Système reproducteur][Développement]

Le but de l'étude menée par Suzuki *et al.* (2017) est d'évaluer les effets de l'exposition aux ondes électromagnétiques de radiofréquence (RF-EMW) des téléphones cellulaires de 3ème génération (3G) sur la fécondation et l'embryogenèse chez la souris. Les ovocytes et les spermatozoïdes sont exposés à des radiofréquences de téléphones cellulaires 3G, à accès multiple par répartition en code à large bande de 1,95 GHz, à un taux d'absorption spécifique de 2mW/g pendant 60 minutes, ou à une exposition fictive. Après l'exposition aux radiofréquences, une fécondation in vitro et une injection intra-cytoplasmique de sperme ont

été réalisées. Les taux de fécondation, d'embryogenèse (embryon à 8 cellules, blastocyste) et d'aberration chromosomique ont été comparés entre les groupes spermatozoïdes et ovocytes : les deux exposés, les deux non exposés, un exposé et l'autre non exposé. Les taux de fécondation, d'embryogenèse et de formation de blastocystes n'ont pas changé de façon significative dans les quatre groupes.

L'exposition physique de cette étude est de très bonne qualité : les grandeurs sont justifiées et suivies en temps réel. Cette exposition est représentative de signaux de téléphonie mobile au seuil limite de la norme.

- *Tkalec, M., et al. (2013) Oxidative and genotoxic effects of 900 MHz electromagnetic fields in the earthworm Eisenia fetida*

[Non mammifère]

Tkalec *et al.* (2013) analyse le stress oxydant et les dommages à l'ADN induits par une exposition radiofréquences 900 MHz de vers de terre adultes *E. fetida*. Les vers de terre sont exposés dans une cellule GTEM, à 900 MHz de 2 à 4h, à un niveau de 10 à 120 V/m, soit un DAS indiqué de 0,13 à 9,33 mW/kg. Les auteurs analysent l'oxydation des protéines (carbonyle) et des lipides (malondialdéhyde (MDA)), ils mesurent les activités catalase et glutathion réductase et étudient les cassures à l'ADN (test des Comètes). Les vers ont été exposés aux radiofréquences 900 MHz 10, 23, 41 et 120 V m<sup>-1</sup> pendant 2 h. Pour le champ de 23 V m<sup>-1</sup>, l'effet d'une exposition de 4 h et de la modulation de champ (80 % AM 1 kHz sinusoïdal) ont également été étudiés.

Test des Comètes : L'exposition *in vivo* d'*E. fetida* aux radiofréquences à 900 MHz a provoqué une augmentation statistiquement significative des dommages à l'ADN dans les coelomocytes de vers de terre à toutes les intensités de champ. Deux heures d'exposition au niveau de champ de 10 et 23 V m<sup>-1</sup> (à un DAS de 0,13 et 0,35 mW kg<sup>-1</sup>) provoquent une augmentation des dommages à l'ADN chez les vers de terre exposés, et cet effet est plus prononcé par les champs plus élevés (41 et 120 V m<sup>-1</sup>), mais sans différence entre 41 et 120. L'augmentation du temps d'exposition de 2 à 4 h à 23 V m<sup>-1</sup> n'augmente pas de manière significative l'effet génotoxique. La modulation du champ 23 V m<sup>-1</sup> augmente de manière significative les dommages à l'ADN après 2 h d'exposition (3x plus élevé que le niveau de contrôle). Le pourcentage de cellules dépassant 50 % de l'ADN dans la queue est au maximum de 7 % pour l'exposition continue et 9,63 % pour l'exposition modulée de modulation.

Stress oxydatif : La teneur en protéine carbonyle augmente significativement après exposition pendant 2 h au radiofréquences dans tous les champs étudiés au-dessus de 10 V m<sup>-1</sup> par rapport aux témoins mais sans augmentation dose-dépendante entre 23 et 120 V/m. La teneur en carbonyle la plus élevée est observée après l'exposition au champ modulé à 23 V m<sup>-1</sup>. La teneur en carbonyle est significativement corrélée avec les dommages observés à l'ADN ( $r = 0,85$  ;  $P < 0,05$ ). Le niveau de peroxydation lipidique n'augmente qu'après 2 h d'exposition au radiofréquences à 23 V/m et à 120 V/m. L'activité CAT est significativement augmentée chez les vers de terre exposés à radiofréquences à 23, 41 et 120 V/m mais la modulation et l'exposition prolongée à 23 V/m n'ont pas induit d'effet significatif. Par contre, toutes les expositions aux radiofréquences entraînent une augmentation statistiquement significative de l'activité GR sans différence entre les conditions d'exposition.

Dans ce travail, la dosimétrie de cette exposition physique est de bonne qualité, validée par simulation numérique. Le niveau d'exposition est comparable à celui de la téléphonie mobile à niveau modéré. Il est donc possible de conclure que toutes les expositions ont induit un effet génotoxique (test des comètes) significatif dans les coelomocytes des vers de terre. L'exposition a aussi induit un stress antioxydant objectivement par une augmentation des activités

catalase et glutathion réductase accompagné de dommages oxydatifs lipidiques et protéiques. Cependant, aucune corrélation entre le stress oxydatif et les dommages à l'ADN n'est montrée.

- *Waldmann, P., et al. (2013) "Influence of GSM signals on human peripheral lymphocytes: study of genotoxicity"*

[Sang et plasma]

Waldmann *et al.* (2013) conduisent une étude inter-laboratoire pour apporter une réponse solide à la possible génotoxicité des radiofréquences dans les lymphocytes humains. Le système d'exposition utilise des guides d'onde rectangulaires insérés dans un incubateur pour exposer jusqu'à 9 boîtes de Pétri dans chaque guide d'onde. Une dosimétrie complète a été réalisée ainsi qu'un contrôle de la température. L'exposition est réalisée à 1800 MHz avec un signal de type GSM, de façon intermittente, à savoir 5 min on et 10 min off. La dosimétrie donne un niveau de DAS normalisé de 1,8 W/kg/W, et les expositions sont effectuées à 0,2, 2 et 10 W/kg. Une élévation de température inférieure à 0,4°C est observée par rapport au témoin. Partant de sang de donneurs d'âges différents (10-20 ou 50-65 ans), les auteurs exposent les cellules dans un laboratoire et les envoient dans trois autres en aveugle, où chacun utilise 4 techniques d'étude de la génotoxicité, ce qui génère 9 paramètres. Aucun des paramètres ne révèle de génotoxicité dans les 3 laboratoires en comparant les valeurs dans les cellules exposées avec celles des témoin-exposition. Une exception est à noter dans un seul laboratoire : les chromosomes bicentriques sont significativement plus élevés après exposition au DAS le plus élevé (10 W/kg). Les auteurs testent également l'influence du niveau de DAS, qui n'est mise en évidence pour aucun paramètre. Une seule exception est dans un seul laboratoire une corrélation significative pour les chromosomes bicentriques. Le fait que ces observations ne soient faites que dans un des trois laboratoires et pour un seul des 9 paramètres ne remet pas en cause, en accord avec le plan statistique, l'absence de génotoxicité observée dans ce travail. Il faut noter qu'une induction significative est vue pour tous les paramètres étudiés dans les contrôles positifs. Cette étude inter-laboratoire est exemplaire à la fois dans son organisation, la variété des techniques utilisées et la rigueur de son analyse statistique. Pour la problématique de la carcinogenèse, une observation si solide d'une génotoxicité au mieux très faible des radiofréquences est une donnée importante.

- *Wang, X., et al. (2015) "8-oxoG DNA glycosylase-1 inhibition sensitizes Neuro-2a cells to oxidative DNA base damage induced by 900 MHz radiofrequency electromagnetic radiation"*

[Cerveau]

Wang *et al.* (2015) exposent une lignée de neuroblastome de souris (Neuro-2a) à un signal GSM de DAS variable (0,5, 1 ou 2 W/kg) pendant 24h. Le système d'exposition est constitué de deux guides d'onde rectangulaire, ou chambres, placés dans un incubateur. Des boîtes de Pétri (8 au total) sont positionnées sur des supports à l'intérieur des chambres. Ces dernières sont équipées d'un système de ventilation permettant un contrôle de la température et des différents paramètres à l'intérieur des guides d'onde. Quatre niveaux d'exposition sont choisis à savoir 0, 0,5, 1 et 2 W/kg, à la fréquence de 900 MHz pour un signal de type GSM et une durée de 24 h. Le système d'exposition est un dispositif commercialisé, qui permet un contrôle des différents paramètres d'exposition. Une des chambres sert d'exposition, l'autre de témoin. Un contrôle par ordinateur est effectué, permettant des expositions en aveugle et un choix aléatoire de la chambre exposée et de celle témoin. Aucune cytotoxicité ni formation de cassure de l'ADN ne sont observées. La production de ROS et de 8oxoG n'est mise en évidence qu'au DAS le plus élevé. Quand l'expression de l'enzyme de réparation OOG1 est inhibée par siRNA, une augmentation plus élevée de la 8oxoG est observée à 2 W/kg). Une augmentation significative est aussi observée à 1 W/kg. Ni les ROS ni les cassures simples



brin ne sont affectées par le siRNA OGG1. Les résultats sont les mêmes sans siRNA et avec un siRNA contrôle.

Ce travail, qui implique un dispositif d'exposition correspondant à une exposition localisée, type téléphone mobile, avec un niveau correspondant à la restriction de base, à savoir 2 W/kg, et d'une durée de 24 h, est bien conçu. Il montre l'induction d'un stress oxydant conduisant à la formation de 8oxoG lors d'une exposition de cellules à 2 W/kg de signal GSM pendant 24h. La production de ROS conduisant à l'oxydation de la guanine sans cassures de la chaîne d'ADN est une observation intéressante pour une recherche de la nature chimique des oxydants impliqués.

- Wang, X., et al. (2018) *Multivariable quantitative relation between cell viability and the exposure parameters of 9.33 GHz RF-EMP irradiation*

[Foie]

Wang et al. (2018) exposent des lignées d'hépatocytes de rat (IAR-20) et humaine L-02 à un signal radiofréquences pulsé à 9.33 GHz. Ils utilisent des intensités de champ électrique très élevées (quelques dizaines de kV/m) correspondant à des DAS de l'ordre de 500 kW/kg pendant les impulsions. De ce fait, les auteurs s'attachent à trouver des conditions dans lesquelles l'effet thermique est minime. Par une mesure directe dans les plaques 96 puits, ils mettent en évidence une augmentation de température seulement pour un nombre d'impulsions supérieur à 100. Par le calcul, ils démontrent que l'augmentation est de l'ordre de 0,01°C dans les conditions les plus extrêmes de l'étude. Les auteurs mesurent ensuite le lien entre la nature de l'exposition et la viabilité cellulaire de la lignée de rat IAR 20 mesurée par un test MTT. Pour un champ de 31,62 kV/m et une durée d'impulsion de 750 ns, ils observent que la perte de viabilité atteint un plateau pour un nombre d'impulsion de 10. Ils étudient ensuite l'effet de l'intensité entre 26,21 et 71,44 kV/m avec 10 impulsions. Ils observent une dépendance linéaire. Ils observent également que la perte de viabilité augmente, de façon non linéaire, avec la durée des impulsions. Le traitement de ces données permet de proposer une équation où la viabilité est proportionnelle à l'intensité et dans laquelle nombre et durée d'impulsion, dont le produit est le temps effectif d'exposition, sont dans une exponentielle. Deux paramètres dépendant du type cellulaire sont ainsi définis. La dernière expérience est ensuite répétée sur la lignée humaine L-02 et les paramètres de l'équation sont déterminés. La comparaison avec ceux de la lignée AIR 20 permet de démontrer la plus forte sensibilité de cette dernière

Cette étude est un peu trop simple d'un point de vue biologique mais bien réalisée. L'exposition physique de cette étude est impulsionnelle, à des formes d'onde et des niveaux très élevés qui relèvent d'applications thérapeutiques ou du moins d'études destinées à étudier les effets athermiques des radiofréquences. Cette exposition ne correspond pas à celle de la téléphonie ou d'exposition de l'Homme pour des applications industrielles. L'exposition présente des limitations mineures car l'hétérogénéité de l'exposition au sein d'un puit et entre les puits n'est pas assurée. Cette exposition est néanmoins reproductible. Un point fort est le soin avec lequel est étudiée l'induction d'éventuels effet thermique On peut noter que les DAS pendant les impulsions sont très élevés, quelques centaines de kW/kg. Ceci est dû à la très faible durée des impulsions de moins d'une microseconde. Si l'on considère l'énergie déposée par 100 impulsion (limite de l'effet thermique) rapportée à 1 min, le DAS effectif est de l'ordre de 1 W/kg à 1 m de la source. Il est regrettable à ce sujet que la durée totale des expositions des cellules ne soit pas indiquée. Avec cette source radiofréquences, les auteurs propose une étude approfondie du rôle respectif des paramètres de signal d'exposition par une démarche innovante et peu répandue dans la littérature. En terme de cancérogenèse, les informations restent limitées à une perte de viabilité que reste modeste (moins de 15 %).



- *von Niederhäusern, N., et al. (2019) Effects of radiofrequency electromagnetic field exposure on neuronal differentiation and mitochondrial function in SH-SY5Y cells*

[Cerveau]

L'exposition aux champs électromagnétiques de radiofréquence (RF-EMF) a considérablement augmenté au cours des dernières décennies avec l'utilisation croissante des téléphones mobiles dans le monde. L'objectif de cette étude était d'évaluer les effets des radiofréquences sur la différenciation neuronale et les voies de signalisation sous-jacentes impliquées dans la différenciation neuronale, la neurodégénération et la fonction mitochondriale. Le système d'exposition est constitué de deux guides d'onde, dans lesquels sont positionnés précisément des boîtes de Petri. Les guides d'onde sont dimensionnés pour permettre une exposition à la fréquence de 935 MHz. Le tout est installé dans un incubateur. Le niveau de DAS dans les boîtes de Petri est de 4 W/kg, pour une exposition de 24h avec des signaux de type GSM, en mode discontinu, à savoir 120 s on, et 120 s off. La différenciation des cellules SH-SY5Y a été réalisée en utilisant de l'acide rétinoïque all-trans ou de la staurosporine pour obtenir des neurones cholinergiques et dopaminergiques. L'exposition des cellules SH-SY5Y n'a pas modifié quantitativement les phénotypes neuronaux. Les marqueurs des voies de signalisation étudiées, à savoir les protéines kinases activées par des agents mitogènes (MAPK), les kinases régulées par le signal extracellulaire (Erk) 1 et 2 (p-Erk1/2) et la protéine kinase B (Akt), la glycogène synthase kinase 3  $\beta$  (GSK3 $\beta$ ) et la Wnt/ $\beta$ -caténine, n'ont pas été affectés de manière significative par les radiofréquences par rapport à l'exposition simulée. Les radiofréquences ont altéré la respiration mitochondriale dans les cellules soumises à une privation de glucose, mais les niveaux de glutathion et les marqueurs de fission et de fusion mitochondriales n'ont pas été modifiés. Ces résultats indiquent que les radiofréquences peuvent entraîner une altération de la fonction physiologique des mitochondries. Cette fonction mitochondriale ne se manifeste qu'en cas de respiration maximale et de facteurs de stress supplémentaires tels que la privation de glucose. D'autres recherches sont nécessaires pour étudier en détail les effets des CEM-FR sur la fonction mitochondriale, car l'altération de la fonction mitochondriale est étroitement liée à la pathogenèse des maladies neurodégénératives.

L'exposition aux radiofréquences à 935 MHz et à un DAS de 4 W/kg pendant 24 h n'a pas modifié le phénotype neuronal après différenciation neuronale dans les cellules SH-SY5Y. Les données sur les marqueurs des voies de signalisation (Akt/GSK3 $\beta$  ; MAPK ; Wnt/ $\beta$ -caténine) impliquées dans la différenciation neuronale et la neurodégénération corroborent l'hypothèse selon laquelle l'exposition aux radiofréquences n'interfère pas avec la différenciation neuronale. Une fonction mitochondriale défectueuse est souvent liée à la neurodégénérescence. L'exposition aux radiofréquences a modifié la respiration mitochondriale uniquement dans les cellules SH-SY5Y privées de glucose. Les niveaux de GSH étaient nettement inférieurs dans les cellules privées de glucose, mais les radiofréquences n'ont pas modifié la production de GSH.

Le travail est de qualité. L'exposition est faite avec un système commercial, classiquement utilisé pour ce type d'expérience et qui présente les caractéristiques requises pour maîtriser les expositions. Les approches biologiques sont bien faites. Elles montrent que les protéines responsables de la fission et de la fusion des mitochondries n'ont pas été modifiées par l'exposition aux radiofréquences, ce qui confirme les conclusions selon lesquelles l'intégrité et la fonction des mitochondries ne sont pas altérées. Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour étudier en détail les effets des radiofréquences sur la fonction mitochondriale, car l'altération des mitochondries est étroitement liée à la pathogenèse des maladies neurodégénératives.

- *Xu, S., et al. (2013) "Cell Type-Dependent Induction of DNA Damage by 1800 MHz Radiofrequency Electromagnetic Fields Does Not Result in Significant Cellular Dysfunctions"*

[Cerveau][Peau][système cardio-vasculaire][Poumons]

L'étude de Xu *et al.*, 2013 a cherché si les radiofréquences induisent des dommages à l'ADN et si les effets dépendent du type de cellules en évaluant la formation de foyers gH2AX et s'ils existaient, d'évaluer les conséquences biologiques. Six différents types de cellules ont été exposés à 1800 MHz avec un signal de type GSM. Le système d'exposition est basé sur l'utilisation de guides d'onde rectangulaires insérés dans un incubateur. La version connue sous la référence sXc1800, permet d'exposer jusqu'à 6 boîtes de Petri 35 mm dans chaque guide d'onde. Les expositions sont effectuées à 3 W/kg durant 1 h ou 24 h avec 5 min "ON" et 10 min "OFF". Une élévation de température inférieure à 0,1°C est observée par rapport au témoin-exposition. Le système utilisé permet d'illuminer les échantillons dans des conditions maîtrisées. Après exposition, les cellules sont immunomarquées pour l'expression de gH2AX. Les conséquences biologiques des variations d'expression de gH2AX ont été explorées avec des tests de comète et TUNEL, une cytométrie en flux et un test de croissance cellulaire. Les cellules sont des cellules pulmonaires de hamster chinois (CHL), des astrocytes primaires de rat Sprague-Dawley nouveau-nés, des cellules épithéliales amniotiques humaines (FL), des cellules épithéliales humaines du cristallin (HLEC), des fibroblastes de peau humaine (HSF) et des cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC). Les effets des radiofréquences sont comparés à ceux induits par un traitement au 4-nitroquinoline 1-oxide (4NQO) qui induit des dommages à l'ADN. L'exposition aux radiofréquences augmente la formation de foyers gH2AX seulement après 24h d'exposition dans les cellules CHL et HSF. Ces foyers gH2AX n'entraînent pas de fragmentation de l'ADN (test Tunel), n'induisent pas d'arrêt durable du cycle cellulaire, n'affectent pas la prolifération et la viabilité des cellules et n'augmentent pas le niveau de ROS intracellulaires. Les auteurs concluent que l'exposition induit la formation de foyers gH2AX dans certains types cellulaires uniquement parce que les dommages causés à l'ADN pourraient être réversibles ou compensés par des voies de réparation de l'ADN ou d'autres

- *Zhang, K. Y., et al. (2017) "Enhancement of X-ray induced apoptosis by mobile phone-like radio-frequency electromagnetic fields in mouse spermatocyte-derived cells"*

[Système reproducteur]

L'étude de Zhang *et al.*, 2017 consistait à explorer les effets combinés de radiofréquences (RF) de 1950 MHz à un débit d'absorption spécifique (DAS) de 3 W/kg pendant 24 heures puis sont exposées ou non à des rayons X de 6 Gy, dans des cellules dérivées de spermatocytes de souris (GC-1). Les références du système d'exposition sont indiquées et permettent d'assurer la reproductibilité de cette exposition dont le niveau est supérieur au seuil de sécurité généralement reconnu en téléphonie mobile (DAS = 3 W/kg). Il s'agit pour cette étude de considérer aussi le biais apporté par l'exposition à des rayonnements X. La prolifération, survie, apoptose précoce et tardive ont été mesurées. Les effets sont suivis 1j, 2j, 3j et 4j après exposition. La prolifération diminue légèrement ( $p < 0,05$ ) après 3j d'exposition aux radiofréquences. Cette diminution est plus importante avec la co-exposition radiofréquences + rayons X dès 2j ( $p < 0,05$ ) et se maintient à 3 ( $p < 0,01$ ) et 4j après exposition ( $p < 0,05$ ). Lorsque la prolifération est mesurée avec l'incorporation de BrdU 3 j après les expositions, il n'y a pas de différence entre le groupe témoin exposition et le groupe radiofréquences, mais l'exposition aux radiofréquences amplifie l'inhibition de la prolifération cellulaire induite par les rayons X. Après une exposition de 24 heures aux radiofréquences avec/sans rayons X, le nombre de cellules apoptotiques précoces, tardives et de cellules apoptotiques totales n'est pas différent de celui des cellules non exposées. Trois jours après l'exposition aux radiofréquences, le

nombre de cellules apoptotiques totales augmente légèrement mais sans être significatif alors que l'exposition aux radiofréquences augmente le taux d'apoptose induit par la co-exposition aux rayons X ( $p < 0,01$ ). Il n'y a pas de différence dans le niveau d'activité de la caspase-3 entre le groupe témoin exposition et le groupe radiofréquences mais l'exposition aux radiofréquences amplifie l'activation de la caspase-3 induite par les rayons X. Le mécanisme d'apoptose a été étudié en mesurant l'expression de Bax et Bcl2 par western blot. Il n'y a aucune différence dans l'expression de Bcl-2 et Bax entre le groupe radiofréquences et le groupe témoin exposition. Par contre, l'exposition aux radiofréquences amplifie l'inhibition de l'expression de Bcl-2 et l'augmentation de l'expression de Bax induites par les rayons X ( $p < 0,05$ ). Les auteurs concluent que bien que le test MTT montre une légère inhibition de la prolifération cellulaire par les radiofréquences, 3 jours après l'exposition, ce résultat n'est pas confirmé par le test d'incorporation de BrdU. Au vu de ces données, l'exposition aux radiofréquences seule ne peut manifestement pas affecter la prolifération cellulaire des cellules GC-1 mais elle pourrait aggraver l'inhibition de la prolifération cellulaire et l'apoptose induites par les rayons X, dans lesquelles Bcl-2 et Bax pourraient être impliqués.

- Zhou, Y, et al. (2016) *Effects of electromagnetic pulse exposure on gelatinase of blood-brain barrier in vitro.*

[Cerveau]

Le surnageant et les cellules cultivées ont été collectés à différents moments après exposition à l'EMP (intensité maximale 400 kV/m, temps de montée 10 ns, largeur d'impulsion 350 ns, 0,5 pps et 200 impulsions). Les quantités de protéines des gélatinases cellulaires MMP-2 et MMP-9 et de leurs inhibiteurs endogènes TIMP-1 et TIMP-2 respectivement, ont été analysées par « western blot ». L'activité de la gélatinase dans le surnageant des cultures est détectée par zymographie de la gélatine. Il a été constaté que par rapport au groupe témoin exposition que la quantité de protéine MMP-2 est significativement augmentée après 6 h d'exposition ; la quantité de son inhibiteur endogène TIMP-2 ne change pas après exposition aux ondes. Les quantités de MMP-9 et de son inhibiteur endogène TIMP-1 ne sont pas modifiées après exposition. Les résultats de la zymographie montrent que l'activité de la MMP-2 à l'intérieur comme à l'extérieur de la structure biologique étudiée est significativement augmentée 6 h après l'exposition par rapport au témoin-exposition.

L'exposition ne correspond pas à un environnement domestique ou professionnel. Cette forme d'onde peut être générée à visée thérapeutique ou observée dans le contexte militaire. Cette exposition athermique est assurée par une dosimétrie de qualité. Les approches biologiques sont elles aussi bien réalisées. Cette recherche apporte donc des données intéressantes quant à l'évolution de l'état de la BHE sous l'effet d'expositions aux ondes. Le type d'onde est développé pour un but thérapeutiques afin de permettre entrée facilitée de produits médicamenteux dans le cerveau, mais ce type de recherche permet d'évaluer les limites de cette barrière pour les tissus cérébraux et les possibilités de pénétrations de métastases cancéreuses qui peuvent produire ce type de protéase.

## 2.2 Limites méthodologiques mineures

- Aït-Aïssa, S., et al. (2013) *"In situ expression of heat-shock proteins and 3-nitrotyrosine in brains of young rats exposed to a WiFi signal in utero and in early life"*

[Cerveau][Développement]

Aït-Aïssa et al. étudient l'impact d'une exposition wifi (2,45 GHz) dans le cerveau de rats en développement. Les animaux sont disposés dans une chambre réverbérante, exposés à un signal radiofréquence de type wifi (2,45 GHz). Suivant les groupes de rats, les niveaux

d'exposition sont respectivement le seuil "public" (0,08 W/kg), le seuil "travailleurs" (0,4 W/kg) et le seuil critique indiqué par l'Icnirp à 4W/kg. L'exposition est de 2h/jour, 5 jours/semaine, de la période prénatale jusqu'à 5 semaines de vie. Les auteurs exposent 15 jours *in utero* puis 35 jours après la naissance des rats à raison de 2h/jour par semaine. Après les dernières expositions, ils sacrifient les rats et collectent diverses zones du cerveau. Ils y quantifient les niveaux des protéines de choc thermique Hsp70 et Hsp25, ainsi que la quantité de 3-nitrotyrosine pris comme marqueur du stress oxydant. Aucune différence significative n'est observée entre les groupes témoins exposition, témoins cage, et exposés. Seul le contrôle positif montre un niveau des 3 marqueurs plus élevé.

Cette étude est de bonne qualité d'exposition physique, mais le contrôle en temps réel des conditions d'exposition n'est pas précisé (température, champs, humidité...). Cette étude, aussi bien conçue d'un point de vue biologique (témoin-cage, témoin- exposition et contrôle positif), permet de conclure à l'absence d'induction des protéines de stress Hsp, notamment liées à l'hyperthermie, l'hypoxie et autres stress. Ce sont des marqueurs globaux qui n'excluent cependant pas d'autres effets. En termes de stress oxydant, l'absence d'augmentation du niveau de nitrotyrosine suggère un impact mineur. Ce paramètre seul n'est cependant pas suffisant pour complètement éliminer la production d'espèces oxydantes. En résumé, l'étude rapporte de façon convaincante une absence d'effet sur les paramètres étudiés, qui étant assez spécifiques, ne permettent pas de généraliser la conclusion.

- Akbari, A., et al. (2014) *"Vitamin C protects rat cerebellum and encephalon from oxidative stress following exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model"*

[Cerveau]

Des rat Sprague-Dawley mâles âgés de 7 à 8 semaines ont été exposés corps entier à des radiofréquences de 900 MHz 4h/jour pendant 45 jours consécutifs. Un générateur et son antenne rayonnent à 5 m sont utilisés pour émettre le même champ qu'une antenne relai à 17 m d'une habitation. Des cages de 8 rats ont été disposées à 5 m d'une antenne du système d'exposition. Le signal était continu, représentatif d'une communication de téléphonie mobile à 900 MHz à 0,6789 mW/cm<sup>2</sup>. L'exposition des rats a induit un stress oxydant, objectivé par une augmentation globale de la peroxydation lipidique et une diminution des activités de la superoxyde dismutase, glutathion peroxydase et de la catalase aux niveaux de l'encéphale et du cervelet. Ce stress oxydant n'est plus détectable dans le groupe de rats exposés aux radiofréquences et traités oralement pendant 45 jours avec de la vitamine C.

- Akdag, M. Z., et al. (2016) *Does prolonged radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi devices induce DNA damage in various tissues of rats?*

[Cerveau][peau][Foie][Reins]

L'étude de Akdag *et al.*, 2016 vise à révéler si l'exposition à long terme aux rayonnements radiofréquences de fréquence 2,4 GHz pendant plus d'1 an, provoque des dommages à l'ADN dans différents tissus tels que le cerveau, les reins, le foie, la peau et les tissus testiculaires des rats Wistar-Albino mâles adultes. Un générateur de signal wifi de 50 mW à 2,4 GHz associé à une antenne et un réflecteur expose la cage 24h/jour pendant 12 mois. L'ensemble du dispositif est situé dans une cage anéchoïque. Les DAS de 141µW/kg corps entier et 7127 µW/kg maximum sont obtenus par simulation numérique. L'étude a été menée sur 16 rats Wistar-Albino mâles adultes. Les rats du groupe témoin-exposition (n = 8) ont été placés dans le système d'exposition à l'exception du générateur Wi-Fi qui était éteint. A la fin de l'exposition, les dommages à l'ADN dans le cerveau, le foie, les reins, la peau et les testicules des rats ont été recherchés par la méthode des comètes, les dommages à l'ADN estimés par le



pourcentage de d'ADN de la queue des comètes. La méthode des comètes montre que les pourcentages d'ADN de la queue dans les tissus ne sont significatifs que dans les testicules des rats. En conclusion, l'exposition à long terme aux radiofréquences de 2,4 GHz (Wi-Fi) ne cause pas de dommages à l'ADN dans la plupart des organes étudiés, à l'exception des testicules.

La dosimétrie de cette étude est de bonne qualité, bien qu'il n'y ait aucune indication de contrôle en temps réel du niveau d'exposition. La conclusion de cette étude n'est basée sur les résultats que d'une seule expérience et devrait être corroborée par d'autres technologies.

- *Akefe, I., et al. (2019) "C-glycosyl flavonoid orientin alleviates learning and memory impairment by radiofrequency electromagnetic radiation in mice via improving antioxidant defence mechanism"*

[Cerveau]

L'exposition de souris à des radiofréquences de 900 MHz à un niveau de 145,1  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  1h par jour pendant 45 jours consécutifs induit une diminution du taux sérique de catalase, superoxyde dismutase, de glutathion peroxydase accompagnée d'une augmentation de la peroxydation lipidique. Ces effets ne sont plus détectables lorsque les souris exposées ont pris tous les jours de l'orientine par voie orale. Ces résultats montrent que les radiofréquences induisent un stress oxydant. De plus, l'exposition aux radiofréquences induit des lésions tissulaires au niveau de l'hippocampe des souris, ces lésions n'étant plus visibles dans le groupe de souris exposées aux radiofréquences et ayant pris de l'orientine par voie orale tous les jours, indiquant que ces lésions sont la conséquence du stress oxydant. Enfin, la diminution du taux sérique de la corticostérone est en adéquation avec le déficit d'apprentissage et de mémorisation observé dans le groupe de souris exposées aux radiofréquences. A nouveau, les résultats illustrent que ces défauts comportementaux sont liés au stress oxydant car ils ne sont plus détectés dans le groupe de souris exposées aux radiofréquences mais ayant pris de l'orientine

La dosimétrie est entachée d'erreurs et d'imprécisions qui rendent l'expérimentation difficilement reproductible. Un autre problème concerne le stockage des prélèvements de sang et du sérum à 4°C avant de faire les dosages. Le temps de conservation n'est pas précisé et ce ne sont pas les meilleures conditions pour stocker des prélèvements sans risquer de les altérer. Pas de normalisation des dosages sériques des activités enzymatiques, de la peroxydation des lipides et de la corticostérone en fonction de la quantité de sang/protéine extraite par animal. La souche de souris n'est pas connue. Pas de contrôle de température et pas de contrôle positif du stress oxydant.

- *Akkaya, R., et al. (2019) "Wi-Fi decreases melatonin protective effect and increases hippocampal neuronal damage in pentylenetetrazole induced model seizures in rats"*

[Cerveau]

Le but de l'étude d'Akkaya *et al.* est d'étudier les conséquences d'une exposition Wi-Fi sur l'effet anti-convulsivant de la mélatonine et les dommages oxydatifs dans les crises d'épilepsie induites par le pentylène-tétrazole (PTZ) chez le rat. Les auteurs justifient cette étude en soulignant que le stress oxydatif a un rôle important dans cette pathologie et que le Wi-Fi peut augmenter le stress oxydatif et diminuer les systèmes antioxydants. Des rats mâles Wistar albinos sont exposés à des radiofréquences 2,4 GHz 12h/jour pendant 14 jours selon le matériel et méthodes et pendant 30 jours selon l'abstract et les résultats. Les rats sont situés à 60 cm d'un routeur wifi, dans un champ indiqué mais pas justifié de 11V/m. Au trentième jour, trente minutes après la dernière administration de mélatonine, du PTZ à est administré



pour provoquer des crises d'épilepsie, les animaux sont alors observés pendant les 30 min de crise d'épilepsie et les tissus cérébraux sont prélevés 24h après. La crise d'épilepsie est gradée selon des normes bien établies. Ils ont aussi mené des analyses histopathologiques sur des coupes paraffine de différentes régions de l'hippocampe pour analyser les lésions neuronales et réaliser des dosages biochimiques sur des broyats de cerveau pour étudier l'état oxydatif (capacité oxydant total (TOS), capacité antioxydante totale (TAS) et capacité de stress oxydatif (OSI) (kits commerciaux) (le TAS et le TOS ont été utilisés comme marqueurs de l'état antioxydant et oxydants et OSI le rapport TAS/TOS indique le sens de la balance). Chaque groupe comprenait 6 rats cependant il n'est pas précisé combien de rats sont utilisés pour les analyses biochimiques versus les observations microscopiques des hippocampes. Lors des expositions, les rats sont situés à 60 cm du routeur wifi. La dosimétrie est très sommaire : il n'y a qu'une valeur de champ à 11V/m signal continu type wifi non justifiée. Pas d'indication de contrôle des conditions d'exposition.

Le Wi-Fi n'a pas d'effet sur les changements de comportement associés à l'épilepsie mais le Wi-Fi réduit l'effet anticonvulsif et antioxydant de la mélatonine et il augmente les dommages neuronaux dans l'hippocampe. Les auteurs observent une augmentation du TAS et une diminution des valeurs OSI ( $p < 0,05$ ) dans le groupe 4 mélatonine par rapport au groupe 2 PTZ, une augmentation des valeurs TOS et OSI dans le groupe 2 PTZ, le groupe 4 mélatonine et le groupe 5 Wi Fi + mélatonine en comparaison avec le groupe 1 témoin (tableau 1). Le statut antioxydant total (TAS) est modifié par la supplémentation en mélatonine mais n'est pas modifié par l'exposition au Wi-Fi.

Ce travail présente des limites méthodologiques mineures. En effet, il existe une ambiguïté sur le temps d'exposition au Wi-Fi : 14 jours ou 30 jours (contradiction entre les indications de l'abstract et le matériel et méthodes). Les conditions d'exposition sont très sommaires, peu décrites, peu justifiées et pas contrôlées en temps réel : elles sont difficilement reproductibles. Des expériences sont faites sur broyage de cerveau alors que d'autres sont réalisées sur des coupes des régions de l'hippocampe. Il n'est pas précisé combien de rats sont utilisés pour chacun des deux types d'expérience...

- *Ali, N. S., et al. (2019) "Histological and antioxidant effect of different phone waves on the liver and kidney of male rats"*

[Sang et plasma][Foie][Rein]

Ali *et al.* (2019) exposent 18 rats disposés dans un carrousel de cages en plexiglas avec une antenne monopole au centre. Un générateur alimente l'antenne de telle sorte que la densité de puissance sur les animaux est de 1,6 mW/cm<sup>2</sup>, à 915 MHz, pendant 14 jours. Les auteurs réalisent une analyse anatomo-pathologique du foie et des reins. Ils mesurent également des activités plasmatiques liées à ces organes (AST et ALT). Aucun effet de l'exposition n'est mis en évidence. En parallèle, ils mesurent des paramètres du stress oxydant dans les globules rouges. Ils sont tous modulés de façon significatives dans le sens d'une induction du stress : GSH -10%, MDA + 10%, GPx -15%, GR -15%, CAT - 65% et SOD -30%. Une augmentation de l'activité GST est aussi observée mais difficile à relier au stress oxydant. La dosimétrie de cette étude est très sommaire. Seule la densité de puissance est indiquée ; l'endroit de cette mesure, les modalités et l'environnement ne sont pas indiqués. Considérant l'ordre de grandeur de la densité de puissance incidente, cette étude est néanmoins reproductible. Elle correspond à une exposition à des signaux de téléphonie mobile à niveau élevé. Si les résultats très cohérents sur le stress oxydant sont convaincants, l'article souffre de plusieurs limites liées à une rédaction peu rigoureuse. La première est qu'il n'est pas clair si les contrôles sont cages ou exposition. De plus il n'est pas mentionnée d'évaluation de l'effet thermique. Enfin, la rédaction est si mauvaise qu'il est parfois difficile de comprendre la

démarche des auteurs. Il reste que les données sur le stress oxydant peuvent être intéressantes pour la thématique "cancer".

- *Alkis, M. E., et al. (2019) "Effect of 900-, 1800-, and 2100-MHz radiofrequency radiation on DNA and oxidative stress in brain"*

[Cerveau][Sang et plasma]

Le but de cette étude est d'explorer si une exposition à long terme aux radiofréquences 900, 1800 et 2100 MHz induit des dommages à l'ADN et un stress oxydant dans le sang et les tissus cérébraux des rats. Des rats mâles Sprague-Dawley âgés de 3 à 4 mois ont été exposés à des radiofréquences 2h/jour pendant 6 mois (7 rats par groupe). Les groupes de 7 rats sont disposés dans un carrousel en plexiglas, dans une chambre anéchoïque. Une antenne au centre rayonne des radiofréquences de 900, 1800 et 2100 MHz représentatives de communications de téléphonie mobile, à un niveau modéré. La dosimétrie est exprimée avec le DAS, obtenu par simulation numérique, de 0,638 W/kg à 900 MHz, ou 0,166 W/kg à 1800 MHz, ou 0,174 W/kg à 2100 MHz. Le DAS dans la tête est aussi calculé, sur 1g, 10g et ponctuellement, aux 3 fréquences : il n'excède pas 0,1697 W/kg. Après la dernière exposition, le sang et le cerveau des rats sacrifiés sont prélevés, les sérums sont préparés, les cerveaux sont homogénéisés. Ont été analysés les cassures à l'ADN simple-brins (test des comètes en conditions alcalines) et de nombreux paramètres pour évaluer le stress oxydant

La taille et l'intensité de la queue des comètes dans le lobe frontal des rats exposés ont été comparées à celles observées chez les témoins non exposés aux radiofréquences. Globalement les mesures intensité et taille des comètes étaient légèrement (non significatif) plus élevées dans les groupes exposés versus les témoins identiques dans les groupes exposés par rapport au groupe témoin à l'exception de l'intensité de la queue de la comète trouvée significativement augmentée dans le groupe 2100 MHz par rapport au groupe témoin ( $p < 0,01$ ). Les valeurs de TOS augmentent et sont statistiquement différentes du témoin ( $p < 0,01$ ) mais sans différence entre les groupes 1 800 et de 2 100 MHz. Les niveaux de TAS diminuent dans tous les groupes exposés par rapport aux témoins ( $p < 0,01$ , la diminution étant statistiquement plus faible dans le groupe 2100 MHz. Tous les groupes exposés montrent une augmentation fréquence dépendante des paramètres OSI, MDA et 8-OHdG par rapport au groupe témoin ( $p < 0,01$ ).

En conclusion, les radiofréquences à 900, 1800 et 2100 MHz émis par les téléphones portables peuvent causer des dommages oxydatifs de l'ADN et du stress oxydant, induire une augmentation de la peroxydation lipidique et augmenter la formation de dommages oxydatifs à l'ADN dans le lobe frontal des tissus cérébraux du rat. De plus, les radiofréquences 2100 MHz peuvent provoquer la formation de cassures d'ADN simple brin.

Il faut noter comme limite que dans le matériel et méthode, il est précisé que les cerveaux de rat sont prélevés et conditionnés pour les analyses, alors que les résultats sont donnés comme étant des mesures réalisées dans le lobe frontal.

- *Alkis, ME et al. (2021) "Effects of Low-Intensity Microwave Radiation on Oxidant-Antioxidant Parameters and DNA Damage in the Liver of Rats"*

[Foie]

Le but de l'étude d'Alkis *et al.* (2021) est d'analyser les conséquences d'une exposition à des micro-ondes de faibles intensités sur les paramètres oxydants-antioxydants et les dommages à l'ADN dans le foie de rats.

Trois groupes de 6 rats mâles Sprague-Dawley âgés de 4 mois sont inclus dans l'étude : 1)

témoin-exposition, 2) exposés 1 800 MHz 2 h/jour pendant 7 mois (SAR : 0,62 W/kg) à une densité de puissance de  $0,127 \pm 0,04$  mW/cm<sup>2</sup>, et 3) exposés à 2 100 MHz 2 h/jour pendant 7 mois (SAR : 0,2 W/kg) à une densité de puissance de  $0,038 \pm 0,03$  mW/cm<sup>2</sup>). A la fin des expositions, les rats sont sacrifiés, les foies prélevés pour l'analyser des dommages à l'ADN par le test des comètes, des taux de malondialdéhyde (MDA) et de 8-hydroxydésoxyguanosine (8-OHdG) et des paramètres oxydants-antioxydants totaux. Tous les tests et analyses ont été faits et interprétés en aveugle.

Il n'y a pas de différence significative dans le moment de la queue entre témoins et exposés 2100 et 1800 MHz mais une augmentation statistiquement significative de l'intensité de la queue est observée chez les exposés (sans différence entre 2100 et 1800) ( $P < 0,05$ ). Dans les groupes exposés on observe une augmentation statistiquement significative des valeurs TOS, OSI, 8-OHdG et MDA par rapport aux témoins ( $P < 0,05$ ). Les niveaux de TAS des deux groupes exposés diminuent ( $P < 0,05$ ). Les valeurs d'OSI et de MDA sont plus élevées dans le groupe 200/1800, alors que les valeurs de TOS sont plus élevées dans le groupe 1800/2100. Il n'y a pas de différence significative entre les groupes 1800 et 2100 en termes de TAS et de 8-OHdG.

En conclusion ce travail montre une augmentation significative des niveaux de MDA, 8-OHdG, TOS et OSI » dans le foie des rats exposés au MW à 1800 et 2100 MHz 2H/jour pendant 7 mois. Ces résultats indiquent globalement cette exposition induit un stress oxydant génotoxique.

Ce travail souffre de problèmes méthodologiques dans la mesure où il n'y a que 6 rats par groupe, chacune des mesures n'est pas dupliquée. Il est difficile de comprendre comment aussi peu de données peuvent suivre une distribution normale.

- *Al-Serori, H., et al. (2017) Evaluation of the potential of mobile phone specific electromagnetic fields (UMTS) to produce micronuclei in human glioblastoma cell lines*

[Cerveau]

Les auteurs ont étudié les effets du signal radiofréquence du système universel de télécommunications mobiles (UMTS-RF) sur la formation de micronoyaux et d'autres anomalies telles que les bourgeons nucléaires et les ponts nucléoplasmiques. Les expériences ont été menées sur des lignées cellulaires de glioblastome humain, U87 (TP53 sauvage) et U251 (TP 53 mutée). Des cellules en boîte de Pétri sont à exposées à un DAS moyen de 1 W/kg, à 1950 Mhz pendant 16h, par périodes de 5 min OFF et 10 minutes ON. L'exposition est assurée par des guides d'ondes alimentés par un amplificateur et un générateur de signaux. La dosimétrie est de bonne qualité, justifiée par simulation numérique. L'exposition est représentative du rayonnement à proximité d'un appareil de téléphonie mobile, dans des conditions d'élévation de température limitées à moins de 0,03°C. Les cellules ont été cultivées pendant 16 h en présence et en absence de sérum de veau foetal (pour mimer des cellules normales qui ne prolifèrent pas) et exposées à différentes doses SAR (0,25, 0,50 et 1,00 W/kg) en présence et en absence de mitomycine C. La mitomycine C a été utilisée car d'anciennes études indiquent que les radiofréquences peuvent provoquer des effets synergiques en association avec ce médicament. De plus, la mitomycine C est en plus un bon contrôle positif pour l'induction des micronoyaux. Les analyses ont été faites en dupliquant et en aveugle par deux opérateurs indépendants et les conclusions s'appuient sur des analyses statistiques solides. Les techniques utilisées s'appuient sur des techniques publiées et reconnues. Les auteurs montrent que dans leurs conditions expérimentales, les radiofréquences n'induisent pas de micronoyaux, de bourgeons nucléaires ou de pont nucléocytoplasmique que les cellules aient été ou non traitées par la mitomycine C. Cependant,

avec la dose la plus élevée, une induction de l'apoptose a été observée dans les cellules U251 sur la base des caractéristiques morphologiques des cellules. Globalement ces résultats indiquent que le signal UMTS-RF ne provoque pas de dommages chromosomiques dans les cellules de glioblastome et ne potentialisent pas non plus la génotoxicité de la mitomycine C. Il faut noter une limite mineure à ce travail, l'absence de contrôle de la température pour permettre d'exclure des effets thermiques.

- *Al-Serori, H., et al. (2018) Mobile phone specific electromagnetic fields induce transient DNA damage and nucleotide excision repair in serum-deprived human glioblastoma cells*

[Cerveau][Peau]

Al-Serori *et al.* (2018) s'intéresse à la génotoxicité dans une dizaine de lignées humaines exposées à un signal TMTS. Dans leurs expériences, 6 boîtes de Petri sont disposées simultanément dans un guide d'onde IT'IS, à 1950 MHz, pour un DAS variable de 0,25 à 1 W/kg. L'exposition est intermittente, pendant 5 minutes (ON) puis arrêt de 10 minutes (OFF), sur une durée totale de 16h. Trois niveaux de DAS sont utilisés pour exposer des cellules tumorales variées (glioblastomes, neuroblastomes, hépatocyte, fibroblastes) ainsi que des cellules primaires (astrocytes et lymphocytes). Aucune induction de dommage à l'ADN n'est observée par la méthode des comètes. L'étude est recentrée sur U87 et U251, deux lignées de glioblastomes respectivement proficientes et déficientes en p53. Aucune cassure double-brin n'est mise en évidence. Par contre, la culture en absence de sérum, qui conduit à un arrêt de cycle, engendre une augmentation des comètes dans U87 exposée à tous les niveaux de DAS (0,25, 0,5 et 1 W/kg). La même lignée cellulaire voit sa capacité de réparation stimulée par l'exposition aux radiofréquences. Une étude protéomique montre que quelques protéines possiblement liées à ce mécanisme sont induites par les radiofréquences dans U87.

Ce travail expérimentalement plutôt bien mené et se base sur une exposition physique de bonne qualité ; elle est représentative de l'exposition à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Les résultats montrent, et ce sur une dizaine de modèles cellulaires humains différents, l'absence de génotoxicité des radiofréquences utilisées. Les auteurs montrent cependant une réponse particulière des glioblastomes U87. En absence de sérum dans le milieu de culture, mais pas en sa présence, ils voient une augmentation des cassures et sites alcali-labiles. Ils attribuent cette réponse à un arrêt du cycle cellulaire qui pourrait être retrouvé *in vivo*. L'absence de sérum peut induire un grand nombre d'autres phénomènes et cette conclusion reste à considérer avec prudence. Les auteurs s'intéressent également à la réparation et montrent que les radiofréquences induisent la réparation par excision de nucléotide dans U87 mais pas U251, peut-être en lien avec la différence de statut p53. Aucune information n'est donnée sur les autres modèles cellulaires. Il est donc difficile de valider l'idée des auteurs que les radiofréquences induisent une instabilité génomique transitoire associée à l'induction de mécanismes de défense.

- *Asl, J. F., et al. (2020) "The radio-protective effect of rosmarinic acid against mobile phone and Wi-Fi radiation-induced oxidative stress in the brains of rats"*

[Cerveau]

Il s'agit d'étudier si l'acide rosmarinique (20mg/Kg/jour pendant 1 mois), connu pour ses propriétés antioxydantes, pourrait minimiser le stress oxydant induit par une exposition à des radiofréquences (60 min/jour pendant 1 mois) dans le cerveau de rats. Les rats sont disposés dans une cellule GTEM, à des fréquences de la téléphonie mobile et wifi. La densité de puissance incidente est de 0,98 mW/cm<sup>2</sup> à 915 MHz, et de 0,79 mW/cm<sup>2</sup> à 2450 MHz. Quarante-deux rats Wistar adultes sont séparés en 6 groupes de 7 rats : 1) témoins, 2) acide



rosmarinique, 3) acide rosmarinique radiofréquences 915 MHz, 4) acide rosmarinique radiofréquences 2450 MHz, 5) radiofréquences 915MHz et 6) radiofréquences 2450 MHz. Le stress oxydant a été évalué sur les broyats de cerveau de rat en mesurant les taux de glutathion réduit, catalase, superoxyde dismutase, glutathion peroxydase, le taux d'oxyde nitrique, la peroxydation lipidique et la carbonylation des protéines. L'exposition aux radiofréquences entraîne une élévation significative de la carbonylation des protéines, de l'oxyde nitrique et de la peroxydation lipidiques et une réduction significative du glutathion (GSH), de la glutathion peroxydase (GPx), de la capacité antioxydante totale (TAC), de la superoxyde dismutase (SOD) et la catalase (CAT) dans le cerveau des rats exposés aux rayonnements radiofréquences par rapport aux témoins exposition, les différences étant systématiquement plus importante dans le groupe de rats exposés à 2450 MHz versus le groupe exposé à 915 MHz. La prise quotidienne d'acide rosmarinique diminue le stress oxydatif induit par l'exposition.

Le dispositif d'exposition est pertinent, correspondant aux limites hautes de la téléphonie mobile, mais la dosimétrie n'est indiquée qu'en densité de puissance incidente et pas en DAS.

- *Avci, B et al. (2012) Oxidative stress induced by 1.8 GHz radio frequency electromagnetic radiation and effects of garlic extract in rats*

[Sang et plasma]

Avci *et al.* (2012) ont voulu étudier les dommages oxydatifs induits par les rayonnements électromagnétiques de radiofréquence (RF-EMR) émis par les téléphones mobiles et l'effet protecteur d'un extrait d'ail utilisé comme antioxydant contre ces dommages. Des rats sont disposés dans un carrousel alimenté en son centre par une antenne à 1800 MHz, avec un champ de 17,23 ± 1,48 V/m. L'exposition est de 1h/jour pendant 3 semaines. Après l'exposition aux radiofréquences, les quantités de produit d'oxydation avancée de protéines (AOPP) du tissu cérébral ont augmenté par rapport au groupe témoin. L'administration d'ail accompagnant l'exposition aux radiofréquences, réduit significativement les quantités d'AOPP dans le tissu cérébral. Les quantités sériques d'oxyde nitrique (NO) ont augmenté de manière significative à la fois dans les groupes exposés aux radiofréquences. Cependant, dans le groupe radiofréquences + ail, il n'y a pas de différence dans les quantités de NO sérique par rapport au groupe exposé aux radiofréquences seules. Il n'y a pas de différence significative entre les groupes en ce qui concerne les quantités de malondialdéhyde (MDA), dans les tissus cérébraux et les échantillons de sang. De même, aucune différence n'a été détectée entre les groupes concernant les quantités de paroxonase sérique (PON) ; aucune activité de PON n'a été détectée dans le tissu cérébral.

L'exposition de cette étude correspond à un niveau moyen d'exposition de la téléphonie mobile. La dosimétrie est sommaire ; le DAS est calculé de façon incorrecte à partir du champ à vide. Considérant le champ incident de 17 V/m, cette étude est néanmoins reproductible. L'étude montre que l'exposition de radiofréquences-EMR similaire à 1,8 GHz Global système de communication mobile (GSM) entraîne une oxydation des protéines dans le tissu cérébral et une augmentation du NO sérique. L'administration d'ail réduit l'oxydation des protéines dans le tissu cérébral et qu'elle n'a aucun effet sur les niveaux de NO sérique. Bien que les taux sériques d'AOPP ne diffèrent pas entre les groupes, les taux d'AOPP dans les tissus cérébraux du groupe exposé aux radiofréquences sont plus élevés que ceux du groupe témoin. L'apport d'ail avec le radiofréquences-EMR diminue les quantités d'AOPP dans les tissus cérébraux par rapport à ceux du groupe radiofréquences seules. Cependant, contrairement aux conclusions de certaines études précédentes, l'exposition aux radiofréquences-EMR de type GSM n'a pas provoqué de peroxydation lipidique ni d'augmentation de NO dans les tissus cérébraux des rats ; il faudrait comparer les conditions expérimentales d'exposition.



- *Bilgici, B., et al. (2013) "Effect of 900 MHz radiofrequency radiation on oxidative stress in rat brain and serum"*

[Cerveau]

Le but est de déterminer si une exposition aux radiofréquences 900 MHz peut induire un stress oxydatif dans le tissu cérébral et le sérum de rats Wistar mâles adultes exposés 1 h / jour pendant 3 semaines. Pour l'exposition, un émulateur d'émission GSM à 900 MHz est connecté à une antenne monopole. Cette antenne expose un groupe de 22 rats maintenus dans des cages en carrousel à un niveau de 34 V/m représentatif d'une communication de téléphonie mobile. Un des deux lots de 22 rats exposés reçoit oralement pendant 3 semaines de l'ail à raison de 500 mg/Kg. Le stress oxydant est étudié sur des homogénats de cerveau et sur le sérum des rats exposés +/- ail et est comparé au stress oxydant dans les mêmes tissus des rats témoins exposition irradiés. Ont été mesurés la peroxydation lipidique (MDA), l'oxydation des protéines (AOPP), le taux oxyde nitrique et la paraoxonase (antioxydant), toutes les valeurs étant normalisées par rapport à la quantité de protéines totales de l'extrait (Lawry). Il n'y a pas de différences significatives dans les taux sériques de MDA, de AOPP et de paraoxonase lorsque l'on compare les valeurs des trois groupes et pas non plus de différence entre les trois groupes dans le taux d'oxyde nitrique cérébral. Les taux d'oxyde nitrique sériques sont augmentés significativement dans les groupes exposés +/-ail (tous les deux au même niveau) par rapport aux groupes témoin. Les niveaux de MDA dans le cerveau sont augmentés dans le groupe exposé par rapport au témoin et la prise d'ail neutralise cette augmentation. Les niveaux de AOPP dans le cerveau augmentent dans le groupe exposé et cette augmentation n'est plus détectable lorsque les rats exposés ont pris de l'ail. Globalement, les résultats montrent qu'il y a une augmentation significative de l'oxydation des lipides et des protéines oxydées dans le cerveau après une exposition aux rayonnements électromagnétiques et que l'ail a un effet protecteur contre ce stress oxydatif.

La méthode de calcul du DAS est fautive car issue de la mesure du champ à vide et non dans le corps du rat. D'autre part, les figures sont présentées sans donner de précision sur les statistiques inter-groupes et on peut regretter l'absence d'un groupe « ail » seul.

- *Bodera, P., et al. (2017) "The effect of 1800 MHz radio-frequency radiation on NMDA receptor subunit NR1 expression and peroxidation in the rat brain in healthy and inflammatory states"*

[Cerveau]

Bodera *et al.* (2017) ont évalué l'effet d'une exposition répétée à des radiofréquences de 1800 MHz sur l'expression de la sous-unité NR1 du récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA-NR1) (reflet de la douleur) dans le cerveau de rats. Une antenne était placée à 1,3 m de la cage (42x26,5x15 cm) contenant les animaux (2 animaux par cage). Le signal était issu d'un générateur de signaux radiofréquences qui fonctionne à 1800 MHz et qui est découpé dans le temps avec des impulsions de durée 576 µs et un rapport cyclique de 50 %. Ce signal pouvait s'apparenter à une modulation de type GSM et a été appliqué par intermittence, à raison de 15 min, 5 fois par jour. L'exposition était contrôlée en temps réel, avec la présence d'un détecteur de puissance, et une mesure du champ électrique dans la zone d'exposition a été effectuée à l'aide d'une sonde (intensité du champ électrique : 20 V/m). Une description du calcul du DAS était présente ; les niveaux d'exposition étaient compris entre 0,024 et 0,028 W/kg en fonction de la position des animaux dans les cages. Les rats ont été répartis en 2 groupes : un groupe présentant une inflammation chronique et un groupe témoin sain. Chacun de ces groupes a été subdivisé en 4 groupes : traités au Tramadol et exposés aux radiofréquences ; traités au Tramadol et exposés factivement (témoin-exposition) aux radiofréquences ; non traités au Tramadol et exposés aux radiofréquences ; non traités au

Tramadol et exposés facticement (témoin-exposition) aux radiofréquences. Au total, 8 sous-groupes de rats ont été étudiés (8 rats/groupe). La capacité potentielle du Tramadol à agir comme agent antioxydant a aussi été testée.

Les auteurs observent un effet modeste, en cas d'inflammation, sur l'expression de NMDAR ; ni les radiofréquences, ni le Tramadol n'ont d'effet. À l'inverse, une diminution de capacités antioxydantes est observée chez les rats sous inflammation. Ce résultat peut refléter un stress oxydant, mais il faut noter qu'il peut également refléter une baisse de production d'antioxydants. Le résultat le plus marquant est la forte baisse, significative, du potentiel antioxydant ORAC chez les rats sains ou sains traités au Tramadol, en cas d'exposition aux radiofréquences.

Le système d'exposition utilisé correspond à une exposition en champ lointain, avec des niveaux cohérents avec les niveaux d'exposition des personnes. Les valeurs de DAS corps entier sont plus faibles que les restrictions de base pour une exposition corps entier (0,08 W/kg) d'une personne ; une exposition à un DAS d'environ 0,03 W/kg doit permettre de rester en dessous des valeurs provoquant un effet thermique. Ce travail présente des limites méthodologiques mineures du point de vue de la biologie. Certaines imprécisions sont à noter dans la section matériels et méthodes : il n'est indiqué ni à quels temps sont faites les analyses, ni comment sont faits les prélèvements du cerveau, ni pourquoi le sang est prélevé. Il est à noter que les mesures des capacités antioxydantes ne sont pas des preuves infaillibles de l'induction de stress oxydant. La figure 5 montre clairement que les données intra-groupe sont très dispersées, suggérant un possible manque de reproductibilité. Globalement, les auteurs comparent les résultats obtenus sur les différents groupes par rapport à ceux obtenus sur le groupe témoin, alors qu'aucune analyse statistique intergroupe n'a pas été réalisée. Outre des analyses de résultats succincts, la rédaction de l'article est confuse et certains points de la discussion contredisent les résultats.

- *Borovkova, M, et al. (2017) Investigation of terahertz radiation influence on rat glial cells.*

[Cerveau]

Le travail de Borovkova *et al.* (2017) s'intéresse à l'induction de l'apoptose dans des cellules gliales de rat exposées *in vitro*. Des cellules en boîte de Petri sont exposées à 150 GHz, de 1 à 5 min, à une densité de puissance de 3,2 mW/cm<sup>2</sup>. L'exposition est assurée par un dispositif constitué d'une source BWO, d'une lentille et d'un miroir orienté vers les cellules. En utilisant une approche avec double marquage et analyse FACS, les auteurs montrent un impact sur le potentiel membranaire mitochondrial 24h après exposition, qui peut être interprété comme un début d'apoptose. En revanche, aucune augmentation de la population de cellules en apoptose n'est mise en évidence.

La fréquence de 150 GHz ne correspond pas à une exposition de l'environnement domestique, mais plutôt à des applications par exemple thérapeutiques. La variation de température est limitée à moins de 0,1°C. Cette exposition physique présente une limite méthodologique mineure car il n'y a pas d'indication sur l'endroit où l'élévation de température est mesurée à de moins de 0,1 °C. Cette information est pourtant importante vue l'épaisseur de peau de l'ordre du µm à la fréquence d'intérêt. Dans sa partie biologique, l'étude est bien menée bien qu'elle n'utilise qu'un seul test pour discuter l'apoptose.

- *Bourdineaud, J. P., et al. (2017) Electromagnetic fields at a mobile phone frequency (900 MHz) trigger the onset of general stress response along with DNA modifications in Eisenia fetida earthworms*

[Non mammifère]

L'étude de Bourdineaud *et al.*, 2017 a pour but d'évaluer si les radiofréquences peuvent déclencher des modifications de l'ADN telles que des substitutions, des délétions ou des insertions d'une seule paire de bases. Cette étude vise également à savoir si les radiofréquences modifient l'expression des gènes de réponse au stress, et si ces effets, s'il y en a, persistent après une période de récupération de 24 h après une exposition de deux heures à 23 V/m. Les vers ont été répartis en 8 groupes ( $5 < n < 10$ ) et exposés dans le noir pendant 2h ou 4h à des niveaux de champs de 10, 23, 41, 120 V/m et des DAS de 0,13, 0,35, 1,10 et 9,33 mW/kg. La température a été contrôlée avant et après exposition et celle-ci n'a pas augmenté de plus de 0,1°C. Les effets génotoxiques des radiofréquences ont été évalués par la technique de l'amplification aléatoire de l'ADN polymorphe (RAPD-qPCR). L'expression de neuf gènes liés aux processus de détoxification a été analysée par Q-PCR et l'expression de Hsp70 et de la cytochrome C oxidase I (MTCO1) a été analysée par western blot. Les radiofréquences provoquent des modifications de l'ADN avec des substitutions de paires de bases simples, suppressions et insertions. Les gènes CAT, HSP70, LYS et MEKK1 sont surexprimés par l'exposition de 2 heures à 10 V/m et 23 V/m mais l'expression des gènes MT, MYD et PGP baisse à 41 V/m. Les effets de l'exposition perdurent après une période de récupération de 24 h après 2 heures d'exposition à 23 V/m. Les auteurs concluent que les radiofréquences génèrent un stress oxydant et des dommages à l'ADN.

Une analyse plus complète de la distribution de DAS dans l'animal aurait été souhaitable pour différencier les zones les plus exposées. Les temps d'exposition ne sont pas clairement indiqués dans les tableaux. Il faut chercher dans le texte pour les connaître. Pas de quantification des WB. Pas de gène de référence. Pourtant il est écrit dans matériel-méthodes que la quantification a été faite avec Image J. Les auteurs écrivent que l'expression de l'ARNm de la beta-actine, prise comme gène de ref ne bouge pas selon les groupes, ce qui n'est pas le cas. Les délétions, insertions, substitutions n'ont pas été caractérisées. Certaines valeurs de Ct sont très différentes mais ne sont pas significatives.

- *Brech, A., et al. (2019) Genotoxic effects of intermediate frequency magnetic fields on blood leukocytes in vitro*

[Sang et plasma]

Brech *et al.* (2019) étudient l'effet génotoxique d'une exposition ex-vivo à des radiofréquences (123,9 et 250,90 kHz) sur des échantillons de sang complet d'humain et de chien. Le système d'exposition est constitué d'un solénoïde, c'est-à-dire d'une bobine cylindrique de diamètre intérieur de 12 cm et de 19 cm de hauteur. Il est à un générateur de signaux et d'un amplificateur. La température du système d'exposition est contrôlée par une circulation d'eau. Le solénoïde est positionné à l'intérieur d'un incubateur. Des boîtes de Petri sont placées sur un support en plastique à l'intérieur du solénoïde, ce dernier travaillant en mode résonnant à deux fréquences à savoir 123,9 kHz et 250,8 kHz. Des champs magnétiques d'intensité 630 A/m (0,79 mT) et 80 A/m (0,10 mT) sont mesurés à l'emplacement des boîtes de Petri, et il présente une très bonne homogénéité. Une mesure de température dans les échantillons est effectuée avec une sonde fluoro-optique, transparente en champ électromagnétique. Un deuxième incubateur avec un deuxième système d'exposition sert de témoin. Les boîtes de Petri de 55 mm de diamètre sont décomposées en trois zones concentriques, correspondant à trois niveaux d'exposition, présentant chacun une bonne homogénéité. La caractérisation expérimentale est complétée par des simulations numériques qui permettent d'obtenir les intensités du champ électrique dans les trois régions, à savoir 7,97, 5,25, 2,28 V/m à 123,9 kHz, et 2,04, 1,35 et 0,59 V/m à 250,8 kHz. Trois jeux d'expérimentation ont été conduits : (i) 1, 2, 3, 4, 5, 20 et 24 h, à 123,9 kHz, (ii) 20 h à 250,8 kHz, (iii) 20 h à 123,9 kHz et 250,8 kHz. La quantification de la génotoxicité est basée sur la méthode des comètes en conditions

alcalines. L'exposition à 123.9 kHz de leucocytes canins entraîne une augmentation significatives vs témoin- exposition des comètes à 20h mais pas à des temps plus courts (1 à 5h). Cette différence n'est plus vue à 24h. L'augmentation dans le contrôle positif (4 Gy de RX) est très net. Le système d'exposition est divisé en trois zones de courant induit croissant (*outer* > *median* > *inner*). L'effet est vu dans les zones *inner* et *outer* mais pas *median*. Les auteurs se focalisent ensuite sur le temps 20h. A 250,8 kHz, une augmentation des dommages à l'ADN est vue dans les cellules canines dans la zone *outer* mais pas les autres. Dans les cellules humaines, l'effet est vu pour les deux fréquences mais uniquement dans les zones *inner*. Cette étude utilise un système d'exposition tout à fait pertinent pour l'étude à des fréquences intermédiaires d'exposition aux champs magnétiques.

Il faut noter une évolution temporelle du niveau de dommage à l'ADN dans les témoin-exposition qui pourrait apporter un biais dans certaines conclusions, notamment au temps les plus longs. De même, l'absence de cohérence dans les effets de positionnements des échantillons sanguins au sein du dispositif d'exposition reste à comprendre. Il n'en reste pas moins que les données montrent dans le sang de chien, un effet génotoxique à 20h dans certaines positions du dispositif d'exposition mais pas aux temps plus courts ou à 24h. Chez l'humain, une induction de génotoxicité est vue aux deux fréquences à 20h en position "inner", seul temps étudié. En terme de carcinogénèse, cette génotoxicité transitoire est à relever.

- *Burlaka, A, et al. (2014) "Changes in mitochondrial functioning with electromagnetic radiation of ultra high frequency as revealed by electron paramagnetic resonance methods."*

[Foie]

Le but de l'étude de Burlaka *et al.*, 2014 a été d'évaluer les effets du rayonnement électromagnétique d'ultra haute fréquence (UHF) à des doses équivalentes à la charge énergétique maximale autorisée pour le personnel des stations radar sur les processus biochimiques qui se produisent dans les organelles cellulaires. 2 groupes de 40 rats sont exposés dans une chambre quasi anéchoïque à des formes d'onde de type radar, de porteuses 465 ou 2500 MHz, de longueur d'impulsion de 2ms, de fréquence de répétition toutes les 10 ms. L'exposition totale dure 15 min, à un niveau de 6 mW/cm<sup>2</sup>. Les tissus du foie, du cœur et de l'aorte de rats mâles exposés à des ondes électromagnétiques UHF non thermiques en modes pulsé et continu ont été étudiés pendant 28 jours après l'irradiation par les méthodes de résonance paramagnétique électronique (RPE), y compris le piégeage de spin des radicaux superoxyde. Les perturbations qualitatives et quantitatives de la chaîne de transport des électrons (ETC) des mitochondries ont été enregistrées. Les auteurs montrent la formation de complexes fer-nitrosyle de radicaux d'oxyde nitrique (NO) avec les protéines de fer-sulfure (FeS), la diminution de l'activité de la protéine FeS N2 du complexe NADH-ubiquinone-oxydoréductase et la croissance de la flavo - ubisemiquinone combinée à l'augmentation des taux de production de superoxyde. En conclusion les EMR en UHF entraîneraient (i) des anomalies du CTE mitochondrial des cellules du foie et de l'aorte plus prononcées chez les animaux irradiés en mode pulsé ; (ii) des altérations du fonctionnement du CTE mitochondrial ayant pour conséquence une augmentation du taux de production de radicaux superoxydes dans tous les échantillons, la formation d'une hypoxie cellulaire et l'intensification des changements métaboliques initiés par les oxydes ; et (iii) des méthodes de résonance paramagnétique électronique pourraient alors être utilisées pour suivre les changements qualitatifs et quantitatifs du CTE mitochondrial causés par les DME UHF.

L'exposition est très sommairement décrite, seulement avec la densité de puissance incidente. La température n'est pas contrôlée. Néanmoins, cette exposition est reproductible et le niveau de rayonnement assez élevé est comparable aux limites d'exposition des personnels travailleurs à proximité de radar. Cet article ne peut rentrer en ligne de compte pour différentes



raisons: 1) les résultats sont sur-interprétés. Rien dans ces résultats ne vient justifier de telles conclusions. 2) Il n'y a pas de statistiques donc il est difficile de justifier telle ou telle perturbations quantitatives. 3) les groupes n'ont pas le même nombre de rats. On compare ici des n=10 versus des n=3 en témoins.

- *Cao, H, et al. (2015) Circadian Rhythmicity of Antioxidant Markers in Rats Exposed to 1.8 GHz Radiofrequency Fields.*

[Sang et plasma]

Cao *et al.* (2015) ont réalisé une étude sur des rats Sprague Dawley mâles exposés aux radiofréquences de 1,8 GHz afin de déterminer si les rythmes circadiens des antioxydants plasmatiques (Mel, GSH-Px et SOD) sont affectés par les radiofréquences. En effet, les risques potentiels pour la santé de l'exposition aux champs de radiofréquences (RF) émis par les téléphones mobiles suscitent actuellement un intérêt considérable de la part du public, notamment les effets néfastes sur les rythmicités circadiennes des systèmes biologiques. Tous les animaux ont été divisés en sept groupes. L'exposition se fait par lot de six animaux à des radiofréquences de 1,8 GHz placés dans une cage (46x31x31 cm) est effectuée à l'aide d'une antenne cornet positionnée en-dessous de la cage. Cette dernière est placée sur une table et des absorbants sont installés au-dessus du dispositif pour éviter les réflexions. Une densité de puissance de l'ordre de 202  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ , soit 2  $\text{mW}/\text{m}^2$ , est mesurée. Une valeur de DAS corps entier de 0,056 W/kg est obtenue par simulation numérique. L'exposition est effectuée 2 à une exposition à un signal de télécommunication sans fil en condition de champ lointain. L'exposition est réalisée à une période spécifique de la journée (3, 7, 11, 15, 19 et 23 h GMT, respectivement), pendant 2 h/jour pendant 32 jours consécutifs. Les rats du septième groupe ont été utilisés comme témoin-exposition. À la fin de la dernière exposition aux radiofréquences, des échantillons de sang ont été prélevés sur chaque rat toutes les 4 h (période totale de 24 heures) et également à des moments similaires sur les animaux témoin-exposition. Les concentrations de trois antioxydants (Mel, GSH-Px et SOD) ont été déterminées. Les données obtenues chez les rats exposés aux radiofréquences ont été comparées à celles obtenues chez les animaux exposés à l'air libre. Les rythmes circadiens de la synthèse de la Mel et des enzymes antioxydantes, GSH-Px et SOD, ont été décalés chez les rats exposés aux radiofréquences par rapport aux animaux témoin-exposition : les niveaux de Mel, GSH-Px et SOD étaient significativement diminués lorsque l'exposition aux radiofréquences était donnée à 23h et 3 h GMT. Les résultats globaux indiquent que l'exposition aux radiofréquences peut avoir des effets négatifs sur la fonction antioxydante, tant au niveau des niveaux antioxydants quotidiens que de la rythmicité circadienne.

Globalement le système est correct, il manque cependant quelques éléments de contrôle des expositions avec par exemple une acquisition des puissances incidentes et réfléchies au niveau de l'antenne. Cette étude fournit des preuves impliquant la rythmicité circadienne de la Mel et des enzymes antioxydantes SOD et GSH-Px, ainsi que les effets de l'exposition aux radiofréquences sur les altérations des marqueurs antioxydants. Les effets néfastes du rayonnement radiofréquences sont présents à la fois dans les niveaux quotidiens moyens des marqueurs antioxydants et dans leurs altérations sur une période de 24 h (rythme circadien). Bien que cette étude montre clairement que l'exposition aux radiofréquences induit des modifications du rythme circadien des antioxydants chez les rats, d'autres travaux devraient être consacrés à l'étude des mécanismes moléculaires de la régulation du rythme circadien par les gènes contrôlés par l'horloge.



- *Castello, P. R., et al. (2014) Inhibition of cellular proliferation and enhancement of hydrogen peroxide production in fibrosarcoma cell line by weak radio frequency magnetic fields*

[Os]

L'étude de Castello *et al.* (2014) présente des données expérimentales sur les effets de faibles champs magnétiques de radiofréquence (RF) sur la production de peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) et les taux de croissance cellulaire des cellules de fibrosarcome HT1080 in vitro. Cette étude présente deux systèmes d'exposition pour étudier la combinaison d'un champ magnétique statique et d'un champ magnétique radiofréquences à 5 ou 10 MHz. L'exposition est réalisée à l'aide de bobine type Helmholtz au centre desquelles sont positionnées des plaques 6-puits ou des puits individuels. Les niveaux d'exposition sont de 45 µT en statique et 5 ou 10 µT en radiofréquences. L'intensité du champ électrique induit par la présence du champ magnétique est de l'ordre de 10 mV/m. Le nombre de cellules a été réduit jusqu'à 30 % au jour 2 pour les cellules exposées à la combinaison de SMF et d'un champ magnétique radiofréquences de 10 MHz par rapport aux cellules de contrôle SMF. En outre, les cellules exposées à des champs magnétiques radiofréquences de 10 MHz pendant 8 heures ont augmenté la production de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de 55 %. Les résultats démontrent un effet biologique global induit par le champ magnétique qui montre des niveaux élevés de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accompagnés d'une diminution des taux de croissance cellulaire.

La gamme de fréquence adresse des expositions aux champs magnétiques statiques ou basses fréquences avec des niveaux de champs électriques de 0,1 mV/m. Les informations sur la dosimétrie restent limitées. Ces résultats biologiques montrent un effet biologique global induit par le champ magnétique avec des niveaux élevés de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accompagnés d'une diminution des taux de croissance cellulaire. Un intérêt du travail est le dosage spécifique de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> plutôt que le dosage global de ROS souvent rapporté. Les données restent cependant basées sur des échantillons faibles et des techniques simplistes non confirmées par d'autres techniques.

- *Choi, J., et al. (2020) Continuous Exposure to 1.7 GHz LTE Electromagnetic Fields Increases Intracellular Reactive Oxygen Species to Decrease Human Cell Proliferation and Induce Senescence*

[Foie][Poumons][Système reproducteur]

Choi, J., *et al.* (2020) ont étudié les effets cellulaires non thermiques de radiofréquences de 1,7 GHz sur des cellules souches humaines dérivées du tissu adipeux (ASC), des cellules souches du cancer du foie (CSC, Huh7 et Hep3B), des cellules cancéreuses de neuroblastome SH-SY5Y, des cellules HeLa (col de l'utérus) et sur des fibroblastes normaux (IMR-90). Des cellules en boîte de Pétri sont exposées à un DAS de 1 W/kg ou 2 W/kg, à 1,7 GHz pendant 72h. Ces boîtes de Pétri sont disposées dans une cavité anéchoïque à proximité d'une antenne conique. La température est contrôlée avec un système de refroidissement par eau. L'exposition est représentative du rayonnement à proximité d'un appareil de téléphonie mobile, dans des conditions d'élévation de température limitées. Compte tenu des valeurs d'exposition maximales actuelles autorisées (2 W/kg en Europe et 1,6 W/kg aux États-Unis), les auteurs ont testé l'effet d'une fréquence de 1,7 GHz à 1 W/kg (DAS 1) et 2 W/kg (DAS 2). Lorsqu'elles sont exposées en continu à 1,7 GHz pendant 72 h aux DAS 1 et 2, la prolifération des cellules est diminuée dans toutes les cellules, l'effet anti-prolifératif étant plus élevé avec le DAS 2 et moins sévère dans les cellules ASC. L'exposition aux radiofréquences pendant 72 h aux DAS 1 et 2 n'induit pas de cassure double brin de l'ADN ou d'apoptose mais déclenche un léger retard dans la transition du cycle cellulaire de G1 à S. Une sénescence cellulaire est également observée dans les cellules ASC et Huh7 exposées pendant 72 h aux radiofréquences avec le DAS 2. L'augmentation des ROS intracellulaires dans ces cellules et le traitement avec un

capteur de ROS récapitule l'effet anti-prolifératif des radiofréquences. Ces observations suggèrent que les radiofréquences de 1,7 GHz diminuent la prolifération cellulaire sans créer de dommages à l'ADN ou induire de l'apoptose mais induisent un retard du cycle cellulaire à la transition G1/S, augmentent la sénescence et les ROS intracellulaires, avec comme conséquence, un effet anti-prolifératif. La génération intracellulaire de ROS est directement corrélée au DAS : plus de ROS sont générés avec le DAS 2 que le 1. Une exposition continue aux radiofréquences de 1,7 GHz pendant 72 h diminue donc la prolifération des cellules cancéreuses et normales, quel que soit leur tissu d'origine.

La dosimétrie est de qualité correcte, cependant elle présente des lacunes. En effet, la méthode d'obtention des DAS annoncés à 1 et 2 W/kg n'est pas justifiée, l'écart-type du DAS n'est pas indiqué, et l'évolution de la température est indiquée sur 120 secondes, alors que l'exposition est de 72h. Les auteurs disent que la lignée la plus sensible est la lignée de neuroblastome. Mais ce n'est pas celle-ci qui est choisie pour les études mécanistiques (choix : Huh7). Les auteurs auraient pu tester des cellules souches et non souches (ici 2 lignées de cellules souches) - Si ce n'est pour la mesure de la prolifération, aucune autre expérience sur les fibroblastes normaux.

- *Comelekoglu, U., et al. (2018) "Effect of low-level 1800 MHz radiofrequency radiation on the rat sciatic nerve and the protective role of paricalcitol"*

[nerfs hors SNC]

Cette étude de Comelekoglu *et al.*, 2018 chez le rat, analyse les altérations électro-physiologiques, la biochimie et la morphologie des nerfs sciatiques exposés à un rayonnement radiofréquences de 1 800 MHz et l'effet protecteur de 0,2 mg / kg / jour de paricalcitol. L'exposition est de bonne qualité, les appareils utilisés sont bien adaptés (générateur, analyseur de spectres et sonde de champs EM) aux conditions expérimentales, un petit bémol pour l'antenne monopôle utilisé. Tous les paramètres sont maîtrisés ou contrôlés lors des expositions. Des changements fonctionnels et morphologiques tels que la neuropathie sont observés chez les rats exposés aux rayonnements radiofréquences. Le paricalcitol a partiellement amélioré ces changements.

Dans le groupe radiofréquences, une amplitude significativement réduite et une latence prolongée ont été observées dans les enregistrements CMAP. Par rapport au groupe témoin, la réduction de l'amplitude CMAP était de 71% et la prolongation de la latence de CMAP était de 31,5%. Une diminution de l'amplitude et une latence prolongée sont considérées comme un signe de modifications neuropathiques des nerfs périphériques. Le traitement au paricalcitol a réduit ces rapports d'amplitude et de latence à 31,6% et 14,8%, respectivement, lorsque par rapport au groupe témoin.

Afin de vérifier si les modifications électro-physiologiques étaient associées à des altérations correspondantes des signes morphologiques du nerf sciatique, des examens histopathologiques ont également été réalisés. Le degré de dommages de la gaine de myéline et celui de dommages axonaux sont significativement plus élevés dans le nerf sciatique des groupes radiofréquences que ceux des autres groupes. Le rapport g est le plus bas dans le groupe radiofréquences et une différence significative est observée entre le groupe radiofréquences et les autres groupes.

La diminution de l'amplitude CMAP est due à la diminution du rapport g causée par la perte axonale et l'augmentation de l'épaisseur de la gaine de myéline. De plus, une dégénérescence mitochondriale avec perte de crêtes et rupture des membranes internes et externes et une désorganisation des neurotubules et des neurofilaments sont observées dans le groupe radiofréquences. Ces résultats histopathologiques soutiennent les résultats

électrophysiologiques qui indiquent des changements neuropathiques.

Le paricalcitol est un analogue non hypercalcémique de la vitamine D qui présente une activité biologique similaire à celle de la vitamine D. Le paricalcitol analogue hypercalcémique a des pléiotropes et effets antioxydants sur l'homéostasie cellulaire [Bulut *et al.*, 2016]. Il a été démontré que la vitamine D diminue la peroxydation lipidique et les régulations de l'expression et de l'activation des enzymes antioxydantes et redox. Ces résultats suggèrent que l'administration de paricalcitol à une dose de 0,2 mg / kg / jour a partiellement amélioré les dommages neurotoxiques du rayonnement radiofréquences de 1 800 MHz.

En résumé, même si le système d'exposition aurait pu être amélioré en plaçant les containers et l'antenne dans une chambre anéchoïque, l'étude biologique est de bonne qualité, même si la mesure de plus de deux paramètres du stress oxydant aurait renforcé cet aspect du travail. Ce dernier apporte des données sur les effets du rayonnement radiofréquences de 1800 MHz sur le nerf sciatique qui ont été étudiés électro-physiologiquement, biochimiquement et histologiquement. Ces résultats montrent que l'exposition aux radiofréquences de 1 800 MHz peut provoquer des changements neuropathiques en induisant un stress oxydant. Les lésions neuropathiques ont été partiellement améliorées avec 0,2 mg / kg / jour de paricalcitol, analogue non hypercalcémique de la vitamine D.

- Deng, B, et al. (2014) "Neuroprotective effects of sevoflurane against electromagnetic pulse-induced brain injury through inhibition of neuronal oxidative stress and apoptosis."

[Cerveau]

La présente étude de Deng *et al.*, 2014 a été conçue pour déterminer si l'exposition aux pulses électromagnétiques (400 kV/m, 200 impulsions) a des effets néfastes sur les neurones du cortex cérébral et la capacité cognitive et pour déterminer si le sévoflurane exerce des effets neuroprotecteurs contre les lésions cérébrales induites par les radiofréquences in vivo et in vitro. Le système d'exposition est basé sur une cellule GTEM, qui permet de s'approcher de condition d'exposition en champ lointain. Une chambre de 30 x 30 x 30 cm est placée dans la zone du champ homogène de la cellule GTEM et les animaux sont exposés corps entier. Un contrôle de la température est effectué juste avant et après l'exposition (<0,2°C). Des cellules sont également exposées dans les mêmes conditions de champ électrique pulsé. L'intensité des impulsions de champ électrique est de 400 kV/m, leur durée de 350 ns avec un temps de montée de 10 ns, et une fréquence de répétition de 1 Hz. 200 impulsions sont rayonnées sur les cellules ou les animaux. Une acquisition des intensités et formes d'impulsion est réalisée. Une partie des effets ont été analysés chez le rat adulte (structure des neurones et effets comportementaux) et les effets moléculaires (viabilité, LDH, SOD, MDA, TUNEL) ont été observés sur des neurones en culture d'embryons de 18 jours. Les cortex cérébraux de rats exposés aux radiofréquences présentaient des anomalies neuronales. Le sévoflurane a atténué ces effets, ainsi que les déficits d'apprentissage et de mémoire causés par l'exposition. In vitro, la viabilité cellulaire est réduite et la libération de LDH est augmentée après exposition aux radiofréquences. Le traitement par le sévoflurane améliore ces effets et augmente l'activité de la SOD, diminue les taux de MDA et atténue l'apoptose neuronale en régulant l'expression de la caspase-3 clivée, Bax et Bcl-2. En conclusion, les auteurs démontrent que l'exposition aux radiofréquences cause des dommages aigus aux neurones et des troubles neurocognitifs à court terme.

Ce type d'exposition correspond à une catégorie bien spécifique de rayonnement comme des décharges électriques. Elles peuvent être présentes dans certaines applications biomédicales ou militaires et ne concernent que très rarement le grand public. Les auteurs ont plus axé leur étude sur un potentiel effet protecteur du sévoflurane sur les effets des radiofréquences plutôt

que sur les effets des radiofréquences eux-mêmes - de ce fait, il manque des conditions contrôles sans radiofréquences. Une partie des effets sont analysés chez le rat adulte (structure des neurones et effets comportementaux) et les effets moléculaires ont été observés sur des neurones en culture d'embryons de 18 jours. Difficile de comparer - les cultures ou les rats ont été traités le même temps (20min). L'impact n'est sûrement pas le même.

- *Deshmukh, PS, et al. (2013a) Effect of low level microwave radiation exposure on cognitive function and oxidative stress in rats.*

[Sang et plasma]

Le but de l'étude de Deshmukh, PS, *et al.* (2013) est d'analyser les effets de l'exposition aux rayonnements micro-ondes à faible niveau sur la fonction cognitive et le stress oxydant chez le rat. Des rats Fisher ont été divisés en deux groupes (6 animaux/groupe) : Groupe I (exposition radiofréquences) et groupe II (exposition simulée). Les animaux ont été soumis à une exposition radiofréquences. Celle-ci est effectuée à travers une cellule GTEM, qui est enceinte permettant de rayonner une onde électromagnétique dans des conditions maîtrisées. Le signal est à la fréquence de 900 MHz, et il est appliqué durant 30 jours, 2h/jour, 5 jours par semaine. La puissance délivrée par la source est de 0,1 mW, valeur très faible, induisant des niveaux d'exposition très faible sur les animaux exposés. (Fréquence 900 MHz ; DAS  $8,4738 \times 10^{-5}$  W/kg) dans une cellule électromagnétique (GTEM). La fonction cognitive et les paramètres de stress oxydant ont été ensuite examinés pour chaque groupe à la fin de l'exposition.

La description des conditions d'exposition laisse apparaître des limites, notamment sur les niveaux d'exposition, à travers la présence d'un wattmètre mal positionné et d'un amplificateur non référencé sur le synoptique du système d'exposition et sur le calcul de DAS qui n'est pas correcte. Un doute réel existe sur la maîtrise des niveaux et des conditions d'exposition. Malgré ces limites, les résultats montrent des altérations de la fonction cognitive et une augmentation du stress oxydant, mesurée par l'augmentation des taux de MDA (un marqueur de la peroxydation lipidique) et de protéine carbonylée (un marqueur de l'oxydation des protéines) ; cependant la teneur en GSH reste inchangée dans le sang. L'étude indique qu'une faible amplitude de rayonnement 900 MHz a un effet significatif sur la fonction cognitive de rats et conduit à un stress oxydant.

- *Djordjevic, B, et al. (2015) "The effect of melatonin on the liver of rats exposed to microwave radiation."*

[Foie]

Le but de l'étude de Djordjevic *et al.* est d'analyser l'effet de la mélatonine, qui est un anti-oxydant puissant, sur le foie de rats exposés à des rayonnements micro-ondes. L'expérience est réalisée sur rats mâles Wistar âgés de 6 semaines exposés 4h/jr, pendant 20, 40 et 60 jours, à un rayonnement micro-onde. Les rats sont disposés dans des cages en plastique, exposés au rayonnement à 900 MHz d'un GSM (contrôlé par un PC) à un niveau de 9,88 à 18,356 V/m, soit un DAS indiqué à 0,089 W/kg (900 MHz, 100-300 microT, 54-160 V/m). Les rats sont répartis en 4 groupes de 21 animaux témoin, mélatonine, radiofréquences, radiofréquences + mélatonine (2 mg/kg i.p.). Le stress oxydatif (teneur en malondialdéhyde (MDA) et en groupes carbonyle), la catalase, la xanthine oxydase, l'activité des désoxyribonucléases I et II ont été dosés.

L'exposition aux micro-ondes provoque une augmentation du MDA après 40 jours ( $p < 0,01$ ), de la teneur en protéines carbonyles après 20 jours ( $p < 0,05$ ), de la catalase ( $p < 0,05$ ) et de l'activité de la xanthine oxydase ( $p < 0,05$ ) après 40 jours. Une augmentation de l'activité



désoxyribonucléase I est observée après 60 jours ( $p < 0,05$ ), tandis que l'activité désoxyribonucléase II n'est pas modifiée. Le traitement à la mélatonine entraîne une diminution du MDA après 40 jours ( $p < 0,05$ ), mais n'a eu aucun effet sur les autres paramètres analysés. En conclusion, l'exposition aux radiofréquences provoque une augmentation du niveau de peroxydes lipidiques et de protéines carbonyles qui peut, en partie, être attribuée à l'augmentation de l'activité de la xanthine oxydase. Une augmentation de l'activité de la catalase pourrait être la conséquence de la formation accrue de ROS. La mélatonine, qui est un antioxydant, a un léger effet protecteur en diminuant le taux de peroxydes lipidiques, mais elle n'a par contre aucun effet les protéines carbonyles, et les activités de la catalase, de la xanthine oxydase et des endonucléases. En conclusion, l'exposition aux radiofréquences provoque une augmentation du niveau de peroxydes lipidiques et de protéines carbonyles qui peut, en partie, être attribuée à l'augmentation de l'activité de la xanthine oxydase. Une augmentation de l'activité de la catalase pourrait être la conséquence de la formation accrue de ROS. La mélatonine a un léger effet protecteur en diminuant le taux de peroxydes lipidiques, mais elle n'a par contre aucun effet les protéines carbonyles, et les activités de la catalase, de la xanthine oxydase et des endonucléases.

La dosimétrie de cette étude est très sommaire. L'environnement et la source électromagnétiques sont très peu décrits, pas illustrés. Le niveau d'exposition dans le résumé et dans le corps de la publication n'est pas le même. Le DAS n'est pas justifié. Considérant l'ordre de grandeur de l'exposition, cette étude est néanmoins reproductible. Elle correspond à une exposition de type téléphonie mobile à un niveau modéré. Cependant ce travail souffre de problèmes méthodologiques mineurs car les témoins sont des témoin-cage et non pas exposition et d'autre part les différences, quand elles existent, sont de faibles amplitudes et il n'y a pas de mesures en duplicat ou triplicat pour un même rat.

- *Durdik, M, et al. (2019) Microwaves from mobile phone induce reactive oxygen species but not DNA damage, preleukemic fusion genes and apoptosis in hematopoietic stem/progenitor cells.*

[Sang et plasma]

Durdik, M, *et al.* (2019) étudient la génotoxicité, le stress oxydant et l'apoptose dans des cellules souches hématopoïétiques. Deux signaux, 900 MHz-GSM et 1947 MHz-UMTS, sont générés par un téléphone qui est connecté à un cellule TEM (Transverse ElectroMagnétique). Un « vrai » signal GSM est généré et contrôlé et deux puissances sont sélectionnées pour exposer les échantillons à des niveaux de DAS de 4 et 40 mW/kg. Le signal UMTS présente une bande passante de 5 MHz et son intensité est fixée pour engendrer un niveau d'exposition de 40 mW/kg de DAS. La puissance injectée dans la cellule TEM est contrôlée et n'induit pas d'élévation de température. Aucune différence persistante dans les altérations de l'ADN n'est observée. Une augmentation du niveau de ROS après 1 h d'exposition à l'UMTS est décrite mais n'est plus significative 3 h après l'exposition. La quantité de ROS augmente avec le degré de différenciation cellulaire. Ainsi les cellules UCB exposées à des ondes radiofréquences pulsées ont développé une augmentation transitoire des ROS qui n'a pas entraîné ni l'apoptose ni de dommages durables à l'ADN. Le système d'exposition est représentatif d'une exposition type champ lointain, à des signaux GSM et UMTS. Il manque cependant quelques éléments sur la cellule TEM utilisée et sur les supports/échantillons insérés dans la cellule TEM. Dans une étude précédente, on parle de tube Falcon contenant 2,5 mL de solution. Les auteurs évoquent plusieurs publications décrivant des résultats différents des leurs et concluent sur l'importance et la sensibilité des effets aux conditions expérimentales d'analyse.



- *Eghlidospour, M., et al. (2017) Effects of radiofrequency exposure emitted from a GSM mobile phone on proliferation, differentiation, and apoptosis of neural stem cells*

[Cerveau]

L'objectif de l'étude de Eghlidospour, M., et al. (2017) était d'évaluer in vitro, les effets des rayonnements émis par la téléphonie mobile GSM 900 MHz avec différentes durées d'exposition (0, 15, 30, 60 et 120 minutes) sur la prolifération (taille des neurosphères), la différenciation (marqueurs neurone/astrocyte) et la survie/apoptose (Alamar blue, caspase 3 activée) de neurosphères de CSN issues de la zone subventriculaire de souris adultes. Les cellules sont disposées de façon circulaire autour de l'antenne d'un émulateur de GSM. Le DAS est de 2,287 W/kg. L'exposition est de 15, 30, 60 ou 120 min. Les résultats montrent que le nombre et la taille des neurosphères ainsi que le pourcentage de cellules différenciées en neurones diminuent de manière significative avec l'augmentation de la durée d'exposition aux radiofréquences de 900 MHz (effet maximal après 120min d'exposition). En revanche, la viabilité cellulaire, l'apoptose et la différenciation des neurosphères en astrocytes ne sont pas altérées par l'exposition aux radiofréquences quelle que soit la durée. Les auteurs concluent que l'exposition et l'accumulation de doses de 900 MHz pourraient avoir des effets délétères sur la prolifération et la différenciation des CSN.

L'exposition est représentative du rayonnement à proximité d'un appareil de téléphonie mobile, dans des conditions d'élévation de température limitées. La dosimétrie est sommaire car elle présente des lacunes. En effet, la méthode d'obtention du DAS n'est pas justifiée, l'écart-type du DAS n'est pas indiqué. Le nombre de neurosphères diminuent significativement pour 120min d'exposition, donc cela signifie qu'il y a une diminution de la viabilité cellulaire. Par contre, le test Alamar blue ne montre aucune différence entre les groupes donc pas d'effet sur la viabilité. Les images de FACS pour mesurer l'apoptose avec la caspase-3 montre une augmentation du nombre de cellules positives mais les auteurs disent que non ; on passe de 1,69 à 3,63 (%).

- *Ertlav, K., et al. (2018) "Long term exposure to cell phone frequencies (900 and 1800 MHz) induces apoptosis, mitochondrial oxidative stress and TRPV1 channel activation in the hippocampus and dorsal root ganglion of rats"*

[Cerveau]

Les radiations émises par la téléphonie mobile affectent les fonctions neuronales et auraient comme conséquence des lésions neuronales dans l'hippocampe (HIPPO) et le ganglion de la racine dorsale (DRGN), produisant des douleurs. On sait également que l'afflux excessif de Ca<sup>2+</sup> (via les canaux TRPV1) et la production de ROS peuvent induire des lésions des neurones HIPPO et DRGN qui expriment le canal TRPV1. L'objectif de l'étude de Ertlav et al., 2018 a été d'étudier par électrophysiologie, la contribution des canaux TRPV1 au stress oxydatif mitochondrial et à l'apoptose dans des neurones HIPPO et DRGN après exposition de 24 rats adultes à long terme (pendant 1 an) à des fréquences de 900 et 1800 MHz. Un générateur alimente une antenne dipôle disposée à 10 cm de la tête d'un rat contraint dans une cage cylindrique. Les rats sont exposés à un champ représentatif de la téléphonie mobile, à 900 MHz ou à 1800 MHz, à un champ de 11V/m à l'endroit le plus près du corps, pour un DAS corps entier annoncé à 0,01 W/kg. L'exposition dure 60 min pendant 5 jours/ semaine pendant 1 année. Après exposition, les neurones HIPPO et DRGN sont dissociés pour réaliser du patch-clamp. L'exposition des neurones HIPPO et DRGN aux radiofréquences de 900 et 1800 MHz entraîne une augmentation du Ca<sup>2+</sup> intracellulaire+ par l'activation des canaux TRPV1. Les niveaux d'apoptose, l'activité des caspase 3 et 9 sont nettement augmentés dans les neurones HIPPO après exposition des rats à 900MHz et l'effet est

accentué à 1800 MHz. Ces effets sont bloqués par un inhibiteur des TRPV1 et l'apoptose induite par les radiofréquences pourrait être due à l'activation des canaux TRPV1. La production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS, DHR123 oxydée) et la dépolarisation de la membrane mitochondriale sont augmentées dans les neurones de rattes exposées à 900 et accentuées à 1800 MHz et les effets impliquent les canaux TRPV1. Ces résultats confirment que l'exposition de rattes à 900 ou 1800MHz active les canaux TRPV1 des neurones HIPPO et DRGN, entraînant un influx de  $Ca^{2+}$ , une dépolarisation de la membrane mitochondriale, effets qui peuvent faire s'accumuler les ROS, activer les caspases et entraîner une apoptose.

La dosimétrie est très sommaire et le DAS n'est pas justifié. Les expériences ne suggèrent qu'indirectement que les effets observés sont responsables de pathologies des neurones hippocampiques et ganglionnaires.

- Eser, O, et al. (2013) "The effect of electromagnetic radiation on the rat brain: an experimental study."

[Cerveau]

Eser et coll. (2013) ont cherché à déterminer si l'exposition de rats mâles adultes à des radiofréquences dans la gamme de fréquences de la téléphonie mobile numérique et des micro-ondes, avaient des conséquences histopathologiques sur les neurones cérébraux, sur le stress oxydant, l'inflammation et l'apoptose dans le cortex frontal, le tronc cérébral et le cervelet.

Les animaux sont soumis à des expositions de 900, 1800 et 2450MHz produites par un générateur électromagnétique avec une *peak power* de 2W et une densité de puissance moyenne de 1,04 mW/cm<sup>2</sup>. Les rats sont exposés une heure par jour pendant 2 mois, à une densité de puissance de 1,04 mW/cm<sup>2</sup> et de 1,04 W/kg. Le corps entier de chaque rat est positionné en contact étroit au-dessus de l'antenne dipôle, et le tube est ventilé de la tête à la queue pour diminuer le stress du rat dans le tube.

Des rats mâles Wistar âgés de 8 semaines ont été exposés pendant 60min, pendant 2 mois, puis sacrifiés le jour de la dernière exposition. Les analyses biochimiques ont évalué la capacité antioxydante totale (TAC), le statut oxydant total (TOS) et le ratio (OSI). La morphologie et le nombre de neurones du cortex frontal et du tronc cérébral ont été observés sur des coupes H&E et l'apoptose évaluée par immunomarquage de la caspase-3. L'expression de l'interleukine-1beta, pro-inflammatoire, a été mesurée dans le surnageant de broyats des tronc cérébraux, par la méthode Elisa. L'histologie indique que le nombre de neurones/mm<sup>2</sup> diminuent dès la fréquence de 900MHz et la diminution est amplifiée à 1800MHz et 2450MHz dans le cortex et le tronc cérébral. De la même façon, l'expression de la caspase-3 indique une expression faible chez les animaux témoin-exposition, moyenne à 900MHz, élevée à 1800MHz et très élevée à 2450MHz. L'expression de l'interleukine-1beta dans le tronc cérébral augmente dès 900MHz et à 1800 ou 2450MHz. L'index de stress oxydant évalué par le ratio OSI (TOS/TAC) dans le cortex des rats exposés à 900MHz est plus élevé que celui des rats du groupe témoin-exposition et du groupe 1800MHz mais l'OSI du groupe 1800MHz n'est pas différent de celui du groupe 2450MHz. Dans le tronc cérébral, l'index augmente à 900MHz et reste stable au-delà.

Les auteurs suggèrent que l'exposition des rats à des fréquences de 900 à 2450MHz, entraîne une augmentation du stress oxydant due à la diminution de l'activité anti-oxydante et une augmentation de l'activité d'oxydation. Ce stress s'accompagne d'une augmentation de l'expression d'une cytokine pro-inflammatoire et de la caspase-3, toutes ces modifications étant déjà observées à 900MHz.

La valeur de DAS n'est pas justifiée et semble incohérente d'autant plus qu'elle est identique quelle que soit la fréquence. Sur le plan de la biologie, quelques points mineurs peuvent être soulignés : toutes les analyses n'ont pas été faites dans les 3 structures. Il y a des contradictions entre le texte et les figures pour certains résultats. Les images de coloration H&E et d'immunohistochimie caspase-3 ne sont pas de très bonne qualité

- *Esmekaya, M. A., et al. (2013) Investigation of the Effects of 2.1 GHz Microwave Radiation on Mitochondrial Membrane Potential ( $\Delta\Psi m$ ), Apoptotic Activity and Cell Viability in Human Breast Fibroblast Cells*

[Sein]

Dans la présente étude, Esmekaya *et al.* (2013) ont cherché à étudier les effets du rayonnement micro-ondes (MW) modulé par l'accès multiple par répartition en code à large bande (W-CDMA) de 2,1 GHz sur la survie cellulaire et l'activité apoptotique des cellules fibroblastes du sein humain. Les échantillons biologiques sont disposés dans des supports multipuits face à une antenne cornet. L'exposition dure 4 h ou 24 h, à 2,1 GHz, pour une densité de puissance de 0,142 mW/cm<sup>2</sup> soit un DAS indiqué de 0,607 W/kg. Les cultures cellulaires ont été exposées à des micro-ondes modulées W-CDMA à 2,1 GHz à un niveau de DAS de 0,607 W/kg pendant 4h et 24 h. La viabilité cellulaire a été évaluée par la méthode MTT [bromure de 3-(4, 5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényltétrazolium]. Le pourcentage de cellules apoptotiques a été analysé par coloration Annexin V-FITC et PI. L'iodure de 5,50,6,60-tétrachloro- 1,10,3,30 tétraéthylbenzimidazolcarbocyanine (JC-1) a été utilisé pour mesurer le potentiel de membrane mitochondriale. Les niveaux de protéines sFasL et Fas/APO-1 ont été déterminés par la méthode ELISA. Le rayonnement MW de 2,1 GHz s'est révélé capable d'inhiber la prolifération cellulaire et d'induire l'apoptose dans les cellules de fibroblastes mammaires humains. La viabilité cellulaire des cellules exposées aux MW a diminué de manière significative. Les pourcentages de cellules positives à l'Annexin V-FITC étaient plus élevés dans les groupes exposés aux MW. Le potentiel de membrane a diminué de manière significative suite à l'exposition aux rayonnements électromagnétiques. Cependant, ni le niveau des Fas ni celui de FasL n'ont été significativement modifiés dans les cellules de fibroblastes confirmant que l'apoptose induite par les MW était indépendante de la voie des récepteurs de la mort.

L'exposition physique est de très bonne qualité. Le DAS est justifié par simulation numérique de type DFDT. Cette exposition correspond à une exposition de type téléphonie mobile à faible niveau. La présente étude indique que le rayonnement MW modulé par le W-CDMA 2,1 GHz inhibe la viabilité cellulaire et induit la mort cellulaire apoptotique par la voie mitochondriale. Le potentiel de membrane mitochondrial des cellules fibroblastes du sein humain a diminué à la fois pour les courtes et les longues durées d'exposition. En outre, la voie extrinsèque *via* les récepteurs de mort n'a pas été activée par l'exposition aux rayonnements électromagnétiques dans cette étude.

- *Esmekaya, M. A., et al. (2016) "Effects of cell phone radiation on lipid peroxidation, glutathione and nitric oxide levels in mouse brain during epileptic seizure"*

[Cerveau]

L'objectif de l'étude de Esmekaya *et al.*, 2016 était d'évaluer les effets du rayonnement émis par la téléphonie mobile sur le stress oxydatif et le niveau d'oxyde dans le cerveau de souris au cours d'une crise d'épilepsie induite par le pentylènetétrazole (PTZ).

Des souris femelles Swiss albinos âgées de huit semaines (25-35g) ont été utilisées. Les animaux ont été répartis dans 3 groupes : Groupe 1: traité avec le PTZ sans exposition

radiofréquences, Groupe 2 : exposé radiofréquences 15 min, traité PTZ puis exposé radiofréquences 30 min, groupe 3 exposé radiofréquences 30 min, traité au PTZ puis exposé radiofréquences 30 min. Un téléphone GSM disposé au centre d'une cage en verre expose un rat adulte à 900 MHz, à 14,31+- 3,3897 V/m. La peroxydation lipidique, est quantifiée en mesurant la formation de substances réactives de l'acide thiobarbiturique (TBARS). Les niveaux de glutathion (GSH) sont déterminés par la méthode Ellman. Les niveaux d'oxyde nitrique (NOx) dans les tissus sont obtenus en utilisant le test de Griess. La peroxydation lipidique et les niveaux de NOx du cerveau sont augmentés de manière significative dans les groupes 2 et 3 par rapport au groupe contrôle. Au contraire, les niveaux de GSH sont significativement plus faibles dans les groupes 2 et 3 que dans le groupe contrôle. Cependant, aucune différence statistiquement significative des paramètres a été notée entre le groupe 2 et le groupe 3. Dans l'ensemble, les auteurs concluent que le rayonnement des téléphones cellulaires peut augmenter les dommages oxydatifs et le niveau de NOx pendant une activité épileptique dans le cerveau de la souris

Le DAS est mal justifié. ; le nombre de rats exposés n'est pas indiqué. Pour pouvoir faire le lien avec le cancer, l'étude est incomplète puisqu' il manque des groupes : les 2 groupes d'exposition aux radiofréquences seuls (15-30min et 30-30 min) sans induction de crise d'épilepsie et un groupe sans traitement et sans exposition (témoin-exposition). La seule conclusion possible est que l'exposition de souris à des radiofréquences provenant de la téléphonie mobile entraîne une augmentation de 2 indicateurs de stress oxydant et une diminution d'un anti-oxydant lorsque les radiofréquences sont appliqués avant et après le déclenchement d'une crise d'épilepsie.

- *Esmekaya, MA, et al. (2017) "Mitochondrial hyperpolarization and cytochrome-c release in microwave-exposed MCF-7 cells."*

[Sein]

Le but du travail d'Esmekaya *et al.* (2017) est d'analyser les conséquences d'une exposition de cellules MCF7 de cancer du sein à un rayonnement micro-onde (MW) modulé par WCDMA de 2,1 GHz sur l'activité apoptotique et le potentiel de membrane mitochondriale ( $\Delta\Psi_m$ ). Les cellules sont exposées. L'effet anti-prolifératif de l'exposition aux MW est déterminé par le test MTT. Les niveaux de cytochrome-c et p53 sont déterminés par une méthode ELISA. Le  $\Delta\Psi_m$  est analysé par coloration JC-1 en cytométrie de flux et le taux d'apoptose des cellules a été mesuré par coloration à l'annexine-V-FITC. Tous les tests ont été effectués entre 15 min et 4 h après l'exposition au MW. Les cellules exposées au MW montrent une diminution significative de la viabilité par rapport aux cellules non exposées. Le pourcentage de cellules apoptotiques, la quantité de cytochrome-c et le  $\Delta\Psi_m$  sont significativement plus élevés dans les cellules exposées aux MW. Par contre aucun changement significatif n'est observé dans les niveaux de p53. En conclusion, ces résultats montrent que l'exposition à un rayonnement MW modulé de 2,1 GHz provoque une hyper-polarisation des mitochondries qui, à son tour, induit l'apoptose des cellules MCF-7.

La dosimétrie de cette étude est de qualité correcte et correspond à un rayonnement de niveau modéré à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Le DAS est obtenu par simulation numérique. La partie biologique souffre cependant de problèmes méthodologiques mineurs : Aucune comparaison de résultats n'est faite entre les expositions de 4 et 24h. Il faut noter aussi que sur la période 4h-24h les cellules témoin-exposition semblent souffrir comme en témoigne l'augmentation de l'apoptose, l'augmentation du cytochrome C et la diminution du potentiel de membrane



- *Falone, S., et al. (2018) "Protective effect of 1950 MHz electromagnetic field in human neuroblastoma cells challenged with menadione"*

[Cerveau]

Falone *et al.* (2018) étudient la réponse adaptative induite par les radiofréquences dans des cultures de cellules de neuroblastome SH-SY5Y contre le stress oxydant induit par la ménadione. Le système d'exposition est constitué d'un guide d'onde court-circuité dans lequel sont insérées des boîtes de Petri de 35 mm de diamètre. Trois guides d'onde sont placés dans un incubateur contrôlé en température et CO<sub>2</sub>, dont deux servent à l'exposition et un sert de témoin. Un diviseur de puissance permet de délivrer le signal radiofréquences dans deux guides d'onde simultanément, avec un contrôle des puissances radiofréquences fournies aux guides d'onde. Quatre étages de boîtes de Petri sont positionnés sur des supports en plexiglass. L'exposition est effectuée durant 20 h avec un signal de type UMTS à la fréquence de 1960 MHz. Le système est conçu pour exposer à deux niveaux de DAS, à savoir 0,3 W/kg et 1,5 W/kg. Une dosimétrie complète et un contrôle des paramètres d'exposition sont présents. Le système d'exposition répond aux attentes de ce type d'étude *in vitro*. Le protocole expérimental implique une exposition de 20h à un signal de 1,95 GHz à des DAS de 0,3 ou 1,25 W/kg, associée à un traitement à la ménadione de 10 µM pendant 1h. La ménadione induit des cassures de l'ADN significatives si comparées aux témoins exposition). L'expression de SOD 1 et de la catalase ne sont pas modifiées, alors que celle de sod2 augmente (et celles de gpx1 et OGG1 diminuent. Aucun de ces paramètres n'est modulé par l'exposition seule aux radiofréquences aux 2 DAS testés. Les valeurs du groupe ménadione + radiofréquences ne sont statistiquement pas différentes des témoins exposition, sauf la catalase qui est surexprimée.

Dans cette étude bien conçue malgré l'absence de marqueurs plus directs du stress oxydant (production de ROS, quantité de produits d'oxydation), les auteurs montrent qu'un signal 1,95 GHz à des DAS de 0,3 et 1,25 W/kg n'a pas d'effet sur une série de paramètres liées aux stress oxydant. De plus, ils montrent qu'une pré-exposition aux radiofréquences contrecarre l'effet pro-oxydant de la ménadione, dans un schéma classique de réponse adaptative. Cette observation suggère une légère induction non détectable de stress oxydant qui pré-conditionnerait les cellules à un stress plus fort.

- *Fan, Y, et al. (2016) A New Approach of Short Wave Protection against Middle Cerebral Artery Occlusion/Reperfusion Injury via Attenuation of Golgi Apparatus Stress by Inhibition of Downregulation of Secretory Pathway Ca(2+)-ATPase Isoform 1 in Rats.*

[Cerveau]

Le but de l'étude de Fan, Y, *et al.* (2016) est de définir si une exposition à 40,68 MHz, pendant 10 min tous les jours peut avoir un rôle bénéfique dans l'ischémie cérébrale focale/ lésion de reperfusion chez le rat et si oui par quels mécanismes. Une occlusion artérielle (MCAO) et une lésion de reperfusion est induite chez des rats males Sprague-Dawley de 260-300 g puis tous les jours pendant 7 jours. Les rats sont exposés grâce à un générateur spécifique à visée thérapeutique qui rayonne un champ de 40,68 MHz entre 2 électrodes. Ces électrodes sont disposées de part et d'autre de la tête du rat, à respectivement 10 cm. L'exposition est de 10 minutes par jour.

Pour mesurer l'efficacité de cette exposition, sur la récupération de la lésion occlusion/reperfusion, ont été mesurés le score de récupération fonctionnelle, le taux de survie et le volume de l'infarctus. L'analyse des lésions tissulaires a été faite en microscopie électronique. Pour comprendre les mécanismes d'action des ondes courtes sur l'inhibition de l'apoptose et sur le maintien de l'intégrité de l'appareil de golgi, l'analyse de l'expression de la



caspase 3 et de SPCA1 ont été réalisées par Western blot sur des protéines extraites dans les zones du cerveau atteintes par l'ischémie cérébrale focale/ lésion de reperfusion.

Les rats ont été répartis en 4 groupes : un groupe témoins cage n=8, un groupe témoin-exposition n = 8, un groupe modèle occlusion/lésion non exposé aux ondes courtes (témoin-opération/exposition n = 60) et un groupe exposé aux ondes courtes n = 60). Le groupe témoin-exposition et le groupe exposés ont été subdivisés au hasard en 3 sous-groupes (n = 20), pour être analysés aux jours 1, 3 et 7. Les analyses ont été faites en aveugle p. Tous les résultats sont exprimés en moyenne  $\pm$  écart type et les tests statistiques sont parfaitement adaptés. Résultats l'analyse de survie (Kaplan-Meier) montre que la survie est globalement de 100% dans les groupes témoin-exposition et témoin-opération/exposition alors qu'elle a diminué de 50 % dans le groupe « exposés », et les ondes courtes protègent puisque dans le cas du double traitement la survie est à 80% quel que soit le temps après l'arrêt des expositions. Dans le groupe témoin-exposition, le score neurologique s'améliore au cours du temps pour tous les temps d'exposition. Le traitement par les radiofréquences diminue significativement l'incidence d'infarctus. L'analyse morphologique des tissus cardiaques montre que les rats du groupes I/R ont moins de neurones reflétant une ischémie et des dommages liés à l'infarctus. Le traitement par les ondes courtes a entraîné une inversion partielle de la perte de coloration. Les neurones de la région CA1 de l'hippocampe dans le groupe I/R cérébrale présentent des lésions caractéristiques d'une dégénérescence neuronal, ces lésions s'aggravant au cours du temps et dans les groupes exposés aux ondes courtes ces anomalies sont atténuées et une amélioration sensible au cours du temps donc du nombre d'expositions est notable. En ce qui concerne l'expression des protéines impliquées dans le contrôle de l'intégrité de l'appareil de golgi et dans l'apoptose, les ondes courtes ont diminué l'induction de la caspase 3 à J3 et J7 par rapport aux valeurs observées dans le groupe IR (dans lequel les effets culminent à J1 pour diminuer légèrement à J3 et J7 mais en restant toujours au-dessus des témoins). L'expression de SPCA1 dans le groupe I/R atteint un pic à J1 puis diminue progressivement à un niveau inférieur aux témoins à J3 et J7 ( $P < 0,05$ ). En comparaison le groupe exposé aux ondes courtes le taux de SPCA1 augmente significativement à J3 et J7, illustrant à nouveau l'effet potentiellement bénéfique d'une exposition aux ondes courtes.

En résumé, les résultats montrent qu'une exposition aux ondes courtes protège contre les lésions ischémiques en réduisant le déficit neural et le volume de l'infarctus favorisant une récupération fonctionnelle. La régulation du stress de l'appareil de Golgi pourrait être le mécanisme d'action, cependant cette dernière hypothèse mérite d'être vérifiée dans la mesure où l'expression de deux protéines n'est vraiment pas suffisante pour démontrer l'implication d'un mécanisme d'action.

Dans cette étude, le générateur est peu détaillé, la dosimétrie est très sommaire : seule la puissance de la source (10 W) et la distance entre les électrodes et la tête du rat (10 cm) sont indiquées. Il n'y a pas d'indication de contrôle dosimétrique en cours d'exposition. L'exposition physique est néanmoins reproductible. Il n'y a pas de groupe de rats exposés aux radiofréquences seuls mais cela ne modifie pas l'interprétation des résultats compte tenu de la question posée.

- *Franchini, V, et al. (2018a) "Genotoxic Effects in Human Fibroblasts Exposed to Microwave Radiation."*

[Peau]

Franchini *et al.* (2018) ont réalisé une étude pour déterminer si une exposition de 20 min à des radiofréquences (25 GHz) peut induire un effet génotoxique sur deux lignées de fibroblastes humains fœtaux ou adultes cultivées *in vitro*. Le système d'exposition a été développé pour

exposer une boîte de Petri à la fréquence de 25 GHz : les cellules étaient exposées à l'aide d'un cornet d'une boîte de Petri, par le dessous. Les niveaux d'exposition étaient proches de la limite des 10 W/m<sup>2</sup>, à savoir 8 W/m<sup>2</sup>. L'antenne était insérée dans un cylindre métallique et placée à 56,5 mm du sommet du cylindre où se trouve la boîte de Petri. Un contrôle des puissances incidentes ou transmises a été effectué, de même qu'une mesure et une estimation numérique de la température a été réalisée. Les boîtes de Petri avaient un diamètre de 60 mm et étaient remplies de 5 mL de milieu de culture. L'exposition a été effectuée en continu et l'incrément de température a été estimé pour une exposition de 20 min. Les tests (analyse de la survie, de la mort cellulaire et du cycle cellulaire en cytométrie en flux) ont été réalisés entre 30 min et 48 h après l'exposition. La génotoxicité a été étudiée par différents tests complémentaires qui permettent d'analyser les cassures de l'ADN : test de comètes en condition alcaline, phosphorylation de l'histone H2AX, fréquence des micronoyaux kinétochore positif ou négatif (afin de discriminer les mécanismes aneugènes des clastogènes), analyse chromosomique en hybridation *in situ* avec des sondes centromériques (afin de définir l'origine des pertes chromosomiques non disjonction/aneuploïdie) et enfin la longueur des télomères. Parallèlement, une analyse morphologique des cellules et l'analyse de l'expression d'un ensemble de protéines impliquées dans le cytosquelette, la régulation du stress et de la survie/mort (*western blot*) ont été réalisées. Pour cette étude, plusieurs groupes ont été étudiés : exposé ; témoin-exposition; témoin- effet thermique (pour étudier l'effet de la température). Aucun témoin positif de génotoxicité n'a été inclus. Selon les tests, entre trois et quatre expositions indépendantes ont été faites (les contrôles de température ont été réalisés pour trois tests uniquement).

L'exposition pendant 20 min à des radiofréquences 25 GHz n'a pas entraîné d'altération de la survie cellulaire et n'a pas provoqué de blocage dans le cycle cellulaire, ni 1 h, ni 24 h après l'exposition. L'exposition n'a pas provoqué de cassures directes de l'ADN (comète 2 h et 24 h après l'exposition et H2AX 30 min, 2 h et 24 h après l'exposition). Sur les deux lignées cellulaires, l'analyse des micronoyaux a montré que l'exposition avait induit une augmentation du nombre de micronoyaux kinétochore positif (le taux de micronoyaux kinétochore négatif restant constant) et l'analyse en FISH a montré des anomalies de ségrégation des chromosomes. Ces deux derniers résultats suggèrent, d'après les auteurs, que l'exposition induit de manière indirecte de la génotoxicité *via* des pertes chromosomiques et une mauvaise ségrégation des chromosomes. Aucune altération n'a été détectée concernant la longueur des télomères, l'expression des protéines impliquées dans la réponse au stress et la régulation des voies de survie/mort et enfin aucune modification morphologique n'était liée à l'exposition. Par rapport à la question posée, les auteurs concluent que pour les deux lignées cellulaires, une exposition pendant 20 min à 25 GHz entraîne, 24 h après l'exposition, un effet génotoxique indirect *via* des pertes chromosomiques et des anomalies de ségrégation des chromosomes.

Le système d'exposition est de bonne qualité ; seule l'homogénéité peut présenter une limite à ce système. L'analyse de la génotoxicité est très complète et permet de déterminer des effets directs et indirects. Une limite méthodologique mineure est l'absence de contrôle positif pour analyser la génotoxicité. Par ailleurs, les données de pertes chromosomiques ne sont pas cohérentes avec la ploïdie (sauf si limite de sensibilité). Les délais d'analyse après l'exposition sont très courts (24 h).

- *Franchini, V, et al. (2018b) Study of the effects of 0.15 terahertz radiation on genome integrity of adult fibroblasts.*

[Peau]

Le but de l'étude de Franchini *et al.* (2018) est de déterminer si un rayonnement THz altère

l'intégrité du génome de fibroblastes normaux prélevés chez des individus adultes en étudiant le cycle cellulaire (cytométrie en flux), les micronoyaux, la taille des télomères et l'expression de certaines protéines impliquées dans la réparation de l'ADN, le contrôle de la survie et le stress (immunohistochimie et Western blot). Les échantillons biologiques sont exposés avec un dispositif spécifique alimenté par une source "Compact Free Electron Laser". L'exposition de 20 min, pour un signal de porteuse 150 GHz, de longueurs d'impulsion de 50 ps, espacées de 330 ps pendant 4µs, à une fréquence de répétition de 2,5 Hz. Le niveau d'exposition est de 0,40 mW/cm<sup>2</sup> soit un DAS annoncé de 15 à 20 mW/g. Les analyses biologiques sont réalisées à 1h, 24h ou 48h (selon les tests) post-exposition, en comparaison avec les cellules témoins exposition, montrent la non-induction de micronoyaux centromère négatif, l'absence d'augmentation du nombre de foyers p-H2AX et 53BP1, et l'invariabilité de la taille des télomères ce qui montre que le rayonnement THz ne lèse pas directement la molécule d'ADN de fibroblastes normaux adultes. Ces résultats sont parfaitement cohérents avec l'absence de modification de l'expression de protéines associées au stress et à la signalisation des dommages à l'ADN (HSP 70, 60 et 25, AKT NFkB, ERK 1 et 2 (phospho ou non-phospho)). Par contre, les auteurs observent après exposition une augmentation des fréquences des micronoyaux centromère positifs ainsi que des non-disjonctions chromosomiques, indiquant l'induction d'une aneuploïdie.

En conclusion, les auteurs montrent que l'exposition aux rayonnements THz de fibroblastes adultes normaux humains peut affecter l'intégrité du génome par des effets aneugènes mais pas clastogènes. Cette exposition ne correspond pas encore à un environnement domestique ou professionnel. Elle vise néanmoins à anticiper une mise en œuvre plus large des fréquences à environ 150 GHz. Cette fréquence peut ainsi correspondre à des signaux télécom à moyen terme. Le niveau de champ incident est assez élevé ; la qualité de l'exposition assure sa reproductibilité.

- *Furtado-Filho, O. V., et al. (2015) "Effects of chronic exposure to 950 MHz ultra-high-frequency electromagnetic radiation on reactive oxygen species metabolism in the right and left cerebral cortex of young rats of different ages"*

[Cerveau]

Le but de l'étude de Furtado-Filho *et al.*, 2015 a été d'évaluer l'effet de radiofréquences de 950 MHz sur des biomarqueurs de dommages oxydatifs à l'ADN, sur des protéines et des lipides du cortex cérébral de rats nouveau-nés et de rats de 6 jours. Un générateur de 1 W alimente une antenne dipôle disposée dans une cage de Faraday. Le champ incident de 35 V/m, à 900 MHz est représentatif de la téléphonie mobile. Une cage en polypropylène où se trouve un rat est disposée dans cette cage de Faraday. Les femelles sont exposées 30min/j pendant toute la gestation. Les rats nouveau-nés issus de femelles témoin-exposition et exposées sont sacrifiés. Un groupe de nouveau-nés est gardé pour constituer un groupe témoin-exposition à 6 jours (J6) et un autre groupe (J6) est exposé 30min/j de J0 à J6. Pour le groupe exposé (mère et petits), l'exposition dure 27 jours. Le taux d'absorption spécifique varie de 1,32 à 1,14 W/kg. A J0, le poids des nouveau-nés du groupe exposé est inférieur à celui du groupe témoin-exposition. Chez les nouveau-nés J0 et J6, aucune modification de la peroxydation lipidique s'est détectée dans le cortex. Les niveaux de protéines carbonylées (CP) sont similaires dans le cortex entre témoin-exposition et exposés à J0. Mais à J6, le contenu en CP du groupe exposé est augmenté dans le cortex droit uniquement. Bien qu'il n'y ait pas de différence statistique dans les dommages à l'ADN à J6, seul le cortex droit des animaux exposés montre une tendance à l'augmentation des dommages. Les auteurs concluent qu'il n'y a pas de génotoxicité ou de stress oxydatif chez les rats nouveau-nés (J0) et âgés de 6 jours après exposition à 950MHz. Cependant, le cortex droit des rats exposés à

une concentration de CP plus élevée mais cet effet ne serait pas dû au stress oxydatif.

Les calculs analytiques du DAS annoncés sont très imprécis. Les auteurs n'ont pas étudié les effets en fonction du sexe des rats nouveau-nés alors qu'ils étudient les effets dans chaque cortex, alors que la biochimie semble être différente en fonction du sexe, du statut hormonal, de l'âge

- *Furtado-Filho, OV, et al. (2014) "Effect of 950 MHz UHF Electromagnetic radiation on biomarkers of oxidative damage, metabolism of UFA and antioxidants in the liver of young rats of different ages."*

[Foie]

Furtado-Filho *et al.* (2013) étudient des effets hépatiques d'une exposition aux radiofréquences in utero et dans les 30 premiers jours de vie. Des rats sont disposés dans des cages en aluminium, à une fréquence de 950 MHz, à un niveau variant de l'ordre de 10 à 50 V/m. L'exposition est de 30 min/jour pendant 30 jours. L'exposition correspond à l'exposition à proximité d'un appareil de téléphonie mobile. Ils analysent le foie de rats nouveau-nés, à J6, J15 ou J30. L'exposition est de 30 min par jour, y compris pendant les 21 jours de gestation. Ils observent un poids à la naissance plus faible de 15% chez les exposés. Une forte baisse de la concentration en lipide est aussi observée après exposition, sans que le temps d'analyse soit précisé. Chez les nouveaux nés, la peroxydation lipidique et la quantité de catalase sont aussi plus faibles que dans les témoins-exposition. Pour les autres jours, aucun de ces paramètres ne diffère. L'oxydation de protéines n'est pas mise en évidence. Les auteurs regardent aussi l'induction de dommages de l'ADN dont le taux est plus faible à J15 dans les exposés.

La dosimétrie n'est assurée que par la mesure du champ en différents points de la cage métallique. Le DAS est calculé de façon trop imprécise, à partir du champ à vide pondéré par l'atténuation dans les tissus de l'animal. D'un point de vue physique, cette étude est néanmoins reproductible. L'étude est bien construite (9 animaux par groupe, groupe exposition). Pour la biologie, des points techniques mineurs sont à mentionner. Tout d'abord, l'effet sur la catalase n'est montré que sur gel. Le résultat est très net pour J0 mais on ne peut rien dire pour les autres groupes en absence de quantification précise. Pour la méthode des comètes, une modulation pour les contrôles à J30 met en doute la signification de la valeur plus élevée vue chez les exposés. La combinaison de ces paramètres montre un impact des radiofréquences sur le métabolisme lipidique dans le foie. Pour le lien avec les mécanismes de la cancérogenèse, ce travail montre une absence d'induction du stress oxydant.

- *Gao, Y., et al. (2016) A genome-wide mRNA expression profile in caenorhabditis elegans under prolonged exposure to 1750MHz radiofrequency fields*

[Non mammifère]

Gao *et al.*, 2016 ont étudié chez *C. elegans*, les effets de radiofréquences de 1750 MHz avec un DAS de 3.2 W/kg et 2,8 W/kg suivant la zone considérée. La température est contrôlée à proximité de l'échantillon exposé. La durée d'exposition est longue (soit 35 soit 50h, du stade L1 au stade adulte). Les auteurs s'intéressent à l'effet sur les taux de croissance et la durée de vie du groupe exposé aux radiofréquences et du groupe témoin suivis au cours du développement larvaire entre l'éclosion des œufs et le stade L4. L'exposition est réalisée par l'intermédiaire d'un dispositif commercial dédié aux études bioélectromagnétiques. Il s'agit d'un guide d'onde permettant d'exposer six boîtes de Petri de 35 mm. Des échantillons d'ARN ont été prélevés après exposition pendant 35h (stades L4) ou 50h (adulte gravide) pour un séquençage à haut débit. Aucun effet délétère sur la croissance et la longévité de *C. elegans*



n'a été observé lors de l'exposition prolongée à 1750 MHz (de 0 à 60h du développement larvaire). Les analyses de RNAseq indiquent que des gènes spécifiques sont sous-exprimés ou sur-exprimés aux 2 phases d'exposition, et que 10 gènes sont communs aux 2 phases. Une analyse dans Gene Ontology (GO) indique qu'une exposition prolongée aux radiofréquences peut favoriser l'expression de gènes associés au développement au stade larvaire 4. Les gènes dérégulés au stade adulte gravide appartiennent aux mêmes familles de gènes impliqués dans la régulation positive de la croissance ainsi que le développement du système reproducteur. Les résultats montrent qu'une exposition prolongée aux radiofréquences peut favoriser l'expression des gènes associés au taux de croissance aux stades L4 et adulte gravide ainsi qu'au développement embryonnaire. Il est cependant difficile d'éliminer la possibilité d'un effet de changements subtils de température à l'intérieur des vers pour expliquer ces effets. Il est également difficile d'intégrer ces données dans la problématique cancer puisque les fonctions altérées ne sont pas directement liées au cancer.

- *Gapeyev, AB et al. (2014) Hydrogen peroxide induced by modulated electromagnetic radiation protects the cells from DNA damage.*

[Sang et plasma]

Gapeyev et Lukyanova (2015) étudient la protection apportée par une exposition radiofréquences contre la génotoxicité. Ils exposent des leucocytes de souris *ex-vivo* à des radiofréquences, continue ou pulsée. Les échantillons biologiques sont exposés devant une antenne cornet, dans des conditions de champ lointain, à 42,2 GHz, à une densité de puissance indiquée de 0,1 mW/cm<sup>2</sup> et un DAS de 1,5 W/kg, pendant 20 mins. Les dommages à l'ADN sont mesurés par la méthode des comètes en condition alcaline. Ils montrent que les deux types de radiofréquences étudiées n'induisent pas de cassures à l'ADN. A l'inverse, les RX augmentent d'un facteur 30 la quantité de dommages. Une exposition préalable aux radiofréquences pulsées (mais pas continues) diminue d'environ 20% l'induction de ces cassures de l'ADN par les RX. Les auteurs observent ensuite un effet protecteur similaire en incubant les cellules avec du peroxyde d'hydrogène dans la gamme 30-500 nM. Ils rapportent enfin également que l'irradiation radiofréquences d'une solution saline génère H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 4.6 nM en 20 min, temps d'exposition utilisé pour les cellules.

Les conditions d'exposition de cette étude sont correctes. Il s'agit d'une des rares études à plusieurs dizaines de GHz, d'intérêt et potentiellement représentatives de dispositifs de téléphonie mobile du type de la 5G sur ces bandes et à ce niveau d'exposition. Les conditions de cette étude sont reproductibles malgré une description sommaire des contenants biologiques et de la méthode d'obtention du DAS. Ce travail présente des limites méthodologiques mineures en biologie, comme l'absence de considération de possibles effets thermiques ou l'impact des expositions sur la viabilité cellulaire. Il apporte cependant des données intéressantes. La première est l'absence de formation de dommages de l'ADN visualisés par la méthode des comètes (cassures, sites abasiques) avec les radiofréquences utilisées. L'autre résultat à mentionner est la protection qu'apporte une exposition aux radiofréquences contre la génotoxicité d'une exposition au RX. L'hypothèse d'un rôle important des ROS et de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dans cette réponse adaptative est intéressante. Le rôle de la réparation de l'ADN reste cependant à préciser.

- *Gapeyev, AB, et al. (2013) Exposure of Tumor-Bearing Mice to Extremely High-Frequency Electromagnetic Radiation Modifies the Composition of Fatty Acids in Thymocytes and Tumor Tissue.*

[Foie][Système immunitaire]



Dans cette nouvelle étude, Gapeyev *et al.* (2013) ont étudié les changements de la composition en acides gras dans le thymus, le foie, le plasma sanguin, le tissu musculaire et le tissu tumoral chez des souris atteintes d'un carcinome solide de Ehrlich et exposées aux EMR. Des souris sont libres de leurs mouvements dans des enceintes en plastique, en zone de champ lointain d'une antenne cornet alimentée par une source à 42 GHz. Le DAS est indiqué à 1,5 W/kg, soit une densité de puissance indiquée à 0,1 mW/cm<sup>2</sup>. L'exposition est de 20 min/jour pendant 5 jours consécutifs à partir du premier jour après l'inoculation des cellules tumorales. La composition en acides gras de divers organes et tissus des souris a été déterminée à l'aide d'une chromatographie en phase gazeuse. Il a été montré que l'exposition de souris normales à l'EMR ou à la croissance tumorale augmentait de manière significative la teneur en AG monoinsaturés (AGM) et diminuait la teneur en AG polyinsaturés (AGP) dans tous les tissus examinés. L'exposition des souris porteuses de tumeurs aux EMR EHF a permis de rétablir la composition en AG dans les thymocytes à l'état typique des animaux normaux. Dans les autres tissus des souris porteuses de tumeurs, l'exposition aux EMR EHF n'a pas induit de changements considérables qui permettraient de distinguer de manière significative les perturbations causées par l'exposition aux EMR EHF ou la croissance de la tumeur séparément. Dans les tissus tumoraux qui sont caractérisés par un niveau élevé d'AGMI, l'exposition aux EMR EHF a significativement diminué la teneur en AGMI et augmenté la teneur en AGPI. La récupération de la composition en AG dans les thymocytes et la modification de la composition en AG dans la tumeur sous l'influence des EMR EHF sur des animaux porteurs de tumeurs peuvent avoir une importance cruciale pour élucider les mécanismes des effets antitumoraux du rayonnement électromagnétique.

Ces travaux sont à visée thérapeutiques. Néanmoins, l'exposition à 42,2 GHz peut se rapprocher de l'exposition aux fréquences les plus hautes de la 5G. Les analyses statistiques n'ont pas été faites pour comparer tumeur seule, les radiofréquences seuls et tumeur + radiofréquences. Donc on ne sait pas si effectivement, les concentrations en AG sont identiques dans tumeur + radiofréquences et dans témoin-exposition mais différentes de celle des groupes tumeur seule ou radiofréquences seuls.

- Gläser, K., *et al.* (2016) "Effect of Radiofrequency Radiation on Human Hematopoietic Stem Cells"

[Sang et plasma]

Le but de Glaser *et al.* (2016) est d'étudier si les cellules souches hématopoïétiques humaines (CSH), sont sensibles aux rayonnements des téléphones portables. Des cellules HSC et HL-60 sont exposées dans une cellule TEM aux ondes GSM à (900 MHz), UMTS (1 950 MHz) ou et LTE (2 535 MHz) pendant 4 h ou 20 h ou 66 h à cinq intensités différentes allant de 0 à 4 W/kg de taux d'absorption spécifique (DAS). La dosimétrie de cette étude est de très bonne qualité. Le DAS est notamment justifié par simulation numérique. Les 4 niveaux d'exposition sont choisis afin d'être situés une plage de valeur encadrant le seuil normatif de 2 W/kg.

L'apoptose, le stress oxydatif, le cycle cellulaire, les dommages à l'ADN et la réparation de l'ADN ont été étudiés. Globalement, les résultats de l'étude ne montrent pas de changements en termes d'apoptose, stress oxydant, cycle cellulaire, dommages à l'ADN et réparation ni pour les HSC ni pour les cellules HL-60.

Concernant les dommages à l'ADN, en première intention l'analyse des comètes indiquent qu'il n'y a aucun effet après l'exposition. Cependant, l'analyse statistique révèle que les dommages à l'ADN dans les HSC après 4 h d'exposition au GSM avec les valeurs SAR de 0,5, 1 et 4 W/kg sont significativement diminués par rapport au témoin-exposition. Ce n'est le cas ni pour 2 W/kg ni pour toutes les intensités des modulations UMTS et LTE ni pour les expositions de longue durée. Cette diminution pourrait indiquer un effet protecteur des champs

radiofréquences, cependant, comme les changements sont très faibles et que l'altération ne dépend pas de l'intensité, il n'est pas clair si cette altération peut être considérée comme biologiquement pertinente.

- *Grasso, R., et al. (2020) Dynamic changes in cytoskeleton proteins of olfactory ensheathing cells induced by radiofrequency electromagnetic fields*

[Nez]

Grasso *et al.* (2020) s'intéressent à la dynamique du cytosquelette dans des cellules souche et sa modulation par les radiofréquences. Le système d'exposition repose sur une illumination type champ lointain par un cornet. Le cornet est positionné à 67 cm des échantillons et le champ électrique mesuré à cet emplacement est de 7 V/m. Les échantillons sont placés dans un bain marie pour être maintenus à 37°C. Deux types de signaux sont générés à la fréquence de 900 MHz, à savoir un signal continu et un signal modulé en amplitude à la fréquence de 50 Hz avec un taux de modulation de 27%. Trois durées d'exposition sont exploitées, 10, 15 et 20 minutes. Un contrôle de la température fait apparaître une élévation de 0,35°C. Les auteurs ont tout d'abord démontré que l'exposition des OEC, un type de cellules souches, à des CEM pendant une courte durée (20 min) induit un changement dans l'organisation de certaines protéines du cytosquelette (GFAP, vimentine, S-100, nestine), en fonction de la présence ou de l'absence de modulation de l'amplitude des CEM. En particulier, ils ont montré que l'exposition des cellules à CW 900 MHz pendant 20 min augmentait les niveaux d'expression de la nestine, un marqueur de cellules souches neurales exprimé par les OEC, stimulant l'auto-renouveau des cellules. Ainsi, l'exposition des OEC à 900 MHz induit des interactions dynamiques entre les protéines du cytosquelette exprimées et les signaux extrinsèques induits par la modification du micro-environnement due à l'exposition. Cela stimule la capacité intrinsèque des OEC à réparer les dommages. En revanche, l'exposition des OEC à l'AM900 MHz a conduit à une réduction significative de la viabilité cellulaire, en raison de l'activation de la voie apoptotique, accompagnée d'une diminution significative des protéines du cytosquelette testées. En outre, les auteurs suggèrent que le CW 900 EMF pourrait jouer un rôle important dans l'auto-renouveau des OECs, qui est impliqué dans la plasticité neuronale. D'autres études sont en cours afin de vérifier l'hypothèse selon laquelle les CW900 MHz et les AM 900 MHz pourraient induire des mécanismes moléculaires différents, capables de favoriser la réparation et/ou la détérioration des OEC.

L'exposition s'apparente à des conditions d'exposition à un système de téléphonie en champ lointain à la fréquence de 900 MHz, avec un signal continu ou modulé. La modulation d'amplitude à 50 Hz n'est pas directement liée à un type de signal utilisé dans les systèmes de télécommunications. La description du système d'exposition laisse apparaître un manque d'information sur l'environnement des échantillons exposés. Il est fait état de plaque 96-puits et de lamelles de 14 mm de diamètre placés dans un bain marie lors des expositions. Sans plus de précision, il est délicat de se prononcer sur les niveaux réels d'exposition des échantillons (niveau, homogénéité dans les échantillons, ...), même si le principe d'illumination en champ lointain les échantillons n'est pas remis en cause. Malgré ces limites, ces données suggèrent que les champs électromagnétiques de radiofréquence pourraient jouer des rôles différents et importants dans l'auto-renouveau des cellules souches OEC, qui sont impliquées dans la réparation du système nerveux. Les limites mineures sont basées sur le fait que ces conclusions ne sont étayées que par des expériences de mort cellulaire, d'AFM et d'IF.

- *Guo, K, et al. (2020) "Effects of acute exposure to ultra-wideband pulsed electromagnetic fields on the liver and kidneys of mice."*

[Foie][Reins]

Guo *et al.* (2020) étudient l'effet de champs électromagnétiques pulsée à large bande sur le foie et les reins de souris. Les souris sont exposées soit à 98 kV/m pendant 30 ou 60 min, soit à 168 kV/m pendant 30 ou 10 min, soit à 344 kV/m pendant 10 min (8 groupes de 8 animaux). Les animaux sont disposés devant une source "Ultra Wide Bande" (ultra large bande), donc de type impulsionnelle, de durée d'impulsion 2 ns à 10 Hz de fréquence de répétition, pendant 10, 30 ou 60 min. Dans le groupe 98kV/m-60min, l'exposition n'entraîne ni changement de poids ni variation de la température rectale. L'analyse histologique et les mesures d'activité ALAS et AST montrent que l'intégrité du foie et des reins est atteinte lors de l'exposition à 96 kV/m - 60 min et 344 kV/m - 10min. Les paramètres du stress oxydant varient significativement dans le foie à 96 kV/m - 60 min : MDA (x2,5), CAT (x2), SOD (x1,5) GPx (x0,8), NO (x1,5) iNOS (x1,4). Ils varient aussi à 344 kV/m - 10 min: MDA (x1,6), CAT (x2), SOD (x1,6) GPx (x1,3), NO (x1,7) iNOS (x2). Pour les reins, les variations significatives sont à 96 kV/m - 60 min : MDA (x1,8), CAT (x1,6), SOD (x2) GPx (x2), NO (x2,5) iNOS (x2,3). Ils varient aussi à 168 kV/m - 10 min: MDA (x1,5), CAT (x1,6), SOD (x1,5). Les auteurs réalisent également un suivi cinétique après exposition 60 min à 98 kV/m. Une légère augmentation est vue, pas toujours significative, à 3h. L'augmentation se poursuit pour être significative à 24h pour tous les paramètres. Ces derniers se normalisent à 72h, sauf GPX dans le foie qui est encore plus élevée qu'à 24h. Des observations similaires sont faites sur la morphologie des tissus. Pour finir, les auteurs étudient par immunohistochimie l'expression de deux protéines de réponse au stress oxydant, NFkB et Nrf2. Ils rapportent là aussi une augmentation à 3 et 24h.

Cette exposition n'est pas représentative d'une exposition de l'environnement domestique ou professionnel. Cette exposition dite "UWB" ou "ULB", de plusieurs dizaines de kV/m incident est représentative de dispositifs militaires ou voire d'applications duales thérapeutiques. La dosimétrie de cette étude est très sommaire ; les courbes temporelles de l'exposition ne sont pas indiqués ; l'exposition physique de cette étude est néanmoins reproductible. Le travail bien conçu, à part une mesure trop indirecte des effets thermiques et des études par immunohistochimie peu fiables. Les résultats montrent clairement un impact des radiofréquences utilisées sur la physiologie du foie et des reins. Les données suggèrent également l'induction d'un stress oxydant, notamment l'augmentation du MDA. Les résultats sur catalase, SOD et GPx montrent une perturbation du système antioxydant, mais plus son induction que sa diminution. On peut donc penser que cette réponse est une activation des défenses antioxydantes. En terme de mécanismes de cancérisation, ce travail document une induction du stress oxydant après exposition, avec un maximum à 24h et un retour à la normale à 72 h.

- Guo, L., *et al.* (2019) "Effects of 220 MHz pulsed modulated radiofrequency field on the sperm quality in rats"

[Système reproducteur]

Guo *et al.* (2019) étudient l'impact d'une exposition à un DAS faible (0,030W/kg corps entier; 0,017 testicules) à 220 MHz pendant 1 mois. Le système d'exposition est constitué d'une antenne log-périodique positionnée à 3.5 m de cages individuelles (26x8x7 cm) contenant les animaux. L'exposition de type champ lointain est effectuée par un signal pulsé. Ce dernier présente des pulses de 10 µs de durée, un rapport cyclique de 50 % et une fréquence de 220 MHz. La densité de puissance est de 50 W/m et le DAS corps entier obtenu par simulation est de 0,03 W/kg, et de 0,014 W/kg pour les testicules. L'exposition est de 1 h par jour. Aucun effet n'est observé après exposition radiofréquences sur le poids total des animaux ou le poids des testicules. Le nombre de spermatozoïde baisse de 30% ainsi que leur taux de survie. Aucune variation du taux d'anomalie n'est vue. La structure des testicules n'est pas affectée ni les fonctions sécrétrices testiculaires. Une légère baisse de 14 % sur taux plasmatique de

testostérone est observée. Une augmentation de la quantité de caspase 3 clivée est observée (facteur 1,8) principalement dans tubes séminifères internes, siège de la production et de la maturation des cellules germinales. L'expression de la caspase 3 est 25% élevée dans le groupe radiofréquences, BAX ne varie pas de façon significative, Bcl2 baisse d'un facteur 2 et le rapport BAX/Bcl2 augmente de 1,5.

L'étude est de qualité notamment parce qu'elle utilise une série de marqueurs complémentaires pour un même effet. Il aurait été intéressant néanmoins d'inclure un groupe contrôle cage pour s'assurer de l'absence d'effet de la manipulation des animaux qui aurait pu masquer certains effets des radiofréquences. Les données apportent cependant des informations mécanistiques intéressantes en particulier pour la fertilité. En cancérogenèse, on retiendra surtout la capacité des radiofréquences à induire de l'apoptose.

- *Gupta, SK, et al. (2018) Electromagnetic radiation 2450 MHz exposure causes cognition deficit with mitochondrial dysfunction and activation of intrinsic pathway of apoptosis in rats.*

[Cerveau]

En 2018, Gupta *et al.* s'intéressent à l'effet d'expositions radiofréquences chez le rat sur la mémoire de reconnaissance spatiale et l'anxiété. Les rats sont maintenus dans des cages en bois. Ces cages sont disposées dans des chambres anéchoïques. A proximité, un dispositif constitué d'une source, d'un amplificateur, d'une antenne cornet et d'équipement de métrologie dépose 6,7 V/m (exposition représentative en forme et en niveau de l'exposition à proximité d'un appareil de téléphonie mobile) aux fréquences de 900, 1800 et 2450 V/m, 1 heure/jour pendant 28 jours. La description de l'exposition physique est très précise : les caractéristiques de chaque élément de la chaîne sont indiquées et justifiées. Les auteurs réalisent tout d'abord une série de tests comportementaux qui montrent l'absence d'effet de radiofréquences à 900 et 1800 MHz. A 2450 Mhz, des perturbations sont observées J21 et 28 après l'exposition mais pas avant. Les animaux sont sacrifiés à J28 et des paramètres biochimiques sont mesurés. Rien n'est modulé à 900 et 1800 MHz. A 2450 MHz, les auteurs montrent clairement la surexpression du peptide  $\alpha\beta$ , un dérèglement du système cholinergique et un dysfonctionnement des mitochondries. Ce dernier est associé à un stress oxydant et à l'induction d'apoptose.

Le DAS est annoncé à 0,042 W/kg; mais il est obtenu par une formulation analytique assez peu précise. Le travail biologique plutôt convaincant montre un effet des radiofréquences sur l'hippocampe avec un impact comportemental chez les animaux. Un point négligé par les auteurs est un possible rôle de l'effet thermique, certes limité, induit en début d'exposition.

- *Gupta, SK, et al. (2019) Long-term exposure of 2450 MHz electromagnetic radiation induces stress and anxiety like behavior in rats.*

[Cerveau]

Gupta *et al.* (2019) se sont intéressés à l'anxiété causée chez les rats par une exposition aux radiofréquences. Les rats sont maintenus dans des cages en bois. Ces cages sont disposées dans des chambres anéchoïques. A proximité, un dispositif constitué d'une source, d'un amplificateur, d'une antenne cornet et d'équipement de métrologie dépose 6,7 V/m aux fréquences de 900, 1800 et 2450 MHz, 1 heure/jour pendant 28 jours.

Une anxiété est mise en évidence pour la plus haute fréquence à J28. Dans l'amygdale à J28 et pour 2450 MHz uniquement, les auteurs observent un effet important sur les mitochondries avec une baisse du potentiel membranaire et des évidences d'induction de l'apoptose (Bax, Bcl2, CytC, Caspase 9). Cette apoptose se retrouve par une analyse en FACS, avec aussi la



détection de cellules nécrotiques. Des indications de stress oxydant sont obtenues.

La description de l'exposition physique est très précise : les caractéristiques de chaque élément de la chaîne sont indiquées et justifiées. L'exposition est de 6,7 V/m, représentative en forme et en niveau de l'exposition à proximité d'un appareil de téléphonie mobile. Le DAS est annoncé à 0,042 W/kg; mais il est obtenu par une formulation analytique assez peu précise. Cette étude bien conçue, avec une réserve sur la nature des contrôles, met bien en évidence un effet comportemental des radiofréquences avec un effet de fréquence très marqué. Les données montrent également un impact sur les mitochondries qui conduit à l'induction d'apoptose et de nécrose.

- *Gurbuz, N., et al. (2015) "Does radio frequency radiation induce micronuclei frequency in exfoliated bladder cells of diabetic rats?"*

[Vessie]

L'étude de Gurbuz *et al.*, 2014 a recherché des effets génotoxiques des radiofréquences de 1 800 et 2 100 MHz dans les cellules exfoliées de la vessie du rat diabétiques et non diabétiques. L'effet génotoxique des radiofréquences a été étudié par le test du micronoyau. Les rats sont exposés dans une cage en plastique face à une antenne cornet. Le rayonnement est à 2100 MHz, à un niveau de 17 V/m non thermique, avec un DAS moyen du corps entier de 0,24 W/kg pendant 30 min/jour, 5 jours/semaine, pendant 1 mois. L'exposition est représentative d'une exposition modérée à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Les rats sont répartis en un groupe diabétique sans exposition aux radiofréquences, un groupe diabétique exposé et un groupe témoin-exposition non diabétique. L'exposition aux radiofréquences n'entraîne pas de modification de la fréquence des MN dans les cellules vésicales exfoliées de rats quel que soit le groupe, diabétiques ou non, exposé ou non.

La dosimétrie de cette exposition est très sommaire. Le calcul de DAS est faux car il s'appuie sur une mesure de champ à vide. Le champ de 17 V/m est indiqué sans écart-type sur le volume de la cage. L'environnement électromagnétique est donc assez peu maîtrisé. Considérant l'ordre de grandeur du champ incident indiqué, cette étude est néanmoins reproductible.

- *Gurbuz, N., et al. (2014) "No genotoxic effect in exfoliated bladder cells of rat under the exposure of 1800 and 2100 MHz radio frequency radiation"*

[Vessie]

L'étude de Gurbuz *et al.*, 2014 a recherché des effets génotoxiques des radiofréquences de 1 800 et 2 100 MHz dans les cellules exfoliées de la vessie du rat. L'effet génotoxique des radiofréquences a été étudié par le test du micronoyau. Les rats sont exposés dans une cage en plastique face à une antenne cornet. Le rayonnement est à 1800 ou 2100 MHz, à un niveau de 17,02 V/m, pendant 30 min/jour, 6 jours/semaine, pendant 1 ou 2 mois. L'exposition est représentative d'une exposition modérée à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Trente rats albinos Wistar mâles ont été répartis en un groupe exposé aux radiofréquences de 1800 MHz pendant un mois, un groupe exposé aux radiofréquences de 2100 MHz pendant un mois, un groupe exposé aux radiofréquences de 2100 MHz pendant deux mois, un groupe témoin-cage pendant un mois et un groupe témoin-cage pendant deux mois. Les rats des groupes témoin-cage ont été gardés dans leur cage d'origine pendant toute la période expérimentale sans être soumis à aucune manipulation expérimentale. La période d'exposition était de 30 min/jour, 6 jours/semaine pour des périodes d'exposition d'un mois et de deux mois. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée dans le nombre de micronoyaux quelle que soit la fréquence ou la durée d'exposition



La dosimétrie de cette exposition est très sommaire. Le calcul de DAS est faux car il s'appuie sur une mesure de champ à vide. Le champ identique au centième pour les 2 fréquences est douteux ou imprécis. Considérant l'ordre de grandeur du champ incident indiqué, cette étude est néanmoins reproductible. Pour évaluer des effets génotoxiques, il est recommandé d'utiliser une batterie de tests dont des tests de mutations génétiques dans des bactéries et des cellules de mammifères. De plus, les groupes n'étaient composés que de 6 rats. Il faut également noter qu'il n'y a pas de groupe témoin-exposition.

- *Gürler, HS, et al. (2014) "Increased DNA oxidation (8-OHdG) and protein oxidation (AOPP) by Low level electromagnetic field (2.45 GHz) in rat brain and protective effect of garlic."*

[Sang et plasma]

Le but de l'étude de Gürler *et al.*, 2014 a été de savoir si chez le rat, l'ail peut avoir un effet anti-oxydant pour diminuer les effets oxydants générés par des radiofréquences de fréquence de 2,45GHz entraînant des effets non thermiques. Le système d'exposition est constitué d'un générateur émettant 2W de puissance à la fréquence de 2450MHz et pulsé à 217Hz ; il est relié à une antenne qui expose 12 rats positionnés en étoile dans des cages en plexiglas. Les animaux sont exposés à un DAS moyen calculée 0,02W/kg. Des rats mâles Wistar de 8 semaines sont exposés à des radiofréquences de 2,45GHz 1h/jour pendant 30 jours consécutifs. Trois groupes sont évalués: groupe témoin-exposition), groupe s exposé 1h/j, 30 j à 2,45 GHz, groupe exposé 1h/j, 30 j à 2,45 GHz et d'extrait d'ail. Les effets recherchés sont 1) des dommages oxydatifs à l'ADN dans le plasma et le cerveau, 2) formation de produits d'oxydation des protéines dans le plasma et le cerveau et 3) l'oxydation des lipides dans le sérum (TBARS, = complexe MDA-TBA). L'exposition des rats entraîne une augmentation du niveau de 8-OHdG dans le cerveau et le plasma des rats. L'extrait d'ail empêche cette augmentation dans le cerveau. Par contre, l'effet n'est pas significatif dans le plasma. Dans le plasma des rats exposés, la concentration de produits d'oxydation des protéines est significativement plus élevée que chez les rats témoin-exposition alors qu'elle est similaire chez les rats exposés + extrait d'ail et les rats du groupe témoin-exposition. Par contre, aucune différence n'est observée dans le cerveau pour les 3 groupes. De même, aucune différence entre les 3 groupes pour le niveau de peroxydation lipidique dans le cerveau et le plasma. En conclusion, des radiofréquences de 2,45GHz augmentent de façon significative le niveau d'oxydation de l'ADN dans le cerveau et le plasma alors que les niveaux d'oxydation des protéines ne sont augmentés que dans le plasma. L'extrait d'ail empêche l'augmentation des taux d'oxydation de l'ADN et des protéines chez les rats exposés à un faible niveau d'exposition.

Le système d'exposition est moyen, mais la variation du champ E et donc de la valeur du DAS ne devrait pas changer les résultats. On ne sait pas si les rats non exposés sont placés dans le système d'exposition ou gardés en cage conventionnelles.

- *Gustavino, B., et al. (2016) Exposure to 915 MHz radiation induces micronuclei in Vicia faba root tips*

[Non mammifère]

Gustavino *et al.* s'intéressent à la génotoxicité des radiofréquences dans la plante Vicia faba. Une cellule TEM est utilisée pour exposer les échantillons à un signal continu à la fréquence de 915 MHz. Elle présente des dimensions transversales de 30 x 18 cm, permettant de positionner deux récipients rectangulaire en plastique contenant des plants. Les résultats de trois expériences indépendantes pour chaque point d'analyse, montrent l'induction d'une augmentation significative de la fréquence MN après exposition, allant d'une augmentation de

2,3 fois au-dessus de la valeur fictive, au niveau SAR le plus bas, jusqu'à une augmentation de 7 fois au SAR le plus élevé.

Des limites mineures sont rapportées concernant l'exposition. Seule une valeur de DAS est précisée, une distribution spatiale aurait permis de mettre en évidence si la distribution est homogène et comme elle se présente dans la zone des racines des fèves. Le travail permet néanmoins de montrer la capacité effective des expositions radiofréquences à affecter les cellules eucaryotes de *Vicia faba* et à induire des dommages à l'ADN et/ou une perturbation de l'appareil mitotique, comme le révèle l'induction de MN.

- *Hanci, H, et al. (2013) "The effect of prenatal exposure to 900-megahertz electromagnetic field on the 21-old-day rat testicle."*

[Sang et plasma][Développement]

Le but de l'étude de Hanci *et al.*, 2013 est d'étudier l'effet de l'exposition à un champ électromagnétique continu de 900 MHz pendant la gestation sur le testicule de rat de 21 jours. Le système d'exposition consiste en une antenne dipôle qui rayonne une onde électromagnétique sur des animaux placés dans une cage de 30 x 42 x 50 cm. Le niveau d'exposition est déterminé par une mesure du champ électrique dans ou sous la cage en plexiglas et une valeur de l'ordre de 10 V/m est obtenue. Les femelles gestantes ont été divisés en témoin-exposition et exposées. Le groupe radiofréquences a été exposé à des radiofréquences de 900 MHz pendant les jours 13 à 21 de la grossesse pendant 1h chaque jour. Les testicules ont été extraits au jour postnatal 21. Les niveaux de peroxydation lipidique (taux de MDA) et d'oxydation de l'ADN (8-OHdG, l'index apoptotique (test Tunel) et l'histopathologie (H&E) ont été comparés. Dans le groupe exposé, on observe des cellules germinales non matures dans la lumière du tubule séminifère, des irrégularités dans la membrane basale et de l'épithélium du tubule séminifère. De même, un nombre significativement plus élevé de cellules apoptotiques est présent dans l'épithélium des tubes séminifères (P = 0,001). Les niveaux de MDA tissulaire et d'oxydation de l'ADN plasmatique (8-OhdG) sont significativement plus élevés dans le groupe exposé. Mais il n'y a pas de différence significative dans le poids des testicules droit et gauche. Les auteurs concluent que l'exposition aux radiofréquences de 900 MHz pendant la période prénatale a un effet négatif sur le développement des testicules des rats nouveau-nés et que cet effet persiste jusqu'au 21ème jour après la naissance avec des modifications de la morphologie testiculaire.

La description du système d'exposition manque d'information en particulier sur le contrôle de l'exposition et sur la dosimétrie. Des limites persistent sur l'exploitation des résultats eu égard à ces limites méthodologiques. Les auteurs concluent que le développement des testicules de rats nouveau-nés est altéré par les radiofréquences et que les effets persistent jusqu'à 21 jours mais il n'y a eu aucune analyse avant PN21, donc on ne sait pas à partir de quand apparaissent les effets.

- *Hanci, H, et al. (2018) "Changes in testicular morphology and oxidative stress biomarkers in 60-day-old Sprague Dawley rats following exposure to continuous 900-MHz electromagnetic field for 1 h a day throughout adolescence."*

[Système reproducteur]

Hanci et collaborateur (2018) se sont intéressés à l'effet des radiofréquences sur les testicules rat exposés entre l'enfance et l'âge adulte. Le système d'exposition est constitué d'une cage de 42x30x50 cm et d'une antenne dipôle (15 cm) placée au centre de la cage à 11 cm de distance. Le champ électrique mesuré à 900 MHz est de 8.7 V/m, soit 0,2 W/m<sup>2</sup> de densité de puissance au niveau des animaux exposés. Aucun effet des radiofréquences n'est observé

sur le poids des testicules entre les témoins cage et et les témoins exposition, mais une baisse de 20% entre les témoins exposition et les exposés. Aucune différence structurale ou physiologique n'est entre les contrôles cage et les contrôles exposition. Par contre, histopathologie met en évidence de nombreuses atteintes du tissu dans le groupe exposé. Les données histo-morphométrique montrent une baisse de dimension de plusieurs structures. Enfin, l'observation en microscopie électronique confirme une atteinte des tissus et montre des modifications au niveau cellulaire avec une dilatation du réticulum endoplasmique, la présence de vacuole dans les mitochondries et une perte de cytoplasme dans les cellules spermatogéniques. La méthode TUNEL montre un induction d'apoptose (IA +85%). En terme de marqueurs du stress oxydant, la peroxydation des lipides augmente de 70% entre les témoins exposition et les radiofréquences exposés, et l'activité SOD est multipliée par 3.3. L'activité catalase est augmentée de 10% mais elle est multipliée par 2,4 entre les témoins cage et et les témoins exposition. La concentration de GSH ne varie pas entre les témoins exposition et et les exposés radiofréquences.

Cette étude comporte des limites mineures, comme une mesure inadéquate de l'effet thermique des radiofréquences ou un trop faible nombre de marqueurs de stress oxydant pour conclure sur cet effet. De plus, la dosimétrie reste approximative, en particulier la valeur de DAS corps entier obtenu avec un logiciel dont il est impossible de connaître la théorie utilisée pour le calcul. L'étude montre cependant un effet des radiofréquences sur les testicules des rats jeunes. En terme de cancérogénèse, il est intéressant de noter l'induction de l'apoptose et d'un possible stress oxydant.

- *Hao, Y, et al. (2018a) Autophagy mediates the degradation of synaptic vesicles: A potential mechanism of synaptic plasticity injury induced by microwave exposure in rats.*

[Cerveau]

Hao *et al.* (2018) se sont intéressés au rôle de l'autophagie dans l'impact de microondes dans le cerveau de rats. 30 rats sont maintenus dans des cages en plexiglass dans une chambre anéchoïque. Le moyen d'émission est une source Viricator connectée à une antenne cornet à 1,6 mètre des cages. Le signal est entretenu, à 2,856 GHz, à un niveau de 30 mW/cm<sup>2</sup> soit un DAS annoncé de 10,5 W/kg.

Les auteurs ont tout d'abord montré l'absence d'effet thermique notable. Lors d'un suivi d'un mois, ils ont ensuite relevé un impact des microondes sur les électroencéphalogrammes, des tests de comportements impliquant la mémoire et un impact sur la structure des neurones de l'hippocampe. Ils ont également montré une perturbation de la production de neurotransmetteurs. Enfin, ils ont mis en évidence la dégradation des vésicules synaptiques par induction de l'autophagie. A noter que ces réponses ont des cinétiques similaires avec un maximum à 7 et 14 jours suivi d'un retour au niveau de base.

La description de l'exposition physique est assez précise. Les valeurs chiffrées de la fréquence et la justification de la dosimétrie ne sont pas indiquée dans la publication mais dans des références. La température des rats est contrôlée. Cette exposition correspond à un niveau élevé de l'environnement à proximité de dispositifs de téléphonie mobile. Cette étude bien faite est centrée sur l'impact des microondes sur l'hippocampe et le fonctionnement neuronal qui est perturbé par l'exposition. L'information la plus pertinente pour la thématique du cancer est l'induction de l'autophagie qui peut jouer un rôle dans le développement tumoral.

- *Hao, YH, et al. (2018b) "HIF-1α regulates COXIV subunits, a potential mechanism of self-protective response to microwave induced mitochondrial damages in neurons."*

[Cerveau]

Le but de l'étude de Hao *et al.*, 2018 a été de mesurer l'expression des protéines HIF-1 $\alpha$ , COXIV-1 et COXIV-2 du complexe IV mitochondrial, dans des neurones de l'hippocampe de rat et dans les cellules de type neuronal PC12 ainsi que le rôle de HIF-1 $\alpha$  dans la régulation des sous-unités COXIV et dans la protection des fonctions mitochondriales après une exposition des rats et des cellules aux micro-ondes. Soixante-douze rats mâles ont été exposés à des micro-ondes pulsées en bande S à une fréquence de 2,856 GHz et une intensité de 30mW/cm<sup>2</sup> pendant 15 min. Le système d'exposition est installé dans une chambre anéchoïque et est constitué d'un générateur, d'un ampli klystron et d'une antenne cornet adaptée. Les conditions expérimentales sont contrôlées dans la pièce. L'exposition endommage l'ultrastructure des mitochondries, augmente la production de ROS et diminue l'activité des COX dans les neurones d'hippocampe des rats. De légères altérations ont été observées à 6 h, avec des lésions aggravées à J7 et un retour à une structure normale à J14. Les ROS intracellulaires augmentent significativement entre 6 h et J3 et retrouvent le niveau de rats témoins à J7. L'exposition réduit significativement l'activité COX de J1 à J3 avec un retour à un niveau contrôle à J14. Le rapport COXIV-1/2 diminue à J1 mais augmente à J3 et à J14 suggérant que les 2 sous-unités COXIV-1 et COXIV-2 participent aux altérations mitochondriales. L'expression du transcrite et de la protéine HIF-1 $\alpha$  totale est augmentée dans l'hippocampe de rat de 6 h à 14 j après exposition. In vitro, l'exposition des cellules PC12 augmente l'expression de COXIV-1 de 30 min à 9 h, la diminue à 12 h sous le niveau des cellules témoin- exposition, et revient à la normale à 24h. Le ratio de COXIV-1/2 diminue à 30 min et augmente entre 3 h à 9 h après l'exposition. Ces résultats suggèrent que l'augmentation de COXIV1/2 pourrait conduire à la récupération des fonctions mitochondriales. L'expression de HIF-1a totale augmente à partir de 6h et de façon plus importante à partir de 9h. Par contre, l'expression nucléaire n'augmente qu'aux temps 6h et 9h. L'utilisation du bisphénol A (inhibiteur HIF-1) montre que la production de HIF-1a joue un rôle central dans la protection des fonctions mitochondriales après exposition, en permettant l'augmentation de l'expression de COXIV-1, en restaurant l'activité de COX, en augmentant le taux d'ATP et en contrôlant les niveaux de ROS.

Le système d'exposition est de bonne qualité. Cependant, il y a possibilité d'effets thermiques vu les puissances mise en jeu, seules les conditions expérimentales de la pièce sont contrôlées. Les auteurs parlent d'activation transcriptionnelle parce que HIF-1 augmente dans le noyau. Ce n'est pas une preuve. il faut le montrer avec des gènes cibles de HIF-1. Selon l'expérience, les niveaux de réponse changent pour les mêmes conditions expérimentales sans que cela soit noté ou discuté. Les temps choisis pour étudier certains paramètres ne sont pas toujours cohérents avec autres résultats donc difficulté de prendre en compte les résultats.

- He, GL, et al. (2014) *"The amelioration of phagocytic ability in microglial cells by curcumin through the inhibition of EMF-induced pro-inflammatory responses."*

[Cerveau]

He *et al.* (2014) ont exposé une ligne de cellules microgliales de souris afin d'étudier l'inflammation et les capacités phagocytaires. Pour les expositions, les cellules sont préparées soit dans des flasques de 25 cm<sup>2</sup> de surface, soit dans des plaques 6- ou 24puits. Les cellules sont exposées à des champs EM pulsés dans une chambre anéchoïde à des signaux pulsés (2  $\mu$ s, 500 Hz) à la fréquence de 2,45 GHz. Les flasques et les plaques sont placées dans la partie supérieure d'un bain marie (24.5 cm x 21 cm) pour maintenir une température de 37°C. Une distance de 90 cm est présente entre un cornet et les échantillons exposés. Un dispositif, référence Philips PM 7320X est connecté à une antenne cornet. L'absence d'une description plus précise du dispositif ainsi que le moindre détail sur la dosimétrie et le contrôle des expérimentations représentent des limites sur la qualité de l'exposition mais n'empêchent pas



de pouvoir exploiter les résultats biologiques observés. Les capacités phagocytaires des cellules sont évaluées à travers la capacité à phagocyter des microbilles fluorescentes. Une baisse significative (facteur 3,  $p < 0,05$ ) des capacités de phagocytose et de l'expression de MFG-E8 (facteur 3) est observée à 12h après exposition. Parallèlement, plusieurs marqueurs d'inflammation sont induits. NO est augmenté d'un facteur 10 à 12 h. Les quantités des cytokines pro-inflammatoires (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ ) sont augmentées significativement dès 1h par rapport au témoin. Le lien entre ces deux phénomènes est montré par un traitement à la curcumine (5 à 20  $\mu$ M) qui seul n'induit pas de phagocytose. Par contre, il diminue d'un facteur environ 3 des marqueurs d'inflammation due à l'exposition et restaure à près de 90% les capacités phagocytaires. Dans ce mécanisme, les voies NK- $\kappa$ B et STAT3 semblent impliquées.

Ce travail a des limitations mineures notamment dans son absence de caractérisation des effets thermiques. Ils sont sans doute compensés par l'utilisation d'un bain marie pendant l'exposition mais l'efficacité du système n'est pas démontrée. Les données biologiques obtenues sont, elles, convaincantes et montrent que la lignée étudiée, les radiofréquences (2,45 GHz pulsé) sont capables d'induire une inflammation dans des cellules microgliales *in vivo* et de diminuer leurs capacités phagocytaires.

- He, GL, et al. (2016) "Inhibition of STAT3- and MAPK-dependent PGE2 synthesis ameliorates phagocytosis of fibrillar beta-amyloid peptide (1-42) via EP2 receptor in EMF-stimulated N9 microglial cells."

[Cerveau]

He et al (2016) étudient la réponse d'une lignée murine de cellule microgliales, les N9 de souris, en lien avec la maladie d'Alzheimer. Une flasque contenant les échantillons biologiques est disposée à 90 cm d'une antenne cornet, dans une chambre anéchoïque. Le signal est impulsif, de fréquence 2,45 GHz, pour une durée d'impulsion de 2  $\mu$ s, à 500 impulsions par secondes, pendant 20 min. Il est représentatif de diverses applications médicales ou de télécommunications micro-onde. Le DAS est indiqué à 6 W/kg, mais il n'est pas justifié, ni en niveau ni en homogénéité, ce qui représente une limite méthodologique. Les auteurs observent diminution significative ( $p < 0,05$ ) de la phagocytose des fibres A $\beta$  par un facteur 2,5 12h après exposition aux radiofréquences. Cet effet n'est pas observé à 3h. Cette réponse s'accompagne de la production significative de la prostaglandine PGE2 dans le milieu à 3 h (x1,5) et 12 h (x3) après radiofréquences. COX-2 joue un rôle dans la baisse de phagocytose comme le montre l'effet d'une part de son inhibition par un produit chimique, et d'autre part son induction par les radiofréquences. Une réponse inflammatoire forte est induite par l'exposition, avec une augmentation d'un facteur 8 de la quantité de TNF- $\alpha$  et d'un facteur 2 de NO. Les radiofréquences induisent la phosphorylation de JAK2, STAT3, p38, ERK et JNK (facteur 1,5 à 3 selon les protéines). Les inhibiteurs de ces facteurs diminuent d'un tiers environ la baisse d'activité phagocytose induite par les radiofréquences. De même, les inhibiteurs empêchent la production de PGE2 par les radiofréquences et diminuent l'inflammation (facteur 2 sur l'induction de TNF- $\alpha$  et facteur 0,8 sur NO). L'utilisation de ces inhibiteurs empêchent l'induction de l'expression de COX-2 et mPGES-1 par les radiofréquences et mettent en évidence le rôle majeur des voies STAT3 et MAPK.

Les auteurs utilisent la même lignée et le même système d'exposition que dans leur article de 2014. Le présent travail souffre de quelques limitations mineures autour de la question des effets thermiques qui semblent maîtrisés sans que cela ne soit clairement établi. La description du système d'exposition est sommaire. Le DAS est indiqué mais n'est pas justifié, ni en niveau ni en homogénéité. Cette étude est cependant intéressante en ce qu'elle confirme que les radiofréquences à 2,45GHz induisent une inflammation forte et une diminution des capacités



de phagocytoses dans un modèle *in vivo* de cellules microgliales murines. L'impact sur la phagocytose est montré sur les fibres amyloïdes A $\beta$  impliquées dans la maladie d'Alzheimer.

- He, GL, et al. (2019) "TREM2 Regulates Heat Acclimation-Induced Microglial M2 Polarization Involving the PI3K-Akt Pathway Following EMF Exposure."

[Cerveau]

He *et al.* (2019) comparent l'impact de l'adaptation thermique et de l'exposition aux radiofréquences dans une lignée de cellule microgliales. Une flasque contenant les échantillons biologiques est disposée à 90 cm d'une antenne cornet, dans une chambre anéchoïque. Le signal est impulsionnel, de fréquence 2,45 GHz, pour une durée d'impulsion de 2  $\mu$ s, à 500 impulsions par secondes, pendant 20 min. Il est représentatif de diverses applications médicales ou de télécommunications micro-onde. Le DAS est indiqué à 6 W/kg, mais il n'est pas justifié, ni en niveau ni en homogénéité, ce qui représente une limite méthodologique n'empêchant cependant pas l'exploitation des résultats biologiques. Pour leurs expériences, les auteurs exposent des cellules N9 à une adaptation thermique (cycles de 4h à 39.5°C + 20h à 37°C pendant 72 h) ou à des radiofréquences pulsées (2,45 GHz). En terme de réponse biologique, l'accent est mis sur le type d'activation qui peut être pro-inflammatoire (type M1) ou anti-inflammatoire (type M2). L'exposition aux radiofréquences induit une réponse inflammatoire significative avec un facteur d'environ 10 sur les niveaux des cytokines pro-inflammatoires TNF- $\alpha$ , IL-6 et IL-1 $\beta$ . Par contre, les radiofréquences n'induisent pas les cytokines anti-inflammatoires IL-4 et IL-10. La réponse à l'adaptation thermique est l'image opposée avec une très faible stimulation des cytokines pro-inflammatoires et une augmentation d'un facteur 4 et 3 pour IL-4 et IL-10 respectivement. L'adaptation thermique diminue l'expression en réponse aux radiofréquences de TNF- $\alpha$ , IL-6 et IL-1 $\beta$ . Pour les cytokines anti-inflammatoires, les radiofréquences diminuent l'expression IL-4 et IL-10 dans les cellules soumises à l'adaptation thermique par rapport à des cellules non adaptées. Ces tendances pro-inflammatoires des radiofréquences et anti-inflammatoires de la température se retrouvent dans l'expression des marqueurs de surface du type d'activation. CD11b et CD86 (type M1) augmentent avec les radiofréquences et peu ou pas avec l'adaptation thermique. Les résultats sont inverses pour CD206 et Arg1 (type M2). A noter que des effets additifs sont observés pour l'exposition aux radiofréquences de cellules adaptées à la température. En réponse à la température, les facteurs TREM2, P-PI3K et p-AKT augmentent. Aucune réponse significative n'est observée dans les cellules exposées aux seules radiofréquences. Un effet additif est vu pour les combinaisons de traitement. L'inhibition de TREM2 diminue l'expression des cytokines anti-inflammatoires IL-4 et IL-10 dans les cellules ayant subies l'adaptation thermique puis exposées aux radiofréquences. L'utilisation d'inhibiteurs spécifiques montrent que la voie Akt est responsable de l'effet médié par TREM2 sur la réponse aux radiofréquences dans les cellules adaptées thermiquement.

Cette étude comporte des limites méthodologiques : l'absence de considération de possibles effets thermiques pendant l'exposition aux radiofréquences. Il est cependant à noter que les expositions sont faites dans un bain-marie à 37°C. De plus, l'ensemble des données accumulées montrent une différence très nette de l'effet de l'adaptation thermique et de l'exposition aux radiofréquences. L'échauffement répété des cellules conduit à un profil anti-inflammatoire. Il est donc légitime de penser que l'effet pro-inflammatoire observé lors de l'exposition aux radiofréquences n'est pas dû à un effet thermique. En terme d'informations intéressantes pour la carcinogenèse, cette induction d'une inflammation par les radiofréquences est particulièrement pertinente. Il faut noter que ce travail confirme les données obtenues par la même équipe avec le même système d'exposition (He *et al.* 2014,2016) où l'effet thermique n'était pas non plus discuté. Ces travaux observaient, en plus

de l'inflammation, une baisse des capacités phagocytaires compatible avec une activation de type M2.

- *Hernández-Bule, M. L., et al. (2019) Response of neuroblastoma cells to RF currents as a function of the signal frequency*

[Cerveau]

Hernández-Bule, M. L., *et al.* (2019) ont étudié la réponse de la lignée cellulaire de neuroblastome humain NB69 au traitement électrique sub-thermique avec quatre courants de fréquence dans la gamme 350-650 kHz. Les récepteurs membranaires tels que p-EGFR, dont l'expression a diminué, bien que de manière non significative, après une première impulsion de traitement, pourraient être des cibles initiales potentielles du stimulus électrique. Un effet de ce type pourrait être à l'origine de la sous-expression ultérieure de p-ERK1/2 (à 4 et 12 h), et conduire à l'effet antiprolifératif observé à 24 h. D'autre part, le signal électrique pourrait être détecté par d'autres récepteurs tels que FGFR, PDGFR ou TrkA/B, qui seraient activés ou surexprimés s'ils interprétaient le signal comme un stimulus mitogène. Cela pourrait être la cause de l'augmentation de l'activation précoce de p-ERK1/2 (à 30 min), qui serait à l'origine de la sous-expression de p27 qui suit (12 h). De là, la répétition périodique de la stimulation électrique pourrait conduire à l'activation ultérieure de protéines telles que p53 (à 12-24 h), et au déclenchement d'une réponse pro-apoptotique médiée par l'expression accrue de Bax (à 12 h), de la caspase-3 (12-24 h) et de p27 (24 h). En outre, l'activation ou la surexpression de p53 et p27 dans les phases ultérieures du traitement interviendrait dans la sous-expression observée de la cycline D1, ce qui entraînerait une cycline D1, ce qui entraînerait un effet antiprolifératif supplémentaire en induisant une partie une partie de la population cellulaire à entrer en quiescence. Les phénomènes spécifiques Les phénomènes spécifiques impliqués dans l'action de p53 sur l'apoptose ou sur l'arrêt du cycle cellulaire ne sont que partiellement connus et constituent un sujet de recherche croissant.

Il est évident que, en l'absence d'un ensemble complet de données sur les effets de stimuli électriques tels que ceux appliqués dans cette étude sur d'autres modèles cellulaires et animaux, ainsi que chez l'homme, les présents résultats ne constituent pas une base suffisante pour proposer l'application de tels traitements électriques chez les patients atteints de cancer. Cependant, l'approfondissement des connaissances et la caractérisation de la séquence des réponses induites dans les cellules cancéreuses humaines par des stimuli sub-thermiques peuvent contribuer de manière significative à la compréhension les effets rapportés chez les patients cancéreux traités par des courants de radiofréquence ou des champs électriques et/ou magnétiques, ainsi que magnétique, ainsi qu'à améliorer la conception et la sécurité de ce type de traitements physiques. Cependant, certains paramètres décrits dans cette étude ne sont pas totalement fiables.

Les cellules placées dans une boîte de Petri de 60 mm de diamètre sont exposées à l'aide de deux électrodes positionnées dans la boîte de Petri. Elles sont alors exposées à un signal sinusoïdal de densité de courant de 50  $\mu\text{A}/\text{mm}^2$ , pendant 5 min à la fréquence de 350 kHz ou 448 kHz ou 570 kHz ou 650 kHz. Deux types d'exposition sont effectués. D'une part, des traitements de courte durée avec un intervalle de temps de 0 minute ou 25 minutes entre chaque période d'exposition. D'autre part les autres traitements ont des intervalles de temps de 3 h et 55 min. Dans cette dernière configuration, les expositions sont répétées durant 4, 12 ou 24h.

Le système est tout à fait classique pour ce type d'exposition à des courants de basse fréquence. Il correspond à une configuration de courant induit par contact.

- *Hidisoglu, E, et al. (2016) "2100-MHz electromagnetic fields have different effects on visual evoked potentials and oxidant/antioxidant status depending on exposure duration."*

[Cerveau]

Le but de l'étude de *Hidisoglu et al.*, 2016 était d'étudier les effets à long terme d'un champ électromagnétique (RF 3G) de 2100 MHz sur les potentiels évoqués visuels (PEV, indicateurs d'effets neurotoxiques) et d'évaluer la peroxydation lipidique (LPO), la production d'oxyde nitrique (NO) et le statut antioxydant des rats exposés aux radiofréquences. Un générateur de 2W alimente une antenne monopole au centre d'un carrousel de 10 cages-tubes où sont disposés des rats. Le signal émule une communication représentative de la téléphonie mobile à un niveau de 27 à 35 V/m. Les rats exposés l'ont été 2 h/jour (7j/semaine) pendant 1 (E1) ou 10 semaines (E10). Les témoins exposition sont S1 et S10. Les latences de toutes les composantes des PEV sont raccourcies pour E1 vs S1, alors qu'elles sont prolongées pour E10 par rapport au S10. L'exposition entraîne une diminution significative de la peroxydation lipidique (mesure de TBARS et du 4-HNE) dans E1 mais une augmentation significative dans le groupe E10 par rapport au groupe témoins exposition S10. De même pour E1, les activités de la catalase cérébrale (CAT), de la glutathion peroxydase (GSH-Px), de NO et les niveaux de glutathion (GSH) sont significativement augmentés alors que l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) est diminuée par rapport au S1. Inversement, une diminution des activités CAT, GSH-Px et des niveaux de NO a été observée dans le groupe E10 par rapport au S10. Par conséquent, les auteurs proposent que les effets des EMF dépendent de la durée de l'exposition puisque qu'à court terme (1 semaine), les radiofréquences auraient des effets protecteurs, tandis qu'à long terme (10 semaines), ils auraient un effet néfaste sur les PEV et la balance oxydant/antioxydant. L'augmentation des latences des PEV chez des rats exposés aux radiofréquences peut être due à un retard d'entrée d'information nerveuse dans le cortex visuel et/ou à des altérations au niveau cortical. La démarche analytique pour accéder au DAS est trop imprécise.

- *Hou, Q., et al. (2015) Oxidative changes and apoptosis induced by 1800-MHz electromagnetic radiation in NIH/3T3 cells*

[Peau]

Le but du travail de *Hou et al.* (2015) est de déterminer les conséquences du rayonnement des téléphones portables sur les espèces réactives de l'oxygène (ROS), les dommages à l'ADN et l'apoptose dans les fibroblastes embryonnaires de souris (NIH/3T3) après une exposition intermittente. Les cellules sont disposées en boîtes de Pétri dans un dispositif IT'IS assurant une exposition à 1800 MHz, pour un DAS de 2 W/kg. La durée de l'exposition est de 0,5 1 1,5 2, 4, 6 ou 8 h avec une intermittence 5 min d'exposition, 10 minutes d'arrêt. Une sonde de fluorescence diacétate de 20,70-dichlorofluorescine est utilisée pour détecter les niveaux de ROS intracellulaires, l'immunofluorescence est utilisée pour détecter les foyers gH2AX comme marqueur des dommages à l'ADN et la cytométrie en flux a permis de mesurer l'apoptose.

Les niveaux de ROS intracellulaires dans les groupes exposés 1, 4 et 8 h sont significativement plus élevés ( $p < 0,05$ ) par rapport aux témoins exposition, l'exposition de 1h induisant le maximum d'effet ( $P 0,0015$ ) Par contre aucune différence n'est observée dans les groupes exposés pendant 0,5, 1,5, 2 et 6 h. Il n'est pas observé d'induction des foyers gH2AX quel que soit le temps d'exposition. Le nombre de cellules apoptotiques tardives augmente de manière significative par rapport aux groupes témoin exposition pour les expositions de 1h, 4h et 8h, aucune différence n'est observée dans les groupes exposés pendant 0,5, 1,5, 2 et 6 h.

En conclusion, ces résultats indiquent qu'une exposition aux ondes électromagnétiques de

1800 MHz induit la formation de ROS et favorise l'apoptose dans les cellules NIH/3T3 mais cela est très dépendant du temps d'exposition et cela sans qu'une logique évidente ne se dégage entre temps d'exposition et effet induit.

Cette étude présente une exposition physique de très bonne qualité, à 1800 MHz. Le DAS est indiqué par simulation numérique. Cette exposition est représentative d'une exposition de téléphonie mobile à 1800 MHz, au niveau maximal indiqué par la norme de sécurité.

- *Houston, B. J., et al. (2018) "Probing the Origins of 1,800 MHz Radio Frequency Electromagnetic Radiation Induced Damage in Mouse Immortalized Germ Cells and Spermatozoa in vitro"*

[Peau][Système reproducteur]

Houston *et al.* (2018) étudient l'impact de radiofréquences à 1,8 GHz (DAS 0,15 W/kg plus quelques expériences à 1,5 W/kg) sur des cellules germinales de souris. Les cellules placées dans une boîte de Petri sont exposées par un dispositif associant un générateur et une antenne, durant 4 heures. Ils utilisent des lignées de spermatozoïdes, ainsi que des spermatogonies et des spermatozoïdes matures primaires. Des comparaisons sont faites pour une série avec 3 lignées somatiques humaines et murines. Les auteurs observent une production importante de superoxyde dans la spermatozoïdes CG1 et CG2, ainsi que dans la spermatogonie. L'augmentation est de 30 à 100 % selon les cellules et les temps. Aucune différence significative n'est vue pour les lignées humaines ou les fibroblastes. Un inhibiteur du complexe I induit une forte augmentation du superoxyde (facteur 2 à 3) dans CG1 ou CG2 mais ne sensibilise pas les cellules aux radiofréquences. L'inhibiteur du système III induit moins de superoxyde dans CG1. Il potentialise fortement l'effet des radiofréquences dans les spermatozoïdes CG1 (+ 40 à 60 % aux différents temps, mais pas les CG2). Enfin, les auteurs observent que le passage d'un milieu glucose à succinate augmente le taux basal de superoxyde mais diminue l'effet des radiofréquences dans CG1 et CG2. Les auteurs testent l'effet d'un antioxydant (penicillamine) qui n'a un effet protecteur qu'à un temps et que sur CG2). Cette augmentation de ROS mitochondrial ne se retrouve pas dans des marqueurs cellulaires du stress oxydant dans les cellules germinales comme la chimiluminescence, les dommages de l'ADN vus par la méthode des comètes, ou le taux de la base nucléique oxydées 8-oxodGuo. Dans les spermatozoïdes, le taux de superoxyde mitochondrial, la vitalité et le potentiel membranaire mitochondrial suivent la même évolution temporelle dans les témoins exposition et les cellules exposées aux radiofréquences. Aucun effet n'est vu non plus sur la chimiluminescence, la capacité à oxyder les lipides ou le taux de protéines alkylées par le 4-HNE. En terme de dommage à l'ADN, aucune fragmentation n'est vue en comète (sauf à 3h, +15%) ou par la méthode du halo. Par contre, le taux de 8-oxodGuo dans l'ADN nucléaire est doublé après exposition radiofréquences. Les marqueurs de motilité des spermatozoïdes sont 10 à 20 % plus dans les cellules exposées et suivent la même tendance temporelle de baisse. Cette différence témoins exposition / radiofréquences ne devient cependant significative qu'à 4h, temps le plus long étudié. Dans ces cellules, le taux de phosphorylation des tyrosines reste constant.

Cette étude est plutôt bien conçue. On note toutefois que le dispositif assurant l'exposition, et notamment l'antenne sont très peu détaillés. Le DAS est indiqué mais sa valeur et son homogénéité sont peu justifiées. Cette exposition est néanmoins reproductible et correspond à une exposition à la téléphonie mobile à un niveau modéré. Un point intéressant est l'utilisation de types cellulaires différents représentatifs de la maturation des cellules germinales mâles et des tests bien complémentaires. Malheureusement, seule la mesure du superoxyde mitochondrial est commune à tous ces types cellulaires. Il est donc difficile de complètement conclure aux différences notamment d'induction du stress oxydant. On peut cependant retenir que les cellules germinales non matures, mais pas les spermatozoïdes



matures, sont sensibles à la production de ROS sans doute via un effet des radiofréquences sur le complexe III. Cette production de ROS n'induit pas de stress cellulaire puisqu'aucun des autres paramètres mesurés ne varie, tant dans les cellules non-matures que les spermatozoïdes. Ces données sur l'impact mitochondrial sont intéressantes dans la thématique cancer.

- *Houston, B. J., et al. (2019) "Whole-body exposures to radiofrequency-electromagnetic energy can cause DNA damage in mouse spermatozoa via an oxidative mechanism"*

[Système reproducteur]

Houston *et al.* (2019) étudient l'impact d'une exposition corps entier de souris sur les testicules et les spermatozoïdes. Des cellules dans une boîte de Petri sont exposées à 1800 MHz, à un DAS de 0,15 et 1,5 W/kg, par un dispositif associant un générateur et une antenne, durant 4 heures. Aucun effet de l'exposition aux radiofréquences n'est vu sur les coupes de testicules que ce soit en termes de structure, de présence de gammaH2AX ou de peroxydation lipidique. Une baisse de 20 % sur 1 et 3 semaines et de 30 % sur 5 semaines est vue sur la vitalité des spermatozoïdes. Un effet similaire est vu sur la motilité, et surtout les motilités progressives et rapides (-50% à 1 et 3 semaines, -90% à 5 semaines). Les ROS totales des spermatozoïdes n'augmentent pas mais celles quantifiées spécifiquement dans les mitochondries doublent à 1 et 3 semaines avant de revenir au niveau basal à 5 semaines. La fragmentation de l'ADN vue par la méthode du halo est triplée au 3 temps alors qu'en légère augmentation en comet (+15 %) n'est vu qu'à 5 semaines. La quantité de 8-oxodGuo, dont la localisation est confirmée nucléaire, est plus que doublée à tous les temps d'exposition. Aucun marqueur de fertilisation des spermatozoïdes exposés n'est modulé par les radiofréquences.

Cette étude est bien conçue, notamment en terme de temps d'exposition qui est en lien avec le cycle du développement des spermatozoïdes. Quelques limites comme le petit nombre d'animaux dans certains tests ou l'absence d'évaluation de la température sont cependant à noter. De plus, le dispositif assurant l'exposition, et notamment l'antenne sont très peu détaillés. Le DAS est indiqué mais sa valeur et son homogénéité sont peu justifiées. Cette exposition est néanmoins reproductible et correspond à une exposition à la téléphonie mobile à un niveau modéré. La conclusion majeure de ce travail est la sensibilité particulière des spermatozoïdes au stress oxydant, sans doute d'origine mitochondrial. L'impact sur la fertilité est limité. Pour l'aspect cancérisation, l'étude est intéressante en terme de mécanisme de l'induction de ROS et de génotoxicité.

- *Hu, S, et al. (2014) "Neuroprotective effects of dietary supplement Kang-fu-ling against high-power microwave through antioxidant action."*

[Cerveau]

Le Kang-fu-ling (KFL) est un complément alimentaire végétal aux propriétés antioxydantes. L'étude de Hu *et al.*, 2014 visait à évaluer les effets protecteurs potentiels du KFL (par voie orale) sur le déficit cognitif induit par les micro-ondes de haute puissance (30 mW/cm<sup>2</sup>, DAS au niveau du cerveau de 21 W/ kg) et identifier le mécanisme sous-jacent de cette possible neuroprotection. Le système d'exposition est installé dans une chambre anéchoïque et est constitué d'un générateur, d'un ampli klystron et d'une antenne cornet adaptée. Il y a possibilité d'effets thermiques vu les puissances mise en jeu, seules les conditions expérimentales de la pièce sont contrôlées mais le système d'exposition est de bonne qualité. Dans le test de la piscine de Morris qui évalue les capacités mnésiques, le temps nécessaire aux rats exposés aux radiofréquences pour trouver la plateforme est significativement plus long que celui de rats témoin-exposition. Chez les rats exposés et traités par le KFL après les 15min d'exposition,



les performances sont meilleures et sont identiques à celles des rats témoin-exposition pour la concentration la plus élevée de KFL. En revanche, les activités locomotrices des rats ne diffèrent pas entre les groupes. L'histopathologie montre que les radiofréquences à 30 mW/cm<sup>2</sup> causent des dommages dans l'hippocampe après 14j d'exposition. Le traitement par le KLF améliore la structure de l'hippocampe chez les rats exposés. Le niveau de MDA et l'activité de la xanthine oxydase (XO) dans l'hippocampe des rats exposés sont augmentés alors que l'activité de la SOD est diminuée par rapport aux rats témoin-exposition. L'expression de gènes antioxydants cibles de Nrf2 (HO-1, GSTmu3 et NQO1, gènes de la phase 2) est légèrement augmentée par l'exposition aux radiofréquences. Les auteurs concluent qu'avec les radiofréquences, les indicateurs de stress oxydant (MDA, XO) sont augmentés alors que l'activité anti-oxydante (SOD) est diminuée dans l'hippocampe. Un traitement oral avec le KLF pendant l'exposition prévient les dommages causés par l'oxydation. Des limites sont à signaler dans les expérimentations biologiques. Des rats sont utilisés pour les tests comportementaux et d'autres pour la biochimie. On ne sait pas comment sont organisés les groupes/nombres de rats pour chaque technique : extraction ARN, stress oxydant avec mesures au spectrophotomètre, WB... Les images de H&E ne sont pas convaincantes pour voir de la picnose et l'anachromasie. Aucune donnée chiffrée pour les résultats (% , fold, etc...). Il manque les effets sur l'expression protéique des gènes de la phase 2 (données d'expression des transcrits uniquement).

- *Huang, CH, et al. (2018) "Dissociated effect and Chemosensitive enhancement of tumor spheroids influenced by an electric field in a microdevice."*

[Foie]

Huang *et al.* (2018) ont réalisé une étude visant à évaluer l'utilisation de radiofréquences à visée thérapeutique anti-cancéreuse. Ils ont suivi la réponse de sphéroïdes tumoraux, préparés à partir de la lignée cellulaire Huh7 d'hépatocarcinome humain, après application d'un champ électrique alternatif. Ils ont observé les effets sur la prolifération et la dissociation des sphères, pour savoir si une stimulation électrique pouvait potentialiser l'action d'une drogue de chimiothérapie. Les effets sur la lignée Huh7 ont été comparés à ceux de la lignée Hela. Les sphéroïdes ont été cultivés pendant 3 jours avant d'être exposés 24 h dans une chambre de culture intégrant 4 électrodes isolées. Le système comprenait un générateur délivrant un signal continu sinusoïdal compris entre 70 et 150 kHz. Une fréquence optimale de 130 kHz a été appliquée avec une intensité du potentiel électrique comprise entre 0 et 1,5 V crête à crête. Une majorité des expositions a été réalisée avec 1 Vpp. Les expositions ont été réalisées avec un champ électrique parallèle ou croisé en fonction des électrodes. Les sphéroïdes ont été analysés 24 h après l'arrêt de l'exposition. Les 2 lignées forment des sphéroïdes, mais les cellules Huh7 forment plus de sphéroïdes que les cellules Hela.

Au jour 3, l'exposition des sphères (1 Vpp, 130 kHz) entraîne une diminution de la prolifération, augmente la mort cellulaire et la dissociation des sphères. Au jour 5, après une exposition à des champs de 1 Vpp et des fréquences de 70 à 150 kHz, la croissance des sphères (viabilité) est significativement diminuée à partir de 70 kHz et est maximale à 110-130 kHz. La prolifération au jour 7 (exposition entre le jour 3 et 4) est diminuée avec une exposition de 130 kHz, mais reprend à l'arrêt de l'exposition. Une augmentation du nombre de cellules en phase S et G2/M est observée après exposition à 130 kHz pendant 24 h.

Au jour 5, les images en contraste de phase montrent que les sphéroïdes se dissocient au fur et à mesure de l'augmentation du potentiel électrique de 0 à 1,5 Vpp appliqué entre le jour 3 et 4. D'après les auteurs, un champ électrique suffisamment fort peut affecter la formation du fuseau mitotique, induire un glissement mitotique et une apoptose cellulaire. Dans un système de culture 3D, des champs peuvent être appliqués de façon croisée ou parallèle. Des périodes

de 0 ms (parallèle) ou de 250 à 1500 ms (croisé) ont été testées à 130 kHz. Un champ parallèle inhibe de manière significative la croissance des sphéroïdes tumoraux mais les champs croisés ont un effet inhibiteur plus important qu'un le champ parallèle. Les auteurs concluent qu'un champ croisé peut augmenter la possibilité d'aligner le champ électrique et les microtubules et qu'une période de 1000 ms est la condition optimale pour inhiber la croissance des sphéroïdes tumoraux. L'effet dissociant d'un champ électrique croisé sur les sphéroïdes tumoraux pourrait potentialiser les effets de traitements thérapeutiques. Un champ électrique pourrait donc réduire la concentration de drogue efficace et diminuer les effets secondaires.

Les expositions sont contrôlées par un dispositif non décrit (cela n'est cependant pas un point critique à ces fréquences) et les modalités d'exposition sont très succinctes (pas de contrôle de la température, pas de contrôle de l'uniformité du champ, pas de valeur de DAS indiquée). Certaines descriptions de résultats ne sont pas convaincantes, Le texte ne présente aucune donnée chiffrée. Certaines interprétations et/ou conclusions des auteurs ne s'appuient sur aucun résultat. Pour plusieurs résultats, on ne sait pas s'il s'agit de la lignée Huh7 ou Hela. Aucune comparaison de ces 2 lignées dans la discussion. Les auteurs parlent d'induction d'apoptose, mais sans fournir de donnée d'apoptose en cytométrie. L'interprétation des auteurs sur l'apoptose ne repose pas sur des données concrètes. De manière générale, la portée de cette étude pour cette expertise est limitée.

- *Jiang, B., et al. (2013) Induction of adaptive response in mice exposed to 900MHz radiofrequency fields: Application of micronucleus assay*

[Sang et plasma]

L'étude de Jiang *et al.*, 2013 été menée pour déterminer si une pré-exposition de souris à 900 MHz peut induire une réponse adaptative (RA) et protégées les cellules du sang et de la moelle osseuse des dommages génomiques induits par une irradiation ultérieure en utilisant le test des micronoyaux. Des souris ICR mâles adultes ont été pré-exposées à une fréquence de 900 MHz dans une boîte avec une cellule GTEM pendant 4h/jour pendant 7 jours (dose d'adaptation, DA), soit gamma-irradiées à une dose aiguë corps entier de 3 Gy (dose de challenge, CD), soit aux deux conditions. La densité de puissance est de 120  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ , soit 1,2  $\text{mW}/\text{m}^2$  au niveau de la zone d'exposition. La valeur de DAS corps entier, calculée par simulation numérique, est de 0,55  $\text{W}/\text{kg}$ . L'exposition est réalisée avec une émission en continu du signal. Le test des micronoyaux (MN) évalue la génotoxicité dans les érythrocytes polychromatiques du sang périphérique et de la moelle osseuse. Dans les deux tissus, les taux de micronoyaux sont similaires chez les témoin-exposition et témoin-cage, et ceux exposés à la DA seule, tandis que l'incidence des micronoyaux est augmentée chez les souris exposées à la CD seule. L'exposition des souris à DA + CD entraîne une diminution des micronoyaux par rapport aux souris exposées à CD seule. Le % d'érythrocytes polychromatiques dans les tissus sanguins et médullaires n'est pas modifié entre les souris exposées aux radiofréquences seuls, aux témoin-cage ou témoin-exposition. Il y a une diminution du % d'érythrocytes polychromatiques dans le sang et la moelle osseuse (indice de cytotoxicité) entre les souris exposées à des  $\gamma$ -irradiations seules (CD) et les souris témoin-cage et témoin-exposition. Par contre, chez les souris exposées à un rayonnement radiofréquences +  $\gamma$ -irradiation (DA + CD), le % d'érythrocytes polychromatiques est supérieur à celui obtenu avec l' $\gamma$ -irradiation seule (CD) mais inférieur à celui obtenu avec les radiofréquences seuls (DA).

Les auteurs concluent qu'une pré-exposition aux radiofréquences diminue la génotoxicité et la cytotoxicité due à une irradiation gamma  $\gamma$  et que les radiofréquences peuvent induire une réponse adaptative.

La description du système et de la dosimétrie aurait mérité plus de détail ou une référence, pour le calcul du DAS par exemple. On suppose que le groupe contrôle est un témoin-cage. Les souris sont des souris ICR : on ne sait pas de quelle souche il s'agit

- *Jimenez, H., et al. (2019) "Tumour-specific amplitude-modulated radiofrequency electromagnetic fields induce differentiation of hepatocellular carcinoma via targeting Ca(v)3.2 T-type voltage-gated calcium channels and Ca(2+) influx"*

[Foie][Intestins]

Jimenez *et al.* (2019) réalisent une étude visant à montrer l'intérêt de l'exposition intrabuccale à la fréquence spécifique de 72,12 MHz pour le traitement des tumeurs hépatiques. Il s'agit d'une application thérapeutique des signaux aux fréquences intermédiaires. Trois configurations sont présentées : i) la dosimétrie de l'exposition d'un individu à un signal modulé en amplitude avec une porteuse à 27.12 MHz ; ii) l'exposition *in vitro* à 27.12 MHz avec le même type de modulation d'amplitude ; iii) l'exposition *in vivo* toujours avec le même type de signal. Concernant l'exposition sur l'individu, le système est basé sur une source reliée à un applicateur, qui a la forme d'une cuillère placée à l'intérieur de la bouche. La dosimétrie est effectuée par simulation numérique et est complétée par une approche expérimentale sur un modèle simplifié. La source délivre une puissance de 100 mW sur une charge de 50  $\Omega$ . Les niveaux d'exposition corps entier sont de 1,35 mW/kg, et compris entre 146 et 352 mW/kg moyennés sur 10g pour les tissus et organes cibles. Ces valeurs sont inférieures aux restrictions de base. Leur travail implique une partie de dosimétrie, l'étude la réponse de xénogreffes humaines chez la souris et des expériences *in vitro* sur des lignées cancéreuses hépatiques. L'étude dosimétrique montre que l'application intrabuccale de radiofréquences à 72,12 MHz peut bien atteindre diverses parties de l'organisme humain, même dans des conditions d'application à la langue conduisant à un DAS inférieur aux limites utilisées en téléphonie. Les auteurs montrent que le corps humain se comporte comme une antenne, avec un dipôle entre tête et pied. L'application de radiofréquences à 72,12 MHz ralentit le développement de tumeurs induites par une injection sous-cutanée de cellules tumorales humaines (lignée Huh7 ou cellules d'une tumeur de patient) chez la souris. Quand la tumeur est laissée se développer, l'application de radiofréquences à 72,12 MHz induit un rétrécissement significatif d'un facteur 3 du volume tumoral. La tumeur reprend sa croissance quand l'exposition s'arrête. Les tumeurs ayant diminué contiennent des cellules de type fibroblastes. Deux sous-population sont mises en évidence, l'une au cœur d la tumeur et l'autre en périphérie. Cette dernière montre des caractères de senescence. La quantification de protéines (Ki67, Cycline D1 et p21) montre que les radiofréquences "random" n'ont pas cet effet. Avec 72,12 MHz, Ki 67 et Cycline D1, marqueurs de prolifération, baissent de 25 et 50%, alors que p21 (différentiation) augmente de 10%. Une étude des cryptes intestinales dans lesquelles aucune diminution de prolifération n'est vue suggère que seules les cellules tumorales sont affectées par les radiofréquences à 72,12 MHz. Par la mesure de la capacité à former des sphéroïdes, les auteurs montrent que les radiofréquences à 72,12 MHz inhibent la croissance des cellules souches cancéreuses. Une étude *in vitro* dans la lignée Huh7 par RNAseq et quantification de microARN montre qu'un mécanisme de réponse cellulaire, impliquant le facteur IP3/DAG est impliqué dans l'effet des radiofréquences 72,12 MHz sur les tumeurs de foie. Ce mécanisme étant associé aux flux calciques, les auteurs quantifient la concentration de Ca<sup>2+</sup> dans plusieurs lignées de cellules hépatiques cancéreuses et montrent que cette fréquence induit une augmentation de la concentration intracellulaire de cet ion. Ils montrent également que l'effet antiprolifératif n'a plus lieu en présence d'inhibiteur de canaux calciques, en particulier les "*voltage gated calcium channels*" de type-T.

L'exposition *in vitro* n'est pas décrite en détail, mais elle a fait l'objet de travaux précédemment

publiés. Il s'agit de boîtes de Petri insérées dans des cellules TEM, positionnées verticalement, le tout étant placé dans un incubateur. Les expériences sont réalisées avec des niveaux de DAS de 30 et 40 mW/kg. Les cellules sont exposées 3 h par jour, 7 jours d'affilé. La modulation d'amplitude varie entre 500 Hz et 22 kHz. Pour les expérimentations in vivo sur l'animal (souris), une nouvelle cellule TEM a été développée. Elle a été également présentée dans des travaux précédemment publiés. L'exposition aux signaux 27 MHz, modulés en amplitude, est de 67 mW/kg au niveau des tumeurs sous-cutanées, et dure 3 h par jour. Cette étude très complète, avec une approche complète de l'humain à la cellule en passant par le petit animal, apporte de nombreux arguments en faveur d'un effet bénéfique des radiofréquences à 72,12 MHz sur les tumeurs hépatiques. Chez l'humain, le traitement est réalisé avec une exposition intrabuccale dont les ondes sont montrées ici comme atteignant les organes internes. L'efficacité de cette fréquence est aussi montrée dans les xénogreffes chez la souris. La principale limite mineure de ce travail est le peu de données convaincantes sur la spécificité de cette fréquence. Quelques expériences sont faites avec des fréquences aléatoires choisies entre 500 et 22 kHz, c'est à dire assez différentes de 72,12 MHz. De plus, les valeurs exactes de ces radiofréquences ne sont pas rapportées dans l'article. L'intérêt majeur des données pour la thématique "cancer" est la mise en évidence de l'effet antiprolifératif de ces radiofréquences qui semble spécifique des cellules tumorales. Les auteurs apportent de plus des arguments forts pour un rôle majeur du flux de calcium dans cet effet.

- Jooyan, N., et al. (2019) *Direct and indirect effects of exposure to 900 MHz GSM radiofrequency electromagnetic fields on CHO cell line: Evidence of bystander effect by non-ionizing radiation*

[Système reproducteur]

Jooyan et al. (2019) s'intéressent à la survenue d'un effet *bystander* médié par les radiofréquences dans des cultures de cellules CHO (hamster de Chine). Il s'agit de l'induction d'effets délétères par des cellules non directement exposées, dans ce cas par transfert de milieu de culture. Le système d'exposition est une cavité raisonnante rectangulaire de dimension 20x9x45 cm. Le signal est de type GSM dans la bande de fréquence de 900 MHz. Les valeurs de DAS sont comprises entre 0,2 et 0,4 W/kg, obtenues par simulation numérique. Deux supports ont été utilisés et placés dans la cavité, à savoir des boîtes de Petri de 35 de diamètre et des plaques 96 puits, pour des expositions de 4, 12 et 24h. Les auteurs montrent tout d'abord que les radiofréquences n'induisent de façon directe ni apoptose, ni autophagie, ni mort cellulaire (perméabilité bleu trypan ou test MTT), ni micronoyaux. Par contre, la clonogénicité est diminuée respectivement de 25 et 40% après des expositions de 12 et 24h. La méthode des comètes montre une augmentation d'un facteur 4 après 24h (mais pas d'effet après 12h). Les ROS intracellulaires augmentent d'un facteur 1,3 et 1,5 après 12 et 24h. Les ROS extracellulaires sont au niveau basal après 12h mais 2 fois plus élevées après 24h. Ce niveau plus haut diminue ensuite jusqu'à 24h post-exposition. Dans les expériences de transfert de milieu (6 conditions possibles : 0/12, 0/24, 12/12, 12/24, 24/12, 24/24 temps post expo / temps incubation) seule l'incubation 12h de CHO avec du milieu prélevé 12 après la fin d'une expo de cellules (24h) a un effet de diminution similaire à l'exposition directe (-60%). Cet effet de la condition 12/12 est aussi observé pour les comètes avec une valeur identique à l'exposition directe 24h (x4).

Une partie dosimétrie un peu plus détaillée aurait permis de mieux appréhender l'homogénéité de la distribution de DAS dans les échantillons, de même qu'une dosimétrie expérimentale avec l'acquisition de la température dans les échantillons aurait apporté une information précieuse sur d'éventuels incréments thermiques. D'un point de vue biologique, cette étude est bien réalisée. Elle se base sur la mesure d'un nombre important de paramètres évalués avec soin. Si les effets directs des radiofréquences sont solidement montrés, l'effet *bystander*



ne reste que partiellement établi car seul deux effets ont été étudiés et dans une seule condition pour la génotoxicité.

- *Kayhan, H., et al. (2016) Does MW Radiation Affect Gene Expression, Apoptotic Level, and Cell Cycle Progression of Human SH-SY5Y Neuroblastoma Cells?*

[Cerveau]

Kayhan, H., *et al.* (2016) ont étudié les effets du rayonnement micro-ondes (MW) sur l'activité apoptotique, la viabilité cellulaire et la progression du cycle cellulaire dans une lignée cellulaire humaine de neuroblastome SH-SY5Y NB. Les cellules sont disposées dans un support multi-puits, exposé par une antenne cornet. Un générateur de signaux à 2,1 GHz reproduit une communication type W-CDMA, à 55 V/m soit un DAS annoncé à 0,35 W/kg en moyenne. L'exposition est représentative du rayonnement à proximité d'un appareil de téléphonie mobile. La dosimétrie est de bonne qualité. Le DAS est obtenu par simulation numérique.

Les cellules SH-SY5Y NB, synchronisées en G1 après traitement pendant 48h dans un milieu sans sérum, puis sont exposées en présence de sérum à un rayonnement MW modulé W-CDMA de 2,1 GHz pendant 24 h. Les échantillons témoins (témoins exposés) sont dans les mêmes conditions que les échantillons exposés au MW, mais ils n'ont pas été exposés au rayonnement MW. L'apoptose des cellules a été mesurée par coloration à l'Annexine-V-FITC et à l'iodure de propidium. Les niveaux d'ARNm des protéines prolifératives et du cycle cellulaire ont été déterminés par RT-PCR en temps réel. Le changement dans la progression du cycle cellulaire a été observé en utilisant le réactif ADN CycleTest-Plus.

Aucun changement significatif n'est observé dans l'activité apoptotique des cellules exposées à la MW par rapport aux cellules témoins. Les niveaux d'ARNm de c-myc et de cycline D1 sont significativement réduits dans le groupe MW par rapport aux cellules témoins ( $p < 0,05$ ). Le pourcentage de cellules exposées au MW en phase G1 est significativement plus élevé que le pourcentage de cellules témoins en phase G1. Le rayonnement MW provoque l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1. Ces résultats ont montré que le rayonnement MW modulé par W-CDMA à 2,1 GHz ne provoque pas de mortalité mais modifie la progression du cycle cellulaire. Pas de contrôle température

- *Kerimoğlu, G, et al. (2016c) "Effects of long-term exposure to 900 megahertz electromagnetic field on heart morphology and biochemistry of male adolescent rats."*

[système cardio-vasculaire]

Kéromiglu *et al.* (2016) étudient l'impact cardiaque de radiofréquences chez le rat adolescent. Le système d'exposition est composé pour la génération de signal d'une source et d'un oscillateur délivrant un signal à 900 MHz, raccordé ensuite à une antenne dipôle. Cette dernière est placée au centre d'une boîte en plexiglass qui contient les animaux à une distance fixée. Le champ électrique appliqué mesuré est de 8.4 V/m moyenné, soit une densité de puissance de 0,187 W/m<sup>2</sup>, avec un DAS corps entier calculé de 0,0093 W/kg. L'exposition correspond à un rayonnement de téléphonie mobile de très faible niveau. La dosimétrie de cette étude est de bonne qualité, avec un contrôle du niveau d'exposition avec et sans la présence des rats. Vingt-quatre rats mâles âgés de 21 jours ont été divisés en trois groupes égaux : témoin-cage (Cont-Gr), témoin-exposition (Shm-Gr) et exposé aux CEM (EMF-Gr). Les rats EMF-Gr ont été placés dans une cage d'exposition aux CEM (cage en plexiglas) pendant 1 h/jour entre les jours postnatals 21 et 59 et exposés à des CEM de 900 MHz. Les rats Shm-Gr ont été placés dans la cage en plexiglas dans les mêmes conditions et pour la même durée, mais n'ont pas été exposés aux CEM. Tous les animaux ont été sacrifiés au jour postnatal 60 et les cœurs ont été extraits pour des analyses microscopiques et biochimiques.

L'analyse biochimique a montré une augmentation des niveaux de malondialdéhyde et de superoxyde dismutase, ainsi que des niveaux réduits de glutathion et de catalase chez les animaux EMF-Gr par rapport aux animaux Cont-Gr. Les coupes colorées à l'hématoxyline et à l'éosine des animaux EMF-Gr ont montré des changements structurels et une congestion capillaire dans le myocarde. Le pourcentage de cellules myocardiques apoptotiques chez les animaux EMF-Gr était plus élevé que chez les animaux Shm-Gr ou Cont-Gr. La microscopie électronique à transmission des cellules myocardiques des animaux EMF-Gr a montré une structure altérée des bandes Z, une diminution des myofilaments et une vacuolisation prononcée.

Les auteurs Kerimoglu *et al.* (2016) ont basé leurs conclusions sur les comparaisons entre les groupes contrôle-cage et exposition et exposé en omettant de dire qu'il existe des différences significatives entre les groupes contrôle-cage et contrôle-exposition et parfois peu de différence entre les groupes contrôle exposition et exposés.

- Kerimoğlu, G., et al. (2016a) "Adverse effects in lumbar spinal cord morphology and tissue biochemistry in Sprague Dawley male rats following exposure to a continuous 1-h a day 900-MHz electromagnetic field throughout adolescence"

[Cerveau]

Les résultats probants à conserver sont que l'analyse histopathologique met en évidence une moelle épinière lombaire de morphologie normale dans les groupes témoins exposition et témoins cage, tandis qu'une irrégularité morphologique de la matière grise, une vacuolisation accrue et une infiltration de matière blanche dans la matière grise ont été observées chez les rats exposés ELMAG. Le cytoplasme de certains neurones de la matière grise est rétréci et taché de noir, et des vacuoles sont observées dans les cytoplasmes. Les indices d'apoptose des cellules gliales et des neurones sont significativement plus élevés dans le groupe exposé ELMAG par rapport aux autres groupes.

Les résultats suggèrent qu'une exposition continue à un champ électromagnétique de 900 MHz pendant 1 h par jour au stade de l'adolescence de rats, peut entraîner des altérations aux niveaux morphologique de la moelle épinière de la région lombaire

Le système d'exposition est très succinctement décrit, mais le champ E est mesuré à plusieurs endroit permettant de donner une valeur moyenne de l'exposition : 8,4V/m, DSP=0,187mW/m<sup>2</sup>. La valeur de l'exposition moyenne corps entier estimée est de 9,3mW/kg, elle correspond à une faible exposition. La limite vient de l'émission du champ (antenne).

- Kerimoğlu, G., et al. (2016b) "Pernicious effects of long-term, continuous 900-MHz electromagnetic field throughout adolescence on hippocampus morphology, biochemistry and pyramidal neuron numbers in 60-day-old Sprague Dawley male rats"

[Cerveau]

L'examen histopathologique a révélé un nombre accru de neurones pycnotiques avec un cytoplasme noir ou bleu foncé sur des lames de tissu cérébral des rats exposés EMFGr, colorées avec du violet de crésyl. Les analyses stéréologiques ont révélé moins de neurones pyramidaux dans ce groupe exposé EMFGr que dans les deux autres groupes de témoins. Les analyses biochimiques ont montré une augmentation de glutathion, mais une diminution de l'activité de catalase dans les rats du groupe exposé EMFGr. Ainsi des dommages morphologiques liés au stress oxydant et une perte de neurones pyramidaux peuvent être observés dans l'hippocampe de jeunes rats après une exposition à des champs électromagnétiques de 900 MHz.

En conclusion, ces résultats indiquent que l'effet de l'exposition à un CEM de 900 MHz à au stade de l'adolescence peut causer une altération de la morphologie et de la biochimie de l'hippocampe et une diminution des neurones pyramidaux de l'hippocampe.

Le système d'exposition est très succinctement décrit, mais le champ E est mesuré à plusieurs endroit permettant de donner une valeur moyenne de l'exposition : 8,4V/m, DSP=0,187mW/m<sup>2</sup>. La valeur de l'exposition moyenne corps entier estimée est de 6,7mW/kg, elle correspond à une faible exposition.

Idem articles précédents, avec en plus un doute sur la valeur du DAS calculé car les paramètres d'exposition sont identiques mais le DAS calculé est différent ???

- *Kerimoğlu, G., et al. (2018) "A histopathological and biochemical evaluation of oxidative injury in the sciatic nerves of male rats exposed to a continuous 900-megahertz electromagnetic field throughout all periods of adolescence"*

[nerf hors SNC]

L'évaluation histopathologique des lames colorées a révélé une apparence normale dans les cellules de Schwann et les axones dans tous les groupes. Cependant, un épaississement marqué est observé dans l'épinèvre des nerfs sciatiques des rats exposés. Les niveaux de MDA, SOD et CAT sont plus élevés dans le groupe de rats exposés aux rayonnements que dans les 2 groupes témoins. L'analyse de l'indice d'apoptose (AI) révèle une augmentation significative du nombre de cellules TUNEL (+) dans le groupe exposé en comparaison avec les 2 groupes témoins.

Les résultats de cette étude suggèrent qu'une exposition continue à un champ électromagnétique de 900 MHz pendant 1 h tout au long de l'adolescence peut provoquer des lésions d'oxydation et un épaississement de l'épinèvre du nerf sciatique chez les rats mâles au début de l'âge adulte.

Des limites mineures sont à signaler pour la partie exposition. Le système d'exposition est très succinctement décrit, mais le champ E est mesuré à plusieurs endroit permettant de donner une valeur moyenne de l'exposition : 8,4V/m, DSP=0,187mW/m<sup>2</sup>. La valeur de l'exposition moyenne corps entier estimée est de 9,3mW/kg, elle correspond à une faible exposition. La limite vient de l'émission du champ (antenne)

- *Kim, H. S., et al. (2015) Effect of whole-body exposure to the 848.5 MHz code division multiple access (CDMA) electromagnetic field on adult neurogenesis in the young, healthy rat brain*

[Cerveau]

Kim *et al.* (2015) s'intéressent à l'effet de radiofréquences sur la prolifération neuronale *in vivo*. Des groupes de 6 rats sont disposés dans des cages. Ces cages sont disposées dans une chambre réverbérante à brassage de mode. Le niveau d'exposition est de 2 W/kg, à 848,5 MHz (CDMA). Les auteurs exposent les rats 1 ou 8 heures par jour, 5 jours par semaine pendant 2 semaine. L'exposition physique est de très bonne qualité. La chaîne d'exposition est bien détaillée, la dosimétrie est justifiée par mesure et simulation numérique, et contrôlée en temps réel. Le niveau d'exposition est du même ordre de grandeur que celui à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Pendant les cinq derniers jours d'exposition, les animaux reçoivent une injection quotidienne de bromo-désoxyuridine. Ce composé est incorporé dans l'ADN lors de sa répllication. Deux jours après la dernière exposition, ils sacrifient les animaux et collectent le cerveau. Ils en réalisent des coupes qui sont analysées par immunohistochimie pour détecter le taux de BrdU dans les zones hippocampe+sub ventriculaire (SVZ) et gyrus denté (DG). Ils n'observent aucune différence entre les groupe témoin- cage, témoin-

exposition ou exposés.

Les résultats de l'étude sont assez nets et suggèrent l'absence d'effet des radiofréquences sur la prolifération. Une stimulation aurait suggéré un potentiel rôle promoteur du cancer alors qu'une diminution aurait pu montrer un effet délétère.

La force des conclusions de l'étude est cependant limitée par l'absence d'un contrôle positif et de la mesure d'autres paramètres biologiques liés à la prolifération.

- *Kim, J. H., et al. (2016) Induction of autophagy in the striatum and hypothalamus of mice after 835 MHz radiofrequency exposure*

[Cerveau][système endocrinien]

Dans ce travail de Kim, J. H., *et al.* (2016), des souris C57BL/6 mâles de 6 semaines sont disposées dans de grandes cages anéchoïques. L'exposition est assurée par une baie constituée d'un générateur de fonction, d'un amplificateur et d'une antenne cornet. La fréquence est de 835MHz, 5 h/jours pendant 4 ou 12 semaines, à 4 W/kg correspondant à un champ incident indiqué dans la publication en référence à 59 V/m. L'exposition physique est de très bonne qualité (détaillée dans la publication de référence "Maskey 2010). La dosimétrie est justifiée par simulation numérique. L'exposition est du même ordre de grandeur que l'exposition maximale à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. L'expression différentielle de gènes dans le striatum et l'hypothalamus a été analysée par microarray (puces ADN) et les gènes potentiellement intéressants analysés par PCR quantitative et les protéines associées par western blot. L'ultrastructure du striatum et de l'hypothalamus a été analysée par microscopie électronique à transmission (TEM). Les données des puces à ADN indiquent que l'expression de gènes liés à l'autophagie est modifiée après une exposition à 835 MHz. Après 4 semaines d'exposition, l'expression des gènes Atg4a, Atg5, LC3A, LC3B et Beclin 1 est diminuée dans l'hypothalamus alors que dans le striatum, seule celle d'LC3A est diminuée. Après 12 semaines d'exposition, les expressions d'Atg4a, Atg5, LC3A et LC3B dans le striatum et celle d'Atg5, LC3A et LC3B dans l'hypothalamus, sont significativement augmentées. Par contre, l'expression de la Beclin 1 est significativement diminuée dans l'hypothalamus après 12 semaines. Ces données s'accompagnent d'une augmentation du nombre et de la taille d'auto phagosomes dans les neurones du striatum et de l'hypothalamus, sans altération des autres organites intracellulaires. Ces résultats suggèrent qu'une exposition à 835 MHz avec un DAS de 4,0 W/kg pendant 12 semaines active l'autophagie avec la formation d'autophagosomes dans le striatum et l'hypothalamus de souris.

Les auteurs parlent d'une augmentation dans l'hypothalamus après 12 semaines d'exposition mais ils n'ont pas fait d'analyse statistique entre les témoin-exposition et les exposés à 12 semaines (seulement entre expo à 4 et 12 semaines; LC3A et LC3B) alors qu'ils font cette analyse dans le striatum. Ils écrivent que les niveaux d'expression des différents gènes ne bougent pas entre 4 et 12 semaines d'exposition chez les témoin-exposition. Mais il n'y a pas de statistique de faite et certains graphiques montrent des différences qui pourraient être significatives. Certains résultats sont différents entre la quantification par RT-qPCR et les gels de sq-RT-PCR. L'expression de l'ARNm de la beclin 1 est diminuée après 4 et 12 semaines dans l'hypothalamus mais pas de variation pour l'expression de la protéine. Les auteurs ne parlent pas d'une étude précédente de 2010 (Maskey) dans laquelle ils montrent une presque totale disparition des neurones pyramidaux de l'hippocampe après 4 semaines d'exposition à 835MHz.



- *Kim, J. H., et al. (2017a) Activation of autophagy at cerebral cortex and apoptosis at brainstem are differential responses to 835 MHz RF-EMF exposure*

[Cerveau]

Le but de l'étude de Kim, J. H., *et al.* (2017) est de déterminer si à court terme l'exposition aux radiofréquences conduit à la voie d'autophagie dans le cortex cérébral et tronc cérébral après une exposition de souris C57BL/6 à 835 MHz pendant 4 semaines. Les souris sont disposées dans de grandes cages anéchoïques et l'exposition est assurée par une baie constituée d'un générateur de fonction, d'un amplificateur et d'une antenne cornet. La fréquence est de 835MHz, 5 h/jours pendant 4 semaines, à 4 W/k correspondant à un champ incident indiqué dans la publication en référence à 59 V/m. Toutes les analyses ont été faites par rapport à un lot de souris témoin exposé. Des groupes de 5 souris mâles C57BL/6 âgées de 6 semaines et pesant 25-30 g ont été 835 MHz radiofréquences 5h/jour pendant 4 semaines. A terme, les ARNs et les protéines du cortex et du tronc cérébral ont été prélevés et ont permis d'analyser en RT-PCR l'expression des gènes de Bécline 1 et 2, Atg9A, ATG4A, ATG4B, ATG5, LC3A, LC3B, Bcl2 et Bax et en Western blot les expressions de LC3B1, LC3B2, Bécline 1, Bax et Bcl2. En parallèle l'autophagie a été analysée en microscopie électronique sur des coupes réalisées aux niveaux du cortex et de tronc cérébral. Toutes les données sont présentées sous forme de moyenne (n = 5 souris) et la significativité des différences est déterminée par le test t de Student.

Les résultats de la qRT-PCR montrent que la plupart des gènes de l'autophagie augmente de manière significative d'environ 1,5 ~ 3,0 fois dans le cortex cérébral des souris exposées aux radiofréquences pendant 4 semaines par contre ils n'augmentent pas au niveau du tronc cérébral

Pour explorer la corrélation entre l'apoptose et l'autophagie le niveau d'expression ARN et protéines de Bcl2 (membre anti-apoptotique) et Bax (membre pro-apoptotique) ont été analysé dans le cortex cérébral et le tronc cérébral des souris après 4 semaines d'exposition aux radiofréquences. Les expressions de Bcl2 et de Bax en ARN et protéines sont diminuées dans le cortex cérébral du groupe exposé. Par contre, dans le tronc cérébral, le niveau d'ARNm de Bax est significativement augmenté et celui de Bcl2 légèrement réduit cependant au niveau protéique le niveau de Bax est augmenté et celui de Bcl2 est significativement diminué. Pour confirmer les résultats des coupes de cerveau ont été analysées en microscopie électronique. Les observations montrent qu'un grand nombre de structures autophagiques tels que les autophagosomes et les autolysosomes sont concentrés dans les neurones corticaux du groupe exposé et moins de structures autophagiques ont été trouvées dans le tronc cérébral des souris exposées.

Globalement ces résultats montrent que 4 semaines d'exposition aux radiofréquences peut inhiber la voie apoptotique et induire de l'autophagie dans le cortex cérébral des souris. En revanche, dans le tronc cérébral des souris exposées l'apoptose semble préférentiellement activée plutôt que l'autophagie. L'exposition physique est de très bonne qualité. La chaîne d'exposition est bien détaillée dans la publication de référence "Maskey 2010". La dosimétrie est justifiée par simulation numérique. L'exposition est du même ordre de grandeur que l'exposition maximale à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile.

- *Kim, J. H., et al. (2017b) Long-term exposure to 835 MHz RF-EMF induces hyperactivity, autophagy and demyelination in the cortical neurons of mice*

[Cerveau]

L'étude de Kim, J. H., *et al.* (2017) vise à évaluer les effets neuronaux d'une exposition aux

radiofréquences de la téléphonie mobile sur le cortex cérébral de souris. Les souris C57BL/6 de 6 semaines sont disposées dans des cages anéchoïques et exposées avec un générateur de fonction, un amplificateur et une antenne cornet. La fréquence est de 835MHz, 5 h/jours pendant 12 semaines, à 4 W/k correspondant à un champ incident à 59 V/m. L'exposition physique est de très bonne qualité (détaillée dans la publication de référence "Maskey 2010). La dosimétrie est justifiée par simulation numérique. L'exposition est du même ordre de grandeur que l'exposition maximale à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Le but a été d'étudier les effets sur le comportement et sur l'activation de l'autophagie dans le cortex cérébral. Le test Rota Rod évalue les dysfonctionnements moteurs (coordination et équilibre) et le test de l'*open field* l'anxiété en réponse à la nouveauté et la motivation motrice. Après 12 semaines d'exposition, aucune différence significative n'a été observée pour le test de Rota-Rod entre le groupe témoin-exposition et le groupe exposé mais dans l'ensemble, les souris exposées aux radiofréquences sont hyperactives. L'expression des gènes de l'autophagie AMPK1 $\alpha$ , Ulk1, Beclin1/2, Atg9A, Atg4A/B, Atg5, et LC3A/B est augmentée ainsi que l'expression protéique de LC3B-II et de Beclin1 dans le cortex (qui confirment les données d'expression des gènes. Pour savoir si l'apoptose est activée avec l'autophagie, l'expression des ARNm et des protéines Bcl2 (anti-apoptotique) et Bax (apoptotique) a été mesurée. L'expression des transcrits et des protéines Bcl2 et Bax est diminuée. La formation d'autophagosomes et la diminution d'expression du facteur pro-apoptotique Bax suggèrent une absence de lésion neuronale. Cependant, après l'exposition chronique, la microscopie électronique révèle des gaines de myéline défectueuses. Ce résultat suggère que l'exposition aux radiofréquences pendant 12 semaines peut causer des dommages à la myéline des neurones corticaux et que si les corps cellulaires neuronaux restent structurellement intègres, l'exposition entraîne une démyélinisation des neurones, cause potentielle de troubles neurologiques ou comportementaux. Les auteurs écrivent que l'autophagie est activée dans le corps cellulaires corticaux par l'exposition aux radiofréquences comme moyen de survie face au stress ou pour éviter la mort des neurones qui pourraient provoquer des maladies neurodégénératives. Par contre, la gaine de myéline est endommagée.

On ne connaît pas le délai entre l'exposition et la récupération des tissus pour les ARN et protéines, ni le nombre d'animaux. Dans matériel-méthodes, on lit qu'il y a 6 souris témoin-exposition et 6 exposées. Mais les ARN sont extraits de chaque cortex de chaque souris. Que reste-t-il pour les protéines ? Sur une figure, l'expression des ARNm normalisée vs beta-tubuline mais sur un gel il s'agit de la GAPDH. Les auteurs ne fournissent pas d'explication au fait qu'il y a à la fois une baisse de Bcl-2 (anti-apoptotique) et de Bax (pro-apoptotique).

- *Kim, J. H., et al. (2018a) Exposure to 835 MHz RF-EMF decreases the expression of calcium channels, inhibits apoptosis, but induces autophagy in the mouse hippocampus*

[Cerveau]

Kim *et al.* (2018) étudient la relation entre les canaux calciques et l'apoptose ou l'autophagie dans l'hippocampe de souris C57BL/6. Celles-ci sont disposées dans de grandes cages anéchoïques. L'exposition est assurée par une baie constituée d'un générateur de fonction, d'un amplificateur et d'une antenne cornet. La fréquence est de 835MHz, 5 h/jours pendant 4 semaines, à 4 W/k correspondant à un champ incident indiqué dans la publication en référence à 59 V/m. L'exposition physique est de très bonne qualité. La chaîne d'exposition est bien détaillée dans la publication de référence "Maskey 2010". La dosimétrie est justifiée par simulation numérique. L'exposition est du même ordre de grandeur que l'exposition maximale à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. L'expression protéique des canaux calciques voltage-dépendants (CCVD), un régulateur clé de l'entrée d'ions calcium dans la cellule est significativement diminuée après exposition aux radiofréquences (WB), accompagnée d'une

augmentation de l'expression des transcrits de certains gènes liés à l'autophagie (Atg4B, Atg5, Atg9A, Beclin2 et LC3B), d'une diminution de l'expression du transcrit de LC3A et sans effet sur l'expression de celui de la Beclin1 et de Atg4A. Par contre, les radiofréquences augmentent l'expression protéique de LC3BII, accompagnée d'une accumulation d'auto-lysosomes et d'autophagosomes vus par microscopie électronique à transmission. Concernant l'étude de l'apoptose, les expressions du transcrit et la protéine du facteur pro-apoptotique Bax sont diminuées chez les souris exposées ( $p < 0,05$ ), alors que l'expression de la protéine Bcl2 est significativement augmentée (mais l'expression du transcrit n'est pas modifiée).

Les auteurs indiquent avoir réalisé l'expérience en 2 lots indépendants mais on ne sait pas si les analyses ont été faites en même temps pour tous les échantillons ou en 2 analyses indépendantes. Les auteurs parlent de PCR quantitative (Sybergreen) et semi-quantitative (dépôt sur gel) : Les 2 sont semi-quantitatives. Les auteurs ne discutent pas le fait que l'expression de l'ARNm de BCL2 n'est pas modifiée par les radiofréquences alors que l'expression de la protéine est significativement augmentée. Des histogrammes montrent des effets qui devraient être significatifs. Pour les WB de LC3B I et II, la quantification de LC3BII est faite par rapport à la tubuline alors qu'elle devrait être faite par rapport à LC3B-I, dont l'expression est augmentée par les radiofréquences. On s'attendait à ce que les auteurs parlent des résultats d'une étude précédente de 2010 (Maskey) qui montre une perte presque complète des neurones pyramidaux de l'hippocampe après 4 semaines d'exposition à 835MHz.

- *Kim, J. Y., et al. (2017) Effects of radiofrequency field exposure on glutamate-induced oxidative stress in mouse hippocampal HT22 cells*

[Cerveau]

Kim *et al.* (2017) ont étudié l'impact d'une exposition aux radiofréquences (RF) dans le contexte de la maladie d'Alzheimer. Dans ce but, les auteurs ont analysé l'effet du rayonnement radiofréquences sur le stress oxydatif induit par le glutamate dans les cellules neuronales transformées HT22 de l'hippocampe de souris. Matériels et méthodes : Les cellules ont été exposées aux radiofréquences 1950 MHz (WCDMA) à 2, 4, et 6 W/kg pendant 2h, les cellules témoin sont des témoins exposition. L'exposition est représentative d'un niveau d'exposition élevé (supérieur aux normes) des signaux de forme d'onde de la téléphonie mobile. La dosimétrie est de qualité, l'écart-type du DAS dans la boîte de Petri est indiqué. Le taux de survie cellulaire a été mesuré par des tests d'exclusion au MTT et au bleu trypan. La distribution du cycle cellulaire, la mort cellulaire et la production de ROS ont été analysées par cytométrie en flux. L'expression des protéines a été analysée par Western blot. Résultats : l'exposition aux radiofréquences ne modifie pas la prolifération cellulaire, mais augmente significativement la cytotoxicité induite par le glutamate dans les cellules HT22. Le glutamate augmente la fraction subG1 du cycle cellulaire, la population cellulaire positive à l'annexine/l'iodure de propidium et l'expression de la polymérase poly (ADP ribose) clivée. Tous les effets du glutamate sont augmentés par l'exposition aux radiofréquences. Les radiofréquences augmente aussi le taux de ROS induit par le glutamate. Le traitement à la N-acétylcystéine abroge la production de ROS induite par le glutamate et les radiofréquences, la survie, la mort et la prolifération cellulaire sont restaurées. Le glutamate induit la phosphorylation de c-Jun, cette phosphorylation est augmentée après exposition aux radiofréquences et le traitement avec NAC ou avec un inhibiteur de JNK normalise la prolifération cellulaire.

En conclusion, les résultats montrent que l'exposition aux radiofréquences potentialise les effets cytotoxiques induits par le glutamate via l'augmentation des ROS dans les cellules HT22.

Trois limites méthodologiques mineures sont notées dans ce travail : une seule lignée

cellulaire est étudiée ce qui limite l'impact des données et d'autre part toutes les analyses sont faites 24h après l'exposition ce qui est un peu juste pour apprécier la cytotoxicité de cellules adhérentes. Le glutamate seul a un effet cytotoxique via l'augmentation des ROS dans les cellules HT22. Au cours des expériences la température n'est pas contrôlée.

- *Kim, JH et al. (2021a) Activation of matrix metalloproteinases and FoxO3a in HaCaT keratinocytes by radiofrequency electromagnetic field exposure*

[Cerveau][Peau]

Kim *et al.* (2021) s'intéressent aux mécanismes du vieillissement cutané induits pas les radiofréquences. Le système d'exposition correspond à une RTL, une ligne de transmission radiale, utilisée à 1,76 GHz, fréquence de téléphonie mobile LTE (long Term Evolution) 4G, avec une largeur de bande de 10 MHz, en mode « *uplink* », soit du mobile à la station de base. Il faut se référer aux publications antérieures ((Lee *et al.* 2010) et (Choi *et al.* 2020)) pour en connaître les détails. Les cellules irradiées sont localisées dans des boîtes de Pétri, elles-mêmes situées à des endroits précis de la ligne. Le signal est généré par un générateur de signal puis amplifié afin de pouvoir délivrer une puissance maximale de 60W. Le signal est transmis à la RTL via une antenne conique. Les cellules et la ligne de transmission radiale sont placées dans un environnement thermorégulée, avec CO<sub>2</sub> et humidité, équivalent à un incubateur. Un système de refroidissement supplémentaire permet de maintenir les cellules dans des conditions athermiques. Le SAR est mesuré thermiquement avec une sonde à fibre optique de type Luxtron 812. Le SAR normalisé pour une puissance incidente de 1W est de 0,155 W/kg/W avec un écart type dans la boîte de Petri de 0,004 W/kg/W. Un contrôle continu du SAR, de la température de l'incubateur et du système de refroidissement est réalisé pendant les expérimentations. Il n'y a néanmoins pas d'information donnée sur le type de générateur de signal (marque) et l'amplificateur utilisé. Il n'est pas non plus clair si l'évaluation thermique du SAR a été réalisé avec des boîtes de Pétri qui incluent les cellules ou leur milieu de culture ou encore à vide. Les auteurs ne précisent pas non plus si le SAR est évalué dès l'application du signal radiofréquences, même si un graphe indique la prise de la pente de SAR à partir du temps 0 seconde. Malgré ces indications manquantes, le système d'exposition est calibré et donc pertinent.

Pour leur étude, les auteurs réalisent un travail in vitro sur une lignée de kératinocytes humains. Dans les cellules exposées aux radiofréquences, la production d'espèces réactives de l'oxygène est bien mise en évidence avec une augmentation de fluorescence de la sonde DCF-DA de plus de 40% est vue en microscopie. En FACS, une augmentation de 16 % du nombre de cellules marquées au DCF-DA est observée. Par contre, aucun effet n'est vu sur la morphologie des cellules, leur nombre, leur vitesse de prolifération ou leur viabilité. Le niveau d'expression de plusieurs métalloprotéinases est quant à lui augmenté : MMP1 (+50%), MMP3 (+30%), MMP7 (+100 %). Une analyse en zymographie montre une augmentation d'un facteur 2,5 pour pro-MMP2 et 1,5 pour pro-MMP9. Un facteur 2 est obtenu pour la MMP2 active alors que MMP 9 active n'est pas détectée. Les 2 marqueurs d'apoptose étudiés, l'expression de Bcl2 et Bax, ne varient pas. Il faut rappeler que c'est le ratio Bcl2/Bax qui renseigne sur une éventuelle induction de l'apoptose. La voie MAPK semble activée mais pas l'inflammation. Ce dernier phénomène n'est cependant quantifié que par l'expression de Cox2. Enfin, la phosphorylation du facteur PoxO3 est augmentée de 50 %, ce qui suggèrent l'induction de la senescence.

Ce travail assez bien conçu. Le système d'exposition radiofréquences est pertinent. Il permet d'appliquer un signal à 1,76 GHz utilisé en téléphonie mobile de type LTE dans des conditions athermiques de SAR calibré et contrôlé. Il n'y a néanmoins pas d'information donnée sur le type de générateur de signal (marque) et l'amplificateur utilisé. Il n'est pas non plus clair si



l'évaluation thermique du SAR a été réalisé avec des boîtes de Pétri qui incluent les cellules ou leur milieu de culture ou encore à vide. Les auteurs ne précisent pas non plus si le SAR est évalué dès l'application du signal radiofréquences, même si un graphe indique la prise de la pente de SAR à partir du temps 0 seconde. Malgré ces indications manquantes, le système est jugé relevant. L'étude montre clairement un possible rôle des radiofréquences dans le vieillissement cutané. Pour l'aspect "cancérogène", les éléments importants sont la mise en évidence d'un stress oxydant. L'absence d'apoptose et d'inflammation sont aussi des informations d'intérêt même si elles ne sont pas les plus convaincantes de l'étude du fait du faible nombre de paramètres étudiés. Une autre observation à noter est l'induction des métalloprotéases. Ce phénomène pourrait être à rapprocher de la problématique de l'induction de métastases qui nécessite comme première étape une destruction de la matrice extracellulaire.

- *Kim, JH et al. (2021b) Exposure to long-term evolution radiofrequency electromagnetic fields decreases neuroblastoma cell proliferation via Akt/mTOR-mediated cellular senescence*

[Cerveau]

Le travail de Kim *et al.*, 2021, a consisté à examiner les effets potentiels des radiofréquences sur la sénescence de neuroblastomes. Les cellules dans des boîtes de Petri sont exposées à proximité d'une antenne conique dans un environnement anéchoïque. L'exposition est de 4h/jour, durant 4 jours, avec un signal de 1700 MHz à 4 W/kg. Les auteurs quantifient sur la prolifération cellulaire, la progression dans le cycle cellulaire, l'apoptose, les dommages à l'ADN et la sénescence des cellules neuronales SH-SY5Y. La morphologie des cellules n'est pas modifiée par l'exposition. La prolifération diminue au fur et à mesure de l'exposition et l'effet est significatif aux jours 3 et 4 d'exposition. Le ralentissement de la prolifération est dû à un retard en phase G1 avec une augmentation du nombre de cellules en phase G0/G1 sans modification des cellules en phase S et G2/M. L'expression de  $\gamma$ H2AX n'est pas modifiée, alors que celle de Bcl-2 est augmentée et celle de BAX diminuée, suggérant que ni des dommages à l'ADN ni l'apoptose ne sont impliqués. Par contre, la phosphorylation d'AKT, de mTOR, l'expression de p53 et p53 phosphorylée, de p21 et p27 sont augmentées par l'exposition. De même, les expressions de CDK, 2 et 4, de la cycline D et la phosphorylation de Rb sont diminuées sans modification de l'expression de CDK1. Les auteurs concluent que ces altérations peuvent expliquer l'arrêt de la progression dans le cycle cellulaire ainsi que la diminution de la prolifération par activation de la voie AKT/mTOR qui induirait une sénescence sans créer de dommages à l'ADN.

L'exposition physique de cette étude est de bonne qualité. Le moyen d'exposition est bien décrit dans la publication de référence Choi 2020. Le DAS est obtenu par mesure de température. Les conditions d'exposition sont représentatives d'une exposition à des signaux de téléphonie mobile à une puissance élevée, à un niveau deux fois supérieur à celui des normes publiques. Quelques limites sont à noter en biologie. Il n'y a aucune donnée chiffrée dans les résultats. Les auteurs parlent de sénescence mais aucun marqueur spécifique de la sénescence n'a été étudié qui auraient permis de réellement argumenter sur l'implication de la sénescence.

- *Kinci Keleş, A., et al. (2019) "The effect of 900-megahertz electromagnetic field exposure in the first and middle adolescent period on the spleen in male rats: A biochemical and histopathological study"*

[Rate]

Le but de l'étude de İkinci Keleş *et al.*, 2019 est d'étudier les effets histopathologiques et

biochimiques sur la rate chez des rats à la fin de l'adolescence, après une exposition au milieu de l'adolescence, à des radiofréquences avec un signal continu de 900 MHz pendant 1h/jour pendant 25 jours. Le système d'exposition repose sur l'utilisation d'une antenne dipôle qui rayonne une onde électromagnétique sur des animaux placés dans une cage de 30 x 42 x 50 cm. Le niveau d'exposition est déterminé par une mesure du champ électrique dans ou sous la cage en plexiglas et une valeur de l'ordre de 10 V/m est obtenue. Dans cette étude, 24 rats mâles Sprague Dawley âgés de 21 jours ont été divisés en groupe témoin-cage (rats gardés dans cages conventionnelles, n=8), groupe témoin-exposition (groupe dans cage d'exposition sans exposition, n=8) et groupe exposé (n=8). Une évaluation histopathologique a été effectuée sur la rate et des marqueurs de stress oxydatif avec la peroxydation lipidique (LPO via concentration de MDA), les niveaux de superoxyde dismutase (SOD), de glutathion (GSH) et de catalase (CAT) ont été étudiés. L'évaluation histopathologique montre des mégacaryocytes, de la pulpe blanche hypertrophiée et des sinusoides dilatés dans la rate des rats exposés. Les analyses biochimiques indiquent des augmentations significatives des concentrations de MDA et de GSH alors que celles de la CAT et de la SOD sont plus faibles dans le groupe exposé. A noter que l'activité SOD est plus faible dans le groupe témoin-exposition par rapport au groupe témoin-cage ( $p < 0,001$ ). Les auteurs concluent qu'une exposition de rats mâles adolescents à des radiofréquences de 900 MHz provoque des changements morphologiques, une altération du système anti-oxydant et donc un stress oxydatif dans la rate.

La description du système d'exposition manque d'information en particulier sur le contrôle de l'exposition et sur la dosimétrie, l'absence de cette dernière faisant tout de même partie de la discussion. Des limites persistent sur l'exploitation des résultats eu égard à ces limites méthodologiques. Les statistiques indiquées dans le tableau de résultats ne sont pas claires

- *Koyama, S, et al. (2014) "Effect of an Intermediate-Frequency Magnetic Field of 23 kHz at 2 mT on Chemotaxis and Phagocytosis in Neutrophil-Like Differentiated Human HL-60 Cells."*

[Système immunitaire]

Koyama *et al.*, 2014 ont examiné l'effet de l'exposition à un champ magnétique de 23 kHz de 2 mT pendant 2, 3 ou 4 h sur la chimiotaxie des neutrophiles (migration avec un chimioattractant) et la phagocytose (absorption microsphères fluorescentes évaluée par cytométrie en flux) dans la lignée différenciée de neutrophiles, HL-60. Par rapport à une exposition fictive, l'exposition au champ magnétique de 23 kHz n'a aucun effet sur la chimiotaxie ou la phagocytose des neutrophiles.

La valeur de l'exposition est très forte et pas facilement exploitable, les effets, s'il y en a, ne seront pas transposables aux signaux réels et le nombre de cellules suivies pendant l'expérience est insuffisant.

- *Kubat, NJ, et al. (2015) "Effect of pulsed electromagnetic field treatment on programmed resolution of inflammation pathway markers in human cells in culture."*

[Peau]

L'étude de Kubat *et al.*, 2015 a été conçue pour évaluer les mécanismes d'action des radiofréquences sur des gènes de l'inflammation. Une modification de l'accumulation de nombreux transcrits de gènes associés à l'état inflammatoire est observée après traitement par champ électromagnétique pulsé (PEMF, 27,12 MHz). Une augmentation rapide de l'accumulation de l'ARNm de l'hème oxygénase 1 est décrite dans tous les types de cellules (fibroblastes dermiques humains HDF, cellules mononucléaires sanguines HMNC, kératinocytes humains HEK) avec un effet maximal 90 min après l'arrêt de l'exposition pour

les trois types de cellules. En revanche, la quantité d'ARNm de l'hème oxygénase 2 est inchangée dans les trois types de cellules, indiquant une spécificité génique de la réponse. De même, une augmentation des quantités d'ARNm de superoxyde dismutase 3 et de peroxyredoxine 6 est observée dans les 3 types de cellules. En revanche, la quantité d'ARNm de la glutathion réductase est plus élevée dans les HDF et les HMNC après traitement, tandis que la quantité d'ARNm de la catalase était plus élevée après traitement dans les cellules HDF et dans les kératinocytes épidermiques (HEK). En plus d'une augmentation des transcrits codant pour des enzymes antioxydantes, le traitement PEMF est suivi d'une augmentation relative de l'ARNm de la NADPH oxydase, une enzyme prooxydante, dans les cellules HDF et HMNC. Le traitement est suivi d'une diminution de l'expression de l'interleukine 1 bêta et du TNF alpha, ainsi que d'une augmentation des niveaux d'ARNm d'IL-10, suggérant un mécanisme d'action anti-inflammatoire et un potentiel effet thérapeutique des radiofréquences.

Plusieurs points apportent des limites méthodologiques mineures à ce travail. La valeur de l'exposition est très forte et pas bien contrôlée et des effets thermiques sont très probables. Par ailleurs, pour la biologie, les auteurs choisissent de faire leur étude sur 2h en se basant sur la cinétique d'un seul gène alors qu'ils étudient l'expression de 25 gènes. Il n'y a pas de mesure de facteurs de croissance impliqués dans l'inflammation alors que la discussion ne porte que sur l'inflammation. Cette étude semble être associée à un projet industriel de développement de thérapie anti-inflammatoire

- *Kulaber, A et al. (2017) Alterations of thymic morphology and antioxidant biomarkers in 60-day-old male rats following exposure to a continuous 900 MHz electromagnetic field during adolescence.*

[Système endocrinien]

L'étude Kulaber *et al.*, 2017, a étudié les changements dans thymus de rats mâles exposés à des radiofréquences. Le système d'exposition repose sur l'utilisation d'une antenne dipôle qui rayonne une onde électromagnétique sur des animaux placés dans une cage de 30 x 42 x 50 cm. Le signal est continu à la fréquence de 900 MHz, et l'exposition dure 1 h par jour durant 25 jours. Le niveau d'exposition est déterminé par une mesure du champ électrique dans ou sous la cage en plexiglas et une valeur de l'ordre de 9 V/m est obtenue. 18 rats Sprague-Dawley mâles âgés de 21 jours ont été répartis en 3 groupes 1) témoin-cage, 2) témoin-exposition et 3) exposés radiofréquences. Les quantités de malondialdéhyde (MDA) dans le groupe exposé sont augmentées par rapport aux autres groupes. Des érythrocytes extravasculaires ont été observés dans les régions médullaires/corticomédullaires des coupes de rats exposés. Ainsi les radiofréquences de 900 MHz appliqués pendant 1 h/jour, les jours postnataux 22 à 59 augmentent la MDA tissulaire et entraînent des changements histopathologiques dans le tissu thymique du rat mâle. Les auteurs concluent qu'une exposition à des radiofréquences 900 MHz, pendant l'adolescence provoque des changements pathologiques sous la forme d'érythrocytes extravasculaires, une augmentation des niveaux d'espèces réactives de l'oxygène et des dommages oxydant dans le thymus de rat.

Certaines limites mineures sont à signaler. La description du système d'exposition manque d'information en particulier sur le contrôle de l'exposition et sur la dosimétrie, les limites de cette dernière ne permettent pas d'estimer correctement le DAS. Dans les résultats, les auteurs écrivent : « des érythrocytes extravasculaires sont observés occasionnellement après exposition ». Mais il n'y a aucune quantification. D'autant que la moitié du thymus est prise pour l'histologie et l'autre moitié pour les dosages. On ne sait pas sur combien de rats ceci a été observé et sur combien de coupes. Dans l'abstract, cette observation est décrite comme un effet avéré et elle est discutée dans tout un paragraphe de la discussion comme un résultat

marquant. De même, ils disent observer une augmentation de la quantité de ROS mais ils n'ont pas fait de dosage.

- *Lasalvia, M., et al. (2018) "Exposure to 1.8 GHz electromagnetic fields affects morphology, DNA-related Raman spectra and mitochondrial functions in human lympho-monocytes"*

[Système immunitaire]

Lasalvia *et al.* (2018) ont étudié l'effet de radiofréquences sur les lymphocytes et monocytes humains. Les échantillons biologiques sont exposés dans une chambre réverbérante à 1800 MHz, de 1h à 20h, à un niveau de 200 V/m, soit un DAS annoncé de 0,21 W/kg. Des échantillons biologiques sont exposés dans une chambre réverbérante à 1800 MHz, de 1h à 20h, à un niveau de 200 V/m, soit un DAS annoncé de 0,21 W/kg. L'analyse morphologique des cellules adhérentes a révélé, chez certaines d'entre elles, l'apparition d'une forme élargie et déformée après exposition aux CEM. Les spectres Raman du compartiment nucléaire des cellules exposées aux CEM ont révélé l'apparition de modifications biochimiques consistant principalement en la réduction des modes vibrationnels liés à la structure de l'ADN. Les mesures respirométriques de l'activité mitochondriale dans les lympho-monocytes intacts montrent une augmentation de la consommation d'oxygène après 20 h d'exposition, couplée à une augmentation de la consommation d'oxygène associée à la l'ATP synthase. Notamment, à des intervalles de temps inférieurs d'exposition aux champs électromagnétiques (c'est-à-dire 5 et 12 h), une forte augmentation de la respiration liée à la fuite de protons a été observée, qui retrouve la valeur du témoin après 20 h d'exposition. L'analyse par microscopie confocale du potentiel de membrane mitochondriale correspond aux activités respiratoires mais aucune variation de masse ou de morphologie mitochondriale n'est observée dans les lympho-monocytes exposés aux CEM. L'homéostasie redox est altérée dans les lymphomonocytes exposés aux CEM, différent selon la nucléation cellulaire. Ces résultats suggèrent l'apparition de mécanismes adaptatifs mis en action, via la signalisation redox, pour compenser les altérations précoces du système de phosphorylation oxydative causées par l'exposition aux CEM.

Cette étude présente une limite mineure liée au calcul de DAS qui n'est justifié que par une publication de référence pour laquelle on n'a pas l'assurance que les conditions sont identiques. En regard de l'ordre de grandeur du champ (200 V/m), cette étude peut être considérée comme reproductible néanmoins.

- *Li, R., et al. (2018) "The Protective Effect of Autophagy on DNA Damage in Mouse Spermatoocyte-Derived Cells Exposed to 1800 MHz Radiofrequency Electromagnetic Fields"*

[Système reproducteur]

Li *et al.* (2018) ont étudié l'induction de l'autophagie dans les spermatozoïdes exposés aux radiofréquences in vitro. Le système d'exposition est un dispositif commercialisé basé sur l'utilisation de guide d'onde rectangulaire. Il permet d'exposer six boîtes de Petri dans chaque guide d'onde, à un signal GSM à la fréquence de 1800 MHz. L'exposition est discontinue, avec des durées de 5 min et 10 min de présence et d'absence de radiofréquences, respectivement. L'exposition est effectuée durant 24 h. Un contrôle complet des paramètres d'exposition est présent, permettant également des expérimentations en aveugle. Les résultats ont montré que les radiofréquences induisent l'autophagie et des dommages à l'ADN dans les cellules GC-2 via la génération de ROS, et que la voie de signalisation de l'autophagie AMPK/mTOR était activée par la génération de ROS. De plus, suite à l'inhibition de l'autophagie par knockdown de l'AMPKa, une augmentation des dommages à l'ADN a été observée dans les cellules GC-2 après l'exposition aux radiofréquences, et la surexpression de l'AMPKa a favorisé



l'autophagie et atténué les dommages à l'ADN.

Ces résultats montrent que l'autophagie induite par les radiofréquences via la voie de signalisation AMPK/mTOR pouvait prévenir les dommages à l'ADN dans les spermatozoïdes. Ils indiquent que l'autophagie et les dommages à l'ADN peuvent être activés par la génération de ROS induite par les radiofréquences. La voie de signalisation AMPK/mTOR était impliquée dans l'autophagie induite par les radiofréquences, et l'autophagie avait un rôle protecteur dans les dommages à l'ADN induits par l'exposition aux radiofréquences.

Le système d'exposition a été développé et parfaitement caractérisé pour effectuer des expositions in vitro, avec des intensités de DAS de 1, 2 et 4 W/kg au niveau des limites locales d'exposition chez l'humain. L'approche biologique est de qualité. Les résultats fournissent des hypothèses du mécanisme par lequel les radiofréquences déclenchent l'autophagie et du rôle positif que joue l'autophagie dans la réponse aux dommages de l'ADN au traitement des radiofréquences.

- *Liu, C., et al. (2013a) "Exposure to 1800MHz radiofrequency electromagnetic radiation induces oxidative DNA base damage in a mouse spermatocyte-derived cell line"*

[Système reproducteur]

Liu *et al.* (2013) appliquent une exposition intermittente de 24 h (5 min allumée et 10 min éteinte) à la lignée cellulaire GC-2 dérivée de spermatozoïdes de souris aux signaux du système mondial de communication mobile (GSM) de 1800 MHz en mode GSM-Talk à des taux d'absorption spécifiques (SAR) de 1W/kg, 2W/kg ou 4W/kg. Le système d'exposition est un dispositif commercialisé basé sur l'utilisation de guide d'onde rectangulaire. Il permet d'exposer six boîtes de Petri dans chaque guide d'onde. L'exposition est discontinue, avec des durées de 5 min et 10 min de présence et d'absence de radiofréquences, respectivement. L'exposition est effectuée durant 24 h. Un contrôle complet des paramètres d'exposition est présent, permettant également des expérimentations en aveugle. Les auteurs montrent par test de comète modifié, une différence de migration de l'ADN à un DAS de 4W/kg. L'analyse par cytométrie en flux montre des quantités d'adduit d'ADN 8-oxoguanine (8-oxoG) également augmentés à un SAR de 4W/kg. Ces augmentations sont concomitantes des augmentations de génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS); ces phénomènes sont atténués par un co-traitement avec l' $\alpha$ -tocophérol, un antioxydant. Cependant, aucune rupture de brin d'ADN n'a été observée par le test alcalin des comètes.

Cette étude bénéficie d'un système d'exposition spécifiquement développé et parfaitement caractérisé pour effectuer des expositions in vitro, avec des intensités de DAS de 1, 2 et 4 W/kg au niveau des limites d'exposition locale chez l'humain. En utilisant le test des comètes ainsi que la détection de 8-oxoG, il a été montré que l'exposition aux radiofréquences induisait des dommages oxydants de bases d'ADN par l'intermédiaire de ROS sans rupture de brin d'ADN détectable. Ces données soutiennent l'idée selon laquelle les radiofréquences-EMR à faible énergie sont insuffisantes pour induire directement des ruptures de brins d'ADN, mais pourraient néanmoins produire une génotoxicité par le biais de dommages oxydants de bases de l'ADN (8-oxoG) dans les cellules germinales mâles.

- *Liu, K., et al. (2014) "The protective effect of autophagy on mouse spermatocyte derived cells exposure to 1800MHz radiofrequency electromagnetic radiation"*

[Système reproducteur]

Liu *et al.* (2014) étudient l'autophagie dans des spermocytes de souris exposés aux radiofréquences. Le système d'exposition est un dispositif commercialisé basé sur l'utilisation

de guide d'onde rectangulaire. Il permet d'exposer six boîtes de Petri dans chaque guide d'onde, à un signal GSM à la fréquence de 1800 MHz. L'exposition est discontinue, avec des durées de 5 min et 10 min de présence et d'absence de radiofréquences, respectivement. L'exposition est effectuée durant 24 h. Un contrôle complet des paramètres d'exposition est présent, permettant également des expérimentations en aveugle. L'exposition aux radiofréquences induit la formation d'autophagosome, l'induction de ROS et la phosphorylation d'ERK. Il n'y a pas d'augmentation de l'apoptose.

Un point fort de ce travail est le système d'exposition qui a été développé et parfaitement caractérisé pour effectuer des expositions *in vitro*, avec des intensités de DAS de 1, 2 et 4 W/kg au niveau des limites d'exposition locale chez l'humain. Les auteurs montrent ainsi que l'autophagie cellulaire pourrait être une réponse à l'exposition aux radiofréquences pour protéger le tissu, sous l'influence de ROS.

- *Liu, Y. X., et al. (2015) Exposure to 3G mobile phone signals does not affect the biological features of brain tumor cells*

[Cerveau]

Dans une étude de 2015, Liu *et al.* s'intéressent à la réponse de cellules de glioblastomes humains aux radiofréquences. Des cellules sont exposées à 1950 MHz dans un dispositif SPEAG assurant un DAS de 5 W/kg sur 10g pendant 12, 24 et 48h en continu. Les auteurs suivent plusieurs paramètres liés à la réponse cellulaire et l'invasion tissulaire : la morphologie et l'ultrastructure cellulaire, l'apoptose, la viabilité cellulaire, le cycle cellulaire, la prolifération par "wound healing assay" et test d'invasion, l'expression de gènes d'apoptose et de prolifération, et l'expression de la protéine Id-1 impliquée dans la croissance tumorale et l'angiogenèse. De plus, les auteurs étudient l'effet des radiofréquences sur la tumorigénicité des cellules chez la souris *nude*. Aucun de ces paramètres n'est statistiquement différent entre les contrôles et les exposés. Les radiofréquences n'ont un effet que sur l'induction de l'apoptose par la Staurosporine),

Cette étude est plutôt bien conçue puisque l'exposition est représentative d'un niveau d'exposition élevé (supérieur aux normes) des signaux de forme d'onde de la téléphonie mobile. La dosimétrie est de qualité, justifiée par simulation numérique. Sur le plan de la biologie, on observe néanmoins un certain flou sur le nombre de répliquats et un nombre limité de gènes et de protéines étudiés dans des réponses aussi complexes que l'apoptose ou le développement tumoral.

- *Liu, YQ, et al. (2015) Pathological changes in the sinoatrial node tissues of rats caused by pulsed microwave exposure.*

[système cardio-vasculaire]

Dans l'étude de Liu *et al.* (2015), les nœuds sinusaux, des rats Wistar ont été exposés avec une antenne cornet dans une chambre type cage de Faraday pour une durée de 6 min. Le signal est pulsé avec des impulsions de 500 ns de durée et un taux de répétition de 500 pulses par seconde. La densité de puissance moyenne est de 5, 10 et 50 mW/cm<sup>2</sup>. Ces puissances ont été mesurées ainsi que les températures dans les échantillons avant et après exposition à l'aide d'une sonde fluoro-optique. Dans les groupes de 10 et 50 mW/cm<sup>2</sup>, des cellules du nœud sino-auriculaire désorganisées, un gonflement cellulaire, une condensation cytoplasmique, une rétractation (pynose) nucléaire et une plaque métaphasique (anachromase), des mitochondries gonflées et vides, et des myofibrilles désorganisées ont pu être détectées après 1 à 28 jours d'exposition, tandis que sont observés des cellules parenchymateuses réduites, une augmentation des fibres de collagène et un remodelage de la matrice extracellulaire des

cellules interstitielles pour des délais de 6 à 12 mois après exposition de 6 minutes (champ pulsé de 2,856 GHz).

L'exposition utilisée est à de signaux pulsés, type Radar, avec des niveaux et des rapports cycliques représentatifs de signaux pulsés. La qualité semble suffisante même si la description des conditions d'exposition dans la cage de Faraday reste incomplète. Les résultats biologiques sont intéressants pour des effets à long terme d'expositions courtes à des ondes pulsées, cependant les conditions d'exposition sont éloignées des conditions habituelles d'utilisation de radiofréquences.

- *López-Furelos, A., et al. (2018) "Exposure to radiation from single or combined radio frequencies provokes macrophage dysfunction in the RAW 264.7 cell line"*

[Système immunitaire]

López-Furelos *et al.* (2018) ont réalisé une étude pour déterminer si une exposition à des radiofréquences 900 MHz, 2450 MHz ou 900 et 2450 MHz simultanément peut altérer le fonctionnement (activité phagocytaire et réponse inflammatoire) d'une lignée de macrophages humains. Le système d'exposition était basé sur une cellule GTEM qui permettait d'exposer deux types d'échantillons, à savoir des flasques 25 cm<sup>2</sup> et des plaques 24 puits. Le système comprenait deux générateurs délivrant un signal continu à 900 MHz, à 2450 MHz ou aux deux fréquences simultanément. L'exposition était contrôlée par la mesure des puissances incidentes et réfléchies. La dosimétrie s'appuyait d'une part sur la mesure des champs électriques dans la zone d'exposition et d'autre part par la simulation numérique du DAS. Les valeurs obtenues étaient comprises entre 0,1 et 0,4 W/kg, pour des durées d'exposition de 4 h, 24 h, 48 h et 72 h. Deux groupes ont été étudiés : groupe exposé et groupe témoin (lignée non exposée aux radiofréquences). Aucun témoin positif, qui permettrait d'induire un stress oxydatif, une réponse inflammatoire et l'activité de phagocytose, n'a été utilisé. La viabilité et la croissance de la lignée ont été mesurées en cytométrie de flux après incubation avec de l'iodure de propidium. L'expression de la HSP70 et du TNF alpha a été mesurée par QRT-PCR. La synthèse d'oxyde nitrique a été mesurée par une réaction colorimétrique. L'activité de phagocytose a été mesurée par la capacité à phagocyter des levures (coloration bleu trypan).

L'exposition aux radiofréquences n'altèrent ni la survie ni la prolifération des cellules RAW 264.7 jusqu'à 72 h après l'exposition, quelle que soit la fréquence d'exposition. Quarante-huit heures après exposition à 2450 MHz, la synthèse de NO augmente par rapport au témoin. Dans les cellules doublement exposées (900 et 2450 MHz) pendant 48 h, la synthèse de NO diminue par comparaison aux groupes exposés à 900 MHz ou à 2450 MHz. Après une double-exposition (900 et 2450 MHz) pendant 72 h, la synthèse de NO est augmentée par rapport à 48 h. En ce qui concerne l'expression de la HSP70, elle augmente après 48 h d'exposition dans le groupe doublement exposé par rapport aux valeurs observées après 4 et 24 h d'exposition. L'expression de la HSP70 augmente également dans les cellules exposées à 900 MHz pendant 48 h par rapport aux cellules exposées pendant 4 h. L'expression du TNF alpha augmente après 72 h d'exposition aux deux fréquences (900 et 2450 MHz) par rapport à 4 h d'exposition. Enfin, le test fonctionnel de mesure de l'activité de phagocytose des cellules RAW 264.7 montre que cette activité est globalement diminuée, quel que soit le temps d'exposition, dans le groupe exposé à 2450 MHz et celui doublement exposé à 900 et 2450 MHz par rapport au témoin. Dans le cas de l'exposition à 900 MHz, une diminution de l'activité est observée après 4 h et 72 h d'exposition. Dans le groupe doublement exposé, l'activité diminue progressivement alors que le temps d'exposition augmente. Dans les groupes exposés à une seule fréquence, la diminution de l'activité n'est observée qu'après 72 h exposition. En conclusion, une exposition à différentes fréquences de radiofréquences,

seule ou combinée, entraîne une diminution de l'activité phagocytaire et une augmentation de la réponse inflammatoire.

Les limites méthodologiques rencontrées dans cette étude sont mineures au regard des critères définis pour cette expertise. Du point de vue de l'exposition, la principale limite méthodologique provient de l'absence de dosimétrie expérimentale, en matière de mesure de DAS ou de température dans l'échantillon. Cependant, si l'on s'en tient au niveau de DAS déterminé numériquement, les échauffements ne devraient pas être significatifs. Une dernière incertitude subsiste vis-à-vis de la distribution spatiale du DAS, qui n'est ni illustrée graphiquement, ni numériquement à l'aide d'un écart type par exemple. Du point de vue de la biologie, les conditions d'entretien de la lignée – en particulier le nombre de cellules par passage –, le nombre de cellulesensemencées pour chacun des tests et le nombre de cellules exposées en fonction des tests ne sont pas ou mal décrits. Les données de survie et de prolifération sont manquantes. La légende de la figure 2 est fautive. Pour les expériences de RT-PCR, la qualité des ARN n'est jamais contrôlée. La quantification de l'expression des gènes n'est faite que par rapport à l'expression d'un seul gène de ménage (bêta actine), ce qui est insuffisant. On ne sait pas comment sont quantifiées les données de RT PCR (CT, gamme étalon...). Aucun témoin positif n'est fait pour s'assurer de la sensibilité des tests.

- *Marjanovic Cermak, A. M., et al. (2018) "Oxidative stress response in SH-SY5Y cells exposed to short-term 1800 MHz radiofrequency radiation"*

[Cerveau]

Marjanovic *et al.* (2018) utilisent des cellules de neuroblastome humaines SH-SY5Y comme modèle de neurone. Le système d'exposition est une cellule dite GTEM, pour GHz *Transverse ElectroMagnetic Cell*, qui simule une condition d'exposition en champ lointain. Le support est une flasque de 25 cm<sup>2</sup>. C'est un système d'exposition classiquement utilisé pour les études *in vitro*. La fréquence est de 1800 MHz. Il est fait allusion à une modulation, mais sans aucune précision sur cette dernière. L'intensité de champ électrique est de 30 V/m au niveau de l'échantillon exposé. La durée d'exposition varie entre 10, 30 et 60 minutes.

Les auteurs étudient l'induction du stress oxydant immédiatement après une exposition à un signal à 1800 MHz pendant 10, 30 et 60 min. Ils observent une augmentation du niveau de protéines carbonylées et de la peroxydation lipidique à 60 min mais pas aux temps plus courts. Les auteurs mesurent également les ROS par la sonde DFCH-DA. Leur protocole a des limitations et les résultats sont seulement semi-quantitatifs. Ils confirment cependant l'induction d'un stress oxydant à 10, 30 et 60 min.

Des limites sont à signaler en termes d'exposition. Le niveau d'exposition de 30 V/m est inférieur aux valeurs limites d'exposition du grand public et peut être représentatif d'une exposition à un niveau relativement élevé. Cependant la faiblesse de la dosimétrie et du contrôle de température limite sérieusement la qualification du système d'exposition. Par ailleurs, le DAS est estimé à partir d'un modèle mathématique à la valeur de 1,6 W/kg. La publication de référence permettant l'estimation du DAS pour une flasque de 25 cm<sup>2</sup> placée dans une cellule TEM, concerne la fréquence de 900 MHz. A ce stade, il manque des informations précises sur l'estimation numérique du DAS, ce qui rend encore plus critique l'absence de détermination expérimentale de DAS, et un contrôle de température lors de l'exposition aux radiofréquences. D'un point de vue biologique, les résultats de l'étude montrent qu'une exposition radiofréquences peut induire un stress oxydant dans les cellules de neuroblastome SY-SH5H. Les données sont complétées dans l'article par une mesure du glutathion total qui ne montre qu'une augmentation à 10 min et n'est pas un paramètre très approprié pour la question étudiée.



- *Megha, K., et al. (2015) "Low intensity microwave radiation induced oxidative stress, inflammatory response and DNA damage in rat brain"*

[Cerveau]

L'étude de Megha *et al.* 2015 étudie les effets de micro-ondes à 900, 1800 et 2450 MHz avec des DAS respectivement de 0,59, 0,58 et 0,66 mW/kg, pendant 60 jours de manière discontinue (2h/jour et 5 jours/semaines) sur le stress oxydatif, la réponse inflammatoire et les dommages à l'ADN dans l'hippocampe de rats mâles Fisher. Une augmentation significative des quantités de MDA dans l'hippocampe des animaux exposés est observée par rapport aux animaux témoin-exposition. La quantité de PCO, carbonylation de protéine, est plus élevée dans l'hippocampe des animaux exposés par rapport aux témoin-exposition. La comparaison intergroupe a montré que les quantités de MDA et de PCO sont significativement augmentées dans les groupes d'expositions 1800 et 2450 MHz par rapport au groupe exposé aux radiofréquences 900 MHz. Une tendance à l'augmentation du stress oxydant suit l'accroissement de la fréquence des ondes; les concentrations de MDA et de PCO atteignent un pourcentage maximal avec la fréquence la plus élevée (2450 MHz).

Une réduction significative des quantités d'antioxydants est décrite : glutathion (GSH) et superoxyde dismutase (SOD) dans les groupes exposés aux fréquences 900, 1800 et 2450 MHz, par rapport au groupe témoin.

De manière concomitante, une augmentation significative du taux de catalase (CAT) a été observée. La comparaison intergroupe des niveaux de GSH a montré une différence significative uniquement entre les groupes exposés aux fréquences 2450 MHz et 900 MHz. Les quantités de SOD ont diminué de manière significative dans tous les groupes exposés. Les niveaux de catalase ont augmenté de manière significative dans tous les groupes exposés aux radiofréquences. Les altérations des niveaux d'antioxydants les plus importantes sont observées pour une exposition à 2450 MHz.

L'exposition à ces radiofréquences entraîne une augmentation significative des quantités de cytokines pro-inflammatoires, à savoir IL-2, IL-6, TNF-alpha et IFN-gamma dans l'hippocampe des animaux exposés par rapport aux animaux témoin-exposition. La comparaison intergroupe a révélé que l'IL-2, l'IL-6 et le TNF-alpha sont significativement augmentés dans le groupe exposé aux ondes de 2450 MHz par rapport aux groupes exposés à celles de 900 et 1800 MHz.

Le niveau d'IFN gamma a été significativement augmenté dans le groupe exposé au rayonnement de 2450 MHz par rapport au groupe exposé celui de 900 MHz. L'augmentation maximale des niveaux de toutes les cytokines a été observée pour la fréquence de micro-onde la plus élevée, 2450 MHz. Une augmentation significative du pourcentage d'ADN dans la queue du test des comètes a été observée chez les animaux exposés par rapport aux témoin-exposition. Les dommages à l'ADN étaient significativement augmentés dans les groupes exposés à 1800 MHz et à 2450 MHz par rapport au groupe exposé à 900 MHz. La migration des fragments d'ADN est maximale dans le groupe exposé à 2450 MHz. Les résultats de cette étude indiquent qu'une exposition prolongée (60 jours) à un rayonnement micro-ondes de faible intensité entraîne une production accrue de ROS qui amène un stress oxydant, une réponse inflammatoire et des dommages à l'ADN dans l'hippocampe des rats exposés. L'augmentation de la fréquence des rayonnements augmente la sévérité de l'effet observé.

Le système d'exposition utilisé, cellule GTEM avec absorbants, ainsi que le protocole sont adaptés à l'expérience et permet une bonne maîtrise des conditions ambiantes et d'exposition.

- *Mizuno, K., et al. (2015) In vitro evaluation of genotoxic effects under magnetic resonant coupling wireless power transfer*

[Poumons]

Le but de Mizuno *et al.* (2015) est d'analyser les effets génotoxiques d'une exposition de 48, 96 ou 144h aux ondes électromagnétiques, réalisée à l'aide d'un système d'exposition basé sur une bobine hélicoïdale conçu pour transférer la puissance avec une efficacité de 85,4 % à une fréquence de résonance de 12,5 MHz, sur des fibroblastes humaines 2RA sous-clonées WI38VA13 (lignée transformée par SV40). Le système est constitué de deux bobines résonnantes adaptée à la fréquence de 10MHz, placé dans un incubateur. Un espace existe entre les deux bobines dans lequel sont positionnées 4 boîtes de Petri. Le niveau d'exposition exprimé à travers le champ magnétique est de 170 A/m, de l'ordre de 20 W/kg pour le DAS.

Le champ magnétique appliqué est environ le double du niveau de référence pour l'exposition professionnelle (Icnirp). La génotoxicité est étudiée par analyse de la croissance cellulaire, la distribution du cycle cellulaire, les ruptures de brins d'ADN par le test des comètes, la formation de micronoyaux et la mutation du gène de l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase (HPRT).

Globalement aucun effet n'a été observé dans les cellules exposées au WPT par rapport aux cellules témoins. On peut cependant regretter que seule une lignée cellulaire ait été étudiée.

Les conditions d'exposition sont semblables à celles d'un système de transfert de puissance sans contact, à l'aide d'un système raisonnant dans la gamme des fréquences intermédiaires. Dans ce type d'application, les puissances mises en jeu peuvent être relativement élevées pour permettre de recharger rapidement des batteries par exemple.

- *Moraitis, N., et al. (2015) "In-vitro assessment of Jurkat T-cells response to 1966 MHz electromagnetic fields in a GTEM cell"*

[Système immunitaire]

Pour leur étude in vitro sur les cellules Jurkat, Moraitis *et al.* (2005) placent les échantillons biologiques dans des tubes sont disposés dans une GTEM, alimentée à 1966 MHz à un niveau de 3 à 76 V/m pendant 10 à 120 minutes. Les expositions n'ont pas induit de dommages significatifs sur l'ADN, mais une augmentation est observée pour la plus grande amplitude d'exposition (76,4 V/m). Le signal UMTS à faible (3 V/m) et à haute amplitude (76,4 V/m) de champ électrique provoquent une fragmentation de l'ADN pour toutes les conditions étudiées. Même à faible amplitude de champ électrique (3 V/m), des dommages de l'ADN sont observés en utilisant la modulation UMTS par rapport à CW.

Cette étude présente une limite méthodologique mineure du point de vue de l'exposition physique car le DAS n'est pas indiqué. Par ailleurs, l'homogénéité du champ dans les contenants n'est pas clairement indiquée. Cette étude est néanmoins reproductible. L'exposition correspond à un environnement électromagnétique à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Des résultats biologiques intéressants sont cependant obtenus. La forme du signal d'exposition montre ainsi des différences sur la fragmentation de l'ADN. La discussion n'est pas très critique et n'explique pas notamment pourquoi 2 paramètres, le temps et l'amplitude d'exposition, sont modifiées en même temps dans les échantillons expérimentaux.

- *Mumtaz, S, et al. (2020) Pulsed high-power microwaves do not impair the functions of skin normal and cancer cells in vitro: A short-term biological evaluation.*

[Peau]

Mumtaz *et al.* (2020) ont étudié les effets des micro-ondes pulsées de forte puissance (HPM) sur les cellules de mélanome (G361 et SK-Mel-31) et de fibroblastes dermiques humains normaux (NHDF). Le système d'exposition est constitué d'un générateur de micro-onde de forte puissance, dont l'énergie est rayonnée par un guide d'onde. La tension crête délivrée par le générateur est de 260 kV. La cible est placée à 25 cm de la sortie du guide d'onde. Le générateur délivre des impulsions avec une fréquence centrale de 3.5 GHz et une durée de l'ordre de la nanoseconde, et l'énergie au niveau de la cible est de 0,6 J par impulsion. Suivant les cas, il y a 1, 5, 15 ou 45 impulsions, une fois toutes les minutes. Une mesure de la température est effectuée à l'aide d'une caméra thermique. Pour le traitement, 1, 5, 15 et 45 coups sont donnés aux cellules dans lesquelles l'énergie électromagnétique de 0,6 J a été délivrée aux cellules à chaque tir de déclenchement. La viabilité cellulaire, le taux de prolifération, l'apoptose, la mort cellulaire, l'activité métabolique et la régulation des radicaux libres d'oxygène ont été évalués après l'exposition aux microondes à faible et à forte doses. L'exposition aux microondes a augmenté la viabilité et le taux de prolifération des deux lignées cellulaires de mélanome de manière dose-dépendante, alors qu'aucun effet significatif sur les cellules de fibroblastes n'a été observé. Les auteurs ont trouvé un niveau élevé d'ATP et d'activité mitochondriale dans les cellules de mélanome. De plus, il a été observé que l'exposition aux microondes n'a pas affecté la mort cellulaire dans les cellules de mélanome et de fibroblastes. Une analyse de réaction en chaîne par polymérase a indiqué que les microondes induisaient des marqueurs de prolifération dose-dépendants sans affecter le cycle cellulaire et les gènes apoptotiques dans les cellules de mélanome. L'activité mitochondriale et le niveau d'ATP sont directement corrélés à la croissance et à la mort cellulaire. Un niveau élevé d'ATP entraîne une augmentation de la viabilité et de la prolifération cellulaire, souvent utilisée pour son évaluation. Ces résultats ont également montré des niveaux élevés d'ATP cellulaire et mitochondrial libéré en réponse à l'exposition aux microondes des cellules de mélanome, en accord avec l'augmentation de la viabilité et de la prolifération. Notamment, aucun changement significatif du niveau d'ATP dans les cellules normales de fibroblastes n'a été observé. Ceci indique une plus grande sensibilisation des cellules de mélanome aux microondes que celle des cellules de fibroblastes normalisées.

L'exposition s'apparente à une configuration type radar ou armes microondes, qui peuvent être rencontrées dans un contexte de guerre électronique. Le système d'exposition est pertinent, même s'il manque quelques grandeurs telles que l'intensité du champ électrique ou l'absorption spécifique, qui peuvent rendre délicate la comparaison avec d'autres expérimentations sur de tels signaux. L'ensemble des données biologiques obtenues suggère que l'exposition aux micro-ondes peut avoir un effet positif sur la prolifération des cellules de mélanome et donc sur les cellules cancéreuses. Cette étude est donc importante à prendre en compte dans notre évaluation car elle se réfère directement à des cellules cancéreuses. Cependant, les résultats obtenus sont des résultats *in vitro* et doivent être appliqués *in vivo*...

- *Narayanan, SN et al. (2018) Modulatory effect of 900 MHz radiation on biochemical and reproductive parameters in rats.*

[Sang et plasma][Système reproducteur]

Narayanan *et al.* (2018) ont recherché si une exposition à un rayonnement de 900 MHz pouvait avoir des effets sur les paramètres biochimiques et reproducteurs chez le rat adolescent. Six rats mâles albinos Wistar âgés de 8 à 10 semaines s'ont disposés dans des cages à proximité

d'un téléphone portable situé au milieu de cette cage, en communication 1h/j pendant 28 jours, à 900 MHz. La densité de puissance, mesurée à 3 cm de ce téléphone, est de 146,6  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ .

Les résultats ont été comparés à ceux obtenus dans deux groupes de rats contrôles : témoins « cage » (n=6) et témoins exposition (n=6). Le 29<sup>e</sup> jour, tous les animaux sont été euthanasiés et les taux de malondialdéhyde (MDA), et d'antioxydants totaux (TA) ainsi que l'activité de la glutathion-S transférase (GST) ont été analysés dans le sang. Les paramètres de reproduction tels que le nombre total de spermatozoïdes, le pourcentage de spermatozoïdes immobiles et la morphologie des spermatozoïdes ont été examinés ainsi que l'activité de la caspase-3 dans les testicules. Les résultats montrent que par rapport aux témoins, les taux sériques de MDA sont élevés dans le groupe radiofréquences-EMR par rapport aux deux témoins ( $p < 0,001$ ). Les antioxydants totaux (TA) et l'activité sérique de la glutathion-S transférase ne sont pas modifiés après l'exposition. Le poids de l'épididyme dans le groupe radiofréquences-EMR est comparable à celui des témoins. Le nombre total de spermatozoïdes de l'épididyme et la mobilité des spermatozoïdes n'est pas statistiquement différent dans le groupe des rats exposés versus les témoins. Par contre, le pourcentage de spermatozoïdes anormaux est significativement plus élevé dans le groupe exposé aux radiofréquences-EMR par rapport aux témoins. Les sections de testicules du groupe exposé ont montré des changements histopathologiques tels que la perte de cellules germinales, en particulier de spermatocytes et de spermatides, associée à l'absence de spermatozoïdes, une exfoliation des spermatogonies et des lésions des cellules de Sertoli sont aussi observées ainsi qu'une nécrose des tubes séminifères. Pas de changement significatif dans l'activité de la caspase-3 dans les testicules. En conclusion L'exposition chronique à 900 MHz a induit des dommages oxydatifs dans le sang et conduit à des altérations des paramètres de reproduction chez le rat. Le nombre de rats par groupe est un peu juste (n=6).

L'exposition de cette étude correspond à l'exposition à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. La dosimétrie est très sommaire car l'environnement électromagnétique, la distance animal-antenne et le rayonnement de l'antenne ne sont pas détaillés.

- *Odaci, E, et al. (2016) "Effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on 60-day-old rat testis and epididymal sperm quality."*

[Sang et plasma][Système reproducteur]

Odaci *et al.* (2016) étudient les effets de l'exposition in utero à un champ électromagnétique (EMF) de 900 mégahertz (MHz) sur des testicules et des épидидymes de rats âgés de 60 jours. Les rates enceintes ont été divisés en groupes de contrôle (CG) et EMF. Des groupes de 5 rates sont disposés dans une cage en plexiglas, exposés par une antenne dipole à 900 MHz, à un niveau de l'ordre de 10 V/m, durant une heure/jour du 13<sup>ième</sup> au 21<sup>ième</sup> jour de gestation. Au jour postnatal 60, un testicule et un épидидyme sont prélevés sur chaque animal. La qualité du sperme épидидymaire, les niveaux d'oxydation des lipides et de l'ADN, l'indice apoptotique et les dommages histopathologiques aux testicules sont analysés. Un indice apoptotique plus élevé, des niveaux d'oxydation de l'ADN plus élevés et une motilité et une vitalité des spermatozoïdes plus faibles sont observés dans les groupes exposés radiofréquences par rapport aux témoins. Des cellules germinales immatures dans la lumière des tubules séminifères et une altération de l'épithélium des tubules séminifères et de la structure des tubules séminifères sont également observées sur les coupes colorées à l'hématoxyline et à l'éosine de testicules des rats descendants des foetus irradiés. Des cellules apoptotiques sont observées dans la plupart de l'épithélium des tubes séminifères des rats descendants des femelles gestantes exposées.

La dosimétrie en champ électrique de cette étude est de qualité correcte et correspond à un



rayonnement de niveau modéré à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Le DAS est obtenu n'est pas justifié. Cette exposition est néanmoins reproductible. Les résultats des expériences montrent que l'exposition de rates gestantes aux champs électromagnétiques de 900 MHz pendant 1 h chaque jour entre les jours 13 et 21 de la grossesse induit des altérations visibles chez les rats mâles adultes de la descendance telles qu'une augmentation du nombre de cellules apoptotiques, une augmentation de l'oxydation de l'ADN plasmatique, une diminution de la motilité et de la vitalité des spermatozoïdes et des altérations de la structure des testicules. Ces altérations étant visibles à 60 jours après la naissance. Pas de témoin exposition

- *Odaci, E., et al. (2015a) "Pathological effects of prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field on the 21-day-old male rat kidney"*

[Reins]

Odaci *et al.* (2014) étudient les effets sur les reins, chez des rats exposés in utero et évalués 21 jours après la naissance. Le système d'exposition est composé pour la génération de signal d'une source et d'un oscillateur délivrant un signal à 900 MHz, raccordé ensuite à une antenne dipôle. Cette dernière est placée au centre d'une boîte en plexiglas qui contient les animaux à une distance fixée. Le champ électrique appliqué mesuré est de 13,64 V/m et moyenné, soit une densité de puissance de 0,49 W/m<sup>2</sup>, avec un DAS calculé de 0,024 W/kg. Les auteurs observent des dégradations du tissu par anatomopathologie et par microscopie électronique. Ils observent également des signes de stress oxydant : l'induction forte de MDA et des baisses des activités SOD et catalase vont dans le sens d'un stress oxydant à 21 jours. Seul le taux de glutathion reste inchangé.

L'exposition correspond à un rayonnement de téléphonie mobile de niveau modéré. La dosimétrie de cette étude est de bonne qualité, avec un contrôle du niveau d'exposition avec et sans la présence des rats. L'étude souffre d'un trop faible nombre d'animaux par groupe et d'un design un peu simple. Le travail confirme cependant des données sur l'impact des radiofréquences sur les reins et sur l'induction d'un stress oxydant dans cet organe. L'absence d'étude à un temps intermédiaire entre exposition in utero et analyse à 21 jours après la naissance empêche de proposer un schéma mécanistique fiable. Pour la thématique cancer, cet article reste intéressant par la population étudiée et les données biochimiques dans les reins.

- *Ohtani, S., et al. (2016) "Exposure time-dependent thermal effects of radiofrequency electromagnetic field exposure on the whole body of rats"*

[Cerveau]

L'étude de ohtani *et al.*, 2016 s'est intéressée aux effets thermiques de radiofréquences (2,14 GHz) sur la variation de la température centrale et l'expression des gènes marqueurs de stress chez le rat. L'exposition des animaux a été faite en chambre réverbérante. Des rats Sprague-Dawley ont été exposés à des signaux radiofréquences à accès multiple par division de code à large bande de 2,14 GHz (W-CDMA) à un DAS du corps entier de 0,4 W/kg et 4 W/kg, pendant 1 jour (6h/jour) ou 3 jours (3 ou 6h/jour). La température corporelle a été suivie. L'expression de gènes a été mesurée dans le cortex cérébral et le cervelet pour différents gènes (cytokines inflammatoires, *heat-shock proteins*, Hsp et *heat-shock transcription factors Hsf*). Les auteurs ont suivi la température corporelle interne pendant l'exposition aux radiofréquences. Pour un DAS de 0,4W/kg, il n'y a pas de variation de la température corporelle des rats. En revanche, avec un DAS de 4W/kg, la température centrale augmente d'environ 1,5 ° C et atteint un plateau jusqu'à la fin de l'exposition. Pour une

exposition à un DAS de 4 W/kg, l'expression de certains gènes *Hsp* et *Hsf* est augmentée dans le cortex cérébral après une exposition de 6 heures/jour pendant 1 jour, mais pas après une exposition de 3 ou 6 heures/jour pendant 3 jours. Dans le cervelet, les effets sont surtout marqués après une exposition à 4W/kg, de 6h/j pendant 3 jours. En revanche, pour un DAS de 0,4 W/kg, il n'y a pas de changement significatif de l'expression génique. Les niveaux d'expression des cytokines inflammatoires ne sont pas modifiés, quelles que soient les conditions d'exposition. Ainsi, une exposition aux radiofréquences de 2,14 GHz à un DAS de 4 W/kg entraîne une augmentation de la température centrale et de l'expression de certains marqueurs de stress, en particulier dans le cervelet après une exposition de 6h/j pendant 3j. A noter que les auteurs soulignent que le premier jour d'exposition, les rats sont restés prostrés dans la cage et n'ont repris une mobilité que 30 mn après l'arrêt de l'exposition. Au jour 3 d'exposition, leur activité locomotrice a été comme celle des témoin-exposition. Cette étude indique un effet de l'exposition corps entier aux radiofréquences sur la température centrale ainsi que des effets sur l'expression de certains marqueurs de stress. Enfin, les auteurs concluent que de faibles niveaux d'exposition comme 0,4W/kg, dans la limite des expositions du public, sont sans effet. Le nombre de rats par groupe est faible (n=4)

- *Ouadah, N. S., et al. (2018) "Possible effects of radiofrequency electromagnetic fields on in vivo C6 brain tumors in Wistar rats"*

[Cerveau][Système immunitaire]

Ouadah *et al* (2018) ont cherché à savoir si chez le rat, une exposition intensive à des radiofréquences issus de la téléphonie mobile peut influencer l'agressivité de tumeurs cérébrales de type glioblastome. Ils ont suivi : la survie des animaux, la modification du volume tumoral, le degré de vascularisation, d'apoptose, de prolifération, d'infiltration immunitaire, de mitoses et de nécrose dans les zones tumorales. Les tumeurs ont été générées par l'injection dans le striatum de cellules de glioblastome murin C6 et greffées en orthotopique dans le striatum de rats Wistar mâles de 35 jours. Un générateur alimentant 4 antennes boucles à 900 MHz, soit une fréquence représentative d'une émission GSM a été utilisé et les antennes étaient disposées à proximité de la tête de 4 rats, 45 minutes par jour, 5 jours par semaine. La dosimétrie numérique indique que des puissances d'entrée de 0,17 et 0,33 W donnent des DAS de 0,25 ou 0,5 W / kg, respectivement.-Les animaux ont été répartis en 4 groupes : témoin--cage (sans contention), témoin-exposition (avec contention), rats exposés à un DAS de 0,25 W/kg ou de 0,5 W/kg (avec contention). Les expositions se sont terminées au décès ou 65 jours post-chirurgie.

Au sacrifice, les cerveaux sont prélevés et colorés H&E pour estimer l'infiltrat immunitaire (lymphocytes et macrophages), la nécrose et l'index mitotique. Une immunohistochimie à la peroxydase est réalisée pour évaluer le niveau d'apoptose (caspase-3 clivée), de prolifération (Ki-67) et de vascularisation (CD31) dans les tumeurs intra-cérébrales. Les observations indiquent que la contention des rats pendant les expositions n'a pas d'effet significatif sur l'ensemble des paramètres ni sur la survie. Les volumes tumoraux ne sont pas corrélés au DAS et les cellules tumorales se disséminent dans 7 structures cérébrales mais la localisation n'est pas différente entre les groupes. L'invasion du micro-environnement tumoral par des cellules immunitaires (lymphocytes et macrophages) est diminuée pour les 2 valeurs de DAS. Par contre, les expositions sont sans effet sur la nécrose ou la vascularisation. L'expression de la caspase -3 clivée est diminuée pour le DAS de 0,5W/kg uniquement alors que le nombre de cellules exprimant le Ki67 n'est pas différent entre les groupes. Les auteurs concluent que l'exposition de la tête de rats ayant développé des tumeurs cérébrales de cellules C6, à des DAS (0,25 et 0,5W/kg) entraîne une diminution de l'infiltrat immunitaire et de l'activité apoptotique. Cependant, il est possible que les associations d'effets aient été trop faibles pour

générer un effet sur la survie des animaux.

L'exposition physique et sa dosimétrie sont de bonne qualité. Par contre, quelques limites mineures pour la biologie : la méthode d'évaluation de la nécrose et de l'infiltrat immunitaire sur coupes colorées H&E est sommaire. On ne sait pas quels sont les points limites pris en compte pour sacrifier les animaux. Les auteurs utilisent une lignée cellulaire plutôt homogène alors que les tumeurs cérébrales humaines sont hétérogènes.

- *Ozgur, E, et al. (2015) "The Effects of N-acetyl-L-cysteine and Epigallocatechin-3-gallate on Liver Tissue Protein Oxidation and Antioxidant Enzyme Levels After the Exposure to Radio Frequency Radiation."*

[Foie]

L'étude de Ozgur *et al.*, 2015 a évalué les effets de radiofréquences sur le tissu hépatique de cobayes et les effets protecteurs des traitements antioxydants (N-acetylcystéine NAC ; epigallocatechin-3-gallate, EGCG). Un cornet est placé au-dessus de cages (8x10x18 cm) contenant les animaux exposés. La distance est de 35 cm permettant une exposition en champ lointain. L'intensité du champ électrique est de 24 V/m, obtenue par mesure. La puissance délivrée par la source est de 0,1 W, avec un signal de type GSM à la fréquence de 900 MHz. Les animaux sont exposés de 10 ou 20 minutes par jour pendant 7 jours consécutifs. Les paramètres étudiés étaient l'oxydation des protéines (PCO), les produits protéiques d'oxydation avancée (AOPP) et les activités enzymatiques antioxydantes de la superoxyde dismutase (SOD). 81 cobayes mâles de 2 à 3 mois (250-300g) ont été répartis en 9 groupes. Les injections se font 30 min avant l'exposition de 10 ou 20 min tous les jours pendant 7 jours.

Des diminutions significatives des activités de la SOD ont été observées dans le foie des cobayes après exposition aux radiofréquences. Pas d'altération des protéines après exposition.

Les résultats de l'étude étaient la diminution des niveaux d'antioxydants après exposition de 10 minutes, 20 minutes et 10 minutes + NAC) et par rapport au groupe témoin-exposition/solution saline. En outre, les niveaux de SOD hépatiques sont significativement diminués dans le groupe exposé 10 minutes +NAC) par rapport au groupe témoin- exposition + NAC) et exposé 10 minutes. Cependant, les niveaux de SOD ont augmenté de manière significative dans le groupe radiofréquences 20 minutes +NAC par rapport au groupe exposé 10 minutes + NAC.

Les niveaux d'AOPP dans les tissus hépatiques ont augmenté de manière significative dans les groupes témoin-exposition + EGCG et exposé 10 minutes + NAC par rapport au groupe témoin-exposition /solution saline. Ils ont diminué de manière significative dans les groupes exposé 10 minutes + EGCG et exposé 20 minutes + EGCG par rapport au groupe témoin-exposition + EGCG et dans le groupe exposé 10 minutes + NAC par rapport au groupe témoin-exposition + NAC. Des niveaux réduits d'AOPP ont été trouvés dans le groupe exposé 20 min, + NAC par rapport au groupe exposé 10 min + NAC.

Le système d'exposition permet une exposition en champ lointain à des signaux GSM, avec une intensité relativement élevée. Dans ces conditions, un effet d'oxydation des protéines et une diminution de l'activité SOD sont observés chez les animaux exposés. L'oxydation des protéines est modifiée en fonction des protocoles de traitement protecteur.

- *Ozgur, E., et al. (2014) "Mobile Phone Radiation Alters Proliferation of Hepatocarcinoma Cells"*

[Foie]

L'étude de Ozgur *et al.*, 2014 a examiné les effets d'une exposition de cellules

d'hépatocarcinome (Hep G2) dans des conditions de champ lointain par une antenne cornet et un générateur, à 900 et 1800 MHz. Le niveau est 40 V/m à 900 MHz, et 55 V/m à 1800 MHz, soit un DAS annoncé de 2 W/kg pour les 2 fréquences, sur une durée de 1, 2, 3 ou 4 h, par intermittence de 15 minutes. L'exposition est comparable à un rayonnement de type téléphonie mobile aux limites de la norme publique. La prolifération/viabilité a été mesurée par un dosage colorimétrique MTT. Les lésions cellulaires ont été évaluées en mesurant les taux de lactate déshydrogénase (LDH) et de glucose libérés dans le milieu de culture par les cellules lysées. L'apoptose a été évaluée par microscopie à fluorescence des noyaux colorés au DAPI et par le test TUNEL.

La prolifération/viabilité augmente après 1h d'exposition à 1800 MHz mais diminue après 4h d'exposition à 900 et 1800 MHz. Les concentrations de LDH et de glucose augmentent significativement après 4h d'exposition à 900 et 1800MHz. Le marquage au Dapi et la méthode Tunel indiquent une apoptose des cellules avec une condensation nucléaire/de la chromatine. Les auteurs concluent que des expositions à 900 et 1 800 MHz (2 W/kg) diminuent la prolifération, augmente le taux de mort cellulaire des cellules Hep G2 après 4 h d'exposition.

Concernant l'exposition, elle est correctement décrite et la dosimétrie est justifiée. Sur le plan de la biologie, le protocole n'est pas clair. Les cellules ne semblent pas être cultivées dans les mêmes types de support en fonction de l'analyse à faire. Les auteurs écrivent qu'il n'y a pas d'effet significatif sur la viabilité (prolifération) à 2 ou 3h pour les 2 fréquences. Pourtant, le p est <0,05 dans un tableau. La condensation nucléaire n'est pas évidente sur les images. Il n'y a pas d'image pour le TUNEL. Les auteurs disent qu'il y a condensation de la chromatine, mais aucune image. Sur la figure 2, il y a 4 histogrammes/temps d'exposition mais on ne sait pas à quoi correspondent ces 4 histogrammes (on imagine qu'il s'agit des différents témoins.

- *Özorak, A., et al. (2013) "Wi-Fi (2.45 GHz)- and mobile phone (900 and 1800 MHz)-Induced risks on oxidative stress and elements in kidney and testis of rats during pregnancy and the development of offspring"*

[Reins][Système reproducteur][Développement]

L'étude d'Özorak *et al.*, 2013 a été conçue pour déterminer les effets du Wi-Fi (2,45 GHz) et du téléphone mobile (900 et 1800 MHz) sur le stress oxydatif et les niveaux d'oligo-éléments dans les reins et les testicules de rats depuis la gestation jusqu'à l'âge de 6 semaines. L'exposition est réalisée avec un dispositif type carrousel avec une antenne placée dans l'axe de symétrie. 32 rattees et leurs 96 mâles nouveau-nés sont maintenus dans des cylindres avec la tête à quelques cm de la source. Trois fréquences sont appliquées, à savoir 900, 1800 et 2450 MHz. Des mesures de champ électrique donnent 11 V/m. Une dosimétrie numérique est réalisée par simulation et on obtient un niveau d'exposition de 0,18 W/kg pour le corps entier. L'exposition est de 60 min par jour, 5 jours/ semaine, jusqu'à l'âge de 6 semaines. Des échantillons de reins et de testicules sont prélevés à la 4<sup>e</sup>, 5<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> semaines. Les rats contrôles sont placés dans le système d'exposition sans exposition (témoin-exposition). A la 4<sup>e</sup> semaine, la peroxydation lipidique et les concentrations de cuivre, de zinc, de glutathion réduit (GSH), de glutathion peroxydase (GSH-Px) et le statut antioxydant total (TAS) sont diminués dans le rein des groupes exposés, tandis que la concentration de fer dans les reins et de vitamine A et E dans les testicules sont augmentées par les radiofréquences. A la 5<sup>e</sup> semaine, les concentrations de fer, vitamine A et  $\beta$ -carotène augmentent dans les reins dans les groupes exposés, tandis que les niveaux de GSH et de TAS diminuent. A la 6<sup>e</sup> semaine, la concentration de fer dans les reins, et la peroxydation lipidique dans les reins et les testicules augmente dans les groupes exposés, tandis que les concentrations de cuivre, de TAS et de GSH diminuent. Les concentrations rénales de chrome, de magnésium et de manganèse sont identiques dans les quatre groupes. Les radiofréquences induites par le Wi-Fi et le téléphone



portable causent des dommages oxydants en augmentant la peroxydation lipidique et a concentration de fer, tout en diminuant le statut antioxydant total, ainsi que le cuivre et la GSH.

Il faut noter que l'exposition privilégie la tête de l'animal et s'approche d'une exposition à un téléphone portable. Le manque d'information sur le contrôle de la puissance sur le banc expérimental, et sur la description de la dosimétrie numérique (dimension des antennes, distances, modèle d'animaux, ...) limite la portée de l'analyse vis-à-vis des niveaux d'exposition en particulier. Malgré ces limites mineures, l'étude montre que l'exposition à un signal Wi-Fi (2,45 GHz) et aux appareils de téléphonie mobile (900 et 1800 MHz) contribuent au stress oxydant observé dans les reins et les testicules.

- *Özsobaci, NP, et al. (2020) "Protective Effects of Zinc on 2.45 GHz Electromagnetic Radiation-Induced Oxidative Stress and Apoptosis in HEK293 Cells."*

[Reins]

Le but de l'étude de Özsobaci *et al.*, 2020 est d'examiner les paramètres oxydatifs et l'apoptose induits par les radiofréquences dans les cellules embryonnaires de rein humain (HEK293) et d'examiner si le zinc (Zn) a un effet protecteur sur l'apoptose induite par les radiofréquences. Le dispositif est basé sur le rayonnement d'une antenne dipôle positionnée à une hauteur de 18 cm par rapport à une surface sur laquelle sont placées 6 flasques. Le tout est inséré dans une chambre anéchoïque. La source génère un signal à la fréquence de 2,45 GHz et l'intensité du champ électrique est de 2 V/m. Il existe un contrôle du signal généré à l'aide d'un analyseur de spectre. Les expositions durent 1 h. Pour cette étude, les cellules HEK293 ont été divisées en quatre groupes, témoin-exposition, exposées radiofréquences, 50 µM Zn + radiofréquences, et 100 µM Zn + radiofréquences. Les cellules HEK293 des groupes radiofréquences sont exposées à 2,45 GHz pendant 1 h. Dans les 2 groupes Zn, les cellules HEK293 sont incubées avec différentes concentrations de Zn pendant 48 h avant l'exposition. Les paramètres du stress oxydatif sont déterminés par spectrophotométrie, Bcl-2 et la caspase-3 par immunohistochimie et l'apoptose par la méthode TUNEL. Le groupe exposé radiofréquences présente un niveau de malondialdéhyde (MDA) plus élevé et une activité superoxyde dismutase (SOD) plus faible que le groupe témoin-exposition. Dans les groupes Zn, le MDA diminue et l'activité SOD augmente par rapport au groupe exposé radiofréquences. Le nombre de cellules apoptotiques et de cellules immunopositives à la caspase-3 dans le groupe exposé radiofréquences augmente par rapport au groupe témoin-exposition, tandis que l'expression de Bcl-2 diminue. En outre, les groupes traités au Zn ont une réduction du nombre de cellules apoptotiques et exprimant la caspase-3 par rapport au groupe exposé radiofréquences, alors qu'il y avait une augmentation de l'expression de Bcl-2. Ces résultats montrent que les radiofréquences provoquent un stress oxydatif et une activation apoptotique dans les cellules HEK293. Le zinc semble avoir des effets protecteurs sur les EMR en augmentant l'activité SOD et l'immunopositivité Bcl-2, en diminuant la peroxydation lipidique et l'immunopositivité caspase-3.

La dosimétrie est très sommaire en l'absence de valeurs de DAS expérimentales ou numériques et de mesure de température. Il manque un groupe contrôle sur les effets du Zn seul. Ces résultats montrent que les radiofréquences d'une fréquence de 2,45 GHz induisent l'apoptose des cellules HEK293 qui sont des cellules normales embryonnaires de rein, on est donc très loin d'un mécanisme d'induction de cancérogenèse.

- *Panagopoulos, DJ (2020) Comparing chromosome damage induced by mobile telephony radiation and a high caffeine dose: Effect of combination and exposure duration*

[Sang et plasma]

Panagoulou (2020) compare l'induction de dommages chromosomiques par des radiofréquences et la caféine pour proposer, dans une comparaison hasardeuse, une réévaluation des seuils d'exposition aux radiofréquences. Le système d'exposition comporte un téléphone portable en mode UMTS et utilisé en mode « appel », placé à 1 cm d'une flasque contenant la solution de sang à exposer. Il permet d'exposer des cellules à une densité de puissance moyennée de  $29 \pm 14 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  pendant une durée de 6 minutes. Des durées d'exposition de 5, 15 et 25 minutes sont réalisées suivant les échantillons exposés. La dosimétrie a été évaluée expérimentalement avec un analyseur de spectre à la suite d'un cornet pour mesurer le champ électrique et le champ magnétique. La densité de puissance moyennée dans la bande radiofréquences sur une durée de 6 minutes est de  $29 \pm 14 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ , sachant que la valeur seuil de l'Icnirp est de  $4\,000 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ . Cette mesure est réalisée indépendamment des expositions d'échantillons.

Les données sont obtenues à partir de sang de six volontaires cultivé et exposé in vitro. Par chaque donneur, un échantillon est un contrôle exposition, un est exposé aux radiofréquences 15 min, un est traité à 3.4 mM de caféine et un aux radiofréquences et à la caféine. Pour trois des six donneurs deux échantillons sont co-exposés à la caféine et aux radiofréquences pendant 5 ou 25 min. Les radiofréquences 15 min et la caféine double le taux de dommages chromosomiques alors que la coexposition le multiplie par 4. Cet effet des radiofréquences sur l'impact de la caféine est proportionnel à la durée d'exposition radiofréquences.

Même si des ambiguïtés subsistent dans l'évaluation de la dosimétrie, le système d'exposition est cohérent avec une densité de puissance inférieure à la valeur seuil de l'Icnirp. Les résultats biologiques sont intéressants mais souffrent d'une analyse statistique mal faite. Seuls les résultats pour chaque donneur sont comparés bien qu'il n'y ait pas de répliquât mais seulement une variation du comptage des dommages chromosomiques. Une analyse de la compilation des 6 donneurs peut cependant montrer la vraie significativité des tendances discutées par l'auteur. Dans la problématique du cancer, ce travail a l'intérêt de mettre en évidence l'induction de dommages chromosomiques par les radiofréquences. La discussion sur l'effet de la caféine n'apporte rien.

- *Pandey, N., et al. (2017) "Radiofrequency radiation (900 MHz)-induced DNA damage and cell cycle arrest in testicular germ cells in swiss albino mice"*

[Système reproducteur]

Pandey *et al.* (2017) étudient si une exposition de cellules germinales de souris albinos Swiss mâles à des radiofréquences (900 MHz) induisent des dommages à l'ADN et un arrêt du cycle cellulaire. Des groupes de 15 souris albinos Swiss ont été exposées aux radiofréquences (900 MHz à un niveau de  $2,7 \text{ W}/\text{m}^2$ ) pendant 4 h ou 8 h par jour pendant 35 jours. Un groupe d'animaux est sacrifié immédiatement après l'exposition la période d'exposition et un groupe est gardé 35 jours supplémentaires pour étudier la récupération. Ont été étudiés le potentiel de la membrane mitochondriale, les cassures de l'ADN dans les cellules germinales, la numération des spermatozoïdes et leurs anomalies, l'examen histopathologique des testicules la quantification des sous-types de cellules germinales en fonction de leur teneur en ADN.

L'exposition aux radiofréquences provoque une dépolarisation de la membrane mitochondriale. On note une augmentation statistiquement significative de cassures de l'ADN (test des comètes) dans les cellules germinales et des défauts morphologiques de la tête du sperme. L'estimation par cytométrie en flux des sous-types de cellules germinales dans les testicules de souris montre une augmentation de 2,5 fois des populations de spermatogonies et une diminution significative des spermatides. Une réduction de près de quatre fois des spermatogonies/spermatides (1C: 2C) et une réduction de trois fois des spermatocytes

primaires/spermatides (1C: 4C) sont observées indiquant un arrêt au stade préméiotique de la spermatogenèse, ce qui entraîne une perte de cellules germinales post-méiotiques ce qui est confirmé par l'analyse histologique des testicules (faible nombre de spermatozoïdes) chez les animaux exposés aux radiofréquences. Des altérations histologiques telles que la desquamation de cellules germinales immatures dans la lumière du tubule séminifère, l'épuisement de l'épithélium et l'arrêt de la maturation ont également été observées. Cependant, tous ces changements ont montré une récupération à des degrés variés après la période post-exposition, ce qui indique que les effets de l'exposition sur les cellules germinales de souris sont réversibles.

La dosimétrie en densité de puissance de cette étude est très sommaire ; elle correspond à un rayonnement de niveau modéré à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Le DAS est obtenu n'est pas justifié. Cette exposition est reproductible néanmoins. L'étude permet cependant de montrer une altération du potentiel de membrane chez les souris exposées. Ce phénomène pourrait être à l'origine des dommages à l'ADN observés dans les cellules germinales, ce qui bloquerait la progression des spermatogonies lors de la méiose, entraînant la perte de cellules germinales post-méiotiques et donc un faible nombre de spermatozoïdes, des déformations des spermatozoïdes et des anomalies histologiques des testicules. Cependant, après la période de récupération, on note que les altérations sont réversibles, le cycle spermatique progresse, le potentiel de membrane mitochondrial se normalise et les altérations morphologiques disparaissent. On note cependant dans ce travail l'absence de témoins exposition, seuls les témoins cages sont étudiés. Pas de témoin exposition

- *Pandey, N., et al. (2018) "Melatonin attenuates radiofrequency radiation (900 MHz)-induced oxidative stress, DNA damage and cell cycle arrest in germ cells of male Swiss albino mice"*

[Système reproducteur]

Pandey *et al.* (2018) étudient si la mélatonine atténue le stress oxydatif induit par les radiofréquences (900 MHz), les dommages à l'ADN et l'arrêt du cycle cellulaire dans les cellules germinales de souris albinos suisses mâles. Soixante souris Swiss albinos mâles sont divisées en quatre groupes de 15 souris : radiofréquences pendant 3 h 2 fois/jour pendant 35 jours, un groupe même exposition + mélatonine (MEL) (N-acétyl-5-méthoxytryptamine 5 mg/kg pc/jour, un groupe MEL et un groupe non exposé (CON). Pour les expositions des groupes de 15 rats sont disposés dans une cage métallique, exposés à 900 MHz à un niveau de 2,7 W/m<sup>2</sup>. L'anomalie de la tête des spermatozoïdes, la numération totale des spermatozoïdes, le dosage biochimique des peroxydes lipidiques, (LPO) la réduction du glutathion (GSH), l'activité de la superoxyde dismutase (SOD) et l'histologie des testicules ont été analysés. Une analyse par cytométrie en flux a été menée pour déterminer les sous-types de cellules germinales et les dommages à l'ADN ont été recherchés par un test des comètes.

Une diminution de près de 50 % du nombre de spermatozoïdes épидидymaires dans le groupe exposé aux radiofréquences a été observée, par rapport aux groupes CON ( $p < 0,01$ ) et MEL ( $p < 0,05$ ). La diminution induite par radiofréquences n'a pas été observée dans le groupe recevant de la mélatonine + radiofréquences. Une augmentation significative des spermatozoïdes anormaux (29,65 %) a été observée dans le groupe exposé aux radiofréquences, contre seulement 12,5 % de spermatozoïdes anormaux dans le groupe CON. La MEL protège des anomalies du sperme de plus de moitié, par rapport au groupe exposé à la radiofréquences ( $p < 0,01$ ) sans différence significative dans les types d'anomalies

Les niveaux de LPO sont significativement plus élevés dans le groupe radiofréquences par rapport aux groupes témoin et mélatonine ( $p < 0,001$ ). La supplémentation en MEL prévient la peroxydation lipidique qui revient au niveau des témoins. Le taux de GSH est diminué de 1,5

fois dans le groupe exposé au radiofréquences ( $p < 0,05$ ) du par rapport aux témoins et l'addition de mélatonine augmente les niveaux intracellulaires de GSH de près de 2,5 fois dans le groupe exposé +mel ( $p < 0,001$ ) par rapport au groupe contrôle et radiofréquences. L'activité SOD dans le groupe exposé au radiofréquences est réduit à un tiers, par rapport à CON ( $p < 0,01$ ). La MEL empêche cette diminution ( $p < 0,001$ ).

Le pourcentage moyen d'ADN de la tête des comètes dans le groupe radiofréquences est significativement inférieur à celui des contrôles et le pourcentage de moment de queue est plus élevé dans le groupe radiofréquences. La supplémentation en mélatonine protège de l'induction de cassures de l'ADN induites par radiofréquences. L'analyse de la fréquence des dommages pour chaque groupe montre que l'exposition aux radiofréquences entraîne une augmentation presque 25 fois supérieure des cellules de classe 4 (ADN très endommagé) par rapport au CON ; la supplémentation en mélatonine réduit cet effet de moitié parallèlement le pourcentage de cellules de classe 1 (faible dommage) augmente jusqu'à 22 fois par rapport à la radiofréquences seul.

Une augmentation de près de 10 fois de la desquamation intra-tubulaire des cellules germinales (atrophie) a été observée chez les souris exposées au radiofréquences. Ce nombre est diminué de près de la moitié dans le groupe radiofréquences+ mélatonine. De plus, l'exposition aux radiofréquences a réduit la surface de l'épithélium de 1,5 fois, cet effet étant prévenu par la MEL.

Le dénombrement par cytométrie en flux des sous-types de cellules germinales testiculaires montre une augmentation de 2,5 fois de la population de spermatogonies (2C), avec une diminution de 1,5 fois de la population de spermatozoïdes (1C) après 35 jours d'exposition radiofréquences par rapport au contrôle montrant une diminution de l'efficacité de la spermatogenèse. La supplémentation en MEL entraîne une diminution presque double des spermatogonies et une augmentation de 1,5 fois de la population de spermatozoïdes dans les testicules exposés aux radiofréquences, indiquant que davantage de spermatogonies entrent en mitose et mûrissent en spermatozoïdes.

La dosimétrie en densité de puissance de cette étude est très sommaire ; elle correspond à un rayonnement de niveau modéré à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Le DAS est obtenu n'est pas justifié. Cette exposition est reproductible néanmoins. Ces limitations n'empêchent pas de faire des conclusions au niveau biologique. Ainsi, ce travail montre que les radiofréquences entraînent un arrêt de la spermatogenèse pré-méiotique dans les cellules germinales mâles de souris, génère un stress oxydant et induit des cassures à l'ADN et des altérations morphologiques dans les cellules germinales. Un co-traitement par de la mélatonine protège des effets délétères induits par les radiofréquences grâce à son potentiel anti-oxydant, conduisant à un nombre et une morphologie normaux des spermatozoïdes chez les animaux exposés au radiofréquences. Il faut noter l'absence de témoin exposition dans cette étude. Il faut noter qu'il n'y a pas de groupe témoin exposition.

- *Piccinetti, CC, et al. (2018) "Measurement of the 100 MHz EMF radiation in vivo effects on zebrafish D. rerio embryonic development: A multidisciplinary study."*

[Non mammifère]

Piccinetti *et al.* (2018) se penchent sur l'effet des radiofréquences sur le développement dans un modèle d'embryons de poissons zèbre collectés immédiatement après fertilisation. Le système d'exposition est basé sur l'utilisation d'une cellule TEM dans laquelle est placé un réservoir contenant de l'eau et les boîtes de Petri avec les embryons de poisson zèbre. La chaîne d'exposition radiofréquences comprend tous les éléments nécessaires à la vérification du champ électrique appliqué. Des simulations permettent d'affiner la valeur de champ



électrique et d'évaluer de possibles points chauds. Un champ électrique de 6V/m est appliqué à 100 MHz en continu durant 24, 48 et 72 heures. Les auteurs comparent un groupe témoin-exposition et un exposé à 24, 48 et 72h. Ils suivent tout d'abord la morphologie des embryons et observent des effets uniquement à 48h avec une plus faible longueur et une poche vitelline plus grande. Ils s'intéressent à l'expression d'une série de gènes de stress (nr3c1), stress oxydant (gsta1 et sod2), autophagie (becn1 et map1/c3b) et apoptose (casp3 et bax). Tous sont surexprimés dans le groupe exposé avec des effets allant de +10 à +100%. L'effet sur l'apoptose est confirmé par des mesures TUNEL qui suivent les mêmes tendances. La dernière partie est consacré au métabolisme du cholestérol, qui est montré comme plus induit à 48h dans le groupe exposé (expression de gènes et marquage de lipides). Ces données confirment les résultats morphologiques.

L'exposition correspond à un rayonnement d'ondes radio FM et se place à la limite d'exposition autorisée à cette fréquence de 6V/m. Elle est de très bonne qualité. La chaîne d'exposition est bien décrite et la dosimétrie est justifiée par simulation numérique. Cette étude est ambitieuse par le nombre de paramètres suivis. Elle met bien en avant un effet des radiofréquences sur le développement des embryons, même si ceux-ci se normalisent avant l'éclosion qui a lieu après 72h. Certaines limites sont à noter sur les effets biochimiques comme le stress oxydant et l'autophagie, qui sont uniquement étudiés par l'expression d'un petit nombre de gènes et sans analyse de marqueurs directs. L'article reste intéressant car il montre des effet délétères (stress oxydant, apoptose, autophagie) persistant après 72h d'exposition.

- Pilla, AA (2012) *Electromagnetic fields instantaneously modulate nitric oxide signaling in challenged biological systems*

[Cerveau][Peau]

Pilla (2012) étudie l'effet d'un signal radiofréquences qu'il a identifié comme modulant la production de NO dépendant de la voie Ca/CAM. Les échantillons biologiques sont exposés à un rayonnement radiofréquences ayant une porteuse à 27 MHz, dans une porte de durée de 2 à 4 ms, répétée de 1 à 5 fois par seconde. Le champ incident est de 41 V/m, pendant 15 minutes. L'auteur montre qu'une lignée de neuroblastomes de souris produit trois fois plus de NO en réponse au LPS après une exposition radiofréquences que sans. De plus, il montre que des fibroblastes humains produisent deux fois plus de NO après un stress thermique et de changement de milieu, et que cette augmentation est inhibée par un antagoniste de la voie Ca/CAM.

Ce travail possède quelques limites mineures. L'exposition physique est très sommaire. La fréquence radiofréquences doit être lue dans la publication Pilla 2011. Le signal radiofréquences modulé étudié n'est pas représentatif du rayonnement de dispositif de communication, mais plutôt de dispositifs à visée d'études médicales ou thérapeutiques. Les conditions d'exposition de cette étude sont néanmoins reproductibles. EN biologie, l'absence de certains contrôle (RF seules, W-7 seul) est à signaler. De plus, les deux types cellulaires ne sont pas utilisés dans les mêmes expériences, ce qui limite la portée des informations mécanistiques. Une observation intéressante est cependant la stimulation de la production de NO par les radiofréquences. L'auteur insiste sur les applications thérapeutiques. Il note que NO est anti-inflammatoire et conduit à la surexpression de FGF2 et VEGF. Ces facteurs sont importants pour la réparation tissulaire mais aussi dans la phase de progression tumorale et l'induction de métastases.

- *Postaci, I., et al. (2018) "The physiopathological effects of quercetin on oxidative stress in radiation of 4.5 G mobile phone exposed liver tissue of rat"*

[Foie]

L'étude de Postaci *et al.*, 2018 a visé à évaluer les effets physiopathologiques *in vivo*, d'un champ radiofréquences de 2600MHz sur le tissu hépatique de rats et si l'utilisation d'un anti-oxydant comme la quercétine (Qu) peut protéger de ces effets. Les paramètres analysés sont l'apoptose et le stress oxydant. Un dispositif assure l'exposition corps entier de rats dans des cages en plastique à 900 MHz, 1h/jour pendant 30 jours. La fréquence et le niveau d'exposition (10 V/m au niveau du foie, pour un DAS estimé à 11 mW/kg dans le foie) sont représentatifs d'exposition de la téléphonie mobile. Des rats Wistar mâles adultes sont répartis en un groupe témoin-cage, un groupe témoin-exposition, un groupe exposé (RF) et un groupe exposé et traité à la quercétine (RF + Q). Les effets sont observés sur des coupes de foie et estimés en faible (+), moyen (++) et sévère (+++). Après coloration histologique, une dégénérescence vacuolaire, une dilatation des sinusoides hépatiques, de la nécrose et une infiltration de cellules mononuclées sont observées dans les groupes de témoin-exposition, exposés aux radiofréquences et exposés radiofréquences+Q (effet +). Seule l'effet sur la dilatation des sinusoides est moyen dans le groupe radiofréquences (++) et disparaît dans le groupe radiofréquences+Q. L'expression de la caspase 3 et du TNF- $\alpha$  est faible dans le groupe témoin-cage (+), moyenne dans les groupes témoin- exposition et radiofréquences+Q (++) , et forte dans le groupe exposé (RF, +++). Le dosage de MDA (aldéhyde malonique), indicateur de stress oxydant indique une augmentation uniquement dans le groupe témoin-exposition par rapport au groupe témoin-cage (. Enfin, les activités de la catalase et de la superoxyde dismutase ne sont pas différentes entre les groupes. Les auteurs concluent que les radiofréquences d'une fréquence de 2600 MHz causent des dommages modérés au tissu hépatique. Mais étant donné que ces dommages sont également présents dans le groupe témoin-exposition), ils concluent que ces dommages peuvent être induits par des facteurs de stress et non pas uniquement par l'exposition. Ils concluent également que la fréquence de 2600 MHz entraîne une augmentation du MDA dans le foie, mais l'effet est statistiquement significatif qu'entre le groupe témoin-cage et le groupe témoin-exposition).

La justification du DAS suivant une approche analytique est trop imprécise. Pour la biologie, il n'y a pas de réelle quantification des effets sur l'apoptose, la nécrose. On ne connaît pas le nombre d'animaux utilisés pour les dosages enzymatiques et les analyses immunohistochimiques. Certains effets retenus ne sont pas significatifs. Les auteurs n'observent que des tendances, à partir desquelles ils tirent des conclusions. Seul le tableau 3 donne des valeurs mesurables. Les tableaux 1 et 2 ne donnent que des tendances.

- *Qin, F., et al. (2019) "CeO(2)NPs relieve radiofrequency radiation, improve testosterone synthesis, and clock gene expression in Leydig cells by enhancing antioxidation"*

[Système reproducteur]

Qin *et al.* (2019) analyse si les nanoparticules d'oxyde de cérium (CeO<sub>2</sub>NPs) peuvent protéger du rayonnement radiofréquence de de 1 800 MHz et améliorer la synthèse de la testostérone et l'expression des gènes d'horloge dans des cultures primaires *in vitro* de cellules de Leydig de souris C57. Des boîtes de Petri sont exposées à 1800 MHz durant 1, 2 ou 4h à un DAS de 0,116 à 0,519 W/kg.

Les résultats préliminaires ont montré que 128  $\mu$ g/mL CeO<sub>2</sub>NPs était la dose optimale pour la prolifération cellulaire. Les cellules exposées à la radiofréquences seule présentaient des niveaux réduits de testostérone, de T-AOC et d'activités CAT, une augmentation de la teneur en MDA et l'expression de gènes régulés à la baisse de Star, Cyp11a1, Hsd-3 $\beta$ , Clock, Bmal1

et Rora. Le prétraitement des cellules avec 128 µg/mL de CeO<sub>2</sub>NPs pendant 24 heures, suivi d'une exposition aux radiofréquences, a significativement augmenté la synthèse de testostérone, augmenté l'expression des gènes de la testostérone synthase et de l'horloge, et augmenté la résistance aux dommages oxydatifs dans les cellules de Leydig par rapport à celles des cellules exposées aux radiofréquences seules.

Ce travail présente des problèmes méthodologiques mineurs. Le système d'exposition n'est pas décrit, et l'exposition des cellules n'est pas homogène. Néanmoins, des calculs de DAS sont menés correctement. Cette exposition est reproductible et correspond à une exposition par des signaux de téléphonie mobile à niveau modéré. De plus, on ne sait pas combien de cultures primaires ont été faites. Pas de témoin température. La quantification des RT-PCR est problématique car elle repose sur l'expression d'un seul gène de ménage la beta actine. Pourquoi a-t-on choisi une dose de nanoparticules qui induit une prolifération des cellules ? Les cellules témoins et les cellules exposées NP ne sont donc pas du tout comparables en terme de division cellulaire. Enfin, l'interprétation des résultats des doublement exposées NP + radiofréquences est très délicate dans la mesure où les NPs seules ont des effets importants sur tous les paramètres mesurés.

- *Răcuciu, M., et al. (2018) Influence of 1 GHz radiation at low specific absorption rate of energy deposition on plant mitotic division process*

[Non mammifère]

Răcuciu *et al.* (2018) ont eu pour but d'étudier l'influence génotoxique des micro-ondes sur les graines de *Zea mays*. Celles-ci sont disposées dans une cellule TEM, exposées à 1 GHz, de 5 à 180 minutes, à un DAS de l'ordre de 0,3 W/kg. Les indices d'aberrations mitotiques et chromosomiques ont été déterminés après l'exposition. D'un point de vue qualitatif, un plus grand nombre de stades mitotiques anormaux ont été détectés dans les cellules des semences exposées par rapport au contrôle. Quantitativement, un léger effet stimulant sur le processus de division mitotique, exprimé par un pourcentage accru de cellules en division (augmentation de 26 % pour une exposition de 180 minutes), a été révélé pour tous les échantillons exposés, tandis qu'un niveau inférieur de pourcentage de cellules chromosomiques aberrantes induites (jusqu'à 2,14 %) a également été constaté.

La dosimétrie de cette exposition physique est de très bonne qualité, validée par simulation numérique. Le niveau d'exposition est comparable à celui de la téléphonie mobile à niveau modéré. Cette étude, quoique intéressante, ne fait que reporter des aberrations chromosomiques chez des graines. Nous sommes loin d'une induction du cancer chez l'humain

- *Ragy, M. M. (2015) "Effect of exposure and withdrawal of 900-MHz-electromagnetic waves on brain, kidney and liver oxidative stress and some biochemical parameters in male rats"*

[Cerveau][Foie][Reins]

Cette étude a été menée pour montrer les effets de l'exposition et du retrait d'un CEM de 900 MHz sur le cerveau, les tissus hépatiques et rénaux, sur les changements des activités enzymatiques antioxydantes et de paramètres d'oxydation ; elle compare les résultats de l'exposition et du retrait de l'exposition aux radiofréquences sur l'état oxydant de ces différents organes, sur les fonctions rénale et hépatique, avec une analyse des hormones du stress chez les rats mâles albinos. L'exposition est faite à l'aide d'un générateur et d'une antenne dipôle, la puissance de sortie du générateur est de 5W et la DSP résultante serait de 2,5mW/cm<sup>2</sup>. Les niveaux d'oxydation des lipides, MDA, dans les tissus cérébraux, hépatiques et rénaux sont plus élevés dans les groupes exposés que dans les groupes témoin-exposition et de retrait à

l'exposition. La capacité antioxydante totale (TAC), des tissus cérébraux, hépatiques et rénaux des rats exposés est plus faible que celle des groupes témoin-exposition et de retrait à l'exposition. L'exposition augmente la MDA dans les tissus cérébraux, hépatiques et rénaux. L'exposition réduit la capacité antioxydante TAC dans les tissus cérébraux, hépatiques et rénaux.

L'activité des enzymes hépatiques (ALAT et AST) et les fonctions rénales (urée et créatinine) est augmentée dans le groupe exposé par rapport aux groupes témoin-exposition et d'arrêt d'exposition. La corticostérone sérique est significativement augmentée sans modification des taux de catécholamines sériques (épinéphrine et ni épinéphrine).

En conclusion, les radiofréquences des téléphones portables entraîneraient des modifications biochimiques et un stress oxydant dans les tissus cérébraux, hépatiques et rénaux chez le rat. Ils présentent un risque cérébral potentiel en raison d'une augmentation plus marquée d'états oxydants dans le cerveau que dans le foie et les reins. Le retrait de l'exposition aux radiofréquences permettrait de surmonter les effets délétères de l'exposition aux radiofréquences par un retour à un état normal.

Il n'y a pas de dosimétrie ni d'indication du contrôle des conditions expérimentales.

- *Regalbuto, E et al. (2020) Human Fibroblasts In Vitro Exposed to 2.45 GHz Continuous and Pulsed Wave Signals: Evaluation of Biological Effects with a Multimethodological Approach*

[Peau]

Regalbuto *et al.* (2020) s'intéressent à l'induction d'effets délétères de radiofréquences dans des cultures primaires de fibroblastes humains, et à une éventuelle différence entre modes continu et pulsé. Le système d'exposition correspond à une cellule TEM, comportant 2 plans métalliques carrés entre lesquels sont placées 4 boîtes de Pétri de 3.5 cm de diamètre et rempli de 2 ml d'échantillon biologique dont les cellules à irradier. Cette cellule est placée dans une cage métallique comprenant des parois absorbantes, avec en dessous et dessus deux ventilateurs, le tout étant également situé dans un incubateur. Ce système permet d'appliquer une onde TEM au niveau des boîtes de Pétri, à la fréquence de 2,45 GHz. Deux types d'ondes sont étudiés, en mode continu et en mode pulsé avec des pulses carrés de période 1 ms et un rapport cyclique de 50%. Le SAR appliqué correspond à 0,7 W/kg avec une homogénéité du SAR appliqué de 70%. La puissance délivrée par la source est mesurée en permanence pendant les expérimentations à l'aide d'un coupleur et d'un puissance mètre. Le SAR a été évalué par mesure thermique.

Les expériences sont réalisées en triplicat avec 4 échantillon par répliquat. Les auteurs n'observent aucun effet ni sur le cycle cellulaire (cytométrie en flux) ni sur la génotoxicité vue à travers les cassures double-brin de l'ADN (marquage gamma-H2AX/53BP1) ou la formation de micronoyaux d'origine aneugène ou clastogène (test CREST). L'ultra-structure des cellules restent inchangée. Les auteurs s'intéressent aussi à l'expression génique à travers une étude en RNA-seq. Les quelques modulations observées pour certains gènes ou voies de réponse cellulaires ne sont pas significatives. Pour quelques gènes particulièrement modulés, la RT-qPCR ne montre pas non plus d'effet significatif (sauf pour NBS gène ne présentant pas d'intérêt particulier pour la carcinogenèse).

Cette étude est plutôt bien conçue. Le système d'exposition radiofréquences est pertinent, avec une exposition en champ proche avec un niveau inférieur aux limites d'exposition, soit un SAR de 0,7 W/kg inférieur à la limite grand public de 2 W/kg. Du point de vue biologique, le travail manque de contrôles positifs pour valider complètement l'absence de réponses significatives. Les données sont malgré tout cohérentes en ce sens qu'elles montrent toutes



un absence d'effet des expositions. Pour la thématique cancer, le plus intéressant est l'absence de génotoxicité et d'impact sur le cycle cellulaire.

- *Romeo, S, et al. (2020) Effects of Radiofrequency Exposure and Co-Exposure on Human Lymphocytes: the Influence of Signal Modulation and Bandwidth.*

[Sang et plasma]

Romeo *et al.* (2020) étudient la capacité de radiofréquences différentes à reproduire l'effet adaptatif d'une faible dose de mitomycine-C contre une plus forte dose. Le système repose sur l'utilisation de guides d'onde rectangulaire dans lesquels sont placés 4 boîtes de Pétri les unes au-dessus des autres, positionnées sur un support en Plexiglas. Les guides d'onde sont placés dans un incubateur permettant un bon contrôle en température de CO<sub>2</sub>. La fréquence de l'onde appliquée est de 1950 MHz, avec trois types de signaux : (i) onde entretenue/continu, (ii) 3G 4.5 Mhz de bande passante, (iii) bruit blanc gaussien 9 Mhz de bande passante. Différents niveaux d'exposition sont appliqués, à savoir 1,25 W/kg et 0,3 W/kg, puis 0,6 W/kg et 0,15 W/kg. Le système est piloté par un ordinateur et contrôlé à travers de multiples mesures (wattmètre et analyseur de spectre). L'élévation de température a également été mesurée avec une sonde fluoro-optique et les variations n'excèdent pas 0,3 °C.

Les auteurs étudient pour cela l'induction de micronoyaux. Ils observent tout d'abord que les radiofréquences n'ont pas d'effet génotoxique. Leurs résultats montrent ensuite qu'un signal continue (CW) n'a pas d'effet adaptatif, alors que c'est le cas avec une modulation (WCDMA et AWGN). Ils observent aussi une dépendance avec le DAS, cet effort protecteur n'étant vu qu'aux plus faibles valeurs.

Le système d'exposition est pertinent et parfaitement caractérisé, pour caractériser une exposition à des signaux 3G avec différentes modulations et bande passante. Cette étude, bien réalisée, montre donc clairement l'importance de la modulation dans l'effet des radiofréquences. Ce paramètre doit être bien pris en compte dans la comparaison des études. Le mécanisme n'est cependant pas évident car la mitomycine-C est un agent alkylant et non un inducteur du stress oxydant, comme souvent vu dans les études de co-exposition de toxiques avec les radiofréquences.

- *Sangun, O., et al. (2015) "The effects of long-term exposure to a 2450 MHz electromagnetic field on growth and pubertal development in female Wistar rats"*

[Cerveau][Système endocrinien][Développement]

Le but de l'étude de Sangun *et al.*, 2015 a été d'étudier les effets d'un champ électromagnétique de 2 450 MHz (fréquence Internet sans fil) sur la croissance et le développement de rats Wistar femelles. L'étude a été menée sur trois groupes de rats. Le groupe prénatal a été exposé à des radiofréquences de 2,45 GHz (0,1 W/kg, 1 h/jour) pendant toute la gestation puis de PND 21 (sevrage) jusqu'à la puberté. Le groupe postnatal a été exposé aux radiofréquences de 2,45 GHz (0,1 W/kg, 1 h/jour) de PND 21 (sevrage) jusqu'à la puberté. Le troisième groupe était le groupe contrôle. La croissance, la nutrition et l'ouverture vaginale (VO) ont été surveillées. Des échantillons de sérum et de tissus ovariens et cérébraux ont été prélevés à la puberté pour des mesures du statut antioxydant total (TAS), du statut oxydant total (TOS) et de l'indice de stress oxydatif (OSI). L'hypothalamus a été fixé pour suivre l'expression immunohistochimique de la GnRH-1 et de la caspase-3. Une coloration H&E a été faite pour l'hypothalamus (œdème, désorganisation cellulaire, vacuolisation et congestion vasculaire) et les ovaires (nature et nombre des follicules). En parallèle, les concentrations de FSH, LH, E2 et IGF sériques ont été déterminées par test Elisa.

Dans cette étude, l'exposition aux radiofréquences à 2450 MHz pendant la période prénatale, a entraîné un retard de croissance (à partir de la 3<sup>ème</sup> semaine) et un retard du déclenchement de la puberté chez les rats femelles sans que des différences soient observées dans le groupe postnatal. D'autre part, les valeurs de TOS des tissus ovariens et cérébraux des groupes prénatal et postnatal sont significativement plus élevées que ceux du groupe contrôle ( $p < 0,05$ ). Les valeurs moyennes de l'OSI des tissus cérébraux et des ovaires sont significativement plus élevées dans le groupe prénatal et postnatal par rapport à celles du groupe contrôle ( $p < 0,05$ ), mais aucune différence n'a été observée entre le groupe prénatal et postnatal. De même, aucune différence significative n'a été observée parmi les groupes pour l'intensité d'expression de GnRH-1 ou de la caspase-3. Aucune différence également pour le taux moyen de FSH et d'E2. Les taux sériques de LH des groupe pré et postnataux sont augmentés par rapport au groupe témoin ( $p < 0,05$ ). Les auteurs concluent que l'augmentation des valeurs de TOS et d'OSI dans le cerveau et les ovaires peut être interprétée comme un signe de stress chronique induit par les radiofréquences. Sur la base de ces résultats, il serait suggéré que l'exposition chronique aux radiofréquences à la fréquence des réseaux sans fil, en particulier pendant la période intra-utérine et la petite enfance, peut avoir des effets néfastes sur la croissance et la puberté.

Le système d'exposition décrit est approximatif, Les paramètres sont mesurés en champ proche, les animaux sont exposés par la tête et le DAS corps entiers est estimé à partir d'une valeur de champ E proche mesuré puis d'un calcul fait avec Matlab. L'exposition des animaux faite en champ proche et très différente sur toutes les parties du corps, est non maîtrisée Concernant les dosages et l'immunohistochimie pour les hormones et l'estimation du nombre de follicules, il aurait été judicieux de regarder les effets de l'exposition après la puberté et à la naissance où il y a une phase de stimulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (LH, FSH, E2, comme au milieu de la gestation) et pas seulement à la mise en place de la puberté. On ne sait pas trop ce qui est regardé pour l'analyse histologique de l'hypothalamus, et surtout sur quels critères sont choisis pour les effets délétères. On ne connaît pas le nombre de rats analysés après la naissance pour les mesures de poids, de taille et de puberté. Aucune image d'immunohistochimie – il n'y a pas de discussion sur fait qu'il n'y a pas d'effet sur le statut anti-oxydant (TAS) dans le cerveau (pré et postnatal) alors qu'il y a un effet sur le statut oxydant.

- *Sannino, A., et al. (2017) "Adverse and beneficial effects in Chinese hamster lung fibroblast cells following radiofrequency exposure"*

[Poumons]

Dans le travail de Sannino *et al.* (2017), des lymphocytes du sang périphérique humain et une lignée cellulaire de fibroblastes pulmonaires de hamster chinois ont été pré-exposées à un signal UMTS 1950 MHz, pendant 20 h, puis les cultures sont traitées par de la mitomycine-C. Le système d'exposition repose sur l'utilisation de guides d'ondes rectangulaires court-circuités, insérés dans un incubateur pour garantir les conditions en termes de températures et de CO2. Trois guides d'ondes peuvent être utilisés permettant des études simultanées de deux niveaux d'exposition et d'un témoin, les cellules étant placées dans quatre boîtes de Petri. Un contrôle strict des paramètres électromagnétiques est effectué à l'aide deux wattmètres. Les signaux générés sont de type UMTS à la fréquence de 1960 MHz. La densité de puissance délivrée par la source est mesurée également à l'aide d'un analyseur de spectre. Une dosimétrie numérique et expérimentale a été réalisée. La disposition des boîtes de Petri retenue permet d'obtenir deux niveaux d'exposition lors d'une même exposition. De plus, deux niveaux de puissance sont appliqués dans les deux guides d'onde, avec un ratio de 1 sur 2. Ainsi, quatre niveaux de SAR sont appliqués au cours d'un même set d'expérimentation, à savoir : 0,15, 0,3, 0,6, 1,25 W/kg. Une mesure de température à l'aide d'une sonde

transparente aux ondes électromagnétiques est effectuée sur la durée des expositions (20 h) et a montré une variation de température limitée de  $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ . Après confirmation de l'induction d'une réponse adaptative en termes de réduction de la formation de micronoyaux, il est décrit qu'une telle réponse est annulée par des traitements de 3-aminobenzamide. Le 3-aminobenzamide est un inhibiteur de l'enzyme poly (ADP-ribose) polymérase, qui est impliquée dans la réparation de l'ADN, ces résultats soutiennent l'implication possible des mécanismes de réparation de l'ADN dans la réponse adaptative induite par radiofréquence. Dans les deux types de cellules humaines et murines, l'AR induit par radiofréquences a été annulé en présence de 3AB, suggérant l'implication des enzymes de réparation de l'ADN dans l'obtention de l'AR, et indiquant que le phénomène peut ne pas dépendre du modèle cellulaire. Il est à noter que chez les HPBL des trois donneurs impliqués dans cette étude, une forte variabilité de la fréquence des MN, indiquant une implication génétique à la réponse aux polluants de l'environnement.

Le système d'exposition dans son ensemble est de très bonne qualité avec la présence des éléments nécessaires pour garantir une exposition de qualité pour des études in vivo, correspondant à une exposition à des signaux de type UMTS. Les résultats biologiques rapportés dans cette étude indiquent que l'AR induite par l'exposition dans deux types de cellules, est annulée par l'ajout de 3AB, un inhibiteur de PARP. Ces résultats mettent en évidence les mécanismes de réparation de l'ADN comme l'un des candidats plausibles pour déclencher la RA induite par radiofréquences. Ces données décrivent un mécanisme plausible de la réponse adaptative et mettent en évidence une réponse individuelle différente aux radiofréquences.

- *Sannino, A., et al. (2019) "Treatment with 3-aminobenzamide negates the radiofrequency-induced adaptive response in two cell models"*

[Sang et plasma][Poumons]

Sannino *et al.* (2017) s'intéressent au phénomène de réponse adaptative apporté par les radiofréquences contre d'autres stress. En plus de mettre en évidence l'effet adaptatif, les auteurs en recherchent l'origine. Ils travaillent in vitro sur des cellules du sang humain et de poumon d'hamster chinois. Le système d'exposition repose sur l'utilisation de guides d'ondes rectangulaires court-circuités, insérés dans un incubateur. Trois guides d'onde peuvent être utilisés permettant des études simultanées de deux expositions et d'un témoin, les cellules étant placées dans quatre boîtes de Petri. Un contrôle strict des paramètres électromagnétiques est effectué à l'aide de deux wattmètres. Les signaux générés sont de type UMTS à la fréquence de 1960 MHz. Deux niveaux de puissance différents sont appliqués dans les deux guides d'onde, avec un ratio de 1 sur 2. Ainsi, quatre niveaux de SAR sont appliqués au cours d'un même set d'expérimentation, à savoir : 0,3, 1,25 W/kg. Une mesure de température à l'aide d'une sonde transparente aux ondes électromagnétiques est effectuée sur la durée des expositions (20 h) et a montré une variation de température limitée de  $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$ . L'agent utilisé pour stresser les cellules est la mitomycine-C (MMC). Les effets observés sont l'induction de la génotoxicité à travers la quantification de micronoyaux (MN) et la cytotoxicité évaluée via l'indice de prolifération. Les auteurs montrent que les radiofréquences seules n'induisent pas de micronoyaux. À l'inverse, MMC multiplie leur fréquence par un facteur d'environ 4 dans les deux types cellulaires ( $p < 0,001$ ). Une exposition préalable aux radiofréquences diminue l'induction des MN par MMC de 37 à 72 % dans les cellules sanguines et de 39 à 44 % dans les V79 selon le tripliquât. Quand l'expérience MMC vs radiofréquences+MMC est reproduite en présence de l'inhibiteur de PARP-1 3-aminobenzamide (3AB), l'effet de radiofréquences sur l'induction de micronoyaux est diminué. Il n'y a plus de différence significative entre MN et MN+RF dans les cellules sanguines et les

V79. Concernant l'indice de prolifération, il est inchangé dans toutes les conditions pour les cellules sanguines et baissé de 10% avec MMC dans les V79 sans que les radiofréquences ne puissent compenser.

Une dosimétrie numérique et expérimentale a été réalisée. La disposition des boîtes de Petri retenue permet d'obtenir deux niveaux d'exposition lors d'une même exposition. Le système d'exposition dans son ensemble est de très bonne qualité avec la présence des éléments nécessaires pour garantir une exposition de qualité pour des études in vivo, correspondant à une exposition à des signaux de type UMTS. Malgré des limites mineures sur les statistiques et l'intervalle entre exposition radiofréquences et mesure des MN, l'étude est de qualité. On note en particulier un travail en aveugle et un suivi précis de la température des milieux de culture. Les observations rapportées par les auteurs sont toutes très pertinentes pour les mécanismes d'induction du cancer, à savoir l'absence d'effet génotoxique et l'induction d'une réponse adaptative liée à la réparation de l'ADN.

- *Saygin, M., et al. (2016) "Impact of 2.45 GHz microwave radiation on the testicular inflammatory pathway biomarkers in young rats: The role of gallic acid"*

[Système reproducteur]

Saygin *et al.* (2016) ont étudié les rayonnements électromagnétiques (REM) transmis par des appareils sans fil (2,45 GHz), qui peuvent provoquer des changements physiopathologiques ou ultrastructuraux, dans les testicules de rats. Le système d'exposition est identique à Topsakal 2017, à la différence que la puissance de la source est plus forte. Il permet l'étude de la co-exposition de rats à des signaux CW pulsé à 217Hz de fréquence 2450MHz et à de l'acide Gallic. Radiofréquences de forte intensité 3,21W/kg pendant 3h/j sur une durée de 30j. Les auteurs ont examiné si l'acide gallique (AG) pouvait réduire ces effets indésirables. Des rats mâles Sprague Dawley âgés de six semaines ont été utilisés dans cette étude. Quarante-huit rats ont été également répartis en quatre groupes : simulacre, EMR uniquement (EMR, 3 h par jour pendant 30 jours), EMR 1 GA (30 mg / kg / jour) et GA (30 mg / kg / jour) groupes. Les niveaux de malondialdéhyde (MDA) et de statut oxydant total (TOS) ont augmenté ( $p=0,001$  pour les deux) dans le groupe EMR uniquement. Les niveaux de TOS et d'indice de stress oxydatif (OSI) ont diminué de manière significative dans le groupe traité à l'AG ( $p=0,001$  et  $p=0,045$ , respectivement). Les activités du statut antioxydant total (TAS) ont diminué dans le groupe EMR uniquement et ont augmenté dans le groupe de traitement GA ( $p=0,001$  et  $p=0,029$ , respectivement). Les taux de testostérone et de facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF) ont diminué dans le groupe EMR uniquement, mais ce n'était pas statistiquement significatif. Les taux de testostérone et de VEGF ont augmenté dans le groupe EMR1GA, par rapport au groupe EMR uniquement ( $p=0,002$ ), et ont également augmenté dans le groupe GA par rapport au groupe témoin et EMR uniquement ( $p=0,044$  et  $p=0,032$ , respectivement). La coloration de la prostaglandine E2 (PGE2) et du peptide relâché par le gène de la calcitonine (CGRP) a augmenté dans les tubules des testicules dans le groupe EMR uniquement ( $p < 0,001$  pour les deux) et a diminué dans les tubules des testicules dans le groupe EMR1GA ( $p < 0,001$  pour tous les paramètres). Dans le groupe EMR uniquement, la plupart des tubules contenaient moins de spermatozoïdes et le nombre de spermatozoïdes diminuait dans les tubules des testicules. Tous ces résultats et la réaction régénérative, caractérisée par une activité mitotique, ont augmenté dans les cellules des tubules séminifères des testicules du groupe EMR1GA ( $p < 0,001$ ). Une exposition à long terme aux DME a entraîné une physiopathologie testiculaire via des dommages oxydants et une inflammation. L'AG peut avoir des effets améliorateurs sur la physiopathologie des testicules prépubères du rat.

Dans les limites de cette étude, on peut conclure que le rayonnement électromagnétique de



2,45 GHz peut avoir des effets dus au stress thermique et oxydant sur le système neuroendocrinien et le tissu testiculaire du rat. Les résultats de cette étude ont révélé que l'EMR provoquait la dégénérescence des cellules testiculaires et la spermatogenèse. Les dommages d'oxydation et l'inflammation jouent un rôle clé dans ce processus, et ce mécanisme peut être la cause de l'infertilité. L'AG peut avoir des effets protecteurs sur les testicules contre les lésions testiculaires induites par EMR 2,45 GHz. Il a été démontré que la PGE2 et le CGRP avaient un rôle clé dans les changements physiopathologiques testiculaires et l'inflammation, et l'AG a amélioré ces effets. Cette étude s'est concentrée sur le processus de développement et les propriétés reproductives simulées. Ainsi, l'utilisation de GA est très importante pendant la période de croissance

- *Saygin, M., et al. (2018) "The impact of electromagnetic radiation (2.45 GHz, Wi-Fi) on the female reproductive system: The role of vitamin C"*

[Système reproducteur]

Saygin *et al.* (2018) ont examiné les effets d'un rayonnement électromagnétique (EMR) continu de 2,45 GHz, susceptible de provoquer des changements physiopathologiques ou morphologiques dans les tissus des ovaires, des trompes de Fallope et de l'utérus des rats. Les auteurs ont proposé que l'ajout de vitamine C (Vit. C) puisse réduire ces effets graves. Dix-huit rats femelles Sprague Dawley ont été répartis au hasard en trois groupes de six animaux chacun : Sham, EMR (EMR, 1 h/jour pendant 30 jours), et EMR p Vit. C (EMR, 1 h/jour pendant 30 jours, 250 mg/kg/jour). Les niveaux du statut total oxydant (TOS) et de l'indice de stress oxydatif (OSI) ont augmenté ( $p < 0,011$  et  $p < 0,002$ , respectivement) dans le groupe EMR uniquement dans les tissus ovariens. Dans tous les tissus, les niveaux de TOS et d'OSI ont significativement diminué dans le groupe traité à la Vit. C dans les tissus ovariens, des trompes de Fallope et de l'utérus ( $p < 0,05$ ). Les niveaux d'hormone antimüllérienne ont augmenté de manière significative dans le groupe EMR ( $p < 0,05$ ) et ont diminué dans les groupes traités par Vit. C. Les niveaux d'œstrogène (E2) sont restés inchangés dans le groupe EMR, les différences n'étant pas statistiquement significatives. L'examen immunohistochimique des ovaires a révélé une augmentation significative de l'expression de la Caspase-3 dans les cellules épithéliales du groupe EMR ( $p < 0,05$ ). Dans le groupe EMR, une hyperémie a été observée dans les tissus utérins. De plus, les taux de Caspase-3 et de Caspase-8 ont augmenté de manière significative dans le groupe EMR ( $p < 0,001$ ). La Caspase-3 était significativement diminuée par l'application de Vit. C dans les tissus ovariens et utérins ( $p < 0,05$ ). La Caspase-8 était significativement diminuée uniquement dans les tissus utérins ( $p < 0,05$ ). Une limite de cette étude est que la dosimétrie en est très sommaire et repose essentiellement sur un calcul de type DFDT peu justifié. Le travail est néanmoins reproductible, et correspond à une exposition à un signal type wifi de niveau faible. Les résultats biologiques, de bonne qualité, indiquent que l'exposition prolongée aux EMR a provoqué des changements physiopathologiques dans les tissus des ovaires, des trompes de Fallope et de l'utérus en raison de dommages oxydatifs. Dans les conditions de cette étude, la vitamine C peut avoir des effets protecteurs sur le système reproducteur féminin contre les dommages oxydatifs.

- *Sefidbakht, Y., et al. (2014) "Effects of 940 MHz EMF on bioluminescence and oxidative response of stable luciferase producing HEK cells"*

[Reins]

L'étude de Sefidbakht *et al.*, 2014 a analysé les effets d'un champ électromagnétique de fréquence de téléphone portable (940 MHz) sur une lignée cellulaire stable (HEK293T) exprimant le gène de la luciférase de luciole, l'activité luciférase des cellules transfectées

s'avérant fortement liée au stress oxydatif et au niveau de ROS intracellulaires. Les effets des radiofréquences de faible intensité (940 MHz) en fonction du temps d'exposition (15, 30, 45, 60 and 90 min) ont été étudiés sur l'activité luciférase et sur la réponse oxydative des cellules HEK productrices de luciférase. L'activité luciférase du lysat cellulaire et les espèces réactives de l'oxygène, l'activité de la catalase, des caspase 3 et 7, de la superoxyde dismutase, du glutathion réduit, la peroxydation lipidique (MDA) ont été mesurées. Le guide d'ondes rectangulaire fournit un signal de 940 MHz avec un DAS moyen de  $\approx 0,09 \ll 2 \text{ W/kg}$ . En moyenne, l'augmentation calculée de la température de la boîte de culture cellulaire étant de  $0,07 \pm 0,03 \text{ }^\circ\text{C}$  (plage,  $0,02\text{--}0,1 \text{ }^\circ\text{C}$ ), elle est considérée comme suffisamment faible pour ne pas induire d'effets thermiques. A 940 MHz, le niveau de champ électrique est de l'ordre de  $10 \text{ V/m}$ , et le DAS autour de  $0,09 \text{ W/kg}$ . L'activité luciférase des cellules exposées 30 et 45 min est inférieure à celle des contrôles, alors qu'à 60 min d'exposition, elle est plus élevée que dans les contrôles. L'augmentation de la fluorescence DCF (ROS) est significative après les 15 premières minutes d'exposition à 940 MHz. L'activité de la catalase augmente dès 15 min et jusqu'à 45 min ( $2,64\text{x}$ ) pour diminuer à nouveau à 60 min tout en étant supérieure aux cellules contrôles. L'activité de la SOD n'augmente qu'à partir de 30 min jusqu'à 45 min puis redescend à un niveau non significatif à 60 min. L'augmentation de GSH n'est significative qu'après 45 min d'exposition). Le niveau de MDA diminue pour les cellules exposées pendant 45 et 60 min par rapport aux cellules contrôles. L'activité de la caspase 3/7 est augmentée après 45 min d'exposition pour redescendre à 60 min (non significatif) et re-augmenter à 90 min.

Pour l'exposition, des simulations numériques pour la détermination du DAS sont présentées mais il existe une erreur dans la définition du DAS et la cartographie présente des variations anormales, avec des variations peu compatibles avec une structure cylindrique. Rien ne permet de justifier une telle distribution spatiale. Pour la biologie, le modèle de HEK exprimant la luciférase n'est pas le modèle le plus pertinent pour étudier des effets sur le cancer, mais plutôt pour suivre des effets indirects via le stress oxydant.

- *Shahin, NN, et al. (2019) "The protective role of spermine against male reproductive aberrations induced by exposure to electromagnetic field - An experimental investigation in the rat."*

[Système reproducteur]

Shahin *et al.*, 2019 ont étudié les effets de l'exposition de rats mâles aux radiofréquences (900 MHz,  $0,02 \text{ mW/cm}^2$ , avec un DAS de  $1,075 \text{ W/kg}$ ) sur la fertilité des rats et évalué l'effet protecteur possible de la spermine ((polyamine, protectrice des dommages oxydants) sur les altérations induites par les radiofréquences. Les rats sont exposés ou non 2h/jour pendant 8 semaines et injectés ou non avec de la spermine pendant les 8 semaines avant l'exposition. Les concentrations d'un inhibiteur de la synthèse de FSH, d'un activateur de la synthèse de FSH, de FSH, LH et de testostérone sont dosées dans le sérum et le nombre, la motilité, la viabilité et la morphologie des spermatozoïdes dans les épидидymes. Les testicules sont utilisés pour rechercher des marqueurs du stress oxydant (malondialdéhyde MDA ; glutathion peroxydase (GPx ; catalase), de l'apoptose (caspase-3), de l'inflammation (iNOS, COX-2, NF-kB) et des dommages à l'ADN (test des comètes) et d'enzymes régulateurs de l'androgenèse. L'exposition aux radiofréquences entraîne une diminution significative du nombre, de la viabilité et de la motilité des spermatozoïdes et augmente les malformations des spermatozoïdes. Les rats exposés présentent des réductions significatives des taux sériques de testostérone et une augmentation des concentrations de FSH, LH et d'œstradiol. Ces effets s'accompagnent d'une diminution des enzymes clés de synthèse de la testostérone. Les rats exposés aux radiofréquences ont une augmentation significative de niveau testiculaire de MDA, indice de peroxydation lipidique, une diminution de l'activité testiculaire de la catalase

et du GPx. L'expression de la capsase-3 est augmentée ainsi que les paramètres du test de comète, indiquant des dommages à l'ADN. Les radiofréquences entraînent également une augmentation des marqueurs de l'inflammation et d'enzymes de la stéroïdogenèse. Le co-traitement avec la spermine réduit les effets des radiofréquences, sans restaurer des niveaux similaires aux témoin-exposition. Les auteurs concluent que l'exposition aux radiofréquences altère la fertilité des rats mâles et les effets protecteurs de la spermine sur les altérations testiculaires et reproductives induites par les radiofréquences.

L'exposition physique de cette étude est très sommaire : l'antenne n'est pas décrite, et les conditions de mesures de la densité de puissance ne sont pas décrites. Le DAS n'est pas justifié. Malgré ces limitations mineures, l'exposition physique est reproductible, elle correspond à un niveau d'exposition modérée de signaux de téléphonie mobile. Il n'y a pas de témoin cage. On ne sait pas si le traitement spermine +RF diminue significativement les effets des radiofréquences sur la viabilité, mobilité et nombre de spermatozoïdes. Il n'y a pas toujours de données chiffrées pour les effets des radiofréquences.

- *Shahin, S, et al. (2015) "2.45 GHz Microwave Radiation Impairs Learning and Spatial Memory via Oxidative/Nitrosative Stress Induced p53 Dependent/Independent Hippocampal Apoptosis: Molecular Basis and Underlying Mechanism."*

[Cerveau]

L'étude de Shahin *et al.*, 2015 voulait permettre de comprendre les effets d'une exposition à des radiofréquences de 2,45 GHz (onde continue) à court (15 jours) et à long terme (30 et 60 jours) sur l'hippocampe de souris mâles (Swiss), avec une référence particulière à l'apprentissage spatial, à la mémoire et aux mécanismes d'action. Le dispositif est basé sur une exposition champ lointain à l'aide d'une antenne cornet placé au-dessus des animaux. Des absorbants sont positionnés autour des cages de contentions, 10 compartiments, pour les animaux. La distance entre l'antenne cornet et les animaux est de 25 cm. La fréquence de travail est 2,45 GHz en mode continu. La densité de puissance est de l'ordre de 0,25 W/m<sup>2</sup>. Les expositions sont de 2h par jour, pendant 15, 30 ou 60 jours. Le système est pertinent pour une configuration champ lointain et une exposition corps entier. Elle peut s'apparenter à une exposition champ lointain à une fréquence utilisée pour des communications Wi-Fi. Les auteurs observent que des souris irradiées à 15, 30 et 60 jours ont des déficits marqués d'apprentissage et de mémoire spatiale dépendant de l'hippocampe. Le nombre de neurones pyramidaux diminue dans tous les groupes de souris et dans le groupe de souris exposé pendant 60 jours, aucun neurone pyramidal n'est détecté dans les différentes régions de l'hippocampe. Une augmentation de la production de ROS est observée après 15, 30 et 60 jours. La concentration totale en nitrites et nitrates est augmentée après 15, 30 et 60 jours ainsi qu'une augmentation du niveau de MDA à 15, 30 et 60 jours. L'expression de p53 et de Bax évaluée par immunohistochimie dans les cellules neuronales et non neuronales de l'hippocampe est augmentée alors que celle de la pro-Caspase-3 et de la PARP- non clivée 1 est diminuée. Les auteurs concluent que l'exposition aux rayonnements radiofréquences entraîne une altération de la mémoire spatiale due à la dégénérescence neuronale (et perte des neurones pyramidaux) et non neuronale dans l'hippocampe, effet qui augmente avec la durée d'exposition. Ces effets pourraient être une conséquence de l'augmentation du stress oxydatif/nitrosatif cellulaire (niveaux de ROS et de NO, LPO et PCO) ainsi qu'à une diminution de l'activité des enzymes antioxydantes piégeant les ROS (SOD, CAT et GPx) dans l'hippocampe. Le stress oxydatif et nitrosatif induit par l'irradiation entraîne la surexpression de p53 qui stimule l'expression de Bax, la baisse de la pro-Caspase-3 et la PARP-1 non clivée qui conduit à la dégénérescence des neurones par apoptose. Cela conduit à des troubles cognitifs et mnésiques.

Une valeur de DAS est indiquée sans précision sur sa provenance, ce qui laisse une incertitude sur la valeur estimée de 0,015 W/kg corps entier.

- *Shahin, S., et al. (2018b) "From the Cover: 2.45-GHz Microwave Radiation Impairs Hippocampal Learning and Spatial Memory: Involvement of Local Stress Mechanism-Induced Suppression of iGluR/ERK/CREB Signaling."*

[Cerveau][Système reproducteur]

L'étude de Shahin *et al.*, 2018 vise à décrire les mécanismes responsables de l'altération de la mémoire spatiale hippocampique induite après une exposition de souris mâles adultes à 2,45 GHz chez La distance entre l'antenne cornet et les animaux est de 25 cm pour se situer en champ lointain. La cage est constituée de 10 compartiments. La fréquence de travail est 2,45 GHz en mode continu. La densité de puissance est de l'ordre de 0,25 W/m<sup>2</sup>. Les expositions sont de 2h par jour, pendant 15, 30 ou 60 jours. Le système est pertinent pour une configuration champ lointain et une exposition corps entier. Elle peut s'apparenter à une exposition champ lointain à une fréquence utilisée par exemple pour des communications Wi-Fi. L'apprentissage et la mémoire spatiale sont suivis dans un labyrinthe *radial* à 8 bras (*Test RAM*). Les souris exposées ont une altération importante de la mémoire spatiale dans le test RAM. Il y a également une réduction de la consolidation de la mémoire, une diminution du taux de performance et du pourcentage de temps passé dans les bras précédemment récompensés. L'exposition augmente les niveaux de corticostérone sérique et d'immunoréactivité CRH, CRH-R1 (+ WB) et i-NOS de manière dépendante de la durée mais entraîne une diminution de l'immunoréactivité des récepteurs aux glucocorticoïdes (GR). Ces données montrent que le rayonnement radiofréquences provoque un stress hippocampique et modifie l'expression des protéines de stress. L'expression des récepteurs NMDA et AMPA (témoin de plasticité synaptique) est faible et dans un nombre moindre de neurones de l'hippocampe après les 3 durées d'exposition. Les résultats indiquent une diminution de l'expression de la PKC $\epsilon$ , PKA ERK/p-ERK et CREB/p-CREB dans toutes les sous-régions hippocampiques des souris exposées. Les auteurs concluent que ces diminutions fournissent une base moléculaire des troubles de l'apprentissage et de la mémoire chez les souris exposées aux radiofréquences. Le stress oxydatif et nitrosatif induit par les radiofréquences peut déclencher des réponses locales par le biais de la corticostérone, les GR et CRH-CRH-R1. La charge de radicaux libres induite par le rayonnement peut également supprimer les iGluR (sous-types de récepteurs AMPA et NMDA) au niveau de la synapse glutamatergique pour inhiber la signalisation n-NOS en aval, les kinases associées à la mémoire (PKA-PKC $\epsilon$ -ERK1/2 et pERK1/2) et l'activation de facteurs de transcription (CREB/p-CREB), essentiels à la formation et à la stabilisation de la potentialisation et mémoire à long terme LTP/LTM.

Une valeur de DAS est indiquée sans précision sur sa provenance, ce qui laisse une incertitude de DAS de 0,015 W/kg corps entier. Les tests statistiques ne sont jamais faits par rapport au contrôle mais entre les groupes exposés.

- *Shahin, S., et al. (2014) "2.45-GHz microwave irradiation adversely affects reproductive function in male mouse, Mus musculus by inducing oxidative and nitrosative stress"*

[Foie][Reins][Système reproducteur][système endocrinien]

Shahin *et al.* (2014) s'intéressent à l'effet d'une exposition radiofréquences 2,5 GHz sur l'appareil reproducteur de souris. 12 rats sont maintenus dans une cage exposée par une antenne cornet, à 2,45 GHz, à 0,029 mW/cm<sup>2</sup>, 2 h/jour pendant 30 jours. Ils étudient de plus le foie, le plasma, le cerveau (hypothalamus) et les reins. Les auteurs étudient une série de paramètres de morphologie des testicules. De plus, les spermatozoïdes sont isolés et leur



nombre et leur viabilité est déterminée. Ces données sont complétées par la mesure de deux marqueurs sanguins liés à la fertilité : la concentration en testostérone (ELISA) et l'activité 3 $\beta$ -hydroxystéroïde déshydrogénase. Des paramètres du stress oxydant sont quantifiés dans le plasma et les homogénats de tissus (testicules, foie, reins, hypothalamus, plasma) : quantification des ROS totales par le sonde H2DCFDA; évaluation de la production de NO par mesure du nitrite et du nitrate; niveau de peroxydation lipidique par la mesure du MDA (méthode tBARS); évaluation des activités des enzymes antioxydantes (SOD, Catalase et GPx) sur gel et évaluation de l'expression de la NO synthase par immunohistochimie. Ils vérifient l'absence d'effets thermiques par la mesure de la température rectale des animaux. Les auteurs observent des changements de morphologie dans les testicules des souris exposées. Ils voient également une baisse de 10 % du nombre de spermatozoïdes et de 25% de leur viabilité. En lien avec la fertilité, ils observent une baisse d'un facteur 4 de l'activité 3 $\beta$ HSD et d'un facteur presque 3 de la concentration plasmatique de testostérone. Les paramètres du stress oxydant augmentent, dans des proportions variables, dans tous les organes étudiés :

- ROS totale x5 dans le foie, x1,5 dans les reins, x3.5 dans l'hypothalamus et x4 dans les testicules
- Nitrite+nitrate : +70% dans le foie, +40% dans les reins, +80% dans l'hypothalamus et +20% dans les testicules
- MDA : +85% dans le foie, +20% dans les reins, + 30% dans l'hypothalamus et + 120% dans les testicules ,avec un taux basal plus élevé dans le foie et les reins.
- L'activité SOD baisse de 30 % dans le foie et de 10 à 15 % dans les reins, l'hypothalamus, les testicules et le plasma.
- l'activité catalase baisse de 25% dans le foie les reins et les testicules. Cette diminution est de 65 % dans l'hypothalamus et de 10 % dans le plasma
- Les deux activités GPx étudiées (GPX1 etGPX2) baissent d'un facteur 4 et 5 respectivement dans le foie. Des baisses de 10 à 15 % sont observées dans les reins. Des diminutions statistiquement significatives de moins de 10 % sont détectées dans l'hypothalamus et les testicules pour les deux formes. GPX2 n'est pas vu dans le plasma et GPX1 diminue de 10%
- L'expression de la NO synthase augmente après exposition.

Dans cet article, l'exposition physique décrite en terme de densité de puissance dans la publication en référence est correcte. Le DAS n'est pas justifié. Malgré cette limitations mineure, l'exposition physique est reproductible, elle correspond à un niveau d'exposition modéré de signaux de téléphonie mobile. D'un point de vue biologique, cette étude est bien conçue et les paramètres étudiés nombreux est complémentaires. On peut éventuellement regretter que les modifications morphologiques des testicules restent qualitatives et illustrées par une image par condition, de même que le mesure de l'expression de i-Nos qui repose uniquement sur des images d'immunohistochimie. Les données montrent bien un impact sur les testicules et les spermatozoïdes. Les auteurs mettent bien en évidence l'induction du stress oxydant. La même observation est faite pour les autres organes étudiés : foie, rein, hypothalamus et plasma. Ce travail est intéressant en terme de mécanisme de cancérogenèse des radiofréquences avec l'induction d'un stress oxydant. Un intérêt particulier est l'étude de plusieurs organes chez les mêmes animaux mettant en avant un stress oxydant généralisé, avec une sensibilité particulière du foie.

- *Sharma, S., et al. (2019) Ca<sup>2+</sup> and CACNA1H mediate targeted suppression of breast cancer brain metastasis by AM RF EMF*

[Sein]

L'étude de Sharma *et al.* (2019) fait suite à des travaux proposant une thérapie contre les tumeurs du cerveau basée sur un signal à 27.12 MHz. Dans le présent travail, les auteurs cherchent à définir si cette exposition supprime de manière significative l'apparition de métastases dans le cerveau par activation des voies de stress cellulaire. Le système d'exposition est une cellule TEM et il a été décrit et caractérisé complètement. La fréquence du signal est de 27.12 MHz, avec une modulation d'amplitude à une fréquence comprise entre 500 Hz et 22 kHz. L'exposition est menée 3 h par jour, 7 jours d'affiler avec des niveaux de DAS compris entre 30 et 400 mW/kg. L'inhibition par exposition au BCF est effectuée par l'activation du canal calcique voltage dépendant CACNA1H, qui a augmenté l'afflux intracellulaire de calcium, conduisant à l'activation de la protéine kinase p38 MAPK. L'exposition au BCF réduit le renouvellement des cellules souches cancéreuses (CSC) grâce à la modification de l'expression du gène « *High Mobility Group AT-2* » (HMGA2). De plus, le traitement BCF a supprimé l'angiogenèse dans le micro-environnement tumoral en diminuant la sécrétion exosomale de l'ARN miR-1246.

Des cellules SKBrM3 de la lignée variante métastatique du cerveau du cancer du sein Her2 positif ont été implantées par voie intracardiaque dans des souris NOD-SCID suivies du traitement des animaux par exposition BCF pendant 3 h par jour. Le rayonnement BCF a considérablement réduit les métastases tumorales dans le cerveau et amélioré la survie sans métastase cérébrale. De plus, le rayonnement BCF a diminué la croissance tumorale dans le cerveau lorsque les cellules SKBrM3 ont été implantées dans cet organe. Des cellules 231-BrM variantes métastatiques cérébrales négatives triples, ont été implantées et ont présentées une suppression significative de la croissance tumorale et des métastases dans le cerveau à la suite de l'exposition aux ondes BCF, de manière similaire à celle observée pour les cellules SKBrM3. Ces résultats indiquent que le BCF est capable de supprimer les métastases cérébrales du cancer du sein de différents types, *in vivo*.

L'exposition aux ondes BCF supprime les cellules souches cancéreuses (CSC) par l'intermédiaire de la protéine HMGA2. Neuf gènes sont montrés à régulation différentielle, hausse ou baisse, dans les deux lignées cellulaires exposées aux ondes BCF. De plus, les gènes régulés à la baisse par l'exposition BCF sont fortement exprimés chez les patients présentant des métastases cérébrales par rapport à la cohorte de patients sans métastase cérébrale lorsqu'ils sont examinés par la technique GSEA (« *Gene set enrichment analysis* »)

La suppression de l'expression de HMGA2 par BCF *in vitro* et *in vivo* est validée par qRT-PCR, analyse « western blot » et immunohistochimie. Il est intéressant de noter que le niveau de HMGA2 s'est avéré plus élevé chez les patients présentant des métastases cérébrales que chez les patients sans maladie métastatique ni métastase pulmonaire. De même, les variantes métastatiques cérébrales des cellules cancéreuses du sein ont exprimé un niveau plus élevé de HMGA2 que leurs lignées cellulaires parentales, suggérant que le rôle fonctionnel de HMGA2 est lié aux métastases cérébrales.

L'exposition aux ondes BCF a régulé positivement le niveau de b-caténine phosphorylée tout en diminuant la  $\beta$ -caténine totale de manière dépendante de la protéine kinase CAMKII. Ces résultats suggèrent que le traitement BCF supprime la population de CSC en diminuant l'expression de HMGA2 et la dégradation de  $\beta$ -caténine.

Des lignées cellulaires résistantes à la radiothérapie, lignées 231BrM-RR et SKBrM3-RR traitées par BCF arrêtent leur croissance ; leur population de CSC et leur capacité de formation

de colonies sont supprimées. Cet effet suppressif s'accompagne d'une baisse de la quantité de protéine HMGA2. L'effet d'un traitement par BCF associé à la radiothérapie améliore significativement l'effet antitumoral de la radiothérapie seule, suggérant un effet synergique potentiel *in vivo*. La combinaison de radiothérapie et d'exposition aux ondes BCF supprime les métastases cérébrales.

L'effet inhibiteur de croissance cellulaire par exposition au BCF observé dans cette étude a établi son efficacité dans le traitement des tumeurs métastatiques primaires et récurrentes dans le cerveau. Très bon article pour des fins thérapeutiques indiquant que certaines radiofréquences peuvent amener une destruction de cellules cancéreuse *in vivo* sans dégrader la physiologie des cellules non transformées.

- *Shi, D., et al. (2014) "Intermediate frequency magnetic field generated by a wireless power transmission device does not cause genotoxicity in vitro"*

[Œil]

Shi *et al.* (2014) ont étudié les effets des champs magnétiques de fréquence intermédiaire (IFMF) générés par une transmission de puissance sans fil (WPT) basée sur la résonance magnétique du point de vue de la génotoxicité cellulaire sur des cellules épithéliales de lentille humaine cultivées (HLEC). Des bobines exposent des échantillons biologiques en champ magnétique de 90 kHz, à 93 µT pendant 2 ou 4 heures. Les auteurs ont ainsi évalué les effets de l'exposition à des champs magnétiques de 90 kHz à 93,36mT sur la génotoxicité cellulaire *in vitro* pendant 2 et 4 h. L'induction magnétique est environ 3,5 fois supérieure au niveau de référence recommandé par les directives de la Commission internationale de protection contre les rayonnements non ionisants (ICNIRP). Pour l'évaluation de la génotoxicité, les auteurs ont étudié la prolifération cellulaire, l'apoptose et les dommages à l'ADN par le test CCK-8 (Cell Counting Kit-8), l'analyse par cytométrie de flux, le test des comètes alcalines et le test de formation de foyers d'histone H2AX phosphorylée (γH2AX). Les auteurs n'ont détecté aucun effet d'un IFMF de 90 kHz généré par le WPT basé sur la résonance magnétique sur la prolifération cellulaire, l'apoptose, le test des comètes et le test de formation de foyers γH2AX. Ces résultats indiquent que l'exposition à un IFMF 90 kHz généré par WPT basé sur la résonance magnétique à 93,36mT pendant 2 et 4 h ne provoque pas de génotoxicité cellulaire détectable. La dosimétrie de cette étude est correcte et représentative de signaux rayonnés par des dispositifs de transfert d'énergie sans fil, à fort niveau.

- *Silva, V, et al. (2016) Effect of cell phone-like electromagnetic radiation on primary human thyroid cells.*

[Thyroïde]

Silva *et al.* (2016) examine si une exposition aux radiofréquences émises par les téléphones portables induisent des altérations sur des cultures de cellules primaires de la thyroïde humaine. Une culture primaire de cellules thyroïdiennes a été préparée à partir de tissu thyroïdien normal obtenu chez des patients opérés dans leur service. Des cellules thyroïdiennes sous-confluentes ont été exposées. Le système d'exposition est constitué d'une antenne de station de base placée dans un incubateur, en haut. L'antenne est située en haut de l'incubateur à une distance de 40 cm des plaques exposées. La puissance est ajustée pour obtenir des densités de puissance de 80 et 210 µW/cm<sup>2</sup>, soit 0,8 et 2,1 W/m<sup>2</sup> à la fréquence de 900 MHz. Le fond de l'incubateur est recouvert de matériaux absorbants à base de ferrite (manque la référence !). Le DAS est déterminé par simulation sans information sur le calcul. Les expositions sont effectuées durant 3 h et 16 h à la densité de puissance de 80 µW/cm<sup>2</sup>, et 65 h à 210 µW/cm<sup>2</sup>. Les valeurs de DAS sont indiquées, à savoir 0,082 W/kg (80 µW/cm<sup>2</sup>), et

0,17 W/kg (210  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ), sans en connaître la provenance autre que par simulation numérique. La prolifération des cellules est analysée par immunomarquage du Ki-67) et du suppresseur de tumeur p53. La ploïdie, la protéine de choc thermique 70 (HSP70) et les espèces ROS sont analysés en cytométrie de flux.

Les cellules en culture expriment fortement la thyroglobuline et le symporteur d'iodure de sodium confirmant la culture des thyrocytes. Quelles que soient les conditions d'exposition, aucune modification, de la prolifération (Ki67 et p53), de la ploïdie et de l'expression des biomarqueurs HSP70 et ROS n'a été observée par rapport aux cellules témoin-exposition. En conclusion, les différentes conditions d'exposition aux radiofréquences n'ont aucun effet sur la prolifération, la ploïdie, le stress.

Ce travail souffre de quelques limites mineures. Le système d'exposition est pertinent et représente des conditions type proximité d'une station de base de réseau de téléphonie mobile. Cependant, la non proportionnalité du DAS en fonction de la densité de puissance n'est pas correcte, de même que l'absence de distribution spatiale du DAS dans les échantillons. Il n'y a pas d'information sur le pilotage et sur des mesures de températures dans les échantillons. Le manque de précision sur les DAS en particulier limite la portée des résultats obtenus. Sur le plan biologique, on ne connaît pas le nombre de pièces chirurgicales qui ont permis d'obtenir la culture primaire de thyrocytes. Il aurait été souhaitable de disposer de plusieurs cultures primaires. Le matériel et méthodes est très imprécis. Les conclusions des auteurs sont franchement exagérées dans la mesure où ils concluent qu'il n'y a pas de lien entre l'augmentation du cancer de la thyroïde et l'augmentation de l'utilisation des téléphones portables et l'expression de la HSP70 dans des cultures primaires de thyrocytes normaux humains.

- *Simon, D., et al. (2013) Exposure to acute electromagnetic radiation of mobile phone exposure range alters transiently skin homeostasis of a model of pigmented reconstructed epidermis*

[Peau]

Simon *et al.* (2013) étudient les effets de l'exposition au téléphone mobile (GSM de base, 900 MHz, SAR 2 mW/kg 1, 6 h) sur un modèle de la peau pigmentée en analysant l'expression et la localisation (histologie, immunohistochimie et Western-blot) de différents marqueurs de kératinocytes et de la différenciation des mélanocytes 2, 6, 18 et 24 h après l'exposition. Le système d'exposition est basé sur un résonateur constitué de guide d'onde court-circuité, dans lequel sont placées 8 boîtes de Pétri. Le tout est placé dans un incubateur avec une ventilation adaptée. Le signal est de type GSM à la fréquence de 900 MHz. Le niveau d'exposition est de 2 W/kg durant 6 h en continu. Le système repose sur une des solutions pertinentes pour exposer des cultures de cellules *in vitro*, et la dosimétrie est fournie lors de l'acquisition de l'équipement auprès d'un spécialiste du domaine.

Les modèles d'épidermes reconstruits sont cultivés sur un derme désépidermisé mort contenant soit seulement des kératinocytes soit une combinaison de kératinocytes et mélanocytes. Aucun changement n'a été trouvé dans l'architecture épidermique, la localisation des marqueurs épidermiques, la présence de cellules apoptotiques et l'induction de p53 dans les deux types d'épiderme (avec ou sans mélanocytes) après exposition. Dans les reconstructions pigmentées, aucun changement dans la localisation et la dendricité des mélanocytes et dans le transfert de mélanine vers les kératinocytes voisins n'a été détecté après l'exposition. Aucune modification des marqueurs de stress, du nombre de cellules apoptotiques, aucune variation significative de p53 et de la caspase 3, pas de ROS, pas de modification de l'oxydation globale des protéines dans les reconstructions avec ou sans mélanocytes. Une diminution significative de l'activité du protéasome 20S est observée 24h



après l'exposition. Aucun changement notable n'a été trouvé dans la localisation des marqueurs basaux (cytokératines 5, 14) et des marqueurs tardifs de différenciation (loricrine, filaggrine). La double coloration de la filaggrine et de melanA, de la cytokératine 5 et de melanA a révélé une expression similaire des marqueurs épidermiques avec et sans mélanocytes. L'expression de p63, qui indique le taux de prolifération épidermique, a diminué de manière transitoire 2 h après l'exposition. Il est, comme attendu, exprimé dans les couches basales et supra-basale dans les deux types de reconstructions, et aucun changement d'intensité nucléaire n'a été détecté 6 h après l'exposition (mêmes résultats dans les reconstructions avec ou sans mélanocytes).

Une diminution significative de la loricrine 2h après l'EMR toujours significative à 6 h. La cytokératine 14 est également significativement diminuée à 6 h. La filaggrine mesurée à 2, 6, 18 et 24 h post-exposition est toujours plus faible que dans les reconstructions témoins. Le niveau de cytokératine 5 n'est pas significativement modifié par l'exposition. Les niveaux moyens de protéines de tous les marqueurs de différenciation étaient inférieurs aux niveaux basaux à 6 h. À 24 h, les niveaux moyens ont augmenté mais étaient toujours inférieurs aux niveaux de base pour la filaggrine et la cytokératine 14. En conclusion, les données montrent que l'exposition peut entraîner transitoirement des modifications dans l'homéostasie épidermique. Les conditions s'apparentent à une exposition locale, type téléphone à proximité de la tête, avec un niveau égal aux restrictions de base (2 W/kg).

- Singh, K. V., et al. (2020) "Effect of mobile phone radiation on oxidative stress, inflammatory response, and contextual fear memory in Wistar rat"

[Cerveau][Sang et Plasma][Système endocrinien]

Singh *et al.* (2020) ont étudié l'impact psychologique des radiofréquences chez des rats, utilisant des téléphones mobiles du commerce comme source d'exposition. Les rats ont été exposés 2 h par jour pendant 16 semaines à une fréquence de 1966,1 MHz ; la puissance des sources était de 4 mW/cm<sup>2</sup>. Un calcul de DAS pour le groupe exposé, réalisé suivant la formule de Durney (1979) et utilisant une densité incidente de 1 mW/cm<sup>2</sup>, a donné une valeur de 0,36 W/kg (0 W/kg pour le témoin-exposition).

Dans un contexte particulier de rats stressés par un *contextual fear conditioning*, les auteurs montrent que l'exposition aux radiofréquences induit un stress oxydant dans l'hippocampe (augmentation de 80 % de ROS (p<0,001), de 24 % de TBARS (p<0,05) et de 37 % de protéines oxydées (p<0,05)). En parallèle, la capacité antioxydante du plasma diminue de 25 % (p<0,05). Les auteurs rapportent aussi une augmentation de la concentration plasmatique de trois cytokines pro-inflammatoires (augmentation de 45 % de IL-1β (p<0,05), de 37 % de IL-6 (p<0,01) et de 80 % de TNF-α (p<0,001)). Ils notent également une hypertrophie surrénale et la production d'hormones de stress (augmentation de 58 % de ATCH et de 20 % de CORT). Par contre, aucun impact significatif des radiofréquences n'est observé sur le comportement après le *contextual fear conditioning*.

L'exposition se faisant en champ très proche (3 cm), la dosimétrie est presque impossible à réaliser. À cela s'ajoute l'absence de contrôle de la température des animaux ; seule la chambre anéchoïque est maintenue à température constante (25°C). Sur le plan de la biologie, cette étude est plutôt bien menée et apporte des éléments montrant l'induction d'un stress oxydant et de la production de cytokines pro-inflammatoire dans l'hippocampe de rats exposés aux radiofréquences. Ces résultats sont obtenus dans un contexte particulier, car les rats ont subi un conditionnement stressant, mais la significativité des résultats permet tout de même d'inclure le travail dans cette expertise, en complément à d'autres études réalisées sur des animaux non stressés.

- *Siqueira, E. C., et al. (2016) "Cell phone use is associated with an inflammatory cytokine profile of parotid gland saliva"*

[sphère orale]

Siqueira *et al.* (2016) ont réalisé une étude pour déterminer si l'utilisation de téléphones mobiles peut agir sur les glandes parotides humaines en modifiant les cytokines qu'elles sécrètent dans la salive. La population d'étude incluait 83 individus brésiliens sains. La glande parotide exposée par le téléphone mobile a été déterminée en fonction de la main dominante (droitier ou gaucher) des participants. Les sécrétions salivaires ont été prélevées sur la glande salivaire ipsilatérale pour les échantillons exposés et controlatérale pour les échantillons témoins (témoin non exposé intra-individuel). Les concentrations salivaires de l'interleukine 1 b (IL-1 b), interleukine 6 (IL-6), interleukine 10 (IL-10), interféron c (IFN-c) et du facteur tumoral de nécrose alpha (TNF-a) ont été mesurées par test Elisa et ont été normalisées par rapport au flux salivaire et à la quantité de protéines totales dans les extraits.

Après correction statistique liée aux tests multiples, une diminution de l'IL-10 et une augmentation des taux salivaires d'IL-1b du côté exposé par rapport au côté controlatéral sont observées. Les sujets qui ont utilisé des téléphones portables pendant plus de 10 ans présentent des différences en IL10 plus importantes lorsque l'on compare la parotide exposée et la non-exposée. Aucune différence n'a été observée entre les deux parotides des individus utilisant le téléphone portable peu fréquemment (quelques minutes par mois). En conclusion, l'exposition des glandes parotides aux téléphones mobiles peut modifier les niveaux salivaires d'IL-10 et d'IL-1b, suggérant que l'exposition induit une réponse pro-inflammatoire.

Les limites méthodologiques rencontrées dans cette étude sont mineures au regard des critères définis pour cette expertise. Le recueil de la salive est réalisé grâce à un appareil propriétaire, mais peu de données sont fournies sur cet appareillage, sur le recueil de la salive et sur le déroulement des mesures. Il n'y a pas de données de reproductibilité et les possibles facteurs confondants et biais ne sont pas évoqués.

- *Smith-Roe, S. L., et al. (2020) Evaluation of the genotoxicity of cell phone radiofrequency radiation in male and female rats and mice following subchronic exposure*

[Cerveau][Sang et plasma][Foie]

Le Programme National de Toxicologie a testé deux modulations courantes du rayonnement radiofréquence (RFR) émis par les téléphones cellulaires dans le cadre d'un essai biologique de deux ans sur le cancer des rongeurs, qui comprenait des évaluations intermédiaires d'animaux supplémentaires pour les paramètres de génotoxicité. Un ensemble de chambres réverbérantes (21 en tout) a été mis en place pour exposer des rats, 900 MHz-GSM, et des souris 1,900 MHz-UMTS dans des conditions non contraintes. Des brasseurs de modes sont présents pour assurer l'homogénéité des champs électromagnétiques à l'intérieur des cages. Les animaux sont placés un par cage pour limiter les interférences et les niveaux d'exposition sont de : 0,5, 3, ou 6 W/kg (rats, 900 MHz) et 2,5, 5, ou 10 W/kg (souris, 1,900 MHz). Les différents paramètres physiques, intensité du champ, uniformité, modulation des signaux, ont été vérifiés et un contrôle de l'exposition est effectué à travers un monitoring complet des expérimentations. L'exposition est effectuée en discontinu, 10 min on et 10 min off, pour un total d'exposition de 9 h 10 min par jour, durant 14 semaines. Des rats mâles et femelles Hsd:Sprague Dawley SD et des souris B6C3F1/N ont été exposés à partir du jour de gestation jour de gestation ou le jour postnatal 35, respectivement. Accès multiple par répartition en code (AMRC) ou à des modulations du système mondial de téléphonie mobile (SMM) pendant 18 heures par jour, à des intervalles de 10 minutes, dans un environnement réverbérant à des d'absorption spécifiques de 1,5, 3 ou 6 W/kg (rats, 900 MHz) ou 2,5, 5 ou 10 W/kg (souris, 1

900 MHz). Après 19 semaines d'exposition (rats) ou 14 semaines d'exposition (souris), les animaux ont été examinés afin de détecter des signes de génotoxicité associée aux radiofréquences à l'aide de deux mesures différentes. Les dommages à l'ADN ont été évalués dans les cellules de trois régions du cerveau, les cellules du foie et les leucocytes du sang périphérique ; à l'aide du test du micronoyau, les lésions chromosomiques ont été évaluées dans des érythrocytes du sang périphérique immatures et matures. Les résultats de l'essai des comètes ont montré une augmentation significative des lésions de l'ADN dans le cortex frontal des souris mâles (les deux modulations), les leucocytes des souris femelles (CDMA seulement) et l'hippocampe des rats mâles (CDMA seulement). Des augmentations des lésions de l'ADN jugées équivoques ont été observées dans plusieurs autres tissus de rats et de souris. Aucune augmentation significative des globules rouges micronucléés n'a été observée chez les rats et les souris.

En conclusion, ces résultats suggèrent que l'exposition à la radiofréquence est associée à une augmentation des dommages à l'ADN. Il reste à savoir si les résultats des études animales du NTP (par exemple, gliomes malins dans le cerveau et schwannomes malins dans le cœur des rats mâles ; augmentation des niveaux de dommages à l'ADN dans les cellules de l'hippocampe des rats mâles et dans le cortex frontal des souris mâles) indiquent un potentiel de résultats néfastes pour la santé chez les humains. En effet, l'une des questions les plus importantes soulevées par ces résultats concerne le(s) mécanisme(s) par lequel(lesquels) les radiofréquences pourraient induire des effets biologiques, des études de suivi menées par le NTP pour étudier les mécanismes de dommages génétiques associés à l'exposition aux radiofréquences sont en cours. Nous en attendons maintenant les résultats.

- *Speit, G., et al. (2013) Genotoxic effects of exposure to radiofrequency electromagnetic fields (RF-EMF) in HL-60 cells are not reproducible*

[Sang et plasma]

Speit *et al.* (2013) ont cherché à confirmer les résultats rapportés par le projet collaboratif REFLEX (« *Risk Evaluation of Potential Environmental Hazards From Low Energy Electromagnetic Field Exposure Using Sensitive in vitro Methods* ») (financé par l'UE) indiquant un potentiel génotoxique des radiofréquences sur la lignée cellulaire humaine HL60. En effet, différents résultats indiquant un potentiel génotoxique des radiofréquences ont été rapportés par le projet collaboratif REFLEX. Il y a eu un débat scientifique sur la fiabilité des résultats rapportés. Une tentative pour reproduire les résultats obtenus avec des fibroblastes humains a déjà échoué. Dans ce travail, le but est de reproduire les effets sur la lignée lymphoblastoïde humaine HL-60 en mesurant la génotoxicité par le test des comètes et le test du micronoyau. Ce travail est réalisé par les scientifiques qui participaient au travail initial dans des conditions expérimentales identiques. Les cellules ont été exposées exactement dans les mêmes conditions que celles utilisées dans le programme REFLEX. 6 boîtes de Petri ont été disposées dans un guide d'onde, à 1800 MHz, pour un DAS de 1,3 W/kg. L'exposition est intermittente, pendant 5 minutes (ON) puis arrêt de 10 minutes (OFF), sur une durée totale de 24h. L'exposition physique est de bonne qualité ; elle est représentative de l'exposition à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Les méthodes pour les analyses biologiques sont les mêmes que celles utilisées précédemment, seule l'origine des cellules HL60 est différente. Les expériences ont été faites par deux équipes, l'une à Berlin et l'autre à Ulm. Les analyses Comète sur les cellules HL60 exposées à Ulm ne montrent aucune différence par rapport aux cellules témoin non exposées ce qui est donc contradictoire par rapport aux résultats de REFLEX.

Les nouvelles études réalisées à Berlin ne confirment pas les résultats de l'étude REFLEX (même si ces expériences ont été faites par le même technicien qu'initialement). Les

fréquences MN mesurées dans les cultures exposées aux radiofréquences ne diffèrent pas de celles des cultures témoin-exposition et des cultures témoin-incubateur.

Les auteurs mentionnent que les conditions d'exposition (des expériences REFLEX et des expériences répétées) n'étaient pas optimales car des supports de boîtes de Petri pour les cellules monocouches ont été utilisés et non les supports recommandés pour l'exposition en suspension de cellules.

Les auteurs ne peuvent pas expliquer les résultats contradictoires, ils ne peuvent pas exclure que des cellules HL-60 provenant de différentes sources, cultivées dans différents lots de milieux de sérum de veau fœtal ainsi que des écarts mineurs par rapport au cadre expérimental aient pu influencer les résultats. Cependant, il est peu probable que de tels changements subtils potentiels transforment un effet génotoxique clairement positif en un effet négatif. De plus, la signification biologique des effets génotoxiques dans les cellules HL-60 observés dans les expériences précédentes semble être discutable en raison de l'absence d'une relation dose-effet claire et de la forte limitation des effets positifs à une gamme étroite de valeurs DAS.

- *Su, L., et al. (2017) RF-EMF exposure at 1800 MHz did not elicit DNA damage or abnormal cellular behaviors in different neurogenic cells*

[Cerveau][développement]

Su, L., et al. (2017) ont analysé les effets des radiofréquences sur les dommages à l'ADN et le comportement cellulaire dans différentes cellules neurogènes.

Des cellules tumorales neurogènes humaines A172, U251 (glioblastome) et SH-SY5Y (neuroblastome) sont disposées dans un guide d'onde, à 1800 MHz, pour un DAS de 4 W/kg. L'exposition est intermittente, pendant 5 minutes (ON) puis arrêt de 10 minutes (OFF), sur une durée totale de 1h, 6h ou 24h. L'exposition est représentative de l'exposition à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile à un niveau élevé. Les dommages à l'ADN sont évalués par quantification des foyers de  $\gamma$ H2AX. La progression du cycle cellulaire, la prolifération cellulaire et la viabilité cellulaire ont été examinées par cytométrie en flux.

Les résultats montrent que l'exposition aux radiofréquences à un DAS de 4,0 W/kg n'induit pas la formation de foyers de  $\gamma$ H2AX dans les cellules A172, U251 ou SH-SY5Y et ne modifie pas la progression du cycle cellulaire, la prolifération ou la viabilité cellulaire jusqu'à 48h après l'exposition. L'interprétation des données est correcte et se fait au regard d'une analyse statistique et de témoins négatifs et positifs adaptés.

- *Su, L., et al. (2018) Effects of 1800 MHz RF-EMF exposure on DNA damage and cellular functions in primary cultured neurogenic cells*

[Cerveau][Développement]

Su et al. (2018) étudient les effets d'une exposition de 1h, 6h ou 24h aux radiofréquences à 1800 MHz sur les dommages à l'ADN et les fonctions cellulaires dans des cultures primaires corticales d'astrocytes et de microglie prélevés sur des rats nouveau-nés Sprague-Dawley et des cellules gliales de rats nouveau-nés de 1 jour postnatal. Les boîtes de Petri sont disposées dans un guide d'onde, à 1800 MHz, pour un DAS de 4 W/kg. L'exposition est intermittente, pendant 5 minutes (ON) puis arrêt de 10 minutes (OFF). L'exposition est représentative de l'exposition à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile à un niveau élevé.

Les dommages à l'ADN par l'analyse des foyers gammaH2AX ont été analysés dans la microglie, les astrocytes et les neurones. Les sécrétions de cytokines pro-inflammatoires



(TNF- $\alpha$ , IL-6 et IL-1 $\beta$ ) ont été analysées par Elisa dans les astrocytes et la microglie. L'activité phagocytaire microgliale a été analysée par un test de sphère fluorescente et le développement neuronal a été mesuré par dosage immuno-enzymatique et par observation au microscope après coloration immunofluorescente de la protéine tau, la protéine associée aux microtubules 2, la protéine de densité postsynaptique 95 et la géphyrine. Une analyse morphologique des axones et des dendrites dans les neurones a été faite après immunocoloration. L'exposition aux radiofréquences n'induit pas la formation de foyers de P-H2AX dans les trois types cellulaires en culture primaire. L'exposition aux radiofréquences ne modifie pas la sécrétion de cytokines dans les astrocytes et la microglie, et n'altère pas la morphologie des dendrites ou des synapses des neurones corticaux. En revanche, l'exposition a réduit l'activité phagocytaire de la microglie et a inhibé la longueur des branches axonales et le nombre de branches des neurones corticaux.

Les données montrent que l'exposition aux radiofréquences ne provoque pas de dommages à l'ADN dans les trois types de cellules. Il n'est pas précisé à quel(s) passage(s) les cultures primaires sont exposées. En ce qui concerne l'analyse des changements morphologiques des neurones, il est dit dans matériel et méthodes que les cellules sont exposées 1h/jour de « Div 1 à Div 14 » et les analyses morphologiques sont faites à J7. Il est difficile de faire le lien entre la division et les jours puisque l'on ne connaît pas le temps de génération de ces cellules.

- *Sueiro-Benavides, RA et al. (2020) Radiofrequency at 2.45 GHz increases toxicity, pro-inflammatory and pre-apoptotic activity caused by black carbon in the RAW 264.7 macrophage cell line*

[Système immunitaire]

Sueiro-Benavides *et al.* (2021) s'intéressent à l'impact de radiofréquences (2,45 GHz) en présence de noir de charbon (BC) sur des macrophages en terme de toxicité, d'activité de phagocytose et d'inflammation. Le système d'exposition fonctionne à la fréquence de 2,45 GHz et est composé d'un générateur de signal, d'un amplificateur, qui délivre des signaux sinusoïdaux à d'une chambre GTEM. Un coupleur est utilisé entre l'amplificateur et la chambre afin de mesurer la puissance incidente en entrée de la chambre avec un puissance mètre. Un analyseur de spectre raccordé au coupleur permet de mesurer la puissance réfléchi. Ce système est exposé dans (Lopes-Furelos *et al.* 2018). Une sonde isotrope est utilisée pour mesurer la valeur crête du champ là sont placées les flasques de culture. Cette valeur a été définie sans la présence des flasques contenant ultérieurement les cellules, ce qui représente un léger biais dans l'évaluation du SAR, étant donné la taille de la flasque de culture par rapport à celle de la GTEM. Le SAR est calculé par la méthode FDTD à l'aide du logiciel SEM-CAD X et présente une valeur de 0,406 W/kg à 2,45 GHz, valeur inférieure à la limite grand public de 2 W/kg. Un socle pour les flasques de culture comprend un système de régulation thermique afin de maintenir la température à 37,5°C au niveau des cellules. Le système d'exposition radiofréquences est pertinent, avec une exposition champ lointain et un niveau inférieur aux limites d'exposition, soit un SAR de 0,406 W/kg inférieur à la limite grand public de 2 W/kg.

L'étude inclut 18 groupes de 6, les auteurs étudiant diverses réponses après 24 ou 72 h d'exposition au BC (1,5 ou 150  $\mu\text{g/ml}$ ) en présence ou non de radiofréquences, ou de radiofréquences seules. Les effets observés sont les suivants :

- Aucun effet de BC 1,5  $\mu\text{g/ml}$ , radiofréquences ou BC1,5  $\mu\text{g/ml}$ +RF sur la viabilité à 24h. Quand BC passe à 150  $\mu\text{g/ml}$ , la viabilité BC baisse de 40% et celle BC+RF de plus de 60%. Avec un temps d'exposition de 72h, la perte de viabilité est de 20% avec BC 1,5  $\mu\text{g/ml}$ , radiofréquences ou BC 1,5  $\mu\text{g/ml}$ +RF. La perte de viabilité monte à 50 % pour BC et 70% pour BC+RF avec 150  $\mu\text{g/ml}$ .

- à 1,5 µg/ml de BC, tant avec que sans radiofréquences, le % de phagocytose double entre 24 et 72h de 10 à 20 %. Il est 5% plus élevé à 24h en présence qu'en absence de radiofréquences. Avec 150 µg/ml de BC, les niveaux de phagocytose sont similaires à 24 et 72h (environ 23 %) avec une valeur légèrement plus élevée (25%) à 24h en présence de radiofréquences.

- la production de NO en réponse au LPS est quasi nulle à 24 h dans les contrôles. On passe à 2, 3 et 6 mM/10<sup>6</sup> cell pour BC 1,5 µg/ml, Rf ou BC 1.5 µg/ml+RF. Les résultats sont similaires pour BC 150 µg/ml+RF. Avec BC 150 µg/ml, les auteurs ne détectent pas de NO. Dans les traitements 72 h avec 1,5 ou 150 µg/ml de BC avec ou sans radiofréquences, le taux de NO est très bas. Les contrôles sont à 1 mM/10<sup>6</sup> cell et les radiofréquences à 1,5. Quand la mesure est faite à 72h après un traitement 72h avec 1,5 µg/ml, les contrôles sont à 1, BC à 10, radiofréquences à 12 et BC+RF à 4. Les radiofréquences stimulent donc la production de NO à court terme mais la baissent à long terme.

- L'inflammation n'est étudiée qu'à 1,5 µg/ml de BC. TNF-α passe de 0,5 dans les contrôles à 1, 1,3 et 1,1 pour BC, radiofréquences et BC+RF. À 72 h, tous les échantillons sont à 1. A 24 pour IL-1β, le profil est similaire avec les témoins à 0,6, CB à 1, radiofréquences à 1,4 et CB+RF à 1,2. A 72h CB et radiofréquences ne sont pas statistiquement différents des contrôles mais la combinaison BC+RF est à 1,5.

- l'induction du gène de la caspase 3 à 24 h d'exposition est du même ordre de grandeur entre contrôles et BC (0,7 et 1,1, ns). Radiofréquences et CB+RF sont plus élevés à 1,4 et 1,5. A 72h, seul radiofréquences+BC reste significativement plus élevé (+20% vs BC ou radiofréquences).

Le travail est bien mené. Le système d'exposition radiofréquences est pertinent, avec une exposition champ lointain avec un niveau inférieur aux limites d'exposition, soit un SAR de 0,406 W/kg inférieur à la limite grand public de 2 W/kg. Un point faible est à noter sur l'apoptose qui n'est vue que par l'expression du gène de la caspase-3. Un manque de rigueur éditorial sur certaines figures complique la lecture et décrédibilisent un peu l'article. Il reste que des données intéressantes peuvent être retirées pour la thématique "cancérogénèse". Concernant les radiofréquences seules, les données montrent une faible perte de viabilité, la production de NO à 24h mais moins à 72h et une augmentation à 24h seulement des gènes marqueurs d'inflammation. L'expression de la caspase 3 augmente aussi à 24h mais pas à 72h. Dans les expériences sur la combinaison BC+RF, une première observation est une potentialisation de la perte de viabilité du BC à la plus forte dose par les radiofréquences. A 24h on note un effet stimulateur faible des radiofréquences sur les capacités de phagocytose. Le rôle du temps semble plus fort que celui de l'exposition radiofréquences. Concernant l'inflammation, la production de NO ainsi que l'expression de TNF-α et IL-1β sont stimulées par les radiofréquences à 24h, effet qui disparaît à 72h. Enfin, la surexpression de la caspase-3 dans la combinaison CB+RF, surtout nette à 24h, suggère une induction d'apoptose. Ces deux séries de résultats montrent que si les radiofréquences ont un effet délétère en conjonction avec le BC sur les macrophages, il est plutôt à court terme.

- Sun, Y., et al. (2017) *Mitochondrial DNA damage and oxidative damage in HL-60 cells exposed to 900 MHz radiofrequency fields*

[Sang et plasma]

Sun *et al.* (2017) étudient l'impact de radiofréquences sur les mitochondries. Ils exposent une lignée leucémique humaine (HL-60) dans un protocole d'exposition répétée (4h/jour pendant 5 jours) et analysent divers réponses cellulaires 30 min, 4 h et 24 h après la fin de l'exposition. Les boîtes de Pétri sont disposées dans une GTEM, exposées à un champ de 900 MHz,

4h/jour pendant 5 jours, à 120  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . L'exposition est contrôlée toutes les 5 minutes. Un témoin positif, une exposition au rayonnement gamma, est utilisé et donne des résultats très similaires aux radiofréquences. Pour chaque expérience avec les radiofréquences (faible DAS) et les gammas (RG, 6Gy), les auteurs testent l'influence de l'ajout de mélatonine (Mel), composé connu pour ses propriétés antioxydantes. Il est tout à fait remarquable que l'induction d'effets et leur intensité soient quasi-identiques dans tous les tests entre radiofréquences et gamma. La production de ROS augmente de 40% 30 min après exposition avec les radiofréquences et RG, pour rejoindre le niveau basal à 24h. Cet effet est totalement inhibé par l'ajout de mélatonine. Radiofréquences et RG diminuent l'expression des facteurs de transcription mt-TFA et Poly-g de 50% à 30 min et 75% à 4h. Cet effet est partiellement diminué par Mel. Une tendance similaire est vue pour les gènes ND1 et 16S. Dans ce cas, Mel seul stimule légèrement leur induction. L'effet de moindre diminution de l'expression dans les expériences radiofréquences+Mel et RG+Mel semble plutôt additif. Le nombre de copies de mt-ADN baisse d'environ 40% avec radiofréquences et RG à 30 min avant de retrouver un niveau quasiment basal à 24h. Cet effet est partiellement inhibé par l'ajout de Mel puisque les baisses du nombre de copies ne sont plus que de 75% à 30 min. Le niveau de 8-oxodG dans l'ADN mitochondrial augmente de 50 % à 30 min avec radiofréquences et RG puis diminue pour retrouver un niveau presque basal à 24h. Avec l'ajout de Mel limite l'augmentation à 30 min à 20 % pour Rfa et 30 % pour RG. Enfin, le niveau d'ATP intracellulaire chute de 40 % 30 min après l'exposition radiofréquences ou RG. Il remonte à 90% du niveau basal en 24h. L'ajout de Mel compense partiellement cet effet, la baisse n'étant plus que de 30%.

La dosimétrie de cette étude est sommaire. Le DAS n'est pas indiquée, tout comme l'orientation des boîtes de Pétri. La seule connaissance de la densité de puissance rend cette étude acceptable en terme de reproductibilité. Cette exposition est comparable à celle à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Ce travail biologique est quant à lui bien conçu et réalisé, excepté l'absence non rédhibitoire de certains résultats statistiques. Il montre clairement un effet des radiofréquences étudiées sur les mitochondries des cellules exposées. Une implication du stress oxydant est de plus clairement démontrée. Cet effet semble cependant transitoire puisque tous les paramètres étudiés sont perturbés 30 minutes après la fin de l'exposition pour retrouver un niveau basal après 24h.

- *Szymański, Ł, et al. (2020) "Immunotropic effects in cultured human blood mononuclear cells exposed to a 900 MHz pulse-modulated microwave field."*

[Sang et plasma][Système immunitaire]

Szymański *et al.* (2020) s'intéressent à l'impact des radiofréquences sur des cellules mononucléées de sang humain. Les auteurs basent leurs résultats sur des mesures de prolifération (incorporation de thymidine tritiée, 3H-Thd) en présence d'inducteurs de mitose. Le système est basé sur une exposition d'une plaque de 96 puits par une antenne positionnée sous la plaque, le tout insérer dans un incubateur transformé en chambre anéchoïde. Le signal de type radar, avec une porteuse à 900 MHz et des impulsions de 570  $\mu\text{s}$  avec une fréquence de récurrence de 877 Hz. La valeur moyenne du champ électrique est de 20 V/m. Une estimation du DAS est de 0,024 W/kg. La détermination de cette valeur reste sujette à interrogation, car référencée à un article proposant une étude à 1300 MHz. L'exposition s'apparente à une condition champ lointain avec un signal de type radar. Les paramètres rapportés sont obtenus par des expériences impliquant des transferts de milieu et des calculs complexes décrits dans d'autres articles. Les auteurs s'intéressent ainsi i) à l'incorporation de 3H-Thd comme mesure de la prolifération ii) un facteur LM qui représente la sensibilité de la prolifération des lymphocytes aux monokines (IL-1, TNF $\alpha$  et IL-6) iii) la réponse des lymphocytes T à la phytohemagglutinine (PHA) iv) la réponse des lymphocytes T à la

concanavalin A (Con A) v) l'action suppressive sur les lymphocytes T (index SAT), et enfin vi) la saturation des récepteurs de IL-2. L'incorporation spontanée de 3H-Thd n'est pas jamais affectée par les radiofréquences dans les cellules sans stimulation, ni non plus la réponse à Con A ou l'activité suppressive des lymphocytes T. Par contre, les auteurs observent la modulation de plusieurs paramètres dans un schéma d'exposition double (15 min Rf, 24h, 15 min radiofréquences), et aussi de simple exposition pour LM. La réponse à PHA baisse dans la double exposition (-18%) et l'indice de saturation à IL-2 en présence de PHA est légèrement plus élevé (+ 5%). Le ratio mitogen PHA/ConA est quant à lui plus faible avec la double exposition (-11%). A l'inverse, l'indice LM est lui plus élevé avec la simple (+85 %) et la double irradiation (+56%). Ce travail montre que les radiofréquences peuvent ralentir la prolifération des lymphocytes quand celle-ci est induite par la PHA. Une autre information est une augmentation de la sensibilité des lymphocytes à certaines cytokines en présence de radiofréquences.

L'absence d'élément de contrôle de l'exposition, en particulier de la température, et les réserves exprimées sur le calcul du DAS limite l'analyse des résultats de cette étude. L'article souffre d'une détermination très complexe des paramètres rapportés. Ils sont tous issus de mesures de prolifération en présence d'agents mitogènes, et après réalisation de transfert de milieu. L'absence d'explications sur les bases biologiques du calcul de ces paramètres, définis dans d'autres publications, rend difficile l'interprétation des résultats. A travers la complexité de compréhension dû à la rédaction obscure de l'article, il peut quand même être conclu que Pour la thématique cancer, ce travail apporte quelques évidences d'un effet immunosuppresseur des radiofréquences.

- *Tan, S, et al. (2017) "Study on dose-dependent, frequency-dependent, and accumulative effects of 1.5 GHz and 2.856 GHz microwave on cognitive functions in Wistar rats."*

[Cerveau]

De nombreuses études ont révélé le déclin cognitif induit par le rayonnement micro-ondes. Tan *et al.*, 2017 ont réalisé chez le rat mâle Wistar, une première série études qui a consisté à évaluer les effets de l'exposition à 2,856 GHz et 1,5 GHz à 5 mW/cm<sup>2</sup>, à 10 mW/cm<sup>2</sup>. La deuxième série d'études a consisté à évaluer les effets cumulatifs des micro-ondes, en exposant les animaux à 2,856 GHz pendant 6 minutes, puis immédiatement à 1,5 GHz pendant 6 minutes avec une densité de puissance de 5 mW/cm<sup>2</sup> ou de 10 mW/cm<sup>2</sup>. Le dispositif est basé sur une exposition à l'aide d'une antenne cornet placé au-dessus de l'animal. Des absorbants sont positionnés autour de la cage prévue pour les animaux. La distance entre l'antenne cornet et les animaux est de 33 cm pour se situer en champ lointain. Le DAS obtenu par simulation numérique est compris entre 1,7 et 3.7 W/kg. Le système est pertinent pour une configuration champ lointain et une exposition corps entier pour des signaux de type RADAR, à proximité de la source d'émission. Les performances dans la piscine de Morris (mémoire et apprentissage spatial), l'activité cérébrale (EEG), la morphologie de l'hippocampe et l'expression de marqueurs biologiques par immunohistochimie (IHC) ont été suivies. Toutes les analyses ont été réalisées 7j après l'exposition sauf les tests comportementaux, réalisés jusqu'à 28j. Des mesures de la température en surface montrent que celle-ci n'augmente pas de plus de 1°C et les effets sont donc non thermiques. Des déclin cognitifs significatifs (perte de l'apprentissage spatial et des capacités mnésiques) sont observés pour des expositions liées à la densité de puissance plutôt qu'à la fréquence (1,5 ou 2,856 GHz), puisqu'une exposition de 10 mW/cm<sup>2</sup> cause plus de dommages qu'une exposition à 5 mW/cm<sup>2</sup> à 1,5 ou 2,856 GHz. Des fluctuations des activités électriques cérébrales (EEG) sont observées pour les 2 fréquences mais seulement avec une puissance de 10mW/cm<sup>2</sup>. Cependant, des effets cumulatifs significatifs sont observés pour des expositions cumulées à 1,5 et 2,856GHz, quelle



que soit la densité de puissance. La morphologie de l'hippocampe est altérée pour les 2 fréquences mais pour la seule densité de 10mW/cm<sup>2</sup> et les effets sont amplifiés pour une exposition aux fréquences cumulées et pour les 2 densités. Sur le plan métabolique, les concentrations d'AchE, COX et SOD sont diminuées de manière significative dans les groupes de 10 mW/cm<sup>2</sup> par rapport aux groupes exposés à 5 mW/cm<sup>2</sup> quelle que soit la fréquence et là encore, les effets sont amplifiés pour une exposition cumulée aux 2 fréquences et 2 densités. Les auteurs concluent que puisque les micro-ondes de 10 mW/cm<sup>2</sup> causent des dommages plus importants que les micro-ondes de 5 mW/cm<sup>2</sup>, les effets sont liés à la puissance de densité plutôt qu'à la fréquence. Sur la base des observations morphologiques, ils émettent l'hypothèse que les déficiences comportementales et les perturbations électrophysiologiques cérébrales seraient causées par d'importantes altération de la plasticité et un métabolisme énergétique anormal. Si dans l'ensemble, les interactions entre 2,856 GHz et 1,5 GHz sont statistiquement prouvés, l'effet cumulatif de la puissance ne peut être exclu, les résultats sont donc décrits comme des effets d'interaction possibles.

Pour le test comportemental, les écart-types sont importants et laissent planer un doute sur la significativité. Ce n'est pas évident de voir les dommages histologiques sur les images H&E ou images de ME qui ne sont pas annotées. Des quantifications sont faites par MOD sans que l'on sache ce que c'est.

- *Tang, J, et al. (2015) "Exposure to 900 MHz electromagnetic fields activates the mcp-1/ERK pathway and causes blood-brain barrier damage and cognitive impairment in rats."*

[Cerveau]

L'étude de Tang *et al.*, 2015 montre que les radiofréquences à 900 MHz affecte la mémoire spatiale chez les rats exposés pendant 28 jours, mais pas chez les rats exposés pendant 14 jours. En outre, une exposition à 900 MHz augmente l'immunostaining HO-1 dans le cortex et l'hippocampe des rats. Le pourcentage de temps passé dans le quadrant cible et la fréquence de croisement de plate-forme étaient plus faibles chez les rats du groupe radiofréquences-28jours que dans les autres groupes. Les rats du groupe radiofréquences-28jours étaient également moins capables de rappeler la position précise de la plate-forme cachée le jour de la rétention de mémoire malgré les séances d'entraînement de 4 jours. De plus, une perméabilité endommagée de la barrière hémato-encéphalique, qui a entraîné une extravasation d'albumine et de HO-1, a été observée dans l'hippocampe et le cortex. Ainsi, pour la première fois, il a été constaté que l'exposition aux radiofréquences pendant 28 jours induisait l'expression de mcp-1, entraînant une déphosphorylation de ERK.

Dans cette étude, on peut ainsi constater que même s'il n'y avait pas de différences de comportement significatives entre les rats non exposés et les rats qui ont été exposés aux EMF pendant seulement 14 jours, des différences claires sont apparues après 28 jours d'exposition aux EMF. Pris ensemble, ces résultats ont démontré que l'exposition à un rayonnement EMF de 900 MHz pendant 28 jours peut altérer considérablement la mémoire spatiale et endommager la perméabilité du BBB chez le rat en activant la voie mcp-1 / ERK.

- *Topsakal, S, et al. (2017) "The ameliorative effect of gallic acid on pancreas lesions induced by 2.45 GHz electromagnetic radiation (Wi-Fi) in young rats."*

[Pancréas][Système endocrinien]

Topsakal *et al.* ont étudié les effets du REM à 2,45 GHz sur les cellules pancréatiques endocrines et exocrines chez les jeunes rats et l'effet d'amélioration potentiel de l'acide gallique (AG) sur les lésions à l'aide de méthodes biochimiques, histopathologiques et immunohistochimiques. Le système d'exposition consiste en une antenne monopole placée

au centre d'un cercle comportant 12 cages, pour des rats (tête tournée vers l'antenne), situées sur les rayons de celui-ci. Etude de la co-exposition de rats à des signaux CW pulsé à 217Hz de fréquence 2450MHz et à de l'acide Gallic. Rf de faible intensité 50mW/kg pendant 3h/j sur une durée de 30j. Les rats ont été répartis au hasard en 4 groupes de 12 animaux chacun. Le groupe simulé était le témoin et aucun traitement n'a été administré à ce groupe. Un total de 2,45 GHz EMR a été exposé à des rats du groupe EMR. Le groupe EMRpGA a été exposé à 2,45 GHz EMR et traité avec du GA 30 mg / kg / jour administré par voie orale. Seul le GA a reçu 30 mg / kg / jour par voie orale dans le groupe GA. EMR a été appliqué aux groupes EMR et EMRpGA pendant 3 h / jour pendant les 30 jours. L'amylase sérique, la lipase, le glucose et le malondialdéhyde tissulaire, le statut oxydant total et l'indice de stress oxydant ont augmenté, tandis que le statut antioxydant total a diminué dans le groupe EMR. L'examen histopathologique des pancréas a indiqué de légères modifications dégénératives dans certaines cellules pancréatiques endocrines et exocrines et de légères infiltrations de cellules inflammatoires dans le groupe EMR. Lors de l'examen immunohistochimique, une augmentation marquée a été observée dans les expressions de la protéine liée au gène de la calcitonine et de la prostaglandine E2 dans les cellules pancréatiques de ce groupe. Il n'y a eu aucun changement dans les expositions de l'interleukine-6. GA a amélioré les résultats biochimiques et pathologiques dans le groupe EMRpGA. Ces découvertes démontrent clairement que l'EMR peut provoquer des changements dégénératifs dans les cellules pancréatiques endocrines et exocrines chez le rat pendant la période de développement et que l'AG a un effet améliorateur.

Les résultats de cette étude ont indiqué qu'une interaction possible peut se produire dans le diabète sucré et la maladie exocrine du pancréas causée par le REM au cours de la période de développement. Le diabète et les maladies exocrines du pancréas ont augmenté au cours des dernières décennies, parallèlement à l'utilisation d'appareils technologiques qui produisent des DME, et le diagnostic des maladies du pancréas a augmenté rapidement chez les jeunes. Ces résultats d'étude indiquent que les cellules endocrines du pancréas sont plus sensibles au REM que les cellules exocrines. Les rats utilisés dans cette étude étaient jeunes, et l'augmentation marquée des lésions peut être liée à ce facteur. Cette étude suggère une relation possible entre l'exposition aux DME à un jeune âge et les maladies pancréatiques.

- *Türedi, S, et al. (2017) "Biochemical and pathological changes in the male rat kidney and bladder following exposure to continuous 900-MHz electromagnetic field on postnatal days 22-59."*

[Reins]

Türedi *et al.* (2017) étudient l'influence d'une exposition radiofréquences sur le rein chez le rat. Le système d'exposition est composé pour la génération de signal d'une source et d'un oscillateur délivrant un signal à 900 MHz, raccordé ensuite à une antenne dipôle. Cette dernière est placée au centre d'une boîte en plexiglas qui contient les animaux à une distance fixée. Le champ électrique appliqué mesuré est de 8.4 V/m et moyenné, soit une densité de puissance de 0,187 W/m<sup>2</sup>, avec un DAS calculé de 0,0067 W/kg. Les résultats montrent que le malondialdéhyde tissulaire augmente dans le groupe exposé par rapport aux témoins dans les tissus rénaux et de la vessie, tandis que les teneurs en catalase et en glutathion diminuent. Dans le groupe exposé, des pathologies telles que la dilatation et la vacuolisation des tubules distaux et proximaux, la dégénérescence des glomérules et une augmentation des cellules apoptotiques sont décrites dans le tissu rénal. Dans la vessie, une dégénérescence de l'épithélium transitoire, une irrégularité du stroma et une augmentation des cellules apoptotiques sont observées dans le groupe exposé. De plus, les rats exposés présentent une dégénérescence capillaire glomérulaire et la perte de lame basale. La dilatation et la vacuolisation des cellules de tubules distaux et proximaux, la perte de cellules épithéliales

tubulaires et la dégénérescence glomérulaire sont décrites dans le tissu rénal de rats exposés. Les coupes histologiques du groupe de rats exposés présentent des quantités significatives de cellules apoptotiques dans l'épithélium tubulaire proximal-distal et dans l'épithélium transitionnel de la vessie. L'index apoptotique dans les tissus du rein et de la vessie a augmenté de manière significative dans les rats exposés par rapport aux témoins-exposition. Une exposition continue à des champs électromagnétiques de 900 MHz après la naissance, provoque une augmentation du stress oxydant et plusieurs changements pathologiques dans les tissus des reins et de la vessie de jeunes rats mâles.

L'étude utilise une exposition correspond à un rayonnement de téléphonie mobile de niveau très modéré. La dosimétrie de cette étude est de bonne qualité, avec un contrôle du niveau d'exposition avec et sans la présence des rats.

- *Türedi, S., et al. (2015) "The effects of prenatal exposure to a 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old male rat heart"*

[système cardio-vasculaire]

Türedi *et al.* (2015) s'intéresse à l'impact sur le cœur de rats exposés aux radiofréquences à 900 MHz. Le système d'exposition est composé pour la génération de signal d'une source et d'un oscillateur délivrant un signal à 900 MHz, raccordé ensuite à une antenne dipôle. Cette dernière est placée au centre d'une boîte en plexiglas qui contient les animaux à une distance fixée. Le champ électrique appliqué mesuré est de 13,77 V/m et moyenné, soit une densité de puissance de 0,5 W/m<sup>2</sup>, avec un DAS calculé de 0,025 W/kg. Aucune pathologie n'est observée dans le tissu myocardique des rats témoins. Irrégularités, dégénérescence, vacuolisation et perte de noyau sont observées dans les fibres du muscle cardiaque des rats exposés in utero. Des noyaux pycnotiques et des altérations apoptotiques sont observés. Des changements nucléaires suggérant l'apoptose sont observés dans les coupes de coloration (TUNEL) sous microscopie optique. Les cellules apoptotiques sont réparties de manière hétérogène dans les différentes régions de la cellule du tissu cardiaque pour chaque groupe de rats. Dans les rats témoins, il y a quelques cellules apoptotiques, alors qu'il y a un grand nombre de cellules apoptotiques dans les rats pré-exposés. Le nombre de cellules TUNEL-positives dans ce groupe est augmenté et le pourcentage de cellules apoptotiques, AI, dans les cellules du tissu cardiaque est plus élevé que chez les témoins. Des myofibrilles désorganisés ont été observés dans des échantillons de tissu cardiaque des rats exposés. La dégénérescence et la fragmentation des myofibrilles sont observables dans le muscle cardiaque des rats pré-exposés, ainsi que des vacuoles périvasculaires et cytoplasmiques, qui perturbent l'intégrité structurelle des bandes Z. Des gonflements mitochondriaux avec vacuolisation et diminution de la densité des crêtes de la membrane interne ont été observés dans le groupe exposé. Les teneurs en MDA, SOD et CAT augmentent chez les rats pré-exposés par rapport à celles des témoins-exposition, alors que les valeurs de GSH diminuent. Une augmentation des concentrations de MDA dans le tissu cardiaque de rats est observée avec une exposition à 900 MHz pendant la période prénatale. Cela montre que l'exposition prénatale compromet la réaction en chaîne qui conduit à l'oxydation des acides gras. Les résultats de cette étude suggèrent que l'exposition aux radiofréquences pendant la période prénatale provoque un stress oxydant et des changements histopathologiques dans le tissu cardiaque des rats mâles.

L'exposition correspond à un rayonnement de téléphonie mobile de niveau très modéré. La dosimétrie de cette étude est de bonne qualité, avec un contrôle du niveau d'exposition avec et sans la présence des rats.

- *Valbonesi, P., et al. (2014) "Effects of the exposure to intermittent 1.8 GHz radio frequency electromagnetic fields on HSP70 expression and MAPK signaling pathways in PC12 cells"*

[Cerveau][Système endocrinien]

Cette étude de Valbonesi *et al.*, 2014 porte sur l'expression du transcrite et de la protéine codant pour un gène de stress (gène HSP70) et sur la survie cellulaire dans des cellules PC12 de rat (issues d'une tumeur neuro-endocrinienne de médullosurrénale différenciées en neurones) et dans différentes conditions d'expositions GSM. Le système d'exposition a été réalisé par la société ITIS. Le niveau d'expression du gène HSP70 a été évalué par RT-qPCR, l'expression de la protéine HSP70 et la phosphorylation de MAPK ont été évaluées par Western blot. Les cellules PC12 ont été exposées pendant 4, 16 ou 24 h à un signal d'onde continue de 1,8 GHz (CW, fréquence porteuse sans modulation) ou à deux schémas de modulation GSM, GSM-217Hz et GSM-Talk (simulant une conversation typique. Le DAS a été simulé puis vérifié et était de 2 W/kg. La température était contrôlée toutes les 10s. Après exposition des cellules PC12 au signal GSM-217Hz pendant 16 ou 24 h, la transcription de HSP70 a significativement augmenté, alors qu'aucun effet n'a été observé dans les cellules exposées aux signaux CW ou GSM-Talk. L'expression de la protéine HSP70 et trois voies de signalisation MAPK différentes n'ont pas été affectées par l'exposition à l'un des trois signaux.

Le système d'exposition de bonne qualité est décrit dans Valbonesi 2008. Sur le plan de la biologie, il n'y a pas de corrélation entre l'expression des transcrits et celle des protéines. Il y a des différences importantes entre les cellules témoin-boite (boite à 37°C) et les cellules pseudo-exposées (boîtes déplacées dans l'appareil d'exposition).

- *Varghese, R., et al. (2018) Rats exposed to 2.45 GHz of non-ionizing radiation exhibit behavioral changes with increased brain expression of apoptotic caspase 3*

[Cerveau]

Cette étude de Varghese, R., *et al.* (2018) s'intéresse aux effets d'une exposition de rats femelles aux rayonnements radiofréquences sur les résultats à 4 tests comportementaux. Une antenne dipôle est positionnée au centre de 6 cages en Plexiglas, dans lesquelles sont exposées les rats femelles Sprague Dawley (180-220g ; une par cage de dimension 15x15x15 cm). La puissance délivrée à 2,45 GHz par la source est de 24 dBm (0,25 mW) conduisant à une densité de puissance de 7.88 W/m<sup>2</sup> dans la zone d'exposition. Une approche analytique a permis de déterminer une valeur estimée du DAS de 0,047 W.kg. Le système est globalement pertinent pour représenter une exposition champ lointain d'un signal de télécommunication, à des niveaux proches de limites d'exposition corps entier (10 W/m<sup>2</sup>). Des tests comportementaux d'anxiété, d'apprentissage et de mémoire sont évalués ainsi que les paramètres de stress oxydant, la production de TNF-alpha et de caspase 3 mesurés dans des homogénats de demi-hémisphères cérébraux. Les autres demi-hémisphères sont utilisés pour des analyses histopathologiques. Les rats exposés au rayonnement de 2,45 GHz présentent une baisse de la mémoire et un comportement anxieux. L'exposition diminue les activités de la superoxyde dismutase, de la catalase et les niveaux de glutathion réduit, tandis que des niveaux accrus de peroxydation des lipides cérébraux chez les rats exposés. L'expression du gène de la caspase 3 est fortement augmentée dans le groupe exposé. Aucun changement significatif n'a été observé en histopathologie et les niveaux cérébraux de TNF-alpha, indiquent une absence d'inflammation. L'analyse de l'arborisation dendritique des neurones met en évidence une réduction du nombre de ramifications et d'intersections dendritiques, ce qui correspond à une altération de la structure dendritique des neurones, affectant la signalisation neuronale.

Les auteurs concluent que l'exposition à des rayonnements non ionisants de 2,45 GHz



entraîne un déclin de l'apprentissage et de la mémoire ainsi que l'expression d'un comportement anxieux et une chute des antioxydants cérébraux. L'exposition aux radiofréquences déclenche aussi l'expression du gène de la caspase 3.

La maîtrise de l'environnement électromagnétique et des possibles interférences reste un point limitant quant à l'analyse des résultats. L'expression du gène de la caspase3 aurait dû être validée par l'expression protéique.

- *Vijayalaxmi, A. B et al. (2013) Incidence of micronuclei in human peripheral blood lymphocytes exposed to modulated and unmodulated 2450 MHz radiofrequency fields.*

[Sang et plasma]

Vijayalaxmi *et al.* (2013) étudient l'effet de radiofréquences modulées ou non sur des lymphocytes humains primaires en culture. 4 flasques de 10 ml d'échantillon biologique sont disposées le long d'un guide d'onde. Un générateur de signal et un amplificateur de laboratoire émulent une exposition de type téléphonie mobile, à 2450 MHz, pour un DAS de 8,8 à 11,7 W/kg. Les auteurs montrent que ces cellules répondent bien dans les conditions de leur test en montrant que l'exposition à du rayonnement ionisant induit de la cytotoxicité et des micronoyaux. Ces effets sont diminués par l'ajout de mélatonine, un antioxydant connu. A l'inverse, les radiofréquences, modulées ou non, n'ont aucun effet. Ceci est vrai en absence ou en présence de mélatonine.

La dosimétrie de cette étude est de bonne qualité : les conditions d'exposition sont très bien décrites et justifiées, tel le DAS obtenu par simulation numérique avec un code FDTD. L'exposition correspond à un niveau élevé à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Ce travail simple mais bien conçu montre donc l'absence d'induction de micronoyaux par les radiofréquences malgré un DAS élevé de 10 W/kg. Pour conclure à une absence de génotoxicité dans les conditions de l'étude, d'autres tests sur les lésions primaires (comètes, g-H2AX) seraient cependant sans doute nécessaires.

- *Vilić, M., et al. (2017) Effects of short-term exposure to mobile phone radiofrequency (900 MHz) on the oxidative response and genotoxicity in honey bee larvae*

[Non mammifère]

Vilic *et al.* (2017) étudient l'impact de champs magnétiques pulsés ou non sur des larves d'abeille. Les auteurs s'intéressent en particulier au stress oxydant et à la génotoxicité. Les larves d'abeilles sont exposées dans une GTEM à 900 MHz, durant 2h, à des niveaux de 10 à 120V/m. De nombreuses conditions différentes sont testées : contrôle *sham*, 10, 23, 41 ou 120 V/m sans modulation, et 23 V/m avec modulation 1 kHz ou 217 Hz (signal GSM). Pour GST, la seule différence (-20 %) est vue entre 23 V/m et 23 V/m modulé à 1 kHz. Pour l'activité catalase, la valeur à 10 V/m non modulée est plus faible d'environ 15 % que toutes les autres conditions (sauf 23 V/m modulé 1 kHz non significatif). L'activité SOD est plus élevée à 23 V/m modulé 217 Hz qu'à 10 V/m (+15%). Aucune autre différence n'est significative. Pour les TBARS, la valeur à 10 V/m est plus basse que le contrôle (-50 %). En comète, la valeur à 23 V/m modulé 1 kHz est deux fois plus élevée que toutes les autres (3 fois pour 120 V/m). Cette dernière est la moitié de la valeur à 23 V/m modulé 217 Hz.

La description de l'exposition physique de cette étude est sommaire. Seul le champ incident est indiqué. Cette exposition est néanmoins reproductible et correspond à un niveau modéré d'exposition de dispositifs de téléphonie mobile. L'étude biologique est assez bien conçue même s'il aurait été utile de connaître les effets thermiques dans la grande gamme de valeur de champ utilisée. Il est difficile de mettre à jours des effets nets des différentes conditions

testées. La condition 10 V/m est celle ayant le plus d'impact. La modulation des activités SOD et catalase pourrait être une indication de stress oxydant mais les TBARS baissent et il n'y a pas de génotoxicité. Le travail apporte quelques indications d'une augmentation des effets par la modulation des signaux. Malheureusement, ceci n'est jamais observé pour le même paramètre avec les deux types de modulation et pas en comparant les données 23 V/m modulées ou non (sauf pour l'activité GST). Si on voit bien des effets des radiofréquences, notamment de génotoxicité à 23/m modulé à 1 kHz, l'absence de lien entre les observations limite l'impact du travail.

- Wang, C, et al. (2015) "Effects of Pulsed 2.856 GHz Microwave Exposure on BM-MSCs Isolated from C57BL/6 Mice."

[Os]

Wang et al. (2015) s'intéressent à l'impact de radiofréquences sur les cellules souches mésenchymateuses extraites de souris C57BL/6. Une exposition est réalisée à l'aide d'une antenne cornet positionnée au-dessus de trois boîtes de Petri, à une distance de 1,4 m. Le signal rayonné est pulsé avec une fréquence porteuse de 2,856 GHz, avec une durée de 500 ns et une fréquence de répétition de 50 impulsions par seconde. La densité de puissance crête est de 200 W/cm<sup>2</sup>, soit 2 MW/m<sup>2</sup>, correspondant à une valeur moyenne de 50 W/m<sup>2</sup>. Le DAS calculé par simulation numérique est de 4 W/kg. Le banc d'exposition est contrôlé via un oscilloscope et un détecteur pour les grandeurs électromagnétiques et par une sonde de température transparente aux champs électromagnétiques. L'exposition correspond à un signal radar. Alors qu'un fort effet des rayonnements gamma, utilisés comme contrôle positif, est mis en évidence, l'exposition radiofréquences n'induit pas de baisse de viabilité dans les cellules sur la période étudiée (entre 1 et 6 jours après exposition). A 6h, ni le cycle cellulaire ni l'apoptose ne sont impactés. La différenciation in vitro des cellules souches mésenchymateuses n'est pas non plus affectée. L'expression de deux gènes (osteopontine et ostéocalcine) est modulée par les radiofréquences dans les cellules induites. La surexpression de OCN après différenciation n'est plus que de 48 dans les cellules exposées au lieu de 72 dans les contrôle-exposition, et celle de OPN passe de 54 à 29.

Cette étude est bien conçue (témoin positif, contrôle des effets thermiques, répliquats biologiques et techniques). Elle montre que les radiofréquences n'impactent pas les cellules souches mésenchymateuses en termes de viabilité, apoptose, cycle cellulaire et différenciation in vitro. Seule l'expression des gènes OPN et OCN est affectée. Pour les mécanismes du cancer, cette étude va donc dans le sens d'une absence d'effets, la modulation dans les mécanismes de structure osseuses n'étant à priori pas pertinente. Le système est correctement décrit et caractérisé

- Wang, LF, et al. (2015) *Activation of VEGF/Flk-1-ERK Pathway Induced Blood-Brain Barrier Injury After Microwave Exposure.*

[cerveau]

Dans l'étude de Wang et al. (2015), le rôle de la voie du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGF)/Flk-1-Raf/MAPK kinase (MEK)/protéine kinase régulée extracellulaire (ERK) dans les lésions structurelles et fonctionnelles de la barrière hémato-encéphalique (BBB) après une exposition aux micro-ondes a été examiné. Les cellules sont placées sur des inserts positionnés dans les puits d'une plaque 12-puits. Elle est exposée avec une antenne cornet dans une chambre type cage de Faraday. Le signal est pulsé avec des impulsions de 500 ns de durée et un taux de répétition de 500 pulses par seconde. La densité de puissance crête est de 200 W/cm<sup>2</sup> et la moyenne est de 50 mW/cm<sup>2</sup>, pour des durées d'exposition de 5

min. Ces puissances ont été mesurées ainsi que les températures dans les échantillons avant et après exposition à l'aide d'une sonde fluoroptique. Un modèle de BBB *in vitro* composé de la lignée cellulaire ECV304 et d'astrocytes cérébraux primaires de rat a été exposé à un rayonnement micro-ondes (50 mW/cm<sup>2</sup>, 5 min). La structure tissulaire a été observée par microscopie électronique à balayage (MEB) et la perméabilité a été évaluée en mesurant la résistance électrique trans-endothéliale (TEER) et la transmission de la peroxydase de raifort (HRP). L'activité et l'expression des composants de la voie VEGF/Flk-1-ERK et de l'occludine ont également été examinées. Ces résultats ont montré que les micro-ondes ont provoqué l'élargissement et la rupture des jonctions serrées intercellulaires, avec une diminution des valeurs TEER et une augmentation de la perméabilité HRP. Après l'exposition aux micro-ondes, l'activation de la voie VEGF/Flk-1-ERK et la phosphorylation Tyr de l'occludine ont été observées, ainsi que la régulation à la baisse de l'expression et de l'interaction de l'occludine avec la *zonula occludens-1* (ZO-1). Après l'utilisation d'inhibiteurs de Flk-1 (SU5416) et de MEK1/2 (U0126), la structure et la fonction de la BHE ont été rétablies. L'augmentation de l'expression des molécules de transduction du signal ERK a été atténuée, tandis que l'expression et l'activité de l'occludine ont été accélérées, ainsi que les interactions de l'occludine avec p-ERK et ZO-1 après rayonnement micro-ondes. Ainsi, les radiations micro-ondes peuvent induire des dommages à la BHE en activant la voie VEGF/Flk-1-ERK, augmentant la phosphorylation Tyr de l'occludine, tout en inhibant partiellement l'expression et l'interaction de l'occludine avec ZO-1.

Une limite mineure est liée à l'exposition. Le système utilisé produit une exposition à de signaux pulsés, type Radar, avec des niveaux et des rapports cycliques représentatifs de signaux pulsés. La qualité semble suffisante même si la description des conditions d'exposition dans la cage de Faraday reste incomplète. Malgré cette limite, des conclusions biologiques peuvent être tirées de ce travail. Bien que les changements induits par les micro-ondes soient transitoires, le mécanisme par lequel ils induisent des lésions de la BBB doit être étudié plus avant. Cependant ce modèle reste un modèle en 2D, avec co-culture.

- Xie, W et al. (2021) "900 MHz Radiofrequency Field Induces Mitochondrial Unfolded Protein Response in Mouse Bone Marrow Stem Cells"

[Sang et plasma]

L'étude de Xie *et al.*, 2021, a porté sur les effets d'une exposition à l'intérieur d'une cellule GTEM, de cellules de la moelle osseuse de souris, à 900MHz avec un signal continu et une intensité de puissance de 120 µW/cm<sup>2</sup> (soit 1,2 mW/m<sup>2</sup>) pendant 4 h/j pendant 5 jours. Une estimation du DAS de 0,4 et 0,25 mW/kg est indiquée comme correspondant à une valeur pic et une valeur moyenne respectivement. Six groupes : a) milieu sans radiofréquences (contrôle, SH); (b) radiofréquences 900 MHz (RF); (c) rayonnement X de 6 Gy (XR); (d) contrôle + transfection d'ARNsi JNK2 (si + SH); (e) transfection d'ARNsi JNK2 (si + radiofréquences) puis radiofréquences; (f) transfection d'ARNsi JNK2 (si + XR) puis exposition aux rayons X de 6 Gy. Les cellules ont été collectées 30 min, 4 h et 24 h après l'exposition/traitement. Le niveau de ROS dans le groupe radiofréquences et le groupe XR est significativement augmenté à 30 min et 4 h après l'exposition (p < 0,05). Ce niveau diminue quasi au niveau des contrôles 24 h après l'exposition aux radiofréquences et XR. Les effets des XR sont plus importants que ceux induits par les radiofréquences. L'expression des protéines HSP10, HSP60, ClpP (dégradation des protéines mal ou non repliées) dans le groupe radiofréquences est augmentée significativement à 30 min et 4 h (p < 0,05), puis diminue progressivement et revient quasi à ceux des cellules contrôles après 24 h d'exposition aux radiofréquences. Si l'expression de NK2 (à 50%) est éteinte avec un siRNA, l'expression des protéines HSP10, HSP60, ClpP dans le groupe si + radiofréquences est significativement diminuée par rapport

au groupe radiofréquences ( $p < 0,05$ ). Les auteurs concluent qu'une exposition des cellules de moelle osseuse aux radiofréquences non ionisants de 900 MHz induit l'UPRmt (réponse protéique dépliée mitochondriale) en réponse au stress mitochondrial et la production de ROS, en augmentant l'expression des protéines HSP10/HSP60/ClpP.

La provenance des valeurs de DAS n'est pas explicitée et il n'y a pas plus d'information dans l'article cité en référence. Le manque d'information plus précise sur le système d'exposition limite la portée des résultats de cette étude.

- *Yaekashiwa, N., et al. (2018) Investigation of the non-thermal effects of exposing cells to 70-300 GHz irradiation using a widely tunable source*

[Peau]

Cette étude de Yaekashiwa, N., et al. (2018), a étudié les effets d'une irradiation par ondes millimétriques (MMW) sur la prolifération, l'activité et la survie de fibroblastes cutanés humains normaux (NB1RBG) et de cellules de glioblastome humain (A172). Le système d'exposition est constitué d'une source accordable en fréquence dans le domaine des ondes millimétriques. Le signal est rayonné à travers une lentille qui illumine par la face inférieure une plaque 96 puits. La source est située à 10 cm de fond des puits où se trouvent les cellules exposées. Le dispositif est placé dans un incubateur. L'évaluation de l'exposition est effectuée à l'aide de capteur, conduisant à des densités de puissance de  $1,27 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  à 100 GHz et  $0,38 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  à 300 GHz ou bien  $0,23 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  à 100 GHz et  $0,07 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  à 300 GHz suivant la configuration. L'étude a examiné les effets non thermiques sur les cellules exposées pendant 3, 70 ou 94 h, à des fréquences allant de 70 GHz à 300 GHz avec un pas de 1,0 GHz. Pour éviter la production de chaleur due à l'irradiation, l'intensité a été maintenue en dessous de  $10 \mu\text{W}$ . La prolifération cellulaire a été mesurée par l'impédance d'un courant alternatif, l'activité et la cytotoxicité par le test au MTS. Aucune différence n'a été observée pour la prolifération, l'activité cellulaire et la cytotoxicité entre les cellules exposées et les cellules non exposées. De même, aucun effet thermique n'a été mis en évidence durant les 94h d'exposition.

Les expositions ne sont pas identiques pour toutes les mesures biologiques: Prolifération : exposition de 94h avec pas de 1 GHz toutes les 24 min. Activité cellulaire : exposition de 70h avec des pas de 1 GHz toutes les 18 min. Cytotoxicité : exposition de 3h avec des pas de 1 GHz toutes les 36s. On ne sait pas trop comment ont été gérées les cellules du groupe témoin-exposition ou témoin-incubateur

- *Yahyazadeh, A et al. (2019) Investigation of the neuroprotective effects of thymoquinone on rat spinal cord exposed to 900 MHz electromagnetic field.*

[Cerveau]

Yahyazadeh et al. (2019) ont voulu étudier les effets possibles des rayonnements de champs électromagnétiques (60 min/jour pendant 28 jours) sur la moelle épinière de rats âgés de 12 semaines. Des rats sont disposés dans un carrousel en plastique alimenté en son centre par une antenne. L'exposition électromagnétique est de  $1 \text{ mW}/\text{cm}^2$  à 900 MHz, 60 minutes par jours durant 28 jours. Les auteurs observent que le nombre de motoneurones est diminué dans le groupe exposé aux radiofréquences par rapport au groupe témoin-exposition. L'activité superoxyde dismutase est plus élevée dans le groupe radiofréquences par rapport au groupe témoin. Dans le groupe CEM+ thymoquinone, une augmentation du nombre de motoneurones et une diminution de l'activité de la superoxyde dismutase sont observées par rapport au groupe champ électromagnétique seul. L'histologie montre des altérations architecturales du tissu. Il est observé des régions où les motoneurones sont dégénérés et rétrécis. L'administration d'un antioxydant, thymoquinone, améliore ces modifications, notamment sur



les dommages causés aux motoneurones, en amenant une augmentation du nombre de ceux-ci.

L'exposition de cette étude correspond à un niveau d'exposition élevé à proximité d'un appareil de téléphonie mobile. La dosimétrie est très sommaire et l'indication de DAS n'est pas assez correctement justifiée. La densité de puissance indiquée est néanmoins la condition minimale pour que cette étude soit reproductible. Ces résultats montrent que l'exposition à un CEM (900 MHz) entraîne des effets nocifs sur la moelle épinière cervicale de rats albinos Wistar ; la perte des motoneurones a été prouvée par examen stéréologique. L'augmentation de l'activité enzymatique de la superoxyde dismutase est une indication des changements destructeurs résultant des espèces réactives de l'oxygène (ROS). L'administration de thymoquinone atténue les effets du champ électromagnétique en améliorant le statut antioxydant.

- *Yang, H., et al. (2020) "The Effects of Mobile Phone Radiofrequency Radiation on Cochlear Stria Marginal Cells in Sprague-Dawley Rats"*

[Système auditif]

L'étude Yang *et al.*, 2020 a recherché les effets sur les cellules marginales de la strie cochléaire (système auditif) de rats mâles et femelles nouveau-nés de 1-3 jours, d'une exposition aux radiofréquences à 1800 MHz avec des DAS de 2 et 4 W/kg durant 24 h, de façon intermittente 5 min on, 10 min off. Le système d'exposition est basé sur l'utilisation de guides d'onde rectangulaires insérés dans un incubateur. La version connue sous la référence sXc1800, permet d'exposer jusqu'à 8 boîtes de Petri 35 mm dans chaque guide d'onde. Le système est une des solutions retenues pour les expérimentations in vitro dans un incubateur, et il permet d'illuminer les échantillons à une onde électromagnétique à 1800 MHz dans des conditions maîtrisées. Une élévation de température inférieure à 0,1°C est observée par rapport au témoin-exposition. Les effets sont recherchés sur les dommages à l'ADN (test de comète), l'apoptose (annexine-V et activité de la caspase-3) et la production de ROS (fluorescence avec DCFHDA). Les cellules marginales de la strie cochléaire sont prélevées après exposition des rats. Les résultats montrent que l'exposition n'a pas causé de dommages à l'ADN et le taux d'apoptose n'est pas augmenté. Cependant, la production de ROS dans les cellules exposées à 4 W/kg était supérieure à celle du groupe témoin. Les auteurs concluent que l'énergie du téléphone mobile est insuffisante pour causer des dommages à l'ADN et de l'apoptose après une exposition à court terme.

Les résultats sont clairs - cependant, les images de coloration au DAPI montrent que la taille des noyaux change en fonction du groupe (surtout pour groupe témoin-exposition 2W/kg et exposé 2W/kg) avec une augmentation de la taille du noyau. Il n'y a pas de distinction faite entre les cellules issues des rats mâles et des rats femelles. On ne comprend pas trop la différence entre les différents groupes contrôles (contrôle, contrôle DAS 2W/KG et contrôle DAS 4W/kg).

- *Yavas, MC et al. (2021) Analysis of thiol/disulphide homeostasis and oxidant-antioxidant status as a result of exposure to radio-frequency electromagnetic fields*

[Sang et plasma]

Le but de l'étude de Yavas *et al.* (2021) est l'analyse de l'effet de l'exposition quotidienne à long terme aux champs électromagnétiques radiofréquences (RF-EMF) sur l'homéostasie des thiols/disulfures et le statut antioxydant oxydant dans le sérum de rats. Le système d'exposition comprend un générateur de signaux suivi d'une antenne cornet, elle-même placée au-dessus d'une cage en plexiglass contenant les rats, à une distance de 5 cm des animaux. Le

générateur permet de délivrer une puissance de sortie de 23 dBm (200 mW) à 2,1 GHz. Les paramètres de dosimétrie ont été obtenus avec la mesure du champ électromagnétique par une sonde NARDA puis par calcul avec le logiciel CST et un modèle 3D de rat pour obtenir le SAR dans l'animal. Le champ électromagnétique mesuré moyen est de 38,95 V/m, avec une densité de puissance de 0,402 mW/cm<sup>2</sup>, soit 4,02 W/m<sup>2</sup>, sachant que la valeur limite à 2,1 GHz corps entier se situe à 10 W/m<sup>2</sup> pour le grand public. Le SAR corps entier est estimé à 305,5 mW/kg pour 10gr et 720 mW/kg pour 1 gr.

L'étude révèle que les taux sériques moyens de thiols totaux du groupe exposé aux radiofréquences sont supérieurs à ceux du groupe témoin-exposition; le niveau sérique moyen de thiols natifs du groupe exposé aux radiofréquences est supérieur à celui du groupe témoin-exposition et la quantité sérique moyenne de disulfure du groupe exposé est supérieure à celle du groupe témoin-exposition. D'autre part, le statut antioxydant total sérique moyen (TAS), oxydant total (TOS) et l'indice de stress oxydant (OSI) du groupe exposé sont plus élevés que ceux du groupe témoin-exposition. Le système d'exposition est pertinent même s'il manque quelques précisions quant à l'obtention des paramètres de dosimétrie. La densité de puissance se situe en dessous de la valeur limite grand public de 10 W/m<sup>2</sup> pour corps entier. Ce niveau est compatible avec une utilisation de téléphonie mobile de type GSM. Les résultats de cette étude indiquent donc que les radiofréquences 2100 MHz n'ont pas causé de stress oxydant et de changements statistiques dans l'homéostasie thiol/disulfure.

- *Zeni, O et al. (2021) Evidence of bystander effect induced by radiofrequency radiation in a human neuroblastoma cell line*

[Cerveau]

L'étude de Zeni *et al.*, (2021) a pour but de savoir si une exposition aux radiofréquences peut déclencher un effet de type « *bystander* » dans des cellules de neuroblastome humain, SH-SY5Y, traitées par un agent chimique, le menadione (MD, inducteur de dommages à l'ADN) puis exposées. Des boîtes de Pétri avec les cellules sont disposées dans un guide d'onde, assurant une exposition à 1950 MHz, pour un DAS de 0,3 W/kg, pendant 20h.

La question est de savoir si une réponse adaptative (AR) coexiste avec un effet « *bystander* ». La viabilité cellulaire est supérieure à 85 % après exposition. Le traitement avec le MD entraîne une augmentation des dommages à l'ADN (méthode des comètes) alors que les radiofréquences seuls sont sans effet. Par contre, l'exposition pendant 20h réduit les dommages induits par le MD dans les cellules exposées aux radiofréquences ce qui confirme l'induction d'une réponse adaptative. Mais cette réduction s'observe également dans des cellules non exposées et cultivées pendant 1h avec du milieu conditionné par des cellules exposées aux radiofréquences pendant 20h. Une telle réduction n'a pas été détectée dans les cellules recevant du milieu conditionné exposé aux radiofréquences sans cellules. Ceci correspond donc à un effet de type « *bystander* ». L'exposition des cellules aux radiofréquences pendant 20h, entraîne une augmentation de la fraction extracellulaire de hsp70. Les auteurs concluent que la réponse adaptative induite par les radiofréquences se produit également dans des cellules non directement exposées mais cultivées en présence de milieu issu de cellules exposées. L'effet *bystander* pourrait provenir de facteurs sécrétés dans le milieu extracellulaire par les cellules exposées. L'augmentation du niveau extracellulaire de hsp70 pourrait contribuer à l'effet protecteur des radiofréquences contre les dommages à l'ADN induits par un agent chimique dans les cellules SH-SY5Y.

Il manque la mesure de l'expression de Hsp70 dans des cellules exposées aux radiofréquences et traitées par le MD. De même, il est d'usage lors d'expériences de transfert de milieu, de faire des mesures avec le milieu dilué et avec du milieu chauffé.

- Zhang, Y., et al. (2013a) "Effects of 1.8 GHz radiofrequency radiation on protein expression in human lens epithelial cells"

[Œil]

L'étude Zhang *et al.*, 2013 a eu pour but d'étudier les effets d'une exposition à des radiofréquences de 1,8 GHz sur l'expression protéique des cellules épithéliales du cristallin humain (hLEC) in vitro. Les hLEC ont été exposées à un rayonnement radiofréquences de type GSM de 1,8 GHz avec un DAS de 2,3 ou 4 W/kg (selon les paramètres étudiés) pendant 2 h. Le système d'exposition est basé sur l'utilisation de guides d'onde rectangulaires insérés dans un incubateur. La version connue sous la référence sXc1800, permet d'exposer jusqu'à 6 boîtes de Petri 35 mm dans chaque guide d'onde. Le système est une des solutions retenues pour les expérimentations in vitro dans un incubateur, et il permet d'illuminer les échantillons à une onde électromagnétique d type signal GSM à 1800 MHz. Une dosimétrie complète a été réalisée ainsi qu'un contrôle de la température. Une élévation de température inférieure à 0,1°C est observée par rapport au témoin et un contrôle des expérimentations est réalisé. Des biomarqueurs protéiques candidats induits par les radiofréquences pour un DAS de 4W/kg ont été recherchés par chromatographie liquide MS/MS. Les ARNm de 5 biomarqueurs candidats ont été validés par PCR quantitative après une exposition de 2h à un DAS de 4W/kg, et les protéines correspondantes par Western blot après une exposition avec un DAS de 2,3 et 4W/kg. L'analyse LC-MS/MS des échantillons protéiques pour les cellules exposées à 1,8GHz avec un DAS de 4 W/kg a révélé 462 protéines. Parmi ces marqueurs, 400 protéines ont été identifiées dans le groupe exposé aux radiofréquences dont 5 qui ont été retenues (VCP, USP35, CYP21A2, TUBA1B, SRP68) pour leur expression significativement différente entre cellules contrôles et exposées. Pour un DAS de 4W/kg, l'expression des ARNm de VCP et USP35 est augmentée, celle de SRP68 est diminuée. Par contre, il n'y a pas de différence significative pour l'expression des ARNm du CYP21A2 et TUBA1B. Au niveau protéique et pour les DAS de 3 et 4 W/kg, l'expression de VCP et d'USP35 est augmentée alors que celle de SRP68 est diminuée (DAS de 3 et 4 W/kg) dans les cellules exposées à 1,8 GHz pendant 2 h. Les auteurs concluent que la technique de protéomique *shotgun* a permis d'identifier des protéines différentiellement exprimées dans des cellules épithéliales oculaires après exposition à 1,8 GHz et l'expression de trois biomarqueurs protéiques modifiés par les radiofréquences a été validée par Western blot. Ces protéines sont VCP et USP35 régulées positivement et qui pourraient être impliquées dans la réaction de contrôle de la qualité des protéines et la protéine SRP68 dont les radiofréquences pourraient diminuer la sécrétion.

L'exposition est de bonne qualité et réalisée dans des conditions maîtrisées. Cependant, le nombre de répliquas n'est pas indiqué. Un problème est signalé sur la lignée qui serait plutôt issue d'un enfant mâle plutôt que féminin comme indiqué sur le site ATCC. On ne sait pas quels sont les critères de sélection des biomarqueurs pour l'analyse transcriptomique (choix de 5/8), et l'analyse protéique pour 3 d'entre eux car 2 n'avait pas de modification d'expression en mRNA. Les protéines candidats ne sont pas spécifiquement impliquées dans le cancer

- Zhang, Y., et al. (2013b) *P25/CDK5 is partially involved in neuronal injury induced by radiofrequency electromagnetic field exposure*

[Cerveau]

Zhang *et al.* (2013) ont recherché si l'expression et l'activité de CDK5, les niveaux de protéines de p35 et p25 et l'hyper-phosphorylation de tau sont modifiés après une exposition aux radiofréquences dans des cellules neuronales de rats nouveau-nés. Une chaîne d'émission permet l'exposition de cellules dans des flasques disposées face à une antenne cornet. L'exposition est à 2,45 GHz, avec une salve de 500 impulsions par seconde pendant 10

minutes. Chaque impulsion a une durée de 2µs par seconde. Le niveau d'exposition est indiqué à 90 mW/cm<sup>2</sup>, et 6 W/kg. La fréquence choisie pour cette étude est utilisée en téléphonie mobile. La forme d'onde est impulsionnelle ce qui peut favoriser le caractère athermique. Le DAS indiqué correspondant à un niveau d'exposition élevé. Le travail a été réalisé sur des cultures primaires de neurones corticaux prélevés chez des rats nouveau-nés Sprague-Dawley. La viabilité cellulaire a été évaluée en utilisant le test du MTT, l'apoptose par coloration au Hoechst 33342 et par le marquage des extrémités de l'ADN (marquage d'UTP par la désoxynucléotidyl transférase (TdT)). Les expressions protéiques de CDK5, p35, p25 et tau phosphorylé ont été analysées par western blot. L'activité CDK5 a été détectée en analysant la phosphorylation de l'histone-H1.

La viabilité cellulaire des neurones est significativement diminuée avec une augmentation du pourcentage de noyaux apoptotiques ( $p < 0,01$ ), de l'activité de CDK5, du rapport de p25 et p35 et de la phosphorylation de tau Ser404 après exposition aux radiofréquences. Aucune différence significative dans l'expression de la protéine CDK5 n'a été détectée entre les groupes exposés ; par contre l'activité de CDK5 est augmentée à 3 h et 6 h après l'exposition des neurones. L'activité de CDK5 dépend entièrement des activateurs, p35 et p25. Le rapport d'expression de la protéine p25/p35 augmente de manière significative après 3 h d'exposition aux radiofréquences.

La phosphorylation de tau sur la Ser404 se produit principalement via la kinase CDK5. Dans les neurones corticaux, les niveaux de phosphorylation tau sur la Ser404 sont significativement plus élevés à 1 h et 3 h après exposition radiofréquences. Afin de vérifier si l'activité accrue de CDK5 est impliquée dans l'hyperphosphorylation de la protéine tau et sur les lésions neuronales, les neurones ont été traités avec de la roscovitine (un inhibiteur de CDK5) pendant 6 h avant l'exposition aux radiofréquences. La roscovitine bloque partiellement la diminution de la viabilité cellulaire induite par les radiofréquences à 24 h et le pourcentage de noyaux apoptotiques à 24 h après exposition radiofréquences, mais la viabilité et l'apoptose sont toujours significativement supérieures à celle des contrôles. Par contre, l'hyperphosphorylation de tau induite par les radiofréquences est complètement bloquée par le prétraitement à la roscovitine.

Globalement, ces résultats indiquent que l'exposition aux radiofréquences est cytotoxique en diminuant la viabilité cellulaire et en induisant l'apoptose dans des cultures primaires de neurones de rats nouveau-nés. CDK5 est principalement impliquée dans l'hyperphosphorylation de tau mais que très partiellement dans les lésions cytotoxiques induites par l'exposition aux radiofréquences.

Une limite de ce travail est qu'il n'est jamais explicité sur combien de cultures primaires les expériences ont été faites.

- Zhao, L, et al. (2017) *Microwave-induced Apoptosis and Cytotoxicity of NK Cells through ERK1/2 Signaling.*

[Système immunitaire]

Zhao et al. (2017) étudient l'impact des radiofréquences sur l'immunité innée. Pour cela, ils exposent une lignée de "natural killer cells", les NT-92 à des radiofréquences d'intensité croissante et suivent la réponse post-exposition. Le système d'exposition fonctionne à la fréquence de 2,856 GHz et est composé d'un générateur micro-onde, d'un amplificateur, d'un guide d'onde rectangulaire et d'une antenne cornet placée à 1,4 m des cages en plexiglas pour rats, elles-mêmes placées circulairement au-dessous de l'antenne. Le système délivre des signaux pulsés avec une durée de pulses de 500 ns et un taux de répétition de pulses non indiqués (200pps ou 500 pps d'après Wang et al. 2013). Des densités de puissance moyennes



de 10, 30, 50 mW/cm<sup>2</sup> pendant 5 minutes, sont appliquées, soit 100, 300 et 500 W/m<sup>2</sup>, soit des niveaux d'exposition élevés (limites de 10 W/m<sup>2</sup> pour le grand public et 50 W/m<sup>2</sup> pour les travailleurs). Le SAR est obtenu par simulation FDTD et utilisation d'un modèle de rat en 3D. Il est indiqué pour le cerveau du rat et non pour le corps entier, comme c'est le cas dans la présente publication.

Les auteurs font diverses observations intéressantes :

1) L'analyse par TEM montre la présence de corps apoptotiques 1h après exposition à 30 mW/cm<sup>2</sup> mais pas après 24h. L'induction à 1h de l'apoptose est confirmée par les analyse en FACS à toutes les doses et par mesure de l'activité Caspase-3 à 30 mW/cm<sup>2</sup>. Les autres intensités ne sont pas testées. A 24h le seul effet vu en FACS est une augmentation de l'apoptose avec 50 mW/cm<sup>2</sup>.

2) les capacités cytotoxiques de NK-92 vis à vis de K562 mesurées 1h après exposition sont diminuées de 40 % à 30 et 50 mW/cm<sup>2</sup> mais pas à 10. Cet effet est confirmé au niveau de la quantité de la protéine Perforin qui baisse 1 et 6h après exposition à 30 mW/cm<sup>2</sup> (-10% et -25%, respectivement). L'expression du gène correspondant baisse de 35 % à 1h mais pas à 6h. Aucun effet n'est observé pour ces deux paramètres à 12 h. La quantité de protéine NK2GD ne varie pas. Seule l'expression de son gène baisse de 50 % uniquement à 6h.

3) Une inhibition de la voie ERK par les radiofréquences (30 mW/cm<sup>2</sup>) à l'origine de ces effets est tout d'abord suggérée par une diminution de 30 % de son taux de phosphorylation. Cette hypothèse est confirmé par la similitude de l'impact des radiofréquences avec les effets d'un antagoniste chimique, U0126 à 50 µM. Les deux induisent une baisse de la phosphorylation de ERK et de la quantité de la protéine Perforin. De plus tant les radiofréquences (30 mW/cm<sup>2</sup>) que U0126 induisent l'apoptose à 1 et 6 h pour les radiofréquences et à tous les temps jusqu'à 24h pour l'antagoniste. La combinaison radiofréquences+U0126 a des effets additifs

Cette étude est bien conçue, même si des limites peuvent être mises en avant pour l'exposition. Globalement, le système utilisé et la méthodologie pour caractériser la dosimétrie sont corrects et décrits dans la référence (Wang *et al.* 2013). Il existe néanmoins une imprécision sur la localisation de la mesure de densité de puissance (dans les cages ou en sortie d'antenne) et si les rats sont présents lors de cette mesure. Le calcul du DAS est obtenu par la méthode FDTD avec un modèle de rat en 3D. Dans cette référence, ce calcul est ramené au cerveau de rat et n'est pas indiqué pour le corps entier de l'animal. Le DAS appliqué dans (Zhao *et al.* 2017) n'est donc pas connu. Les niveaux d'exposition sont élevés : 100, 300 et 500 W/m<sup>2</sup> durant 5 minutes (limite de 10 W/m<sup>2</sup> pour le grand public et 50 W/m<sup>2</sup> pour les travailleurs). Des signaux pulsés à 2,856 GHz sont appliqués. La durée du pulse est de 500 ns mais une imprécision existe vis à vis du taux de répétition de pulses par seconde (200 pps ou 500pps dans Wang *et al.* 2013). L'utilisation d'une grande variété de réponses différentes pour étudier l'impact des radiofréquences sur les capacités des NK-92 donne beaucoup de poids à la conclusion d'un effet négatif transitoire des radiofréquences sur les NK-cells. La partie mécanistique sur le rôle de la voie ERK est une ouverture intéressante. Ce travail in vitro qui suggère des propriétés immunosuppressives des radiofréquences est très pertinent pour la thématique de la cancérogénèse.

- Zhou, H., et al. (2019) "Radiofrequency radiation at 2.856 GHz does not affect key cellular endpoints in neuron-like PC12 cells"

[Cerveau]

Zhou *et al.* (2018) étudient l'impact de radiofréquences à 2,856 GHz sur des modèles de cellules neuronales de rat (PC12 différenciées). Le dispositif d'exposition est basé sur deux

guides d'onde (chambre). L'un sert d'exposition, l'autre de témoin, et ils sont placés dans un incubateur. Les cellules sont exposées dans une boîte de Petri de 35 mm de diamètre. Un signal pulsé à la fréquence de 2,856 GHz est appliqué, avec une durée d'impulsion de 2 µs et un taux de répétition de 250 pulses par seconde. L'exposition dure 8 h par jour pendant 2 semaines. Une dosimétrie correcte au vu des éléments fournis dans l'article est présente et permet d'obtenir une valeur de DAS, à savoir un niveau d'exposition de 4 W/kg. Un contrôle de la puissance est effectué à l'aide d'un wattmètre prévu pour les signaux pulsés. Un contrôle de température est également réalisé à l'aide d'une sonde à fibre optique, compatible avec des mesures sous champ électromagnétique. Il est observé une élévation de température légèrement inférieure à 1°C pour 15 minutes d'exposition à 4 W/kg. Le système d'exposition est pertinent et permet d'étudier des signaux de type radar à la fréquence de 2,856 GHz. Dans les cellules après une exposition de 2x8h à 4W/kg en 48h, les auteurs n'observent aucun effet sur la production de ROS, l'homéostasie du calcium ou l'induction de l'apoptose.

Les auteurs n'ont pas approfondi le rôle de l'augmentation de température pendant l'irradiation (+0,93°C), même si un impact délétère au lieu de l'absence d'effet aurait été attendu. Une autre limite mineure de ce travail est l'absence de contrôle positif qui aurait montré que l'absence d'effet n'est pas dû à une limitation méthodologique. Ce travail montre cependant, sur trois paramètres classiques qui pourraient être complétés par d'autres pour conforter la conclusion, une absence d'effet des radiofréquences à 2,856 GHz dans ce modèle de neurones.

- *Zielinski, J et al. (2020) Effects of pulse-modulated radiofrequency magnetic field (RF-EMF) exposure on apoptosis, autophagy, oxidative stress and electron chain transport function in human neuroblastoma and murine microglial cells*

[Cerveau]

Zielinski *et al.* (2020) ont étudié les effets des radiofréquences sur l'apoptose, l'autophagie, le stress oxydatif et l'échange d'électrons dans les cellules microgliales N9 et dans un neuroblastome humain SH-SY5Y après exposition à des radiofréquences de 935MHz avec un DAS de 4 W/kg pendant 2 min (ON) puis arrêt de 2 min (OFF), sur une durée totale de 2h ou 24h dans des boîtes de Pétri disposées dans un dispositif à guide d'onde. Les effets des radiofréquences sur la survie et l'apoptose des cellules SH-SY5Y et N9 ont été comparés à ceux induits par la staurosporine (ST) seule. L'exposition aux radiofréquences pendant 2h ou 24h ne semble pas avoir d'effet sur la survie, l'apoptose précoce ou tardive. Aucune différence n'est observée entre les cellules exposées et non exposées pour l'expression de Bcl-2, Bax et p53 dans les 2 lignées et à 2 temps d'exposition aux radiofréquences. Concernant l'autophagie dans les cellules SH-SY5Y, une augmentation d'ATG5 est observée après exposition aux radiofréquences pendant après 24h et l'expression augmente également entre une exposition de 2h et celle de 24h. Aucune différence d'expression d'ATG5 n'est trouvée dans les cellules N9 quel que soit le temps d'exposition. L'exposition des cellules SH-SY5Y aux radiofréquences entraîne une réduction significative du niveau de GSH après 6h d'exposition mais pas après 24h. Aucun effet significatif dans les cellules N9 après 6h ou 24h d'exposition. Dans les deux lignées, les niveaux d'expression de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sont identiques pour les cellules exposées et non exposées, après 2h ou 24h d'exposition. Une diminution significative des niveaux de cytochrome C se produit après 2 h d'exposition, mais pas après 24 h. Les auteurs concluent que l'exposition aux radiofréquences ne modifie pas l'apoptose précoce ou tardive ni la survie dans les cellules N9 et SH-SY5Y.

L'exposition physique est de bonne qualité, justifiée par les publications en référence (Schuderer 2004) ; elle est représentative de l'exposition élevée du rayonnement d'un dispositif de téléphonie mobile. Les auteurs étudient deux lignées d'espèces différentes :

murine (N9) et humaine (SH-SY5Y) l'une immortalisée et l'autre cancéreuse, sans jamais discuter ce point. Les mêmes expériences n'ont pas été faites sur les 2 lignées. Le protocole change selon les facteurs analysés (expo de 2h et 24h, ou 6h et 24h). Dans certaines expériences, l'agent chimique qui sert de contrôle a été étudié avec ou sans radiofréquences puis dans d'autres expériences, il est étudié seul, sans radiofréquences.

- *Zong, C., et al. (2015) Adaptive response in mice exposed to 900 MHz radiofrequency fields: Bleomycin-induced DNA and oxidative damage/repair*

[Sang et plasma][Foie][Poumons]

Zong *et al.* (2015) ont cherché à déterminer si des souris exposées à des champs de radiofréquence (RF) puis injectées avec de la bléomycine (BLM) agent radiomimétique présentent une réponse adaptative en terme de dommages oxydatifs. Des souris adultes mâles ont été exposées dans une cage en plastique et disposée dans une cellule GTEM. L'exposition est indiquée à  $120 \mu\text{W}/\text{cm}^2$  et  $50 \text{ mW}/\text{kg}$ , à une fréquence de 900 MHz, 4 heures/jour pendant 7 jours. Immédiatement après la dernière exposition, certaines souris sont sacrifiées tandis que les autres reçoivent une injection de BLM 4 heures plus tard. Dans les leucocytes ont été analysés par le test des Comètes en conditions alcalines les dommages primaires à l'ADN, les dommages induits par le BLM ainsi que sa cinétique de réparation. Dans le plasma, le foie et le poumon ont été analysés les niveaux de peroxydation lipidique (malondialdéhyde) et de superoxyde dismutase. Il n'y a aucune augmentation des altérations de l'ADN après exposition aux radiofréquences. Les souris exposées à des radiofréquences+BLM ont significativement moins d dommages à l'ADN par rapport à BLM seule et moins de dommages qui persistent au cours du temps, suggérant une meilleure réparation des dommages (si l'on exclut un excès de mortalité). Les souris doublement exposées ont aussi moins de peroxydation lipidique dans le plasma et le foie et elles présentent une augmentation du niveau de SOD dans les poumons.

Globalement les données montrent qu'une exposition aux radiofréquences du même ordre de grandeur que l'exposition d'un dispositif de téléphonie mobile n'induit pas de dommages oxydatifs et elle est capable d'induire une réponse adaptative qui atténue les dommages induits par le BLM en activant des mécanismes de réparation et de défense contre le stress oxydant.

- *Zosangzuali, M et al. (2021) Effects of radiofrequency electromagnetic radiation emitted from a mobile phone base station on the redox homeostasis in different organs of Swiss albino mice*

[Foie][système cardio-vasculaire][Reins]

Zosangzuali *et al.* (2021) étudie l'induction du stress oxydant et la modulation d'enzymes sérique chez la souris exposée aux radiofréquences. Les souris sont placées dans des cages en polypropylène localisées à 12m d'une station de base de téléphonie mobile (1800 MHz). La densité de puissance moyenne est de  $37,54 \text{ mW}/\text{m}^2$  à 1800 MHz ; elle est mesurée quotidiennement avec un analyseur de spectre. Le DAS est calculé à l'aide d'une formule empirique et estimé à  $0,013 \text{ W}/\text{kg}$ , valeur en dessous de la limite grand public corps entier de  $0,08 \text{ W}/\text{kg}$ . Les animaux sont exposés 6, 12 ou 24h pendant 45 jours. Par la suite, le cerveau, le foie, les reins et le cœur sont collecté pour mesurer des paramètres du stress oxydant. Des mesures d'activité AST et ALT (enzymes hépatiques) sont faites dans le plasma. Dans le cerveau, les quantités de GSH et l'activité GST baissent significativement à 12 et 24 h de 20 et 50% respectivement. L'activité SOD baisse de 25 % à 6h puis de 60% à 12 et 24h. Le taux de MDA augmente de 10% à 12h et 25% à 24h. Dans le cœur, aucun effet significatif n'est observé sur les 4 marqueurs du stress oxydant. Dans les reins, seule l'activité SOD est

modulée, à la baisse (-15%) à 24h. Dans le foie, aucun marqueur du stress oxydant n'est affecté. De plus, les activités sériques ALT et AST ne sont pas modulées.

Cette étude est bien menée, à part que le groupe contrôle n'est pas vraiment un témoin-exposition mais un non exposé. De plus, le sexe des animaux n'est pas précisé. Une autre limite est que le DAS est calculé avec une formule empirique qui ne prend pas en compte la non uniformité de la conductivité et de la densité massique des tissus composants les souris. L'exposition aux ondes radiofréquences peut toutefois être considérée pertinente et représentative d'une exposition par téléphonie mobile à 1800 MHz aux abords d'une station de base. L'utilisation de plusieurs marqueurs du stress oxydant est cependant un aspect positif. C'est en particulier le cas dans le cerveau où les quatre paramètres suivis indiquent sans ambiguïté l'induction d'un stress oxydant dans les groupes exposés 12 et 24h pendant 45 jours. Le cerveau apparaît donc plus sensible que le foie, les reins ou le cœur.

- *Zuo, H, et al. (2014) Neural cell apoptosis induced by microwave exposure through mitochondria-dependent caspase-3 pathway.*

Pour déterminer si le rayonnement micro-ondes (MW) induit l'apoptose des cellules neurales, des cellules PC12 différenciées et des rats Wistar ont été exposés à 2,856GHz pendant 5min et 15min, respectivement, à une densité de puissance moyenne de 30 mW/cm<sup>2</sup>. Une chaîne d'émission radiofréquence constituée d'un synthétiseur, un amplificateur et une antenne parabolique exposent d'une part des cellules et d'autre part des rats dans une cage. Cette exposition est comparable à une exposition élevée à proximité d'un dispositif de téléphonie mobile. Les colorations JC-1 et TUNEL ont permis de détecter des événements apoptotiques significatifs, tels que la perte du potentiel de membrane des mitochondries et la fragmentation de l'ADN, respectivement. La microscopie électronique à transmission et la coloration au Hoechst ont été utilisées pour observer l'ultrastructure de la chromatine et la formation de corps apoptotiques. La double coloration Annexin V-FITC/PI a été utilisée pour quantifier le niveau d'apoptose. Les expressions de Bax, Bcl-2, cytochrome c, caspase-3 clivée et PARP ont été examinées par immunoblotting ou immunocytochimie. L'activité de la caspase 3 a été mesurée à l'aide d'un test immuno-enzymatique. Les résultats ont montré une condensation de la chromatine et la formation de corps apoptotiques dans les cellules neurales 6h après l'exposition aux micro-ondes. De plus, le potentiel de membrane des mitochondries a diminué, la fragmentation de l'ADN a augmenté, ce qui a conduit à une augmentation du pourcentage de cellules apoptotiques. En outre, le rapport Bax/Bcl-2, l'expression du cytochrome c, de la caspase-3 clivée et de la PARP ont tous augmenté. En résumé, cette étude a démontré que les micro-ondes pouvaient induire l'apoptose des cellules neuronales via la voie classique de signalisation de la caspase-3. Le rayonnement micro-ondes provoque la perte de MMP par la régulation négative de Bcl-2 et la régulation positive de Bax, déclenchant la libération du cytochrome c des mitochondries vers le cytosol. L'activation subséquente de la caspase-3 aboutit finalement à l'exécution de l'apoptose. Cette étude peut fournir la base expérimentale pour une enquête plus approfondie sur le mécanisme d'action neurologique des micro-ondes. D'autres études sont nécessaires pour déterminer le mécanisme précis de l'apoptose des cellules neuronales induite par l'exposition aux micro-ondes.

La dosimétrie est sommaire. La densité de puissance incidente est indiquée, mais l'homogénéité de cette exposition n'est pas précisée, qu'il s'agisse des cellules dont le contenant n'est pas précisé ou des cages dont la taille et le nombre de rats ne sont pas précisés. Le DAS est calculé mais le résultat n'est pas indiqué. L'élévation de température des cellules et des rats est monitorée en continu. Les conditions d'hébergement des rats ne sont pas décrites, on ne sait pas si les rats du groupe témoin sont des témoin-s exposition « sham » ou ds témoin-cage.non.



- *Zuo, H, et al. (2014) RKIP Regulates Neural Cell Apoptosis Induced by Exposure to Microwave Radiation Partly Through the MEK/ERK/CREB Pathway.*

[Cerveau]

Zuo *et al.* (2014) rapportent une étude *in vitro* (cellules PC121) et *in vivo* (rats Wistar) sur l'induction de l'apoptose induite par des radiofréquences dans des cellules neurales. L'exposition est réalisée à travers une antenne cornet qui illumine par le haut des boîtes de culture cellulaire, le tout placé dans une chambre anéchoïde. Le dispositif d'excitation est complet avec un particulier deux coupleurs bi-directifs permettant de mesurer la forme des signaux et les puissances. La fréquence porteuse des signaux de type radar est de 2,856 GHz, avec une densité de puissance moyenne de 30 mW/cm<sup>2</sup>, soit 0,3 W/m<sup>2</sup>. La valeur moyenne DAS dans l'échantillon, obtenu par simulation numérique, est de 19 W/kg. Par le suivi d'une série de marqueurs complémentaires (FACS, mesure du potentiel membranaire mitochondrial, quantité de protéines pertinentes telles que Bax, Bcl2, cytochrome C, caspase 3, activité caspase 3, observation de corps apoptotiques, effet TUNEL) et en travaillant à la fois *in vitro* et *in vivo*, les auteurs démontrent de façons non ambiguë l'induction de la voie mitochondriale intrinsèque de l'apoptose.

L'exposition utilisée dans cette étude correspond à des signaux de type radar en champ lointain, avec des niveaux de DAS moyen élevés. Cependant il manque un contrôle de la température dans les échantillons exposés. En l'absence de ce dernier, il n'est pas possible d'exclure que les effets soient dus à une élévation de la température avec de tel niveau de DAS.

- *Zuo, W. Q., et al. (2015) "Sensitivity of spiral ganglion neurons to damage caused by mobile phone electromagnetic radiation will increase in lipopolysaccharide-induced inflammation in vitro model"*

[Cerveau]

Zuo *et al.*, 2015 ont cherché à savoir si le traitement de neurones cochléaires primaires *in vitro* au lipopolysaccharide (LPS) pour induire une inflammation et rendraient les neurones plus sensibles aux radiofréquences. Pour cela, des neurones isolés de ganglions spinaux de rat Sprague Dawley nouveau-nés ont été cultivés soit en présence de LPS, soit exposés de façon intermittente (fréquence de 1800 MHz, pendant 24h avec 5 minutes mode conversation et 10 min silencieux) à un taux d'absorption de 2 et 4 W / kg. Les effets recherchés sont une modification de l'activité cellulaire, des dommages à l'ADN, des modifications de l'ultrastructure cellulaire, la présence d'une autophagie et l'induction d'un stress cellulaire avec la production de ROS. Les cellules ont été réparties en 5 groupes : groupe témoin sans exposition, groupe traité par du LPS, groupe exposé à un DAS de 2W /kg, groupe exposé à un DAS de 4w/kg, groupe traité au LPS et exposé à un DAS de 2W/kg, groupe traité au LPS et exposé à un DAS de 4W/kg. Les cellules traitées au LPS ont une diminution de leur activité cellulaire indiquant une cytotoxicité et des dommages à l'ADN avec 50µg/ml de LPS. Mais sans effet pour 40 µg / ml. Les radiofréquences seuls (DAS de 2 ou 4W/kg) ou en combinaison avec le LPS (40µg/ml), n'entraînent pas de dommage à l'ADN. Par contre, la combinaison LPS (40µg/ml) et une exposition à un DAS de 4 W/kg entraîne la formation de vacuoles mitochondriales, une caryopycnose, la présence de lysosomes et d'autophagosomes, et une augmentation de l'expression de LC3-II et Beclin1. De même, la production de ROS est augmentée pour une exposition à 4 W / kg et pour une co-exposition à un DAS de 4 W/kg et au LPS. Les auteurs concluent qu'une courte exposition à un rayonnement électromagnétique n'induit pas de dommages à l'ADN dans des neurones cochléaires en culture primaire mais cette exposition pourrait modifier l'ultrastructure cellulaire pour des DAS de 4,0 W/kg lorsque

les neurones sont fragilisés par une inflammation induite par le LPS *in vitro*.

Malgré l'absence de justification de la méthode d'obtention du DAS et son homogénéité dans l'échantillon, l'exposition physique est de qualité. Il manque un groupe de cellules traitées au LPS seul pour la microscopie électronique. L'augmentation de l'autophagie est dite significative mais on ne trouve aucune quantification.

DOCUMENT EN CONSULTATION PUBLIQUE

## 2.3 Limites méthodologiques majeures

- *Abu Khadra, K. M., et al. (2014a) Antioxidant profile of saliva among young men using mobile phones*

Abu Khadra *et al.* (2014a) ont cherché, chez 109 volontaires, à voir l'impact de l'utilisation d'un téléphone portable en mode conversation sur l'expression de marqueurs biochimiques de stress oxydant dans la salive des utilisateurs.

On ne sait pas quel était le mode d'utilisation du téléphone. Un kit mains libres ? De plus, deux fréquences sont utilisées (935 et 1900 MHz) mais les auteurs ne font pas de différences. Enfin, il n'y a pas de groupe témoin-exposition. Un problème majeur est à signaler dans l'analyse statistique puisqu'un ANOVA est utilisé sur des données non indépendantes.

- *Abu Khadra, K. M., et al. (2014b) Evaluation of selected biochemical parameters in the saliva of young males using mobile phones*

Abu Khadra *et col.* (2014b) ont cherché à voir l'impact de l'utilisation d'un téléphone portable en mode conversation sur l'expression de marqueurs anti-oxydation dans la salive d'utilisateurs. L'étude a été faite sur 12 hommes (âge moyen de 22 ans) ayant parlé pendant 15 et 30 min avec un téléphone portable. Les marqueurs ont été mesurés dans la salive prélevée avant les appels et après les 2 temps d'appel. Plusieurs limites majeures sont observées. Tout d'abord, les écarts-types sont très importants pour toutes les mesures. Les auteurs rapportent dans l'abstract que le niveau de SOD augmente significativement pour 15min de conversation puis que la concentration chute, ce qui n'est pas du tout le cas sur la figure et le tableau récapitulatif des effets. Il manque l'exposition fictive pour laquelle il aurait fallu refaire l'expérience chez les mêmes sujets afin de vérifier que le seul effet significatif observé à 15 minutes pour la SOD est bien dû à l'exposition. Par contre l'analyse statistique est inadéquate : il semble en effet que les comparaisons entre les 3 groupes (0, 15, 30 minutes) aient été effectuées par simple analyse de variance alors que les mesures ont été faites chez les mêmes 12 sujets et ne sont donc pas indépendantes. Un effet sujet aurait dû être pris en compte.

- *Aghajari, S., et al. (2021) "The Immunomodulatory Effect of Radiofrequency Electromagnetic Field on Serum Cytokine Levels in A Mouse Model of Hindlimb Unloading"*

Aghajari *et al.* (2021) ont cherché, à travers une étude chez la souris, à savoir si l'exposition à des EMF pourrait contrecarrer les effets de la gravité sur l'adaptation du système immunitaire chez les astronautes lors de leurs missions dans l'espace. Les souris exposées aux radiofréquences ont été exposées à 2450 MHz avec un DAS de 0,478 W/kg pendant 12 heures/jour pendant 3 jours successifs.

Le travail utilise un routeur Wifi sans aucun contrôle sur la puissance émise et sur le niveau d'exposition des animaux. La description de l'environnement des animaux exposés est très sommaire. Une valeur de DAS est indiquée sans aucune justification ou référence. Aucun contrôle de l'exposition n'est effectué. Il n'est donc pas possible de prendre en compte une telle étude devant les limites méthodologiques majeures du point de vue de l'exposition.

- *Ahmed, NA, et al. (2017) "The antioxidant effect of Green Tea Mega EGCG against electromagnetic radiation-induced oxidative stress in the hippocampus and striatum of rats."*

Ahmed *et al.* (2017) étudient l'effet d'un antioxydant sur l'impact des radiofréquences dans le cerveau. Plusieurs limites majeures apparaissent. Une première limite est que les contrôles non exposés aux radiofréquences ne sont pas de réels témoin-exposition, en ce sens où ils

ne sont pas placés exactement dans les mêmes conditions que les animaux irradiés. La limite la plus grave à l'utilisation des résultats est l'absence de convergence, voire des données contradictoires, entre les différents marqueurs suivis. De plus, aucune tendance temporelle fiable n'est observée pour un même effet. Cela empêche donc de conclure à l'induction d'un stress oxydant. Les mêmes reproches peuvent être faits sur l'étude de l'effet protecteur du thé vert. Les auteurs expriment eux un avis opposé mais n'utilisent dans leur raisonnement que les données qui vont dans leur sens. La mise en évidence effet du thé vert n'est pas plus convaincante, d'autant plus qu'un groupe contrôle manque dans cette partie de l'étude. Des limites sont aussi à signaler pour la partie physique. Le DAS n'est pas justifié, aucun contrôle de la qualité de l'exposition en temps réel n'est indiqué. Le taux de modulation de la porteuse n'est pas indiqué.

- *Akakin, D et al. (2021) Electromagnetic Waves from Mobile Phones may Affect Rat Brain During Development*

Les objectifs de l'étude de Akakin *et al.* (2021) étaient d'étudier par des analyses morphologiques et biochimiques, les effets des radiofréquences émises par des téléphones mobiles (MP) sur le cerveau des rats de 60j dont les mères avaient déjà été ou non exposées pendant la gestation. La dosimétrie n'est pas correcte car elle est seulement exprimée à travers le DAS normatif du téléphone portable. Les conditions d'exposition ne sont donc pas maîtrisées, ces travaux ne sont pas reproductibles du point de vue de l'exposition physique.

- *Akhavan-Sigari, R., et al. (2014) Connection between Cell Phone use, p53 Gene Expression in Different Zones of Glioblastoma Multiforme and Survival Prognoses*

Le but du travail de Akhavan-Sigari, R., *et al.* (2014) est d'étudier l'expression par RT PCR du gène p53 dans les zones centrales et périphériques de glioblastome multiforme développé chez les patients utilisant le téléphone 3 heures par jour (exposition 1100-1900 MHz) et d'analyser la relation entre cette expression avec les formes histologiques et la survie. Cette publication souffre de problèmes méthodologiques majeurs : la cohorte est trop petite, il n'y a aucune indication sur la taille des groupes exposés >3h versus < 3h. Les auteurs ne considèrent pas que l'âge et le sexe peuvent expliquer / influencer les résultats observés. Travail très basique mal décrit et les résultats ne sont pas tous montrés.

- *Akkam, Y et al. (2020) Correlation of Blood Oxidative Stress Parameters to Indoor Radiofrequency Radiation: A Cross Sectional Study in Jordan*

L'étude transversale d'Akkam *et al.* (2020) a évalué l'effet potentiel du rayonnement électromagnétique généré par diverses sources, y compris les antennes de téléphonie cellulaire, sur l'activité de la glutathione S transférase sanguine et l'activité antioxydante totale d'un échantillon géographique de la population jordanienne. L'activité antioxydante totale est statistiquement égale entre les groupes testés et témoins. Des limites majeures sur le versant du design épidémiologique empêchent cependant de prendre en considération ces résultats.

- *Alahmad, Y. M., et al. (2018) Effect of cell-phone radiofrequency on angiogenesis and cell invasion in human head and neck cancer cells*

Dans l'étude de Alahmad de 2018, les effets des radiofréquences des téléphones portables sur l'angiogenèse, l'invasion cellulaire et la formation de colonies de cellules cancéreuses de cancer de la tête et du cou ont été étudiés en utilisant le modèle de membrane chorioallantoïque (CAM) et les lignées cellulaires humaines FaDu et SCC252. Il n'y a aucun détail, référence ou mesure sur les niveaux d'exposition à part la mention « comme décrit précédemment », sans lien avec l'article. L'absence d'information basique ne permet pas d'exploiter les résultats d'une telle étude. Difficile d'être convaincu par les effets car les écarts-



types pour certaines expériences sont importants. On se demande comment ces effets peuvent être significatifs. De plus, pour dire qu'il y a activation de Erk (via sa phosphorylation), il faudrait avoir l'expression de Erk non phosphorylé, ce qui n'est pas le cas.

- *Al-assaf, M et al. (2020) Effects of mobile phone radiation on parotid gland: Immunohistochemical study*

L'étude de Al-Assaf *et al.* (2020) a cherché les effets potentiels du rayonnement micro-ondes sur la prolifération de la glande parotidienne chez des lapins de Nouvelle-Zélande, en mesurant les niveaux d'expression de la protéine Ki-67.

Deux téléphones portables 3G du commerce sont utilisés en mode appel et placés contre la paroi en verre de 2 boîtes refermant chacune un lapin. L'étude n'est pas reproductible car la dosimétrie du système d'exposition n'a pas été réalisée.

- *Alessio, N., et al., (2019) "Low-level radiofrequency exposure does not induce changes in MSC biology: An in vitro study for the prevention of NIR-related damage"*

Alessio, *et al.* (2019) ont cherché à déterminer si l'exposition aux radiofréquences de 169 MHz peut endommager les cellules souches en induisant la sénescence et la perte de capacité de régénération et de réparation de l'ADN dans des cellules stromales mésenchymateuses (CSM de donneurs sains) contenant une sous-population de cellules souches.

Cette étude présente des limites majeures du point de vue de l'exposition physique. La seule connaissance de l'énergie délivrée par la source ne permet pas de remonter au champ ou à la densité de puissance ou au DAS. Les conditions d'exposition indiquées ne sont pas suffisantes pour que l'expérimentation soit reproductible.

- *Amer, FI, et al., (2013) "Effect Of Microwave Radiation On The Retina Of Mice Embryos."*

Amer *et al.* (2013) ont étudié les effets de radiations des téléphones portables sur le développement d'embryons de souris. Les femelles gravides ont été exposées à 950MHz et 1800MHz entre E7 et E14 2 heures/jour. Les effets ont été recherchés sur le développement des fœtus. Aucune description du système utilisé pour l'exposition des animaux n'est fournie.

- *Amir, A., et al. (2018) SRY gene mutation in Rattus norvegicus induced by various time exposure of mobile phone*

Le but du travail de Amir, A., *et al.* (2018) est d'analyser les conséquences d'une exposition de durée variable à des téléphones portables sur l'induction de mutations dans le gène SRY chez le rat mâle adulte *Rattus Norvegicus*. Ce travail souffre de problèmes méthodologiques majeurs. En effet, il est impossible de faire confiance aux résultats et encore moins aux conclusions. Une souche de rats *outbred* est utilisée, ce qui implique qu'il existe un degré de polymorphisme entre les individus. Les conditions d'exposition semblent très sommaires et ne sont pas décrites correctement. Séquençage de produits de PCR obtenus après 35 cycles avec une taq DNA polymérase ordinaire. Une mutation a été trouvée dans le groupe témoin et les auteurs en concluent que le groupe témoin a probablement été exposés. Il y a une ambiguïté sur la taille du produit de PCR qui est annoncé à 500 pb ce qui ne semble pas cohérent avec le marqueur de masses moléculaires (Figure 4) De plus les résultats du séquençage montre un fragment de 595 pb et les auteurs expliquent que cela correspond à un pseudogène qui a été amplifié avec les amorces utilisées. Par ailleurs, cette étude ne présente aucune dosimétrie en terme de niveau d'exposition, ni aucun contrôle de température des rats. Il s'agit d'une limite méthodologique majeure ; ces travaux ne sont pas reproductibles.

- *An, K, et al. (2015) "The preventative effects of zinc and vitamin E supplementation on cellular phone radiation-induced oxidative stress in brain tissues of rats and their fetuses."*

Le but du travail est de déterminer si une exposition à des radiofréquences à 900MHz 3 fois 1 par jour pendant toute la gestation peut induire un stress oxydant dans le cerveau de rate Wistar femelle gestante et des foetus et de déterminer si une prise orale tous les jours de zinc seul ou de zinc plus de la vitamine E peuvent prévenir l'induction de ce stress. Les rats sont maintenus dans des tubes en plastique ; un téléphone mobile est disposé de telle sorte que son antenne en émission à 900 MHz soit maintenue à proximité de l'oreille des rats. La dosimétrie annoncée à 6 W/kg est obtenue par une formulation erronée, à partir du champ incident à vide. A ce titre, l'expérimentation n'est pas reproductible et présente des limites méthodologiques majeures. La dosimétrie annoncée à 6W/kg est obtenue par une formulation erronée, à partir du champ incident à vide. A ce titre, l'expérimentation n'est pas reproductible et présente des limites méthodologiques majeures.

- *Bahreyni Toossi, M. H., et al. (2018) "Exposure to mobile phone (900-1800MHz) during pregnancy: tissue oxidative stress after childbirth"*

Il n'y a pas de groupe témoin-exposition, il n'est pas précisé comment sont prélevés les différents tissus sur les mères et les nouveaux nés, aucune indication n'est donnée sur le conditionnement des tissus ni sur la normalisation des données qui doit être faite par rapport aux quantités de protéines totales dans chacun des prélèvements. Des rats sont exposés aux 4 fréquences d'un brouilleur de 900 à 1800 MHz, à un niveau de 1 mW/m<sup>2</sup>, c'est-à-dire un niveau faible d'exposition aux rayonnements de téléphonie mobile. La dosimétrie est sommaire, pas contrôlée en temps réel. Le DAS et la répartition de l'exposition par bande ne sont pas indiqués.

- *Arbabi-Kalati, F, et al. (2014) Effect of mobile phone usage time on total antioxidant capacity of saliva and salivary immunoglobulin a.*

L'étude d'Arbabi-Kalati *et al.*, en 2014, a étudié les effets de la durée d'utilisation du téléphone mobile sur la capacité antioxydante totale de la salive. L'étude est faite sur 105 participants (sexe non précisé) ayant utilisé un téléphone portable depuis au moins 5 ans. Des limites sont trouvées dans la partie exposition puisqu'aucun détail n'est donné sur les téléphones utilisés, et sur la partie biologique, avec une ambiguïté sur le volume réel de salive prélevé (2 ou 5 ml dans différentes parties de l'article. Cependant la conception de l'étude pose problème puisque qu'il s'agit d'une étude transversale mais on ne connaît pas la population dont sont issus les participants ni la façon dont ils ont été sélectionnés. De plus, seules les moyennes sont comparées, entre les trois groupes ou deux à deux mais aucune modélisation n'est réalisée. Enfin, il n'y a pas de prise en compte de facteurs de confusion.

- *Arthamin, M et al. (2020) The 1800 mhz radiofrequency electromagnetic fields can lead to a reduction in the number of cd4+t cells, il-2, il-10, and il-17a on pbmc cultures*

L'objectif de l'étude de Arthamin *et al.* a été de déterminer si l'exposition à des radiofréquences de 1800 MHz pendant 15-30-45 et 60 min à 5 ou 25 cm de la source, pouvait entraîner une dérégulation de cellules mononuclées périphériques (PBMCs) de donneurs sains et en particulier des lymphocytes T auxiliaires 1, 2 et 17. Cette étude ne justifie pas la dosimétrie en DAS. Les publications de référence n'apportent pas d'informations complémentaires. En biologie, on ne sait pas comment sont traités les PBMCs contrôles. On ne sait pas si la température a été contrôlée. Les auteurs ne concluent que pour un seul temps d'exposition (60min) et une distance (5cm) en disant qu'il y a une diminution du nombre de lymphocytes T et de l'expression des interleukines. Ces conclusions généralistes occultent des effets qui

divergent à certains temps ou distance d'exposition.

- *Atasoy, H. I., et al. (2013) "Immunohistopathologic demonstration of deleterious effects on growing rat testes of radiofrequency waves emitted from conventional Wi-Fi devices"*

Atasoy *et al.* (2012) ont étudié les effets sur les testicules des rats des radiations radiofréquences émises par les dispositifs d'accès Internet Wi-Fi intérieurs utilisant les normes sans fil 802.11.g. Dix rats mâles Wistar albinos ont été divisés en groupes expérimental et de contrôle, avec cinq rats par groupe. L'exposition est réalisée à l'aide de deux bornes Wifi commerciales qui échangent de l'information. Elles sont positionnées de part et d'autre de trois cages de 20x30x40 cm de plexiglas au sein desquelles sont placés les animaux. La distance entre les bornes Wifi et les cages est de 25 cm. L'absence d'une description précise de la mesure des niveaux de champs, ou de densité de puissance ne permet pas d'en déduire les niveaux d'expositions. De même, un DAS est indiqué qui semble correspondre à la valeur de conformité fournie par le fabricant. La dosimétrie est par conséquent insuffisante pour connaître les niveaux d'exposition utilisés lors de cette étude, ne permettant pas de mettre en perspective les résultats obtenus avec ceux de la littérature. Elle est classée en limites majeures.

- *Aydoğan, F., et al. (2015) "The effects of 2100-MHz radiofrequency radiation on nasal mucosa and mucociliary clearance in rats"*

Aydoğan, *et al.* (2015) ont étudié les effets à court et à relativement long terme du rayonnement radiofréquence de 2100 MHz émis par un générateur, simulant un téléphone mobile 3G, sur la muqueuse nasale et la clairance mucociliaire chez le rat Wistar. Le système d'exposition comprend un générateur radiofréquences et une antenne cornet, placée à une distance de 12 cm des têtes des rats. Il n'est pas suffisamment décrit et des incohérences existent dans les paramètres de dosimétrie indiqués.

- *Aynali, G., et al. (2013) "Modulation of wireless (2.45 GHz)-induced oxidative toxicity in laryngotracheal mucosa of rat by melatonin"*

L'étude de Aynali *et al.*, (2013), cherche à montrer un possible rôle protecteur de la mélatonine sur le stress oxydatif induit par des radiofréquences Wi-Fi de 2,45 GHz dans la muqueuse laryngo-trachéale du rat. Le système d'exposition correspond à un rayonnement de type WIFI avec un niveau de DAS corps entier appliqué supérieur à la limite grand public de 0,08 W/kg mais inférieur à celle pour les travailleurs soit 0,4 W/kg. La dosimétrie n'est pas suffisamment étayée et plusieurs valeurs de DAS sont données. La méthode de mesure de champ et conditions ne sont pas clairement indiquées. La présence des animaux lors de la mesure du champ n'est pas indiquée, de même que la méthode de calcul de DAS. L'amplitude des effets biologiques est très faible. Ces limites de qualité méthodologiques sont majeures.

- *Azadi Oskouyi, E., et al. (2015) "Effects of microwaves (950 MHz mobile phone) on morphometric and apoptotic changes of rabbit epididymis"*

Azadi Oskouyi *et al.* (2014) ont voulu observer l'effet des radiations des téléphones mobiles sur le système de reproduction humain. Dans cette étude, 18 lapins mâles ont été répartis au hasard en deux groupes expérimentaux et un groupe témoin. Le système d'exposition est constitué d'une antenne cornet positionnée au-dessus d'une cage en plexiglas dans laquelle sont placés les animaux. Du polystyrène entoure la cage pour prévenir des rayonnements en dehors de la cage. Le signal est de type GSM à la fréquence de 950 MHz. La puissance délivrée par la source est de 3 et 6 W. L'absence de précision dans la description du système d'exposition et l'absence de dosimétrie ne permettent pas de connaître les niveaux d'exposition des animaux. La seule valeur d'un champ électrique sans en connaître la procédure de mesure n'est pas exploitable dans de telles conditions.

- *Balakrishnan, K., et al. (2014) "Hsp70 is an independent stress marker among frequent users of mobile phones"*

Balakrishnan *et al.* (2014) ont cherché à déterminer si, chez l'humain, une exposition fréquente au téléphone mobile pouvait entraîner une réaction inflammatoire qui serait caractérisée par des concentrations sériques plus élevées de la protéine HSP70 et de la protéine C-réactive.

La taille de la cohorte d'individus exposés/non-exposés est trop petite. Par ailleurs, un seul prélèvement a été réalisé par individu. Aucune enquête pour identifier de possibles facteurs confondants (alcool, tabac, stress) pouvant générer un stress n'a été menée. Il n'y a pas non plus eu de numération de la formule sanguine (analyse quantitative et qualitative des composants cellulaires du sang) des individus, qui aurait permis de « normaliser » les échantillons sanguins inter-individus ; cela induit l'impossibilité de comparer les valeurs sériques des différents individus de la cohorte.

- *Bantysh, B. B., et al. (2018) "Peculiar Effects of Electromagnetic Millimeter Waves on Tumor Development in BALB/c Mice"*

Bantysh *et al.* (2018) ont étudié les effets des ondes électromagnétiques millimétriques aux fréquences 130 GHz, correspondant aux spectres d'adsorption et de rayonnement de NO et O<sub>2</sub>, en analysant, après une exposition de 6 heures de souris porteuses de tumeurs, la morphogenèse et la progression des tumeurs chez des souris Balb/C prédisposées à développer des tumeurs. Les souris mâles et femelles sont analysées globalement ; les âges au sein des groupes varient de 3 à 6 mois.

Les conditions d'exposition des souris ne sont pas décrites par les auteurs ; les seules informations disponibles concernant le système d'exposition sont la fréquence et la référence du générateur utilisé. Les réponses des cellules tumorales sont morphologiques et basiques. L'étude ne propose pas de piste pour des interprétations en fonction de possibles voies ou mécanismes dérégulés qui permettrait de relier les résultats à cette expertise.

- *Barbault, A et al. (2009) "Amplitude-modulated electromagnetic fields for the treatment of cancer: Discovery of tumor-specific frequencies and assessment of a novel therapeutic approach"*

L'étude Barbault *et al.*, 2009 a consisté à identifier des radiofréquences thérapeutiques pour des patients ayant un cancer. L'étude a porté sur 163 patients diagnostiqués avec un cancer. Un biais majeur dans ce travail et qu'il n'y a pas de groupe contrôle, donc impossible de vérifier que les effets observés sont dus à l'exposition.

- *Barteri, M et al. (2015) "Effects of microwaves (900MHz) on peroxidase systems: a comparison between lactoperoxidase and horseradish peroxidase."*

Le travail de Barteri *et al.*, 2015, étudie les effets d'une exposition à des radiofréquences de 900 MHz sur l'activité catalytique et la structure de 2 enzymes de sources différentes, la lactoperoxydase et peroxydase de raifort. Le protocole d'exposition est insuffisamment décrit – il y a un agitateur magnétique dans les tubes d'échantillons au moment de l'exposition. De plus, il est question de résultats significatifs, mais il n'y a aucune description des tests statistiques ni d'indication de p sur les graphiques.

- *Bedir, R., et al. (2018) Pathological Findings Observed in the Kidneys of Postnatal Male Rats Exposed to the 2100 MHz Electromagnetic Field*

Bedir *et al.* (2018) étudient la capacité d'une exposition à des radiofréquences de 2100 MHz pendant 6 et 12 h à induire une lésion rénale aiguë par l'intermédiaire d'un stress oxydant chez le rat Sprague-Dawley adulte. Des limites empêche de conserver cette étude comme des



imprécisions sur le sexe et l'âge des rats au moment de l'exposition, et surtout l'absence d'un groupe témoin-exposition dans le protocole.

- *Bektas, H., et al. (2020) Comparison of effects of 2.4 GHz Wi-Fi and mobile phone exposure on human placenta and cord blood*

L'objectif de l'étude de Bektas *et al.* (2020) était d'examiner les effets du rayonnement radiofréquences émis par les systèmes Wi-Fi et les téléphones mobiles sur le sang du cordon et le placenta chez des femmes pendant la grossesse. Si les paramètres biologiques suivis sont intéressants, le travail présente des limites majeures du fait de la constitution des groupes étudiés. Les deux populations sont en effet très différentes (urbains pour les exposés, de la campagne pour les contrôles). Ceci entraîne un risque important de biais de sélection.

- *Beltrán-Frutos, E et al. (2021) Differences in the response in the dermis of the tails of young and old SD rats to treatment with bipolar RF*

L'objectif de l'étude de Beltrán-Frutos, *et al.* (2021) est de réaliser une étude histologique des modifications du derme caudal de rats jeunes et vieux après les avoir exposés à des radiofréquences et d'évaluer la prolifération cellulaire et le volume du tissu conjonctif. Un pointeur est utilisé pour appliquer une onde de forme bipolaire sur la queue d'un rat en effectuant plusieurs passages durant des sessions de 60 minutes. La description du système d'application radiofréquences manque d'informations, de même que son calibrage en terme d'exposition.

- *Berköz, M., et al. (2018) "1800 mhz radio-frequency electromagnetic radiation induces oxidative stress in rat liver, kidney and brain tissues"*

Le but du travail est de déterminer si les radiofréquences à 1800 MHz induisent un stress oxydatif dans le foie, les reins et le cerveau de rats femelles adultes exposées à des radiofréquences 1800 MHz 2h/jour pendant 8 semaines en comparaison avec des rates témoin-cage ou témoin-exposition (9 rates/groupe). Ce travail souffre de problèmes méthodologiques majeurs car le niveau d'exposition est faible (0,06 W/kg corps entier), la dosimétrie est très sommaire avec une unique valeur de champ pour l'ensemble du groupe. Le DAS n'est pas justifié.

- *Bhattacharya, D et al., (2021) "Ameliorative effects of high-protein diet on hepatotoxic alterations in Swiss albino mice exposed to mobile phone radiation"*

Bhattacharya *et al.* (2021) ont évalué les dommages causés par les radiations des téléphones portables sur les cellules hépatiques de souris mâles Swiss, et si un régime riche en protéines a un effet améliorant sur ces dommages. L'absence de mesure et de contrôle de la puissance délivrée par le téléphone conduisent à un dispositif non pertinent du point de vue exposition. Le DAS ne peut pas être évalué avec une puissance mètre et les références 15 et 16 pour justifier la dosimétrie ne correspondent pas au système d'exposition du présent article.

- *Bodera, P, et al. (2015) "Influence of electromagnetic field (1800 MHz) on lipid peroxidation in brain, blood, liver and kidney in rats."*

Bodera *et al.* (2015) ont évalué l'influence d'une exposition répétée (15 minutes, 5 fois par jour) à un champ électromagnétique de fréquence 1800 MHz (dont le signal peut s'apparenter à une modulation de type GSM) sur la peroxydation lipidique tissulaire (LPO) de rats sains ou présentant une inflammation induite au niveau de la patte, traités ou non par du tramadol (analgésique opioïde).

Les interprétations des résultats des groupes exposés ne tiennent pas compte des résultats

obtenus chez les groupes témoin-exposition. Le résumé qui est fait des effets, dans le texte, est en contradiction avec les résultats bruts présentés (ex : d'après les figures, il n'y a pas d'effets dans le rein, mais le texte dit l'inverse). Les analyses statistiques ne sont pas correctement réalisées car il manque des comparaisons entre certains groupes, ce qui implique une mauvaise interprétation des résultats. Les auteurs observent un stress oxydant dans le groupe témoin non exposé.

- *Bodera, P., et al. (2013) Changes in antioxidant capacity of blood due to mutual action of electromagnetic field (1800MHz) and opioid drug (tramadol) in animal model of persistent inflammatory state*

Bodera *et al.* (2013) ont étudié les modifications de la capacité antioxydante du sang après exposition de 15 min à un champ électromagnétique (1800 MHz) et à un opioïde. Chez des rats mâles adultes sains ou ayant une inflammation chronique. Une antenne délivre un signal de type GSM-1800 MHz, en continu durant 15 min, à une distance de 1 m d'une cage en Plexiglas contenant 2 animaux. Une valeur de champ électrique de 20 V/m est indiquée, sans information sur la mesure de cette valeur. Le manque de précision sur certains aspects de la description de l'exposition et de la dosimétrie limite fortement la portée de cette étude.

- *Boga, A et al. (2015) The effect of 900 and 1800MHz GSM-like radiofrequency irradiation and nicotine sulfate administration on the embryonic development of Xenopus laevis*

Boga *et al.* (2015) ont eu pour objectif d'étudier les effets de l'exposition au rayonnement électromagnétique de radiofréquence (EMR radiofréquences) de type GSM et au sulfate de nicotine (SN) sur le développement embryonnaire de *Xenopus*. Les échantillons sont exposés à 2cm d'une antenne alimentée en 900 et 1800 MHz durant 4, 6 et 8h. Le champ et le DAS sont indiqués aux mêmes valeurs de 24,5 et 1 W/kg respectivement. Le champ et le DAS ont la même valeur pour les 2 fréquences, ce qui discrédite la qualité de l'exposition physique. En outre, la proximité (2cm) de l'antenne et de la boîte de Petri implique des conditions de champ proches qui en sont pas reproductible car pas caractérisées. Pour ces raisons, l'exposition physique de cette étude présente des limitations méthodologiques majeures.

- *Bortkiewicz, A., et al (2017) "Mobile phone use and risk for intracranial tumors and salivary gland tumors - A meta-analysis"*

Bortkiewicz *et al.* (2017) ont réalisé une méta-analyse des travaux épidémiologiques étudiant l'association entre l'usage des téléphones mobiles et les tumeurs intracrâniennes et des glandes salivaires jusqu'en 2014. Ce travail présente des limites méthodologiques majeures. En effet, une méta-analyse devrait combiner des résultats d'études indépendantes, ce qui n'est pas le cas du travail de Bortkiewicz *et al.* puisque les données des mêmes sujets sont incluses plusieurs fois dans les analyses présentées.

- *Borzoueisileh, S et al., (2020) "Assessment of function, histopathological changes, and oxidative stress in liver tissue due to ionizing and non-ionizing radiations"*

Borzoueisileh, *et al.* (2020) ont évalué les effets biologiques de l'exposition aux radiofréquences à 900/1800 MHz et 2,4 GHz, et aux rayons X seuls, ainsi que leurs interactions potentielles (simples effets additifs, adaptatifs ou synergiques) sur la fonction hépatique chez des rats Wistar. L'article manque d'information sur le banc de test, notamment la distance à laquelle se situent les rats des sources radiofréquences, et si le niveau d'exposition a été régulièrement vérifié. La dosimétrie n'est pas suffisamment étayée. La méthode de mesure de champ et conditions ne sont pas clairement indiquées. La présence des animaux lors de la mesure du champ n'est pas indiquée.

- *Bourthoumieu, S., et al. (2013) Study of p53 expression and post-transcriptional modifications after GSM-900 radiofrequency exposure of human amniotic cells*

Bourthoumieu *et al.* (2012) ont pour objectif de déterminer si l'exposition à des champs électromagnétiques radiofréquences, similaires à ceux émis par les téléphones mobiles de la norme de deuxième génération, *Global System for Mobile Communications* (GSM), pouvait induire l'expression de la protéine p53 et son activation par des modifications post-traductionnelles dans des cellules humaines en culture. Le système d'exposition et la dosimétrie sont de qualité. Cependant, Il n'y a pas d'expérience pour contrôler l'effet des différents DAS sur la température. Les auteurs ne le font pas au prétexte qu'il n'y a pas d'effet des radiofréquences. Il n'y a pas non plus de quantification des analyses en western blot.

- *Burlaka, A., et al., (2013) "Overproduction of free radical species in embryonal cells exposed to low intensity radiofrequency radiation"*

L'étude de Burlaka *et al.* (2013) a évalué la production de radicaux libres, qui peuvent conduire à un stress oxydatif chez des embryons de cailles japonaises exposés in ovo à des radiofréquences de 900 MHz pendant 158 à 360 h de manière discontinue. Le dispositif d'exposition est discutable, et les valeurs de densité de puissance mentionnées ne sont pas réalistes, de même pour les valeurs de DAS.

- *Burlaka, A.P. et al. (2016) Disordered redox metabolism of brain cells in rats exposed to low doses of ionizing radiation or UHF electromagnetic radiation*

Burlaka *et al.* (2016) ont étudié les changements de l'état redox de cellules cérébrales de rats femelles, comme facteur critique d'initiation et de formation de dommages causés aux structures biologiques par une exposition continue à de faibles doses de rayonnements ionisants ou de rayonnement électromagnétique ultra haute fréquence fractionné (UHF EMR) sans effet thermique

Un générateur est utilisé pour délivrer à des rats un signal pulsé à 0,465 GHz avec une durée d'impulsion de 2 ms, une séparation entre pulse de 10 Ms, pendant 17,5 minutes. Le système d'exposition radiofréquences avec sa caractérisation en dosimétrie n'est pas clairement décrit et est donc non reproductible.

- *Çam, S. T., et al. (2016) Investigation of free radical formation in human lymphocyte, leukemia, breast fibroblast and breast adenocarcinoma cell cultures after radio frequency exposure using electron spin resonance*

Çam, S. T., *et al.* (2016) étudient par résonance paramagnétique électronique, les radicaux libres générés par des radiofréquences dans des cellules humaines en culture. Les auteurs montrent un effet conjugué des radiofréquences et UVA, mais avec un manque de précisions expérimentales qui empêche de garder cette étude dans le corpus d'articles.

- *Canseven, A. G., et al. (2015) Effects of microwave exposure and Gemcitabine treatment on apoptotic activity in Burkitts lymphoma (Raji) cells*

L'étude de Canseven *et al.*, 2015, a analysé les effets du rayonnement micro-ondes (MW) modulé par GSM à 1,8 MHz sur l'apoptose et la viabilité des cellules. La température dans les cellules pendant/après exposition n'est pas contrôlée. Les auteurs comparent les effets des radiofréquences et des radiofréquences + gemcitabine mais ils ne donnent aucun résultat sur les effets de la gemcitabine seule. Les résultats ne sont pas validés par la description des tests statistiques et pas d'indication du « p » de statistique.

- *Chandel, S et al. (2017) Exposure to 2100 MHz electromagnetic field radiations induces reactive oxygen species generation in Allium cepa roots.*

Chandel, S *et al.* (2017) étudient le stress oxydant inuit par des radiofréquences dans des racines d'oignons. Les échantillons sont exposés à 2100 MHz, à un niveau de 489 mW/m<sup>2</sup>, durant 1, 2 ou 4h à proximité d'une antenne. La qualité du champ électromagnétique incident en terme d'impédance n'est pas précisée, l'homogénéité du champ et son incidence ne sont pas indiquées. Pour ces raisons, l'exposition physique de cette étude présente des limitations méthodologiques majeures. Cette exposition n'est pas reproductible.

- *Chandel, S., et al. (2019a) Appraisal of immediate and late effects of mobile phone radiations at 2100 MHz on mitotic activity and DNA integrity in root meristems of Allium cepa*

Chandel, S *et al.* (2019) étudient la modulation de la division cellulaire et la génotoxicité induites par des radiofréquences dans des l'oignon. L'exposition est réalisée à partir d'une antenne, placée à quelques centimètres de bulbe d'oignon frais. La fréquence du signal est de 2100 MHz, et la durée d'exposition comprise entre 1 et 4 h. Une densité de puissance de 489 mW/m<sup>2</sup> a été mesurée à 5 cm de l'antenne. La description de l'exposition reste très sommaire sur le type d'antenne et le positionnement de cette dernière vis-à-vis de l'échantillon exposé. Le calcul de la valeur de DAS n'est pas explicité. Ces deux points font que la dosimétrie n'est pas suffisante.

- *Chandel, S., et al. (2019b) Exposure to mobile phone radiations at 2350 MHz incites cyto- and genotoxic effects in root meristems of Allium cepa*

Chandel, S *et al.* (2019) étudient les effet cytotoxiques et génotoxiques induits par des radiofréquences dans des l'oignon. L'exposition est réalisée à partir d'une antenne, placée à quelques centimètres de bulbe d'oignon frais. La fréquence du signal est de 2350 MHz, et la durée d'exposition comprise entre 1, 2 et 4 h. Une densité de puissance de 492 mW/m<sup>2</sup> a été mesurée à 5 cm de l'antenne. La description de l'exposition reste très sommaire sur le type d'antenne et le positionnement de cette dernière vis-à-vis de l'échantillon exposé. Le calcul de la valeur de DAS n'est pas explicité. Ces deux points font que la dosimétrie n'est pas suffisante.

- *Chen, X, et al. (2014) Electromagnetic field exposure may influence the apoptosis rate of human cell cultures.*

Le travail de Cheng *et al.*, 2014, a évalué les effets de champs magnétiques homogènes sur des cellules leucémiques Hela, HL60, OvCar3 et HT1080 et l'exposition à 1,8GHz après 24 et 48h. L'apoptose a été mesurée. Cet article correspond à une présentation de conférence et les informations sont insuffisantes, en biologie et en exposition. On ne connaît pas la technique pour évaluer l'apoptose ni la nécrose. Il n'y a pas d'écart-type, pas de description de tests statistiques, ni de résultats statistiques.

- *Chiang, H (2013) Superposition of an incoherent magnetic field inhibited EGF receptor clustering and phosphorylation induced by a 1.8 GHz pulse-modulated radiofrequency radiation.*

L'étude de Chiang *et al.* (2013) a pour but d'étudier l'effet d'un champ magnétique (MF) temporellement incohérent (« bruit ») sur le regroupement et la phosphorylation des récepteurs du facteur de croissance épidermique (EGF) induits par le rayonnement radiofréquence (RFR) dans des cellules de culture. Cependant, cet article devrait être considéré en limites majeures étant donné la qualité des résultats et des figures qui sont médiocres. On ne peut rien déduire des figures 2 et 3. Quant à la figure 4, la qualité des Western blot est tout aussi médiocre et pixellisé.



- *Chokeli, R., et al. (2019) "The chromosomal DNA damage in buccal mucosa cells among schools children in the vicinity of mobile base stations in Selangor"*

Dans l'étude transversale, Chokeli *et al.* (2019), présentent des analyses de dommages à l'ADN chez des enfants de 10 à 11 ans d'âge scolarisés dans 4 écoles. L'article manque de précisions essentielles : la population d'étude n'est pas du tout décrite, les auteurs ne précisent pas où l'étude a lieu, les groupes exposés et non exposés sont incohérents entre le paragraphe méthode, le texte des résultats et la figure des résultats. Ce travail ne peut donc pas être retenu pour l'élaboration de lignes de preuves.

- *Çiftçi, Z. Z., et al. (2015) "Effects of Prenatal and Postnatal Exposure of Wi-Fi on Development of Teeth and Changes in Teeth Element Concentration in Rats: Wi-Fi (2.45 GHz) and Teeth Element Concentrations"*

L'étude de Çiftçi *et al.* (2015) a recherché les effets de l'exposition prénatale et postnatale au rayonnement électromagnétique induit par le Wi-Fi (2,45 GHz) sur le développement des dents et des tissus environnants ainsi que sur l'apoptose chez les rats en croissance. La dosimétrie n'est pas suffisamment étayée. La méthode de mesure de champ et conditions ne sont pas clairement indiquées. La présence des animaux lors de la mesure du champ n'est pas indiquée, de même que la méthode de calcul de DAS.

- *Çiğ, B., et al. (2015) "Investigation of the effects of distance from sources on apoptosis, oxidative stress and cytosolic calcium accumulation via TRPV1 channels induced by mobile phones and Wi-Fi in breast cancer cells"*

L'étude de Çiğ *et al.*, 2015 a recherché les effets de la distance vis à vis des sources d'exposition aux radiofréquences, sur la signalisation calcique, la production de ROS cytosoliques, la viabilité cellulaire, l'apoptose, ainsi que les valeurs des caspases-3 et -9 induites par les téléphones mobiles et le Wi-Fi dans les cellules cancéreuses du sein MCF-7. Seul le DAS à la fréquence 900 MHz est indiqué (0,36 W/kg en moyenne), justifié par une publication de référence dont la fréquence est différente (2,45 GHz). Cette publication n'apporte pas une justification suffisante du DAS. En terme de biologie, les auteurs rapportent une augmentation de la viabilité cellulaire en même temps qu'une augmentation de l'apoptose et de l'activité des caspases. Aucune hypothèse ou discussion ne sont proposées sur ces résultats contradictoires.

- *Crabtree, D., et al. (2013) "Investigation of inflammatory markers after electrostimulation"*

Crabtree *et al.* (2013) ont cherché à déterminer l'impact d'une l'électrostimulation sur l'expression de 21 gènes de la famille des cytokines, exprimés par les monocytes humains THP-1. Deux modes d'exposition sont utilisés : les cellules sont exposées soit aux impulsions électriques produites par un générateur d'impulsions, soit aux champs électromagnétiques émis par un téléphone mobile du commerce. Ces appareils sont placés au contact direct des boîtes de Pétri.

Le système d'exposition constitué du générateur d'impulsions est décrit de façon incorrecte, de sorte que la qualité de la dosimétrie n'est pas assurée. Le système d'exposition constitué du téléphone mobile n'assure pas de dosimétrie correcte et ne permet pas de reproductibilité de l'expérience. Sur le plan de la biologie, il n'y a pas d'étude cinétique. Les écarts-types présentés sont importants pour l'expression de certains gènes. Une seule lignée tumorale, est étudiée. L'article ne permet pas de savoir s'il y a eu plusieurs réplicats pour chacune des trois expériences.

- *Curley, SA, et al. (2014) "Noninvasive radiofrequency treatment effect on mitochondria in pancreatic cancer cells."*

L'étude de Curley *et al.* (2014) a évalué l'effet d'un traitement radiofréquences sur les mitochondries dans les cellules cancéreuses du pancréas humain. Des cellules cancéreuses sont exposées à un champ de 1 à 20 kV/m à une fréquence de 13,56MHz. L'exposition est très sommairement décrite. Les radiofréquences ont une visée thérapeutique thermique mais la température n'est pas suivie. Le champ incident n'est pas précisément indiqué (de 1 à 20 kV/m), avec une erreur sur les unités. La publication en référence n'apporte pas de précisions. En l'état, cette étude n'est pas reproductible.

- *D'Silva, M. H., et al.,(2017) "Effect of radiofrequency radiation emitted from 2G and 3G cell phone on developing liver of chick embryo – A comparative study"*

D'Silva, *et al.* (2017) a cherché à comprendre les mécanismes de base par lesquels les radiofréquences interagissent avec les tissus en développement d'un embryon. Pour cela, ils ont évalué les dommages aux tissus et à l'ADN dans le foie en développement d'un embryon de poulet après une exposition chronique aux rayonnements émis par les téléphones portables 2G et 3G. Le système d'exposition n'est pas pertinent. Outre le manque d'information sur la puissance délivrée par la source, le téléphone en l'occurrence, il reste beaucoup de questionnement : le téléphone est maintenu dans un support grillagé métallique, le tout est placé dans un incubateur métallique. Le capteur de champ avec toute l'électronique et l'alimentation est placé à proximité des œufs exposés.

- *Danese, E., et al. (2017) "Mobile phone radiofrequency exposure has no effect on DNA double strand breaks (DSB) in human lymphocytes"*

L'étude de Danese, *et al.* (2017) a étudié les effets génotoxiques possibles d'une exposition aux radiofréquences des téléphones portables sur les cellules mononucléées du sang périphérique humain in vitro. Des échantillons sanguins sont exposés à proximité d'un GSM à 900 MHz. Cette étude présente une limite méthodologique majeure du point de vue physique en raison de l'absence de dosimétrie. Cette étude n'est pas reproductible.

- *Daroit, N. B., et al. (2015) Cell phone radiation effects on cytogenetic abnormalities of oral mucosal cells*

L'étude de Daroit *et al.* (2015) avait pour but d'évaluer les effets génotoxiques d'une exposition au rayonnement électromagnétique des téléphones portables sur des cellules de la muqueuse buccale de 60 utilisateurs de téléphones portables. Des limites méthodologiques majeures sont observés sur la conception du travail. C'est une étude transversale mais on ne connaît pas la population dont sont issus les participants ni la façon dont ils ont été sélectionnés. Aucune analyse quantitative des deux facteurs d'exposition (fréquence d'utilisation et ancienneté) et de leur éventuelle interaction n'a été réalisée. Par ailleurs, la multiplicité des tests statistiques effectués n'a pas été prise en compte. Par ailleurs, il n'y a qu'une comparaison de moyennes mais pas de modélisation, et aucun facteur de confusion n'est pris en compte.

- *Dasdag, S., et al. (2015a) Effects of 2.4 GHz radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi equipment on microRNA expression in brain tissue*

Le but de l'étude de **Dasdag, S., et al. (2015)** est d'étudier les effets à long terme du rayonnement radiofréquence émis par un système de fidélité sans fil (Wi-Fi) sur certains des miARNs dans le tissu cérébral de rats mâles Wistar adultes. Ce travail souffre de problèmes majeurs : seules les expressions des miARNs ont été étudiées sans aucune corrélation avec

des modifications phénotypiques. Les variations des niveaux d'expression dans le groupe témoin-exposition sont très élevées, rendant difficile l'interprétation des résultats. Aussi, la conclusion qui dit que l'exposition à long terme aux radiofréquences de 2,4 GHz peut entraîner des effets indésirables tels que des maladies neurodégénératives dues à l'altération de l'expression de certains miARNs n'est qu'une supposition qu'aucun résultat ne démontre.

- *Dasdag, S., et al. (2015b) Long term and excessive use of 900 MHz radiofrequency radiation alter microRNA expression in brain*

Le but du travail de Dasdag, S., et al. (2015) est de déterminer si l'utilisation à long terme et excessive du rayonnement radiofréquences de 900 MHz altère l'expression de certains miARNs dans le tissu cérébral de rats mâles adultes Wistar.

Ce travail souffre de problèmes majeurs : la justification du choix des miARNs est faible, seules les expressions ont été étudiées sans aucune corrélation avec des modifications phénotypiques. En conséquence, les possibles effets indésirables que pourraient induire les radiofréquences ne sont que de pure supposition. De plus, il n'y a aucune indication de contrôle en temps réel du niveau d'exposition.

- *Dasdag, S., et al. (2019) 900 MHz radiofrequency radiation has potential to increase the expression of rno-miR-145-5p in brain*

Le but du travail de **Dasdag, S., et al. (2019)** est de déterminer si le rayonnement radiofréquence de 900 MHz a le potentiel d'augmenter l'expression de rno-miR-145-5p dans le cerveau de rats adultes Wistar. Ce travail souffre de problèmes majeurs : la justification du choix de ce miARN est faible, seules les expressions ont été étudiées sans aucune corrélation avec des modifications phénotypiques. Les variations d'expression au sein de chaque groupe de rats sont très élevées.

- *Dauda Usman, J., et al. (2020) "Assessment of electromagnetic fields, vibration and sound exposure effects from multiple transceiver mobile phones on oxidative stress levels in serum, brain and heart tissue"*

Dauda Usman et al, (2020) étudient l'effet de l'exposition des rats Wistar au rayonnement électromagnétique (RF) dans le sérum, le cœur et le cerveau. L'exposition est réalisée par un téléphone portable positionné au centre d'une cage contenant les animaux. L'absence de la connaissance de la puissance rayonnée par la source et l'inhomogénéité engendrée par ce type d'exposition ne permet pas d'estimer les niveaux d'exposition des cibles. De plus, les résultats biologiques sont peu convaincants. Il n'y a que peu de résultats significatifs. Ceux qui le sont montrent à la fois une diminution des enzymes antioxydants et du MDA marqueur de stress oxydant. Ces résultats trop erratiques pour que l'on puisse en tirer une conclusion solide

- *de Oliveira, F. M., et al. (2017) Is mobile phone radiation genotoxic? An analysis of micronucleus frequency in exfoliated buccal cells*

L'étude de de Oliveira et al., 2017, a recherché de possibles effets génotoxiques d'une exposition aux radiofréquences du téléphone dans des frottis cellulaires des joues gauche et droite de 86 participants âgés de 18 à 30 ans. Des limites sont retrouvées sur la méthodologie puisque les différences d'exposition entre les volontaires ne sont pas décrites, ni le type de téléphone utilisé. Des limites majeures concernent également la conception de cette étude transversale qui n'est pas basée sur une sélection aléatoire mais sur le volontariat. De plus, les auteurs comparent uniquement des moyennes mais aucune modélisation n'est réalisée. Enfin, ils ne prennent pas en compte de possibles de facteurs de confusion.

- *De Oliveira, F. M., et al. (2017) "Genotoxicity assessment data for exfoliated buccal cells exposed to mobile phone radiation"*

Ce n'est pas une étude de qualité d'un point de vue épidémiologique : pas de nombre de sujets (2000 cellules...), pas de population d'étude décrite, méthodologie pas suffisamment développée, résultats non plus.

- *De Souza, F. T. A., et al. (2014) Cell phone use and parotid salivary gland alterations: No molecular evidence*

De Souza *et al.* (2014), ont cherché si l'utilisation du téléphone cellulaire modifie l'expression des produits géniques liés au stress cellulaire dans les glandes parotides. Si les analyses biologiques sont satisfaisantes, des limites majeures sont à signaler dans la conception du travail. C'est une étude transversale mais on ne connaît pas la population dont proviennent les participants ni la façon dont ils ont été sélectionnés. Les auteurs se limitent à comparer des moyennes mais ne réalisent aucune modélisation. Ils ne prennent pas en compte d'éventuels facteurs de confusion. Enfin, les résultats présentés sont très succins et aucun tableau récapitulatif n'est montré.

- *Deshmukh, P. S., et al. (2013b) Detection of low level microwave radiation induced deoxyribonucleic acid damage vis-à-vis genotoxicity in brain of fischer rats*

Deshmukh *et al.*, 2013 ont étudié les effets dommageables possibles de l'acide désoxyribonucléique (ADN) du rayonnement micro-ondes de faible intensité dans le cerveau des rats mâles Fischer. La valeur de DAS est obtenue par formulation analytique dite "power balance", à partir d'une publication de référence (Ardoino 2005) dont le moyen d'exposition est différent (cellule TEM). Le calcul est inexact, la dosimétrie est donc incorrecte et cette étude n'est pas reproductible.

- *Deshmukh, PS, et al. (2015) Cognitive impairment and neurogenotoxic effects in rats exposed to low-intensity microwave radiation.*

Le but de l'étude de **Deshmukh, PS, et al. (2015)** est d'analyser les effets de l'exposition aux rayonnements micro-ondes à faible niveau sur la fonction cognitive et stress oxydant chez des rats mâles Fischer. Ce travail présente une limite méthodologique majeure car certaines des figures sont identiques aux figures de l'article de 2016. De plus, la description des conditions d'exposition laisse apparaître des limites, notamment sur les niveaux d'exposition, à travers un calcul de DAS qui n'est pas satisfaisant. Un doute réel existe sur la maîtrise des niveaux et des conditions d'exposition.

- *Deshmukh, PS, et al. (2016) Effect of Low Level Subchronic Microwave Radiation on Rat Brain.*

L'article de **Desmukh PS, et al. (2016)** rapporte les mêmes résultats et les mêmes figures que l'article **Desmukh et al. (2015)**. L'article est donc placé en limites majeures.

- *De Seze, R., et al. (2020) "Repeated exposure to nanosecond high power pulsed microwaves increases cancer incidence in rat"*

Les effets des radiofréquences à 10 et 3.7GHz sur le système nerveux central ont été évalués sur le marqueur d'inflammation cérébrale GFAP et en réalisant des tests comportementaux. La survie à long terme a été mesurée chez les animaux exposés à plusieurs reprises, et des analyses anatomopathologiques ont été réalisées sur des animaux sacrifiés à deux ans de vie ou en cas de mort précoce. Les groupes témoins sont des témoins exposition.

Malgré l'utilisation d'un système d'exposition de bonne qualité, la réalisation de la dosimétrie et la bonne maîtrise de l'exposition et des conditions expérimentales, cette étude présente des



limites méthodologiques majeures. Les conditions expérimentales ne permettent pas d'exclure l'influence des rayonnements X résiduels (20 mGy par jour, soit un total de 0,8 Gy), provenant des sources d'exposition, sur les résultats ; pour l'exclure, il aurait fallu ajouter un autre groupe de rats, exposés uniquement aux rayonnements X. Par ailleurs, l'intensité des impulsions peut être la cause d'effets thermiques non négligeables.

- *Ding, XF, et al. (2018) Quinacrine pretreatment reduces microwave-induced neuronal damage by stabilizing the cell membrane.*

Ding, XF, et al. (2018) ont émis l'hypothèse que la quinacrine empêcherait les dommages causés par le rayonnement micro-ondes aux cellules via un mécanisme stabilisant la membrane cellulaire en tenant compte des effets thermiques du rayonnement micro-ondes et des effets protecteurs de la quinacrine sur les dommages causés par la chaleur dans les cellules. Cette étude présente des limites méthodologiques majeures puisque certains résultats sont présentés trois fois à l'identique et commentés avec des différences et que d'autres résultats présentés sont peu fiables. De plus Les auteurs ne travaillent que sur les effets thermiques des micro-ondes, c'est le postulat de travail. En effet, compte tenu des effets thermiques du rayonnement micro-ondes et des effets protecteurs de la quinacrine sur les dommages causés par la chaleur dans les cellules, les auteurs ont émis l'hypothèse que la quinacrine empêcherait les dommages causés par le rayonnement micro-ondes aux cellules via un mécanisme stabilisant la membrane cellulaire. En conséquence, jamais de contrôle de température. Les conclusions des auteurs sont : ces résultats suggèrent que la quinacrine stabilise la structure de la membrane neuronale en régulant positivement l'expression de la protéine de choc thermique 70, réduisant ainsi les lésions neuronales causées par la chaleur émise par le rayonnement micro-ondes.

- *D'Silva, M. H., et al., (2017) "Effect of Radiofrequency Radiation Emitted from 2G and 3G Cell Phone on Developing Liver of Chick Embryo - A Comparative Study"*

L'étude de D'Silva et al. (2017) a recherché les dommages possibles aux tissus et à l'ADN dans le foie en développement d'un embryon de poulet suite à une exposition chronique aux rayonnements ultra-hautes fréquences/radiofréquences (UHF/RFR) émis par les téléphones portables 2G et 3G. Des œufs sont disposés à proximité d'un GSM de DAS 0,310 W/kg, en 2G et 3G, 75 minutes sur 12 heures pendant 12 jours. La dosimétrie de cette étude est très incorrecte. Le champ incident ou le DAS dans l'œuf n'est pas indiqué. Les œufs sont disposés dans une enceinte métallique qui apporte un biais de mesure important. Cette étude présente des limites méthodologiques majeures. Cette étude n'est pas reproductible.

- *Dyka, LD, et al. (2016) Effects of 36.6 GHz and static magnetic field on degree of endoreduplication in Drosophila melanogaster polytene chromosomes.*

Dyka, LD, et al. (2016) étudient l'impact de radiofréquences à 36.6 GHz sur les drosophiles. L'exposition est effectuée à l'aide d'une antenne cornet (non décrite) placée à 15 cm des échantillons exposés. Un champ magnétique statique est ajouté à l'exposition radiofréquences. La description de l'exposition est très sommaire sur les caractéristiques de l'antenne. Le calcul de la valeur de DAS n'est pas justifié, surtout dans une configuration aux fréquences millimétriques. Le travail est placé en limites majeures

- *Eker, E. D., et al., (2018) "The effect of exposure to 1800 MHz radiofrequency radiation on epidermal growth factor, caspase-3, Hsp27 and p38MAPK gene expressions in the rat eye"*

Eker, et al., (2018) ont mesuré les niveaux d'expression de la protéine de choc thermique 27 (Hsp27), de la protéine kinase p38, du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) et des niveaux d'expression du gène de la caspase-3 dans l'œil de rats femelles exposées à

des radiofréquences de 1800 MHz. L'exposition de rats placés dans une cage en plexiglas est décrite de façon beaucoup trop sommaire, et la dosimétrie est erronée. Dans ces conditions, le niveau réel de l'exposition ne peut pas être connu rendant l'exploitation des résultats trop délicate.

- *Eslami, E et al. (2019) Assessment of the Cellphone Radiations Effects on Anti-oxidative and Renal Parameters in Rat.*

Eslami *et al.* (2019) ont tenté d'évaluer les effets des ondes des téléphones portables sur les activités oxydatives et les paramètres rénaux chez le rat mâle adulte Wistar. Les conditions d'exposition sont peu décrites, pas de témoin-exposition. Il n'est pas très clair si les expositions ont été faites pendant 15 et 30 jours, sachant qu'il est écrit que les analyses sont faites 15 et 30 jours après l'exposition. Il est précisé que différents téléphones portables sont testés, mais cependant aucun résultat n'est commenté en fonction de la marque du téléphone. De plus, aucune dosimétrie n'est indiquée, en fréquence, en champ ou densité de puissance incidents, ou en DAS. Cette étude n'est absolument pas reproductible.

- *Fahmi, A et al. (2021) "Effect of cell phone-emitted electromagnetic waves on levels of male sex hormones and oxidative stress biomarkers in humans"*

L'article de Fahmi *et al.* 2021 est une étude exposés/non exposés transversale ("cross sectional") portant sur des dosages biologiques. Dans ce type d'études, le processus de recrutement des sujets et la comparabilité des groupes d'exposition sont des éléments fondamentaux dans ce cas, pour juger de l'importance à donner aux résultats. Or, aucune information n'est fournie dans ce travail sur la manière dont les sujets ont été recrutés. La comparabilité des deux principaux groupes d'exposition n'est évoquée que pour l'âge et aucun facteur de confusion n'a été pris en compte dans les analyses. Par ailleurs, comme il est habituel dans les études de ce type estimant l'exposition par interrogatoire, aucune validation du degré d'exposition n'est présenté. L'étude présente des lacunes méthodologiques majeures qui conduit à n'accorder aucune importance aux résultats obtenus. L'étude est donc classée en limites majeures.

- *Fahmy, HM et al. (2021) "Hepatic injury induced by radio frequency waves emitted from conventional Wi-Fi devices in Wistar rats"*

L'étude de Fahmy *et al.*, étudie l'impact de radiofréquence de 2,45 GHz sur le stress oxydant dans le foie de rats femelles Wistar. Les auteurs utilisent un point d'accès WiFi indoor de façon peu pertinente dans la mesure où la puissance d'émission n'est pas contrôlée. De plus, il est fait mention d'une mesure de champ électrique et densité de puissance sans détail sur les mesures et sans précisions des valeurs obtenues. Une valeur de DAS corps entier est donné sans autre information que le logiciel utilisé. On peut s'interroger si la présence de 6 animaux par cages est-elle prise en compte dans la modélisation. L'absence d'information sur les conditions d'exposition reste également un point critique dans une telle expérimentation, limitant fortement l'impact des résultats obtenus par cette étude.

- *Ma, H. R., et al. (2015) "Impacts of exposure to 900 MHz mobile phone radiation on liver function in rats"*

L'étude de Ma *et al.* (2015) a analysé les effets d'une exposition de rats mâles Sprague-Dawley à des radiofréquences de 900 MHz sur la fonction hépatique. L'article ne rapporte aucune information sur le système d'exposition.

- *Fasseas, M. K., et al. (2015) Response of Caenorhabditis elegans to wireless devices radiation exposure*

Fasseas *et al.* (2015) étudie la réponse d'un modèle de ver à une exposition radiofréquences. Deux dispositifs sont utilisés, à savoir un téléphone mobile (GSM 1800 MHz) et un routeur Wifi (2,4 GHz). Des vers sont placés à une distance de 5 à 10 dans des sources. Une mesure des niveaux de champ électriques délivrés par les sources a été effectuée avec une sonde, et on obtient des intensités de champ électriques comprises entre 2 et 11 V/m, suivant la source. Ce type d'exposition pêche par un manque de contrôle de la puissance délivrée par les sources et par une description limitée de l'exposition des vers.

- *Fattahi-Asl, J et al. (2012) Effect of radiofrequency radiation on human ferritin: an in vitro enzymun assay.*

Fattahi-asl *et al.* (2012) se sont intéressés à l'effet de radiofréquences sur le taux de ferritine dans du plasma exposé aux radiofréquences *ex-vivo*, et préparé à partir du sang de donneurs sains. Les informations obtenues, qui auraient pu renseigner sur un éventuel stress oxydant, ne sont guère utilisables. Le devenir du fer n'est absolument pas documenté, ni non plus l'effet physico-chimique sur la protéine. Le fait que les expositions soient faites *ex-vivo* enlève aussi une grande part d'intérêt. Il aurait été plus intéressant de mesurer la ferritine après exposition de volontaires ou d'animaux. Par ailleurs, la dosimétrie de cette étude est inexistante. La présence d'un dispositif de téléphonie mobile à des distances très variées des échantillons biologiques ne permet pas d'indiquer le niveau d'exposition. Les conditions de cette étude ne sont absolument pas reproductibles.

- *Fragopoulou, A. F., et al. (2018) Hippocampal lipidome and transcriptome profile alterations triggered by acute exposure of mice to GSM 1800 MHz mobile phone radiation: An exploratory study*

Dans cette étude, des souris mâles adultes C57BL/6 ont été exposées à l'ensemble du corps au rayonnement d'un téléphone mobile. Les auteurs déterminent ensuite les profils lipidomiques et transcriptomiques de l'hippocampe. Ils observent un remodelage substantiel des acides gras phospholipidiques dans le cerveau et une modification de l'expression de gènes impliqués dans le métabolisme des lipides. Aucune caractérisation phénotypique n'est cependant réalisée pour déterminer les conséquences cellulaires de ces observations. L'article ne peut donc pas être utilisé pour l'établissement du niveau de preuve

- *Gandhi, G., et al. (2014) "DNA and chromosomal damage in residents near a mobile phone base station"*

La façon de sélectionner les participants dans les deux zones n'est pas décrite. Il s'agit *a priori* de volontaires résidant/travaillant à proximité de l'antenne. Et rien n'est dit sur la façon de sélectionner les non exposés. Il est dit que c'est une étude cas-témoins mais en fait il s'agit d'une étude exposés vs non exposés (50/25). Le nb de sujets est sans doute un peu faible.

- *Gandhi, G., et al. (2015) Perspectives revisited - The buccal cytome assay in mobile phone users*

L'étude de Gandhi *et al.*, 2015, a analysé les dommages chromosomiques, la prolifération cellulaire et les biomarqueurs de mort cellulaire dans des prélèvements de cellules buccales humaines. Malgré la bonne qualité des analyses biologiques, ce travail ne peut pas être retenu. En effet l'article ne décrit pas la population d'étude. De plus, les analyses ne prennent pas en compte la corrélation entre les cellules d'un même participant

- *Gapeyev, AB, et al. (2015) Pulse-modulated extremely high-frequency electromagnetic radiation protects cellular DNA from the damaging effects of physical and chemical factors in vitro.*

Gapeyev et Lukyanova (2015) étudient la protection apportée par une exposition radiofréquences contre la génotoxicité dans les leucocytes du sang périphérique de souris mâles adultes Kv:SHK. Ce travail présente de nombreuses limites techniques, notamment l'effet thermique n'est pas pris en compte, les cellules sont exposées à température ambiante sans que l'impact de ce paramètre ne soit testé, La cytotoxicité des traitements n'est pas étudiée, ce qui est important pour l'utilisation fiable de la méthode des comètes, Le protocole de la méthode des Comète comporte une étape de neutralisation d'un tampon à pH >13 avec de l'eau distillée, La concentration de MMS utilisée est très forte (2,5 mM). De plus, on ne sait pas si le sang prélevé provient d'une seule souris ou si le sang est mélangé ou si chaque sang est testé en fonction de sa souris

- *García-Minguillán López, O, et al. (2019) Significant Cellular Viability Dependence on Time Exposition at ELF-EMF and RF-EMF In Vitro Studies.*

L'étude de Lopez *et al.* (2019) s'intéresse à la survie cellulaire (souris) lors d'exposition à des très basses fréquences dans des cellules de gliomes (ATC2) ou à des radiofréquences de 2,45 GHz dans des fibroblastes NIH/3T3. Des cellules en boîte de Petri sont exposées à 2,54 GHz, de 15 min à 21h, à une densité de puissance de 56,2  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$ . L'exposition est assurée par un dispositif constitué d'un générateur de fonction, d'un amplificateur et d'une GTEM. La dosimétrie est de qualité correcte. L'exposition est représentative du rayonnement à proximité d'un appareil de téléphonie mobile, à faible niveau ce qui assure des conditions athermiques. D'un point de vue biologique, les résultats suggèrent de fortes limites dans la qualité des tests (fluctuation en test XTT, excès de "survie" en début d'exposition dans test au bleu trypan). Le travail est vraiment fait *a minima* puisque les lignées ne sont utilisées chacune que pour une gamme de fréquence. De même, les tests de survie ne sont appliqués qu'à un cas ou l'autre sans être comparés. Par ailleurs, se limiter à la survie comme réponse biologique n'est pas très informatif.

- *Gevrek, F. (2018) Histopathological, immunohistochemical, and stereological analysis of the effect of ginkgo biloba (Egb761) on the hippocampus of rats exposed to long-term cellphone radiation*

Le but du travail de Gevrek, F. (2018) est d'étudier les effets de l'exposition aux ondes électromagnétiques des téléphones portables sur l'hippocampe des rats et les effets potentiellement protecteurs du Ginkgo biloba (Egb761). Cette étude souffre de problèmes méthodologiques majeurs. Le système d'exposition est basé sur l'utilisation de deux téléphones placés de part et d'autre d'une cage contenant les animaux exposés à raison de 2 h le matin et l'après-midi sur une période de 30 jours. Ce type de dispositif en l'absence de quantification des grandeurs physiques, densité de puissance et DAS, ne permet pas de connaître les niveaux d'exposition. Dans la partie biologique, il manque des groupes contrôles pour interpréter cette étude assez simpliste, les résultats et conclusions ne sont pas donnés et discutés en fonction des analyses statistiques.

- *Ghanbari, M., et al. (2013) "The effects of cell phone waves (900 MHz-GSM Band) on sperm parameters and total antioxidant capacity in Rats"*

Ghanbari *et al.* (2013) ont étudié l'effet des micro-ondes des téléphones portables sur les paramètres du sperme et la capacité antioxydante totale en fonction de la durée d'exposition et de la fréquence de ces ondes. Cette étude expérimentale a été réalisée sur 28 rats Wistar mâles adultes (200-250 g). Une antenne dipôle est placée verticalement au centre d'un dispositif constitué de deux cylindres concentriques (de 15 et 30 cm de rayon), permettant



d'exposer les animaux en champ proche. La seule connaissance de la mesure de la densité de puissance dans des conditions de champ proche ne permet pas de connaître les niveaux de DAS.

- *Ghatei, N., et al. (2017) Evaluation of bax, bcl-2, p21 and p53 genes expression variations on cerebellum of BALB/c mice before and after birth under mobile phone radiation exposure*

Le but du travail de Ghatei, N., et al. (2017) est d'étudier l'effet du rayonnement des téléphones portables sur la variation de l'expression de gènes impliqués dans la régulation de l'apoptose dans le cervelet des souris BALB/ exposées avant et après la naissance. Des rats sont disposés dans des cages en polycarbonate. Un brouilleur de GSM de 2 W sur les bandes 900 et 1800 MHz est disposé à 2 m des cages. Le protocole d'exposition est peu décrit. Un nombre de 4 souris par groupe est très insuffisant et on ne sait pas si les expériences sont dupliquées. Il existe de nombreuses incohérences entre les résultats et les courbes, entre les légendes de figure et le matériel et méthode (résultats 2h post EMP?). Les données sont sur-interprétées et certaines des conclusions ne sont pas en accord avec les résultats. Par exemple, les auteurs concluent qu'il y a une différence de sensibilité entre la vie fœtale/vie adulte, l'exposition n'induit pas d'apoptose et les lésions induites sont réparées grâce à un arrêt du cycle cellulaire. Il s'agit d'une supposition puisqu'aucun résultat ne vient supporter une telle conclusion. Il aurait fallu caractériser l'apoptose, la prolifération et étudier le cycle cellulaire.

- *Ghoneim, F. M., et al. (2016) Histological and histochemical study of the protective role of rosemary extract against harmful effect of cell phone electromagnetic radiation on the parotid glands*

Ghoneim et al. (2016) ont étudié les changements histologiques et histochimiques des glandes parotides de rats exposés au téléphone portable. Le système d'exposition est un téléphone portable (GSM 900 MHz) placé au-dessus de la cage contenant les animaux. Une feuille d'aluminium recouvre le dispositif. L'absence de mesure et de contrôle de la puissance délivrée par le téléphone conduisent à un dispositif non pertinent du point de vue exposition.

- *Glushkova, OV, et al. (2015) The role of the NF-kappaB, SAPK/JNK, and TLR4 signalling pathways in the responses of RAW 264.7 cells to extremely low-intensity microwaves.*

Glushkova et al. (2015) ont étudié le rôle des voies de signalisation TLR4, NF-κB et SAPK/JNK dans les réponses des macrophages RAW 264.7 aux micro-ondes de faible intensité (MW). Les conclusions des auteurs sont fausses, tout au moins pour la première partie de l'analyse sur l'influence des MW sur les voies de signalisation. La piètre qualité des WB et le manque de contrôle ne permettent pas de conclure d'effets des radiofréquences sur la voie de signalisation NF-κB. On peut seulement dire que les MW, dans ces conditions expérimentales, moduler de façon positive ou négative la production de certaines cytokines.

- *Górski, R et al. (2021) Morphological and cytophysiological changes in selected lines of normal and cancer human cells under the influence of a radio-frequency electromagnetic field*

L'étude de Gorski a pour but d'étudier l'influence du champ électromagnétique de radiofréquence 2,5 GHz pendant 24, 48 et 72h sur l'activité métabolique et la morphologie des cellules humaines normales (fibroblastes) et cancéreuses (cellules cancéreuses de la prostate). La viabilité et la morphologie ont été étudiées. L'exposition est de bonne qualité. Cependant, en biologie, les auteurs parlent d'estimer l'activité métabolique alors qu'il ne s'agit que de mesurer la viabilité – Ils concluent que les radiofréquences influencent l'activité métabolique sur le seul critère de la viabilité. Les seuls résultats sont des images de contraste de phase des cellules. Pas de graphiques ou de quantification de la viabilité.

- *Greschner, AA, et al. (2019) Room-Temperature and Selective Triggering of Supramolecular DNA Assembly/Disassembly by Nonionizing Radiation.*

Greschner *et al.* (2019) étudient l'impact de radiofréquences sur la stabilité des duplex d'ADN. Ils utilisent un dispositif est dédié à la caractérisation de certaines réactions chimiques sous microonde ou THz. Deux gammes de fréquences sont explorées, l'une dans le domaine des microondes, l'autre dans le domaine des TeraHertz (0,9 THz). Pour les microondes, le système utilisé est un appareil commercialisé, à savoir un réacteur à microondes pour effectuer toute chimie de synthèse organique ou inorganique. L'absence de description de l'exposition de l'échantillon ne permet pas de connaître les niveaux d'exposition.

- *Gulati, S et al. (2020) Effects of different mobile phone UMTS signals on DNA, apoptosis and oxidative stress in human lymphocytes*

Gulati *et al.* (2020) étudient l'effet de signaux UMTS à trois fréquences différentes dans des lymphocytes humains pédiatriques. Ils n'observent aucun effet génotoxique après 1 ou 3h d'exposition (méthode comète). De même, ils n'observent ni perte de viabilité ni production de ROS ni apoptose, même 24h après la fin d'une exposition 3h. Aucune mutation dans TP53 ou fusion de gène pré-leucémique n'est vue à 24h. Un seul effet statistiquement significatif des radiofréquences est vu : une baisse de la production d'ARN, hélas non chiffrée. En résumé, Ce travail expérimentalement est plutôt bien conduit mais ne peut pas être retenu pour l'évaluation du fait de trop fortes faiblesses dans son approche statistique. D'après le matériel-méthodes, les lymphocytes seraient d'origine pédiatrique mais cela n'est pas du tout justifié dans l'article.

- *Gulati, S., et al. (2016) Effect of GSTM1 and GSTT1 Polymorphisms on Genetic Damage in Humans Populations Exposed to Radiation from Mobile Towers*

Gulati *et al.* (2016) étudient l'effet génotoxique (test des comètes, micronoyaux) des radiofréquences sur des lymphocytes périphériques de sujets hommes et femmes vivants à proximité d'une station de base de téléphonie mobile (<800m) et chez des sujets vivants au-delà de 800m (sujets contrôles). L'effet des polymorphismes génétiques des gènes GSTM1 et GSTT1 sur les dommages à l'ADN a également été étudié par génotypage. Si la partie biologique est satisfaisante, des limites majeures apparaissent dans cette étude qui compare lymphocytes exposés et non exposés, sans que l'on ne connaisse la population dont proviennent les participants ni la façon dont ils ont été sélectionnés. Les auteurs comparent des moyennes. Ils réalisent des régressions prenant en compte des facteurs de confusion mais leur méthodologie n'est pas détaillée.

- *Gulati, S., et al. (2018) Phenotypic and genotypic characterization of antioxidant enzyme system in human population exposed to radiation from mobile towers*

L'étude de Gulati *et al.*, 2018 a examiné l'impact de stations de base de téléphonie mobile sur le stress oxydatif en évaluant l'activité enzymatique de la manganèse superoxyde dismutase (MnSOD), l'activité enzymatique de la catalase (CAT), la peroxydation lipidique et l'impact du polymorphisme fonctionnel des gènes antioxydants MnSOD et CAT chez des hommes et des femmes habitant au-delà de 800m d'une station et chez des sujets résidant à moins de 800m d'une station. Des limites majeures sont retenues sur le design de l'expérience. Dans l'analyse statistique, les p-valeurs du test du Chi-2 sont incorrectes. Un expert a refait les calculs et n'a pas retrouvé les mêmes résultats. Par ailleurs, les auteurs ont exclu des données sans justification.

- Güler, G., et al. (2016) "Neurodegenerative changes and apoptosis induced by intrauterine and extrauterine exposure of radiofrequency radiation"

L'étude de Güler *et al.*, 2016 a été réalisée afin d'identifier les effets du système global de communications mobiles (GSM) modulé à 1800 MHz sur les dommages oxydatifs de l'ADN et la peroxydation lipidique et l'apoptose à l'aide de méthodes histopathologiques et immunohistochimiques dans le tissu cérébral de lapins blancs de Nouvelle-Zélande mâles et femelles âgés d'un mois après qu'ils aient été exposés dans l'utérus de leur mère et après la naissance. Des limites majeures sont à mettre en avant. Les auteurs parlent d'effets dépendants du sexe mais les femelles n'ont pas été exposées le même temps que les mâles. Il est dit que l'exposition entraîne une augmentation significative de la peroxydation lipidique mais il n'y a pas de calcul de p dans résultats ni dans les tableaux. La difficulté à comprendre la composition des différents groupes de lapins exposés ainsi que l'absence d'indication des données d'histopathologie, ne permet pas d'être confiant dans les résultats.

- Gumral, N, et al. (2016) "The effects of electromagnetic radiation (2450 MHz wireless devices) on the heart and blood tissue: role of melatonin."

Gumral, N, et al. (2016) ont étudié les effets de radiofréquences de 2 450 MHz sur le cœur et le sang de rat femelles Wistar et les effets protecteurs de la mélatonine. La dosimétrie n'est pas suffisamment étayée. La méthode de mesure de champ et conditions ne sont pas clairement indiquées. La présence des animaux lors de la mesure du champ n'est pas indiquée, de même que la méthode de calcul de DAS.

- Gunes, M et al. (2021) *An Evaluation of the Genotoxic Effects of Electromagnetic Radiation at 900 MHz, 1800 MHz, and 2100 MHz Frequencies with a SMART Assay in Drosophila melanogaster*

Gunes *et al.* (2017) ont étudié les effets génotoxiques d'un rayonnement électromagnétique chez la Drosophile melanogaster en utilisant le test de mutation somatique et de recombinaison des ailes (test SMART) pour une exposition à 900 MHz, 1800 MHz et 2100 MHz pendant 2, 4 et 6 heures. Des contrôles ont été placés dans les mêmes conditions d'exposition mais sans les radiofréquences. Les effets sont évalués en comptant le nombre de clones mutés. La métrologie de l'exposition physique de cette étude est sommaire. Il n'y a pas de valeur de DAS, ni de contrôle de la température. La méthodologie pour analyser les effets est inexplicite et ne permet de savoir ce qui est mesuré. Les différents paramètres sur les figures ne sont pas expliqués ainsi que les abréviations. Le lien avec la génotoxicité n'est pas expliqué. L'article est donc placé en limites majeures.

- Habauzit, D, et al. (2014) *Transcriptome Analysis Reveals the Contribution of Thermal and the Specific Effects in Cellular Response to Millimeter Wave Exposure.*

Habauzit *et al.* (2014) ont évalué la biocompatibilité de radiofréquences à 60 GHz en utilisant une approche globale de l'expression génique pour évaluer l'effet d'une exposition aiguë à 60 GHz sur des cultures primaires de kératinocytes humains.

Cette étude plutôt bien réalisée, n'apporte pas d'information sur les processus biologiques mis en jeu par l'exposition mais uniquement la modulation de l'expression de quelques gènes. Elle n'est donc pas utilisable dans l'évaluation du niveau de preuve. De plus, elle met plus en évidence le rôle de la température en combinaison avec les ondes.

- Hanci, H, et al. (2015) "Can prenatal exposure to a 900 MHz electromagnetic field affect the morphology of the spleen and thymus, and alter biomarkers of oxidative damage in 21-day-old male rats?"

L'étude de Hanci, 2015, vient compléter celle de 2013 et s'est intéressée aux effets d'une

exposition pendant la gestation dans le thymus et la rate des rats descendants mâles de 21 jours. Les auteurs ne justifient leur choix d'évaluer les effets 21 jours après la naissance et ils concluent que le développement des testicules de rats nouveau-nés est altéré par les radiofréquences et que les effets persistent jusqu'à 21 jours mais il n'y a eu aucune analyse avant PN21, donc on ne sait pas à partir de quand apparaissent les effets. La description du système d'exposition manque d'information en particulier sur le contrôle de l'exposition et sur la dosimétrie. Des limites persistent sur l'exploitation des résultats.

- *He, Q., et al. (2016) "Induction of Poly(ADP-ribose) polymerase in mouse bone marrow stromal cells exposed to 900 MHz radiofrequency fields: Preliminary observations"*

Le but du travail de He *et al.* (2016) est d'examiner si l'exposition de cellules stromales de moelle osseuse de souris (BMSC) à des champs de radiofréquence (RF) non ionisants est capable d'augmenter l'ARN messager de PARP-1 et ses niveaux de protéines. Ce travail souffre de problèmes méthodologiques majeurs : On ne comprend pas comment ont été normalisées les données de RT-PCR : « l'expression de PARP-1 a été normalisée en soustrayant la moyenne de la valeur GAPDH Ct des valeurs radiofréquences-, SH- et GR-Ct ( $\Delta$ Ct). Le western blot a été quantifié par densitométrie alors que tous les spots de GAPDH sont saturants. De plus, la dosimétrie de cette étude est assez peu justifiée, notamment les conditions d'établissement du DAS.

- *He, Q., et al. (2017) "Adaptive response in mouse bone marrow stromal cells exposed to 900 MHz radiofrequency fields: Impact of poly (ADP-ribose) polymerase (PARP)"*

Le but de l'étude de He et al (2017) est de déterminer le rôle de PARP1 dans la réponse adaptative de cellules stromales de moelle osseuse de souris exposées à des ondes radiofréquence de 900 MHz. La dosimétrie de cette étude est assez peu justifiée, notamment les conditions d'établissement du DAS. A partir de la densité de puissance, cette étude est néanmoins reproductible. La partie biologique de ce travail souffre de problèmes méthodologiques : Il y a des imprécisions sur la normalisation de l'expression de PARP-1. Les auteurs écrivent : « Le niveau d'expression relatif de l'ARNm PARP-1 dans les cellules témoins et les témoin-exposition sont similaires (1 et 1,02) tandis que les cellules traitées au 3-AB (inhibiteur de PARP1) présentent un taux inférieur à tous les temps (0,93-0,99). Ceci n'est pas clairement établi d'un point de vu statistique. L'ensemble de ces remarques placent l'article en limites majeures.

- *Herrala, M., et al. (2018) Assessment of genotoxicity and genomic instability in rat primary astrocytes exposed to 872 MHz radiofrequency radiation and chemicals*

Herrala, M., *et al.* (2018) ont évalué la génotoxicité, la co-génotoxicité et l'instabilité génomique dans des cultures primaires d'astrocytes de rats RccHan:WIST nouveau-nés et exposés à des rayonnements radiofréquences de 872MHz. Les mesures de micronoyaux et de comètes ne sont pas les meilleurs outils pour évaluer l'instabilité génomique. Par ailleurs, dans la discussion, les auteurs soulignent qu'il y a 3 expériences avec des différences statistiquement significatives en combinant l'exposition aux radiofréquences à une exposition ultérieure à des agents génotoxiques alors que 11 combinaisons ont été testées, de sorte que le taux de résultats positifs (3/11) dépasse le taux attendu de résultats faussement positifs (en moyenne, 1/20 expériences produiront une valeur  $p < .05$  juste par hasard). Cependant, les résultats positifs ne sont pas cohérents en interne, ce qui rend l'interprétation des résultats difficile. Il faut également signaler que les auteurs remettent en cause les seuls résultats significatifs qu'ils ont trouvés. Ainsi, les interprétations les plus probables sont que (1) tous les résultats positifs sont dus au hasard ou (2) l'augmentation des dommages à l'ADN dans les cellules exposées à un génotoxique et au signal GSM à 6,0 W/kg représente un effet réel du champ



radiofréquences modulé à un DAS élevé, les deux autres différences statistiquement significatives étant des résultats aléatoires. L'ensemble de ces remarques placent l'article en limites majeures.

- *Holovska, K, et al. (2015) "Structural and Ultrastructural Study of Rat Liver Influenced by Electromagnetic Radiation."*

Holovska *et al.* (2015) ont examiné les effets de champs électromagnétiques (2,45 GHz) sur le foie de 20 rats Wistar. L'objectif principal a consisté à observer les effets de l'exposition sur la structure et l'ultrastructure histologique du foie des rats.

La description du système d'exposition se résume à dire qu'il s'agit d'une chambre spécifique ; aucune information supplémentaire (hormis la fréquence et la densité de puissance incidente) n'est donnée. Aucune information quant aux différents contrôles de l'exposition n'est fournie. La seule dosimétrie indiquée est la densité de puissance incidente, qui est de 2,8 mW/cm<sup>2</sup> (soit 100 V/m). Il n'y a aucun test statistique sur les données en biologie.

- *Hu, HX, et al. (2019) "Effect of Modified Wuzi Yanzong Pill ( ) on Tip60-Mediated Apoptosis in Testis of Male Rats after Microwave Radiation."*

Hu et collaborateurs se sont intéressés à la protection apportée par le Wuzi Yanzong de la pharmacopée traditionnelle chinoise contre les effets des radiofréquences sur les testicules chez le rat. L'exposition est réalisée dans une chambre anéchoïde avec les animaux placés à 10 cm de l'antenne, avec une durée de 15 minutes. Une valeur de densité de puissance de 100 mW/cm<sup>2</sup> est indiquée sans que l'on ait d'indication sur la mesure en elle-même. L'absence d'information basique telle que la fréquence et une description minimaliste du système d'exposition rendent cette étude impossible à positionner vis-à-vis des résultats présents dans la littérature. Elle est classée en limites majeures.

- *Hussein, S., et al. (2016) Biochemical and histological studies on adverse effects of mobile phone radiation on rat's brain*

Le travail de Hussein, S., *et al.* (2016) a été conçu pour étudier les effets de l'exposition chronique aux rayonnements radiofréquences de 1800 MHz sur le stress oxydatif et l'apoptose dans l'hippocampe et le cervelet de rats mâles adultes. Le système est basé sur l'utilisation de 4 téléphones portables placés sous quatre cages contenant chacune 5 rats. La description du dispositif ne permet pas d'avoir une idée réaliste de la configuration et le niveau de DAS indiqué est celui du téléphone, pas de celui des animaux exposés. Une valeur de densité de puissance de 8.7 W/m<sup>2</sup> est fournie sans aucune information sur la mesure. Le protocole expérimental manque de précision. Les figures de microscopie photonique n'ont pas d'étalon de taille ; la mesure de la fragmentation de l'ADN manque de témoin de dégradation. Il n'y a pas de quantification du marquage COX2, marqueur pas très spécifique de l'apoptose, et pas d'autre marqueur pour valider cet effet "apoptotique". Insuffisant pour pouvoir conclure sur des effets apoptotiques. Les grossissements des images IHC ne sont pas tous les mêmes pour un même marquage. Aucune précision sur le nombre d'animaux correspondants à chaque type d'analyse et combien d'animaux par groupe.

- *Hussien, N. I., et al. (2020) Decreased level of plasma nesfatin-1 in rats exposed to cell phone radiation is correlated with thyroid dysfunction, oxidative stress, and apoptosis*

Hussein *et al.* (2020) ont étudié le rôle de la nesfatine-1 sur les fonctions de la glande thyroïde de rats exposés aux radiofréquences d'un téléphone portable (GSM 900 MHz) placé sous la cage contenant les animaux. L'absence de mesure et de contrôle de la puissance délivrée par le téléphone conduisent à un dispositif non pertinent du point de vue exposition.

- *In, S. M., et al., (2013) "The effects of a 1.8 GHz continuous electromagnetic fields on mucociliary transport of human nasal mucosa"*

In, *et al.* (2013) ont analysé les effets d'un champ électromagnétique continu de 1,8 GHz sur le transport mucociliaire nasal humain et sur la physiopathologie de la fréquence des battements ciliaires dans des cellules humaines de la muqueuse nasale exposées à un champ électromagnétique de 1,8 GHz. La dosimétrie de cette étude est très insuffisante. La seule connaissance de la puissance de la source ne permet pas d'en déduire le champ électromagnétique déposé sur les échantillons. Cette étude n'est pas reproductible en raison de cette limite majeure du point de vue de l'exposition.

- *Ismail, L. A., et al., (2019) "The impact of exposure of diabetic rats to 900 MHz electromagnetic radiation emitted from mobile phone antenna on hepatic oxidative stress"*

L'étude de Ismail *et al.* (2019) a suivi les effets de l'exposition de rats mâles Sprague-Dawley diabétiques de type 2 à des radiofréquences de 900 MHz émis pendant 24 h/j sur une période de 28 jours, sur l'hyperglycémie et le stress oxydatif hépatique. Des rats sont exposés à proximité d'une antenne de téléphone portable à 900 MHz, 24h/jour pendant 28 jours, à un niveau de 25 V/m. Cette étude présente des limites méthodologiques majeures quant à l'exposition physique. En effet, seul le champ incident est indiqué, sans justification, sans illustration, sans explication de l'environnement, distance, type d'antenne ... L'exposition physique de cette étude n'est pas reproductible.

- *Jelodar, G et al. (2021) "Alteration of intrapancreatic serotonin, homocysteine, TNF- $\alpha$ , and NGF levels as predisposing factors for diabetes following exposure to 900-MHz waves"*

L'étude de Jelodar *et al.*, 2021 a analysé les effets de radiofréquences à 900 -MHz sur le pancréas de rats. L'article manque d'information sur le banc de test, notamment sur le type de signal radiofréquences appliqué, si le niveau d'exposition a été régulièrement vérifié et à quel endroit. La dosimétrie n'est pas suffisamment étayée. La méthode de mesure de champ et conditions ne sont pas clairement indiquées. La présence des animaux lors de la mesure du champ n'est pas indiquée. Par ailleurs, la méthode d'obtention du DAS n'est pas renseignée.

- *Jelodar, G., et al. (2013) "The prophylactic effect of vitamin C on induced oxidative stress in rat testis following exposure to 900 MHz radio frequency wave generated by a BTS antenna model"*

Jelodar G. *et al.* (2013) s'intéressent à l'effet antioxydant protecteur de la vitamine C contre l'effet de radiofréquences 900 MHz dans les testicules de rats. Le système d'exposition s'appuie sur une antenne type station de base, designer à façon. La fréquence est de 900 MHz, avec des expositions 4 h par jour, durant 45 jours consécutifs. La puissance qui sert de référence pour dimensionner le niveau d'exposition est obtenu à l'aide d'un analyseur de réseau et d'une sonde non décrite. La puissance est exprimée en dB avec une valeur de -75. Il est difficile de savoir s'il s'agit réellement d'une puissance (qui s'exprime en dBm) ou d'un rapport de puissance (qui s'exprime en dB). Il est impossible d'accorder du crédit à la dosimétrie devant la trop faible quantité d'information fournie et les erreurs ou coquilles présentes. L'étude est donc classée en limites majeures.

- *Jelodar, G., et al. (2018) Vitamin E protects rat testis, eye and erythrocyte from oxidative stress during exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model*

Jelodar *et al.* 2018 ont mené une étude pour évaluer les effets d'une exposition aux radiofréquences 900 MHz sur le stress oxydatif dans les testicules, les yeux et les érythrocytes, et sur l'effet prophylactique de la vitamine E en mesurant l'activité des enzymes antioxydantes chez des rats mâles adultes Sprague-Dawley. Les auteurs ne donnent pas d'information sur

le système d'exposition à 900 MHz, seule des valeurs de densité de puissance sont indiquées sans en donner l'origine.

- *Ji, Y., et al. (2016) "Adaptive response in mouse bone-marrow stromal cells exposed to 900-MHz radiofrequency fields: Gamma-radiation-induced DNA strand breaks and repair"*

Le but de l'étude de Ji *et al.* (2016) est de déterminer si une exposition de cellules stromales de moelle osseuse de souris (BMSC) à un champ de radiofréquence de 900 MHz à une intensité de puissance de 120  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  pendant 4 h/j pendant 5 j peut induire une réponse adaptative en termes de cassures et réparation de brins d'ADN induites par des rayonnements gamma ionisants. La dosimétrie de cette étude est assez peu justifiée, le DAS n'est pas indiqué. A partir de la densité de puissance, cette étude est néanmoins reproductible. Un problème majeur dans ce travail est le faible nombre de répliquats ( $n=2$ ) qui empêche toute validation statistique sérieuse.

- *Kahya, M. C., et al. (2014) "Selenium reduces mobile phone (900 MHz)-induced oxidative stress, mitochondrial function, and apoptosis in breast cancer cells"*

L'étude de Kahya *et al.*, 2014 a étudié les effets du rayonnement de 900 MHz sur le système redox antioxydant, l'apoptose et les niveaux de dépolarisation mitochondriale dans la lignée cellulaire du cancer du sein MDA-MB-231. Le DAS à la fréquence 900 MHz est indiqué (0,36 W/kg en moyenne) justifié par une publication de référence dont la fréquence est différente (2,45 GHz). Cette publication n'apporte pas une justification suffisante du DAS, ce qui représente une limite majeure.

- *Kalanjati, V. P., et al. (2019) Aluminium foil dampened the adverse effect of 2100 MHz mobile phone-induced radiation on the blood parameters and myocardium in rats*

L'objectif de l'étude de Kalanjati *et al.*, 2019 était d'étudier les effets protecteurs possibles de l'aluminium (AF) en tant que bouclier physique contre les radiofréquences des téléphones portables sur les paramètres sanguins et le myocarde chez des rats mâles adultes *Rattus Norvegicus*. Le système d'exposition souffre d'un manque de connaissance et de contrôle de la puissance délivrée par la source de rayonnement, à savoir le téléphone lui-même, et d'une dosimétrie rigoureuse. Sur ce dernier point, il faut non seulement contrôler les potentiels échauffements au niveau du téléphone, en particulier lorsqu'il est enveloppé dans une feuille d'aluminium, mais encore connaître la position de l'animal par rapport à la source de rayonnement. Dans la partie biologique, on ne sait pas trop quels groupes ont été comparés pour les analyses statistiques. Dans l'abstract, les auteurs suggèrent que l'aluminium pourrait protéger des effets sur le stress oxydant induit par les radiofréquences mais le seul paramètre en lien avec le stress oxydant est la concentration de corticostérone et de créatine kinase.

- *Kamali, K., et al. (2018) Evidence of oxidative stress after continuous exposure to Wi-Fi radiation in rat model*

L'étude de Kamali *et al.*, 2018 a pour but d'évaluer les modifications des paramètres du système antioxydant redox dans le plasma après une exposition continue de 10 semaines à 2,45GHz. Une borne Wifi est utilisée pour exposer des animaux placés dans des cages. Ces dernières sont à 30 cm de la borne. Les limites méthodologiques concernant l'exposition sont majeures, dues principalement à l'absence d'une connaissance et d'un contrôle des niveaux d'exposition.

- *Kazemi, E., et al. (2015) "Effect of 900 MHz Electromagnetic Radiation on the Induction of ROS in Human Peripheral Blood Mononuclear Cells"*

Kazemi, E, et al. (2015) ont étudié l'effet de la radiofréquence (RF) induite par le téléphone mobile GSM à 900MHz sur l'induction du stress oxydatif dans la lignée de myelome murin SP2/0. Cette étude présente une limite méthodologique majeure du point de vue physique. La seule puissance de la source ne permet pas de revenir au champ incident ou déposé sur la cible. Ces travaux ne sont pas reproductibles.

- *Kazemi, E., et al. (2015) "The effect of superposition of 900 MHz and incoherent noise electromagnetic fields on the induction of reactive oxygen species in SP2/0 cell line"*

Le travail rapporté par Kazemi et al. (2015) vise à montrer que l'hypothèse d'une inhibition du stress oxydant dû aux radiofréquences par un bruit électromagnétique est fautive. Cette étude adresse l'influence de la superposition d'un champ magnétique basse fréquence (30-90 Hz) de type bruit blanc, à un signal radiofréquences 900 MHz. Les données ne sont pas exploitables du fait d'une absence de caractérisation de l'exposition radiofréquences. Aucune valeur de DAS n'est par exemple fournie. Par ailleurs la précision des résultats est mauvaise et l'analyse statistique n'est pas adaptée.

- *Kesari, K. K., et al. (2014) "Effect of 3G Cell Phone Exposure with Computer Controlled 2-D Stepper Motor on Non-thermal Activation of the hsp27/p38MAPK Stress Pathway in Rat Brain"*

Kesari et al. (2014) s'intéressent à l'impact des radiofréquences sur le cerveau de souris. Les animaux ont été exposés 2 heures par jour pendant 60 jours. Les paramètres suivants ont été analysés : cassures double brin de l'ADN, micronoyaux, expression de la caspase 3, apoptose, fragmentation de l'ADN, expression de gènes sensibles au stress.

Il semblerait que le DAS soit calculé à partir d'une mesure du champ électrique, et ce calcul est faux. On ne sait pas comment cette mesure est obtenue à partir d'une antenne monopole et d'un Wattmètre. L'information sur la mesure des grandeurs physiques ne permet pas d'en déduire les niveaux d'exposition. L'expérience n'est pas reproductible. On note l'absence de contrôle de température au cours de l'exposition, ce qui est critique avec l'utilisation d'un appareil fonctionnant sur batterie (ce qui semble être le cas). Le travail ne peut donc pas être retenu.

- *Khalil, A. M., et al. (2014) Assessment of oxidant/antioxidant status in saliva of cell phone users*

Le but de l'étude de Khalil et al. (2014) est d'examiner le statut oxydant/antioxydant de la salive de 12 utilisateurs volontaires sains de téléphones portables. Le nombre de volontaires sains est très faible il n'y a pas de groupe contrôle qui ne téléphonerait pas. Les témoins sont les valeurs intra-individuelles à T0 avant l'utilisation du portable.

- *Macaire, S, et al. (2015) Radiated Ultrashort High-Power Electromagnetic Pulses Induce ATP Release in B16F10 Murine Melanoma Cells.*

L'étude de Macaire et al., 2015 a cherché à déterminer si des champs électromagnétiques à bande ultra large émises par une antenne Koshelev induisent des changements physiologiques dans les cellules animales en culture en dosant l'ATP. Le matériel et méthode est approximatif. On ne sait pas sur combien de cellules on dose l'ATP, on ne sait pas comment sont normalisés les résultats pour comparer les points entre eux. Il n'y a aucune analyse statistique. De plus, une survie clonogénique sur 5 jours est plutôt courte.



- *Kim, M, et al. (2016) "Effects of the ultra-high-frequency electrical field radiofrequency device on mouse skin: a histologic and molecular study."*

Kim *et al.* (2016) ont étudié les effets d'une exposition à un appareil médical à champs électromagnétiques ultra haute fréquence (Polargen ; 40,68 MHz) sur le remodelage du collagène dans la peau de souris sans poils et ont évalué le mécanisme moléculaire relatif.

Le système d'exposition n'est pas décrit. Les paramètres et les conditions d'exposition ne sont pas assez maîtrisés pour assurer la qualité et la fiabilité des résultats. L'expérimentation ne permet pas de différencier les effets des radiofréquences des effets thermiques.

- *Kiran, D., et al., (2017) "The morphological and biochemical investigation of electromagnetic wave effects on urinary bladder in prenatal rats"*

Kiran *et al.* (2017) ont recherché les effets d'un rayonnement radiofréquences à 1 800 MHz d'un téléphone mobile numérique ayant un DAS élevé de 1,79 W/kg, sur la structure et l'ultrastructure des vessies de rats mâles Wistar. Une valeur de DAS est fournie sans aucune justification de la provenance, vraisemblablement le DAS constructeur du téléphone. La description minimaliste du système d'exposition basé sur l'utilisation d'un téléphone portable et l'absence de dosimétrie ne permet pas d'évaluer les niveaux d'exposition, malgré la présence d'une valeur de DAS, fournie sans aucune justification, vraisemblablement le DAS constructeur du téléphone.

- *Kivrak, EG et al. (2017) Effects of 900-MHz radiation on the hippocampus and cerebellum of adult rats and attenuation of such effects by folic acid and Boswellia sacra.*

Kivrak *et al.* (2017) ont étudié les effets de l'exposition aux radiofréquences à 900 MHz émis par les téléphones portables sur l'histologie de la corne d'Ammon et du gyrus denté (DG) dans l'hippocampe et le cervelet de rats mâles adultes Wistar. Les rats sont maintenus dans des cages en plastique autour d'une antenne monopole. Ces travaux présentent des limites méthodologiques majeures. En effet, en l'absence d'information sur le gain de l'antenne, il n'est pas possible de caractériser l'exposition en champ incident. Aucune métrologie en terme de dosimétrie d'énergie électromagnétique déposée sur l'animal n'est indiquée. Cette étude n'est absolument pas reproductible.

- *Köktürk, S., et al. (2013) "Effect of Lycopersicon esculentum extract on apoptosis in the rat cerebellum, following prenatal and postnatal exposure to an electromagnetic field"*

L'exposition n'est pas qualifiée, aucune dosimétrie n'est donnée, il est simplement indiqué qu'un GSM en communication est disposé dans la cage des rats. Aucune information n'est donnée sur le nombre de rats par groupe. Dans matériel et méthodes, les auteurs décrivent des rats et de femelles mais probablement pour l'accouplement pour disposer de rates gestantes. Les images d'immunomarquage sont de très mauvaise qualité. Seuil de positivité non défini. Il n'y a pas de groupe contrôle avec la prise orale de Lycopersicon esculentum seule sans exposition.

- *Kruglik, OV, et al. (2013) "Effect of microwave electromagnetic radiation (UHF EMR) on tumor cell viability in experiment."*

Kruglik, OV, *et al.* (2013) ont réalisé cette étude sur des cellules du carcinome ascitique d'Ehrlich, pour identifier les effets de radiofréquences sur la viabilité, la prolifération et les propriétés des membranaires des cellules après une exposition de 30 min à 900MHz. Cette publication présente une limite majeure quant à l'exposition physique car la dosimétrie n'est pas justifiée, les conditions d'exposition à 1 cm d'un GSM ne sont pas maîtrisées. Cette étude n'est pas reproductible.

- *Kryukova, OV, et al. (2016) "Effect of electromagnetic microwave radiation on the growth of Ehrlich ascites carcinoma."*

Kryukova *et al.* (2016) ont cherché à changer la dynamique de croissance tumorale du carcinome ascitique d'Ehrlich chez des souris injectées par voie intrapéritonéale et après exposition à des champs électromagnétiques de 1 GHz (1 heure par jour pendant 13 jours). Trois paramètres sont suivis : le nombre de cellules par tumeur, la proportion de cellules mortes et la forme des cellules en matière de bourgeonnement.

Il manque beaucoup d'informations sur les conditions d'exposition, ce qui ne permet pas de garantir la qualité et la maîtrise du système. Le groupe témoin est mal décrit : aucune précision n'est donnée pour comprendre de quel type de témoin (*sham* témoin exposition ou témoignage) il s'agit. Les techniques utilisées ne sont pas détaillées et ne sont, par ailleurs, pas appropriées pour définir la mortalité cellulaire et la croissance tumorale (paramètres macroscopiques peu informatifs) ; des mesures classiques de volume de tumeur, de temps de survie, de mesure d'apoptose, etc., auraient pu être utilisées. Les auteurs trouvent des résultats significatifs, mais aucune donnée chiffrée permettant de le constater n'est présentée.

- *Kryukova, OV, et al. (2019) "Radiophysical Microwave Installation for Investigating Biological Effects in Mice with Tumor."*

Kryukova *et al.* (2019) ont suivi, le développement de tumeurs chez des souris injectées par voie intrapéritonéale, avec des cellules de carcinome ascitique d'Ehrlich puis exposées à une faible intensité des radiofréquences de 915 MHz (1 heure par jour pendant 10 jours). La survie des animaux est suivie pendant les 45 jours suivant l'arrêt de l'exposition.

Il n'y a ni véritable dosimétrie, ni contrôle des conditions d'exposition (entre autres, pas de contrôle de la température). Il n'y a pas de groupe témoin avec exposition de souris sans cellules transplantées ; un tel groupe aurait permis de conclure sur l'éventuelle létalité des radiofréquences. Il n'y a pas de données sur le développement tumoral ni sur les conditions et l'origine de la mort des animaux (qui aurait pu être investiguée par analyse histologique). Aucune analyse statistique n'est présentée. Une étude cinétique de l'évolution de la mortalité est faite, sans test de comparaison pour valider les différences observées.

- *Kumar, A, et al. (2020) Comparative cyto- and genotoxicity of 900 MHz and 1800 MHz electromagnetic field radiations in root meristems of Allium cepa.*

Kumar *et al.* (2020) étudient l'impact de radiofréquences dans l'oignon. L'exposition est réalisée à partir d'une antenne, placée à quelques centimètres de la cible. La fréquence du signal est de 900 et 1800 MHz, et la durée d'exposition comprise entre 0,5, 1, 2 et 4 h. Une densité de puissance 261 mW/m<sup>2</sup> à 900 MHz et 332 mW/m<sup>2</sup> à 1800 MHz a été mesurée à l'emplacement de échantillons exposés. La description de l'exposition est très sommaire sur le type d'antenne et le positionnement de cette dernière vis-à-vis de l'échantillon exposé. Le calcul de la valeur de DAS n'est pas explicité. Ces deux points font que la dosimétrie n'est pas suffisante.

- *Kumar, R et al. (2021) Effect of mobile phone signal radiation on epigenetic modulation in the hippocampus of Wistar rat*

Kumar *et al.* (2021) ont évalué la modulation épigénétique (méthylation de l'ADN et des histones) dépendante de la dose et de la fréquence dans l'hippocampe des rats mâles adultes Wistar. Les résultats sont basés sur l'expression de 2 enzymes en ARN et Protéine avec un gène de contrôle (GAPDH) qui n'est pas un gène de ménage. Donc les résultats obtenus en ARN ne sont pas bons. De plus, le DAS est indiqué de l'ordre de 10<sup>-4</sup> W/kg. Cependant, cette valeur est obtenu par formulation analytique dite "power balance", à partir d'une publication de

référence (Ardoino 2005) dont le moyen d'exposition est différent (cellule TEM). Le calcul est inexact, la dosimétrie est donc incorrecte et cette étude n'est pas reproductible.

- *Kumar, R, et al. (2019) Activation of endoplasmic reticulum stress in rat brain following low-intensity microwave exposure.*

Kumar *et al.*, 2019 ont analysé explorez les effets du rayonnement micro-ondes de faible intensité sur le stress du réticulum endoplasmique et la réponse protéique dépliée chez des rats mâles adultes Wistar exposés pendant 30 jours La valeur de DAS est obtenue par formulation analytique dite "power balance", à partir d'une publication de référence (Ardoino 2005) dont le moyen d'exposition est différent (cellule TEM). Le calcul est inexact, la dosimétrie est donc incorrecte et cette étude n'est pas reproductible.

- *Kumar, S, et al. (2013) "Influence of electromagnetic fields on reproductive system of male rats."*

Kumar *et al.* (2013) se sont penché sur l'effet d'une exposition à 10 GHz sur la fertilité chez le rat. Les animaux sont placés dans des cages sous une antenne cornet. Ils sont exposés 2 h par jour, durant 45 jours. Il manque des informations basiques sur le type de signal utilisé, sur le calcul de la densité de puissance, crête/moyenne. L'étude est classée en limites majeures.

- *Kuzniar, A, et al. (2017) Semi-quantitative proteomics of mammalian cells upon short-term exposure to non-ionizing electromagnetic fields.*

Kuzniar *et al.* (2017) présentent une analyse de spectrométrie de masse semi-quantitative à l'échelle du protéome de fibroblastes humains, d'ostéosarcomes et de cellules souches embryonnaires de souris exposés à trois types d'EMF non ionisants (45 V/m à 2,1 GHz, et 9.5 V/m à 5.8 GHz). Bien le travail expérimental soit de qualité, aucune validation cellulaire ou biochimique des conclusions de l'étude bio-informatique n'est entreprise. L'étude n'apporte donc aucun élément utilisable pour l'évaluation du niveau de preuve.

- *Lee, S. S., et al. (2014) Influence of smartphone Wi-Fi signals on adipose-derived stem cells*

Lee *et al.* (2014) s'intéressent à l'impact de la Wi-Fi sur des cellules souches. Le système d'exposition est basé sur l'utilisation d'un smartphone positionné dans un incubateur avec les échantillons biologiques, à savoir des cellules adhérentes, placés sous le smartphone. Le signal est généré par un routeur Wifi à 2,4 GHz positionné en dehors de l'incubateur avec une exposition 10h par jour pendant 5 jours. Les données présentées pour la dosimétrie ne sont absolument explicites pour une configuration telle que celle-ci, où il est nécessaire de connaître parfaitement les puissances émises par le smartphone dans sa configuration d'exposition.

- *Li, X., et al. (2014) Millimeter wave promotes the synthesis of extracellular matrix and the proliferation of chondrocyte by regulating the voltage-gated K+ channel*

Li *et al* (2014) s'intéressent à l'effet de radiofréquences sur la prolifération des chondrocytes, des cellules du cartilage. Les cellules sont exposées à des longueurs d'onde de 7,5 à 10mm, à une densité de puissance de 4 mW/cm<sup>2</sup>, 30 min/12h à 4 reprises. L'exposition physique de cette étude n'est pas reproductible : la fréquence n'est pas précisément indiquée, l'environnement, le contenant et les conditions d'expositions (angles, distances, impédance) ne sont pas indiquées. Ceci représente des limites méthodologiques majeures ; l'exposition physique n'est pas reproductible.

- *Liu, C., et al. (2013b) "Mobile phone radiation induces mode-dependent DNA damage in a mouse spermatocyte-derived cell line: A protective role of melatonin"*

Liu *et al.* (2013) étudient la génotoxicité d'une exposition radiofréquences (téléphones mobiles dans différents modes pendant 24 h). Le système d'exposition est basé sur l'utilisation de trois téléphones portables. Une boîte de Petri est placée 5 cm au-dessous du téléphone portable. Le signal est de type GSM à 900 MHz. Le niveau d'exposition est caractérisé par une mesure de champ électrique radiofréquences ( $12 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ ) et magnétique BF. Différents modes d'une durée de 20 min chacun sont investigués pendant 24 h. Cependant, il n'y a aucun contrôle de la puissance émise par la source d'exposition, et il n'y a aucune information sur le niveau de DAS dans l'échantillon exposé et ni sur la mesure de température.

- *Liu, Y., et al. (2013) The induction of Epstein-Barr virus early antigen expression in Raji cells by GSM mobile phone radiation*

L'étude de Liu *et al.*, 2013 a analysé l'impact d'un rayonnement des téléphones portables de 900 MHz-GSM sur l'expression du gène Epstein-Barr virus early antigen (EBV- EA) dans des cellules hématopoïétiques humaines Raji. Le manque d'information ou la présence d'information peu crédible comme la mesure du DAS rendent impossible l'utilisation de tel résultat. Il n'y a aucune image de marquage immunocytochimique. Aucune donnée ne vient établir un lien entre l'expression de cet antigène et un processus cancéreux. De plus, il semble qu'il s'agisse plus d'un résumé que d'un véritable article.

- *Luukkonen, J et al., (2020) "Pilot study on the therapeutic potential of radiofrequency magnetic fields: growth inhibition of implanted tumours in mice"*

Luukkonen *et al.* (2020) ont analysé les effets thérapeutiques possibles des radiofréquences ou des champs hypomagnétiques sur la croissance de fibrosarcome et de tumeurs pancréatiques implantées chez des souris et exposées en continu à des radiofréquences de 2  $\mu\text{T}$  et 10 MHz. Cette étude est à visée thérapeutique. La publication ne présente pas de précisions ou d'illustrations sur le mode d'exposition, pas de justification de la dosimétrie. Cette exposition est très difficilement reproductible, ce qui représente une limite méthodologique majeure du point de vue de l'exposition physique.

- *Mahmoud, MH et al. (2020) "Impact of long-term use of mobile phones on the prostate in human users"*

Mahmoud, MH *et al.* (2020) s'intéresse à l'impact des radiofréquences sur la prostate chez des utilisateurs de téléphones mobiles. La pertinence des résultats obtenues est fortement mise en cause par l'absence d'évaluation de la dosimétrie, en dehors de la durée.

- *Mahmoudi, G., et al. (2018) "Effects of mobile phone prolonged radiation on kidney cells; An in-vitro study"*

L'étude de Mahmoudi *et al.* (2018) a cherché si un rayonnement radiofréquence prolongé du téléphone portable pouvait affecter les cellules rénales saines humaines dans une étude in vitro. Des cellules sont exposées à proximité d'un dispositif émulant un rayonnement de téléphonie mobile. La dosimétrie de cette étude présente des limites méthodologiques majeures car seules la puissance de la source (1W) et la distance source-cellules (2,5 cm). En l'absence d'information sur l'antenne, ces seules indications ne permettent pas de remonter au niveau de champ incident ou au DAS. Cette étude n'est pas reproductible.



- *Malini, S. S. (2017) "Resolving the enigma of effect of mobile phone usage on spermatogenesis in humans in south Indian population"*

Mailini (2017) rapporte les résultats d'une étude pilote visant à étudier l'impact de la durée de l'utilisation du téléphone portable sur les paramètres du sperme et sur les spermatozoïdes dans la population indienne. Aucun effet n'est observé. Une première limite de ce travail est la faible taille des groupes (20, 22 et 5 de la plus petite à la plus grande durée d'utilisation). De plus, aucun facteur de confusion n'est pris en compte. L'étude est donc classée en limites majeures.

- *Mandalà, M., et al. (2014) "Effect of Bluetooth headset and mobile phone electromagnetic fields on the human auditory nerve"*

Mandalà, M, et al. (2014) ont cherché à vérifier si l'utilisation d'appareils Bluetooth peut réduire les effets d'une exposition directe aux radiofréquences des téléphones portables sur la détérioration du potentiel d'action auditif évoqué du nerf cochléaire chez l'homme. L'étude concerne des individus et leur utilisation du téléphone avec et sans casque *bluetooth*. Du point de vue dosimétrie, exceptée la durée, il n'y a pas d'information dans cet article.

- *Manna, D., et al., (2019) "Studies on genotoxic effects of mobile phone radiation on A375 cells"*

Manna, et al., (2019) ont évalué les effets délétères possibles du rayonnement d'un téléphone mobile GSM à 900 MHz sur des cellules de mélanome humain A375. Des boîtes de Petri sont disposées sous un téléphone portable en fonctionnement pendant 1 heure, à 900 MHz. Cette étude présente une limite majeure car la dosimétrie n'est absolument pas assurée. Aucune grandeur ne caractérise l'exposition. Cette étude n'est pas reproductible.

- *Manta, AK, et al. (2014) "Reactive oxygen species elevation and recovery in Drosophila bodies and ovaries following short-term and long-term exposure to DECT base EMF."*

Dans l'étude de Manta et al. (2014), des mouches mâles et femelles sont exposés à des radiofréquences pour étudier les niveaux de ROS. L'exposition est réalisée à partir d'une station de base DECT, émettant un signal à 1,88-1,9 GHz. La durée est comprise entre 0,5 ou 1 h pour les plus courtes et 6, 24 ou 96h pour les plus longues. Le signal émis par la station de base DECT est caractérisé et une valeur de champ électrique de 2,7 V/m est indiquée au niveau de la zone d'exposition. Cependant, l'absence de description de l'exposition en elle-même limite l'analyse de l'exposition. Un calcul du DAS est proposé, obtenu directement à partir de la valeur de champ électrique mesuré. Il précise qu'ils font l'hypothèse que le champ en espace libre est le même que dans l'animal. Cette approche ne suffit pas à lever les limites expérimentales majeures

- *Marconi, A., et al. (2015) Multivariate entropy analysis of oxidative stress biomarkers following mobile phone exposure of Human Volunteers: A Pilot Study*

L'étude de Marconi et al. 2015 suit la modulation de marqueurs de stress oxydant dans le sang et l'air exhalé de volontaires hommes et femmes exposés aux radiofréquences. Outre le fait que la qualité de la revue soit douteuse, l'article présente des limites majeures. Il se présente tout d'abord comme une étude pilote et annonce un travail de plus grande ampleur jamais publié. De ce fait les effectifs sont trop faibles (n=20). Par ailleurs, l'analyse statistique complexe par entropie n'est pas adaptée à cette étude à peu de variable. Enfin, les auteurs eux-mêmes les limites de la significativité statistique des résultats.

- *Margaritis, L. H., et al. (2014) Drosophila oogenesis as a bio-marker responding to EMF sources*

Margaritis et al. (2014) étudient la réponse de la drosophile lors de l'exposition à diverses

sources radiofréquences. Un grand nombre d'équipements sont utilisés pour réaliser des expositions de drosophiles: téléphone portable à 900 Mhz et 1900 MHz, bluetooth, Wifi, FM, microonde. Ces équipements sont en mode de fonctionnement et placés à proximité des cibles biologiques. Le non contrôle des puissances émises et des potentiels échauffements dus aux appareils eux mêmes rendent peu pertinentes ces expositions.

- *Marjanovic, A. M., et al. (2015) "Cell oxidation-reduction imbalance after modulated radiofrequency radiation"*

Le but de l'étude, menée par Marjanovic *et al.* (2014) est d'évaluer l'influence d'un champ radiofréquence (RF) modulé de 1800 MHz, d'une intensité de 30 V/m sur les processus d'oxydoréduction dans la cellule de fibroblastes de poumon de hamster chinois V79. La conclusion proposée par les auteurs "les radiations radiofréquences modulées peuvent provoquer une altération de l'équilibre oxydo-réducteur des cellules en croissance" n'est pas justifiée. Elle n'est en effet valable que dans une seule condition à 10 min. De plus, les auteurs s'appuient également sur des résultats non significatifs. Les auteurs utilisent des contrôles positifs qui ne sont pas décrits. Cette étude n'est donc pas fiable.

- *Martin, C et al. (2020) Effects of Radiofrequency Radiation on Gene Expression: A Study of Gene Expressions of Human Keratinocytes From Different Origins*

Martin *et al.* (2020) ont évalué l'universalité des modifications d'expression de gènes dans des cultures primaires de kératinocytes et la lignée cellulaire de kératinocytes HaCaT exposées à des radiofréquences à 60GHz. Cette étude bien réalisée d'un point de vue exposition est focalisée sur l'expression génique sans s'intéresser à la réponse fonctionnelle des cellules. Elle ne peut donc pas être retenue dans l'évaluation du niveau de preuve.

- *Marzook, EM, et al. (2014) Protective role of sesame oil against mobile base station-induced oxidative stress.*

L'étude de Marzook *et al.*, 2014 a pour but d'évaluer l'effet d'une l'exposition chronique de 8 semaines à 8.45GHz et d'un effet protecteur de l'huile de sésame sur le stress oxydatif chez des rats mâles adultes Wistar.

Le *matériel et méthodes* est extrêmement sommaire, ne rapportant pas de contrôle qualité des échantillons, pas d'indication sur la standardisation des données par rapport à un dosage protéique par exemple. Il n'est pas précisé si la préparation du plasma se fait sur du sang coagulé. Il n'y a aucun groupe huile de sésame seule. Aucune indication n'est fournie sur les conditions d'hébergement des rats. Les données sont extrêmement difficiles à interpréter, sans aucune représentation graphique. Leur point pivot de comparaison est l'huile de sésame et non l'exposition aux radiofréquences. De plus, le système d'exposition n'est pas pertinent en l'absence d'un contrôle de l'exposition avec *a minima* la mesure et l'acquisition d'une grandeur telle que le champ électrique ou la densité de puissance. Le manque d'information sur le positionnement des animaux limite également l'utilisation des résultats de cette expérience.

- *Masoumi, A., et al. (2018) Radiofrequency radiation emitted from Wi-Fi (2.4 GHz) causes impaired insulin secretion and increased oxidative stress in rat pancreatic islets*

L'étude de Masoumi *et al.* (2018) a examiné les effets des radiofréquences induits par le Wi-Fi (2,45 GHz) sur la sécrétion d'insuline et les systèmes redox antioxydants dans le pancréas des rats mâles adultes Sprague-Dawley. Un routeur Wi-Fi sert de source de rayonnement électromagnétique. A partir des informations fournies, il n'est pas possible de connaître les niveaux d'exposition. En particulier, la densité de puissance rayonnée par le routeur varie au

cours du temps en fonction du débit d'information. De plus, l'absence de description précise de la configuration, position des animaux par rapport à l'antenne, et de dosimétrie rend impossible la connaissance de niveaux d'exposition.

- *McNamee, J. P., et al. (2016) Analysis of gene expression in mouse brain regions after exposure to 1.9GHz radiofrequency fields*

Mc Namee *et al.* (2016) évaluent l'impact de l'exposition au champ de radiofréquence (RF) de 1,9 GHz sur l'expression des gènes dans une variété de régions cérébrales discrètes de souris mâles adultes C57BL/6, en utilisant l'analyse de microarray du génome entier. Bien que l'exposition soit bien contrôlée et les expériences bien menées, ce travail ne peut être retenu pour l'évaluation de la ligne de preuve sur les mécanismes liés au cancer. En effet, aucune expérience visant à caractériser les conséquences cellulaires de la modification de l'expression génique n'a été entreprise.

- *Meral, O., et al. (2016) "GSM-like radiofrequency exposure induces apoptosis via caspase-dependent pathway in infant rabbits"*

Meral *et al.* (2016) étudient l'induction de l'apoptose dans le foie de lapins exposés in utero et/ou dans le premier mois après la naissance 1,8 GHz. La dosimétrie de cette étude est de bonne qualité, avec un contrôle en temps réel du niveau d'exposition, mais avec de imprécisions sur la distance entre antenne et animaux et la manière de calculer le SAR. Une limite majeure est l'absence de prise en compte du faible nombre de portée (9 ou 10) pour construite les 8 groupes (72 animaux au total). De plus, les analyses par western blot ne sont pas quantifiées. Pour les activités caspases, les auteurs se sont concentrés sur des comparaisons avec les contrôles mais n'ont pas testé la significativité d'autres effets (différence basale mâle/femelle).

- *Mohamed, W. A., et al. (2014) Spirulina platensis ameliorative effect against GSM 900-MHz cellular phone radiation-induced genotoxicity in male Sprague-Dawley rats*

L'étude de Mohamed *et al.*, 2014 a pour but d'explorer l'éventuelle activité radioprotectrice de la Spirulina platensis (SP) contre certains effets génotoxiques des radiations du téléphone cellulaire GSM 900-MHz sur les cellules de la moelle osseuse et l'érythrogramme chez des rats mâles adultes Sprague-Dawley. Sans contrôle rigoureux, le système d'exposition n'est pas pertinent. Ainsi, à partir des informations fournies, il n'est pas possible de connaître les niveaux d'exposition. En particulier, la densité de puissance rayonnée par le téléphone varie au cours du temps en fonction de la liaison, du trafic, .... De plus, l'absence de description précise de la configuration, position des animaux par rapport à l'antenne, et l'absence de dosimétrie rendent impossible la connaissance de niveaux d'exposition.

- *Mokarram, P., et al. (2017) "Effect of Exposure to 900 MHz GSM Mobile Phone Radiofrequency Radiation on Estrogen Receptor Methylation Status in Colon Cells of Male Sprague Dawley Rats"*

L'étude de Mokarram, *et al.* (2017) a étudié le profil épigénétique du récepteur ER $\alpha$  après exposition aux rayonnements radiofréquences et cherché si les radiofréquences peuvent induire une réponse radio-adaptative sous forme de changements épigénétiques après avoir reçu une dose de challenge aux rayons  $\gamma$ . Un téléphone commercial est utilisé pour réaliser l'exposition. Une valeur de DAS est indiquée, vraisemblablement celle fournie par le constructeur. La description minimaliste du système d'exposition basé sur l'utilisation d'un téléphone portable et l'absence de dosimétrie ne permet pas d'évaluer les niveaux d'exposition, malgré la présence d'une valeur de DAS, fournie sans aucune justification, vraisemblablement le DAS constructeur du téléphone.

- *Mortazavi, S. M. J., et al. (2015) Induction of apoptosis by 900 MHz radiofrequency radiation emitted from a GSM mobile phone simulator in bystander Jurkat cells*

Mortazavi *et al.* (2015) se sont intéressés aux effets induits par une exposition directe ou via le milieu de culture de cellules exposées (effet bystander) à 900 MHz-GSM avec une puissance délivrée par la source de 2 W. sur l'apoptose dans la lignée cellulaire Jurkat.. En l'absence d'information sur l'exposition et le niveau de celle-ci, il est impossible d'apporter un crédit à cette étude. Il n'y a aucun profil de cytométrie.

- *Mortazavi, SM et al. (2013) Non-linear adaptive phenomena which decrease the risk of infection after pre-exposure to radiofrequency radiation.*

L'étude de Mortazavi, *et al.* (2013) a testé l'hypothèse selon laquelle une réponse adaptative induite par des radiofréquences peut être utilisée pour diminuer le risque d'infection chez des individus irradiés immunodéprimés. Pour cela, ils ont suivi les taux de survie chez des souris recevant une dose d'adaptation (RF) et une dose de challenge (bactéries) ou uniquement le challenge.

Le système d'exposition des souris est un téléphone portable (GSM 900 MHz et 1800 MHz) en mode appel. L'étude ne peut être prise en compte étant donné le manque d'information concernant le banc de test et le manque de contrôle de la puissance délivrée par le téléphone.

- *Mortazavi, SMJ et al. (2017) "Adaptive Response Induced by Pre-Exposure to 915 MHz Radiofrequency: A Possible Role for Antioxidant Enzyme Activity."*

Synthèse :

L'étude de Mortazavi *et al.* (2017) a évalué si le rayonnement radiofréquences à 915 MHz 4 h/jour pendant une semaine, peut induire une réponse adaptative en modifiant l'équilibre antioxydant. L'étude ne peut être prise en compte étant donné le manque d'information concernant le banc de test et le manque de contrôle de la puissance effectivement délivrée au niveau des rats.

- *Motawi, T. K., et al. (2014) "Biochemical Modifications and Neuronal Damage in Brain of Young and Adult Rats After Long-Term Exposure to Mobile Phone Radiations"*

Dans l'étude de Motawi *et al.*, 2014, des micro-ondes ont été générées par un téléphone mobile de test (DAS = 1,13 W / kg) pendant 60 jours (2 h / jour) pour exposer des jeunes rats et des rats adultes. Le système d'exposition très mal décrit utilisant un téléphone du commerce, il n'y a pas d'indication de dosimétrie. Il y a de grosses réserves et incertitudes par rapport à l'exposition, toutefois l'utilisation d'un mobile réel du commerce permet de dire que l'exposition ne devrait pas dépasser les valeurs normatives.

- *Narvaez, CJ, et al. (2018) Specifically Targeted Electromagnetic Fields Arrest Proliferation of Glioblastoma Multiforme U-87 Cells in Culture.*

La description de l'exposition présente des limites majeures. Les formes d'ondes radiofréquences objet de la publication ne sont pas précisées. Le principe du choix de leurs caractéristiques en fonction des cibles à traiter n'est pas indiqué. La dosimétrie est très sommaire et ces travaux ne sont pas reproductibles.

- *Ni, S., et al. (2013) "Study of Oxidative Stress in Human Lens Epithelial Cells Exposed to 1.8 GHz Radiofrequency Fields"*

Ni *et al.* 2013 ont mesuré le stress oxydatif et exploré les raisons possibles de l'augmentation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules épithéliales du cristallin humain



(HLE) B3. L'exposition physique est de très bonne qualité. Le DAS est justifié, les conditions d'exposition sont contrôlées en temps réel. Bien que les auteurs concluent à la présence de stress oxydant lorsque les cellules HLE B3 ont été exposées à 1,8 GHz, le choix du t-test au lieu d'Anova peut avoir favorisé des résultats certes significatifs mais si faiblement significatifs avec un n=3. De plus, les résultats de diminution d'expression annoncés au niveau protéique sont peu convaincants.

- *Nirwane, A., et al. (2016) "Neurobehavioural changes and brain oxidative stress induced by acute exposure to GSM900 mobile phone radiations in Zebrafish (Danio rerio)"*

L'étude de Nirwane *et al.*, 2016 a évalué l'impact d'une exposition quotidienne aux rayonnements GSM 900MHz pendant 1 heure pendant 14 jours avec un DAS de 1,34 W/kg sur le stress oxydatif et le comportement chez le poisson zèbre. Le système d'exposition repose sur l'utilisation d'un téléphone portable positionné à 12 mm au-dessus d'une boîte de Petri contenant les poissons (Zebra fishes). Une valeur de DAS correspondant à celle fournie par le fabricant pour caractériser l'appareil est indiquée, mais n'est pas représentative de l'exposition. Ce type de dispositif d'expérimentation ne permet pas de connaître les niveaux d'exposition des cibles.

- *Novoselova, EG, et al. (2017) "Extremely low-level microwaves attenuate immune imbalance induced by inhalation exposure to low-level toluene in mice."*

Novoselova *et al.* (2017) ont exploré la capacité des radiofréquences (8,15 et 18 GHz) à moduler l'impact d'une exposition au toluène dans les lymphocytes de rate de souris (étude de coexposition). Les souris exposées étaient pendant 1 heure, à une densité de puissance variable entre 0,4 et 1,6  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  (valeurs mesurées dans la cage).

Il n'y a pas de calcul ou de simulation de dosimétrie ; seul un contrôle de la puissance émise est réalisé. Les western blot sont de mauvaise qualité, avec des coupures visibles. Il n'y a pas de contrôle des protéines totales non phosphorylées. Les histogrammes présentés n'ont pas de légendes.

- *Odaci, E, et al. (2015b) "Exposure to a 900 MHz electromagnetic field for 1 hour a day over 30 days does change the histopathology and biochemistry of the rat testis."*

Odaci *et al.* (2015) analysent les effets induits sur les testicules de rat d'une exposition à un champ électromagnétique de 900 mégahertz (MHz) pendant 1 heure par jour pendant 30 jours. Ce travail souffre de problèmes méthodologiques majeurs car les résultats des analyses biochimiques sont difficiles à interpréter dans la mesure où toutes les valeurs MDA, SOD, GSH et CAT sont fortement diminuées dans le groupe témoin exposition par rapport au groupe contrôle et les auteurs n'en tiennent pas compte. De plus, les valeurs du groupe témoin exposition sont plus faibles que celles du groupe exposé ce qui en fait devrait amener les auteurs à conclure que les radiofréquences protègent! En fait les auteurs tirent leurs conclusions sans tenir compte des données du groupe témoin exposition. Seules les données morphologiques sur les coupes de testicules de rat pourraient être gardées mais elles sont très éloignées de notre problématique cancer. On note également que Le DAS rapporté dans la caractérisation de l'exposition n'est pas justifié. L'article est classé en limites majeures.

- *Ohtani, S., et al. (2019) Global analysis of transcriptional expression in mice exposed to intermediate frequency magnetic fields utilized for wireless power transfer systems*

Le but du travail de **Ohtani, S., et al. (2019)** est d'analyser l'expression transcriptionnelle globale dans le cerveau et le foie de souris mâles adultes C57BL/6NCrSlc exposées à des champs magnétiques de fréquence intermédiaire 85 kHz utilisés pour les systèmes de

transfert d'énergie sans fil. Il n'est pas possible de tirer une quelconque conclusion de ce travail par rapport au risque cancer. Les analyses sont faites sur des broyats de tissus qui comportent de nombreux types cellulaires différents.

- *Othman, H, et al. (2017a) "Effects of repeated restraint stress and WiFi signal exposure on behavior and oxidative stress in rats."*

L'étude de Othman *et al.*, 2017 a examiné les effets d'une co-exposition à un stress de contention répété et à un signal Wi-Fi (2,45 GHz) sur les fonctions cognitives (l'anxiété, la mémoire) et le système de défense antioxydant dans le cerveau de rats mâles. Le dispositif d'exposition radiofréquence est très sommaire, aucune dosimétrie n'est assurée. Les conclusions sont exagérées par rapport aux effets observés pour la combinaison exposition wifi et contrainte. La conclusion de l'abstract (pas d'effet de la combinaison sur le cerveau) est différente de celle des résultats et de la discussion (effet de la combinaison exacerbé sur stress oxydant). Les effets sont de très faible amplitude. Il manque des analyses entre les groupes (WiFi vs contrainte par ex)

- *Othman, H., et al. (2017b) "Effects of prenatal exposure to WIFI signal (2.45 GHz) on postnatal development and behavior in rat: Influence of maternal restraint"*

Le but de l'étude de Othman *et al.*, 2017 a été d'évaluer chez des rattes gestantes exposées pendant toute la durée de la gestation, les effets combinés d'une exposition à un signal de 2,5GHz et d'une contention physique. Le développement postnatal, le comportement des rats nouveau-nés et des paramètres biochimiques ont été évalués dans le sang et le cerveau des rats après la naissance. L'exposition et la contention de 24 rattes ont eu lieu 2 h/jour pendant toute la gestation jusqu'à la parturition. Les rats du groupe contrôle ont été maintenus dans leur cage conventionnelle et isolés des sources de radiofréquences et des facteurs de stress environnementaux.

De grosses réserves et incertitudes sont à signaler par rapport à l'exposition. Toutefois, l'utilisation d'un AP du commerce permet de dire que l'exposition ne devrait pas dépasser les valeurs normatives. Par ailleurs, les études statistiques n'indiquent pas clairement ce qui se passe pour le groupe co-exposé. On ne sait pas trop à quels âges les auteurs considèrent que la descendance est juvénile ou adulte.

- *Özdemir, E et al. (2021) "The effect of 4.5 G (LTE Advanced-Pro network) mobile phone radiation on the optic nerve"*

Özdemir *et al.*, (2021) ont étudié l'effet du téléphone mobile fonctionnant avec le réseau mobile LTE (4,5 G) sur le nerf optique, responsable de la transmission des informations visuelles chez des rats Wistar mâles. La dosimétrie de cette étude est correctement faite. En revanche la fréquence de fonctionnement du téléphone lors de l'expérimentation n'est pas indiquée, de même que pour l'étude dosimétrique. De plus, La fréquence à laquelle la communication, la mesure de champ E et la simulation électromagnétique sont faites n'est pas indiquée. Il n'est pas indiqué clairement si les animaux sont bien présents lors des mesures de champ E. L'uniformité du champ E dans la cage n'est pas indiquée. L'emplacement de la source radiofréquences par rapport au rat pour la simulation numérique n'est pas indiqué. Ceci empêche le travail d'être reproductible.

- *Ozgur, E., et al. (2013) Effects of Prenatal and Postnatal Exposure to GSM-Like Radiofrequency on Blood Chemistry and Oxidative Stress in Infant Rabbits, an Experimental Study*

Ozgur *et al.* (2013) étudient les effets de l'exposition pré-natale ou post-natale à un rayonnement radiofréquence (RFR) de type GSM à 1800 MHz dans le sang de lapins

nourrissons. La référence Guler *et al.* [8] décrit le dispositif. Il manque cependant des informations importantes comme la densité de puissance au niveau de l'animal surtout si on en croit les auteurs qui disent faire l'acquisition de cette grandeur. De plus, la valeur de DAS ne semble pas réaliste. Si on fait un simple calcul avec les hypothèses suivantes, c'est-à-dire que toute la puissance de 0,1 W est absorbée par l'animal et que ce dernier pèse 0,5 kg, on obtient 0,1/0,5 W/kg, soit 0,2 W/kg, et on exprime de DAS corps entier. Il n'y a aucune référence associée à ce calcul, ni au modèle de lapin utilisé. Le manque d'information importante sur les niveaux d'exposition limite la portée des résultats de cette étude.

- *Ozmen, O et al. (2020) "Ameliorative effects of Vitamin C against hepatic pathology related to Wi-Fi (2.45 GHz electromagnetic radiation) in rats"*

Le but de l'étude de Ozmen *et al.* est d'analyser les potentiels effets bénéfiques de la vitamine C sur des pathologies hépatiques liées au Wi-Fi. Plusieurs limites majeures sont à souligner : l'absence d'un groupe témoin traité uniquement à la vitamine C empêche toute conclusion sur l'effet de cette dernière. De plus, la méthode de normalisation des dosages sériques n'est jamais indiquée. Enfin, il n'y a pas de mesures en dupliquât ou tripliquât.

- *Panagopoulos, D. J. (2019) Chromosome damage in human cells induced by UMTS mobile telephony radiation*

Panagopoulos (2019) étudie les aberrations chromosomiques de signaux UMTS dans des lymphocytes humains issus de 6 donneurs. L'utilisation d'un téléphone portable comme source d'exposition n'est pas opportune dans la mesure où la puissance rayonnée par la source n'est ici pas maîtrisée. De plus, l'exposition est en champ proche de l'appareil (1 cm) ce qui signifie que la présence de l'échantillon influe sur la distribution spatiale des champs électromagnétiques et ne permet pas l'utilisation d'une mesure de champ électrique en l'absence du dispositif complet. De plus, il est indiqué l'utilisation d'une antenne champ proche, sans en mentionner la référence. La valeur de DAS indiquée correspond à celle indiquée par le fabricant, ce qui n'apporte pas d'indication sur l'exposition. Des limites sont aussi observées en biologie. Le fait de n'avoir utilisé qu'une seule approche pour montrer les aberrations chromosomiques limite un peu la portée de la conclusion et empêche l'étude de fournir des données mécanistiques. De plus, cette étude comporte peu de sujets. Les résultats obtenus sont donc peu pertinents.

- *Pastaci Özsoğacı, N, et al. (2018) "Selenium supplementation ameliorates electromagnetic field-induced oxidative stress in the HEK293 cells."*

Le but de l'étude de Pastaci Özsoğacı *et al.*, 2018 est d'étudier l'effet d'une pré-incubation de cellules rénales embryonnaires humaines (HEK293) à 2 concentrations de sélénium puis à une exposition à des radiofréquences de 2,4 GHz sur l'apoptose et le stress oxydatif.

La dosimétrie est très sommaire en l'absence de valeurs de DAS expérimentales ou numériques et de mesure de température. Pour la biologie, il n'y a aucun résultat pour le traitement avec les 2 concentrations de sélénium seul. On note une opposition entre ce qui est dit dans le texte et dans un tableau. Les auteurs écrivent dans le texte que la concentration de MDA pour radiofréquences + Se aux 2 concentrations est supérieure à celle avec radiofréquences seul. C'est l'inverse dans le tableau 1. Même chose pour l'activité de la GSH pour les témoin-exposition et l'exposition aux radiofréquences. Il n'y a pas de comparaison statistique entre le groupe témoin-exposition et le groupe radiofréquences + Se. Pour Bcl-2, les marquages du groupe témoin-exposition et du groupe radiofréquences ne reflètent pas du tout les différences du nombre de cellules entre les 2 groupes. Les images de marquage de Bcl-2 ne ressemblent pas à un marquage positif.

- *Pershin, SB, et al. (2013) Immunorehabilitating Effect of Ultrahigh Frequency Electromagnetic Fields in Immunocompromised Animals.*

Pershin *et al.* (2013) ont étudié la possibilité d'une immuno-réhabilitation sur le modèle des états d'immunodéficience secondaire induits par l'administration d'inhibiteurs de la synthèse et de la prolifération des acides nucléiques chez des lapins mâles adultes. Les animaux sont exposés à une source radiofréquences à la fréquence de 460 MHz avec une densité de puissance de 120 mW/cm<sup>2</sup>, soit 1,2 W/m<sup>2</sup>.

L'absence d'information ou référence sur les sources, et sur la configuration d'exposition conduisent à un dispositif non pertinent du point de vue exposition.

- *Shivashankara, A. R., et al. (2015) Effect of cell phone use on salivary total protein, enzymes and oxidative stress markers in young adults: A pilot study*

L'étude de Shivashankara *et al.* (2015) vise à évaluer les niveaux d'enzymes salivaires, de protéines et du système oxydant-antioxydant chez les jeunes utilisateurs de téléphones portables qui fréquentent l'université. Trop d'éléments sont manquants : répartition des hommes et des femmes, témoin-exposition, le type de téléphone utilisé et un repas pris 1h avant le prélèvement salivaire. Aucune information n'est fournie sur la nature de l'exposition (type de téléphone). Un critère d'inclusion est l'utilisation du téléphone à la main - mais dans critères d'exclusion il n'est pas dit que le kit main libre est exclu. Il manque un groupe témoin-exposition n'utilisant pas de téléphone.

- *Persson, B. R. R et al. (2014) Brain tumour growth in rats exposed to electromagnetic fields used in wireless cellular communication.*

L'étude de Persson *et al.*, 2014 évalue les effets de l'exposition à 915 MHz de rats Fischer mâles et femelles après une injection orthotopique dans le cerveau, de cellules de gliome RG2 et N32. De nombreuses imprécisions sont relevées dans l'article et empêchent sa bonne compréhension. Le protocole expérimental ne comprend pas de témoin-cages. L'analyse de Wilcoxon est intéressante pour étudier l'évolution de l'ensemble des résultats, mais cela postule une réponse identique des cellules en fonction de la dose de rayonnements reçus, ce qui n'est pas démontré ; une étude est faite sur la correspondance de la forme des tumeurs entre rats exposés et témoin-exposition qui semble donner une courbe de répartition normale mais cela n'est pas en rapport avec le DAS, introduit dans les figures 2 et 3. Le tableau 6 présente l'effet d'une exposition sur les rats non injectés avec les cellules tumorales par rapport aux témoin-exposition, mais ce sont des données reprises d'un article précédent (Salford 2012). En résumé, cette étude est trop confuse et peu précise pour répondre à la question posée sur les effets de certaines ondes sur des gliomes.

- *Pesnya, D. S., et al. (2013) Comparison of cytotoxic and genotoxic effects of plutonium-239 alpha particles and mobile phone GSM 900 radiation in the Allium cepa test*

Pesnya *et al.* (2013) étudient l'effet combiné des particules alpha du plutonium et de radiofréquences dans l'oignon. L'exposition est effectuée à l'aide d'un téléphone portable autour duquel sont placés 6 tubes contenant des bulbes. Le signal est un GSM à 900 MHz et une mesure de densité de puissance donne 0,05 µW/cm<sup>2</sup>. L'exposition dure trois jours avec soit 3h par jour ou 1 h par jour. Ce type d'exposition souffre cruellement d'un contrôle du niveau d'exposition dans les échantillons exposés et du contrôle de la température en particulier celle induite par le fonctionnement du téléphone.



- *Poque, E et al. (2020) "Effects of radiofrequency fields on RAS and ERK kinases activity in live cells using the bioluminescence resonance energy transfer technique"*

L'étude de Poque *et al.*, 2020, a été menée pour réévaluer l'effet de signaux radiofréquences de faible niveau (1800 MHz, niveau d'exposition du public) sur l'activation de RAS/MAPK dans des cellules HuH7 (hépatocarcinome), à l'aide de sondes moléculaires BRET.

Les auteurs rapportent que leur sonde permet de montrer que les radiofréquences n'ont pas d'effet sur l'activité ERK et RAS. Ce n'est cependant pas très clairement montré dans l'article, seules les données à très faible concentration de PMA (10-11 M) l'indiquent. Pour être si affirmatif, il aurait été utile de réaliser des expositions de durée croissante et de varier le temps entre exposition et mesures. Ces résultats ne se pas complètement en accord avec des expériences d'induction de l'activité ces kinases. Il n'y a aucune analyse des conséquences de l'activation ou de l'inhibition de l'activité des protéines kinases sur des composantes qui caractérisent la carcinogénèse (prolifération, survie, migration...).

- *Qureshi, S. T., et al. (2017) Radiofrequency radiations induced genotoxic and carcinogenic effects on chickpea (Cicer arietinum L.) root tip cells*

Qureshi *et al.* (2017) étudient l'impact des radiofréquences sur les racines de pois chiches. Le système d'exposition est basé sur l'utilisation d'un téléphone portable (900 MHz) et d'un ordinateur portable (3.31 GHz). Ce type d'exposition sans dosimétrie et sans aucune mesure ni aucun contrôle sur les sources n'est pas exploitable en termes de réplication.

- *Raček, A, et al. (2018) Age-dependent effect of long-term microwave radiation on postnatal neurogenesis in rats: morphological and behavioral study.*

L'étude de Raček *et al.*, 2018 s'est intéressée aux effets d'un rayonnement micro-ondes (MW) sur la prolifération et la mort des cellules dans le flux migratoire rostral (RMS) du rat Wistar. Le manque d'information ne permet pas d'appréhender correctement les conditions d'exposition, seule la densité de puissance est fournie ainsi qu'une valeur de DAS sans en connaître l'origine. De plus, les auteurs parlent de contrôles et de contrôles exposition et n'ont gardé que les contrôles exposition. Que sont les contrôles ? Les tests comportementaux n'ont pas été faits chez le rat adulte. La discussion sur l'interprétation des tests comportementaux est assez obscure. Les auteurs parlent de changements morphologiques mais ne montrent aucune image.

- *Rammal, M., et al. (2014) Effects of long-term exposure to RF/MW radiations on the expression of mRNA of stress proteins in Lycopersicon esculentum*

Rammal *et al.* (2014) étudient l'effet des radiofréquences à long terme sur l'expression de mARN dans la tomate. Des plantes sont exposées à 1250 MHz, à un niveau de 6 V/m pendant 10 jours. La dosimétrie de cette étude n'est pas de qualité suffisante pour assurer sa reproductibilité. La distance antenne - plante, les conditions de champ proche ou de champ lointain, l'homogénéité de l'exposition ne sont pas indiquées, ce qui implique des limites méthodologiques majeures.

- *Rashmi, B et al. (2020) "Occurrence of micronuclei in exfoliated buccal mucosal cells in mobile phone users: A case-control study"*

Rashmi *et al.* (2020) recherche par une analyse cas-témoins si les téléphones portables induisent des micronoyaux dans les cellules de la muqueuse buccale d'utilisateurs de téléphones mobiles. Cet article souffre de problèmes méthodologiques majeurs dans la sélection des individus inclus dans l'étude : nombre de sujets par groupe insuffisants, un seul prélèvement par individu, il aurait été souhaitable de les prélever chacun plusieurs fois.

Mélange hommes/femmes, l'intervalle des âges trop grand. Il est écrit dans le texte « Les antécédents et les informations personnelles ont été évalués, y compris l'âge, le sexe, le tabagisme et la consommation d'alcool, l'exposition à des agents chimiques cancérigènes ou aux radiations et les habitudes alimentaires ». Tel que décrit de nombreux facteurs confondants potentiels ne semblent pas avoir été pris en compte

- *Razavi, MK et al. (2015) Histopathological and immunohistochemical study of rat brain tissue after exposure to mobile phone radiation*

L'étude de Razavi *et al.*, 2015 a recherché les dommages possibles du tissu cérébral et de la barrière hémato-encéphalique après l'exposition de rats mâles Wistar placés dans un solénoïde alimenté par un amplificateur de 600W à 940 MHz. Les auteurs n'indiquent aucune dosimétrie de l'énergie électromagnétique déposée sur l'animal, qu'il s'agisse de champ ou de densité de puissance incidente, ou de DAS. A ce titre, cette étude n'est absolument pas reproductible. Il n'y a pas de quantification de la « fuite d'albumine » et de la modification de la perméabilité de la barrière. Les cellules apoptotiques ont été évaluées sur des coupes H&E mais il n'y a pas d'indication de comment ont été quantifiées ces cellules.

- *Rinaldi, S., et al. (2014) Stem cell senescence. Effects of REAC technology on telomerase-independent and telomerase-dependent pathways*

Rinaldi *et al.* (2014) travaillent sur l'impact de radiofréquences sur la télomérase dans des cellules souches. Un dispositif thérapeutique dit "REAC" génère des impulsions électromagnétiques de porteuse 2,4 GHz, à 0,4 V/m sur une période de 4 à 12h. La dosimétrie de cette exposition est très sommaire. Le DAS n'est pas justifié. Cette exposition n'est pas reproductible avec une précision acceptable.

- *Sabban, I. F., et al. (2018) "Effects of exposure to electromagnetic waves from 3g mobile phones on oxidative stress in fetal rats"*

L'étude de Sabbanl, *et al.* (2018) vise à déterminer les effets du rayonnement électromagnétique des téléphones mobiles de troisième génération sur l'incidence du stress oxydatif chez le fœtus de rat. Les informations sur l'exposition, basée sur l'utilisation d'un téléphone placé dans une cage, sont clairement insuffisantes, avec en particulier une inconnue sur les niveaux réels délivrés par les différentes sources.

- *Sagioglou, N. E., et al. (2016) "Apoptotic cell death during Drosophila oogenesis is differentially increased by electromagnetic radiation depending on modulation, intensity and duration of exposure"*

Sagioglou *et al.* étudient si le rayonnement électromagnétique peut induire la mort cellulaire apoptotique au cours de l'oogenèse de la drosophile. Des groupes de 8 animaux sont disposés dans un carrousel, à 900 MHz, à 0,02 mW/cm<sup>2</sup>, durant 2h/jour pendant 8 jours. La caractérisation de l'exposition dans ce dispositif est très sommaire : l'antenne n'est pas décrite, et les conditions de mesures de la densité de puissance ne sont pas décrites. Le DAS n'est pas justifié. La publication est placée en limites majeures.

- *Said-Salman, I. H., et al. (2019) Global gene expression analysis of Escherichia coli K-12 DH5α after exposure to 2.4 GHz wireless fidelity radiation*

Said-Salman *et al.* (2019) étudient l'expression globale de gènes dans *Escherichia coli*. Des cellules sont exposées à 30 cm d'une antenne monopole alimentée par un générateur à la fréquence Wifi 2,45 GHz. Cette étude ne présente aucune dosimétrie électromagnétique. Les conditions d'exposition ne sont pas reproductibles. De plus, aucune expérience n'est faite pour

mettre en évidence un impact biologique de la modulation des gènes identifiés. Le travail est donc classé en limites majeures

- *Saikhedkar, N, et al. (2014) "Effects of mobile phone radiation (900 MHz radiofrequency) on structure and functions of rat brain."*

Les objectifs de l'étude de Saikhedkar *et al.*, 2014 étaient : (1) d'analyser les effets de l'utilisation à long terme d'un téléphone mobile sur la composition cytologique de l'hippocampe dans le cerveau de rat (2) d'évaluer les effets sur le statut antioxydant et (3) d'évaluer les effets sur le comportement cognitif, en particulier sur l'apprentissage et la mémoire.

Le système d'exposition est très mal décrit utilisant un téléphone du commerce, pas de dosimétrie. Grosses réserves et incertitudes par rapport à l'exposition, toutefois l'utilisation d'un mobile réel du commerce permet de dire que l'exposition ne devrait pas dépasser les valeurs normatives. Cette étude porte sur un nombre trop restreint d'animaux.

- *Sakurai, T, et al. (2013) Alteration of gene expression by exposure to a magnetic field at 23 kHz is not detected in astroglia cells.*

Sakurai *et al.* (2013) ont testé l'effet de radiofréquences à 23 kHz l'expression génique dans une lignée cellulaire d'astroglie dérivée d'un fœtus humain, SVGp12. Bien que l'exposition soit bien contrôlée et les expériences bien menées, ce travail ne peut être retenu pour l'évaluation de la ligne de preuve sur les mécanismes liés au cancer. En effet, aucune expérience visant à caractériser les conséquences cellulaires de la modification de l'expression génique n'a été entreprise.

- *Salah, M. B., et al. (2013) "Effects of olive leaf extract on metabolic disorders and oxidative stress induced by 2.45GHz WIFI signals"*

L'étude de Salah *et al.* (2013) a recherché l'effet de l'administration d'extrait de feuilles d'olivier sur le métabolisme du glucose et la réponse oxydative dans le foie et les reins de rats mâles Wistar exposés à des radiofréquences de 2,45 GHz. Les animaux sont placés sous un point d'accès WiFi. En l'état, les informations sur l'exposition sont clairement insuffisantes, avec en particulier une inconnue sur les niveaux réels délivrés par la source, et la distance source-animaux.

- *Saliev, T, et al. (2019) Impact of electromagnetic fields on in vitro toxicity of silver and graphene nanoparticles.*

L'étude de Saliev *et al.* (2019) a étudié la corrélation entre la forme et la concentration des nanoparticules d'argent (AgNP), leur cytotoxicité et la formation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) en présence de champs électromagnétiques dans des cultures primaires de fibroblastes humains. Le système d'exposition des cellules est constitué d'une cage de faraday avec des parois absorbantes dans laquelle une antenne est placée. La description du type de signal est ambiguë, de même que les fréquences utilisées. Concernant le signal, il s'agit d'un signal avec différentes fréquences porteuses, modulé en amplitude par des impulsions de durée 0,6 ms et de fréquence 217 Hz. La puissance crête est de 10 W et la forme de l'enveloppe de l'onde est sinusoïdale. Trop d'imprécisions persistent dans la partie physique de cette étude. On constate un manque d'information, comme une référence pour l'antenne et les grandeurs qui permettent le calcul du DAS. Les valeurs obtenues sont parfaitement proportionnelles à la fréquence, ce qui peut paraître surprenant. Par moment on trouve 900 MHz, 2400 MHz et 7500 MHz, et à d'autres endroits 900 MHz, 1800 MHz et 2400 MHz.

- *Sannino, A., et al. (2014) "Adaptive response in human blood lymphocytes exposed to non-ionizing radiofrequency fields: resistance to ionizing radiation-induced damage"*

Sannino *et al.* (2014) ont étudié l'effet adaptatif induit par les radiofréquences dans les lymphocytes du sang périphérique de quatre donneurs sains. Ils ont utilisé la méthode des micronoyaux pour aborder la génotoxicité. La caractérisation de l'exposition physique de cette étude est de très bonne qualité. Les résultats biologiques sont intéressants mais souffrent du fait que l'expérience n'ait été faite qu'une seule fois par donneur. Il n'est donc pas possible de connaître l'origine de la variabilité des résultats (erreur expérimentale ou variabilité individuelle).

- *Saygin, M., et al. (2015) "Impact of L-carnitine and selenium treatment on testicular apoptosis in rats exposed to 2.45 GHz microwave energy"*

Le travail de Saygin *et al.* 2015 qui recherche si une supplémentation en sélénium et en L-carnitine peuvent avoir un effet sur l'apoptose induite dans les testicules de rat après une exposition à des radiofréquences de 2,45 GHz 60 minutes/jour pendant 28 jours souffre de problèmes méthodologiques majeurs. Il n'y a pas de contrôles positifs et négatifs pour les immunomarquages. On ne sait pas quel est le marquage présenté pour le témoin. Pour certains autres marquages on a l'impression que 100% des cellules sont marquées. Aucune donnée chiffrée n'est présentée. Les résultats ne sont pas présentés, seul un résumé des résultats est donné. Il n'y a pas de témoins cage. Ainsi, bien que la description de l'exposition soit acceptable, l'article est placé en limites majeures.

- *Seckin, E., et al. (2014) "The effect of radiofrequency radiation generated by a Global System for Mobile Communications source on cochlear development in a rat model"*

L'étude de Seckin *et al.*, 2014 a évalué l'effet d'un rayonnement radiofréquence de 900 et 1800 MHz sur le développement cochléaire de rats femelles Wistar gravides. La description du système d'exposition manque d'information en particulier sur le contrôle de l'exposition et sur la dosimétrie, les limites de cette dernière ne permettent pas d'estimer correctement le DAS. Des limites persistent sur l'exploitation des résultats eu égard aux limites méthodologiques.

- *Sella, S, et al., (2018) "In-vitro analysis of Quantum Molecular Resonance effects on human mesenchymal stromal cells."*

Sella, S, *et al.*, (2018) ont évalué les effets de la stimulation par la résonance moléculaire quantique (4 à 64 MHz) sur des cellules stromales mésenchymateuses (CSM) dérivées de la moelle osseuse de donneurs sains. La morphologie cellulaire, le phénotype, la différenciation multilignée, la viabilité et la prolifération ont été étudiés. Le système d'exposition est constitué de deux électrodes : la première de type cylindre est positionnée au centre d'une boîte de Petri, la seconde est plate et placée sous la boîte de Petri. Un générateur utilisé pour les applications thérapeutiques est utilisé. Il délivre un signal à la fréquence de 4 à 64 MHz. Le manque d'information ne permet pas de connaître les niveaux d'exposition utilisés.

- *Sepehrimanesh, M., et al. (2017) "Proteomic analysis of continuous 900-MHz radiofrequency electromagnetic field exposure in testicular tissue: a rat model of human cell phone exposure"*

Sepehrimanesh *et al.* (2017) étudient l'effet sur le protéome de testicules de rats Sprague-Dawley après une exposition continue de 1, 2 ou 4h/jour pendant 30 jours aux champs électromagnétiques radiofréquences de 900 MHz. Deux spots sont différentiellement surexprimés ( $P < 0,05$ ) en intensité et en volume avec des facteurs d'induction 1,7 fois plus élevés après exposition aux radiofréquences par rapport aux témoins. Après 4 h d'exposition



quotidienne pendant 30 jours consécutifs, la sous-unité bêta de l'ATP synthase (ASBS) et le précurseur de la protéine 1 régulée par l'hypoxie (HYOU1) sont significativement up-régulés. Ce travail souffre de problèmes méthodologiques majeurs : pas de contrôles cage. Aucune validation pour conforter l'implication potentielle des 2 protéines suspectées. Les deux spots ne sont différentiels que pour les temps longs d'exposition donc les autres temps ne permettent pas de consolider ces résultats. Par rapport aux conclusions, surtout celle portant sur le risque cancérigène, aucune preuve n'est apportée quant aux rôles de ces deux protéines dans la carcinogenèse. Cependant les auteurs concluent sur la base de ces résultats que l'exposition aux radiofréquences produit des augmentations des protéines testiculaires chez les adultes qui sont liées au risque cancérigène et sont délétères pour la reproduction. On peut ajouter que la description de l'exposition physique de cette étude est très sommaire : l'antenne n'est pas décrite, et les conditions de mesure de la densité de puissance ne sont pas décrites. Le DAS n'est pas justifié.

- *Seymen, C. M., et al. (2019) Melatonin Modulates NMDA-Receptor 2B/Calpain-1/ Caspase-12 Pathways in Rat Brain After Long Time Exposure to GSM Radiation*

Le but du travail de Seymen *et al.* (2019) est d'étudier les effets protecteurs potentiels de la mélatonine sur le rayonnement chronique émis par les téléphones portables de troisième génération sur le cerveau de rats. Les informations fournies sur le système d'exposition sont minimalistes et limitent fortement le crédit qui peut être accordé aux résultats de cette étude. Une valeur de DAS est déduite de cette valeur de champ électrique, ce qui n'est pas correct. De plus, il s'agit d'un article très descriptif sur les altérations morphologiques et structurales dans le cerveau de rats exposés +/- mélatonine. Le seul point qui pourrait rattacher à notre problématique « risque cancer » est l'analyse de l'expression de la caspase 2 qui est une caspase impliquée dans la réponse inflammatoire.

- *Shah, C et al. (2015) Cell phone radiation and genomic damage: In vitro exposure and assessment.*

L'étude de Shah *et al.*, 2015 a utilisé des lymphocytes de donneurs humains mis en culture puis soumis à un rayonnement radiofréquences de 916 MHz. Les lymphocytes ont été traités à la colchicine et du KCl hypertonique pour mettre les chromosomes en métaphase et la fréquence des cassures chromosomiques a été analysée. L'exposition physique de cette étude est incorrecte : seule la puissance de la source est indiquée, il n'est pas possible d'en déduire l'exposition incidente ou à l'intérieur des contenants. Les conditions d'exposition ne sont pas reproductibles. Il n'y a aucune information sur les donneurs de sang. Il n'y a pas d'indication sur les tests statistiques ni de valeur de p ni d'indication sur la façon de mesurer les cassures chromosomiques. La différence entre les témoins cage et les témoins exposition n'est pas expliquée. On ne sait pas sur combien de donneurs différents a été faite l'exposition et les replicats intra-expériences ne sont pas indiqués, s'il y en a eu.

- *Shahbazi-Gahrouei, D., et al. (2018) "Exposure to global system for mobile communication 900 mhz cellular phone radiofrequency alters growth, proliferation and morphology of michigan cancer foundation-7 cells and mesenchymal stem cells"*

Shahbazi-Gahrouei, D., *et al.* (2018) ont étudié les effets d'ondes radiofréquence des téléphones portables de 900 MHz sur la croissance, la morphologie et le taux de prolifération des cellules souches adipocytaires humaines. La description du système d'exposition est source de confusion. Il est fait mention de cellule GSM et d'antenne cornet ainsi qu'à une antenne de téléphone mobile. Si on se réfère à l'article cité en référence, la description du système d'exposition est également source de confusion avec une photo qui ne correspond pas à la légende, en particulier il n'y a ni antenne cornet, ni cellule GSM.

- *Sharaf, N. E., et al. (2018) "Bio-geometrical shapes: A new option for protection against neurodegenerative insult of Wi-Fi radiation"*

Le travail de Sharaf *et al.*, 2018 visait à évaluer l'impact de signaux Wi-Fi de 2450 MHz sur le cerveau du rat et à explorer la fonction protectrice d'un ensemble de formes bio-géométriques placées à proximité de l'antenne wifi, contre les effets neurodégénératifs des radiofréquences. L'exposition au rayonnement Wi-Fi induit un état de stress oxydatif par un déséquilibre des paramètres pro-oxydant / antioxydant et l'histopathologie confirme le lien entre l'exposition au Wi-Fi et les données neurodégénératives. Les formes bio-géométriques pourraient modifier les effets de l'énergie induite par le wifi en renforçant le système de défense antioxydant.

L'absence de la moindre mesure ne permet pas d'estimer les niveaux d'exposition en termes de densité de puissance et de DAS. L'absence de contrôle des niveaux d'exposition ne permet pas une bonne interprétation des résultats. Il n'y a pas de groupe de rats soumis aux formes bio-géométriques seules.

- *Sharma, A et al. (2017) Ten gigahertz microwave radiation impairs spatial memory, enzymes activity, and histopathology of developing mice brain*

Sharma *et al.*, 2017 étudient la sensibilité à une exposition 10 GHz du cerveau de souris Swiss âgées de 2 semaines. Une valeur de DAS corps entier de 0,18 W/kg est calculé avec une formulation empirique sans expliciter les limites de ce calcul par rapport au modèle et à la configuration de cette étude. Le manque d'information sur les signaux et l'incertitude sur les niveaux d'exposition limite la portée des résultats de cette étude.

- *Sharma, A et al. (2020) Exposure of Radiofrequency Electromagnetic Radiation on Biochemical and Pathological Alterations*

L'étude de Sharma *et al.*, 2020 a étudié l'effet d'une exposition à un rayonnement de 1800 MHz, 4 h/j, 5 j/semaine, pendant 90 jours et un niveau d'exposition est de 11,638  $\mu\text{W}/\text{m}^2$  sur le stress oxydatif, l'inflammation, la génotoxicité et l'histopathologie cérébrale chez des rats mâles adultes Wistar. La dosimétrie indiquée et précisée par des publications de référence (dont Sharma 2020) montre que les conditions sont celles du champ proche, difficilement reproductible et très variables suivant la distance antenne-animal. En outre, le DAS est calculé de façon incorrecte à partir du champ à vide à l'endroit de l'animal. Les lacunes de la dosimétrie ne permettent pas de reproduire cette étude en toute confiance.

- *Sharma, A et al. (2021) Oxidative damage in the liver and brain of the rats exposed to frequency-dependent radiofrequency electromagnetic exposure: biochemical and histopathological evidence*

L'étude de Sharma *et al.*, 2021 vise à découvrir un lien entre l'état fonctionnel du foie et du cerveau dû aux radiofréquences de différentes fréquences ((900, 1800 et 2100 MHz) chez des rats mâles adultes Wistar. Le DAS est calculé de façon incorrecte à partir du champ à vide. Le lien entre le champ incident et la densité de puissance ne vérifie pas les conditions de champ lointain ou est erroné. Quoiqu'il en soit, à ce titre, les conditions d'exposition de cette étude ne sont pas reproductibles.

- *Sharma, A, et al. (2019) Mobile phone induced cognitive and neurochemical consequences.*

Cette étude de Sharma, A, *et al.* (2019) a été réalisée pour déterminer l'effet de la fréquence des téléphones portables sur la cognition et des marqueurs neurochimiques chez des rats Wistar mâles. Deux antennes sont utilisées, l'une en émission (0 dBm) à la fréquence de 2100 MHz, l'autre en réception reliée à un analyseur de spectre. L'exposition s'apparente à une configuration champ lointain à une fréquence d'un signal de téléphone portable. Le système d'exposition présente des limites majeures dans la mesure où il s'agit d'une antenne

qui rayonne dans un environnement non contrôlé. De plus le calcul de DAS n'est pas correct. Ces deux points limitent fortement le crédit accordé aux résultats de cette étude.

- *Shehu, A., et al. (2016) "Exposure to mobile phone electromagnetic field radiation, ringtone and vibration affects anxiety-like behaviour and oxidative stress biomarkers in albino wistar rats"*

L'étude de Shehu *et al.*, 2016 a consisté à exposer des rats mâles Wistar adultes à des radiofréquences issus de téléphones portables en différents modes d'utilisation. L'anxiété ainsi que différents paramètres du stress oxydant ont été évalués. L'absence de caractérisation électromagnétique de l'exposition ne permet pas l'interprétation des résultats, vis-à-vis des niveaux d'exposition ainsi que des éventuels effets thermiques.

- *Shekoohi-Shooli, F, et al. (2016) "Evaluation of the Protective Role of Vitamin C on the Metabolic and Enzymatic Activities of the Liver in the Male Rats After Exposure to 2.45 GHz Of Wi-Fi Routers."*

L'étude de Shekoohi-Shooli, *et al.* (2016) a consisté à évaluer le rôle protecteur de la vitamine C sur les activités métaboliques et enzymatiques du foie de rats mâles Wistar après exposition aux radiofréquences de type Wi-Fi. Le système d'exposition est un routeur WIFI à 2,45 GHz, placé à 20 cm de rats. L'étude ne peut être prise en compte étant donné le manque d'information concernant le banc de test et le manque de contrôle de la puissance délivrée par le routeur.

- *Shojaefard, M. B., et al. (2018) "Electromagnetic Fields of Mobile Phone Jammer Exposure on Blood Factors in Rats"*

Shojaefard, *et al.* (2018) ont cherché les effets d'une exposition aux radiofréquences des brouilleurs de téléphones portables sur les facteurs sanguins chez des rats mâles Wistar. Un brouilleur de téléphone portable est utilisé pour irradier des rats placés à 50 cm de l'antenne du brouilleur, qui fonctionne à une fréquence GSM (900 ou 1800 MHz). Du point de vue dosimétrie, exceptée la durée, il n'y a pas d'information dans cet article.

- *Souza Lda, C., et al. (2014) Assessment of nuclear abnormalities in exfoliated cells from the oral epithelium of mobile phone users*

L'objectif de l'étude de Souza Lda *et al.* (2014) était d'évaluer le potentiel génotoxique et cytotoxique d'expositions à la téléphonie mobile, au moyen du test du micronoyau sur des cellules exfoliées de l'épithélium oral prélevées chez des individus sains. L'échantillon comprenait 45 personnes réparties en 3 groupes en fonction du temps en heures par semaine (t) passé à utiliser des téléphones mobiles. Bien que l'étude soit intéressante, elle ne peut être conservée car les auteurs ont omis un groupe dans leur étude, le groupe Contrôle. Ceci ne permet alors aucune comparaison. De plus les facteurs de confusions ne sont pas considérés.

- *Stefi, A. L., et al. (2019) "Mobile phone electromagnetic radiation affects Amyloid Precursor Protein and  $\alpha$ -synuclein metabolism in SH-SY5Y cells"*

Stefi *et al.* (2019) s'intéressent au lien entre Alzheimer et radiofréquences à travers l'impact d'une exposition sur la protéine précurseur amyloïde (APP) et l'alpha-nucléine ( $\alpha$ -syn) dans les cellules de neuroblastome humain. Les valeurs de DAS sont déduites d'un article sur la dosimétrie dans laquelle ni la fréquence, ni la configuration sont semblables à celles décrites dans ces travaux. Sans dosimétrie expérimentale, il est impossible d'accorder du crédit à ces valeurs. De même, au vu de la taille des sondes de champs électriques, de plusieurs centimètres de diamètre, la précision de la mesure devrait être discutée. Même si, à première vue, le dispositif s'apparente à une exposition réelle avec l'utilisation d'un téléphone portable, ce système apparaît peu pertinent pour des études in vitro, en particulier par en manque de

contrôle et de caractérisation de la dosimétrie. Les mesures de températures à l'aide d'un thermocouple ne sont pas pertinentes dans ces conditions, sachant que l'on peut supposer une élévation de température directement lié à l'échauffement du portable en mode fonctionnement continu.

- *Sun, C., et al. (2016) Mobile phone signal exposure triggers a hormesis-like effect in Atm +/- and Atm-/-mouse embryonic fibroblasts*

Sun *et al.* (2016) étudient la génotoxicité induite par des expositions aux radiofréquences dans des fibroblastes embryonnaires murins et mutés ou non pour la protéine de réparation des cassures double-brin Atm. Les auteurs mettent en avant un possible effet d'hormèse sur la base de la réponse temporelle dans les cellules. Cette étude souffre cependant de limites importantes puisque la forte augmentation des dommages dans les témoin-exposition en fonction du temps masque peut-être des effets faibles des radiofréquences.

Les limites de ce travail sont qu'il y a des questionnements sur l'état physiologique des cellules aux temps les plus longs (cycle, viabilité dans l'expérience 4NQO) qui mettent des doutes sur les observations sur la génotoxicité à 36h. De plus, l'absence de prise en compte des effets thermiques pour des expositions longues à 4W/kg est gênante.

- *Taghavi-Zonuz, A., et al. (2017) Effect of mobile phone waves and Wi-Fi on electrolytes and oxidative stress indices of saliva*

L'étude de Taghavi-Zonuz *et al.*, 2017 a recherché les effets des ondes de téléphonie mobile et du Wi-Fi sur les électrolytes et les indices de stress oxydatif (MDA, NO et TAO (total antioxydant) de la salive d'un groupe de 20 utilisateurs de Wi-Fi et de téléphones portables et un groupe témoin-exposition de 20 personnes sourdes. On ne connaît pas la population ciblée : homme/femme – âge max. Il n'y a aucun contrôle de l'exposition. Les erreurs (SD ou SEM) ne sont pas précisées. La taille de l'échantillon est petite (n=20 cas, n=20 témoins). On note également l'absence d'information sur les aspects susceptibles d'influencer les électrolytes salivaires, et une contradiction entre l'abstract et la dernière phrase d'une part et le tableau de résultats d'autre part, concernant la variation du taux de NO.

- *Taheri, M., et al. (2017) "The effect of Base Transceiver Station waves on some immunological and hematological factors in exposed persons"*

Taheri *et al.* (2017) ont évalué l'effet des radiofréquences sur des paramètres immunologiques et hématologiques chez des individus humains exposés (exposition réelle à des stations de base ; fréquences comprises entre 100 kHz et 5 GHz). Le groupe exposé était constitué de personnes en bonne santé résidant à proximité de l'antenne de la station de base et recevant le maximum de rayonnements ; le groupe témoins exposition était constitué de personnes en bonne santé, appariés sur l'âge et le sexe, résidant à une certaine distance de l'antenne de la station de base et recevant le minimum de rayonnements. Du sang veineux a été prélevé pour évaluer la formule sanguine complète et le niveau de cytokines (dont IL-4, IL-10 et interféron).

Les auteurs considèrent que cette étude pourrait être a *proof of concept*. Les effectifs par groupe sont faibles (45 personnes par groupe). Aucune information n'est fournie quant au recrutement des participants. Les analyses ne tiennent compte ni de l'âge et du sexe des individus, ni de tout autre facteur de confusion envisageable (corpulence, tabac, alcool, etc.) au vu des variables biologiques étudiées. Des mesures individuelles de l'exposition, avec dosimétrie, sont réalisées, mais les conditions de mesure ne sont pas précisées.



- *Tanabe, K et al. (2021) Changes in the gene expression in mouse astrocytes induced by pulsed radiofrequency: A preliminary study*

L'étude de Tanabe *et al.*, 2021, a cherché à évaluer les effets de radiofréquences pulsées, appliquée à des nerfs pour le traitement de la douleur en regardant les effets génomiques sur une lignée d'astrocytes C8D1A de souris. Les radiofréquences ont été appliqués en impulsions de 20 ms de 480 kHz toutes les 500 ms, délivrées à la fréquence de 2 Hz, pendant 30 min. La principale limite de cette étude est la température du milieu de culture après exposition (42°C). Les auteurs ne parlent pas d'égaliser la température dans les cellules non exposées. Aucun test statistique n'est mentionné et pourtant des p sont indiqués. Il n'y a aucune justification du choix des gènes mesurés par PCR et donc difficulté d'établir un lien avec le cancer.

- *Tawfik, M. S., et al. (2018) "Protective role of ferulic acid against the damaging effect induced by electromagnetic waves on rat liver and intestine tissues"*

L'étude de Tawfik *et al.* (2018) a été conçue pour étudier les effets de l'exposition aux radiofréquences de 1800 MHz sur le foie et l'intestin de rats mâles Wistar, et le rôle protecteur de l'acide férulique contre ces effets nocifs. L'étude ne peut être prise en compte étant donné le manque d'information concernant le banc de test et le manque de contrôle de la puissance délivrée par le système d'exposition, d'autant plus que les animaux sont placés dans des cages métalliques qui peuvent faire écran.

- *Thamilselvan, S., et al. (2021) "Micronuclei analysis in people residing within 25 m of radiation-exposed areas around mobile towers in Chennai, India: An observational study"*

Sur un échantillon de 108 sujets résidant à moins de 25 m d'une antenne relais de téléphonie mobile à Chennai (Inde), la présence de micronoyaux sur les images de cellules de la muqueuse buccale a été évaluée. En l'absence de population témoin, aucune interprétation des résultats n'est possible. Par ailleurs, leur analyse statistique se révèle de mauvaise qualité.

- *Tohidi, F. Z., et al. (2015) The gene expression level of p53 and p21 in mouse brain exposed to radiofrequency field*

Cette étude de Tohidi, F. Z., *et al.* (2015) visait à investiguer les effets des radiofréquences appliquées par brouilleur mobile sur l'expression hippocampique des gènes p21 et p53, 2 gènes régulateurs de l'apoptose cellulaire. Quarante-huit souris BALB/c sont disposées dans des cages en plastique à 2 mètres d'un brouilleur de téléphonie mobile sur la bande 1880-1900 MHz.

L'exposition physique ne présente aucune dosimétrie. L'expérience n'est pas reproductible. En biologie, il y a une seule figure mais sans donnée statistique et un tableau dont l'interprétation ne colle pas avec le contenu. Il y a très peu de résultats et de paramètres évalués (2 gènes – pas de protéines). Il y a des discordances entre les résultats sur la figure 1 et le texte. Les écarts-types sont importants (tableau 3). Un problème majeur est que les auteurs concluent qu'il y a des effets de la téléphonie mobile sur l'expression de gènes alors que ces effets ne sont pas significatifs.

- *Tohidi, FZ et al. (2021) Long-term exposure to electromagnetic radiation from mobile phones can cause considerable changes in the balance of Bax/Bcl2 mRNA expression in the hippocampus of mice*

L'objectif de l'étude de Tohidi *et al.* (2021) était d'examiner les effets des téléphones mobiles à différentes durées d'exposition quotidienne sur l'expression hippocampique de deux gènes

apoptotiques chez des souris mâles adultes BALB/c. Des limites majeures sont observées sur l'exposition. Les rats sont disposés dans des cages en plastique à 2 mètres d'un brouilleur de téléphonie mobile sur la bande 9000-1900 MHz. L'exposition physique ne présente aucune dosimétrie en champ, en densité de puissance ou en DAS déposés sur les animaux. L'expérience n'est pas reproductible. De même, le gène de contrôle n'est pas bon (GAPDH). Les écart-types observés sont énormes donc pas de différence et donc pas de possibilité de faire des calculs de ratio. On ne voit pas non plus l'impact que cela a au niveau des protéines mais surtout au niveau des processus d'apoptose. Les conclusions sont donc fausses.

- *Tök, L., et al. (2014) "Effects of melatonin on Wi-Fi-induced oxidative stress in lens of rats"*

Tök, L., et al. (2014) ont déterminé les effets de l'exposition au Wi-Fi sur les systèmes oxydants et redox du cristallin, ainsi que les effets protecteurs possibles de la mélatonine sur les lésions du cristallin, induites par les radiofréquences chez des rats mâles Wistar. La description de l'exposition aux radiofréquences n'est pas assez détaillée pour permettre d'interpréter ou de reproduire l'expérience. Il manque trop d'information sur la dosimétrie et la mesure de champ E est faite dans des conditions non précisées. Enfin, la méthode de calcul du DAS n'est pas indiquée.

- *Tomruk, A., et al. (2019) "Assessment of the effects of radiofrequency radiation on human colon epithelium cells"*

Le but de l'étude de Tomruk et al., 2019, est d'analyser les effets de différentes fréquences pour différentes durées d'exposition sur l'apoptose dépendante des caspases dans des cellules d'adénocarcinome colique humain HT29, après une exposition à 1800 MHz (signal 2G), 2100 MHz (signal 3G) et 2600 MHz.

La dosimétrie est incomplète avec aucune information sur la valeur de DAS, ou du contrôle de la température. L'expression transcriptomique des caspases est exprimée en Ct et lorsque ce Ct augmente, les auteurs interprètent que l'expression augmente. C'est le contraire! Il y a donc une erreur d'interprétation des résultats par les auteurs. Les conditions témoin-incubateur et témoin- exposition ne sont pas définies.

- *Topal, Z, et al. (2015) "The effects of prenatal long-duration exposure to 900-MHz electromagnetic field on the 21-day-old newborn male rat liver."*

L'étude de Topal et al., 2015 a étudié les effets d'une exposition pré-natale à 900MHz sur de rats nouveau-nés. Cet article présente une incohérence sur ce qui est mesuré pour réaliser la dosimétrie. Le site web utilisé pour le calcul du DAS est non accessible.

- *Tsybulin, O, et al. (2016) "Monochromatic red light of LED protects embryonic cells from oxidative stress caused by radiofrequency radiation."*

Tsybulin et al. (2016) travaillent sur l'impact des radiofréquences dans des embryons de caille du Japon et l'effet bénéfique de la lumière rouge. Une mesure de la densité de puissance a été réalisée mais l'emplacement de la sonde par rapport aux échantillons biologiques irradiés n'est pas clair. Ainsi, l'uniformité du champ E réellement appliqué n'est pas vérifiée. De plus, l'équation de la densité de puissance utilisée pour calculer le DAS n'est pas correcte car elle correspond à une exposition en champ lointain alors que la configuration de l'expérimentation est en champ proche. La valeur de DAS calculée est donc erronée.

- *Tsybulin, O., et al. (2013) "GSM 900 MHz cellular phone radiation can either stimulate or depress early embryogenesis in Japanese quails depending on the duration of exposure"*

Tsybulin et al. (2013) étudient la question de l'effet d'expositions de faible intensité, en

particulier sur le développement et la génotoxicité dans des embryons de cailles japonaises. Les données biologiques obtenues ne peuvent pas être retenues du fait de limites majeures dans la caractérisation de l'exposition. Une mesure de la densité de puissance a été réalisée mais l'emplacement de la sonde par rapport aux échantillons biologiques irradiés n'est pas clair. Ainsi, l'uniformité du champ E réellement appliqué n'est pas vérifiée. De plus, l'équation de la densité de puissance utilisée pour calculer le DAS n'est pas correcte car elle correspond à une exposition en champ lointain alors que la configuration de l'expérimentation est en champ proche. La valeur de DAS calculée est donc erronée.

- *Tumkaya, L., et al. (2020) Prenatal Effects of a 1,800-MHz Electromagnetic Field on Rat Livers*

L'étude de Tumkaya *et al.*, 2020 a étudié les effets biochimiques et histologiques dans le foie de rats Sprague-Dawley postnataux (60 jours) d'une exposition des mères pendant la gestation à des radiofréquences de 1 800 MHz. Outre une quantité d'information très limitée sur l'exposition, il persiste une ambiguïté sur le système d'exposition et sur le niveau d'exposition. D'après la référence [Bedir *et al.*, 2018]), le DAS est calculé à partir d'un logiciel qui est introuvable malgré la référence indiquée, ce qui amène une incertitude sur la détermination du niveau d'exposition et limite la portée des résultats de cette étude. Le nombre de rats analysés n'est pas clair. Il n'y a pas de contrôle de la température des femelles gestantes pendant l'exposition.

- *Ulasov, I. V., et al. (2017) Precision knockdown of EGFR gene expression using radio frequency electromagnetic energy*

Cette étude de Ulasov, I. V., *et al.* (2017) décrit une technologie capable d'enregistrer le signal radiofréquences spécifique d'une molécule donnée, ici celui d'un ARN interférent (siARN) du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). La compréhension du système d'exposition est difficile à appréhender du fait d'une description très succincte. En plus de ces limites majeures en exposition, des problèmes existent dans la partie biologie. Il n'y a pas de contrôle réalisé avec le signal de fréquence engendré par un siRNA contrôle (NC-siRNA). Il n'est donc pas possible de faire de conclusion sur l'effet de l'exposition à des fréquences du siRNA ciblant EGFR.

- *Umur, A. S., et al. (2013) Evaluation of the effects of mobile phones on the neural tube development of chick embryos*

L'objectif de l'étude de Umur, A. S., *et al.* (2013) est d'examiner les effets des rayonnements des téléphones mobiles sur le développement du tissu neural des embryons de poulet. L'étude porte sur 4 groupes placés à proximité d'un téléphone mobile (<25cm ; DAS de 0,77W/kg). Le rayonnement électromagnétique émis par les téléphones portables provoque un retard de développement chez les embryons de poulet au début de la période d'exposition. Le système d'exposition est incomplet. Cette étude présente des limites méthodologiques majeures qui concernent notamment le système d'exposition non maîtrisé et la mesure des intensités d'immunomarquage. Ce papier n'est pas sérieux et pas convaincant. Les images immunohistologiques ne montrent rien. Le tableau 1 arrive après le tableau 2 dans le texte. Certains mots sur les figures sont en turc.

- *Usikalu, MR et al. (2013) "Short-duration exposure to 2.45 GHz microwave radiation induces DNA damage in Sprague Dawley rat's reproductive systems."*

L'étude de Usikalu *et al.*, 2013 a évalué les effets génotoxiques du rayonnement micro-ondes (MW) de 2,45 GHz sur les testicules et les ovaires de rats Sprague Dawley. La caractérisation de l'exposition est peu convaincante. Le DAS est mesuré sur la base d'une seule mesure de température locale. Le rapport à la masse n'est pas indiqué. Cette exposition n'est pas

reproductible. Une autre limite expérimentale est l'absence de témoin contrôle cage. Par ailleurs, de nombreuses imprécisions et omissions sont à signaler ; erreur dans les numéros des figures ; aucun test statistique décrit ; pas de résultat sur le test de comète dans le sang après exposition. Il n'y a aucune quantification et aucune étude statistique pour valider les modifications du nombre de cellules germinales dans les testicules après exposition. Il est question d'hyper-chromatisme. Comment cela est-il évalué sur une coupe histologique ? De plus, il est impossible de voir le noyau des cellules sur les images de coupes histologiques. Aucune donnée n'est rapportée sur les effets induits par une exposition aux DAS supérieurs à 2,39W/kg.

- *Usselman, R. J., et al. (2014) "Spin biochemistry modulates reactive oxygen species (ROS) production by radio frequency magnetic fields"*

Usselman *et al.* (2014) réalise une étude pour évaluer in vitro, l'influence des radiofréquences dans les mécanismes de production de ROS dans des cellules musculaires lisses artérielles pulmonaires de rat. Une description de l'approche statistique est faite mais aucune analyse n'est montrée dans la partie résultats. En utilisant la RPE, les auteurs ne voient pas monter le taux de superoxyde avec le paraquat par rapport aux contrôles, alors que le paraquat est un contrôle positif et utilisé pour cela. Par ailleurs, certains des résultats montrés dans les figures sont "représentatifs" des répliquats et pas leur moyenne. Un dernier point est que l'anion superoxyde est mesuré dans le milieu

- *Üstündağ Ü, V., et al. (2020) Oxidative stress and apoptosis in electromagnetic waves exposed Zebrafish embryos and protective effects of conductive nonwoven fabric*

Üstündağ *et al.* (2020) étudient l'effet d'ondes électromagnétiques sur le stress oxydant et l'apoptose dans des poissons. En l'absence d'indication de niveau et de fréquence, l'exposition physique de cette étude n'est pas reproductible ; elle présente des limitations majeures.

- *Vafaei, H et al. (2020) "Wi-Fi (2.4 GHz) affects anti-oxidant capacity, DNA repair genes expression and, apoptosis in pregnant mouse placenta."*

Vafaei, H *et al.* (2020) ont mené cette étude pour évaluer l'effet protecteur de la crocine (caroténoïde isolé du safran), sur le système reproducteur mâle de souris mâles Balb/c après exposition à 100 MHz. L'exposition correspond à un rayonnement de type WI-FI de niveau modéré, en dessous de la limite grand public de 2 W/kg. Le contenant des souris n'est pas indiqué et la dosimétrie est inexistante.

- *Vanishree, M., et al. (2018) Significance of micronuclei in buccal smears of mobile phone users: A comparative study*

L'étude de Vanishree *et al.*, 2018, a été conçue pour évaluer la fréquence des micronoyaux dans les cellules exfoliées buccales des utilisateurs de téléphones mobiles. L'article ne rapporte aucun contrôle des paramètres d'exposition-. Les groupes sont hétérogènes en nombre de participants et il n'est pas précisé comment sont répartis les hommes et les femmes dans les différents groupes.

- *Verma, S, et al. (2018) "X-Band Microwave Radiation Induced Biological Effects in Rats Skin: Plausible Role of Heat Shock Proteins."*

Verma *et al.* (2018) ont analysé les effets, sur la peau de rats, d'une exposition corps entier à des champs électromagnétiques de 10 GHz, 3 heures par jour pendant 5 jours ; les paramètres étudiés concernent l'expression des protéines de choc thermique, de l'inflammation et de la douleur.



Le système d'exposition est décrit de manière très succincte. La puissance du générateur n'est pas fournie, tout comme la distance entre l'antenne et les boîtes dans lesquelles les rats sont placés ; une valeur de DSP est avancée à partir de calculs non vérifiables et le calcul du DAS corps entier (0,5 W/kg) est empirique (formule de Durney, 1984). Les conditions expérimentales ne sont pas contrôlées ; une mesure de la température des rats est faite, mais il n'y a pas d'indications quant aux temps auxquels les analyses sont faites après l'exposition ou à la fréquence de la mesure. Les effectifs des deux groupes de rats (exposés et non exposés) sont petits : 4 rats par groupe. Aucune information n'est donnée sur le choix des anticorps étudiés, ni sur la quantification des profils électrophorétiques. Les images de caméra thermique ne sont pas quantifiées. Sur les 4 rats de chaque groupe, seuls deux sont présentés dans les résultats. La hausse significative de l'expression de HIF-1 $\alpha$  et des protéines de choc thermique en réponse à une irradiation MW 10 GHz indique que les rats exposés ont eu un stress thermique (ou autre stress, mais non discuté) suite à l'exposition aux radiofréquences. Cependant, ni le suivi de la température par caméra infra-rouge, ni les marqueurs de l'inflammation (NF $\kappa$ B et récepteur de la substance P) ne témoignent de ce stress thermique. Ces points ne sont absolument pas discutés alors qu'ils sont essentiels pour l'interprétation des résultats.

- *Vojisavljevic, V, et al. (2016) Low power microwave exposures at 968MHz increase the growth rate of Breanomyces bruxellensis yeast cells.*

Vojisavljevic *et al.* (2016) s'intéressent à l'effet de radiofréquences sur la croissance de levures. Des cellules sont exposées dans une cellule TEM à 968 MHz de 20 min à 7h à 2 niveaux d'expositions différents. Cette étude n'est pas reproductible : elle présente des limitations majeures car il est indiqué que l'exposition physique est menée à 2 niveaux très différents (puissance injectée de 0 et 17 dBm) alors que le DAS n'est indiqué que pour une seule valeur (0,12 W/kg).

- *Valbonesi, P., et al. (2016) Activity and expression of acetylcholinesterase in PC12 cells exposed to intermittent 1.8 GHz 217-GSM mobile phone signal*

Valbonesi, P., *et al.* (2016) ont étudié les altérations possibles de l'activité enzymatique et de l'expression des gènes et des protéines de l'acetylcholinesterase dans des cellules de type neuronal exposées à un signal GSM modulé. Si des effets sur le niveau de mRNA de AChE sont mis en évidence, aucune étude n'est réalisée pour définir quels en sont les conséquences le phénotype, la viabilité ou la fonctionnalité de cellules. Le travail ne peut donc pas être conservé pour la détermination des niveaux de preuve.

- *Volkova, N. A., et al. (2014) "Effects of Millimeter-Wave Electromagnetic Exposure on the Morphology and Function of Human Cryopreserved Spermatozoa"*

Volkova *et al.*, 2021 ont étudié les effets d'un rayonnement radiofréquence à 42,2 kHz de 5 à 15 min sur la morphologie (décondensation chromatidienne), la survie, l'apoptose et la mobilité des spermatozoïdes humains après cryoconservation pendant 2 mois. Le sperme de patients avec une motilité normale (normozoospermie MN) et une motilité réduite (asthénozoospermie, MR) a été sélectionné. L'exposition des cellules n'est pas correctement décrite ; toutes les dimensions du contenant et l'orientation du champ ne sont pas indiquées. A ce titre, cette exposition n'est pas reproductible. L'étude est donc considérée comme présentant des limites méthodologiques majeures. Un grand nombre d'imprécisions sont à noter dans les résultats. Les auteurs écrivent que les radiofréquences augmentent la mobilité des spermatozoïdes après 5min d'exposition, mais cet effet n'est pas significatif. Il est question de spermatozoïdes avec une membrane altérée dont le nombre augmenterait de 8% avec l'exposition aux radiofréquences pendant 15min. Mais il n'y a pas de figure et on ne sait pas si ce résultat est

significatif ni comment a été évaluée cette altération. Les auteurs écrivent que les radiofréquences ne génèrent pas d'apoptose, mais l'apoptose tardive augmente de façon significative.

- *Xing, F, et al. (2016) 1800 MHz microwave induces p53 and p53-mediated caspase-3 activation leading to cell apoptosis in vitro.*

L'étude de Xing *et al.*, 2016 visait à comprendre comment une exposition de 1800 MHz peut induire de l'apoptose. Dans ce but, des cellules NIH / 3T3 de souris et des cellules humaines U-87MG ont été exposées et la viabilité, la production de ROS, des dommages à l'ADN, l'expression de p53 et l'activité de la caspase-3 ont été évalués. Le système d'exposition présente des limitations dans son utilisation qui ne semble pas avoir été prises en compte par les auteurs. L'utilisation d'une antenne type de station de base placée dans une enceinte métallique (incubateur) pose un problème sur la détermination des niveaux d'exposition. D'une part, les boîtes de Petri sont placées en champ proche dans une zone à priori non homogène, et d'autre part l'antenne va exciter les modes de résonance de l'enceinte métallique, modifiant la distribution spatiale des champs électromagnétiques et l'adaptation de l'antenne. La valeur de la densité de puissance indiquée n'est pas suffisamment justifiée pour être représentative du niveau d'exposition réel. Il manque une étude statistique (ou les symboles) sur une figure (N°4). Sur d'autres figures, on ne connaît pas le niveau de significativité entre les cellules exposées et non exposées.

- *Yakymenko, I., et al. (2018) Oxidative and mutagenic effects of low intensity GSM 1800 MHz microwave radiation*

Dans cette étude de Yakymenko *et al.* (2018), des œufs de caille sont exposés à proximité d'un GSM Huawei à 1800 MHz, à une densité de puissance indiquée à 0,32  $\mu\text{W}/\text{cm}^2$  pendant 14 jours. La dosimétrie de cette étude n'est pas de qualité suffisante pour assurer sa reproductibilité. Les conditions de champ proche ou de champ lointain ne sont pas indiquées, le DAS n'est pas justifié, l'homogénéité de l'exposition ne sont pas indiquées, ce qui implique des limites méthodologiques majeures.

- *Yilmaz, A, et al. (2017) Lasting hepatotoxic effects of prenatal mobile phone exposure.*

L'étude de Yilmaz *et al.*, 2017 exposent des rattes Sprague-Dawley gestantes placées dans une cage où un générateur de laboratoire émet un rayonnement type dispositif de téléphonie mobile à 900 MHz, 24 heures par jour pendant 20 jours. Les effets de l'exposition pré-natale ont été recherchés dans le foie de la descendance 60 jours après la mise bas. L'environnement électromagnétique (type d'antenne, orientation de l'exposition...) n'est pas décrit et les publications en référence n'apportent pas d'informations complémentaires. La dosimétrie est indiquée avec une DAS obtenu par simulation numérique sans justification. Cette étude n'est pas reproductible avec un niveau de précision satisfaisant.

- *Yilmaz, A., et al. (2014) The effects of mobile phones on apoptosis in cerebral tissue: An experimental study on rats*

L'étude de Yilmaz *et al.*, 2014 avait pour objectif de mesurer les niveaux d'expression de Bcl-2 et de la protéines p53 dans le cerveau de rats après exposition aux radiofréquences à une fréquence entre 1900 et 2100 MHz. Le dispositif est basé sur l'utilisation d'un téléphone portable directement posé sur la tête de l'animal, ce dernier étant maintenant dans une position fixe. Le protocole d'exposition est de 5 minutes, 7 fois par jour, pour un total de 920 minutes sur 4 semaines. Des mesures de champ émis par la source sont effectuées, qui montrent une certaine variabilité. En l'absence d'un contrôle sur les différentes expérimentations, il est possible que le niveau varie significativement en fonction de la liaison entre le téléphone

portable et la station de base, cette dernière pouvant changée en fonction de la charge réseau. Le système d'exposition présente des limites dans sa conception avec une puissance délivrée par la source qui peut varier d'une expérimentation à l'autre, et avec un calcul de DAS qui n'est pas correct. Le peu d'images d'IHC et le faible grossissement ne permettent pas de visualiser les cellules positives.

- *Yinhui, P., et al. (2019) Effect of cell phone radiation on neutrophil of mice*

L'étude de Yinhui *et al.* (2019) a consisté à évaluer l'effet du rayonnement des téléphones portables sur les neutrophiles de souris. L'absence de contrôle de la puissance rayonnée par les sources radiofréquences est critique dans un tel dispositif. De même, la position des téléphones placés sous les cages d'exposition impose un contrôle de la température au cours des expositions. Les densités de puissance indiquées restent sujettes à interrogations et il manque des informations pour leur accorder du crédit, en particulier sur la configuration du téléphone et sur la liaison téléphone station de base. Des questions se posent aussi en biologie. Les auteurs décrivent une augmentation du nombre de neutrophiles en même temps qu'une augmentation de leur apoptose après 6 semaines d'exposition à CDMA et LTE. Comment est-ce possible.

- *Zahedifar, Z, et al. (2013) "Effect of Green Tea Extract in Reducing Genotoxic Injuries of Cell Phone Microwaves on Bone Marrow."*

Zahedifar, *et al.* (2013) ont étudié le rôle de l'extrait de thé vert pour limiter les dommages génotoxiques induits par les micro-ondes des téléphones portables, sur les érythrocytes polychromatiques de la moelle osseuse de souris Balb/C mâles adultes. Un à plusieurs téléphones portables sont utilisés comme système d'exposition aux ondes radiofréquences sur des souris. Du point de vue dosimétrie, exceptée la durée, il n'y a pas d'information dans cet article.

- *Zakharchenko, M. V., et al. (2016) "The effect of cell-phone radiation on rabbits: Lymphocyte enzyme-activity data"*

Zakharchenko, *et al.* (2016) ont utilisé une méthode sensible pour évaluer la régulation physiologique de l'activité enzymatique des lymphocytes dans des frottis sanguins de lapins chinchillas mâles, après exposition au téléphone portable (GSM 900/1800MHz). Un téléphone portable est utilisé comme système d'exposition aux ondes radiofréquences sur des lapins et fixé sur leur dos. Du point de vue dosimétrie, la valeur de la densité de puissance n'est pas suffisante. De plus sa méthode de mesure n'est pas donnée. Le niveau d'exposition réellement appliqué sur les animaux n'est pas accessible.

- *Zhao, L, et al. (2014a) "Upregulation of HIF-1alpha via activation of ERK and PI3K pathway mediated protective response to microwave-induced mitochondrial injury in neuron-like cells."*

Dans un travail sur des cellules « neuron-like » issues de la lignées PC12 de rats, Zhao *et al.* 2014, étudient l'impact d'une exposition aux radiofréquences (2,856 GHz pulsées) sur les mitochondries. Le système d'exposition est composé d'un guide d'onde rectangulaire, alimenté par un générateur radiofréquences, un générateur de signaux arbitraire BF et d'un amplificateur. Une information est fournie sur la densité de puissance de 30 mW/cm<sup>2</sup>, correspondant à un niveau d'exposition élevé (limite de 1 mW/cm<sup>2</sup> en champ lointain). Les expositions sont en mode pulsé et durent 5 minutes. Trop peu d'informations sont présentes dans cet article qui fait référence à deux autres articles. D'après ces derniers, on peut supposer qu'un signal microonde en mode pulsé est généré et amplifié via un klystron à la fréquence de 2,856 GHz. Il s'agit de signaux de type RADAR. L'absence d'une dosimétrie précise sur les animaux exposés rend difficilement exploitable les résultats d'une telle étude.

- *Zhao, L, et al. (2014b) MicroRNAs: novel mechanism involved in the pathogenesis of microwave exposure on rats' hippocampus.*

Les auteurs définissent les profils d'expression des miRNA de l'hippocampe de rats exposés aux micro-ondes (2,856 GHz) par analyse de microréseaux et vérifiés par réaction en chaîne par polymérase en temps réel (PCR). La transcription des gènes, la neuroprotection et les gènes cibles liés à la fonction des récepteurs ont été prédits par miRDB, miRbase et miRanda. Malgré une exposition assez bien maîtrisée et une bonne qualité de la description de l'expression de miRNA, cette étude n'est pas retenue pour l'évaluation du niveau de preuve. En effet, elle n'apporte aucune confirmation phénotypique des modulations des mécanismes cellulaires suggérés par l'étude omique.

- *Zhao, R et al. (2020) Apoptosis-Promoting Effects on A375 Human Melanoma Cells Induced by Exposure to 35.2-GHz Millimeter Wave*

L'exposition aux ondes millimétriques a des effets potentiels sur l'apoptose sur plusieurs types de tumeurs. L'étude de Zhao *et al.* (2020) a donc étudié *in vitro*, les effets d'une exposition aux ondes millimétriques favorisant l'apoptose sur des cellules tumorales de mélanome humain A375. Le système d'exposition correspond à un générateur de signal sinusoïdal et d'une antenne, utilisée à 35,2 GHz, fréquence millimétrique, avec une largeur de bande de 220 MHz, qui illumine une boîte de Petri. L'antenne et la boîte de Petri sont placées dans un incubateur à 37°C avec humidité. La dosimétrie est incorrecte. Le calcul par FDTD est fait avec une seule boîte de Petri alors que plusieurs sont présentes lors des expérimentations. L'équation de calcul du SAR n'est pas correcte.

- *Zhao, YL, et al. (2015) The Screening of Genes Sensitive to Long-Term, Low-Level Microwave Exposure and Bioinformatic Analysis of Potential Correlations to Learning and Memory.*

Cette étude s'intéresse aux mécanismes contribuant au dysfonctionnement de l'apprentissage et de la mémoire induit par les micro-ondes. Des souris ont été exposées sur tout le corps à 2100 MHz. L'expression de gènes est ensuite analysée à l'aide de puces à oligonucléotides à haute densité, les gènes présentant des différences plus importantes étant confirmés par RT-PCR. Si quelques processus cellulaires sont identifiés comme impactés, aucune confirmation phénotypique biologique ou biochimique n'est apportée. Ce travail ne peut donc pas être utilisé pour l'établissement du niveau de preuve de la cancérogénicité des radiofréquences.

- *Zhijian, C., et al. (2013) "Studying the protein expression in human B lymphoblastoid cells exposed to 1.8-GHz (GSM) radiofrequency radiation (RFR) with protein microarray"*

Zhijian *et al.* (2013) ont étudié l'impact d'une exposition GSM sur l'expression protéique dans des lymphoblastes humains. Les cellules sont exposées à des signaux comparables à ceux utilisés par la téléphonie mobile de type GSM à la fréquence de 1800 MHz, de façon intermittente (5 mn On/10 mn Off) pendant une durée de 24 heures. La valeur du DAS moyen résultant est de 2 W/kg. L'expression de 700 protéines (marqueurs de cancer, de régulation du cycle cellulaire, de réponse au stress, réparation des dommages à l'ADN, apoptose, métastases, suppresseurs de tumeurs et oncogènes, différenciation cellulaire) a été analysée par un *protein Array*.

Bien que le système d'exposition soit de bonne qualité et permette une bonne maîtrise et contrôle des conditions expérimentales, la partie biologique de l'étude présente des limites méthodologiques majeures. L'équipe étudie, par un *microarray* utilisant une batterie d'anticorps, l'expression de protéines associées à la carcinogénèse. Ils rapportent que 20 protéines sont surexprimées en réponse aux radiofréquences et 7 sous-exprimées. Ils tentent de confirmer en « western blot », de qualité moyenne, ces résultats pour 3 des protéines les



plus modulées. La comparaison entre les deux méthodes montre des divergences pour HIF-1 $\alpha$  qui n'est pas vue comme surexprimée par le second essai. De plus, aucune analyse statistique n'est présentée. Il n'est pas mentionné si des répliquas ont été faits pour le microarray. Enfin, ces données sur l'expression des protéines ne sont pas enrichies de la mesure d'autres observables montrant un effet biologique.

- *Zhong, Z., et al. (2020) Proteomic Analysis of Irradiation with Millimeter Waves on Soybean Growth under Flooding Conditions*

Zhong, Z., et al. (2020) étudient la croissance du soja soumis à des ondes millimétriques. Des pousses de soja sont exposées face à une antenne cornet à une fréquence comprise entre 79 et 115 GHz, à une densité de puissance de 0,06 à 0,51 mW/cm<sup>2</sup>, sur une durée de 5 à 80 minutes. La fréquence précise de l'exposition n'est pas indiquée ; l'environnement des boîtes de Petri et les angles d'incidence, ainsi que les conditions de champ proche ou lointain ne sont pas indiqués. Cette exposition physique n'est pas reproductible. On peut également noter qu'aucune étude biologique ne confirme l'impact des voies suggérées comme dérégulées par l'étude protéomique. Pour ces raisons, cette étude présente des limites méthodologiques majeures.

- *Zhu, S et al. (2020) "The toxic effect of mobile phone radiation on rabbit organs"*

L'étude de Zhu et al. (2020) a étudié les effets des rayonnements des téléphones portables sur les organes de lapins exposés pendant 16 heures/semaines. Le système d'exposition est un téléphone portable fixé sur la tête de lapins. Ce type d'exposition, en l'absence de mesure et de contrôle de la puissance délivrée par le téléphone conduisent à un dispositif non pertinent du point de vue exposition.

- *Zhu, W, et al. (2016) "The apoptotic effect and the plausible mechanism of microwave radiation on rat myocardial cells."*

Zhu, W, et al. (2016) ont cherché à déterminer par quels mécanismes, les micro-ondes exercent des effets délétères sur le système cardiovasculaire chez des rats mâles Wistar. Dans un but thérapeutique, un signal UHF modulé est envoyé via un antenne cornet sur un endroit précis d'un animal. Rien dans l'article n'indique de moyen de vérification de la densité de puissance appliquée.

- *Zilov, VG, et al. (2017) "Relationship between the Contents of Cyclins, Cyclin-Dependent Kinases, and Their Inhibitors in Whole Blood Mononuclear Leukocytes during the Postclinical Stage of Community-Acquired Pneumonia under the Influence of 1-GHz Microwaves."*

Zilov, VG, et al. (2017) ont mesuré le contenu de cyclines, de kinases cyclines-dépendantes, d'inhibiteurs de kinases dans les cellules mononucléées de donneurs pratiquement sains et de convalescents atteints d'une pneumonie, après une exposition à un rayonnement électromagnétique de faible intensité de 1 GHz. La description du système d'exposition est très limitée. Il semble que l'exposition est réalisée en champ lointain avec une illumination avec une antenne cornet à la fréquence de 1 GHz, durant 45 min. Il est également fait mention d'un dispositif thérapeutique délivrant une densité de puissance de 50 nW/cm<sup>2</sup>. Un tel niveau d'exposition demande de contrôler les niveaux de champ ambiant qui risque fort d'être supérieur à cette valeur (0,5  $\mu$ W/m<sup>2</sup>, soit un champ électrique inférieur au mV/m).

- *Zilov, VG, et al. (2018) "Effects of Electromagnetic Fields Modulated by Infralow Frequencies on the Production of Stem Cells."*

Zilov, VG, et al. (2018) ont analysé l'activation induite de la prolifération et de la différenciation

de cellules souches de la moelle osseuse de rats Wistar, au moyen d'une exposition à des radiofréquences ultra-haute fréquence non thermiques, modulés par l'exposition à des fréquences « infra basses » à paramètres variables.

Des rats dans une boîte en verre sont soumis à une source radiofréquences fonctionnant à 2450 MHz. Le système d'exposition n'est que succinctement décrit et rien dans l'article n'indique de moyen de vérification de la densité de puissance appliquée sur l'animal.

- *Zong, L., et al. (2019) "Role of NF-κB activation in mouse bone marrow stromal cells exposed to 900 MHz radiofrequency fields (RF)"*

L'objectif de l'étude de Zong *et al.*, 2019 est d'examiner si l'exposition de cellules stromales de moelle osseuse (BMSC) de souris à des radiofréquences agit sur les interactions cellulaires. En terme d'exposition, la provenance des valeurs de DAS n'est pas explicitée et il n'y a pas plus d'information dans l'article cité en référence. Le manque d'information plus précise sur le système d'exposition limite la portée des résultats de cette étude. Cette étude mesure l'expression d'un seul facteur de transcription (NF-κB, baisse dans le cytoplasme, augmentation dans le noyau), sans étudier les conséquences fonctionnelles dans la cellule. Il est donc difficile d'établir un lien avec le cancer.

- *Zothansiamma, et al. (2017) "Impact of radiofrequency radiation on DNA damage and antioxidants in peripheral blood lymphocytes of humans residing in the vicinity of mobile phone base stations"*

Zothansiamma *et al.* (2017) ont évalué l'effet de radiofréquences sur les dommages à l'ADN et le statut antioxydant dans des lymphocytes du sang périphérique humain en culture issus d'individus résidant à proximité de stations de base de téléphonie mobile et en le comparant à des témoins habitant à plus de 300m d'une station de base. On ne peut parler d'un véritable système d'exposition puisque celle-ci est réelle. Il manque la présence d'un dosimètre individuel pour avoir une idée réaliste des niveaux d'exposition sur la durée.