

50376  
1983  
17

**THESE**

50376  
1983  
17

N° d'ordre 1063

Présentée

à l'Université de Lille I  
et à l'Université de Valenciennes

Par

**Edouard RADZISZEWSKI**

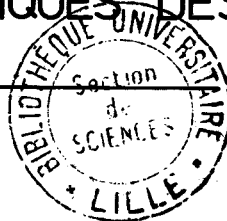
Pour obtenir

LE TITRE DE DOCTEUR DE 3<sup>ème</sup> CYCLE

EN BIOLOGIE

---

**EFFETS BIOLOGIQUES DES MICROONDES**



Soutenu le 28 juin 1983 devant le jury composé de:

**M M. M. DURCHON**

} Président

**M<sup>me</sup> N. DHAINAUT-COURTOIS**

} Rapporteur

**A. LEMOIGNE**

**M. MORIAMEZ**

**Y.H. TCHAO**

} Examineurs

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Monsieur le Professeur DURCHON de m'avoir accueilli dans son laboratoire.

J'assure Madame le Professeur DHAINAUT-COURTOIS et Monsieur TCHAO, Maître de Recherches au CNRS, de ma très sincère reconnaissance pour les conseils et l'aide qu'ils m'ont apportés lors du déroulement de ce travail.

Je remercie Monsieur le Professeur DURCHON de l'honneur qu'il m'a fait d'accepter la présidence du Jury ainsi que Madame et Messieurs les Professeurs DHAINAUT-COURTOIS, MORIAMEZ et LEMOIGNE ainsi que Monsieur TCHAO, Maître de Recherches au CNRS, qui ont bien voulu en être membres.

J'adresse mes plus sincères remerciements à Mesdames SLOMIANY et BONET et à Monsieur MONTAGNE pour leur aide technique ainsi qu'à Monsieur JOIRE pour la part importante qu'il a prise dans la réalisation photographique de ce travail.

Qu'il me soit permis d'exprimer toute ma reconnaissance à Madame STERLAY dont la patience et la disponibilité m'ont été très précieuses pour la dactylographie de ce document.

Je tiens à remercier les membres des services "Audiovisuel" et "Reprographie" de l'Université de Valenciennes pour leur fructueuse collaboration.

TABLE DES MATIERES.

	Pages
Chapitre I : <u>GENERALITES</u>	1
I-1- <u>Introduction</u>	1
I-2- <u>Rappels Physiques.</u>	2
I-2-1- Notions d'ondes électromagnétiques.	2
I-2-2- Spectre électromagnétique.	3
I-2-3- Rayons ionisants et non ionisants.	3
I-2-4- Notions de fréquence continue et pulsée.	4
I-2-5- Puissance réfléchie-Puissance absorbée.	4
 Chapitre II : <u>INSTRUMENTATION ET CONDITIONS EXPERIMENTALES.</u>	 5
II-1- <u>Le spectrographe.</u>	5
II-2- <u>Conditions expérimentales.</u>	5
II-2-1- Fréquence d'émission.	5
II-2-2- Matériel biologique.	5
II-2-2-1- Les Planaires.	6
II-2-2-1-1- Irradiation en guide d'onde.	6
II-2-2-1-2- Irradiation par cornet-émetteur.	8
II-2-2-1-3- Irradiation par antenne quart d'onde.	9
II-2-2-2- Les Annélides Polychètes.	9
II-2-2-2-1- Préparation des animaux pour l'étude des modifications structurales du prostomium.	9
II-2-2-2-2- Préparation des animaux pour l'étude des variations du temps de régénéra- tion.	11
II-2-2-2-3- Préparation d'animaux pour l'étude des variations de la durée du temps de l'anesthésie.	12

Chapitre III	: <u>RESULTATS OBTENUS-DISCUSSION ET CONCLUSION.</u>	13
III-1-	<u>Irradiation des Planaires.</u>	13
III-1-1-	Irradiation en guide d'onde-Effets cumulatifs des microondes.	13
III-1-1-1-	Traitement simple.	14
III-1-1-2-	Traitements répétitifs.	14
III-1-1-2-2-	Variation de la densité de puis- sance absorbée (DPA) en fonction du nombre d'irradiations.	15
III-1-1-2-3-	Variation du poids des Planaires par irradiations répétitives.	15
III-1-1-3-	Discussion.	16
III-1-2-	Irradiation par cornet émetteur.	16
III-1-2-1-	Irradiation en vase clos.	16
III-1-2-1-1-	Discussion.	17
III-1-2-2-	Irradiation avec contrôle de la tempé- rature.	18
III-1-2-2-1-	Remarque.	18
III-1-2-2-2-	Discussion.	18
III-1-3-	Irradiation par antenne quart d'onde.	19
III-1-3-1-	Discussion.	19
III-1-4-	Conclusion.	20
III-2-	<u>Irradiation des Annélides Polychètes.</u>	21
III-2-1-	Effets des microondes sur les structures cellulaires du prostomium.	21
III-2-2-1-	Etude au microscope photonique.	21
III-2-1-1-1-	Observations après irradiation en guide d'onde.	21
III-2-1-1-1-1-	Observations faites après irra- diation du prostomium avec une énergie incidente de 100 mW x 3600 sec.	21
III-2-1-1-1-2-	Observations faites après irra- diation du prostomium avec une énergie incidente de 1 watt x 300 sec.	22
III-2-1-1-1-3-	Observations faites après irra- diation du prostomium avec une énergie incidente de 5 watt x 30 sec.	23

III-2-1-1-1-4- Remarques	24
III-2-1-1-2- Observations après irradiation par antenne quart-d'onde.	24
III-2-1-1-3- Discussion.	25
III-2-1-2- Etude au microscope électronique.	26
III-2-1-2-1- Structures normales.	26
III-2-1-2-2- Observations des structures irradiées	27
III-2-1-2-2-1- Observations après irradiations en guide d'onde.	27
III-2-1-2-2-2- Observations après irradiations par antenne quart d'onde.	28
III-2-1-3- Discussion.	29
III-2-2- Effets des microondes sur la régénération caudale.	29
III-2-2-1- Irradiation en guide d'onde.	29
III-2-2-2- Irradiation par antenne quart d'onde.	29
III-2-2-3- Discussion.	29
III-2-3- Effets des microondes sur la durée du temps de l'anesthésie.	31
III-2-3-1- Critères de détermination du sommeil et du réveil des Nereis.	31
III-2-3-2- Résultats.	31
III-2-3-3- Remarques.	32
III-2-3-4- Discussion.	32
CONCLUSION GENERALE	33
BIBLIOGRAPHIE	35

## CHAPITRE I - GENERALITES.

### I-1- INTRODUCTION.

Ce n'est que depuis une dizaine d'années seulement que les ondes électromagnétiques hyperfréquences ont suscité un regain d'intérêt surtout dans le domaine de leurs effets sur les êtres vivants en général. La prolifération des moyens de communications et l'application des microondes dans la vie courante font que l'intensité du champ électromagnétique terrestre se trouve multiplié par cent voire par mille à certains endroits. Des enquêtes épidémiologiques effectuées auprès de populations situées ou travaillant près d'émetteurs prouvent de façon évidente l'effet néfaste des microondes sur les systèmes nerveux et cardio-vasculaires en particulier <sup>(15-31)</sup>. L'annonce du premier décès humain par irradiation, après vieillissement rapide et précoce <sup>(1-16)</sup>, montre le danger présenté par cette "pollution hertzienne". Les organisations de santé publique ont pris conscience de ce problème. Il était donc urgent d'étudier les interactions pouvant exister entre microondes et milieux biologiques. De très nombreux et importants travaux ont été entrepris dans ce sens. Les résultats, parfois contradictoires, ont créé des polémiques, mais la diversité des méthodes d'études et des échantillons irradiés rend la synthèse des conclusions difficiles <sup>(11-12-13)</sup>. Les contradictions entre les résultats obtenus par ALBERT <sup>(9)</sup> sur les cellules nerveuses du hamster et ceux obtenus par TOLGASKA <sup>(10)</sup> sur les cellules nerveuses du rat après irradiation dans les mêmes conditions en sont la preuve.

A l'heure actuelle, les hyperfréquences sont surtout connues par leurs effets thermiques. Cette propriété a été utilisée pour des applications industrielles (fours à microondes) et médicales (traitements des tumeurs cancéreuses par hyperthermie). Quant aux effets spécifiques ou non thermiques, ils sont plus difficiles à cerner et sources de nombreuses controverses. Les innombrables travaux entrepris n'ont pu faire admettre de façon irréfutable leur existence. Les relations entre densité de puissance et temps d'irradiation ainsi que le seuil de densité de puissance sont les deux critères à considérer afin d'accorder un phénomène biologique observé à un effet spécifique des microondes ou à un effet thermique.

Pour notre part, nous avons utilisé deux types d'irradiation : puissance forte - temps courts (conditions thermiques) et puissance faible - temps longs. Mais ces notions de puissance forte ou faible, temps long ou court sont

des notions relatives. Tout dépend du sujet à irradier et des conditions dans lesquelles il se trouve. Une mise au point sera donc nécessaire. Une autre notion fondamentale relative aux microondes est la notion de fréquence. Des phénomènes observés à certaines fréquences disparaissent à d'autres (3,15,26,28). Il est donc d'une importance capitale de préciser toutes les conditions relatives au sujet soumis aux rayonnements et au rayonnement lui-même. Une modification d'un seul de ces facteurs suffit à remettre en cause les résultats antérieurs. L'environnement des animaux doit être soigneusement contrôlé aussi bien chez les irradiés que chez les témoins. En effet, il ne faut pas imputer un phénomène aux microondes alors qu'il peut être dû à une perturbation des conditions de vie. Ceci est important lorsqu'on irradie des animaux hors de leur milieu naturel. A côté des études épidémiologiques qui ont montré le côté néfaste des microondes (30) sur le monde vivant, les études réalisées au laboratoire dans des conditions souvent très spéciales ont mis à jour en outre le côté bénéfique de ces ondes. Le traitement de certaines tumeurs cancéreuses par hyperfréquences n'est plus du domaine de la fiction.

En ce qui nous concerne, nous avons étudié l'influence d'un rayonnement microonde sur un processus biologique important : la prolifération cellulaire. Cette étude a été faite sur deux invertébrés très connus pour le grand pouvoir de régénération : les Planaires (4) et les Nereis (5,6,7). Parallèlement, nous avons été amenés à examiner l'effet d'une onde électromagnétique hyperfréquence sur certaines structures cellulaires nerveuses et pigmentaires. Mais avant d'analyser les résultats obtenus, nous exposerons un bref rappel sur la nature physique des microondes, leur propagation et leur position dans le spectre électromagnétique.

## I-2- RAPPELS PHYSIQUES.

### I-2-1- Notions d'ondes électromagnétiques.

Les rayons  $\gamma$ , les rayons X, la lumière, les ondes hertziennes sont des rayonnements électromagnétiques connus tant par leurs propriétés que par leurs effets. Du point de vue physique, une onde électromagnétique est formée d'un champ électrique périodique  $\vec{E}$  et d'un champ magnétique périodique  $\vec{B}$  orthogonaux entr'eux et perpendiculaires à la direction de propagation. (Cf fig. 1). Ces deux champs vibrent en phase et possèdent donc la même fréquence de vibration  $f$  correspondant à la longueur d'onde  $\lambda$ . La fréquence  $f$  et la

longueur d'onde  $\lambda$  sont liées par la relation :

$$\lambda = \frac{C}{f}$$

C = vitesse de la lumière dans le milieu considéré en cm.

$\lambda$  = longueur d'onde en cm.

f = fréquence en hertz.

La valeur algébrique des vecteurs  $\vec{E}$  et  $\vec{B}$  sont des fonctions sinusoïdales du temps.

$$E = E_m \sin 2 \pi f t$$

$$B = B_m \sin 2 \pi f t$$

Les valeurs de la fréquence ou de la longueur d'onde permettent de classer les rayonnements électromagnétiques dans un spectre continu.

#### I-2-2- Spectre électromagnétique.

La lumière, les rayons X, les rayons  $\gamma$ , les rayonnements utilisés en télévision et radar ne diffèrent que par la valeur de leur fréquence ou de leur longueur d'onde. On les classe donc dans un spectre en fonction de ces valeurs (cf fig. 2). Ce spectre est continu, des rayons  $\gamma$  de très grandes fréquences ( $10^{24}$  Hz) aux rayonnements de très faibles fréquences de l'ordre de quelques Hertz.

#### I-2-3- Rayons ionisants et non ionisants (cf fig. 2).

Ce spectre électromagnétique est divisé en deux parties. L'une correspondant aux rayonnements de très hautes fréquences donc de très grande énergie cinétique. Ces deux grandeurs étant reliées par la relation :

$$W = h \times f$$

W = puissance en joules.

h = constante de Planck =  $6,6 \times 10^{-34}$  J x sec

f = fréquence en Hertz.

Ces rayonnements "haute fréquence" sont caractérisées par leurs propriétés ionisantes.

L'autre partie du spectre correspond aux fréquences et aux énergies cinétiques plus basses incapables de ioniser les molécules.

La limite entre ces deux zones se trouve dans l'ultra violet. Les ondes électromagnétiques hyperfréquences sont situées dans la partie non ionisante du spectre.



I-2-4- Notions de fréquence continue et pulsée (fig. 3).

L'émission d'un rayonnement microonde peut se faire soit de façon continue CW (continuous wave) soit de façon pulsée PW (pulsed wave). Ces deux modes d'émission, fondamentalement différents du point de vue physique, le sont également du point de vue biologique. En effet, les rayonnements pulsés semblent avoir un effet plus important sur les êtres vivants que les rayonnements continus<sup>(9,14,29)</sup>. Les travaux en cours confirmeront sans doute cette affirmation. Dans tous les cas, il est nécessaire de préciser le mode d'irradiation pulsé ou continu.

I-2-5- Puissance réfléchie - Puissance absorbée.

Identiques aux rayonnements "visibles" du spectre, les hyperfréquences se réfléchissent sur les obstacles, ce qui constitue l'écho, principe de base de la radiodétection, ou sont absorbés par ces mêmes obstacles; seule l'énergie absorbée par le milieu intéressé le biologiste. Cette énergie est une fraction de l'énergie incidente.

$$I_p = I_i (1 - R)$$

R = coefficient de réflexion.

$I_p$  = Energie absorbée.

$I_i$  = Energie incidente.

Lorsqu'elle pénètre dans la matière, elle subit une atténuation. L'absorption des microondes par les milieux de constante diélectrique élevée pose un certain nombre de problèmes aussi bien pour le physicien que pour le biologiste. En effet, l'eau, par la valeur importante de sa constante diélectrique, est un milieu très absorbant. Par conséquent, l'émission d'ondes centimétriques est perturbée par un taux élevé d'humidité de l'air. L'irradiation d'animaux aquatiques, tels que les Planaires et les Nereis, doit se faire dans des conditions particulières afin d'éviter au maximum l'absorption de l'énergie par l'eau.

## CHAPITRE II - INSTRUMENTATION ET CONDITIONS EXPERIMENTALES.

### II-1- LE SPECTROGRAPHE (fig. 4) bande X.

Cet appareil permet de créer les microondes et de les émettre. Les expériences nous ont amenés à utiliser différents types d'émissions :

- émission en guide d'onde.
- émission par aiguille couplée sur le guide d'onde grâce à un coaxial.
- émission par cornet émetteur.

Ce spectrographe est constitué d'un générateur de courant hautes fréquences, créant par l'intermédiaire d'un magnétron JPT Philips 901 de puissance maximum 10 watts fonctionnant en continu, une onde électromagnétique dont la fréquence est égale à celle du courant. Cette onde est ensuite guidée dans un guide de section rectangulaire 1 cm x 2 cm. Placés en série sur le guide d'onde, on trouve successivement :

- 1) Un commutateur (C) permettant ou non d'isoler le circuit.
- 2) Un atténuateur (A) permettant de faire varier la puissance d'émission.
- 3) Un adaptateur d'impédance permettant d'adapter l'impédance du circuit, afin de minimiser les réflexions.
- 4) L'émetteur placé en position terminale sur le guide. Il s'agit soit de l'antenne quart d'onde, soit du cornet pyramidal (section carrée 8 x 8 cm). Dans le cas d'irradiation en guide d'onde, le guide est terminé par une charge adaptée Z dans laquelle l'onde réfléchie est fortement minimisée, le circuit étant dans ce cas considéré comme isolé.

Couplés sur le guide, trois wattmètres permettent de mesurer la puissance incidente, la puissance réfléchie et la puissance transmise.

### II-2- CONDITIONS EXPERIMENTALES.

#### II-2-1- Fréquence d'émission.

La fréquence utilisée pour toutes nos irradiations est de 9,3 GHz CW.

#### II-2-2- Matériel biologique.

Pour ce type de travail, le choix du matériel biologique est une source de soucis pour le chercheur. En effet, il faut adapter ce matériel en fonction de ce que l'on veut montrer. Les vertébrés (homme<sup>17</sup>, singe<sup>18</sup>, rat<sup>19</sup>, souris<sup>20</sup>) et certains invertébrés (Tenebrio molitor<sup>21</sup>, Dugesia gonocephala<sup>22</sup>) sont les plus souvent rencontrés dans la littérature. Mais

dans le but de montrer l'impact précis des microondes, certains auteurs ont utilisé des éléments biologiques plus simples tels que les micro-organismes (23), les cultures de cellules (27) parfois les molécules biologiques isolées (enzymes<sup>24</sup>).

Pour notre part, nous avons utilisé deux invertébrés poïkilothermes : les Planaires (Dugesia gonocephala) et les Nereis (Nereis diversicolor et Périnereis cultrifera). Ces 2 invertébrés sont aquatiques. Des techniques particulières ont donc dû être mises au point afin d'éviter l'absorption des microondes par l'eau.

#### II-2-2-1- Les Planaires.

Ces invertébrés, très connus pour leur grande faculté de régénération (4), sont un matériel de choix pour l'étude de l'interaction entre rayonnements non ionisants et prolifération de cellules d'abord indifférenciées au niveau du blastème, puis différenciées pour former le régénérat. D'autre part, les Planaires nous ont permis de montrer l'effet cumulatif des microondes sur la densité de puissance absorbée et sur le taux de mortalité.

#### II-2-2-1-1- Irradiation en guide d'onde.

Les Planaires sont anesthésiées au chlorebutol à 2‰, puis séchées sur papier filtre. Une petite ouverture circulaire, de diamètre 5 mm, pratiquée au niveau du grand côté du guide, permet l'introduction de l'animal placé sur un support plastique parallèlement au champ électrique  $\vec{E}$  (cf fig. 5). Dès la fin de l'irradiation, les Planaires sont remises dans l'eau. La puissance utilisée pour ce type d'irradiation ne dépasse jamais 1 watt et la durée est de 30 secondes maximum afin d'éviter l'apparition de phénomènes imputables au dessèchement par l'air et non aux microondes. La puissance absorbée par l'animal est donnée par la relation :

$$P_{\text{absorbée}} = P_{\text{incidente}} - (P_{\text{transmise}} + P_{\text{réfléchie}})$$

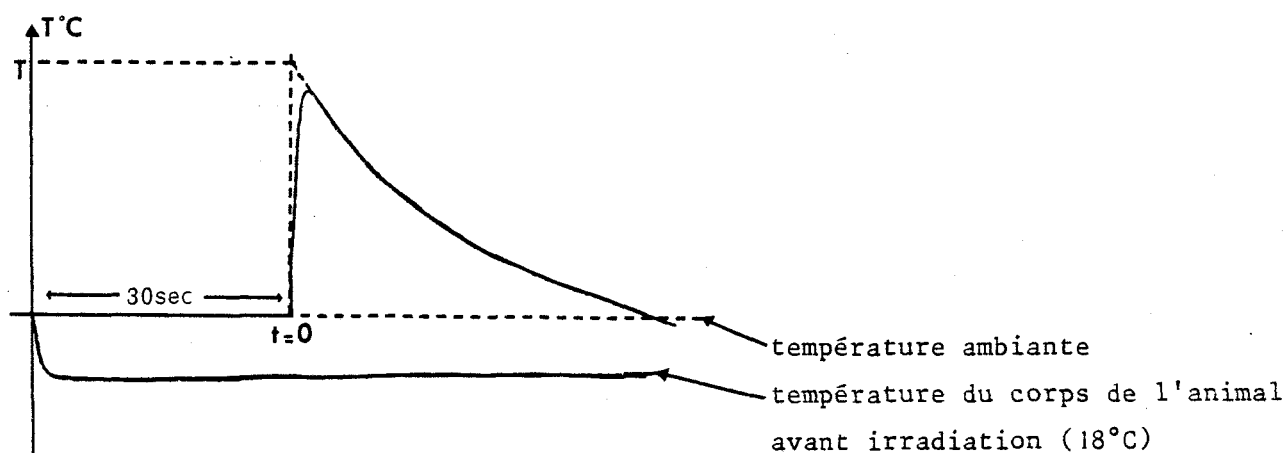
Cette technique d'irradiation a été employée pour l'étude des effets cumulatifs des hyperfréquences.

Afin de déterminer la part non thermique des effets produits lors des traitements périodiques microondes, une étude comparative a été faite entre animaux irradiés (lot A) et animaux chauffés (lot B). La température interne des animaux de ces deux lots est sensiblement la même. Pour respecter cette condition fondamentale, le contrôle de la température du corps des animaux

du lot A par thermocouple que l'on implante dès l'arrêt de l'émission du rayonnement, a été réalisé grâce à la technique de Johnson Guy <sup>(48)</sup> qui consiste à extrapoler au temps  $t = 0$  la courbe  $\Delta T_{irr} = f(\text{temps})$ . Le temps  $t = 0$  correspond à la fin du traitement et au début de l'enregistrement.

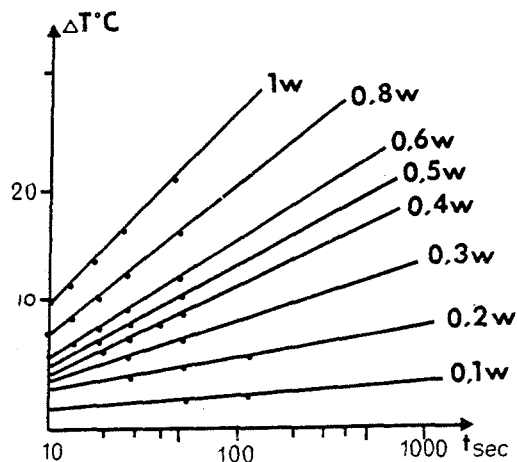
Cette technique a également pour but d'éviter l'interaction, donc la concentration de l'énergie au niveau des fils métalliques du thermocouple.

La courbe suivante montre la technique d'extrapolation de Johnson Guy.



Détermination de la température T du corps de l'animal au temps  $t = 0$  (fin du traitement) par la technique de Johnson-Guy. (Durée de l'irradiation : 30 secondes).

Si l'on calcule ainsi la valeur de l'augmentation de température du corps des animaux traités en fonction de la puissance et de la durée des expositions, on obtient le diagramme suivant.



Ce réseau de courbes permet de sélectionner une puissance et un temps afin d'obtenir une valeur déterminée de la température du corps.

Parallèlement, une source thermique classique a été mise au point pour les animaux du lot B afin de conserver une identité thermique avec les microondes. Cette source consiste en un bloc de laiton de 3 cm de hauteur, 5 cm de largeur et 10 cm de longueur, thermorégulé. Le dispositif est présenté sur la figure 6. La température du bloc peut être fixée entre  $22^{\circ}\text{C} \leq T_b \leq 50^{\circ}\text{C}$ .

Pour un point expérimental, on sélectionne une valeur de  $T_b$  de façon que le temps  $t$  de montée en température du corps soit le plus voisin possible que celui obtenu dans le cas d'une irradiation. Une fois  $T_b$  fixée, le traitement thermique est contrôlé uniquement par la durée  $t$  de l'échauffement.

#### II-2-2-1-2- Irradiation par cornet émetteur.

L'irradiation par cornet présente l'avantage d'irradier les animaux dans leur milieu naturel. L'irradiation en vase clos provoque une augmentation de la température de l'eau et les phénomènes observés sont avant tout d'origine thermique. Dans le souci de contrôler la température du corps de l'animal, l'adjonction d'une pompe peristaltique permettant une circula-

tion d'eau à partir d'un bain thermostaté a été nécessaire (fig. 7). Le débit assez élevé (100 ml/mn) évite toute élévation de la température de l'eau dans le vase contenant les animaux. Un système presque identique a été utilisé par Chen et Lin <sup>(25)</sup> et Partlow <sup>(28)</sup> pour l'irradiation de cultures de cellules. Mais l'originalité de notre méthode est d'avoir pu placer en série le bain thermostaté, la cuve d'irradiation et la cuve témoin. De plus, les animaux sont plaqués dans le fond de la cuve, grâce à un disque en papier filtre très poreux et se trouvent donc en contact direct avec l'onde incidente, ce qui réduit fortement l'atténuation de l'énergie par l'eau. Dans cette série de manipulations, les animaux sont sectionnés au tiers antérieur et les observations ont porté sur le temps de régénération des animaux irradiés et témoins ainsi que sur leur pigmentation.

#### II-2-2-1-3- Irradiation par antenne quart d'onde (fig. 8).

Les Planaires, anesthésiées, sont séchées sur papier filtre, sectionnées au tiers antérieur et placées individuellement dans l'axe de l'antenne émettrice, l'extrémité de celle-ci venant effleurer la partie sectionnée. Après l'irradiation, les animaux sont remis dans l'eau. Cette technique a été utilisée afin d'étudier les variations du temps de régénération.

#### II-2-2-2- Les Annélides Polychètes.

##### II-2-2-2-1- Préparation des animaux pour l'étude des modifications structurales du prostomium.

Pour cette étude, toutes nos irradiations ont été effectuées sur Nereis diversicolor, O.F. Müller, femelles et jeunes (diamètre ovocytaire inférieur à 100  $\mu$ ), vers marins récoltés près de Boulogne-sur-Mer (Pas de Calais) et aimablement fournis par le laboratoire de Biologie Animale de Lille I.

Cette Nereis présente l'avantage de pouvoir également être utilisée en culture organotypique.

Afin de subir le traitement microonde, les animaux sont anesthésiés au MS 200 à 1 g/litre d'eau de mer, séchés sur papier filtre et placés sur un support en plastique. Pour leur irradiation, deux techniques différentes ont été utilisées :

- Irradiation en guide d'onde.

Dans ce cas, seuls la partie antérieure et les 2 ou 3 métamères contigus sont introduits dans le guide d'onde. Le point d'impact de l'onde incidente sur l'animal se produit donc au niveau de la région antéro-dorsale ou prostomium. Celle-ci comporte :

- à la périphérie.

- 1 paire d'antennes en position antéro-médiane.
- 2 paires d'yeux situés latéralement dans l'épiderme.
- 1 paire d'organes nucaux, chimiorécepteurs et localisés immédiatement derrière la paire d'yeux postérieure, et repérables grâce à la présence de cils au niveau de l'épiderme.

- au centre.

Un cerveau constitué de 26 paires de groupes de neurones appelés noyaux ganglionnaires ou nuclei (Holmgren <sup>(49)</sup>, Bullock et Harridge <sup>(50)</sup>). Les corps cellulaires (ou péricaryons) souvent unipolaires, parfois bipolaires, rarement multipolaires, enveloppés dans un tissu glial, sont situés à la périphérie d'une masse fibreuse formée par les prolongements axonaux : le neuropile.

Les 3 premières paires de nuclei, appelées Corpora pedunculata (CP) sont représentées par de très petites cellules caryochromes, à rapport nucleocytoplasmique élevé.

A l'inverse des CP, les autres nuclei sont très hétérogènes et renferment plusieurs types cellulaires. Certains ont retenu l'attention des chercheurs intéressés par les phénomènes neurosecrétoires sensu lato (Dhainaut Courtois <sup>(51)</sup> Golding et Whittle <sup>(52)</sup>, Engelhardt <sup>(53)</sup>, Engelhardt and al <sup>(54)</sup>). Ce sont essentiellement :

- Les nuclei 20 considérés généralement comme la principale source de neurohormones intervenant dans les processus de reproduction et de régénération caudale (Durchon <sup>5</sup>).
- Les nuclei 14 caractérisés par l'abondance de neurones élaborant des neurotransmetteurs de type monoaminergique.

Les observations des structures irradiées ont été faites soit au microscope photonique, soit au microscope électronique à transmission, JEOL 120 CX. Selon le type utilisé pour la visualisation des échantillons, la technique de fixation et de coloration des pièces est différente.

\* Technique de microscopie photonique.

La partie irradiée est fixée dans le liquide de Bouin Hollande sans acide acétique pendant 3 jours, enrobée dans la paraffine, coupée au microtome (épaisseur des coupes = 6  $\mu$ ) et enfin colorée par la technique de Clark (1955).

\* Technique de microscopie électronique à transmission.

La pièce est fixée dans une solution de glutaraldehyde à 3% de tampon phosphate stock 0,4 M, pH = 7,2. Elle est ensuite lavée 3 fois dans le mélange tampon phosphate 0,4 M, sucrose 0,33 M puis post fixée dans le mélange de tétroxyde d'osmium 2%, tampon phosphate 0,4 M, pH = 7,2, chlorure de sodium 2,5%, deshydratée et incluse dans l'araldite selon la méthodologie décrite ailleurs<sup>(51)</sup>. Les coupes ultrafines ont été contrastées selon la technique de Reynolds<sup>(55)</sup> (1963).

NB : La partie irradiée est sectionnée à des temps différents par rapport au temps  $t = 0$ , début de l'irradiation puis fixée dans les solutions adéquates.

- Irradiation par antenne émettrice quart d'onde.

L'animal est placé sur un support plastique, l'extrémité de l'antenne effleurant le prostomium. Après irradiation, les Nereis subissent le même sort que ci-dessus et les parties antérieures ont été observées soit au microscope optique, soit au microscope électronique JEOL 120 CX.

II-2-2-2-2- Préparation des animaux pour l'étude des variations du temps de régénération.

L'animal est anesthésié au MS 200 à 1g/litre d'eau de mer, sectionné au tiers postérieur puis irradié.

- Irradiation en guide d'onde.

La partie caudale sectionnée est introduite dans le guide d'onde sur 5 mm environ ce qui correspond à 2 ou 3 métamères. L'irradiation terminée, l'animal est remis dans l'eau de mer et on compare le temps d'apparition des cirres anaux, du pygidium et du premier métamère par rapport à un animal témoin placé dans les mêmes conditions mais n'ayant pas subi l'agression microonde.

- Irradiation par antenne quart d'onde.

L'antenne est posée sur la partie sectionnée. L'animal est placé soit dans l'axe de l'antenne soit perpendiculairement à celle-ci.



II-2-2-2-3- Préparation des animaux pour l'étude des variations de la durée du temps de l'anesthésie.

Cette série de manipulations a été réalisée sur Perinereis cultrifera. Ces échantillons biologiques sont d'abord placés dans une solution anesthésiante de MS 200 à 1 g/litre d'eau de mer. Une fois anesthésiés, les animaux sont sortis du milieu, séchés sur papier filtre, pesés et couplés en fonction de leur poids. Pour chaque couple d'animaux de poids sensiblement identiques, un seul est soumis au traitement, l'autre sert de témoin. Afin de subir l'irradiation, l'animal est placé sur un support plastique et seule la partie antérieure, soit 5 mm, est introduite dans le guide grâce à un petit orifice percé au niveau du grand côté. L'animal est donc positionné parallèlement au champ électrique. Dans le même temps, le témoin est placé dans les mêmes conditions mais ne subit pas le traitement hyperfréquence. L'irradiation terminée, l'animal est remis dans l'eau de mer à côté du témoin pour être observé au binoculaire.

CHAPITRE III - RESULTATS OBTENUS - DISCUSSION ET CONCLUSION.

III-1- IRRADIATION DES PLANAIRES.

III-1-1- Irradiation en guide d'onde : Effets cumulatifs des microondes (47).

Pour ce type d'irradiation, il a fallu manipuler sur des animaux anesthésiés et sortis de leur milieu naturel.

Par conséquent, le temps du traitement microonde est relativement réduit ( $\leq 120$  secondes) afin d'éviter le phénomène de desséchage de l'épiderme par l'air, processus provoquant souvent la nécrose de l'animal entier.

Un des problèmes cruciaux relatifs aux traitements par ondes est de déterminer l'efficacité ou non d'un traitement répétitif par rapport à un traitement simple. Les rayons X sont, à ce titre, très connus pour leurs effets cumulatifs. Les microondes possèdent-ils cette propriété? Il était intéressant de le prouver de façon rationnelle. Certains travaux ont été entrepris dans ce sens, en particulier ceux de Varma et Coll (35) sur l'augmentation de l'indice de la mutagénicité aux 4<sup>e</sup> et 6<sup>e</sup> semaines de gestation de souris suisses femelles après 3 irradiations ( $E = 30 \text{ Wsec/cm}^2$ ) à deux heures d'intervalle. Ce même résultat est obtenu à la première semaine de gestation par des irradiations doubles, mais à des densités d'énergie double soit  $60 \text{ Wsec/cm}^2$ . Les effets produits ont été attribués à un effet thermique. Le fait de provoquer un phénomène biologique par irradiations multiples à des doses nettement inférieures à celles provoquant le même effet mais par irradiation unique montre l'évidence d'un effet cumulatif lié aux microondes. Dans cette série de manipulations, notre but est de vérifier et d'utiliser cette propriété sur la survie et également sur le poids des Planaires ainsi que sur la densité de puissance absorbée d'une part, (pour cela, la comparaison entre animaux irradiés une seule fois et animaux irradiés périodiquement s'imposait). D'autre part, nous avons voulu montrer que les effets obtenus étaient également imputables à un effet spécifique des microondes en comparant les résultats obtenus par irradiation et ceux obtenus par chauffage classique.

III-1-1-1- Traitement simple (une seule irradiation ou un seul échauffement).

Aucune différence significative n'apparaît sur le taux de survie des Planaires irradiées ou chauffées dans les mêmes conditions de température T et durée t (cf fig. 9). Par contre, le taux de survie est fonction de la densité d'énergie absorbée, (D.E.A.).

$$D.E.A. (Wsec/mg) = \text{Puissance absorbée} \times \text{temps/poids.}$$

La figure 10 (% suivie = f (D.E.A)) fait apparaître deux régions distinctes : l'une (a) correspondant à des temps d'exposition brefs ( $\leq 60$  sec) et des puissances relativement élevées (1 watt), l'autre (b) correspondant à des durées plus longues (120 sec) et des puissances plus faibles. Ceci semble indiquer qu'un mécanisme de lutte contre l'agression s'installe lorsque la durée du traitement est longue (phénomène de radorésistance). Ce mécanisme ne peut se manifester lorsque l'énergie est violente et brève.

III-1-1-2- Traitements répétitifs (plusieurs irradiations ou plusieurs échauffements).

III-1-1-2-1- Effet cumulatif.

Nous avons pratiqué 3 et 5 irradiations successives d'une durée totale de 7 mn et nous avons étudié le taux de survie des Planaires en fonction de la D.E.A. à chaque irradiation (cette technique d'irradiations successives a déjà trouvé son application médicale <sup>(57)</sup>).

On constate que l'écart entre les deux régions (a) et (b) diminue avec le nombre d'irradiations. Ceci semble indiquer que le mécanisme impliqué dans la radorésistance s'affaiblit progressivement à chaque traitement.

Dans le même ordre d'idées, nous avons réalisé des irradiations périodiques (puissance = 0,3 W - durée = 1 mn - intervalle du temps entre deux irradiations  $\tau = 1$  mn) et nous avons comparé le taux de survie des Planaires irradiées à celui de Planaires chauffées dans les mêmes conditions de temps et de température ( $T = 25,5^{\circ}\text{C}$ ) en fonction du nombre de traitements (Tableau 1).

On constate une différence nette entre le lot irradié et le lot chauffé. Le pourcentage d'animaux en survie est inversement proportionnel au nombre d'irradiations, ce qui n'est pas le cas pour le chauffage classique où le nombre d'animaux en survie reste constant. Cette différence met en lumière l'effet spécifique des microondes : pour une même température finale ( $T = 25,5^{\circ}$ )

la mortalité est plus importante chez les irradiés que chez les Planaires chauffées. Les microondes possèdent donc un effet supplémentaire qui les différencient des sources thermiques classiques.

Enfin, une dernière série de manipulations a consisté à conserver l'énergie incidente constante (0,8 W x 20 sec.) et à faire varier l'intervalle de temps séparant deux irradiations, ( $\tau = 30''$ , 1 h, 24 h). A cette énergie non létale, la température du corps de l'animal est de 29° C. Le tableau 2 montre le taux de survie des Planaires irradiées trois fois comparé au taux de survie des Planaires chauffées à 29°C. Deux remarques s'imposent :

- 1) Plus l'intervalle de temps entre deux irradiations augmente, plus grand est le taux de survie. Ceci semble indiquer que pour des intervalles courts, les animaux ne peuvent "récupérer" des lésions cumulées. Ce n'est plus vrai pour des intervalles de l'ordre de 24 heures.
- 2) La température de 29°C influe peu sur le taux de survie puisque, dans les mêmes conditions thermiques, un chauffage classique ne donne aucune mortalité.

#### III-1-1-2-2- Variation de la densité de puissance absorbée (D.P.A.) en fonction du nombre d'irradiations.

Les figures 13 et 14 illustrent les résultats obtenus sur variations de la D.P.A. (en watt/gramme). Nous remarquons que la puissance et la durée utilisées pour le traitement ainsi que l'intervalle de temps séparant les irradiations provoquent une diminution progressive de la D.P.A. Ceci confirme les constatations faites par H.S. HO<sup>(30)</sup> chez la souris. Mais, bien que la D.P.A. diminue, la mortalité des animaux augmente, en fonction du nombre d'irradiations, comme l'indique la figure 15. Les microondes provoquent des perturbations cellulaires, perturbations qui ne cessent de s'aggraver à chaque traitement allant jusqu'à la nécrose et la mort de l'animal. Les dégats cellulaires entraînent des modifications métaboliques engendrant ainsi une diminution de la D.P.A.

#### III-1-1-2-3- Variation du poids des Planaires par irradiations répétitives.

Des irradiations successives à 24 heures d'intervalle provoquent une diminution du poids des Planaires, comme le montre la figure 16. Ceci va

à l'encontre des observations faites par Maniez <sup>(32)</sup> sur l'accélération de la croissance observée chez les rats irradiés (24 heures sur 24) avec un rayonnement de 3,5 GHz de fréquence, durant les 15 premiers jours de leur naissance. Ces résultats contradictoires trouvent leurs explications dans le fait que Maniez note également une augmentation du taux de certaines hormones (FSH, ACTH ...). On peut donc conclure que l'excès de poids observé est d'origine endocrinologique. Par contre, la diminution du poids des Planaires est sans doute due à une modification de la teneur en eau de l'animal, suite à la perte de l'eau libre et de l'eau liée. Cette baisse de la teneur en eau provoque des perturbations métaboliques entraînant une perte de poids.

### III-1-1-3- Discussion.

Cet exemple de contradiction dans les résultats illustre bien les difficultés que nous rencontrons à extrapoler un phénomène observé sur un individu à d'autres individus. D'autre part, les résultats obtenus montrent le danger représenté par une exposition répétitive aux rayonnements non ionisants. A cet égard, la mise au point d'un dosimètre <sup>(33)</sup> fournissant une indication cumulative de dose reçue par l'utilisateur de microondes dénote une certaine inquiétude suscitée auprès des organismes de santé, par l'accumulation de traitements hyperfréquences. Certains auteurs <sup>(34,35)</sup> ont d'ailleurs obtenu des effets biologiques évidents à la suite d'irradiations répétitives à des doses nettement inférieures à celles donnant les mêmes résultats mais avec un traitement simple.

### III-1-2- Irradiation par cornet émetteur.

#### III-1-2-1- Irradiation en vase clos.

Les animaux, sectionnés, sont plaqués dans le fond d'une boîte de Pétri contenant 25 cm<sup>3</sup> d'eau et placés sur un cornet émetteur (8 x 8 cm). Le rayonnement hyperfréquence provoque une augmentation de la température de l'eau. Le contrôle de cette température se fait périodiquement à l'aide d'un thermomètre digital (AOIP PN<sub>2</sub> AS) lorsque l'émission microonde est coupée afin d'éviter les interactions entre le rayonnement et le thermocouple métallique du thermomètre. Parallèlement, une boîte de Pétri, contenant des animaux témoins sectionnés, est placée dans un bain d'eau thermostaté.

L'irradiation dure 5 jours, 24 heures sur 24. La puissance utilisée est de 500 mW ce qui donne une température de l'eau de 25°C. Le bain thermostaté est également à 25°C  $\pm$  0,2° C.

Les résultats enregistrés sont multiples.

1) Aux conditions expérimentales citées ci-dessus, aucune mortalité des Planaires n'est à déplorer. Par conséquent, nous travaillons dans des conditions non létales pour les animaux.

2) Nous avons remarqué dans plus de 80% des cas un retard dans la régénération des Planaires irradiées par rapport aux témoins chauffés à la même température par chauffage classique (planche 1a). Le retard est variable. Il peut aller de 2 à 4 jours. Ce retard est mesuré en fonction de l'apparition des yeux au niveau de blastème. Dans de rares cas, la régénération peut être bloquée (planche 1b)

3) Nous avons remarqué une dépigmentation importante des animaux irradiés (planche 2). Cette dépigmentation est beaucoup plus sensible au niveau des parties antérieures qu'au niveau des parties postérieures. Ce phénomène spectaculaire s'observe dans plus de 80% des animaux irradiés et sectionnés. Ce processus de dépigmentation peut être imputé aux effets spécifiques des microondes dans la mesure où les animaux chauffés à la même température ne présentent aucune anomalie tégumentaire.

#### III-1-2-1-1- Discussion.

Les différences observées entre animaux irradiés et animaux témoins, aussi bien au niveau de la régénération qu'au niveau de la pigmentation, plaident en faveur d'une action spécifique des microondes. Mais le phénomène thermique doit intervenir car les différences s'atténuent quand la température d'expérimentation baisse. Il n'est pas impossible qu'un gradient de température se crée lors de l'irradiation entre le fond de la boîte de Pétri où se trouvent les animaux et la surface. Cette augmentation ponctuelle, que l'on ne retrouve pas dans le cas d'un chauffage classique, serait responsable des anomalies observées. Afin d'éviter l'installation de ce gradient de température, une pompe péristaltique permettant de placer en série un bain d'eau thermostaté, la cuve d'irradiation et la cuve témoin, a été nécessaire.

#### III-1-2-2- Irradiation avec contrôle de la température.

La figure 7 montre le dispositif utilisé pour ce type d'irradiation. Le débit important (100 ml/mn) imposé par la pompe évite toute augmentation de température de l'eau dans la cuve d'irradiation. La connaissance de la température du bain thermostaté permet donc de connaître la température des animaux irradiés et témoins.

Les irradiations ont une durée de 5 jours (24 h sur 24) et la température du milieu est maintenue constante à 25°C. Aucune différence de température n'a été détectée par le thermocouple enregistreur entre le bain thermostaté, la "cuve d'irradiation" et la "cuve témoin". Pour chaque série de manipulations, la puissance était déterminée et constante.

NB- L'enregistrement des températures se fait rapidement après un bref arrêt de l'émission afin d'éviter l'interaction microondes-thermocouple.

### III-1-2-2-1- Remarques.

- 1) Quelle que soit la puissance incidente, la mortalité est toujours plus faible au niveau des parties postérieures qu'au niveau des parties antérieures, mais elle est plus importante au niveau des irradiés qu'au niveau des témoins (tableau 3).
- 2) Un pourcentage important (60 à 70%) d'animaux irradiés présentent un retard dans la régénération. Ce retard est surtout très sensible au niveau des parties postérieures (planche 3) et peut atteindre 5 jours.
- 3) Aucune manifestation pigmentaire n'apparaît à la suite des irradiations.

### III-1-2-2-2- Discussion.

L'effet spécifique des microondes est là encore mis en évidence. D'une part, la différence de mortalité entre animaux sectionnés et irradiés et animaux sectionnés témoins placés dans les mêmes conditions de température en est la preuve. Une énergie d'origine électromagnétique a une influence beaucoup plus néfaste sur les organismes qu'une énergie thermique classique. Il faut souligner également une différence significative de mortalité entre parties antérieures et parties postérieures aussi bien chez les irradiés que chez les témoins. Ceci s'explique par une thermosensibilité différente entre la partie contenant le cerveau et le reste du corps.

D'autre part, le retard dans la régénération des animaux irradiés soit en vase clos, soit avec circulation d'eau thermostatée, renforce l'idée d'une action spécifique des microondes.

Quant au phénomène de dépigmentation obtenu en vase clos uniquement, il confirme l'existence d'un gradient de température dans la cuve d'irradiation, gradient que l'on supprime par une circulation rapide de l'eau. Par conséquent, les modifications épidermiques sont d'origine thermique.

### III-1-3- Irradiation par antenne quart d'onde.

L'antenne, d'une longueur de 1 cm, est posée directement sur la

partie sectionnée de l'animal anesthésié (Fig. 8) Une série de manipula-

tions préliminaires a consisté à faire varier la puissance émise de 100 mW

à 5 watts et à utiliser un seul animal pour chaque puissance incidente afin

de définir le seuil d'efficacité de la dose de microondes sur le blocage

de la régénération et sur la mortalité. Il faut souligner que la durée

d'exposition est brève (5 secondes) afin d'éviter une trop grande nécrose des

animaux irradiés même à basse puissance étant donné que la concentration d'é-

nergie à l'extrémité de l'antenne est beaucoup plus grande que dans le cas

d'une irradiation par guide d'onde. Si on fait le bilan des différentes caté-

gories d'animaux obtenues après irradiations, nous apercevons qu'en-dessous

du seuil établi à 300 mW.5sec, aucune anomalie relative à la régénération ni

aucune mortalité n'est observée. Par contre, dans l'intervalle de puissances

compris entre 300 mW et 2 watts, nous obtenons un fort pourcentage d'animaux

bloqués dans leur régénération ou présentant une régénération anormale notamment

avec un seul oeil au niveau du blastème. Dans ce même intervalle, très peu

nombreux sont les animaux normaux ou nécrosés. Pour une valeur de puissance

supérieure à 2 watts, donc entre 2 watts et 5 watts, la majorité des animaux

meurent par nécrose totale.

Dans le but de vérifier ce premier résultat encourageant, nous

avons irradié un nombre assez important d'animaux (30) avec une énergie

unique de 1 watt x 5 secondes, valeur située largement au-dessus du seuil

d'efficacité correspondant à l'existence d'un effet biologique certain.

Le pourcentage d'animaux non régénérés est de 100%.

La planche 4 montre quelques uns des animaux irradiés non régénérés

obtenus, comparés à un animal témoin sectionné dans le même temps mais régé-

néré normalement.

### III-1-3-1- Discussion.

L'irradiation en guide d'onde, avec des énergies incidentes comparables

à celles utilisées avec l'antenne, n'a pratiquement jamais permis d'obtenir le

blocage de la régénération des Planaires sectionnées. Par contre, le pour-

centage de mortalité est nettement supérieur dans le cas d'une irradiation

par guide que dans celui de l'antenne. Ceci s'explique par une différence

de propagation de l'énergie dans l'organisme. Une énergie émise pendant un



temps très court par une antenne quart d'onde appliquée au niveau de la cicatrisation est très ponctuelle et reste très localisée. Par contre, dans le cas d'une irradiation par guide d'onde, l'énergie est répartie dans tout le corps, la température de l'animal augmente alors, ce qui provoque la mort de ce dernier.

Par conséquent, l'efficacité d'une irradiation par antenne, vis à vis de la régénération des Planaires, réside uniquement dans la localisation très fine de l'énergie au voisinage de l'aiguille. Peut-on imaginer une application médicale de ce type d'irradiation?

Pour le moment, des travaux sont en cours <sup>(36)</sup> afin de définir le diagramme du rayonnement à l'intérieur du volume cible ainsi que de la propagation de l'énergie thermique à partir de la sonde implantée. Il est indispensable de contrôler ces deux facteurs car ce type de traitement ne doit affecter que les tissus pathologiques et préserver les tissus sains. D'autre part, l'hyperthermie créée doit être contrôlée afin d'éviter une nécrose des tissus irradiés et la formation de toxines dans l'organisme. Cet effet secondaire est un problème critique rencontré dans les thérapeutiques microondes du cancer <sup>(37)</sup>. Dans l'état actuel de nos connaissances, seuls les applicateurs de peau, dont la dimension correspond à celle de la masse à chauffer, sont utilisés, sans risque, pour le traitement des cancers profonds.

#### III-1-4- Conclusion.

L'irradiation des Planaires nous a permis de mettre en évidence la spécificité des microondes. En effet, les différences notables observées entre animaux irradiés et animaux témoins sont très significatives. La perturbation de la vitesse normale de la régénération des animaux soumis au traitement hyperfréquence ainsi que les modifications de la pigmentation épidermique de ces mêmes animaux mettent l'accent sur quelques uns des effets biologiques possibles des microondes ainsi que les dangers encourus, dans certaines conditions, par les organismes vivants en général lorsqu'ils sont exposés à un rayonnement non ionisant. Dans le cas des Planaires, l'irradiation par sonde aiguille coaxiale s'est révélée être plus efficace dans le blocage de la régénération que l'irradiation par guide d'onde. Ceci s'explique par une répartition différente de l'énergie. Une énergie microonde appliquée très localement au niveau de la cicatrisation a un effet plus important qu'une énergie incidente répartie de façon plus diffuse dans un volume biologique

déterminé. Les perspectives d'applications sont "alléchantes" mais trop d'inconnues subsistent pour envisager une thérapeutique par irradiation au moyen d'une antenne coaxiale.

III-2- Irradiation des Annélides Polychètes.

III-2-1- Effets des microondes sur les structures cellulaires du prostomium.

Pour cette étude, nous avons fait varier les puissances incidentes, les durées d'exposition du prostomium aux microondes ainsi que les temps séparant la fin des irradiations de la fixation des pièces dans le liquide de Bouin-Hollande sans acide acétique.

III-2-1-1- Etude au microscope photonique.

III-2-1-1-1- Observations après irradiation en guide d'onde.

Toutes nos irradiations ont été effectuées avec des puissances incidentes comprises en 100 mW et 5 watts. Les temps d'exposition varient de quelques dizaines de secondes pour les puissances les plus fortes à 1 heure pour les puissances faibles. Les énergies utilisées sont fonction de ce que l'on veut observer. Pour chaque type d'irradiation, nous avons utilisé 5 Ne-reis. Nos investigations ont porté sur la cuticule, le tissu épidermique, le cerveau, les structures oculaires, le vaisseau sanguin.

Afin d'exposer de façon rationnelle nos observations et d'obtenir ainsi le maximum d'informations sur les effets des hyperfréquences au niveau des structures tissulaires, nous analyserons un à un les résultats obtenus pour chaque type de traitement avant de tirer une conclusion générale sur les problèmes posés par l'irradiation microonde.

III-2-1-1-1-1- Observations faites après irradiation du prostomium avec une énergie incidente de 100 mW x 3600 sec.

Ce type de traitement correspond à une puissance incidente relativement basse et une énergie non létale pour les animaux. La planche 5 montre les lésions cellulaires occasionnées par l'irradiation. Plusieurs remarques s'imposent :

- Lorsqu'il y a perturbations cellulaires, celles-ci n'affectent que les structures les plus externes : les yeux, le tissu épidermique. Le cerveau est toujours intact. Par conséquent, la profondeur de pénétration de l'énergie microonde, dans le cas d'une irradiation à basse puissance, est faible. Les structures épidermiques altérées semblent se rétracter sous une cuticule apparemment normale.

- La planche 5a montre une structure dorsale de la partie antérieure d'une Nereis diversicolor, dégradée à la suite d'une irradiation unique à 100 mW x 3600 s. (Fixation dans le Bouin 72 heures après la fin du traitement). Les yeux et l'épiderme sont très altérés. Ces cellules se dissocient dans un vide tissulaire entre le cerveau et la cuticule.

- La planche b correspond à la même structure mais irradiée 2 fois à 24 heures d'intervalle avec une dose de 100 mW x 3600 s. (Fixation 72 heures après le début du traitement). Les tissus externes sont là aussi altérés. Le cerveau reste intact.

Il était donc logique de penser que 3 irradiations de 100 mW x 3600 sec. effectuées à 24 heures d'intervalle (fixation 72 heures après le début du traitement) auraient accentué la modification des structures externes. Or, la planche 5c, correspondant à ce type de traitement, fait apparaître une organisation quasi parfaite des yeux, du cerveau et de l'épiderme.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons affirmer que la profondeur de pénétration des ondes à cette puissance est faible : le cerveau étant toujours intact. D'autre part, il est évident que pour une même souche animale, la radiorésistance varie d'un individu à l'autre. Ceci confirme les observations faites par Dumas (38), (39) sur la variation de la triglicéridémie chez la souris. De ce fait, l'efficacité d'un traitement microonde ne pourra être établie qu'après avoir réalisé des statistiques sur les résultats obtenus auprès d'un échantillon assez important d'individus irradiés. L'inhomogénéité des résultats reflète les problèmes posés par la biologie dans le domaine des réactions individuelles face aux agressions extérieures.

III-2-1-1-1-2- Observations faites après irradiation du prostomium  
avec une énergie incidente de 1 watt x 300 sec.  
(fixation : 24 heures après traitement).

Cette énergie, correspondant à une puissance moyenne d'irradiation, a permis de mettre en évidence la valeur de la profondeur de pénétration des ondes dans un échantillon biologique donné. En effet, la planche 6a correspondant à une coupe horizontale et très dorsale montre l'altération des structures périphériques de la tête de Nereis : l'épiderme et l'oeil sont très touchés. Ces structures sont un peu moins dégradées dans la région de moyenne profondeur (planche 6b). Par contre, dans la partie assez ventrale du cerveau (planche 6c) les tissus restent intacts. Par conséquent, le degré de destruction tissulaire est fonction de la distance séparant les tissus concernés du

point d'impact du faisceau incident sur l'échantillon biologique. Il existe donc une atténuation de l'énergie incidente dans le milieu considéré. Il faut noter que le cerveau reste compact quel que soit le niveau de coupe. Ceci peut s'expliquer soit par le fait que les structures périphériques jouent un rôle protecteur du cerveau vis à vis des microondes, soit par une différence de radiosensibilité des tissus. Cette radiosensibilité différentielle a déjà été mise en évidence sur des cellules sexuelles mâles de souris <sup>(40)</sup>.

III-2-1-1-1-3- Observations faites après irradiation du prostomium  
avec une énergie incidente de 5 w x 30 sec.

L'énergie est, cette fois, plus faible (150 W sec) que celle des deux manipulations précédentes, par contre, la puissance incidente est beaucoup plus élevée. Dans ces conditions nous nous apercevons que les hyperfréquences ne créent aucune perturbation structurale tissulaire immédiate, mais les dégradations apparaissent dans le temps. En effet, si la fixation des parties irradiées se fait dès la fin du traitement microonde, les structures sont conservées et identiques à celles des témoins (planche 7a). Par contre, si la fixation a lieu 24 heures après l'irradiation on remarque une modification de l'épiderme et des yeux (planche 7b) et parfois une vacuolisation du cerveau (planche 7c). Au bout de 48 heures, la dégradation est plus importante; elle touche non seulement les yeux et l'épiderme mais également et dans tous les cas, le cerveau (planche 8a). Celui-ci présente de nombreuses lacunes, signes d'un dysfonctionnement cérébral. La planche 8b montre quelques cellules neurosecrétrices fuschinophiles (nucléi 20) isolées dans une névroglie très vacuolisée. Parallèlement, des cellules apparaissent dans le vaisseau sanguin (8a). Toutes ces manifestations structurales sont, dans le cas présent, d'origine thermique. L'augmentation de température à cette puissance est rapide et très violente suite à l'absorption de l'énergie par les molécules d'eau en particulier. Ceci provoque leur évaporation créant ainsi la dissociation des cellules avec apparition de lacunes provenant d'une augmentation de l'espace intercellulaire. Les membranes, responsables de la texture compacte d'un tissu, semblent donc être impliquées dans les phénomènes observés.

III-2-1-1-1-4- Remarques.

Cette étude des effets des microondes sur les structures des parties antérieures de Nereis irradiées en guide d'onde a permis de montrer l'éventail des lésions tissulaires occasionnées par les rayonnements non ionisants. L'épiderme et les yeux semblent être les tissus les plus radiosensibles. De plus, la comparaison des résultats obtenus avec une énergie de 100 mW x 3600 sec soit 360 Wsec et ceux obtenus avec une énergie plus basse de 150 Wsec (5W x 30 sec) indique que les phénomènes produits par l'irradiation sont surtout fonction de la puissance incidente. En effet, pour une puissance incidente faible (100 mW), le cerveau n'est jamais atteint. Par contre, des lacunes apparaissent dans le cas d'un traitement à haute puissance incidente (5W). Par conséquent, à énergie incidente égale, il y a priorité à la puissance <sup>(46)</sup>. Enfin, il faut noter la dégradation progressive des structures en fonction du temps, ceci montre l'importance que l'on doit accorder à l'intervalle séparant la fin des irradiations de l'observation des phénomènes. Il existe un temps de latence dans la réponse des tissus aux microondes ceci est en harmonie avec les conclusions du Stansaas <sup>(26)</sup> sur l'irradiation des cellules BHK 21/C 13.

III-2-1-1-2- Observations après irradiation par antenne quart d'onde.

Nous avons pratiqué ces irradiations en posant la sonde coaxiale sur le prostomium, entre les quatre yeux. L'animal est positionné perpendiculairement à l'antenne. La puissance incidente est de 5 watts et le temps d'exposition 5 secondes. La fixation des parties antérieures des Nereis dans le liquide Bouin Hollande se fait soit au temps  $t = 0$ , immédiatement après la fin de l'irradiation, soit 48 heures après celle-ci. Les observations nous ont amenés à comparer les résultats obtenus par traitement en guide d'onde et traitement par antenne.

La planche 9a montre les lésions provoquées au temps  $t = 0$  immédiatement après irradiation par antenne au niveau du prostomium. Contrairement aux résultats obtenus par guide d'onde où aucune altération n'était observée dès la fin du traitement, l'énergie microonde émise dans le cas présent occasionne une dégradation ponctuelle et spontannée des structures les plus externes, à savoir l'épiderme et une toute petite partie du cerveau située au voisinage de l'antenne.

Par contre, 48 heures après l'exposition, les modifications structurales sont plus spectaculaires. Les deux yeux situés du même côté par rapport à l'axe du corps s'ouvrent vers l'extérieur. L'épiderme proche des organes visuels est désorganisé et le cerveau immédiatement sous cet épiderme présente de nombreuses lacunes dans la névroglie (planche 9b). Des plans plus larges permettent de voir l'unilatéralité des dégradations. En effet, la planche 9c montre un épiderme anormal où les cellules ne sont plus jointives et un cerveau très vacuolisé sur une moitié. L'autre moitié est compact, ce qui laisse supposer qu'il reste fonctionnel en partie. Cette unilatéralité est également mise en valeur sur la planche 10. Les deux yeux situés du côté de l'antenne sont altérés alors que sur le côté opposé ils sont intacts (planche 10a). La planche 10b montre la frontière existant entre un épiderme modifié décollé de la cuticule à la suite de l'irradiation et un épiderme normal. Les Corpora pedunculata, d'ordinaire amas très dense de cellules, se dissocient augmentant ainsi les espaces intercellulaires après l'irradiation. La planche 10c met en valeur la différence entre un corps pédonculé touché et dissocié par l'énergie microonde et l'autre que l'on peut considérer comme témoin puisqu'il se présente sous la forme d'une masse très compacte.

Toutes ces observations soulignent la localisation très fine de l'énergie microonde au voisinage de l'antenne. Cette ponctualité se manifeste par une dégradation des structures proches du point de contact entre la sonde coaxiale et le tissu biologique. Il est évident que plus l'énergie incidente sera importante et plus le volume tissulaire touché sera grand. Par conséquent, en thérapeutique microonde, il est impératif de déterminer le volume cible avant de pratiquer tout traitement.

### III-2-1-1-3- Discussion.

Toutes ces études faites sur l'irradiation des parties antérieures de Nereis ont permis de mettre à jour quelques points essentiels dans la compréhension des interactions pouvant exister entre milieu biologique et microondes.

- Il y a une radiosensibilité différentielle des tissus vis à vis des ondes non ionisantes. L'épiderme et les yeux sont les tissus les plus radiosensibles (41).

- Lorsqu'un tissu est touché par l'énergie incidente, sa dégradation n'est pas immédiate mais s'effectue dans le temps. Cette dégradation se manifeste par une dissociation des cellules et apparition de lacunes. Ces lacunes sont très visibles dans la névroglie. Ceci rejoint un peu les conclusions d'Albert <sup>(9)</sup> sur la vacuolisation des neurones irradiés.

- La répartition de l'énergie microonde dans un tissu biologique est différente selon que l'irradiation a lieu en guide d'onde ou par sonde coaxiale. Elle est plus localisée dans le cas de la sonde.
- Enfin il faut noter que les résultats ne sont pas toujours à la hauteur des espérances. La reproductibilité des phénomènes est difficile et nous devons dans tous les cas avoir recours aux statistiques avant de pouvoir conclure.

### III-2-1-2- Etude au microscope électronique.

Nos observations se sont limitées à l'étude des Corpora pedunculata, des neurones sécréteurs (nuclei 7), de la névroglie située à proximité des C.P. L'interprétation des résultats obtenus au niveau des nuclei 14 et 20 n'a pas été envisagée car elle est rendue difficile par la position et le nombre de cellules chromophiles variant d'un individu à l'autre, même dans une population homogène de vers de même âge et de même sexe.

Les irradiations ont eu lieu soit en guide d'onde, soit par antenne coaxiale posée sur le prostomium avec des doses variables.

Expérience I : 50 mW x 45 minutes (en guide d'onde).

Expérience II : 100 mW x 15 minutes (en guide d'onde).

Expérience III : 5 watts x 30 secondes (en guide d'onde).

Expérience IV : 500 mW x 120 secondes (par antenne quart d'onde).

Mais avant de présenter des résultats obtenus au niveau des C.P., Nucléi 7 et de la névroglie après irradiation, il est nécessaire de décrire ces mêmes structures prises sur un animal témoin.

#### III-2-1-2-1- Structures normales.

- Corpora pedunculata (C.P.).

Les cellules des C.P. peuvent être contigües ou séparées par une couche peu épaisse de névroglie. Elles présentent un noyau riche en hétérochromatine répartie à la fois à la périphérie et en amas dispersés dans le nucléoplasme. Sur certains noyaux, une à deux masses arrondies (diamètre approximatif = 10  $\mu$ ) d'aspect également granulaire mais moins denses aux électrons que les précédents, suggèrent des organisateurs nucléolaires. L'euchromatine est très dispersée.

Le cytoplasme renferme beaucoup d'organites : très nombreux ribosomes libres et mitochondries, dictyosomes dont les grains élémentaires de sécrétion, toujours rares, participent vraisemblablement à la formation d'un corps dense observable à proximité. Il faut noter la présence d'un ergastoplasme assez rare et de glycogène.

- Cellules neurosecrétrices (sensu lato).

Contrairement à celui des cellules des C.P., le noyau possède peu d'hétérochromatine. Par contre, la présence d'un ou même de deux nucléoles semble constante et atteste de l'importance de l'activité cellulaire. Dans le cytoplasme, on note d'ailleurs en plus des ribosomes libres (moins fréquents que dans les cellules des C.P) et des mitochondries, la large distribution de l'ergastoplasme, des dictyosomes et par voie de conséquence des grains élémentaires de sécrétion (diamètre moyen : 1  $\mu$ ).

- Cellules névrogliales.

L'étude comparative a été réalisée par Baskin chez plusieurs Nereis.

L'un des types cellulaires ("fibron glial cells" selon Baskin) très abondant au voisinage des C.P. comporte un noyau caractérisé par sa densité aux électrons. Comme dans le noyau des cellules de C.P., des amas d'hétérochromatine sont visibles dans le nucléoplasme et à la périphérie. Le cytoplasme est riche en organites : ergastoplasme, appareil de golgi ou mitochondries. Du glycogène (sous les formes  $\alpha$  et  $\beta$ ) est également présent. Toutefois, ce qui, en plus du noyau caractérise ce type cellulaire, c'est l'abondance de filaments gliaux groupés en faisceaux et de particules moyennement denses aux électrons et de forme allongée (longueur 3,7  $\mu$ ). Des tonofilaments participent à la formation des desmosomes existant entre les éléments gliaux.

III-2-1-2-2- Observations des structures irradiées.

III-2-1-2-2-1- Observations après irradiations en guide d'onde.

- Expérience I (50 mW, 45 minutes, fixation au bout de 24 heures).

Cette énergie (135.000 mW sec.) correspond à une puissance relativement faible (50 mW). En général, les corps cellulaires des C.P. n'ont pas subi de modification. Les noyaux sont intacts : la répartition de la chromatine est identique à celle observée chez les témoins. Le cytoplasme et les organites cytoplasmiques (mitochondries, golgi, ergastoplasme) présentent un aspect tout à fait normal (planche 11a). Les seules altérations concernent la névroglie. La planche 11b, illustrant ces modifications de nature gliale, fait apparaître des espaces intercellulaires parfois importants. Les seuls points de contact entre les cellules sont les desmosomes. Les membranes cellulaires semblent se détacher les unes des autres donnant ainsi naissance à des "vides intermembranaires". Par contre, la glie située entre les péricaryons des C.P. n'est pas affectée (planche 12 a). Cela serait-il lié à la radiosensibilité différente entre deux cellules elles-mêmes différentes comme l'ont déjà suggéré Albert et De Santis <sup>(9)</sup>? La question reste posée.



- Expérience II (100 mW, 15 minutes, fixation au bout de 48 heures).

Comme dans le cas précédent, la névroglie présente de larges espaces intercellulaires. Par contre, la glie située entre les péricaryons des C.P. reste compacte (planche 12a). Les cellules neurosecrétrices ont un aspect tout à fait normal (planche 12a) en particulier le noyau, l'ergastoplasme, les mitochondries et les grains de neurosecrétion. Les seules cellules à être altérées par l'irradiation sont les cellules névrogliques. En effet, les mitochondries de ces cellules semblent être lésées (planche 12b). Les crêtes et la membrane interne disparaissent. Le volume de ces organites cellulaires augmente considérablement à la suite de l'irradiation. Dans une même cellule peuvent coexister des mitochondries intactes et altérées. Par contre, le noyau, l'ergastoplasme et le golgi de ces cellules névrogliques sont comparables aux témoins.

- Expérience III (5 watts, 5 secondes, fixation au bout de 48 heures).

Ce type d'irradiation correspond à une puissance forte et un temps relativement court. Les "méats" intermembranaires des cellules névrogliques sont toujours visibles ainsi que les desmosomes.

Au niveau des noyaux des C.P. l'hétérochromatine paraît plus dense aux électrons que chez les témoins. L'enveloppe nucléaire de ces mêmes noyaux est fortement élargie et déformée et sa membrane externe est bien moins riche en ribosomes (planche 13a). Ceci infirme les constatations négatives faites par Albert et De Santis <sup>(9)</sup> sur les noyaux des cellules nerveuses de cochons d'Inde irradiés. L'ergastoplasme est souvent dilaté et la paroi est devenue presque lisse; les mitochondries ont l'aspect de vacuoles, les crêtes disparaissent, leur activité métabolique est donc profondément modifiée (planche 13a).

Enfin au niveau des cellules neurosecrétrices, les grains élémentaires sont vacuolisés.

III-2-1-2-2-2- Observations après irradiation par antenne quart d'onde.

- Expérience IV (500 mW, 2 minutes, fixation au bout de 24 heures).

L'énergie utilisée dans cette expérience est bien plus faible que celle des expériences précédentes et pourtant les lésions cellulaires sont beaucoup plus importantes. Ceci confirme les observations faites au microscope photonique : pour une énergie identique, l'effet est plus drastique dans le cas d'une irradiation par antenne que dans le cas d'une irradiation par guide d'onde. L'hétérochromatine devient très dense aux électrons. Les membranes cytoplasmiques des C.P. se fragmentent et les cellules ne sont plus jointives (planche 13b). L'enveloppe nucléaire est souvent rompue. Les organites cellulaires ne sont plus discernables. Les mitochondries perdent leur membrane interne et augmentent fortement de volume.

### III-2-1-3- Discussion.

La première remarque qui s'impose est l'extrême radiosensibilité de la névroglie. En effet, quelle que soit l'énergie incidente, des espaces intercellulaires apparaissent au niveau du tissu glial. Ces espaces augmentent en nombre et en surface proportionnellement à l'énergie; seule la glie entourant les péricaryons des C.P. reste intacte. La formation de ces "vides" peut s'expliquer par l'impact des microondes au niveau de certains ions, en particulier les ions  $Ca^{++}$  jouant le rôle de "ciment" entre deux cellules grâce aux liaisons ioniques qu'ils créent avec les acides aminés basiques des protéines membranaires. Le champ électromagnétique délocaliserait les électrons périphériques du  $Ca^{++}$  (56) provoquant ainsi des modifications des propriétés de cet ion. Ceci aurait pour effet de changer l'activité et la configuration des macromolécules dépendant du  $Ca^{++}$ , en particulier les enzymes et les protéines de membrane.

Les organes cellulaires les plus souvent lésés sont les mitochondries. Elles sont vides de tout contenu et se présentent sous la forme de véritables vacuoles probablement dépourvues de toute activité métabolique.

Enfin, le noyau, pour une certaine valeur de l'énergie, (5 W x 30 sec. en guide d'onde et 500 W x 120 sec. par antenne) présente une modification de son enveloppe et de sa densité aux électrons.

### III-2-2- Effets des microondes sur la régénération caudale.

#### III-2-2-1- Irradiation en guide d'onde.

Les animaux anesthésiés, séchés sur papier filtre sont sectionnés au tiers postérieur puis introduits dans le guide d'onde. Nous avons fait varier la puissance incidente de 100 mW à 5 watts. Nous avons remarqué qu'il n'existait aucune différence significative dans la régénération caudale entre animal irradié et animal témoin placé dans les mêmes conditions mais n'ayant pas subi le "choc" microonde et ceci quelle que soit la puissance ou l'énergie d'irradiation utilisée.

#### III-2-2-2- Irradiation par antenne quart d'onde.

Des expériences préliminaires ont permis de déterminer les doses d'énergie efficaces sur la régénération caudale des Nereis diversicolor sectionnées au tiers postérieur et irradiées immédiatement après la section. En effet des puissances inférieures à 1 watt n'ont aucune répercussion sur la prolifération cellulaire et ceci pour des temps d'exposition de 5 sec. De plus, des irradiations répétitives de la partie sectionnée ou, à la fois de la partie sectionnée et du prostomium, provoquent la mort des animaux ainsi traités. Par conséquent, les Nereis ne subiront qu'une seule irradiation au niveau de la

section avec des doses d'énergie supérieures à 1 watt. La durée du traitement est identique pour toutes les puissances situées au-dessus du seuil, soit 5 secondes.

La planche 14 met en évidence le retard et même le blocage de la régénération de 2 Nereis irradiées depuis 32 jours, l'une (14a) avec une dose de 5 watts x 5 sec., l'autre (14b) avec une dose de 1 watt x 5 sec.

Il faut noter néanmoins la présence d'un bourgeon de régénération, dépourvu de cirres anaux pour l'animal irradié à 5 watts x 5 sec. La segmentation n'a pas lieu, le régénérat reste indifférencié. Par contre, l'animal témoin (T) sectionné en même temps que les deux autres, régénère normalement et présente un régénérat constitué d'une dizaine de métamères.

### III-2-2-3- Discussion.

Comme nous l'avons déjà constaté au niveau de la régénération chez les Planaires, l'irradiation par antenne quart d'onde semble être plus efficace dans le blocage de la prolifération cellulaire qu'une irradiation par guide d'onde. De plus, l'efficacité est fonction de la dose reçue, celle-ci doit être supérieure à un seuil déterminé. Des observations au microscope photonique de coupes des parties caudales irradiées après 32 jours, montrent l'efficacité d'un traitement d'énergie (1 watt x 5 sec.) par rapport à (5 watts x 5 sec.). Ceci va à l'encontre de certaines idées préconçues, à savoir que plus l'énergie est forte et plus les effets observés sont importants. L'explication de ce phénomène inattendu réside peut être dans l'espèce animale que nous avons choisie. En effet, une irradiation à forte dose (5 watts x 5 sec.) provoque la nécrose des tissus traités et leur rejet dans le milieu extérieur. La partie restant intacte peut donc régénérer (planche 15b) et présenter un bouchon cicatriciel. Par contre, une énergie de (1 watt x 5 sec.) perturbe de façon irréversible et sans nécrose l'organisation tissulaire et le métabolisme cellulaire au niveau de la section (planche 15a). Ces altérations bloquent les processus de régénération. En dessous du seuil de (1 watt x 5 sec.), les altérations mineures peuvent être réparées par les cellules et la régénération se déroule normalement. Boilly <sup>(42)</sup> obtient les mêmes résultats (blocage de la régénération) et on arrive aux mêmes conclusions (détermination d'un seuil de dose efficace) en utilisant non pas une source microonde mais un rayonnement X. Il n'est pas impossible que cette similitude soit due à l'existence d'un seuil d'altération cellulaire. Les hyperfréquences comme les rayons X sont des ondes électromagnétiques qui ne diffèrent que par la valeur de leur fréquence donc de leur énergie.

III-2-3- Effets des microondes sur la durée du temps de l'anesthésie.

Les travaux de Blackwell <sup>(43)</sup>, Waugemann et Cleary <sup>(44,45)</sup> ont montré l'influence des microondes (2,45 GHz, 250 et 500 Wm<sup>-2</sup>) sur des vertébrés, en l'occurrence des souris et des lapins, anesthésiés et irradiés totalement en chambre anéchoïque. Ils ont remarqué une diminution de la durée du temps de sommeil liée à une augmentation de la vitesse de redistribution de la drogue causée par l'activité thermorégulatrice occasionnée par le stress thermique.

Dans notre cas, nous avons étudié l'effet des hyperfréquences sur l'anesthésie de Perinereis Cultrifera, invertébrés poïkilothermes, irradiées localement, dans un guide d'onde, au niveau du système nerveux central.

III-2-3-1- Critères de détermination du sommeil et du réveil des Nereis.

Les animaux sont considérés comme anesthésiés lorsqu'ils ne répondent plus, par un stress, à un choc mécanique. Dès lors, ils sont sortis de l'anesthésie, séchés, soumis au traitement microonde et replacés dans l'eau de mer à côté d'un animal témoin anesthésié non irradié. L'apparition des moindres mouvements (têtes, parapodes, partie caudale) est chronométrée et l'observation est terminée lorsque les animaux présentent le phénomène de torsion sur eux-mêmes.

III-2-3-2- Résultats.

Le tableau 4 présente les résultats obtenus sur un certain nombre d'irradiations. Il faut noter avant toute chose que les énergies utilisées ne sont pas létales pour les animaux.

Plusieurs remarques s'imposent :

- Pour des puissances incidentes élevées et des temps d'irradiation relativement courts, l'animal irradié a une durée d'anesthésie plus courte que chez le témoin placé dans les mêmes conditions.
- Pour des puissances incidentes élevées et des temps d'irradiations élevés, l'écart entre l'instant où l'animal irradié s'éveille et l'instant où le témoin s'éveille est encore plus important que dans le cas précédent.
- Pour des puissances faibles et des temps d'irradiation élevés, le résultat est inverse aux précédents. La durée d'anesthésie est plus grande chez les irradiés que chez les témoins.

### III-2-3-3- Remarque.

Les observations mettent en évidence la relation puissance-temps.

Pour des énergies identiques ( $P_i \times t = cte$ ) les phénomènes diffèrent selon la valeur de P et de t. Ceci a été clairement démontré par Tchao <sup>(46)</sup> sur Tenebrio molitor. Une puissance incidente élevée est responsable du stress observé chez les animaux irradiés. Ce stress, d'origine thermique, se visualise sur les cadrans des wattmètres par une variation brusque et transitoire de la puissance réfléchie et de la puissance transmise  $P_t$  à l'instant  $t = 0$  correspondant au début du traitement microonde. La variation de ces deux puissances va dans le sens d'une diminution de  $P_r$  et d'une augmentation de  $P_t$ . L'animal a un instinct de fuite devant l'agression hyperfréquence. Une dose brève et violente d'énergie correspondant à une puissance incidente élevée est responsable du réveil plus rapide des animaux irradiés par rapport aux témoins. Pour des puissances incidentes élevées et identiques, plus l'énergie sera importante, donc plus le temps d'irradiation sera élevé, plus l'écart entre les deux réveils sera important. Les résultats sont totalement inversés lorsque la puissance incidente est relativement faible. En effet, aucun stress n'est observé à l'irradiation et de plus le témoin récupère plus vite que l'irradié.

### III-2-3-4- Discussion.

Cette série de manipulations a eu pour but de montrer l'influence des microondes sur l'anesthésie de poïkilothermes marins. Les observations font apparaître une différence fondamentale entre animaux irradiés et non irradiés d'une part, et entre animaux irradiés à puissance élevée et animaux irradiés à puissance faible d'autre part. Cette différence est liée à l'impact thermique créé par l'onde incidente. L'augmentation de température est brutale et violente pour des puissances fortes, ce qui provoque un stress, responsable du réveil plus rapide des animaux traités. Une augmentation plus lente de la température due à une puissance incidente faible inverse le résultat.

En conclusion, nous pouvons affirmer que les microondes ont une influence sur l'anesthésie des animaux. Ceci confirme les observations de Blackwell <sup>(43)</sup> et Waugemann <sup>(44)</sup>. Mais, contrairement aux conclusions de ces auteurs, le phénomène impliqué n'est pas le système de thermorégulation dans la mesure où nos sujets en sont dépourvus mais uniquement l'activité du système nerveux central perturbé par un choc thermique.

### CONCLUSION GENERALE.

Notre travail a eu pour but de montrer quelques uns des effets biologiques des microondes et de mettre ainsi en évidence les dangers que représentent ces rayonnements non ionisants pour l'organisme. Les résultats obtenus font apparaître des différences significatives selon la technique d'irradiation utilisée. Le traitement par antenne quart d'onde s'avère être le moyen le plus efficace pour le blocage de la prolifération cellulaire chez les Planaires et les Nereis, l'énergie libérée étant, dans ce cas, très ponctuelle. Si le volume cible est important, les applicateurs microondes s'imposeront. Il faut donc adapter la technique en fonction de ce que l'on veut montrer ou obtenir.

D'autre part, nous avons pu mettre également en évidence l'efficacité de traitements répétitifs par rapport à un traitement simple. Ceci pose donc le problème des risques encourus, à long terme, par les "manipulateurs microondes". La même remarque s'impose à la suite des résultats obtenus par irradiation en continu au moyen du cornet émetteur. En effet, des expositions de longues durées semblent bouleverser certains processus biologiques en particulier la régénération animale. Les études épidémiologiques doivent être approfondies afin de limiter ces risques. De plus, pour une thérapeutique microonde, des traitements périodiques successifs doivent être envisagés. Bien entendu, nous n'avons pas la prétention d'avoir cerné ni éclairci en totalité les interactions existant entre microondes et milieux biologiques. Néanmoins, cette étude est complémentaire des travaux entrepris dans le monde entier. En effet, si le nombre de publications concernant les effets des hyperfréquences sur le comportement animal est important, les travaux relatifs aux effets tissulaires et cellulaires le sont beaucoup moins. L'utilisation des hyperfréquences dans le domaine médical et en particulier dans le traitement des tumeurs cancéreuses passe par une étude histologique des tissus irradiés. Mais si les premiers essais sont encourageants, il n'en demeure pas moins que les problèmes restent, tels que le contrôle de la température des tissus pendant le traitement ainsi que l'élimination des toxines. Pour notre part, notre travail se poursuit actuellement. Nous menons une série d'expériences concernant les effets des microondes sur les cultures "prostomium parapodes" de Nereis afin de voir l'influence de ces ondes sur le système neuroendocrinien responsable de la régénération de l'épitoquie et de la maturité des cellules sexuelles. Il est encore trop tôt pour tirer des conclusions sur cette récente étude, notre travail ne fait que commencer.

Etant donné les résultats obtenus à l'heure actuelle, il n'est pas impossible que, dans un avenir proche, les microondes deviennent une nouvelle technique d'investigations dans la compréhension de certains phénomènes biologiques.

## BIBLIOGRAPHIE

- 1) "Death by microwave" - 1980 - Bioelectromagnetics Society News Letter.  
Number 19, p.1.
- 2) SERVANTIE B, KLEIN M.J. - 1979.  
"Exposé général sur les hyperfréquences et leurs effets biologiques S III 1.  
pp. 215-252.
- 3) SERVANTIE B, CRETON B, BRUSCHERA D, ROUSSEL J. - 1980.  
"Diminution de la fréquence cardiaque après exposition à un champ de  
microondes chez le rat blanc" - Ondes Electromagnétiques et biologie.  
Symposium de Jouy-en-Josas. pp. 67 à 69.
- 4) LENDER M. - 1965.  
"La régénération Animale" (Presse universitaire de France).
- 5) DURCHON M. - 1967.  
"L'endocrinologie des Vers et des Mollusques" (Les grands problèmes de la  
Biologie Masson et Cie).
- 6) PORCHET M. - 1976.  
"Données actuelles sur le contrôle endocrine de la maturation génitale des  
Nereidiens" (Annelides Polychètes) An. Biologique T. XV Fasc. 7-8. pp 329-377.
- 7) DURCHON M, et MARCEL R. - 1962.  
CR. Soc. Biol., 156-661-663.
- 8) MILROY W.C, MICHAELSON S.M. - 1972.  
Thyroid pathophysiology of microwave radiation. Aerospace Med. pp. 1126-1131.
- 9) ALBERT E.N. and DE SANTIS M. - 1975.  
"Do microwaves alter nervous system structure?"  
Annals New York Academy of Sciences pp. 87 à 108.
- 10) TOLGSHAYA M.S., GORDON Z.V. - 1973.  
Pathological effects of Radio waves B. Haigh. Transl. Consultants Bureau  
New York N.Y.
- 11) CHOU C.K. and GUY A. - 1978.  
"Effects of electromagnetic fields on isolated Nerve and Muscle prepara-  
tions" I.E.E.E. Transactions on microwave theory and Technics.  
Vol. MTT 26 N° 3.
- 12) KAMENSKU Y.I. - 1964.  
"The effect of microwaves on the functional state of the nerve" Biophys.  
Vol. 9, N° 6, pp. 758-764.



- 13) ROTHMEIER J. - 1970.  
"Effects of microwave radiation on the frog sciatic nerve in Nervous system and electric currents : New York Plenum Press Vol. 1, pp. 57-69.
- 14) SERVANTIE B, GILLARD J, SERVANTIE A.M., OBRENOWITCH J, BERTHARION G, PERRIN J.C., CRETON B, PLURION G.- 1977.  
"Comparative study of the action of 3 microwaves fields upon the behaviour of the white rat. USCN/URSI Ann. Meeting Airlie.
- 15) KLIMKOVA DEUTSCHOVA E. - 1974.  
"Neurologie findings in persons exposed to microwaves". Proc. Internat Symp. 15-17 Oct. 73 Varsaw. 1 Vol. 350 p Polish Med. Publ. Varsaw.
- 16) Mc LAUGHLIN J.T. - 1957.  
"Tissue destruction and death from microwave radiation" (Radar) Calif. Med. 86, 336-339.
- 17) MASTERSON W.D. - 1980.  
"The effects of a constant magnetic field upon human forehead temperature and anxiety levels". URSI/CNFRS Jouy-en-Josas pp. 157-163.
- 18) KEUSHALO D.R. and HALL E.C. - 1974.  
"Thermal thresholds of the rhesus monkey". Journal of the comparative and physiological psychology 86, pp. 902-910.
- 19) SERVANTIE B, SERVANTIE A.M. and ETIENNE J. - 1975.  
"Synchronization of cervical neurons by a pulsed microwave field as evidenced by spectral analysis of électro corticograms". Annals of the New York Academy of Sciences Vol. 247, pp. 82-86.
- 20) DUMAS J.C., LAURENS S, PLURIEN G. - 1979.  
"Microwave irradiation and lipid metabolism in mice". Radio Science 14, 99.
- 21) TCHAO Y.H., HUET C, LENOIR-ROUSSEAU J.J. - 1977.  
"Effet de l'irradiation hyperfréquence sur le mécanisme de tannage chez Ténébrio molitor". C.R. Acad. Sciences Paris t. 284, Série D, pp. 1589-1592.
- 22) TCHAO Y.H., RADZISZEWSKI E, SAU'ZIN-MONNOT M.J., BRIANCON Z, WIKGREN M. - 1978.  
"Effet spécifique de l'impact biologique des microondes SFRP IX - Congrès Int. "Effets biologiques des rayonnements non ionisants". Mainville les Roches - France - p. 301.

- 23) CORRELI J.C., GUTMAUN R.J., KOKAZI S, LEVY J. - 1977.  
"Effects of, 2,6 - 4,0 - GHz Microwave Radiation on COLI B." Journal of Microwave Power 12,2.
- 24) WARD T.R., ALLIS J.W., ELDER J.A. - 1975.  
"Measure of enzymatic Activity Coincident with 2450 MHz Microwave Exposure". Journal of Microwave Power 10 (3) pp. 315-320.
- 25) CHEN K.C. and LIN C.J. - 1978.  
"A system for studying effects of Microwaves on cells in Culture". Journal of Microwave Power 13 (3).
- 26) STENSAAS L.J., PARTLOW L.M., BRISH L.G., IVERSEN P.L., HILL D.W., HAGMANN M.J., and GANDHI O.P.- 1981.  
"Effects of Millimeter-Waves Radiation on Monolayer Cell Cultures". Journal of the Bioelectromagnetic Society, Vol. 2 N° 2, pp. 141-150.
- 27) ZANKER K.S., JUNG R, STAVROU D, BLUMEL G. - 1979.  
"Influence of Microwave Irradiation on cultured glioma cells I. An enzymatic and Scanning Electron Microscopy study". Journal of Microwave Power, 14, 2, pp. 159-162.
- 28) PARLOW L.M., BUSH L.G., STENSAAS L.J., RIAZI A, and GANDHI O.P. - 1981.  
"Effects of Millimeter wave Radiation on Monolayer Cell Cultures Design and Validation of a Novel Exposure System". Journal of the Bioelectromagnetic Society Vol. 2, N° 2, pp. 123-140.
- 29) DEROCHE M. - 1971.  
"Etude des perturbations biologiques chez les techniciens de l'O.R.T.F. dans certains champs électromagnétiques de haute fréquence". Société de Médecine et d'hygiène du travail. Séance du 10 Mai 1971 pp. 679-683.
- 30) SADCIKOWA M.N. - 1973.  
"Chemical manifestations of reactions to microwave irradiation in various occupational groups". Proc. Internat. Symp. 15,17, Warsaw, 1 Vol.
- 31) HO H.S., PINKAVITCH F, and EDWARD W.P. - 1977.  
"Change in average absorbed dose rate of a group of mice under repeated exposure to 915 MHz microwave radiations".  
Proc. of BRH Symp. Bio-effects and measurement of RF/Microwave. Rochville, Maryland p. 201.
- 32) MANIEY J, LE RUZ P, PLURIERI G. - 1980.  
"Effets de l'exposition néonatale aux microondes sur l'évolution ultérieure des fonctions corticotrope et gonadotrope chez le rat". Ondes électromagnétiques et biologie. Symposium international URSI CNFRS pp. 85-88.

- 33) Economie et progrès par l'électricité N° 2, p. 32 référence N° 6  
Avril 82.
- 34) BAILLIE H.D. - 1976.  
"Thermal and non thermal cataractogenesis by microwave".  
HEW, BRH, 70-2, p. 59.
- 35) WARMA M.M., DAGE E.L., and JOSHI S.R. - 1975.  
"Mutagenicity unduced by non-ionizing radiation in swiss male mice".  
Bio effects of electromagnetic waves, Boulder Colorado VI p. 397.
- 36) CASTELAIN A, DUJARDIN B, BIOT F, ROBERT J, ESNANYE JM. - 1980.  
"Etude et modélisation des sondes axiales adaptées à la mesure de  
permittivité "in vivo" de milieux biologiques dans la bande hyper-  
fréquence. Ondes électromagnétiques de Biologie.  
Symposium URSI-CNFRS Jouy-en-Josas pp. 299-301.
- 37) ISRAEL L, RESEVAL M. - 1980.  
"Premiers résultats cliniques d'une hyperthermie localisée par radio-  
fréquences dans les tumeurs profondes". Ondes électromagnétiques et  
Biologie. Symposium URSI-CNFRS, pp. 313-316.
- 38) DUMAS J.C., NOUGAPOLIS D, STOLL M, PLURIEN G. - 1980.  
"Influence de la durée d'exposition aux microondes sur la triglycéridémie  
de la souris". Ondes électromagnétiques et Biologie. Symposium URSI-CNFRS  
Jouy-en-Josas pp. 75-77.
- 39) DUMAS J.C., LAURENS J, PLURIEN G. - 1978.  
"Comparaison de l'effet des microondes sur le métabolisme lipidique de  
plusieurs souches de souris". IX Congrès Int. de la Soc. Fr. Radio-  
protection - Nainville-les-Roches.
- 40) ACHMADIEVA A. CH, SMERNOVA E.N., AKOEV I.G. - 1980.  
"Microwave effect on mice spermatogenesis". Symposium URSI-CNFRS. Ondes  
électromagnétiques et Biologie pp. 89-91.
- 41) CARPENTIER R.L., HAGEN G.J., and DONOVAN G.L. - 1977.  
"Are microwave cataracts Thermally caused". Proc. of B R H Sym. Bio-  
effects and Measurements of RF/Microwaves - Rockville, Maryland p. 353.
- 42) BOILLY B. - 1968.  
"Contribution à l'étude de l'origine des cellules de régénération chez  
les Annelides Polychètes". Thèses présentées à la Faculté des Sciences  
de l'Université de Lille - N° d'ordre 172.

- 43) BLACKWELL R.P. - 1980.  
 "Effets of Microwave exposure on anesthesia in the mouse".  
 Symposium URSI-CNFRS Ondes électromagnétiques et Biologie, pp. 71-73.
- 44) WAUGEMANN R.T., CLEARY S.F. - 1976.  
 "The in vivo effects of 2,45 GHz Microwaves on rabbits Serum Components and Sleeping times". Ra Env. Biophys., 13, 89.
- 45) CLEARY S.F., WANGEMANN R.T. - 1975.  
 "Effect of Microwave Radiation on Pentobarbital Induced Sleeping time".  
 Biological effects of electromagnetic Waves. HEW Publication (FDA), 77, 8010 311.
- 46) TCHAO Y.H., HUET C, LENOIR-ROUSSEAU J.J. - 1977.  
 "Effet de l'irradiation hyperfréquence sur le mécanisme de tannage chez Tenebrio molitor". C.R. Acad. Sc. Paris, t. 284 Série D, pp. 1589-1592.
- 47) TCHAO Y.H., RADZISZEWSKI E, SAUZIN-MONNOT M.J. - 1980.  
 "Effet cumulatif des microondes". Ondes électromagnétiques et Biologie.  
 Symposium URSI-CNFRS - Jouy-en-Josas pp. 47-49.
- 48) JOHNSON C.C. and GUY A.W. - 1972.  
 "Non ionizing electromagnetic wave effects in biological materials and Systems". Proceeding of I.E.E.E. 60, p. 692.
- 49) HOLMGREN N. - 1916.  
 Zur vergleichenden Anatomie des Gehirn von Polychäten, Onychophoren, Xyphosuren, Arachniden, Crustaceen, Myriapoden und Insekten. Kgl. Svenska Vetenskapsakad., 56 (1) pp. 1-303.
- 50) BULLOCK T.H., HORRIDGE G.A. - 1965.  
 "Structure and function in the nervous systems of Invertebrates. W.H. FREEMAN and Company, San Francisco and London.
- 51) DHAINAUT-COURTOIS N. - 1970.  
 "Contribution à l'étude morphologique des processus sécrétoires dans le système nerveux central et au niveau de la glande infracérébrale des Nereidae (Annélides Polychètes)". Thèse Doctorat Sci. Nat. Lille pp. 1-191.
- 52) GOLDING D.W., WHITTLE A.C. - 1977.  
 "Neurosecretion and related phenomena in Annelids". Int. Rev. Cytol., suppl. 5, pp. 189-302. Acad. Press., inc. New York.

53) ENGELHARDT R.P. - 1976.

"Etude du complexe cérébro-vasculaire des Néréidiens (Annélides Polychètes)". Mise au point Bibliographique et étude morphologique chez Nereis diversicolor O.F. Müller. D.E.A. Lille.

54) ENGELHARDT R.P., DHAINAUT-COURTOIS N, TRAMUS G. - sous presse.

"Immunohistological demonstration of a C.C.K. like peptide in the nervous system of a marine annelid worm, Nereis diversicolor O.F. Müller Cell and Tissue Research.

55) REYNOLDS E.S. - 1963.

"The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. J. Cell. Biol. 17, pp. 208-212.

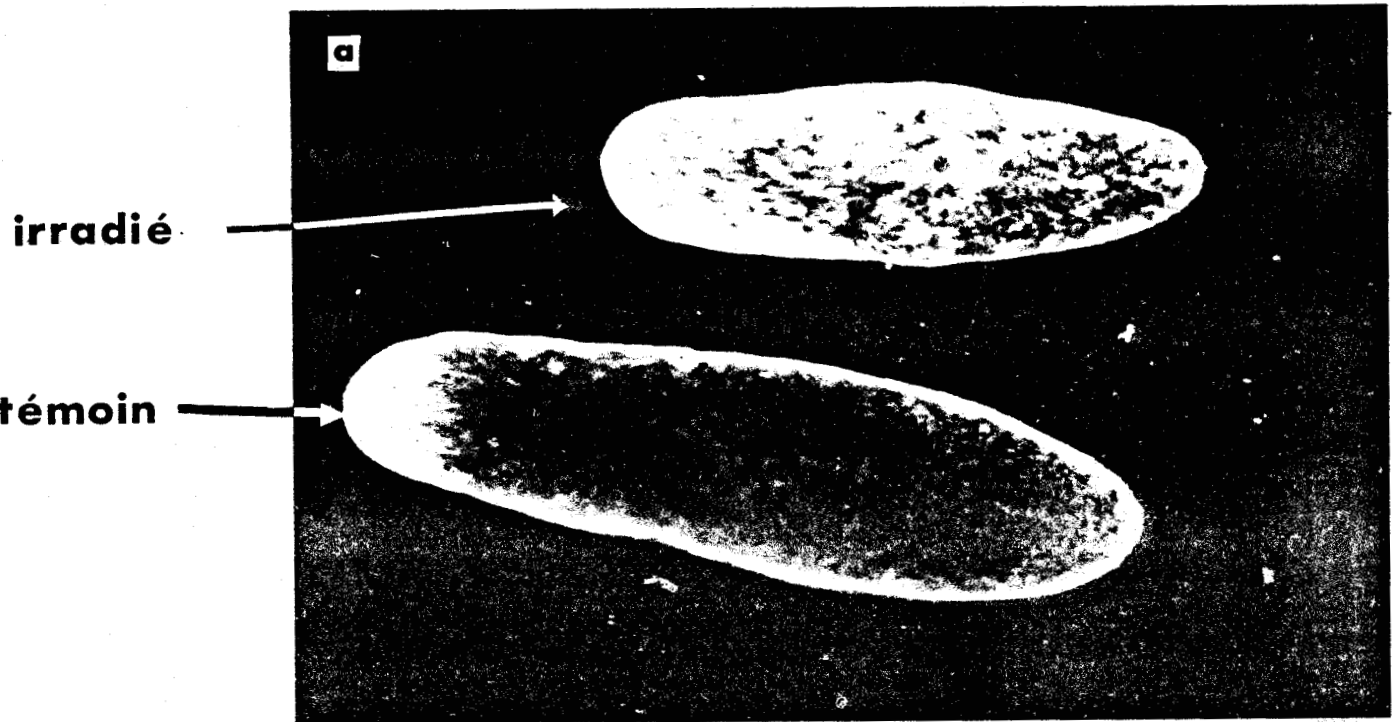
56) FROLICH H. - 1977.

"Possibilities of long and short range electric interactions of biological systems". Neurosci. Res. Programm Bull. 15, pp. 67-72.

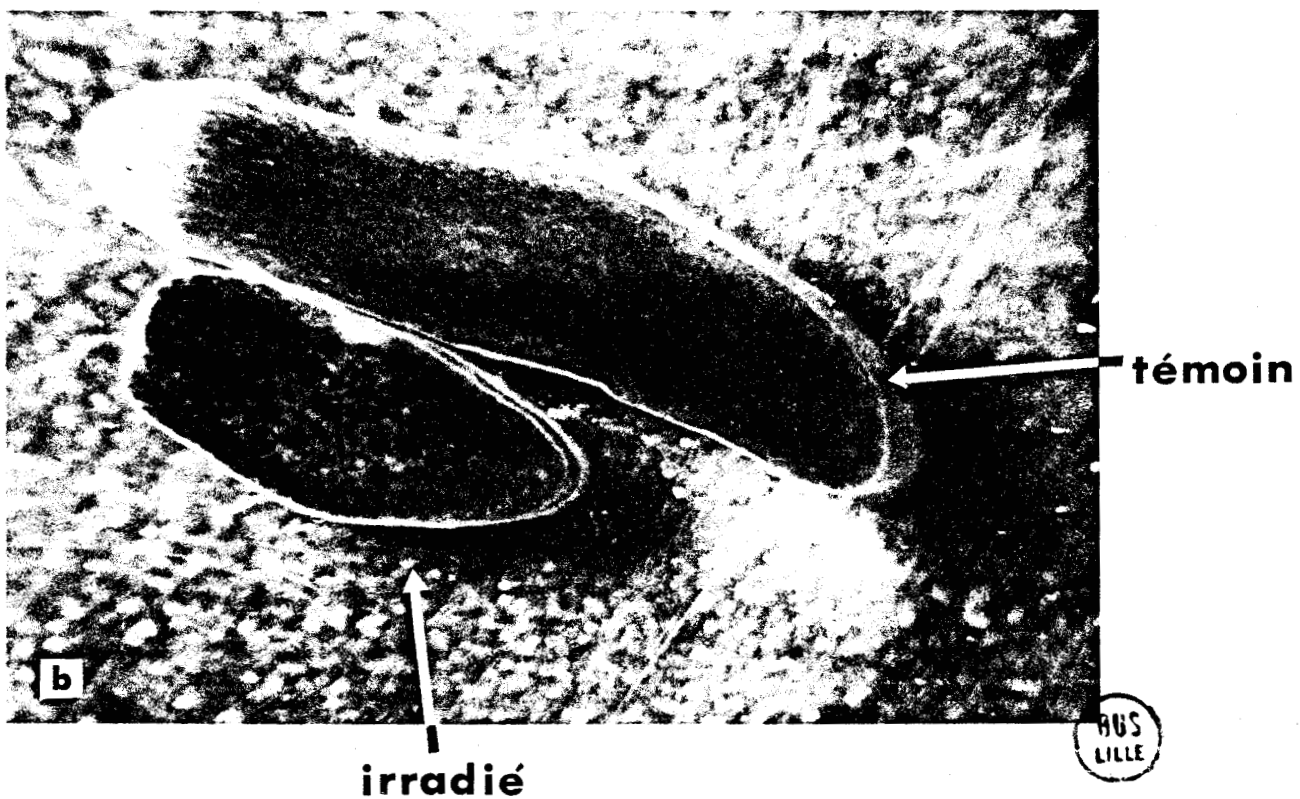
57) ROBERT J, ESCANYE J.M., THOUVENOT P, MARCHAL C. - 1980.

"Influence de l'hyperthermie sur le débit vasculaire régional de la souris C 3H porteuse de rhabdomyosarcome chimioinduit". Symposium URSI : Ondes électromagnétiques et Biologie pp. 302-307.

# PLANCHE I

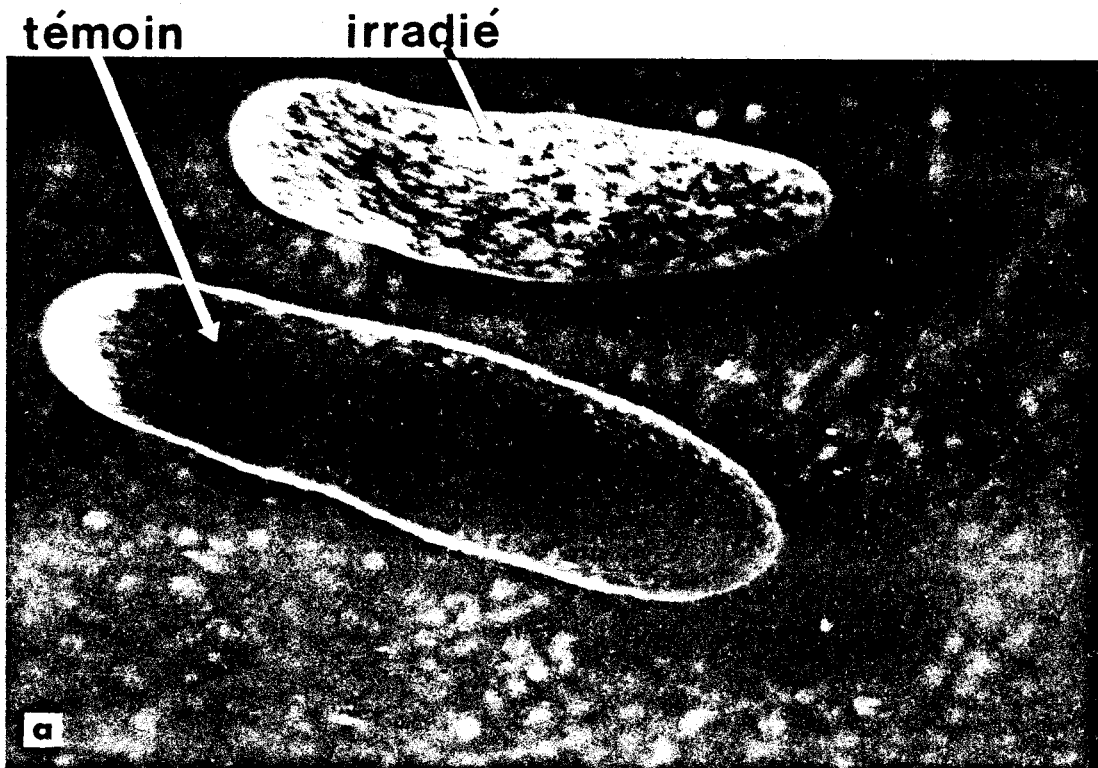


- a) Différence de vitesse de régénération entre animal témoin chauffé à 25° C par bain thermostaté et animal irradié pendant 5 jours (24 h/24) en vase clos par cornet émetteur. Noter la différence de longueur des blastèmes ainsi que le retard dans l'apparition des yeux chez l'animal irradié (puissance utilisée : 500 mW).

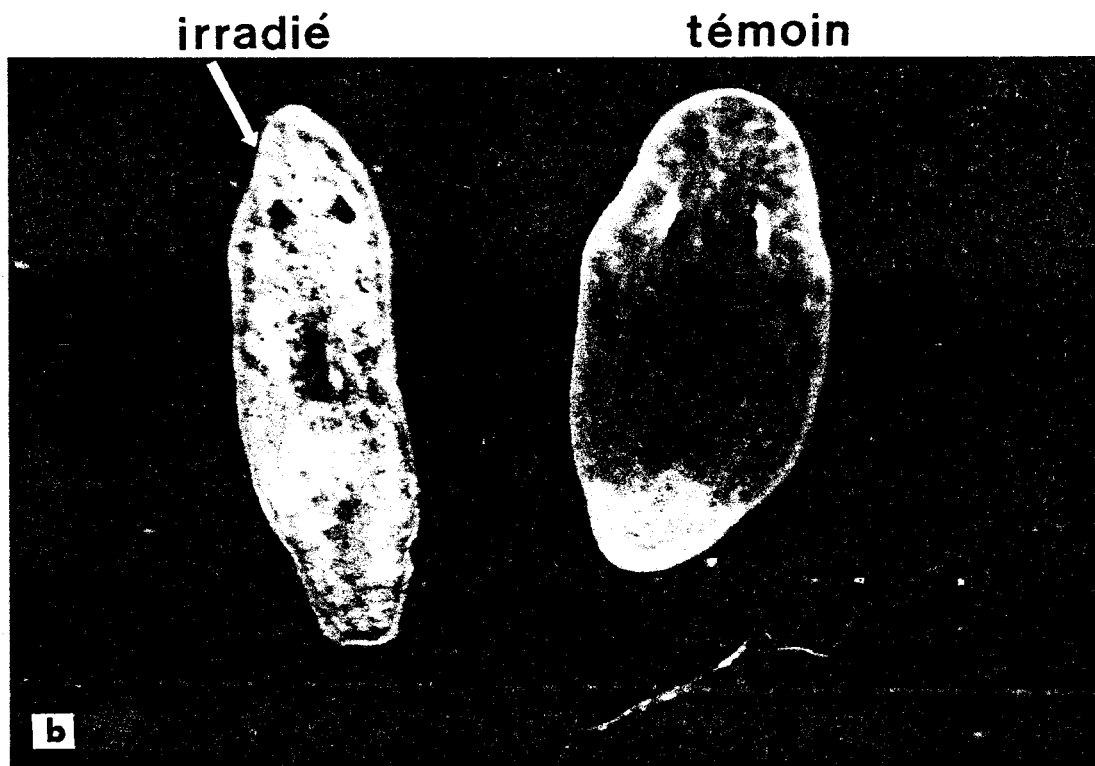


- b) Mêmes conditions expérimentales que ci-dessus. Dans certains cas, la régénération est bloquée pour l'animal irradié.

## PLANCHE 2

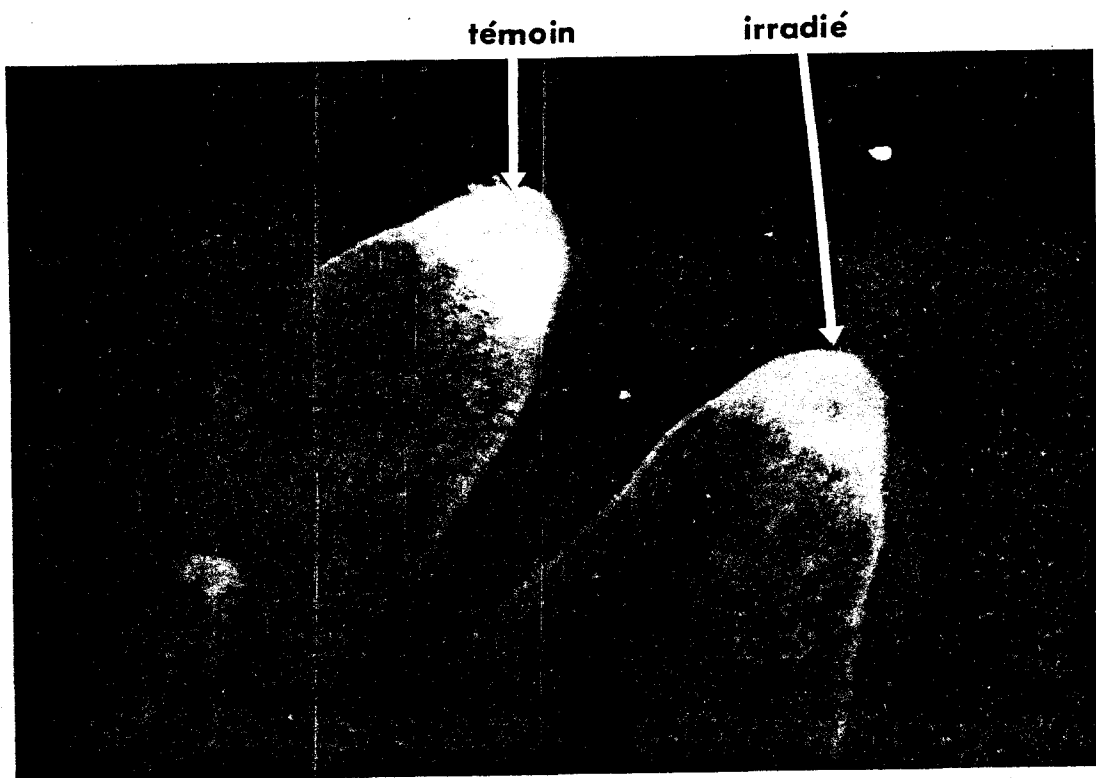


- a) Dépigmentation importante de la partie postérieure d'une Planaire irradiée en voie de régénération par rapport à un témoin placé dans les mêmes conditions thermiques. Puissance d'irradiation : 500 mW pendant 5 jours (24h/24) en vase clos.



- b) Dépigmentation de la partie antérieure d'une Planaire irradiée par rapport à un témoin placée dans les mêmes conditions thermiques. A noter une différence dans la forme des yeux ainsi que dans la morphologie générale des animaux. Puissance d'irradiation : 500 mW pendant 5 jours (24h/24) en vase clos.

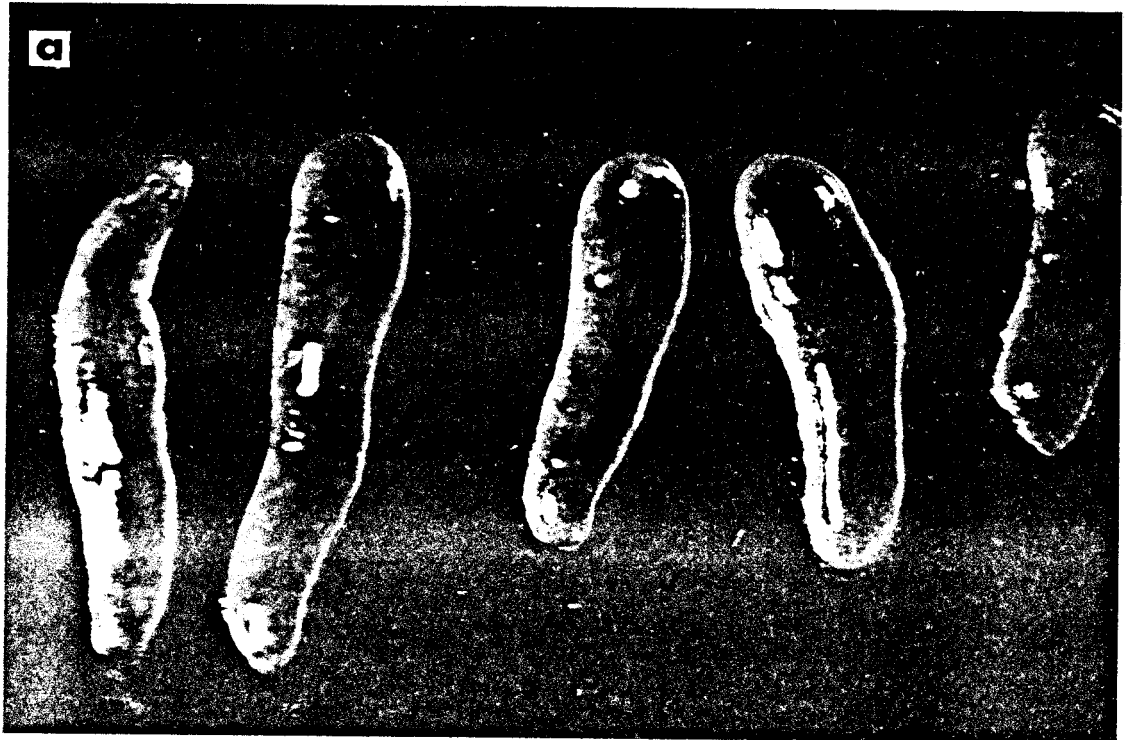
# PLANCHE 3



Régénérations d'un animal témoin placé à 25° C et d'un animal irradié, par cornet émetteur, dans une cuve avec circulation d'eau thermostatée à 25° C (Puissance émise 1,5 Watts, irradiation 24h/24 pendant 5 jours).  
Noter le retard dans l'apparition des yeux chez l'animal irradié par rapport au témoin.



# PLANCHE 4



US  
LILLE

a et b) Blocage de la régénération des Planaires après irradiation par antenne quart d'onde (Puissance 1 Watt, durée 5 secondes).  
i = animaux irradiés depuis 4 semaines.  
t = animaux témoins régénérés.

Partie antérieure d'une Nereis diversicolor irradiée en guide d'onde.  
(Puissance : 100 mW - durée : 3600 sec.)

Fig. A : Coupe horizontale : Animal irradié une seule fois.  
(Fixation 72 heures après la fin du traitement).  
Yeux et épiderme altérés, cerveau intact.

Fig. B : Coupe horizontale : Animal irradié deux fois à 24 heures d'intervalle.  
(Fixation : 72 heures après le début du traitement).  
Yeux et épiderme altérés, cerveau intact.

Fig. C : Coupe transversale : Animal irradié trois fois à 24 heures d'intervalle  
(Fixation 72 heures après le début du traitement).  
Yeux, épiderme et cerveau intacts.

Ce = cerveau

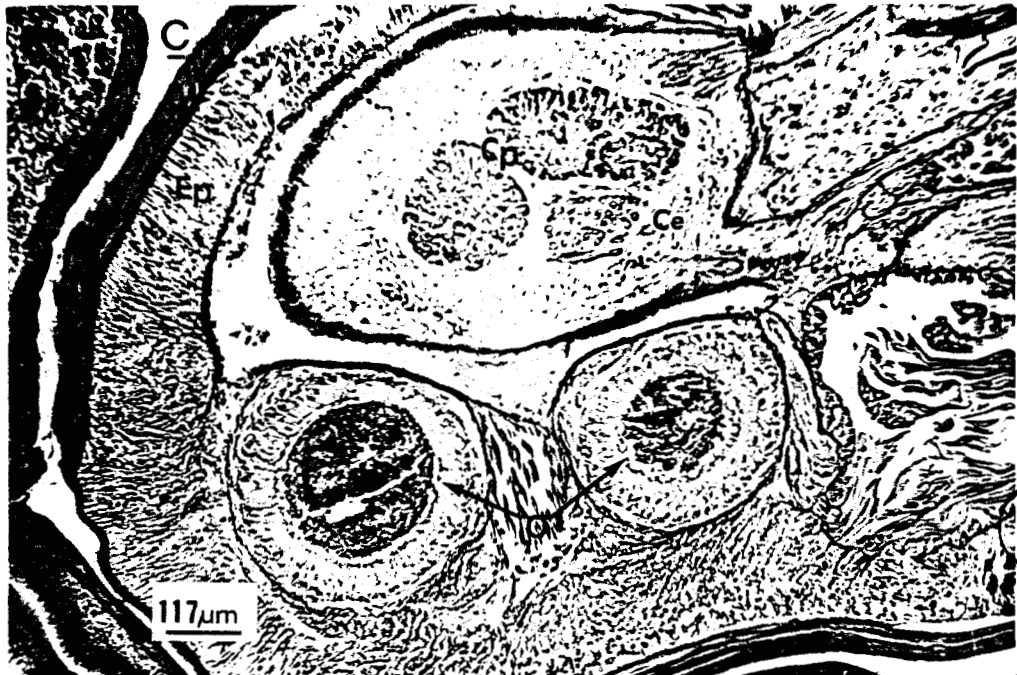
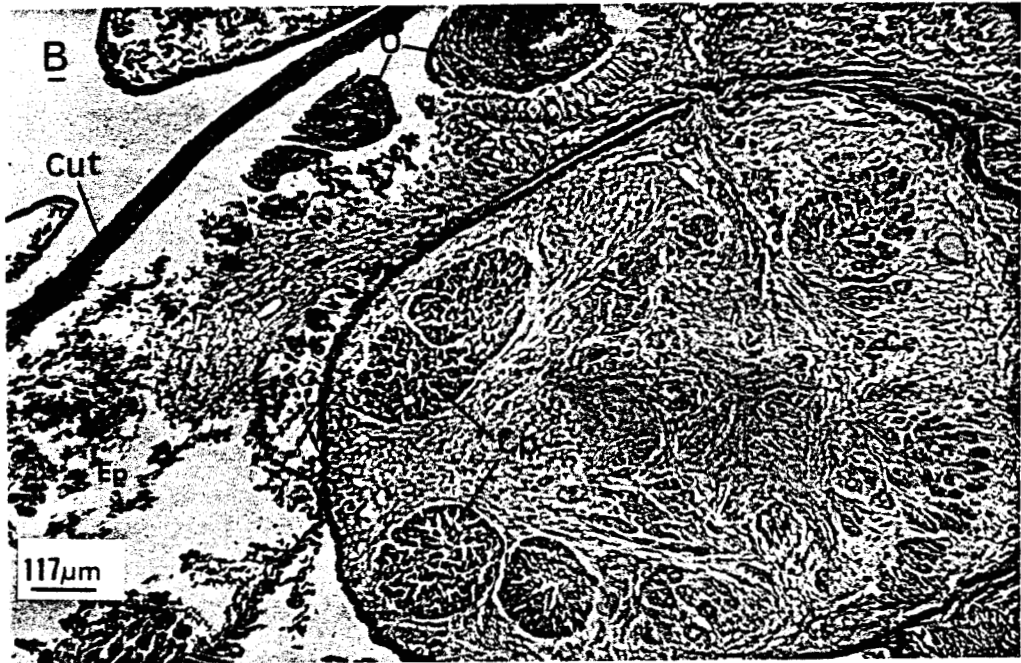
Cp = Corpora pedunculata

Cut = cuticule

Ep = Epiderme

O = oeil

PLANCHE 5



Partie antérieure d'une Nereis diversicolor irradiée en guide d'onde.  
(Puissance 1 watt - Durée : 300 sec).

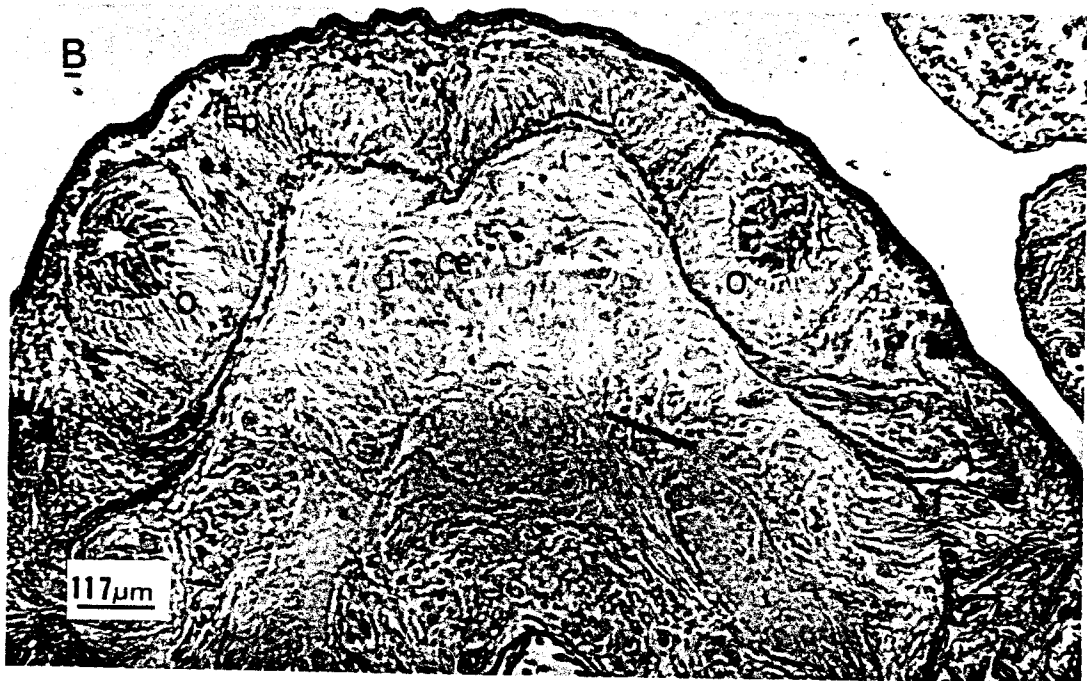
Fig. A : Coupe horizontale très dorsale.  
L'oeil et l'épiderme antérieure sont altérés.

Fig. B : Coupe horizontale dans la région moyenne.  
Une toute petite partie de l'épiderme est dissociée au niveau de  
l'oeil antérieur.  
Le cerveau est intact.

Fig. C : Coupe horizontale dans une région plus ventrale.  
L'épiderme est en bon état.  
Le cerveau est compact.

Ce = cerveau  
Cp = Corpora pedunculata  
Cut = Cuticule  
Ep = Epiderme  
O = Oeil

PLANCHE 6



AVS  
LILLE

Partie antérieure d'une Nereis diversicolor irradiée en guide d'onde.  
(Puissance : 5 W - Durée : 30 sec.).

Fig. A : Tissus fixés immédiatement après la fin de l'irradiation.  
Toutes les structures sont intactes.

Fig. B : Tissus fixés 24 heures après la fin de l'irradiation.  
Seules les structures périphériques sont altérées. (Epiderme et oeil).

Fig. C : Tissus fixés 24 heures après la fin du traitement.  
Toutes les structures périphériques et cervicales sont désorganisées.

Ce = cerveau

Cp = Corpora pedunculata

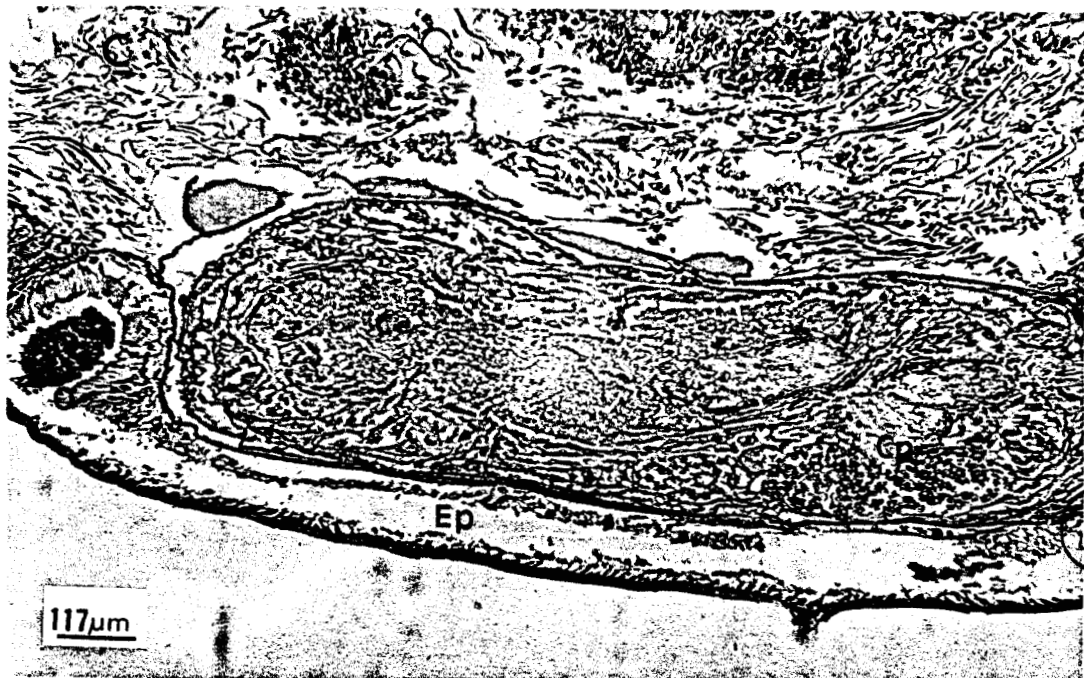
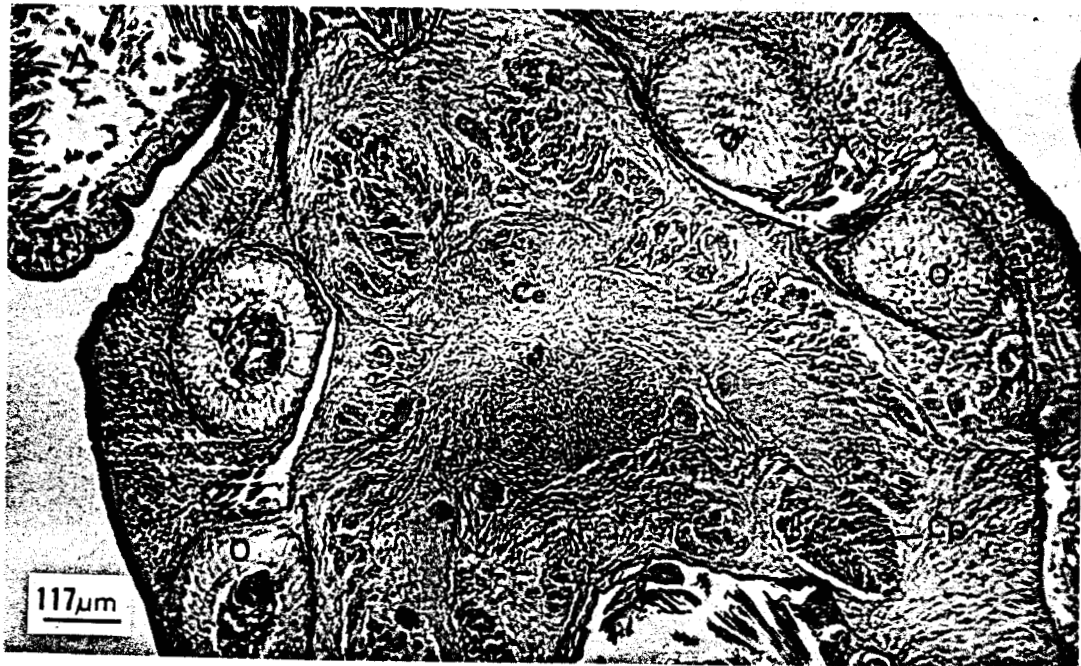
Cut = cuticule

Ep = épiderme

O = oeil



PLANCHE 7



RUS  
LILLE

Partie antérieure d'une Nereis diversicolor irradiée en guide d'onde.  
(Puissance : 5 W - Durée : 30 sec).

Fig. A - Tissus fixés 48 heures après la fin du traitement.  
Apparition de nombreuses lacunes dans le cerveau.  
A noter une accumulation de cellules dans le vaisseau sanguin.

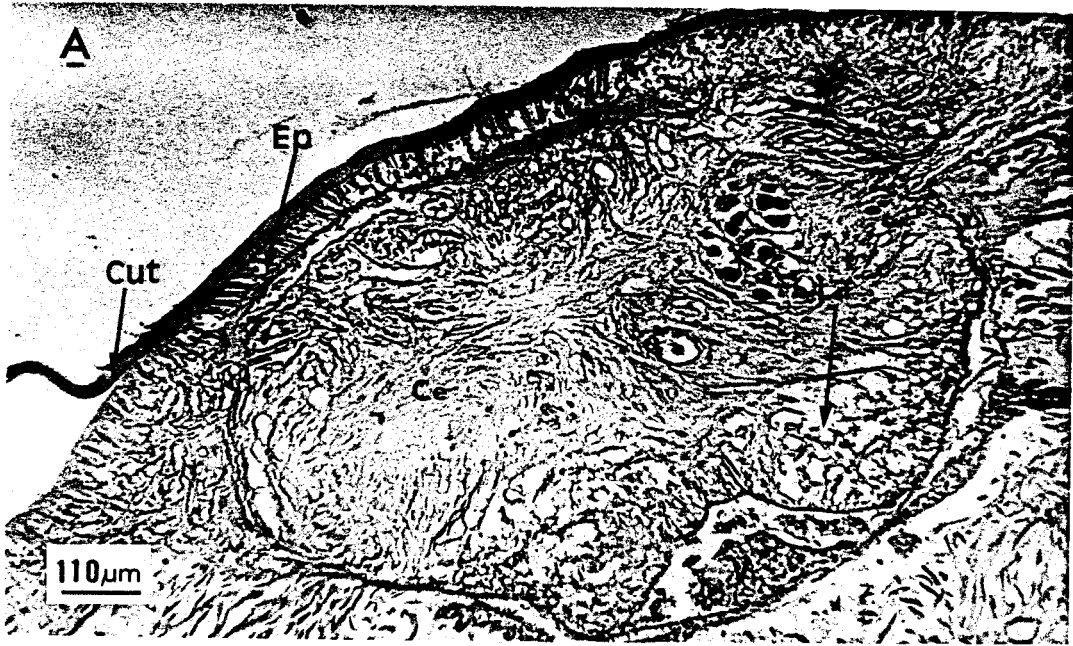
Ce = cerveau      cut = cuticule      Ep = épiderme  
La = lacune      V = vaisseau sanguin

Fig. B - Quelques cellules fuschinophiles isolées dans une "lacune névroglie".

Cf = cellules fuschinophiles      La = lacune      N = névroglie



# PLANCHE 8



RUS  
LILLE

Partie antérieure d'une Nereis diversicolor irradiée par antenne quart d'onde. (Puissance : 5 W - Durée : 5 sec.).

Fig. A : Fixation immédiatement après la fin du traitement.

L'épiderme (Ep) ainsi qu'une toute petite partie du cerveau sont altérés au niveau du point de contact (flèche) de l'antenne avec le prostomium.

Le reste du cerveau est intact.

Fig. B : Fixation des tissus irradiés 48 heures après la fin du traitement.

Les yeux (O) ainsi que l'épiderme (Ep) sont déorganisés.

Le cerveau (Ce) présente de nombreuses lacunes.

Fig. C : Fixation des tissus 48 heures après la fin du traitement (Coupe horizontale).

Mise en évidence de l'unilatéralité des microondes. Une partie du cerveau, proche de l'antenne, présente de nombreuses lacunes, l'autre partie reste compacte (flèche).

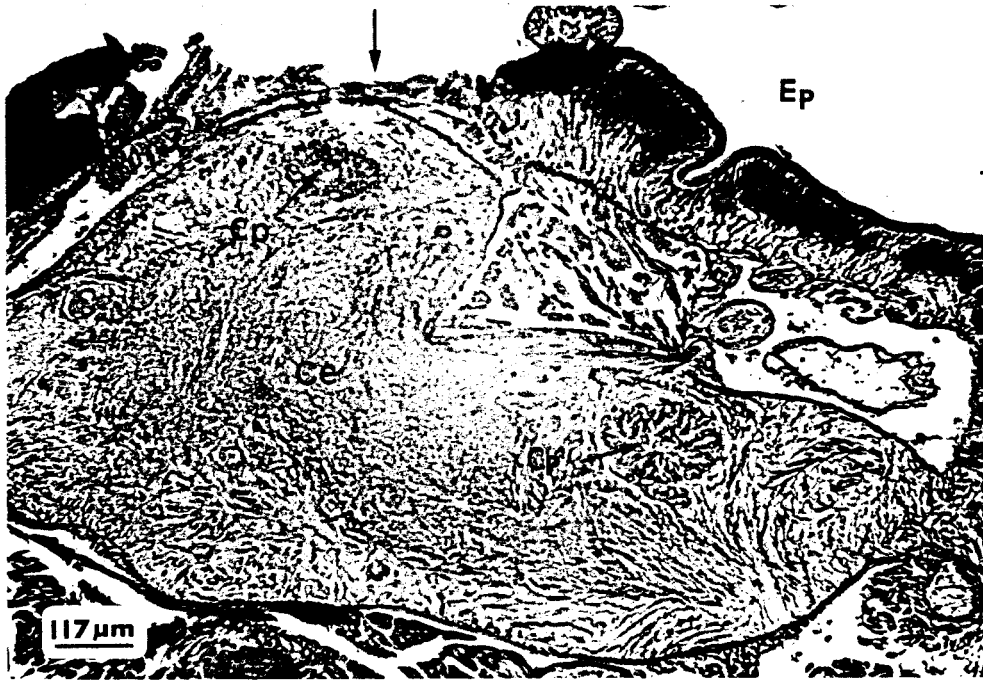
Ce = cerveau

Ep = épiderme

O = oeil



# PLANCHE 9



BUS  
LILLE

Partie antérieure d'une Nereis diversicolor irradiée par antenne quart d'onde.  
(Puissance : 5 W, durée : 5 sec.).

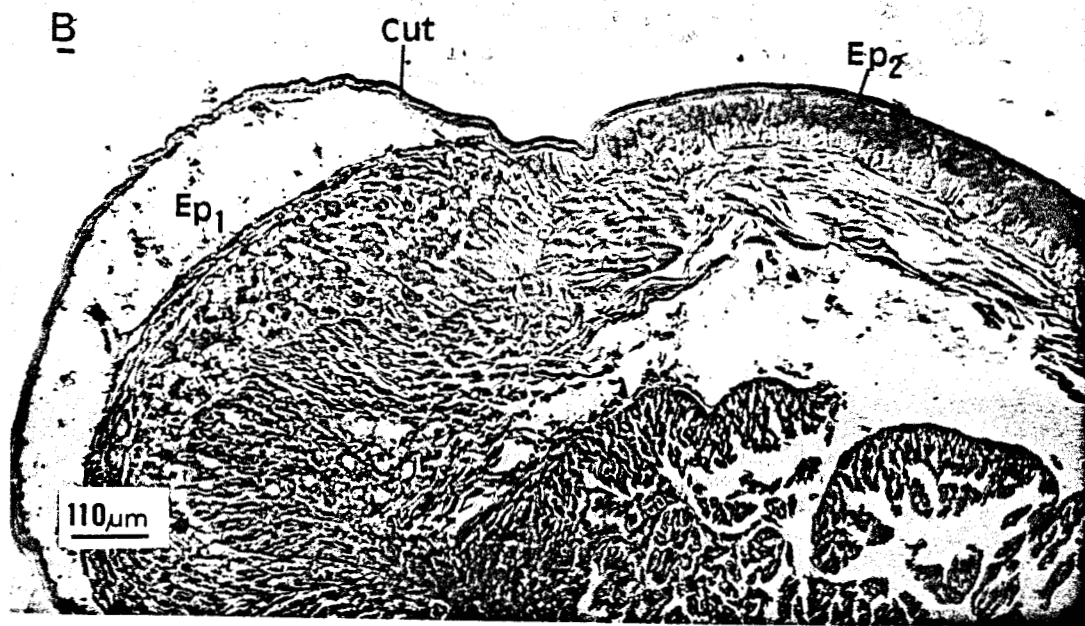
Fig. A : Mise en évidence de l'unilatéralité des altérations tissulaires après irradiations par antenne.  
Seuls les 2 yeux (O) ainsi que l'épiderme (Ep) situés proches de la source de microonde sont altérés.  
Les structures situées sur le côté opposé sont intactes.  
(Fixation 48 heures après traitement).

Fig. B : "Frontière" entre un épiderme (Ep<sub>1</sub>) désorganisé et décollé de la cuticule (Cut) donc touché par l'énergie microonde et un épiderme (Ep<sub>2</sub>) intact.  
(Fixation 48 heures après la fin du traitement).

Fig. C : Vue d'ensemble de la partie antérieure d'une Nereis irradiée. Les structures proches de l'antenne sont très altérées.  
(Epiderme Ep<sub>1</sub>, Corpora pedunculata Cp<sub>1</sub>).  
Le cerveau présente des lacunes (La) très localisées.  
Les structures plus éloignées sont intactes. (Epiderme Ep<sub>2</sub>) Corpora pedunculata Cp<sub>2</sub>).

Ce = cerveau

PLANCHE 10



BUS  
VILLE

11a) Neurones des Corpora pedunculata d'une Nereis diversicolor femelle  
(diamètre ovocytaire 65  $\mu$ ) dont la partie antérieure a été irradiée  
en guide d'onde.

(Puissance 50 mW, durée : 45 minutes).

Fixation 24 heures après la fin du traitement.

11b) Cellules névrogliales d'une Nereis diversicolor femelle  
(diamètre ovocytaire 78  $\mu$ ) dont la partie antérieure a été irradiée  
en guide d'onde.

(Puissance 50 mW, durée : 45 Minutes).

Fixation 24 heures après la fin du traitement.

REMARQUE : On note la formation de larges espaces intercellulaires  
au niveau de la névroglie. Les cellules restent jointives  
au niveau des desmosomes.  
Les péricaryons sont intacts.

Ei = espace intercellulaire

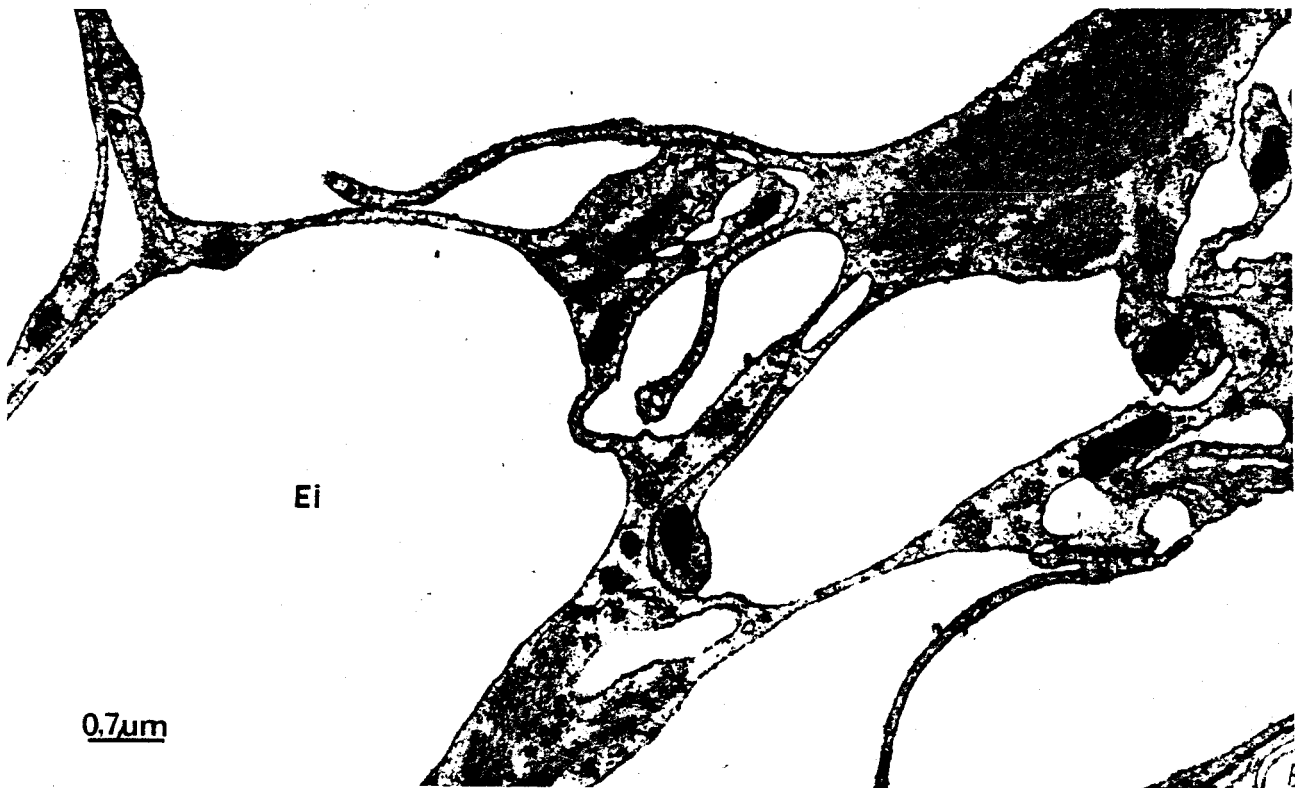
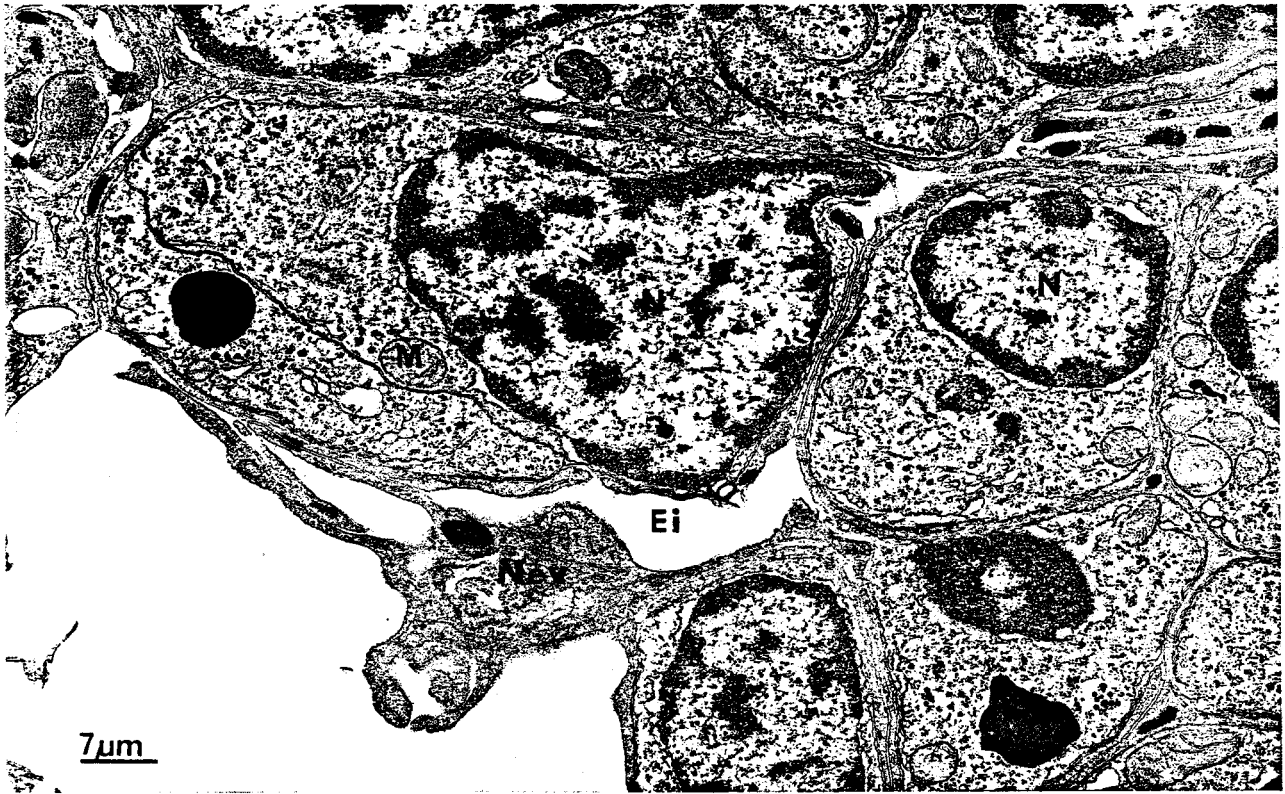
Gf = gliofilament

M = mitochondrie

N = noyau

Nev = névroglie

PLANCHE 11



BUS  
LILLE

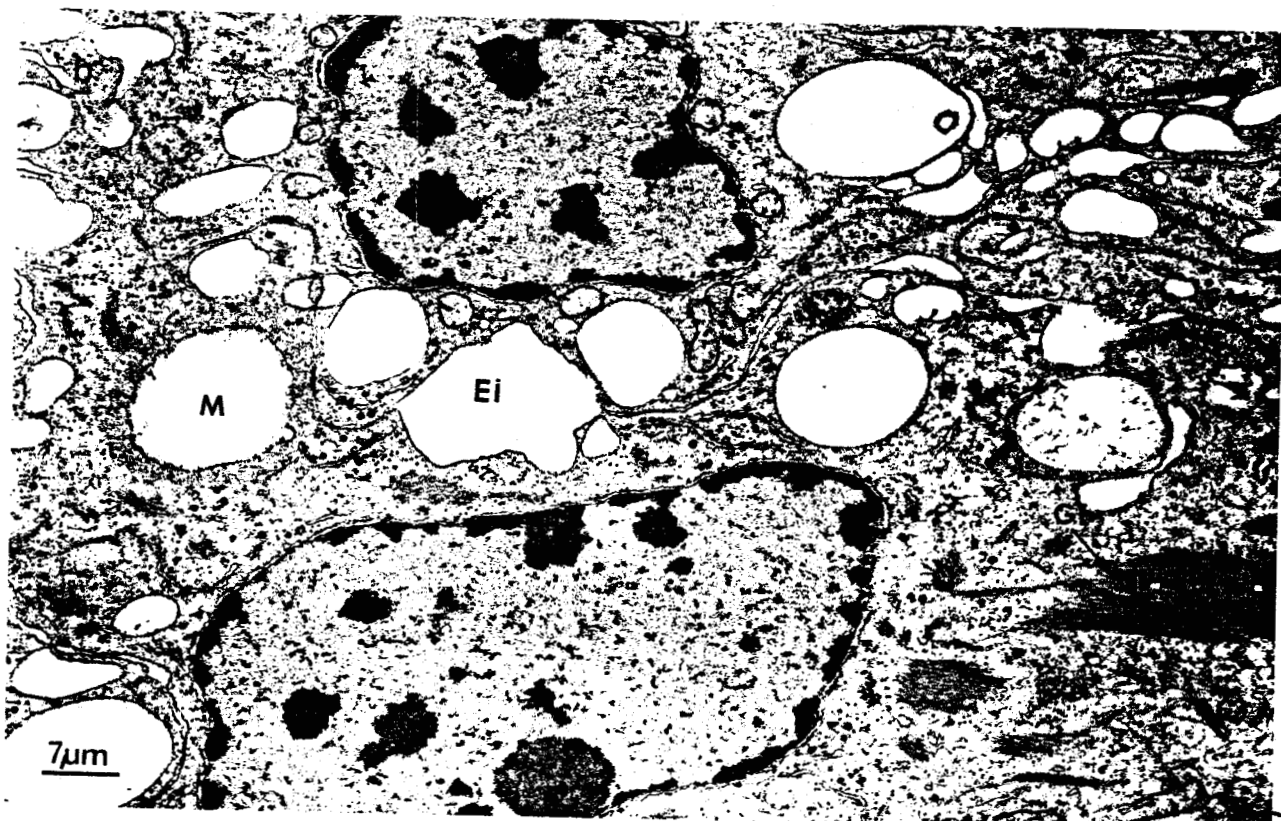
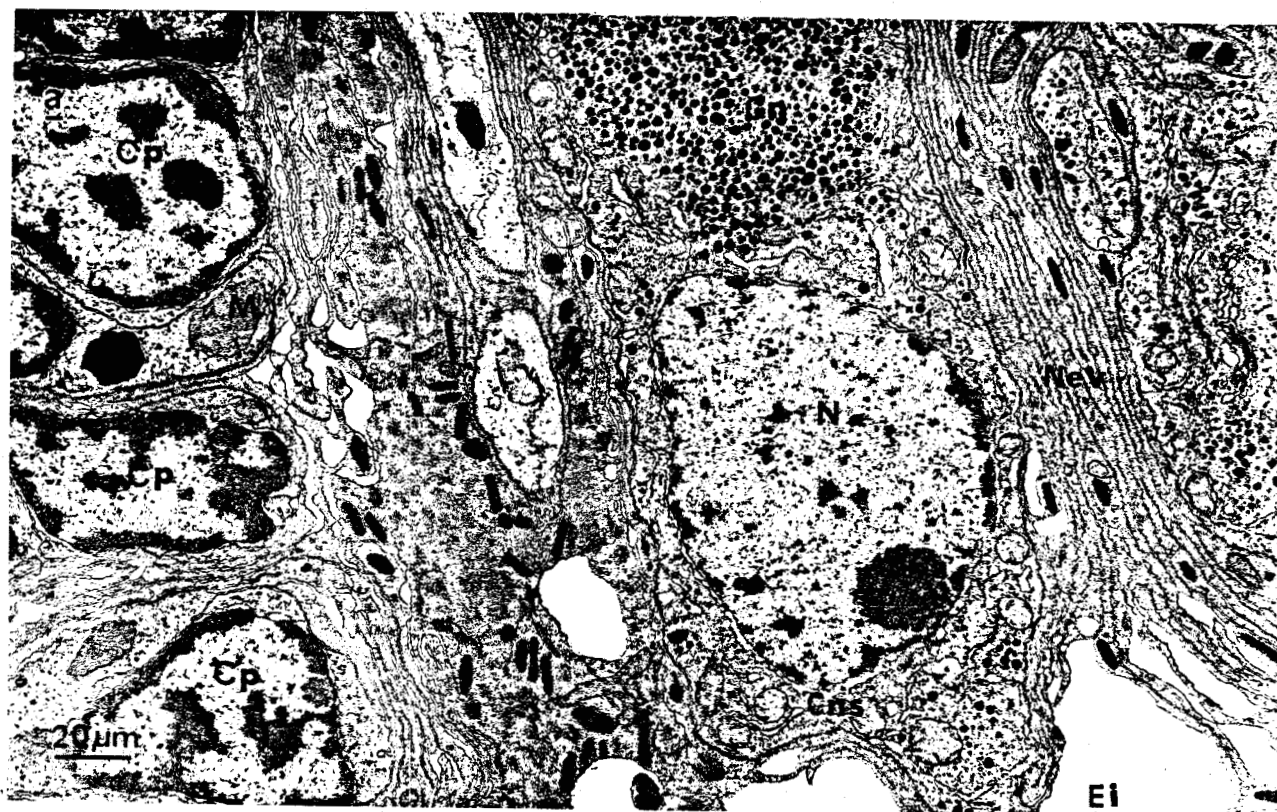
- 12a) Neurones des Corpora pedunculata (Cp) et cellules neurosecrétrices d'une Nereis diversicolor femelle (diamètre ovocytaire 116  $\mu$ ) dont la partie antérieure a été irradiée en guide d'onde.  
(Puissance 100 mW, durée : 15 minutes).  
Fixation 48 heures après la fin du traitement. Les cellules sont normales.  
Formation de "méats intercellulaires" dans la névroglie.
- 12b) Cellules névrogliales d'une Nereis diversicolor femelle.  
(diamètre ovocytaire 116  $\mu$ ) dont la partie antérieure a été irradiée en guide d'onde.  
(Puissance 100 mW, durée : 15 minutes).  
Fixation 48 heures après la fin du traitement. Les mitochondries sont lésées. Formation de vides intercellulaires.

C.n.s. = cellule neurosecrétrice  
Cp = Corpora pedunculata  
Ei = espace intercellulaire  
Erg = ergastoplasme  
Gf = gliofilament  
Gly = glycogène  
Gn = grain de neurosecrétion  
M = mitochondrie  
N = noyau





PLANCHE 12



BIS  
LILLE

13a) Neurones des Corpora pedunculata d'une Nereis diversicolor femelle (diamètre ovocytaire 168  $\mu$  dont la partie antérieure a été irradiée en guide d'onde (puissance 5 W, durée 30 sec.).

13b) Neurones des Corpora pedunculata d'une Nereis diversicolor femelle (diamètre ovocytaire 130  $\mu$ ) irradiés par antenne quart d'onde (Puissance 500 mW, durée 2 minutes).

En = enveloppe nucléaire

Gf = gliofilaments

Gn = grain de neurosecrétion

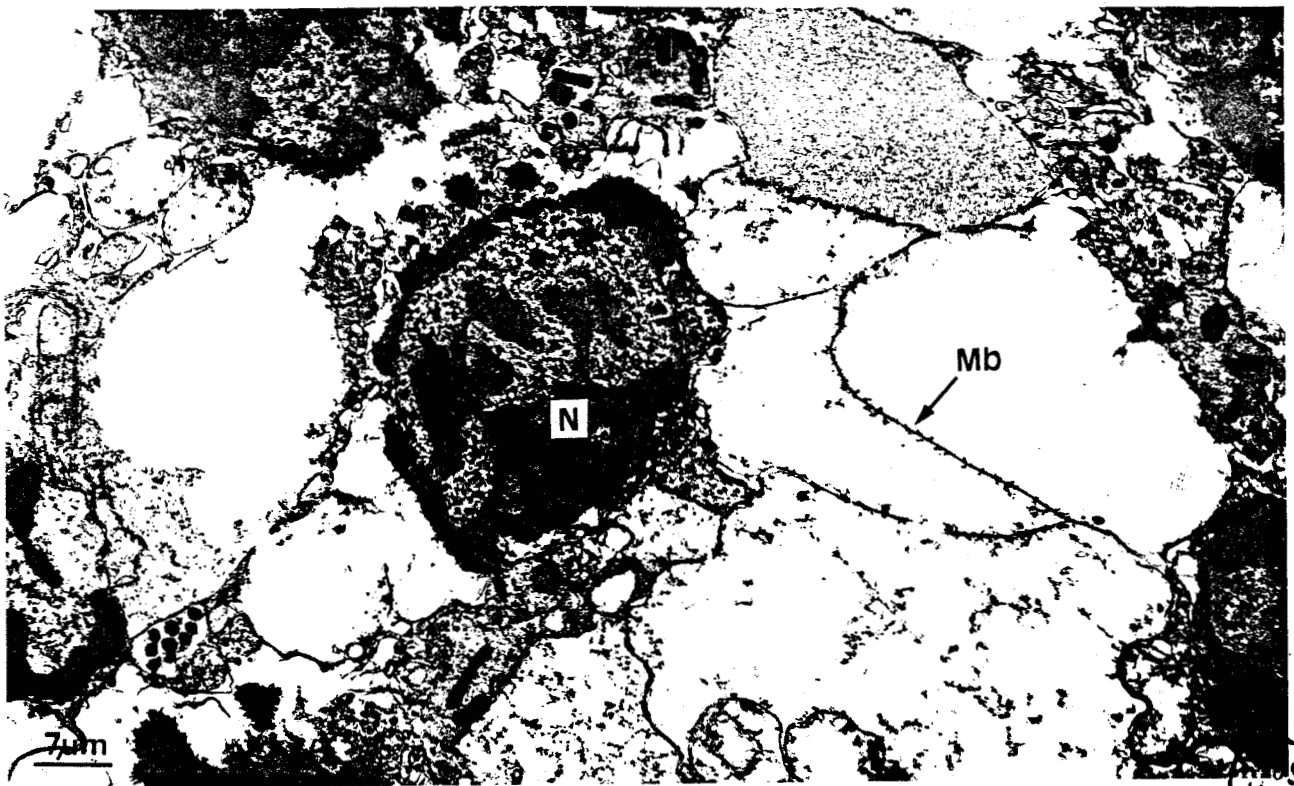
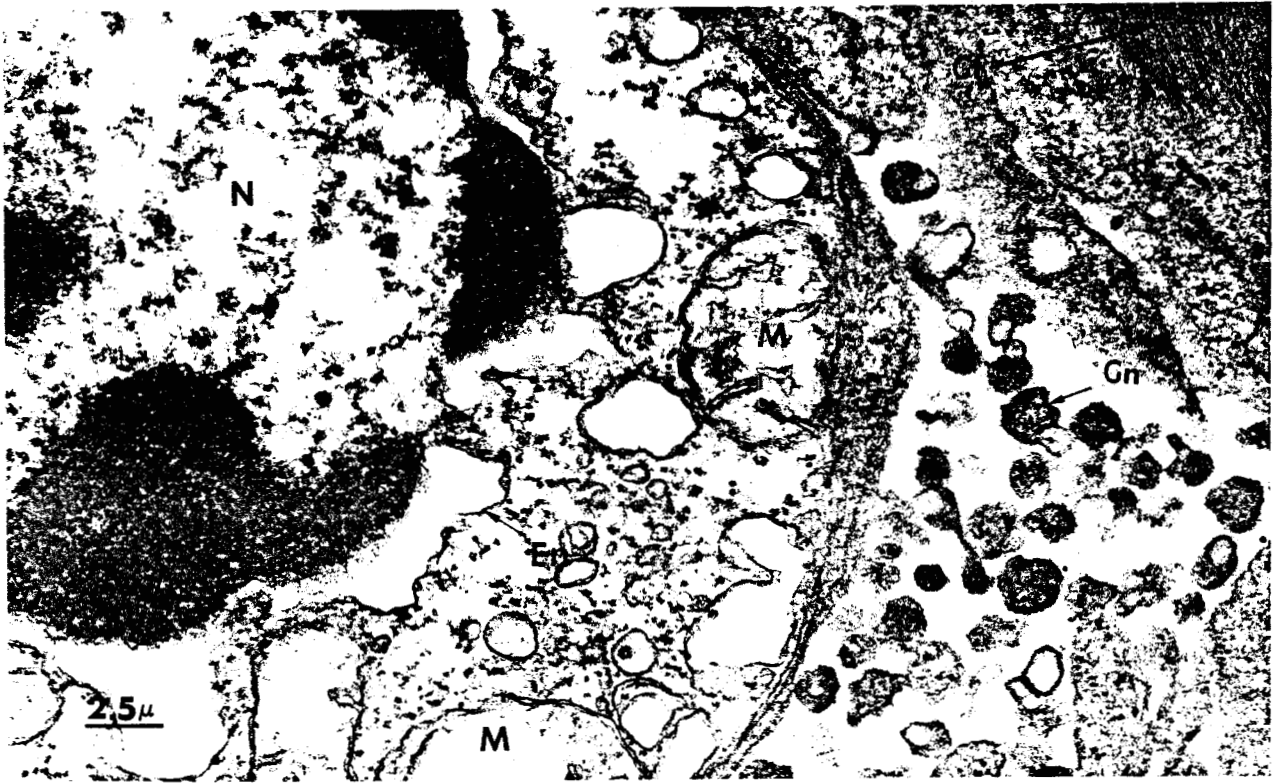
M = Mitochondrie

Mb = Membrane cytoplasmique

N = noyau



PLANCHE 13



S  
LILLE

## PLANCHE 14



Régénération caudale de 2 animaux (a et b) irradiés, par antenne quart d'onde, au niveau de la section comparée à la régénération caudale d'un animal témoin (T)  
L'animal (a) a subi une irradiation avec une dose de 5 W x 5 sec. et présente un bouchon cicatriciel (bc) n'évoluant pas.  
L'animal (b) a subi une irradiation avec une dose de 1 W x 5 sec.  
Aucun indice de régénération n'est apparent.  
L'animal Témoin (T) a régénéré dans le même temps une dizaine de métamères.  
(La photo a été prise 32 jours après la section, au 1/3 postérieur, donc 32 jours après le traitement microonde).

- a) Coupe de la partie caudale d'une Nereis diversicolor témoin sectionné depuis 32 jours. On remarque la régénération de 8 métamères. (Les flèches indiquent le niveau de la coupe). G = x 100
- b) Coupe de la partie caudale d'une Nereis diversicolor sectionnée au 1/3 postérieur puis irradiée avec une énergie de 5 W x 5 secondes depuis 32 jours.  
La régénération semble être en cours, mais la différence avec la régénération du témoin est importante. (Les flèches indiquent le niveau de coupe). G = x 250
- c) Coupe de la partie caudale d'une Nereis diversicolor sectionnée au 1/3 postérieur puis irradiée avec une énergie de 1 W x 5 secondes depuis 32 jours.  
La régénération est bloquée. G = x 250

CN = chaîne nerveuse

I = intestin

Vs = vaisseau sanguin



PLANCHE 15

a



b



c



BUS  
LILLE

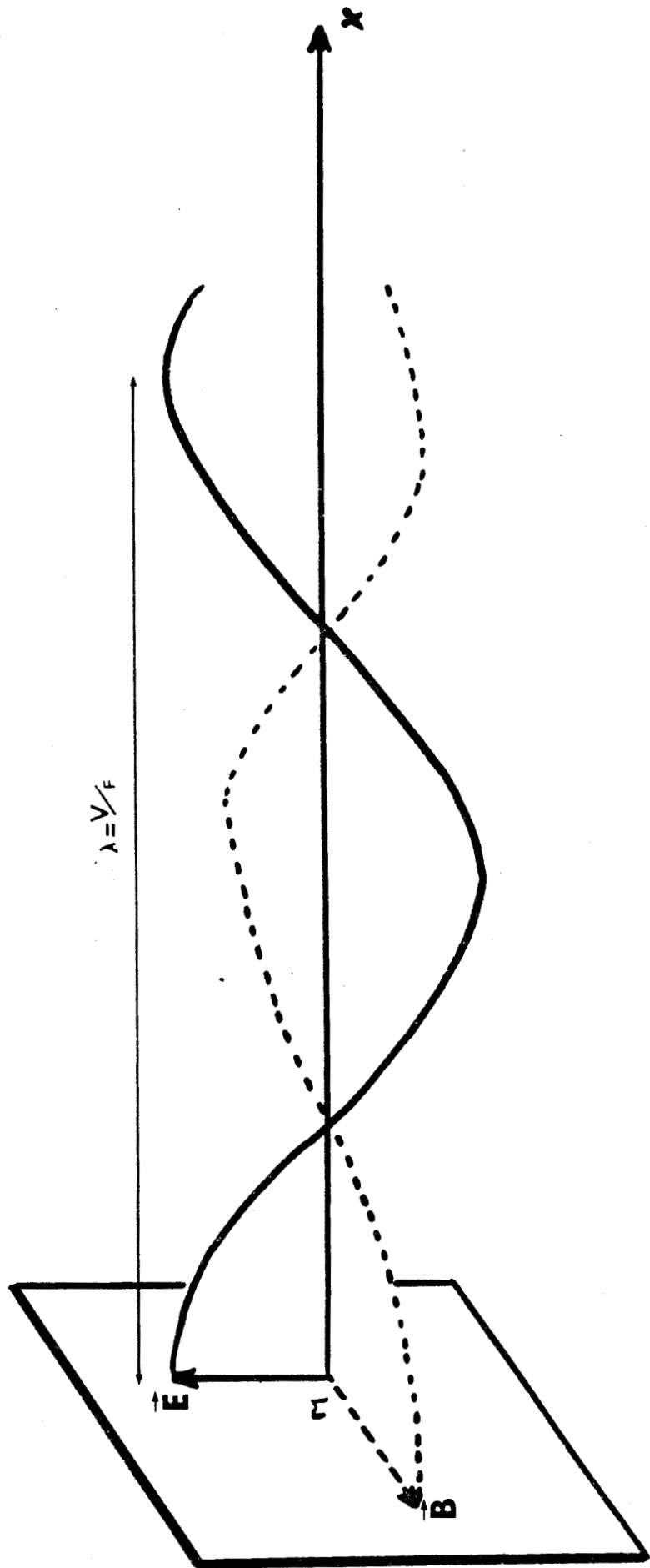
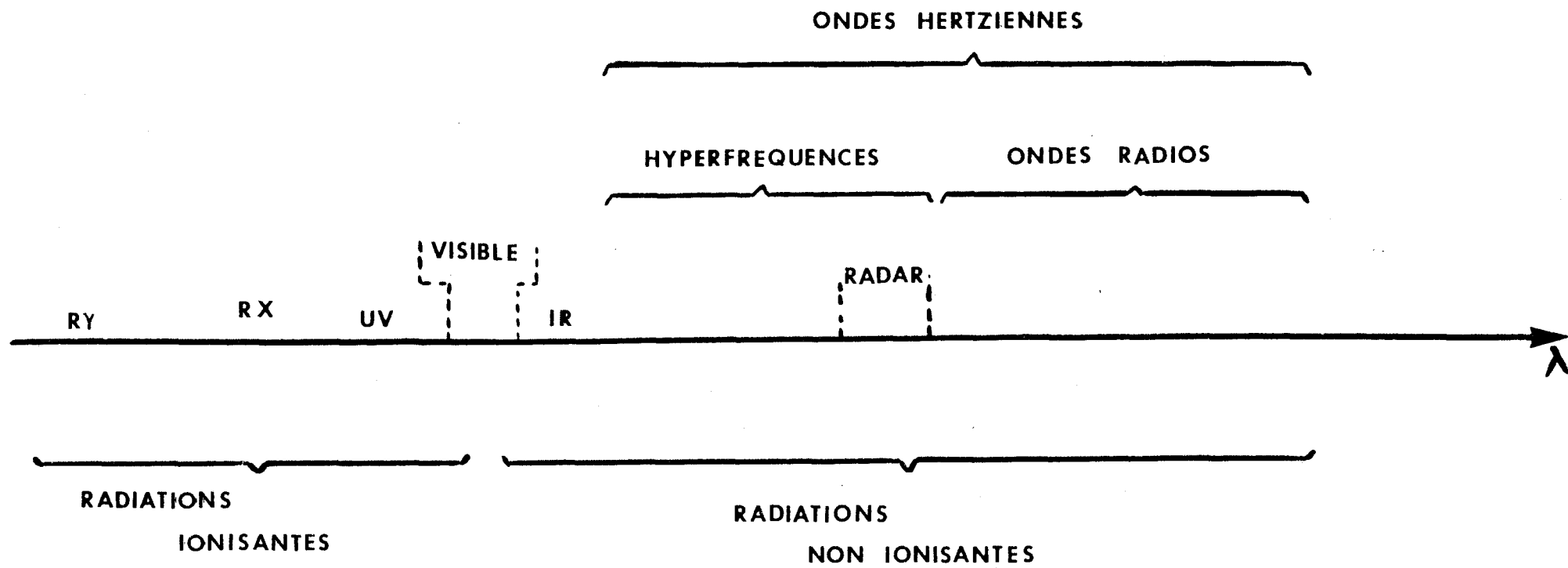


fig 1 Representation d'une onde electromagnetique plane

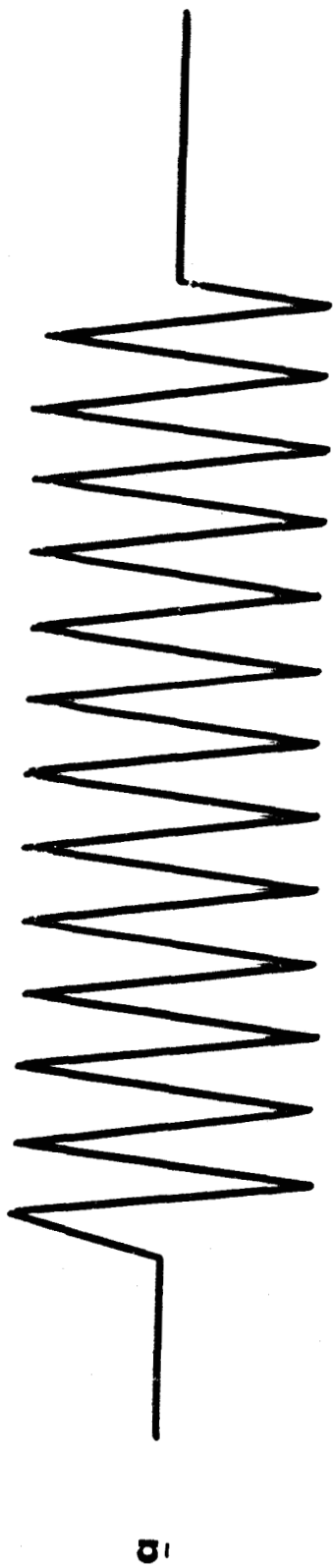




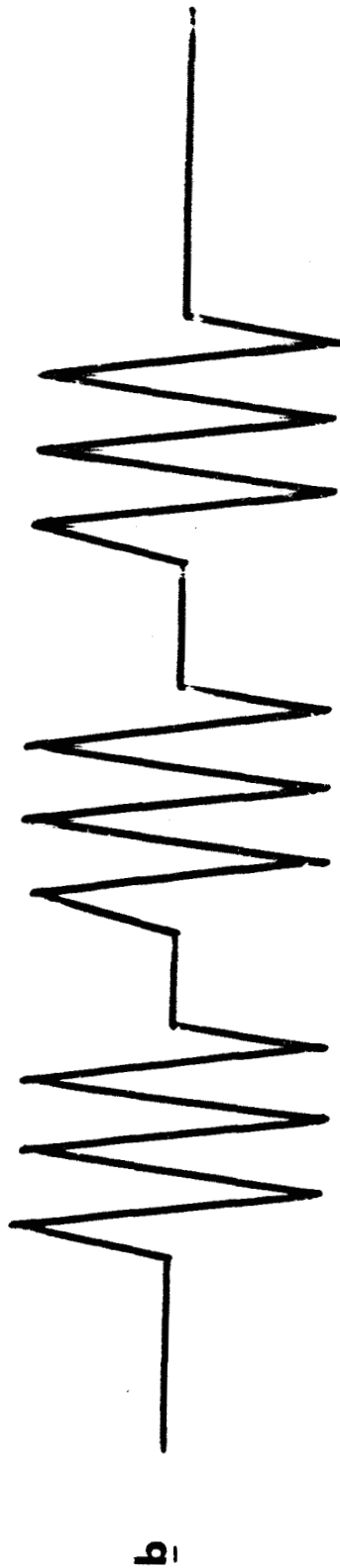
**fig 2 SPECTRE ELECTROMAGNETIQUE**







a



b

a: CONTINU  
b: PULSE

Fig3 DEUX TYPES DE RAYONNEMENT



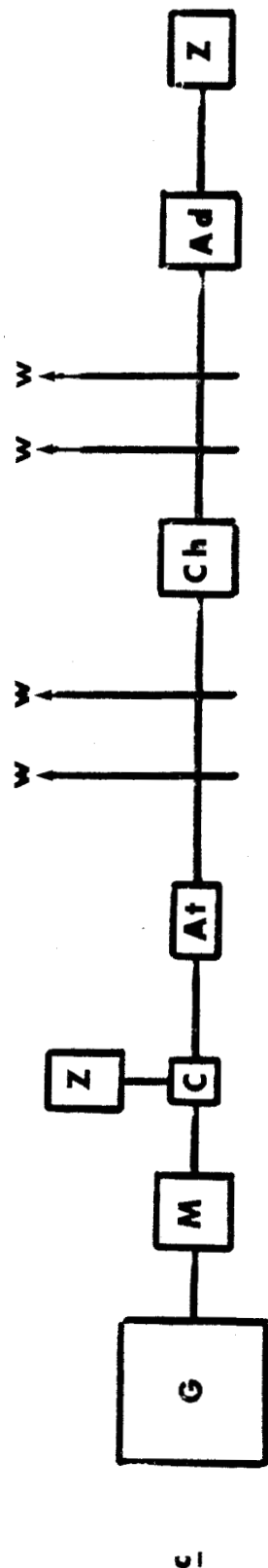
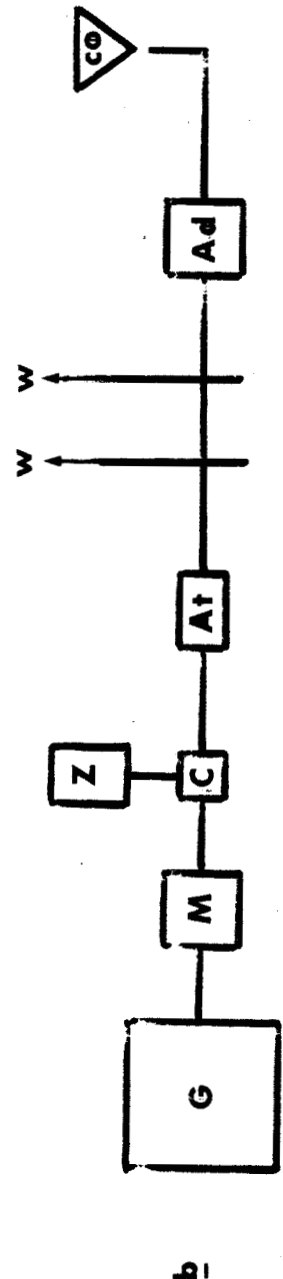
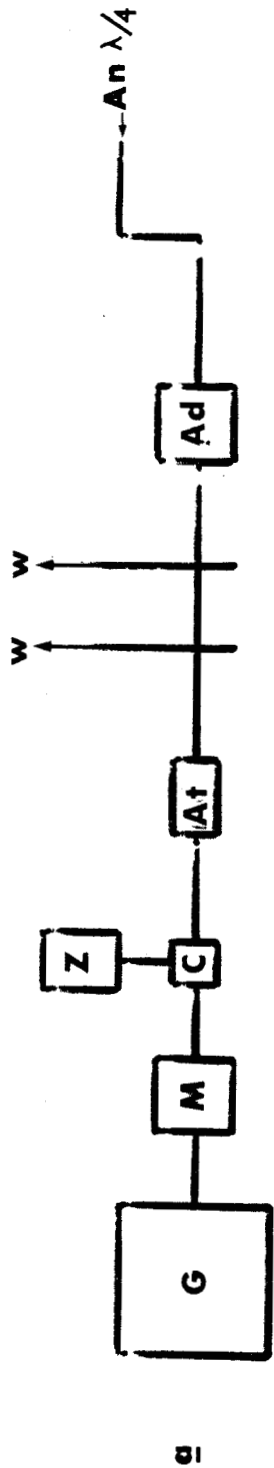
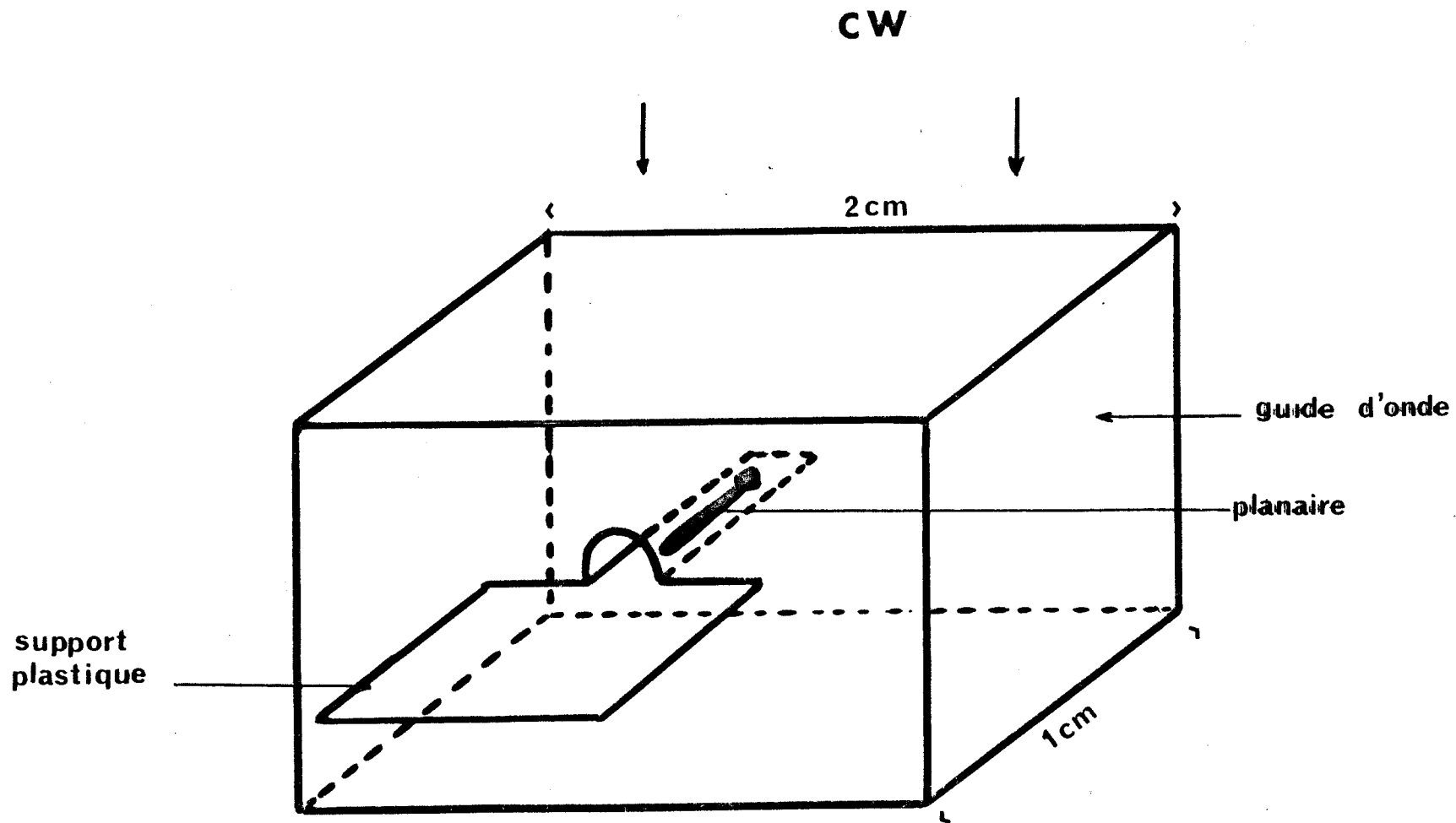


Fig 4 SCHEMAS DES SPECTROGRAPHES UTILISES POUR L'IRRADIATION

a: par aiguille      b: par cornet      c: par ondes progressives

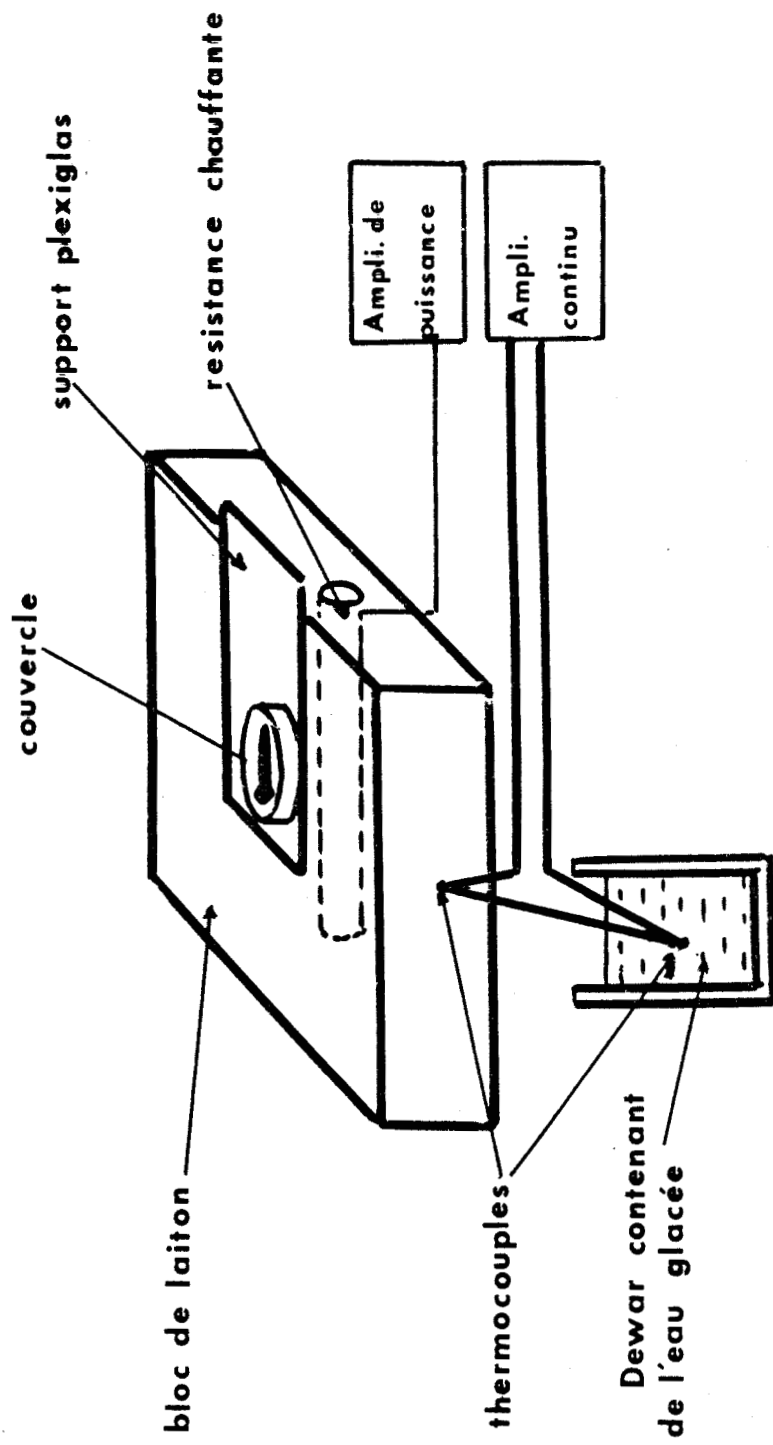


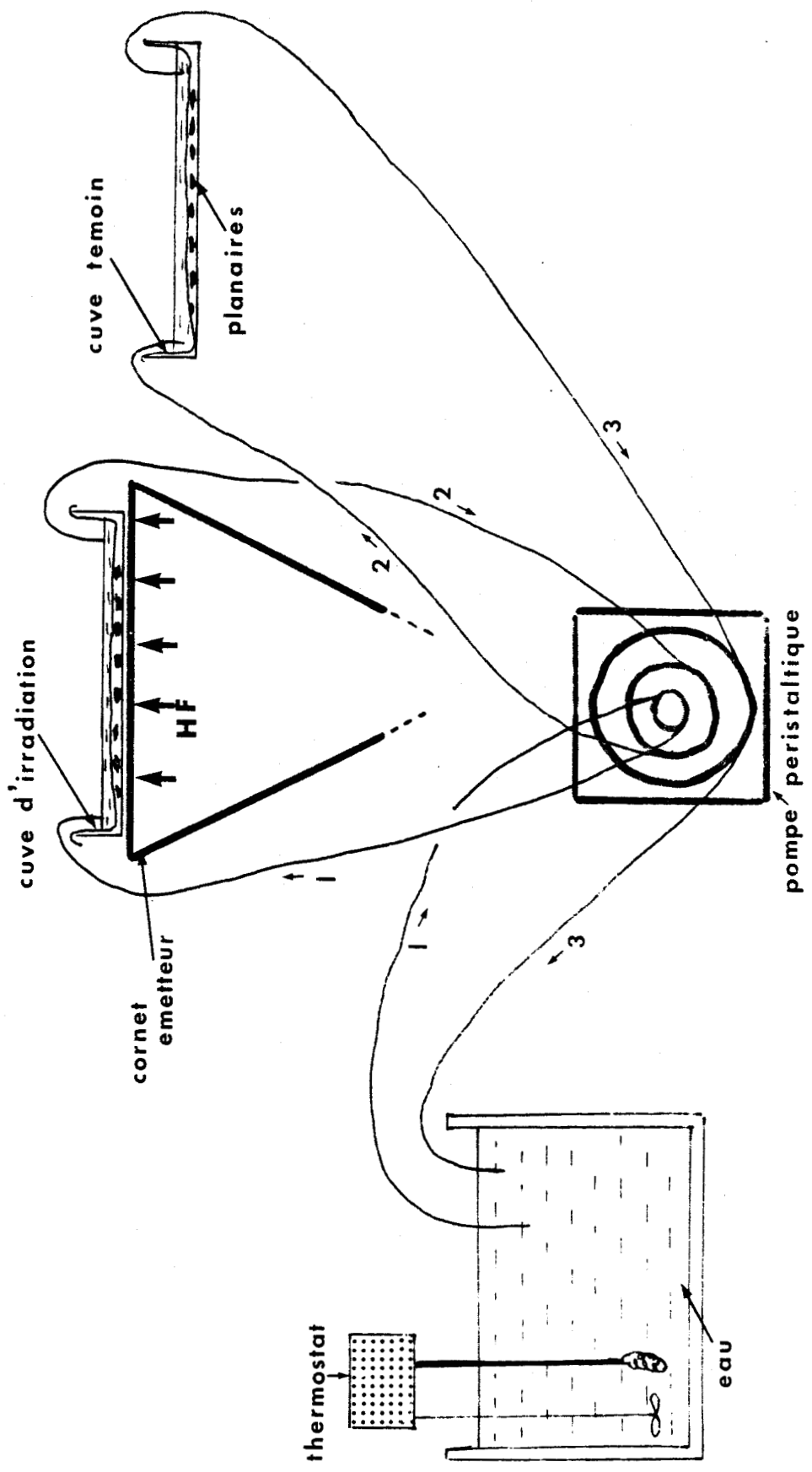


**Fig5 POSITION D'UNE PLANAIRE DANS LE CAS D'UNE IRRADIATION PAR GUIDE D'ONDE**



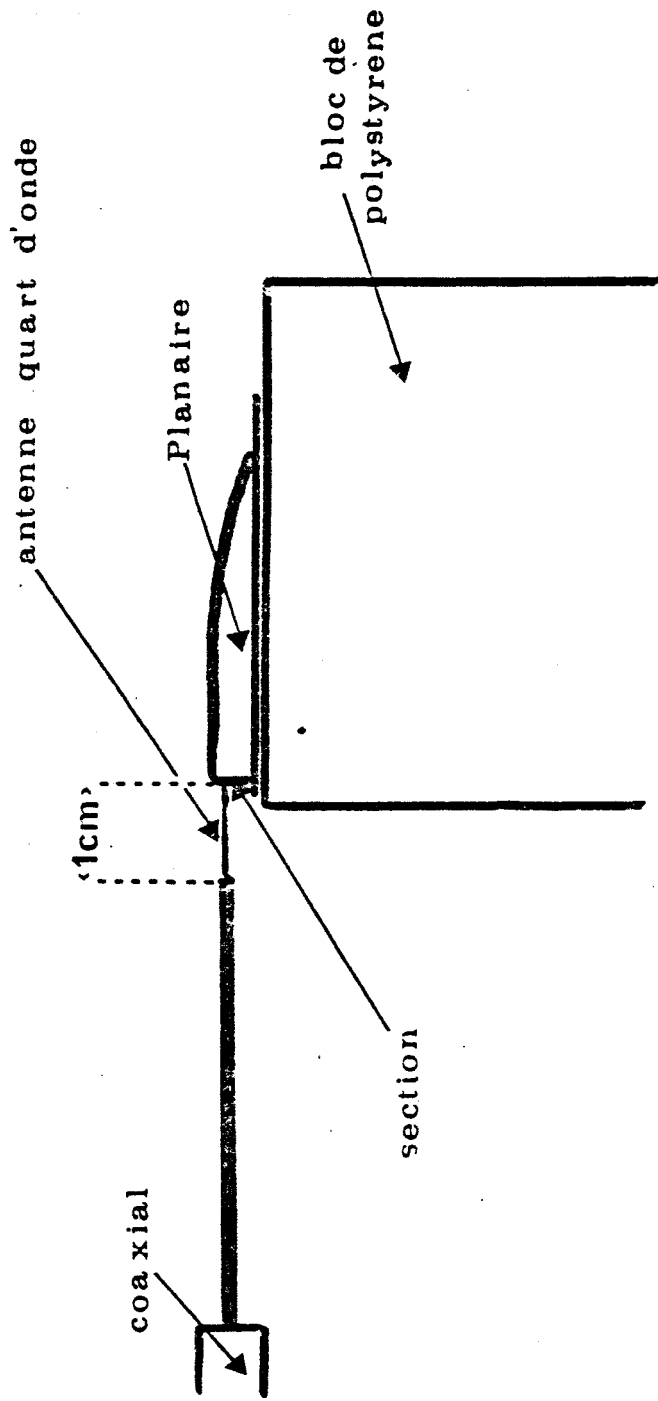
**fig 6 DISPOSITIF D'ÉCHAUFFEMENT ORDINAIRE**





**fig 7** Dispositif permettant l'irradiation des planaires avec controle de la temperature de l'eau.





**fig 8 POSITION D'UNE PLANAIRE DANS LE CAS D'UNE IRRADIATION PAR ANTENNE EMETTRICE**

SUS  
ULLE

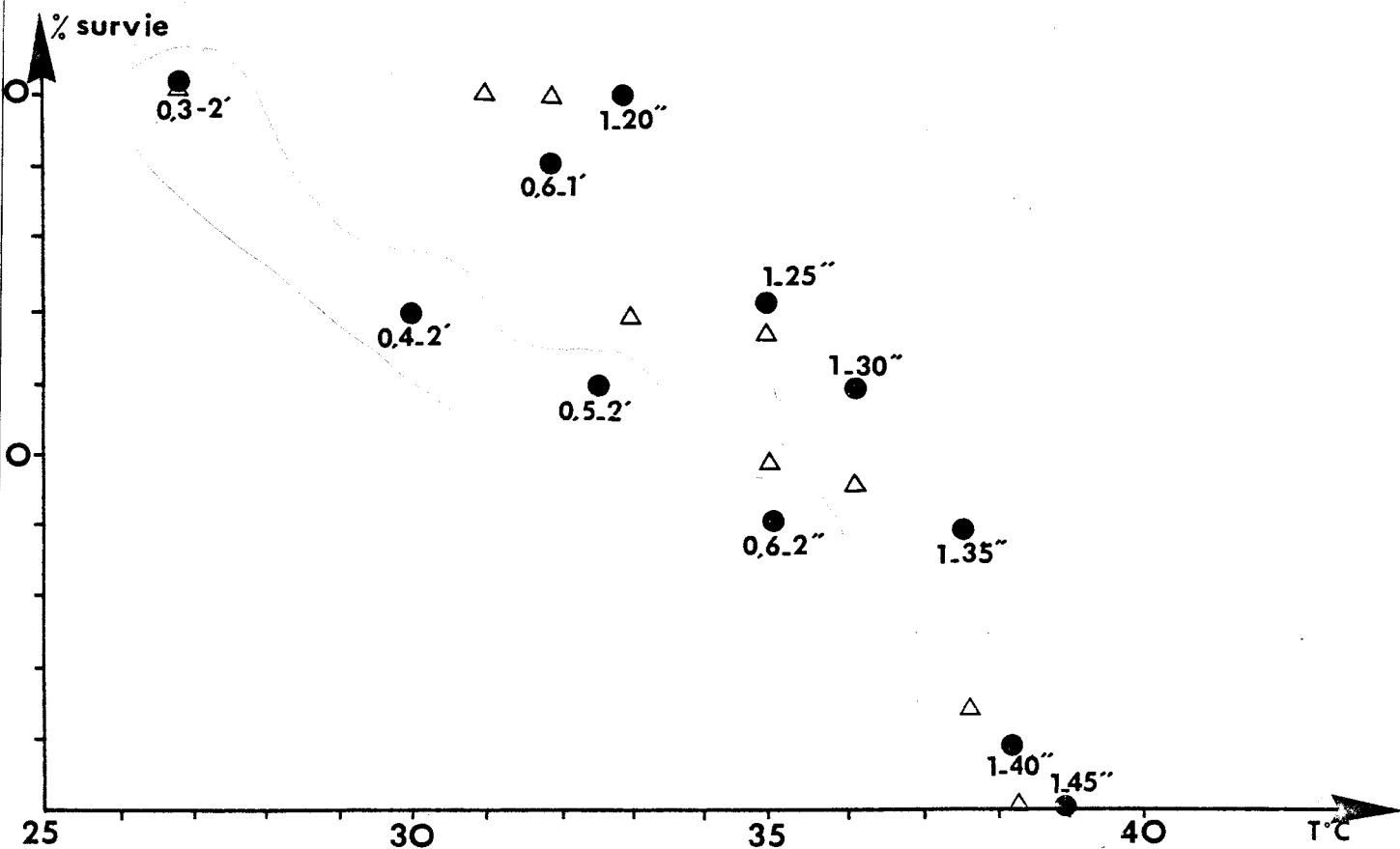


Fig 9 Le taux de survie des Planaires après une seule irradiation (● P·t) ou un seul échauffement (△) dans les mêmes conditions expérimentales (T, et t).

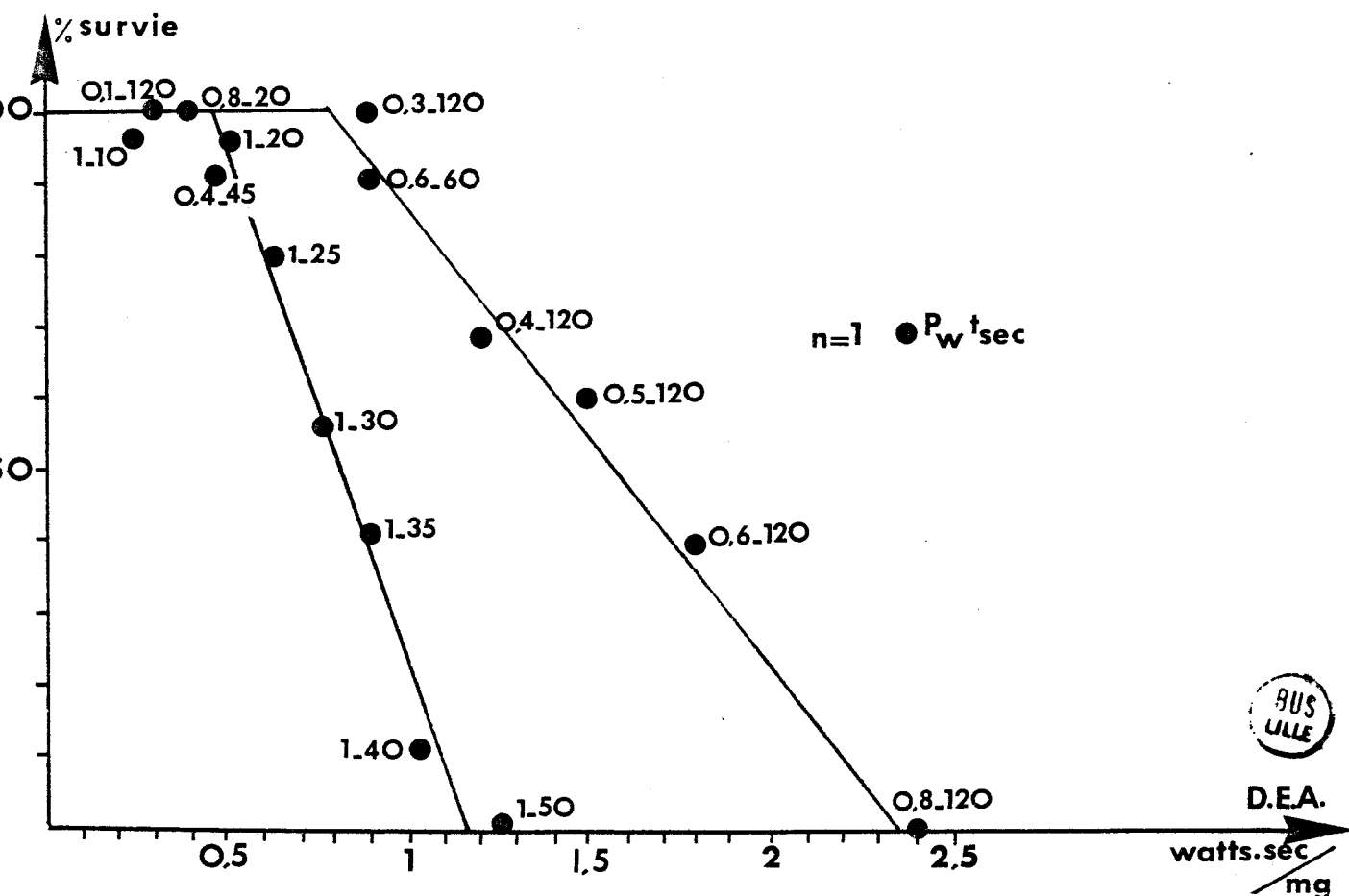


Fig 10 Le taux de survie des Planaires après une seule irradiation à différentes D.E.A.

BUS  
LILLE

D.E.A.

watts·sec / mg

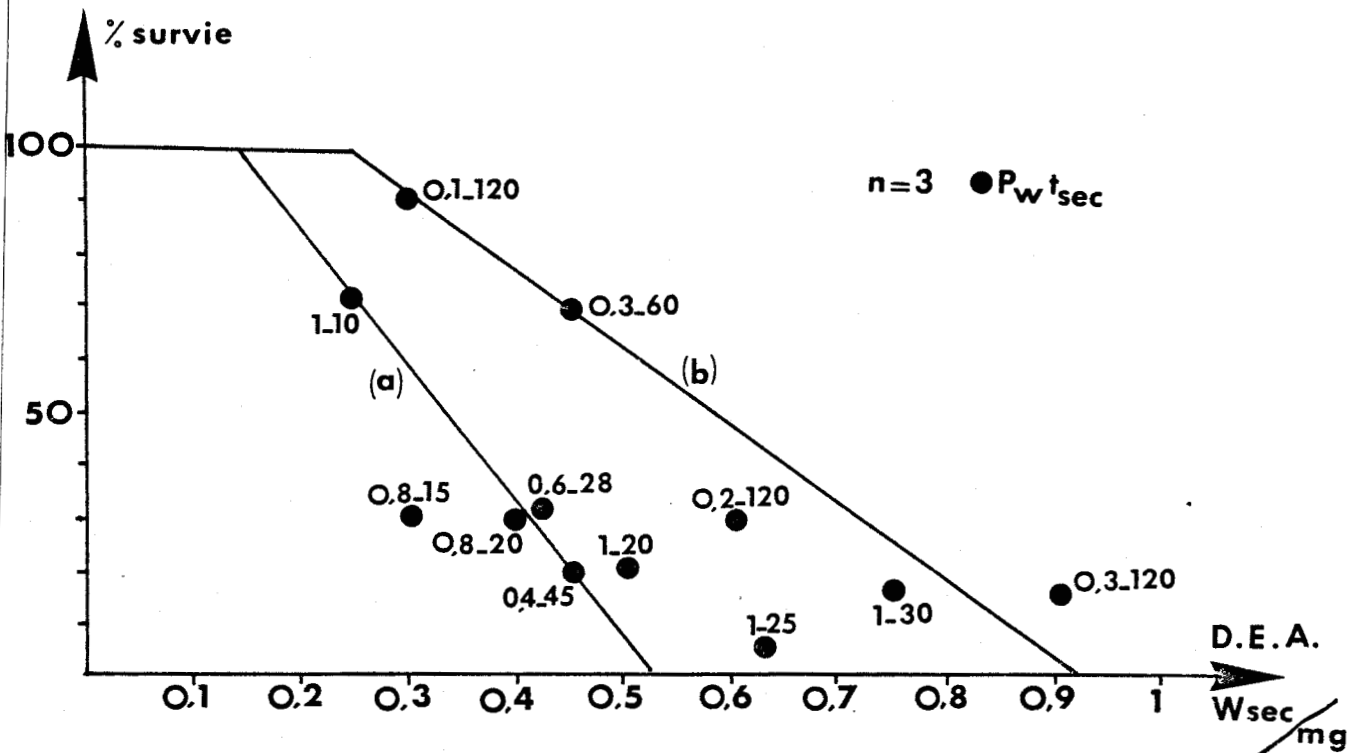


Fig11 Le taux de survie des Planaires après trois irradiations périodiques d'une durée totale de sept minutes à différentes D.E.A. à chaque irradiation.

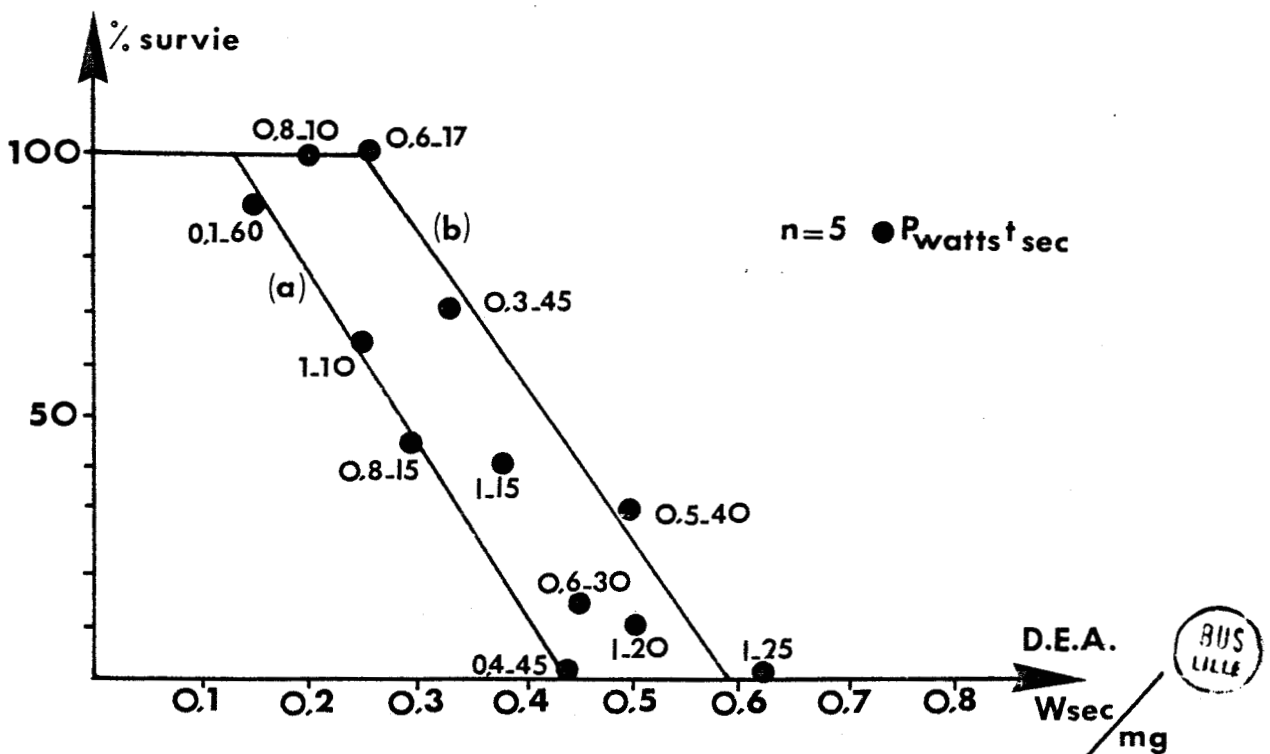


Fig12 Le taux de survie des Planaires après cinq irradiations périodiques d'une durée totale de sept minutes à différentes D.E.A. à chaque irradiation.

BUS  
LILLE



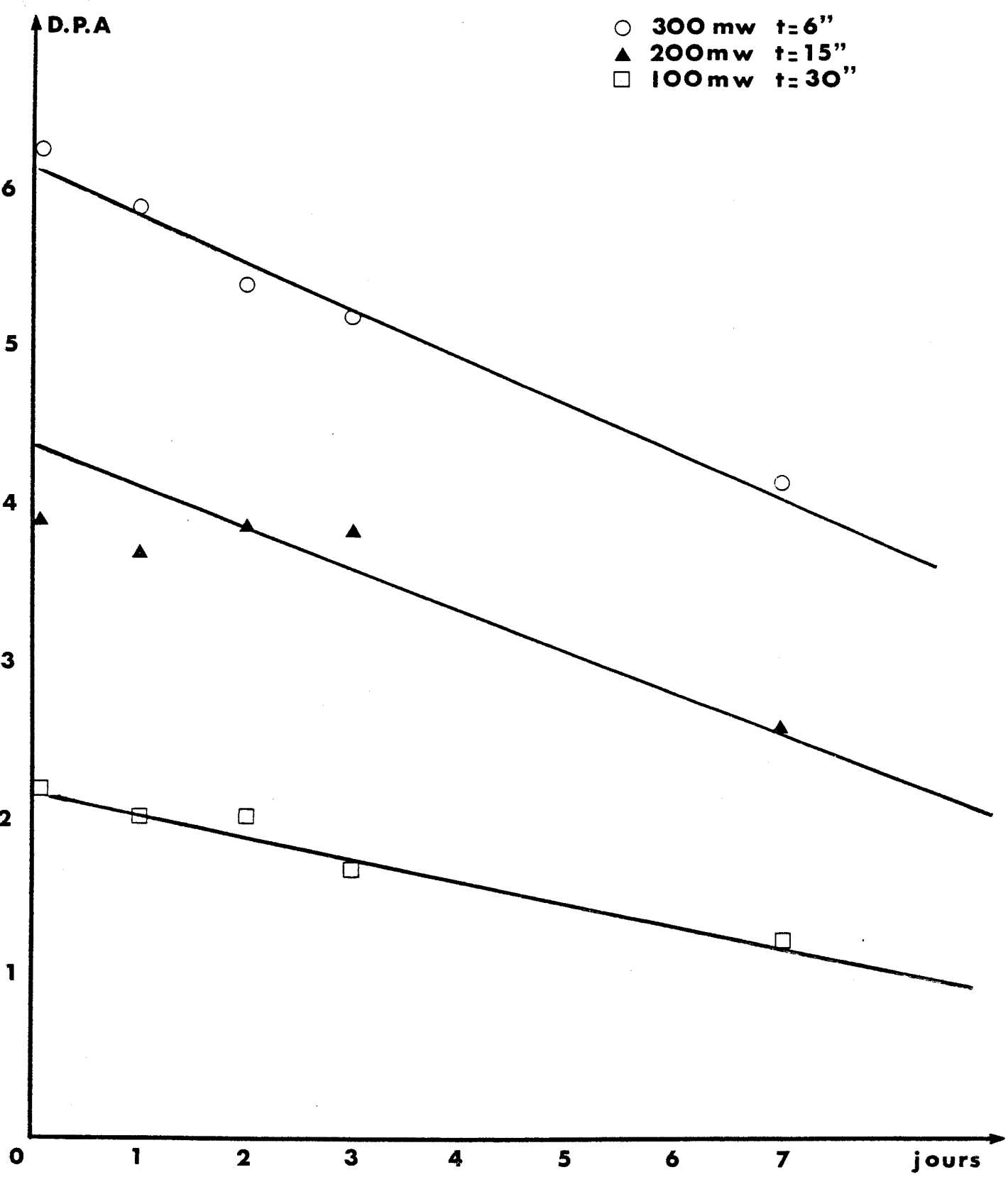


fig13 Effets d'irradiations successives à 24 heures d'intervalle sur la D.P.A



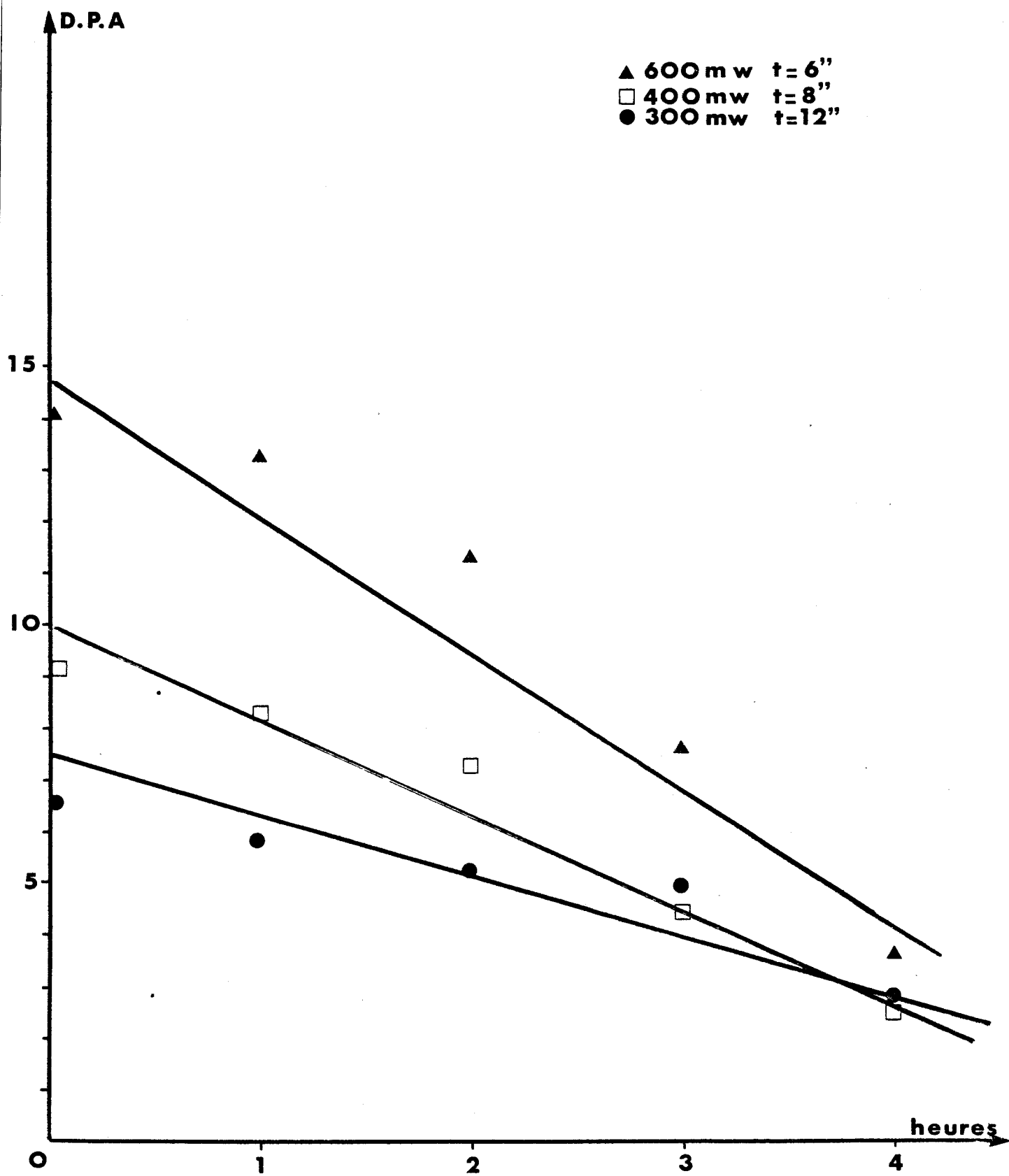


fig14 Effets d'irradiations successives à une heure d'intervalle sur la D.P.A



**fig15** Pourcentage de mortalité en fonction  
du nombre d'irradiations

irradiations successives à une heure  
d'intervalle

$P = 300 \text{ mw}$   $t = 12''$

% mortalité

100

90

80

70

60

50

40

30

20

10

BUS  
LILLE

nombre  
d'irradiations

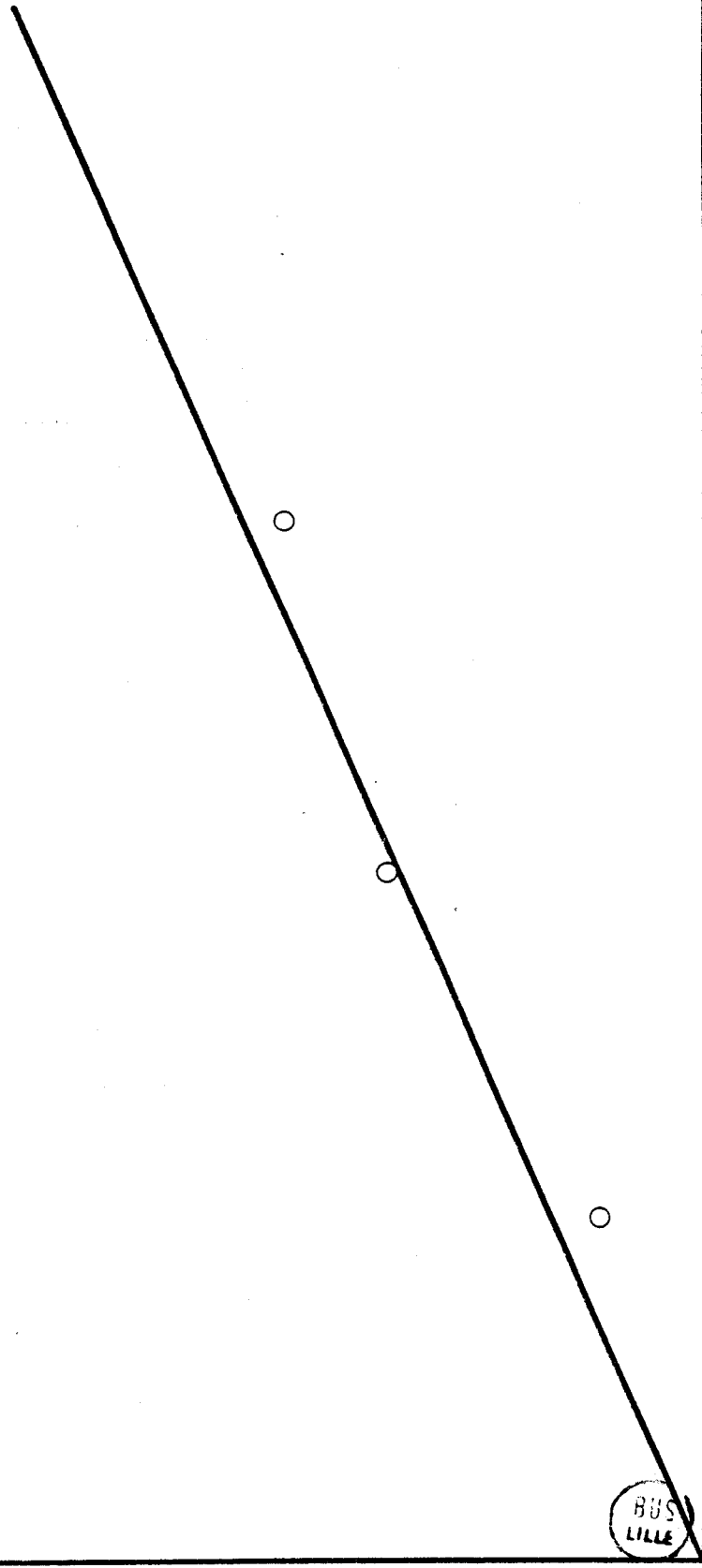
5

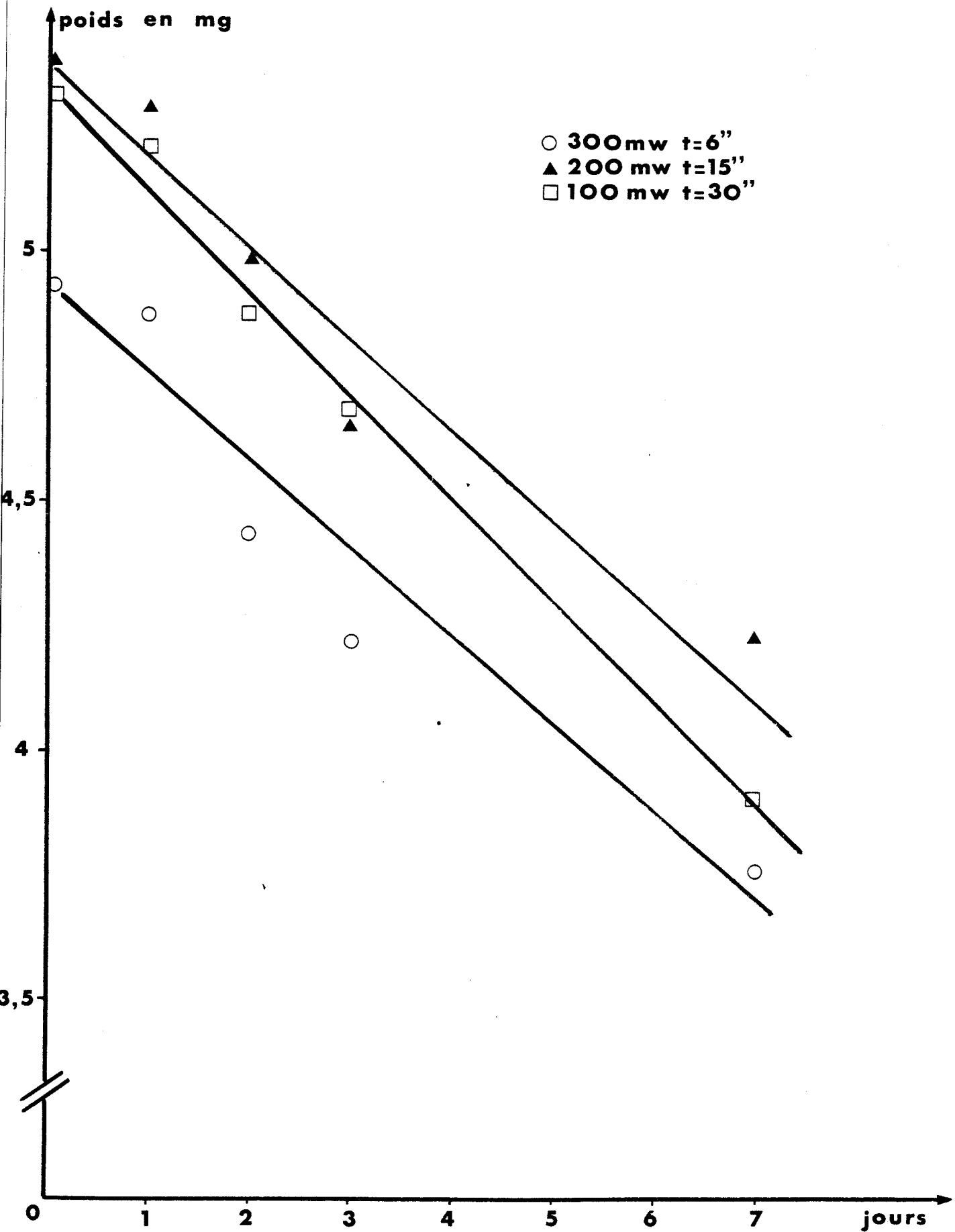
4

3

2

1





**fig16** Effets d'irradiations successives à 24 heures d'intervalle sur le poids des Planaires



TABLEAU 1

$P_{(t-\tau) \times n}$		N m.o.	MICROONDES					N ch. cl.	CHAUFFAGE CLASSIQUE %
$P_{t-\tau}$	n		0h	24h	48h	$\geq 72h$	%		
$0,3w_{1-1}$ $\Delta T_{irr} = 7,5^\circ C$	1	10	10	10	10	10	100	10	100
	2	10	8	8	8	8	80	10	100
	3	10	7	7	7	7	70	10	100
	4	20	2	2	2	0	0	10	100
	5	20	0	0	0	0	0	10	100

Le pourcentage des Planaires en survie dans les jours qui suivent après  $n = 1, 2, 3, 4$  et  $5$  traitements par irradiation microonde ou par échauffement classique à la température de  $T = T_i + \Delta T_{irr} = 25,5^\circ C$  pendant une durée d'une minute, chacune séparée par l'intervalle de temps  $\tau = 1$  min.

TABLEAU 2

$P_{t-\tau-t-\tau-t}$	N m.o.	MICROONDE	N chauf. class.	CHAUFFAGE CLASSIQUE
$0,8w$ $20''30''20''30''20''$	10	30	10	100
$0,8w$ $20''1h20''1h20''$	10	50	10	100
$0,8w$ $20''24h20''24h20''$	10	100	10	100

Le pourcentage des Planaires en survie dans les jours qui suivent après trois traitements par irradiation microonde ou par échauffement classique à la température de  $T = T_i + \Delta T_{irr} = 29^\circ C$  pendant une durée de 20 sec, chacune séparée par des intervalles de temps  $\tau = 30$  sec, 1h et 24h.



**TABEAU 3**

% MORTALITE PUISSANCE watts	PARTIES ANTERIEURES	PARTIES POSTERIEURES	TEMOINS	
			PARTIES ANTERIEURES	PARTIES POSTERIEURES
1,2	0	0	0	0
1,3	0	0	0	0
1,4	100	40	90	10
1,5	100	30	80	20
1,8	100	20	50	10
2	80	20	60	10



Différence de mortalité entre animaux sectionnés et irradiés et animaux sectionnés témoins placés dans les mêmes conditions de température (25°C). Irradiation par cornet (5 jours, 24h/24h)

### TABLEAU 4

Puissance Incidente <sub>mw</sub>	Temps d'Irradiation	Puissance Transmise <sub>mw</sub>	Puissance Reflechie <sub>mw</sub>	Poids de l'animal Irradié <sub>mg</sub>	Poids de l'animal témoin <sub>mg</sub>	Durée du Sommeil après Irradiation	Durée du Sommeil chez le Témoin
5000	30 sec	4 400	23	762	738	30'	34'
5000	30 sec	4 700	21	798	797	42'30	50'
5000	30 sec	4 600	31	1029	992	20'	28'30
5000	30 sec	4 600	50	1084	1083	26'	39'30
5000	180 sec	4 600	32	427	418	10'	24'
5000	10 sec	4 500	36	482	463	25'	25'
5000	5 sec	4 500	46	707	727	20'	24'
500	300 sec	300	9	921	922	23'	13'
500	300 sec	340	5,5	736	743	28'	24'
500	300 sec	330	7,5	810	836	20'	18'30
100	900 sec	60	1,6	594	595	20'	14'
100	900 sec	90	1,4	707	713	24'30	24'
100	900 sec	76	4,6	694	708	28'	26'30

BUS  
LITE

COMPARAISON DE LA DUREE DU TEMPS D'ANESTHESIE ENTRE ANIMAUX TEMOINS  
ET ANIMAUX IRRADIES