

Interactions bioélectromagnétiques entre les ondes millimétriques et les membranes biologiques artificielles

Maxim Zhadobov, Véronique Vie, Ronan Sauleau, Mohamed Himdi, Franck Artzner, Daniel Thouroude

► **To cite this version:**

Maxim Zhadobov, Véronique Vie, Ronan Sauleau, Mohamed Himdi, Franck Artzner, et al.. Interactions bioélectromagnétiques entre les ondes millimétriques et les membranes biologiques artificielles. MajecSTIC 2005: Manifestation des Jeunes Chercheurs francophones dans les domaines des STIC, IRISA – IETR – LTSI, Nov 2005, Rennes, pp.363-368. inria-00000724

HAL Id: inria-00000724

<https://hal.inria.fr/inria-00000724>

Submitted on 15 Nov 2005

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Interactions Bioélectromagnétiques entre les Ondes Millimétriques et Membranes Biologiques Artificielles

M. ZHADOBOV¹, V. VIE², R. SAULEAU¹, M. HIMDI¹, F. ARTZNER²,
D. THOUROUDE¹.

¹ Institut d'Electronique et de Télécommunications de Rennes (IETR), UMR CNRS 6164, Université de Rennes 1, bât. 11D, 263 ave. du Général Leclerc, CS 74205 35042 Rennes Cedex, e-mail : maxim.zhadobov@univ-rennes1.fr

² Groupe Matière Condensée et Matériaux, UMR CNRS 6626, Université de Rennes 1, bât. 11A, 263 ave. du Général Leclerc, CS 74205 35042 Rennes Cedex, e-mail : veronique.vie@univ-rennes1.fr

Résumé : L'objectif de notre travail est d'étudier l'influence éventuelle du rayonnement millimétrique de puissance non-thermique sur les membranes biologiques artificielles. Pour cela, deux types de caractérisation sont effectués: mesure de pression latérale par la méthode de Wilhelmy et observation par Microscopie à Force Atomique (AFM). Différentes sortes de lipides sont considérées (DPPC, DOPC). Les résultats obtenus avec les DPPC ou DOPC pour différents niveaux de puissance et différentes durées d'irradiation seront comparés. Les mesures de pression superficielle de membranes phospholipidiques ont mis en évidence une augmentation de la pression latérale des monocouches phospholipidique pour un faible niveau de densité superficielle de puissance. L'analyse topographique des images obtenues par AFM avant et après l'exposition à une radiation millimétrique n'a pas montré de changements significatifs dans la structure de la membrane dans laquelle les lipides se trouvaient en coexistence de deux phases.

Mots Clés : radiation 60 GHz, effet biologique, membrane artificielle, monocouche phospholipidique, pression superficielle, Microscopie à Force Atomique (AFM).

1 INTRODUCTION

Actuellement les bandes de fréquences centimétriques et millimétriques sont largement utilisées pour les communications sans fil (GSM, UMTS, Bluetooth, WiFi, MBS, LMDS, etc). Contrairement aux applications millimétriques, la téléphonie mobile a fait l'objet de nombreuses publications consacrées aux effets biologiques *in vivo* et *in vitro* de courte échéance [1]-[3]. Par ailleurs, certaines fenêtres fréquentielles de la bande millimétrique trouvent de nombreuses applications. Les particularités de propagation des signaux dans cette bande de fréquences et la taille réduite des éléments rayonnants permettent leur utilisation pour les

communications à haut débit. On peut, par exemple, citer la bande des 60 GHz pour laquelle la forte atténuation du signal (16 dB/km) est due à l'absorption résonante par les molécules d'oxygène [4]. Cela permet ainsi leur utilisation pour les communications intra-bâtiments dans le cadre des réseaux locaux sans fil [4], [5]. Par conséquent, le développement de nouveaux systèmes millimétriques peut entraîner des expositions aux rayonnements électromagnétiques auxquelles l'organisme humain n'est jamais soumis naturellement. Les effets biologiques du rayonnement millimétrique de forte puissance ont déjà été étudiés [6]-[10]. Hyperthermie à micro-ondes est largement utilisées pour les applications médicales [9], [10].

En outre, certains travaux montrent existence des effets non-thermiques des ondes millimétriques: génotoxicité, modification du flux d'ions de calcium, expression des protéines de choc thermique, etc [11]-[14]. La gamme des densités superficielles de puissance pour telles interactions s'étend de quelques pW/cm² [15] jusqu'à plusieurs mW/cm² [13]. Ces effets sont sélectifs et, dans certains cas, dépendent des caractéristiques de l'irradiation: fréquence, densité de puissance, modulation, polarisation, durée et répétition d'exposition [14]. Malgré l'existence de nombreuses hypothèses d'interactions bioélectromagnétiques, leurs mécanismes restent inconnus.

L'objectif de notre travail expérimental est d'étudier l'influence éventuelle du rayonnement millimétrique à 60 GHz de puissance non-thermique sur les membranes biologiques artificielles. A notre connaissance, les études d'interactions entre les ondes électromagnétiques et les composants lipidiques des membranes biologiques sont restreintes à un travail théorique qui montre les modifications dans la structure de la membrane phospholipidique à séparation des phases après exposition à un rayonnement basse fréquence [16]. Dans cet article, nous allons présenter les résultats des mesures de dynamique de pression latérale de monocouches

phospholipidiques par la méthode de Wilhelmy durant l'exposition aux ondes millimétriques. Le rôle des différents paramètres d'irradiation (polarisation, modulation, niveau de puissance, durée d'exposition) a été étudié. Les résultats obtenus avec des membranes mixtes à séparation de phases vont être également présentés. Ce papier est organisé de façon suivante. Les parties (2) et (3) sont consacrées respectivement au modèle de la membrane phospholipidique utilisée et au dispositif d'irradiation. Les modifications de l'état de la membrane caractérisée par microscopie à force atomique et par une mesure de pression superficielle sont décrites dans les parties (4.1) et (4.2). Les conclusions de ce travail sont finalement données dans la partie (5).

2 MODELE DE MEMBRANE BIOLOGIQUE

Les membranes biologiques sont des structures délimitant les cellules et les organites intracellulaires (mitochondries, noyau, chloroplastes, lysosomes). Elles comprennent une double couche lipidique dans laquelle s'insèrent des protéines (modèle de la mosaïque fluide [17]). La composition lipidique de la membrane varie selon la nature de la cellule. Toutefois, la majorité des lipides sont des phospholipides.

Plusieurs modèles artificiels de membranes lipidiques peuvent être utilisés pour étudier les effets environnementaux. Sachant que dans l'état actuel des connaissances le couplage entre les deux feuillet est négligeable, notre approche se restreint à l'étude d'un seul feuillet lipidique. Cette couche monomoléculaire peut être formée à l'interface eau/air sur une cuve spécifique appelée cuve de Langmuir [18], [19]. Les modifications qui peuvent intervenir sur l'état de la monocouche sont suivies par la mesure de pression superficielle de la monocouche lipidique (méthode de Wilhelmy) et par Microscopie à Force Atomique (AFM) [20]. Cette dernière permet d'obtenir une information sur l'organisation des molécules dans la monocouche par une mesure à haute résolution de la topographie de l'échantillon.

La technique de préparation du film monomoléculaire est la suivante. Quelques microlitres de solution lipidique sont d'abord déposés à la surface de l'eau distillée. Après évaporation du solvant, on comprime latéralement la monocouche jusqu'à une pression superficielle située entre 28,5 et 32 mN/m. Ces valeurs correspondent à la pression superficielle naturelle dans les membranes biologiques [21]. L'état de la membrane est contrôlé par la mesure de la pression superficielle en utilisant la technique de Wilhelmy. Par définition, la pression superficielle (ou latérale) π est égale à la différence entre la tension superficielle de l'interface eau/air γ_{eau} et la tension superficielle en présence du film monomoléculaire γ_{film} . La tension superficielle de l'eau pure sous les conditions normales est égale à 72,8 mN/m. La présence des molécules à l'interface eau/air réduit la tension superficielle ce qui correspond à une augmentation de pression superficielle. Les lipides utilisés dans ce travail sont des phospholipides

zwiterioniques: dipalmitoyl phosphatidylcholine (DPPC) et dioléoyl phosphatidylcholine (DOPC). La stabilité de la monocouche lipidique DPPC pour les valeurs de pression superficielle étudiées (28,5-30 mN/m) est de 0,05-0,1 mN/m pour 10 heures d'observation.

La couche monomoléculaire de quelques nanomètres d'épaisseur peut être transférée sur la surface d'un support solide (mica). Après transfert, le film est visualisé par AFM pour obtenir l'information topographique de la membrane. Les images enregistrées ont une taille de 5x5 μm . Cela permet de distinguer les phases lipidiques dans les membranes mixtes.

3 SYSTEME D'EXPOSITION ET PARAMETRES PHYSIQUES D'IRRADIATION

La membrane lipidique est irradiée par une antenne cornet pyramidal à 60 GHz. Le dispositif expérimental est représenté sur la Fig. 1. Il comprend: (1) un générateur Siemens RWON14, (2) un oscillateur à tube carcinotron RWO75 (Backward-Wave-Oscillator, 50-75 GHz) de puissance de sortie variable ($P_{\text{max}}=50$ mW à 60 GHz), (3) une antenne cornet pyramidal dont les dimensions de l'ouverture valent 22,2x16,7 cm^2 (gain 17dB), (4) des guides WR 15 et enfin (5) la cuve de Langmuir. La mesure est pilotée par le logiciel NIMA (6). Le cornet est fixé sur un guide rectangulaire de dimensions 3,75 x 1,88 mm^2 et fonctionnant en mode TE_{10} . L'antenne est placée à une distance de 22 cm au-dessus de la membrane.

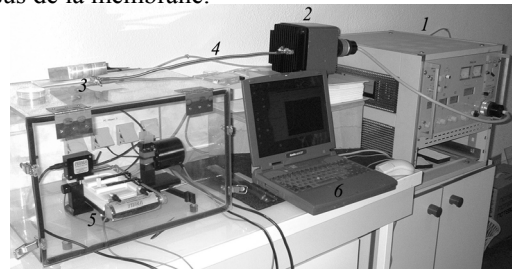


Figure 1 : Dispositif expérimental.

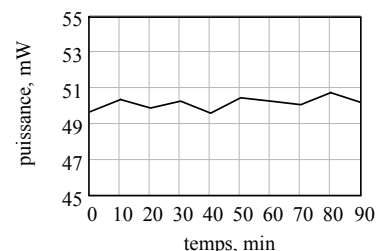


Figure 2 : Instabilité de puissance de générateur.

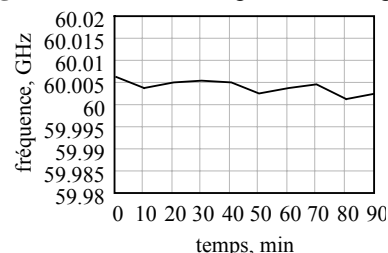


Figure 3 : Instabilité de fréquence de générateur.

Dans les expériences, nous avons utilisé une irradiation continue à 60 GHz et de puissance d'émission variant entre 0,5 à 50 mW. L'instabilité de puissance du générateur mesurée pendant 1,5 heures à une puissance moyenne de 50 mW (17 dBm) est de 0,58 mW (Fig. 2). Le rapport signal à bruit équivaut ainsi à $\delta=86,563$. L'instabilité de fréquence d'irradiation pour la fréquence centrale 60 GHz est estimée à 2,4 MHz ($\Delta f/f=4 \times 10^{-5}$) (Fig. 3). La bande passante à -3 dB de la fréquence centrale (60 GHz) est de 2,8 MHz.

La figure 4 montre la distribution de densité superficielle de puissance au niveau de la membrane de dimensions 5×7 cm². La membrane se trouve dans la cône de rayonnement d'ouvertures valant $\pm 9^\circ$ (plan E) et $\pm 6,5^\circ$ (plans H). Cela correspond à une variation de puissance de $-1,8$ dB dans le plan E et de $-0,8$ dB dans le plan H, par rapport à la densité superficielle de puissance maximale au centre. La variation maximale de la densité de puissance est égale à 2,1 dB (38%). Les valeurs du champ électrique maximal et de la densité de puissance maximale sont égales à 55,5 V/m et à 0,41 mW/cm², respectivement. Ces valeurs correspondent aux normes internationales qui fixent le niveau de densité superficielle de puissance et la valeur de champ électrique des ondes millimétriques pour la population générale à 1-10 mW/cm² et 60-300 V/m [3, pp. 778-793].

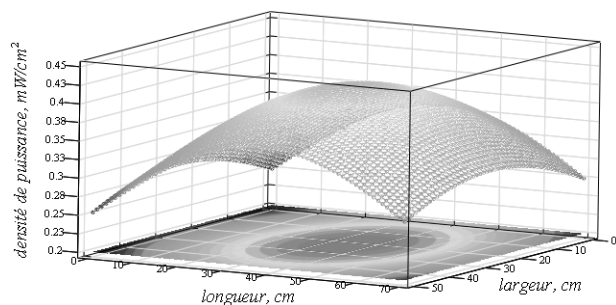


Figure 4 : Distribution de puissance sur la membrane.

4 RESULTATS

Deux modèles de membrane phospholipidique et deux méthodes différentes d'analyse ont été utilisées pour déterminer l'effet de l'irradiation millimétrique à 60 GHz sur la membrane biologique artificielle.

4.1 Méthode de Wilhelmy

Dans un premier temps, la membrane phospholipidique DPPC dans la phase condensée (haute compacité du lipide) a été irradiée pendant 4,5 heures à la température ambiante de 20°C (Fig. 5). En ce cas l'irradiation linéaire à 60 GHz avec la densité superficielle de puissance de 0,41 mW/cm² a été utilisée. La pression superficielle initiale de la membrane est égale à 28,7 mN/m, ce qui correspond à une pression moyenne dans une membrane biologique. Les résultats obtenus montrent une augmentation de pression superficielle pendant l'irradiation de 0,3 mN/m, avec une vitesse d'accroissement correspondante de 0,063 mN/m.h.

L'irradiation de l'eau pure sous les mêmes conditions ne montre pas d'augmentation de la valeur de pression superficielle.

L'étude de l'influence des différents paramètres physiques (polarisations linéaire et circulaire, niveaux de puissance d'émission (0,5 mW, 20 mW, 50 mW), modulation, durée d'irradiation) sur la dynamique de pression superficielle est en cours. Les différentes compositions de la membrane sont également étudiées. L'ensemble des résultats sera présenté lors de la conférence.

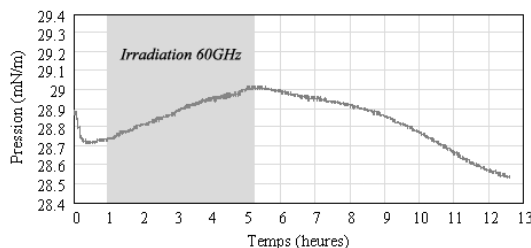
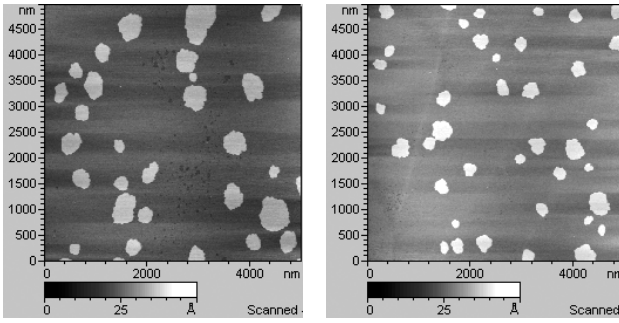


Figure 5 : Dynamique de pression superficielle.

4.2 Microscopie à Force Atomique

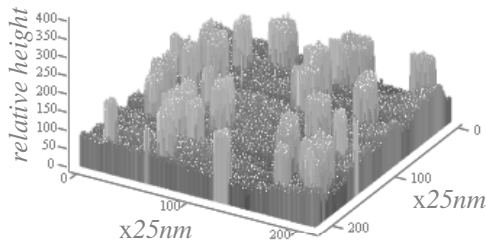
La deuxième partie de notre travail est consacrée à l'étude d'une couche monomoléculaire de lipides en séparation de phase (liquide condensé et liquide expansé) exposée au rayonnement millimétrique. Les modifications de phases lipidiques provoquées par les ondes électromagnétiques ont été montrées théoriquement pour les basses fréquences (10kHz) par Goltsov [16].

Dans les expériences nous avons utilisé une monocouche lipidique DPPC:DOPC (2:1) dont la pression superficielle initiale vaut 15 mN/m. Cette valeur correspond à la coexistence de deux phases lipidiques: liquide condensé (pour le DPPC) et liquide expansé (pour les DPPC et DOPC). Les images obtenues par microscopie AFM avant et 5 heures après irradiation ont été analysées (Fig. 6). Cela permet de discerner les phases lipidiques par la différence des hauteurs des molécules dans chaque phase. Sur la Fig. 6, les domaines sombres et clairs correspondent à l'état liquide expansé et à l'état liquide condensé, respectivement. Le taux de surface moyenne occupée par les lipides dans chacune des deux phases a été calculé. L'analyse statistique des couches monomoléculaires obtenues avant et après 5 heures d'irradiation a montré le changement de distribution des phases de 5%. Ces changements ne sont pas significatifs et peuvent traduire un temps de relaxation (état de séparation de phase) légèrement différents.

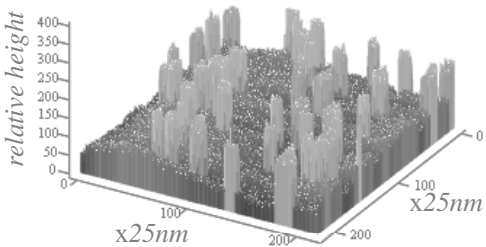


(a) Lipid phase distribution before irradiation. $S_e=39260$ (86,1%)
 $S_c=6320$ (13,9%)

(b) Lipid phase distribution after irradiation. $S_e=42313$ (91,5%)
 $S_c=3912$ (8,5%)



(c)



(d)

Figure 6 : Analyse de surface de monocouche lipidique par AFM (a,b). Reconstruction de relief de surface avant (c) et après irradiation (d).

5 CONCLUSION

Les mesures de pression superficielle des monocouches lipidiques ont mis en évidence des variations faibles mais reproductibles de tension superficielle moyenne après exposition à un rayonnement 60 GHz de faible niveau de puissance. D'autre part, les observations par microscopie AFM ont montré que le rayonnement millimétrique n'entraîne pas de changements significatifs dans l'organisation et la distribution de chacune des deux phases dans les membranes phospholipidiques à séparation de phases. Il est difficile de savoir si de telles variations de pression latérale dans les membranes naturelles cellulaires peuvent impliquer des dysfonctionnements, par exemple induire le passage d'ions à travers la membrane biologique. Cependant, il

est intéressant de noter que de plus en plus de modèles des membranes biologiques expliquent une variabilité de l'activité de certaines protéines par des variations locales de la pression latérale [22].

BIBLIOGRAPHIE

- [1] *Mobile Phones. Biological Effects*. Actes de colloque. Paris, 2000.
- [2] I. LAGROYE. *Biological Effects of RFR: Research Done at the PIOM Laboratory and within European Programs*. OMS Asia-Pacific Electromagnetic Fields Conference. Bangkok, p. 49, 26-30 janvier 2004.
- [3] P. STAVROLAKIS. *Biological Effects of Electromagnetic Fields*. Springer, 2003.
- [4] E. GIANNETTI, M. LUISE, R. REGGIANNINI. *Mobile and Personal Communications in the 60 GHz Band: A Survey*. *Wireless Personal Communications*. 10, pp. 207-243, 1999.
- [5] A. SIAMAROU. *Wideband Propagation Measurements and Channel Implications for Indoor Broadband Wireless Local Area Networks at the 60 GHz Band*. *Wireless Personal Communications*. 27, pp. 89-98, 2003.
- [6] M. FREI, K. RYAN, R. BERGER, J. JAUCHEM. *Sustained 35-GHz Radiofrequency Irradiation Induces Circulatory Failure*. *Shock*. 4, pp. 289-293, 1995.
- [7] Y. YAN, Z. WANG. *Theoretical Analysis of the Biological Thermal Effects of Millimeter Waves in Layered-dielectric-slabs*. *International Journal of Infrared and Millimeter Waves*, 24 (5), pp. 763-772, 2003.
- [8] P. XIAO-FENG, Z. ANYING. *Mechanism of Thermally Biological Effects of the Millimeter Waves and its Properties*. *International Journal of Infrared and Millimeter Waves*, 24 (11), pp. 1899-1912, 2003.
- [9] A. COPTY, M. GOLOSOVSKY, D. DAVIDOV, A. FRENKEL. *Localized Heating of Biological Media Using a 1-W Microwave Near-Field Probe*. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 52 (8), pp. 1957-1963, 2004.
- [10] K. SAITO, H. YOSHIMURA, K. ITO, Y. AOYAGI, H. HORITA. *Clinical Trials of Interstitial Microwave Hyperthermia by Use of Coaxial-Slot Antenna With Two Slots*. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*. 52 (8), pp. 1987-1991, 2004.
- [11] A. PAKHOMOV, Y. AKYEL, O. PAKHOMOVA, B. STUCK, M. MURPHY. *Current State and Implications of Research on Biological Effects of Millimeter Waves*. *Bioelectromagnetics*. 19, pp. 393-413, 1998.
- [12] I. SZABO, M. MANNING, A. RADZIEVSKY, M. WETZEL, T. ROGERS, M. ZISKIN. *Low Power Millimeter Wave Irradiation Exerts no Harmful Effect on Human Keratinocytes in vitro*. *Bioelectromagnetics*. 24, 2003.
- [13] C.F. BLACKMAN J.A. ELDER, C.M. WEIL, S.G. BENANE, D.C. EICHINGER, D.E. HOUSE. *Induction of Calcium-ion Efflux from Brain Tissue by Radio-frequency Radiation : Effects of Modulation Frequency*

and Field Strength. *Radio science*. 14 (6S), pp. 165-173, 1979.

[14] A. BELLOSSI, G. DUBOST, J. MOULINOX, M. RUELLOUX, M. HIMDI, C. ROCHER. *Biological Effects of Millimeter-Wave Irradiation on Mice-Preliminary Results*. *IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques*, 48(11), pp. 2104-2110, 2000.

[15] W. GRUNDLER, F. KAISER. *Experimental Evidence for Coherent Excitations with Cell Growth*. *Nanobiology*, 1, pp. 163-176, 1992.

[16] A. GOLTISOV. *Electromagnetic-field-induced Oscillations of the Lipid Domain Structures in the Mixed Membranes*. *Bioelectrochemistry and Bioenergetics*. 48, pp. 311-316, 1999.

[17] S. SINGER, G. NICOLSON. *The Fluid Mosaic Model of the Structure of cell Membranes*. *Science*, 175, pp.720-731, 1972.

[18] M. PETTY. *Langmuir-Blodgett Films: An Introduction*. Cambridge University Press, Cambridge, 1996.

[19] A. BARRAUD. *Langmuir-Blodgett Films*. *Proceedings of the 5th International Conference on Langmuir-Blodgett Films*. Paris, France, pp. 320-323, 1991.

[20] J.A. DeROSE, R.M. LEBLANC. *Scanning Tunneling and Atomic Force Microscopy Studies of Langmuir-Blodgett films*. *Surf. Sci. Rep*, 22 (3), p. 73-126, 1995.

[21] R. DEMEL, W. GEURTSVANKESSEL, R. ZWAAL, B. ROELOFSEN, L. VANDEENEN. *Relation between Various Phospholipase Actions on Human Red-Cell Membranes and Interfacial Phospholipid Pressure in Monolayers*. *Biochimica and Biophysica Acta*, 406(1), pp.97-107, 1975.

[22] M. EDIDIN. *Lipid Microdomains in Cell Surface Membranes*. *Current Opinion in Structural Biology*. 7, pp.528-532, 1997.