

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Université Badji Mokhtar - Annaba-



Faculté des Sciences  
Département de Biologie  
Laboratoire : Écologie des Systèmes Terrestres et Aquatiques



Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat  
Filière : Biologie.  
Spécialité : Biodiversité, Evolution et Ecologie de la Santé.

Etude des propriétés électriques des nerfs à basse température  
et la recherche des nanostructures au niveau de la tête

---

**Présentée par :**  
Melle. AZZOUZ Amina

---

**Devant le jury composé de :**

---

Mr.DJEBAR Rida  
Mme. BOUSLAMA Zihad  
Mr. ABDELMELEK Hafedh  
Mme.EL BOUR Monia  
Mr.NASRI Hichem  
Mr.TLIBA Souhil  
Mr. BELABED Adnène Ibrahim

**Président**  
**Directrice**  
**Co-directeur**  
**Examinatrice**  
**Examineur**  
**Examineur**  
**Examineur**

Professeur. Université Badji Mokhtar - Annaba  
Professeur. Université Badji Mokhtar - Annaba  
Professeur. Université de Carthage - Bizerte  
Professeur. INSTM - Tunisie  
Professeur. Université El Hadi Ben Djedid - El-Tarf  
Professeur. Université de Médecine de Bejaya  
Maître de Conférences. Université Badji Mokhtar - Annaba

---

2017/2018



*“Ce qui relève de la biologie : découvrir, si possible, des règles universelles d'évolution des espèces, mais aussi des règles universelles sur lesquelles sont fondées ces possibilités d'individuation, poussés au plus haut point chez l'homme.”*

*De Alain Prochiantz / Antoine Spire - Le Monde de l'éducation*

En premier lieu et avant tout Je remercie DIEU le tout puissant de m'avoir guidé et offert par sa volonté la possibilité d'être forte jusqu'au bout.

« Un homme isolé ne saurait vivre ni rendre son existence complète à moins d'être avec ses semblables. En effet, un homme seul est incapable d'obtenir la plénitude de l'existence et de la vie, aussi la nature l'oblige à chercher le concours de ses semblables afin de se procurer les choses dont il a besoin. ».

« IBN KHALDOUNE »

On se joint volontiers aux écrits d'IBN KHALDOUNE en disant que sans le soutien de mes deux professeurs, je n'aurais pas pu réaliser ce travail. A cet effet, je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude à

Ma directrice de thèse, **madame le professeur BOUSLAMA Zihad, directrice du laboratoire de recherche Ecologie des systèmes terrestres et aquatiques (EcoSTAq)** que je remercie d'une façon toute particulière ... J'essaierai de me montrer digne de sa rigueur scientifique qu'elle a essayé de me communiquer.

Je vous témoigne tellement de reconnaissance et d'admiration sans vous Je ne serais pas arrivé jusque-là. Merci pour votre disponibilité et votre confiance. Merci madame pour tout ce vous nous avez appris tant sur le plan scientifique et humain, aussi de m'avoir dirigé merci très chère madame de m'avoir toujours soutenue.

Mon co-directeur de thèse, **Monsieur le professeur ABDELMELEK Hafedh directeur du laboratoire de recherche de Physiologie Intégrée à l'université de Carthage (Tunisie)**. Je teins a vous exprimé mon plus profond respect pour votre confiance, d'avoir accepté de codiriger ce travail. Je vous remercie infiniment mon professeur pour le temps que vous m'avez consacré et de m'avoir donné la chance de réaliser un travail dans un domaine qui ne m'était pas vraiment familier et dans lequel j'ai beaucoup appris. Sans votre confiance et vos encouragements, cette thèse n'aurait jamais pu s'achever. Vous vous êtes

autant plus investit, en me permettant d'acquérir une expérience unique de recherche en biologie quantique et en nanoscience. De plus, Vous m'avez soutenue durant quatre ans par vos conseils et votre optimisme. L'ambiance que vous faites régner durant notre travail a de plus grandement contribué au maintien de ma motivation et au plaisir de travailler avec vous.

Mes vifs remerciements vont aussi à **monsieur DJEBAR Rida, professeur à l'université de Badji Mokhtar – Annaba** pour l'honneur qu'il nous fait en présidant ce jury.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance aux membres du jury qui ont acceptés d'évaluer ce travail, à **Madame ELBOUR Monia professeur à l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer de Tunisie**. A monsieur **NASRI Hichem, professeur à l'université El Hadi Ben Djedid – El Tarf**. A monsieur **TLIBA Souhil Professeur et Doyen de la faculté de médecine de Bejaya**. A monsieur **BELABED Adnène Ibrahim, maître de conférences à l'université Badji Mokhtar – Annaba**.

Je tiens également à dire un merci bien spécial à **Mme.HANINI-ABDELMELEK Amel maître de conférences à l'université de Carthage (Tunisie)**. Qui a contribué avec ses compétences dans la rédaction de l'article.

Un grand merci pour toutes les personnes avec lesquelles j'ai pu collaborer lors de mon travail de thèse, merci au **Docteur Ahmed REJEB** de m'avoir donné l'opportunité de réaliser les coupes histologiques au sains de son **laboratoire d'Anatomie Pathologique (Ecole Nationale de Médecine Vétérinaire, Sidi Thabet)**.

A ma merveilleuse et si douce **maman, Mounia** sans laquelle je ne serais jamais ou je suis et comme je suis, celle qui m'a apporté, m'apporte et m'apportera toujours tout ce dont j'ai besoin. Tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. Reçois ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime.

A mon très cher **papa El Hadi** envers qui je suis sincèrement reconnaissante, je voudrais par ce travail que tu puisses être rassuré et fier de ta fille aînée à qui tu as inculqué persévérance et envie d'apprendre. Je te dédie mon papa ce travail qui n'est qu'un début pour une longue carrière inshallah.

A mon unique **frère Aymen** à qui je voudrais montrer l'exemple et le chemin à suivre, je dédie ce travail et espère que malgré toutes les difficultés de la vie tu réussisses. Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur et te protège de tout mal.

A mes deux **sœurs Meriem et Hadjer** je voudrais dire merci pour votre compréhension, vôtres aide et vos encouragements puisse dieu nous garde toujours unies.

A mon beau-frère **Soufiane** Je te suis tellement reconnaissant. Tu es là, toujours présent à mes côtés ... un petit geste pour toi, mais tellement pour moi. Merci est un simple mot ... Ce que je souhaiterais exprimer est au-dessus de cela. Je suis à la fois touchée et reconnaissante pour l'aide, bref pour tout ... Je ne pourrai jamais te remercier assez. Je te dédie ce modeste travail

A mon très cher **Fawzi** mon compagnon et mon partenaire, qui a su à chaque fois me rendre un sourire qui se perd quelque fois, tu es le seul qui mérite réellement mon amour et ma confiance ; merci pour ta compréhension, ton aide et ton encouragement, je te dédie ce travail.

A ma regrettable grand-mère **Sassia** qui m'a insufflé le sens du challenge et de la combativité. Puisse son âme reposer en paix.

*A ma grand-mère **Fatma**. Que ce modeste travail, soit l'expression des vœux que vous n'avez cessé de formuler dans vos prières. Que Dieu vous préserve santé et longue vie.*

*A ma grande famille, qui a toujours montrée de l'intérêt pour mon travail malgré une grande incompréhension de son « but ultime », et entraînant par conséquent beaucoup de rire qui me faisait prendre du recul et tout particulièrement mon très cher oncle **CHARAF ELDIN** que j'estime beaucoup et remercie pour son soutien concret et sincère.*

*A Monsieur **Wadil BOUSLAMA**,*

*C'est avec une grande émotion que j'écris ces quelques lignes pour vous exprimer ma gratitude, ma reconnaissance et mon respect. C'est grâce à vous que j'ai eu la chance de travailler avec Pr. Hafedh ABDELMELEK Je vous remercie très sincèrement pour votre confiance et votre investissement constant.*

*Puisse Dieu, le tout puissant vous préserver, vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

*Je vous remercie pour tout ce que vous avez fait. Je vous dédie ce modeste travail*

...

*Ce travail de recherche a été accompli au laboratoire « **Ecologie des systèmes terrestres et aquatiques** » dirigée par Madame Bouslama Zihad.*

*J'adresse de sincères remerciements à l'ensemble de l'équipe EcoSTAq que ce soit pour les conseils, les services et plus particulièrement pour l'amitié qu'ils m'ont témoignée. En l'occurrence, Kamila Baba Ahmed, Dounia Zeghouma, kenza Chiheb, Wassim Metallaoui, Raouf Amara Korba, Hana Soualah Alila, Wafa Amoura, Fatma Boumendjel, Tahar Tata, Sihem, Khaloula et Moufida Kara Ali. Merci à vous tous. Je vous souhaite à tous du bonheur, réussite et tout le bien que vous méritez.*

*A **Mohammed Akrem Djendli** ... pour son soutien moral, pour les moments de joie, de rire et d'avoir été toujours à mes côtés, que dieu te préserve, j'ai gagné non pas un ami mais un frère ...*

*À mes ami(e)s; Samy Aymen Gahmous (mon petit frère), Djalil Amoura, Youcef Boubena, kakou, houdayfa, Majda Kamouche et Marwa Kechroud pour votre soutien moral, pour tous les moments de joie et de rire.*

*En terminant, je souhaite démontrer ma plus sincère gratitude à toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à la réalisation de cette thèse.*



*Le meilleur reste pour la fin bien évidemment*

*« Ma sœur d'âme »*

**Linda SAILI**

*Je te dédie ce modeste travail pour exprimer toute ma reconnaissance et te dire à quel point je suis fier de t'avoir non pas comme amie mais sœur, Dieu m'en est témoin ... Tu m'as permis de reprendre confiance en moi lors des instants les plus pénibles, Je te remercie également pour ton soutien et ton énergie ...*

*« Mon frère d'âme »*

**Mohammed Lamine BENDJEDDOU**

*Un merci bien spécial à toi mon frère. Tu as été d'un soutien sans faille dans cette dernière ligne droite longue et difficile et tu m'as toujours rappelé que je n'étais pas seule. Je te remercie également pour tes paroles de soutien dans les moments critiques. Merci d'avoir été si gentil et solidaire.*

*Merci à tous*

## Electrical properties of nerves at low temperature and research of nanostructures in the head

The evolution of nervous system has been an important factor in adaptation of animal species to their environment. The objective of this thesis is to study the electrical properties of nerves at low-temperature in four species (Frog, chameleon, chick and rabbit) and to evaluate the quality of myelin sheath by enumeration of Schwann cells during evolution. The present study aims to propose an innovative approach for the classification of the animal kingdom based on superconducting behavior. We have studied the electrical resistivity ( $R$ ) at different temperatures ( $T$ ) between  $300\text{ }^{\circ}\text{K}$  and  $200\text{ }^{\circ}\text{K}$  in the sciatic nerves of frog, chameleon, chick and rabbit. The analysis of the results shows the existence of a superconducting behavior. The analysis of electrical properties clearly shows a translation of  $T_c$  between poikilotherms and endotherms. The treatment of frogs with iron (in the lymphatic sac) reduces the degeneration of the myelin sheaths classically observed in ligated sciatic nerves associated with a decrease in the number of Schwann cells. Thus, iron could prevent or promote regeneration induced by ligation in frog sciatic nerve. Moreover, the analysis of the DRX obtained from the powders of brains and skulls in five animal species clearly shows the existence of magnetite and / or maghemite (1-3 nm) nanoparticles involved in navigation and orientation of animal species. In addition, our results indicate the presence of nano contaminants in the nervous system from the environment of animals.

Keywords: Evolution, nervous system, sciatic nerve, myelin, superconducting-like, iron, magnetite, maghemite, nano contaminants

## **Etude des propriétés électriques des nerfs à basse température et la recherche des nanostructures au niveau de la tête**

L'évolution du système nerveux a été un facteur important dans l'adaptation des espèces animales à leurs environnements. Ce travail de thèse a pour objectif l'étude des propriétés électriques des nerfs à basse température chez quatre espèces (Grenouille, caméléon, poussin et lapin) et l'évaluation de la qualité de la gaine de myéline par le dénombrement des cellules de Schwann au cours de l'évolution. La présente étude vise à proposer une approche innovante pour la classification du règne animale en se basant sur le comportement supraconducteur. Nous avons étudié la résistivité électrique ( $R$ ) à différentes températures ( $T$ ) entre  $300^{\circ}\text{K}$  et  $200^{\circ}\text{K}$  dans les nerfs sciatiques de la grenouille, du caméléon, du poussin et du lapin. L'analyse des résultats montre l'existence d'un comportement de type supraconducteur. L'analyse des propriétés électriques montre clairement une translation de la  $T_c$  entre les poïkilothermes et les endothermes. Le traitement des grenouilles par le fer (dans le sac lymphatique) réduit la dégénérescence des gaines de myéline classiquement observées dans les nerfs sciatiques ligaturés associé à une diminution du nombre de cellules de Schwann. Ainsi, le fer pourrait prévenir ou favoriser la régénération induite par la ligature dans le nerf sciatique de la grenouille. Par ailleurs, l'analyse des DRX obtenus à partir des poudres des cerveaux et des crânes chez les cinq espèces montre clairement l'existence de nanoparticules de type magnétite et/ou maghémite (1-3 nm) impliqué dans la navigation et l'orientation des espèces animales. En plus, nos résultats plaident en faveur de la présence de nano contaminants dans le système nerveux provenant de l'environnement des animaux.

Mots clé : Evolution, système nerveux, nerf sciatique, myéline, supraconduction-like, fer, magnétite, maghémite, nano contaminants

# LISTE

## Des Figures

<b>Numéro de la figure</b>	<b>TITRE DE LA FIGURE</b>	<b>Numéro de la page</b>
(01)	La classification phylogénique des vertébrés	10
(02)	Le système nerveux central	18
(03)	Structure générale d'un neurone.	19
(04)	Barrière hématoencéphalique	20
(05)	Schéma de la coupe transversale de la moelle épinière	21
(06)	Schéma de coupe transversale de nerf périphérique	22
(07)	Schéma des deux types de fibres du SNP	23
(08)	Schéma de fibre nerveuse myélinisée	24
(09)	Schéma de la gaine de myéline et du nœud de Ranvier	25
(10)	Schéma de la conduction saltatoire	29
(11)	Lésions élémentaires	30
(12)	L'effet meissner	38
(13)	Expérience qui illustre la théorie de l'effet meissner	38
(14)	La théorie BCS	39
(15)	Effet Josephson	40
(16)	L'évolution de la résistivité du supraconducteur en fonction de la température	41
(17)	Mode de fonctionnement de l'IRM	44
(18)	Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celle des principales structures chimiques et biologiques	46
(19)	Quelques types de nanoparticules utilisées dans la recherche biomédicale et pour la délivrance des médicaments	47
(20)	Des exemples des NSPM de taille et de compositions chimiques différentes. Microscopie électronique à transmission (MET)	51
(21)	Schéma illustrant la fonctionnalisation des nano-oxydes de fer et leur reconnaissance par des cellules cibles	51
(22)	Structure schématique d'une boîte quantique	53

(23)	Évolution du marché des principaux secteurs utilisant les nanotechnologies depuis 2004	58
(24)	Mode d'exposition et mécanisme d'absorption des NPs dans l'organisme	59
(25)	La technique des quatre points.	63
(26)	(A) Extraction du nerf sciatique. (B) Des cassettes contenant les nerfs sciatiques fixés dans du formol neutre à 10%	64
(27)	Automate de déshydratation (Leika TP1020)	65
(28)	Le système d'inclusion et la réalisation des coupes	66
(29)	Méthodes de calcul de la topographie des cellules de Schwann dans différentes espèces	68
(30)	(A) Ligature du nerf sciatique. (B) Extraction du nerf sciatique	69
(31)	Dissection et extraction du cerveau et du crane	70
(32)	Diffractomètre sur poudre	71
(33)	Schéma de principe de diffraction des rayons X par une famille de plans réticulaire (hkl)	73
(34)	Schéma d'un diffractomètre de rayons X	74
(35)	Spectromètre à transformée de Fourier	75
(36)	Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR	76
(37)	Schéma général du protocole utilisé dans notre étude	77
(38)	Évolution de la résistance électrique normalisée ( $R / R_a$ ) du nerf sciatique de la grenouille en termes de température T (°K)	80
(39)	Comparaison du comportement électrique à basse température des nerfs sciatiques du caméléon, du poussin et du lapin	81
(40)	Sections longitudinales du nerf sciatique: (A) grenouille, (B) caméléon, (C) poussin et (D) lapin (Hematoxyline-Eosine X40).	83
(41)	Nombre de cellules de Schwann (A) dans quatre espèces : grenouille, caméléon, poussin et lapin; (B) Dans poïkilothermes vs endothermes.	84
(42)	La distance entre deux cellules de Schwann (point a-b, b-c, c-d et a-d) chez les Poïkilothermes vs Endothermes.	85
(43)	Section transversale à travers le nerf sciatique de la grenouille (Hematoxyline-Eosine X 640).	92
(44)	Analyse quantitative du nombre de cellules de Schwann après la pose d'une ligature (2 h, 24h et 72h).	93

(45)	Une coupe transversale du nerf sciatique de la grenouille (Hématoxyline-Eosine X 640). (A) Témoin (B) ligaturé 72h, (C) ligaturé 03 jours avec injection de sulfate de fer.	94
(46)	Analyse quantitative du nombre des cellules de Schwann après la pose de la ligature ou ligature associée à l'injection de sulfate de fer.	95
(47)	Diffractionogramme obtenu à partir de la poudre de cerveau chez la grenouille	101
(48)	Diffractionogramme obtenu à partir de la poudre du crane chez grenouilles	103
(49)	Diffractionogramme obtenu à partir de la poudre du cerveau chez la foulque macroule	105
(50)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez la foulque macroule	106
(51)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre de la base du crane de la foulque macroule	108
(52)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre du cerveau du poussin	109
(53)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez le poussin	111
(54)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre de la base du crane chez le poussin	112
(55)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre du cerveau du rat	113
(56)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre du crane du rat	115
(57)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre du cerveau du lapin	116
(58)	Diffractionogramme obtenu avec la poudre du crane du lapin	118
(59)	(A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau de la grenouille. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crane de la grenouille.	120
(60)	(A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau de la foulque macroule. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crane de la foulque macroule. (C) Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crane chez la foulque macroule.	122
(61)	(A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau du poussin. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crane	125

- du poussin. (C) Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crane chez le poussin
- (62) (A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau du lapin. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crane du lapin. (C) Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crane chez le lapin 128
- (63) (A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau du rat. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crane du rat. (C) Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crane chez le rat 131

# LISTE

## Des Tableaux

<b>Numéro du tableau</b>	<b>TITRE DU TABLEAU</b>	<b>Numéro de la page</b>
(01)	Température de transition des nerfs sciatiques du caméléon, de la grenouille, du poussin et du lapin.	82
(02)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de cerveau chez la grenouilles.	102
(03)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du crane chez la grenouille.	104
(04)	Paramètres des pics du diffractogramme à partir d'une poudre du cerveau chez la foulque macroule.	106
(05)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de l'apex du crane chez la foulque macroule	107
(06)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de la base du crane de la foulque macroule	109
(07)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du cerveau du poussin	110
(08)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de l'apex du crane chez le poussin	112
(09)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de la base du crane chez le poussin	113
(10)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du cerveau du rat	114
(11)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du crane du rat	116
(12)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du cerveau du lapin	117
(13)	Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du crane du lapin	118



# TABLE

## Des Matières

AVANT-PROPOS  
REMERCIEMENT  
DEDICACE  
ABSTRACT  
RESUME  
LISTE DES FIGURES  
LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION GENERALE 01

### CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.	Généralités sur l'évolution	09
1.1.	La Classification phylogénétique des vertébrés	09
1.2.	Des amphibiens aux reptiles	10
1.2.1.	Trois lignées de reptiles	10
1.3.	Des reptiles aux mammifères	11
1.3.1.	Adaptation comportementale et métabolique	11
1.3.2.	Des adaptations particulières	12
1.4.	Evolution du système nerveux	12
1.5.	Une structure en carte pour l'analyse visuelle	15
1.6.	Adaptation anatomique et physiologique au cours de l'évolution	15
2.	Généralités sur le système nerveux	17
2.1.	Rappel Anatomique et histologique	18
2.1.1.	Le neurone	18
2.1.2.	Les oligodendrocytes	19
2.1.3.	La barrière hématoencéphalique	19
2.1.4.	Histologie du nerf périphérique	20
2.1.5.	Les axones : myélinisés ou amyélinisés	23
2.1.6.	Cytologie de l'axone et du neurone	25
2.2.	Physiologie du neurone	26
2.2.1.	Le transport axonal	26
2.2.2.	L'influx nerveux	27
2.2.3.	Le rôle de la couche de myéline et des nœuds de Ranvier	28

2.3.	Dégénérescence axonale et démyélinisation segmentaire	29
2.3.1.	La dégénérescence axonale	30
2.3.2.	La démyélinisation segmentaire	31
2.4.	Myélinisation et métabolisme du fer	32
2.5.	La supraconductivité	34
2.5.1.	Découverte et historique de la supraconductivité	34
2.5.2.	Explications du phénomène	36
2.5.3.	Les propriétés d'un supraconducteur	37
2.5.4.	La température critique d'un supraconducteur	40
2.5.5.	Les différents types de supraconducteurs	41
2.5.6.	Les applications de la supraconductivité, réalisations et projets	41
3.	Propriétés physico-chimiques des nanoparticules	45
3.1.	Définition	45
3.2.	Les différents types de nanoparticules	47
3.2.1.	Nanoparticules inorganiques	48
3.2.1.1.	Développement des NSPM et leurs applications	48
3.2.2.	Nanocristaux de semi-conducteurs ou boîtes quantiques	52
3.2.3.	Nanoparticules polymériques	54
3.2.4.	Nanotubes de carbone	55
3.2.5.	Nanoparticules lipidiques	56
3.2.6.	Liposomes	56
3.2.7.	Nanoparticules biosynthétisées	56
3.3.	Applications des nanomatériaux	57
3.4.	Biodistribution des NPs dans l'organisme	58

## **CHAPITRE II. MATERIEL & METHODES**

1.	Le model biologique	62
2.	Le protocole Expérimental	62
2.1.	La technique des quatre points	62
2.2.	Etude histologique sur le nerf sciatique	64
2.2.1.	Préparation des tissus	64
2.2.2.	Interprétation des coupes histologiques	68
2.3.	Méthode de calcul des cellules de Schwann des nerfs sciatiques chez les quatre espèces	68
2.4.	La pose des ligatures sur les nerfs sciatiques et le traitement avec le fer	69
2.5.	Préparation des poudres	70
2.5.1.	Diffraction de rayons X	70
2.5.1.1.	Obtention et analyse des diffractogrammes	70
2.5.1.2.	Principe	72
2.5.2.	La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)	75
2.6.	Analyse statistique	76

**CHAPITRE III**  
**IMPACT DE L'ÉVOLUTION SUR LE COMPORTEMENT ÉLECTRIQUE DES NERFS CHEZ QUATRE ESPÈCES (GRENOUILLE, CAMELEON, POUSSIN ET LAPIN)**

1.	Contexte & Objectifs	78
2.	Résultats	80
2.1.	Évolution de la résistance électrique normalisée (R / Ra) du nerf sciatique en termes de température T (°K) chez les quatre espèces	80
2.2.	Section histologique	82
3.	Discussion	86
4.	Conclusion	89

**CHAPITRE IV**  
**ÉTUDE DE L'EFFET D'UN TRAITEMENT À BASE DE SULFATE DE FER SUR LA QUALITÉ DE LA GAINE DE MYÉLINE CHEZ LA GRENOUILLE**

1.	Contexte & Objectifs	90
2.	Résultats	92
2.1.	Impact de la pose des ligatures sur la gaine de myéline chez la grenouille	92
2.2.	Impact du traitement des nerfs sciatiques ligaturés par le sulfate de fer chez la grenouille	93
3.	Discussion	95
4.	Conclusion	98

**CHAPITRE V**  
**LA RECHERCHE DES NANOSTRUCTURES AU NIVEAU DE LA TÊTE (CERVEAU & CRANE)**

1.	Contexte & Objectifs	99
2.	Résultats	101
2.1.	Étude qualitative par la diffraction des rayons X chez les cinq espèces	101
2.2.	Étude qualitative par spectroscopie infrarouge chez les cinq espèces	119
3.	Discussion	132
4.	Conclusion	135

**DISCUSSION GÉNÉRALE**  
**CONCLUSION & PERSPECTIVES**  
**REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**  
**PUBLICATION**

# INTRODUCTION GENERALE

---

*PROBLEMATIQUE ET CONTEXTE*

---

## Introduction générale

L'évolution du système nerveux a été un facteur important dans l'adaptation des animaux à leur environnement (Barton and Harvey, 2000). La sélection naturelle sur la conduction nerveuse peut provoquer plusieurs changements structurels et fonctionnels (Barton and Harvey, 2000). En plus, la conduction rapide des impulsions nerveuses serait une priorité évidente pour les systèmes nerveux des animaux constamment mis au défi au cours de l'évolution. Au fur et à mesure que les animaux développaient des comportements plus sophistiqués et qu'ils étaient pressés d'envahir des environnements plus risqués - comme ceux qui se trouvaient à l'extérieur de leurs coquilles protectrices ou des terriers ou dans la colonne d'eau, loin des sources de couverture - Les fibres nerveuses qui ont été effectués plus rapidement ont accru la rapidité des réponses d'échappement et peuvent avoir amélioré les capacités de capture prédatrice et d'autres fonctions de traitement neuronal (Hartline and Colman, 2007). La température affecte la vitesse de conduction, à la fois localement au site d'enregistrement et généralement le long du nerf. Localement, l'amplitude du potentiel électrique augmente lorsque la température dans le site d'enregistrement diminue d'un degré (Hopf and Maurer, 1990). Les systèmes nerveux ont développé deux mécanismes de base pour augmenter la vitesse de conduction de l'impulsion électrique. Le premier est par le gigantisme de l'axone en utilisant des axones plusieurs fois plus grands en diamètre que la norme pour d'autres grands axones, comme par exemple dans le cas bien connu de l'axone géant du calamar. Le second est à travers l'enrobage des axones dans des feuilles multicouches d'une membrane plasmique isolante hélicoïdale ou enveloppée concentriquement (la gaine de myéline). Chaque mécanisme, seul ou en combinaison, est employé dans les systèmes nerveux de nombreux taxons, à la fois invertébrés et vertébrés (Fernandez-Moran, 1950). La myéline est un moyen unique d'augmenter les vitesses de conduction le long d'axones de calibre relativement petit. Il semble avoir apparu indépendamment dans l'évolution plusieurs fois dans les annélides, les crustacés et les vertébrés.

Les nerfs myélinisés, quelle que soit leur source, ont en commun un enveloppement membraneux multilamellaire et de longs segments myélinisés entrecoupés de loci « nodaux » où la myéline se termine et l'impulsion nerveuse se propage le long de l'axone par une conduction « saltatoire ». Pour toutes les différences de détail entre les morphologies et les biochimies de la gaine de myéline dans les différentes classes d'animaux, la fonction (conduction saltatoire) est remarquablement universelle ([Hartline and Colman, 2007](#)).

Les premières étapes de l'évolution de la myélinisation ne sont cependant pas aussi difficiles à reconstituer. L'étanchéité électrique de deux surfaces membranaires apposées sur une petite région d'axone diminue sa capacité transversale et accélère proportionnellement la propagation d'impulsions le long de celle-ci. L'étanchéité peut être obtenue en rétrécissant l'espace conducteur, soit cytoplasmique, soit extracytoplasmique, entre des membranes axonales et / ou gliales adjacentes ou par des spécialisations imperméables aux marges, Par exemple des précurseurs de jonctions cloisonnées. Même le scellement aléatoire de plaques de membrane gliale à une seule couche sur la moitié de la surface d'un axone devrait augmenter la vitesse de conduction d'environ 20%. Une fois qu'un tel processus a commencé, il n'est pas difficile d'imaginer une séquence de petites améliorations entraînées par la sélection naturelle qui mènera finalement aux structures complexes que nous voyons aujourd'hui. Peut-être une meilleure connaissance sera acquise grâce à une attention accrue à la myéline évoluée chez les invertébrés ([Hartline and Colman, 2007](#)).

Des études antérieures indiquent que la vitesse de conduction est demeurée constante entre 283-285 K (9,85-11,85 °C) et 293 K (19,85°C) dans les axones géants de calmars ([Rosenthal and Bezanilla, 2000](#)), tandis qu'une autre étude chez les canetons montre un effet de modulation du froid sur les systèmes sérotoninergique et dopaminergique ([Abdelmelek et al., 2000](#)).

De plus, les nerfs sciatiques isolés de grenouilles congelées à 265,5 K (-7,65°C) étaient réfractaires à la stimulation électrique, tandis que ceux obtenus à partir de grenouilles ayant survécu à une exposition à 270,5 K (-2,65°C) ou 268 K (-5,15°C) présentent généralement des caractéristiques normales de potentiels d'action composés (Costanzo *et al.*, 2000). Des preuves indirectes suggèrent que le tunnelage électronique peut se produire à travers les jonctions entre microrégions dans les systèmes vivants (Costanzo *et al.*, 2000).

Les gaines de myéline sont fréquemment associées à des réactions rapides, en particulier chez les taxons d'invertébrés. Pour les fibres de quelques microns ou plus de diamètre, la myéline accélère la conduction des impulsions nerveuses d'un facteur de dix ou plus par rapport aux fibres non-myélinisées de même diamètre. Cela augmente la capacité de traitement de l'information du système nerveux et les vitesses de traitement de l'information, diminuant les temps de réaction aux stimuli, augmentant la précision temporelle, synchronisant plus étroitement les cibles spatialement distribuées (comme les différentes régions d'une feuille de muscle) et prévoyant des retards plus courts dans les boucles de rétroaction (dans le contrôle musculaire). Puisque moins de courant est nécessaire pour satisfaire les besoins de charge des fibres myélinisées, les densités moyennes de canaux sodiques sur la longueur d'une fibre sont beaucoup plus faibles que pour les fibres myélinisées. Il en résulte un plus petit déséquilibre ionique qui doit être rétabli après une impulsion qui passe et confère une amélioration de plusieurs centaines de fois dans l'efficacité métabolique pour récupérer le coût énergétique de la propagation de l'impulsion nerveuse. Pour le système nerveux des primates son fonctionnement représente 20% du budget énergétique du corps au repos, qui ne constitue pas un avantage au sens large. Un autre avantage est l'économie de l'espace pour obtenir la même amélioration de dix fois sur la vitesse de conduction par l'augmentation du diamètre axonal. (Hartline and Colman, 2007).

L'économie du temps, de l'espace et de l'énergie sont des principes directeurs en physiologie qui expliquent la majorité des processus neurobiologiques. Cependant, nous proposons l'existence d'une nouvelle forme de conductivité électrique dans le nerf sciatique à basse température, qui à son tour a de nombreuses similitudes électriques avec les supraconducteurs inorganiques ou organiques. En outre, de nombreuses études portent sur la relation entre la structure de la matière vivante et les propriétés physiques des supraconducteurs ([Del Giudice et al., 1973](#) ; [Kasumov et al., 2001](#) ; [Abdelmelek et al., 2002](#); [Abdelmelek et al., 2003a](#)).

Les nerfs myélinisés conduisent des impulsions rapidement parce que les nerfs myélinisés présentent des parties dépourvus de myéline -nœuds de Ranvier- ce qui permet à l'impulsion nerveuse de passer d'un nœud à l'autre et de voyager plus rapidement ([Stålberg and Erdem, 2000](#)). Il est intéressant de noter que, dans les matériaux supraconducteurs, nous avons trouvé la jonction Josephson. Les jonctions Josephson sont une couche mince de matériau isolant intercalé entre deux couches supraconductrices. Les électrons "Tunnel" à travers cette région non supraconductrice dans ce qu'on appelle les effets de Josephson. Ici, un courant supraconducteur s'écoule même en l'absence de tension externe ([Abdelmelek et al., 2003c](#)).

La supraconductivité est la capacité de certains matériaux à conduire un courant électrique avec une résistance nulle, à condition que leur température soit inférieure à une certaine valeur appelée température critique ( $T_c$ ). Ces matériaux s'opposent également aux champs magnétiques externes. Ce phénomène a lieu à des températures très basses. Les courants électriques peuvent donc circuler à travers un métal sans aucune dissipation d'énergie ([Etourneau, 1986](#); [Mbainabeye et al., 2012](#)).



Abdelmelek et al (2003a) ont rapporté que lorsque le nerf est déposé sur les contacts électriques, la résistivité nerveuse augmente avec la température. Une telle dépendance est généralement associée à un comportement semiconducteur. Une fois que la température du nerf sciatique a été conduite en dessous de 250K (-23,15°C), la résistivité a diminué brusquement puis à des températures inférieures à 234 K (-39,15°C), elle est restée constante et proche d'un dixième de sa température ambiante. La diminution marquée de la résistivité à basse température (250 K) (-23,15°C) peut être médiée par un mécanisme qui présente de nombreuses similitudes avec les supraconducteurs organiques (Schön *et al.*, 2000). Ainsi, la diminution ou l'augmentation de la température a un effet proportionnel sur la résistivité du nerf sciatique. Cependant, Il est devenu évident que la supraconductivité électronique est probablement impliquée dans la propagation du signal nerveux à travers les parties dépourvues de myéline de l'axone (Abdelmelek *et al.*, 2004).

La réduction de la myéline dans le nerf périphérique provoque des maladies démyélinisantes critiques. Le suivi clinique de ces maladies nécessite une quantification rapide et non invasive de la démyélinisation. La transmission rapide et efficace des potentiels d'action porteurs de neuro-signaux dépend de la gaine de myéline (Jessen and Mirsky, 2005; Rasband, 2011). Le noeud de Ranvier est déformé par la démyélinisation conduisant à un mouvement lent des ions  $\text{Na}^+ / \text{K}^+$  (Banik *et al.*, 1976; Ogay *et al.*, 2005). Cependant, la démyélinisation dans l'axone du nerf périphérique entraîne une réduction de la vitesse de conduction nerveuse (NCV) dans la plupart des maladies nerveuses comme la polyneuropathie démyélinisante inflammatoire chronique (PDIC) (Stephanova *et al.*, 2006; Toothaker and Brannagan, 2007) le syndrome de Guillain-Barré (GBS) (Kuwabara, 2007 ; Berg *et al.*, 2014). ,

Dans le cerveau, le fer est abondant et il joue un rôle clé dans le processus de myélinisation (Crichton *et al.*, 2011), c'est un cofacteur nécessaire dans de nombreux processus métaboliques du système nerveux central (SNC), y compris la synthèse de la myéline et pour un grand nombre d'enzymes, y compris un certain nombre d'enzymes clés de la biosynthèse des neurotransmetteurs (Beard *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 2001; Crichton, 2008; Levi and Taveggia, 2014). Les récepteurs de transferrine (TfR) et l'absorption de fer régénèrent le nerf sciatique du rat et comme le fer est un cofacteur essentiel d'un certain nombre d'enzymes clés nécessaires au métabolisme énergétique, l'induction de l'expression du récepteur de la transferrine peut jouer un rôle important dans la régulation de la croissance cellulaire et de la prolifération pendant la régénération des nerfs périphériques (Ravich *et al.*, 1991).

Le comportement supraconducteur-Like est lié à la présence de nanopores au niveau de la gaine de myéline et de nanocristaux au niveau du système nerveux central. Les nanoparticules sont des matériaux allant de un à cent nanomètres dans au moins une dimension. La réduction de la taille des particules augmente le rapport surface / volume et à des tailles faibles inférieure à 5nm elle sont capables de franchir la barrière hématoencéphalique (BHE) (Alexis *et al.*, 2010 ; Dobson, 2006). Au-delà de ces points communs, une grande diversité de nanoparticules a été proposée ; différentes formes, tailles, propriétés chimiques et physiques (Xia *et al.*, 2009).

Le physicien Richard Feynman, prix Nobel de physique en 1965, est considéré comme le fondateur de cette discipline après un discours à caltech (*California Institute of Technologie*) en 1959 où il déclara :

*There is plenty of room at the bottom. Many of the cells are very tiny, but they are active: they manufacture substance; they walk around; they wiggle: and they do all kinds of marvelous things all on very small scale. Also, they store information. Consider the possibility that we too can make things very small which does what we want and that we can manufacture an object that maneuvers at that level (Walker et al., 2006)*

En effet, la cellule peut être considérée comme un laboratoire de synthèse de nanoparticules. Cette synthèse pourrait se faire soit dans des conditions physiologiques normales (en dehors des conditions de stress) ou encore en réponse à un stress chimique (Trabelsi, 2010). La détection du champ magnétique a été établie comme une partie essentielle de la navigation et de l'orientation de divers animaux depuis de nombreuses années. Le mécanisme considéré implique deux types de nanoparticules de fer (magnetite et maghémite) qui ont été trouvés dans les compartiments sous-cellulaires dans les dendrites sensorielles du bec supérieur de plusieurs espèces d'oiseaux. Mais jusqu'à présent, peu ou pas d'études qui évoquent la présence de ces deux nanoparticules chez les autres espèces (Solov'yov and Greiner, 2007).

Cette thèse s'organise en cinq chapitres, les deux premiers correspondent à une revue de la littérature et de la méthodologie employée. Le troisième, quatrième et cinquième chapitre quant à eux représentent l'analyse des résultats obtenues dans cette étude :

➤ **Chapitre I** : une synthèse bibliographique qui comprendra un état de l'art sur l'évolution des espèces, l'anatomie et la physiologie du système nerveux et les similitudes entre les propriétés électriques des nerfs à basse température et les supraconducteurs. L'étude du mécanisme d'adaptation des espèces animales et en particulier le SNC est axé sur la recherche des nanostructures au niveau de la tête.

➤ **Chapitre II** : une présentation de la section matériel et méthodes, qui permettra d'avoir une vue d'ensemble sur les méthodes et les techniques utilisées.

➤ **Chapitre III** : dédié à l'étude de l'impact de l'évolution des espèces animales sur le comportement électrique des nerfs chez la grenouille, le caméléon, le poussin et le lapin).

➤ **Chapitre IV** : porte sur l'altération de la gaine de myéline par la pose des ligatures et l'induction de la dégénérescence wallerienne (WD) au niveau des nerfs sciatiques.

➤ **Chapitre V** : constitue une recherche des nanostructures dans la tête, effectuée chez cinq espèces en se basant sur les techniques de la diffraction des rayons X et de la spectroscopie infrarouge.

La dernière partie correspondra à la discussion générale et les perspectives

# CHAPITRE

# I

---

*Synthèse Bibliographique*

---

## 1. Généralités sur l'évolution

Chaline (2006) définit l'évolution comme l'ensemble des modifications des êtres vivants au cours du temps. Ces modifications peuvent toucher tous les niveaux d'organisation du vivant depuis le comportement et le mode de vie jusqu'aux chromosomes et gènes. Elle explique la diversification de la vie, de ses premières formes à l'ensemble des êtres vivants actuels par une chaîne de ramifications buissonnantes.

Darwin (1921) rapporte que les espèces produisent beaucoup plus de petits que ne pourrait survivre et parvenir à la maturité et par conséquent, il se déclençait inévitablement une lutte pour la survie. Dans une telle lutte, seuls les plus forts ou les mieux adaptés survivaient. Ces individus survivants, les mieux adaptés, transmettraient leurs qualités supérieures à leurs petits. Darwin tira la conclusion que de nouvelles espèces se produisent grâce à la survie et la reproduction des espèces qui sont les mieux adaptés à chaque environnement.

### 1.1. La Classification phylogénétique des vertébrés

Cette classification regroupe les êtres vivants selon leurs liens de parenté, établis selon des critères comportementaux, anatomiques, et physiologiques. La classification cherche à répondre à la question "qui est proche de qui ?", et non plus "qui ressemble à qui ?". Cette question bouleverse la classification qui regroupait les vertébrés en cinq classes : poissons, amphibiens, reptiles, oiseaux et mammifères. En effet, si le thon et le requin se ressemblent, ils n'en sont pas moins éloignés dans l'arbre de parenté. Aussi, les regrouper dans un même groupe sous le même nom de poisson n'a plus de sens aujourd'hui pour les scientifiques. Inversement, les crocodiles et les oiseaux partagent des caractères hérités d'un ancêtre commun. Proches parents, ils sont classés dans un nouveau groupe : le groupe des Archosauriens ([Robert, 1964](#) ; [Robert, 1982](#) ; [Per and Andrew, 1994](#) ; [Robert, 2001](#) ;).

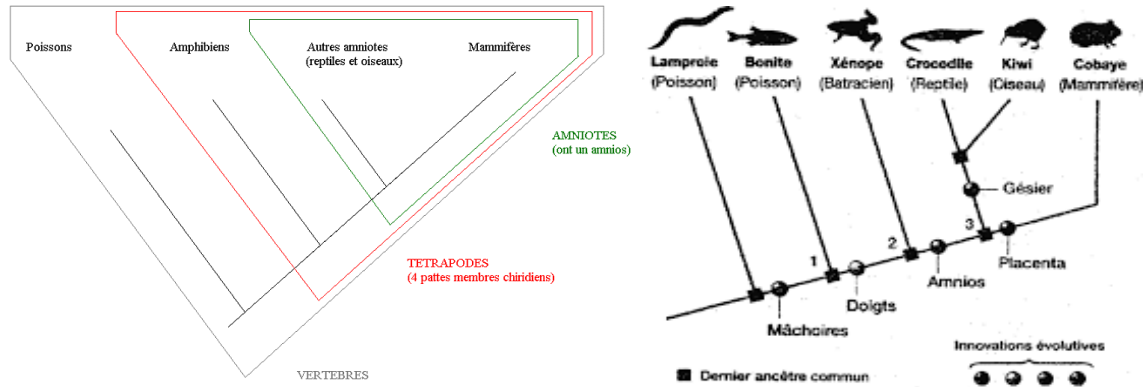


Figure (01). La classification phylogénétique des vertébrés (Morin, 2006)

## 1.2. Des amphibiens aux reptiles

Au cours de l'évolution des premiers amphibiens, il y a 370 millions d'années, apparaît un second jeu de récepteurs olfactifs dans la voûte de la bouche (l'organe voméronasal ou organe de Jacobson). Cet organe est spécialisé dans la détection des phéromones (les signaux chimiques de communication intra-spécifique). Plus tard, vers -300 millions d'années, les reptiles se démarquent en s'affranchissant complètement des milieux humides. Si les amphibiens devaient au moins trouver de l'eau pour se reproduire, les œufs des reptiles, eux, ont une coquille semi-perméable qui les empêche de se dessécher, ce qui permet à ces premiers reptiles – des prédateurs insectivores de 20 cm de long de conquérir de nouveaux milieux (Robert, 1964 ; Robert, 1982 ; Per and Andrew, 1994 ; Robert, 2001).

### 1.2.1. Trois lignées de reptiles

Les premiers reptiles : les anapsidés, qui donneront naissance aux tortues ; les diapsidés, qui deviendront les autres reptiles (crocodiles, lézards et serpents), y compris les dinosaures (et donc les oiseaux); et les synapsidés, qui aboutiront finalement aux mammifères. Les synapsidés donnent naissance aux thérapsidés, un groupe qui contiendra des grands herbivores et des grands carnivores, et formera le groupe dominant sur la terre ferme (Robert, 1964 ; Robert, 1982).

### 1.3. Des reptiles aux mammifères

#### 1.3.1. Adaptation comportementale et métabolique

Au cours de l'évolution existe deux stratégies d'adaptation métabolique : poïkilotherme et endotherme.

✚ Les poïkilothermes sont les animaux à température centrale ( $T_c$ ) variable en fonction de la température de leurs environnements.

✚ Les endothermes sont les animaux à température centrale élevée et constante malgré les variations de la température ambiante.

Les mammifères, en particulier, et les oiseaux, sont homéothermes. Le métabolisme au repos des mammifères et des oiseaux est de 5 à 10 fois supérieur à celui de reptiles de taille égale : il leur faut donc 10 fois plus de nourriture. Pour obtenir autant d'énergie, il faut des changements de corps et de comportement, et donc de cerveau. ([Robert, 1982](#) ; [Robert and Casadevall, 2009](#)).

Des données antérieures ([Robert and Casadevall, 2009](#)) suggèrent également que la température élevée du corps des mammifères représentait un avantage puisqu'il leur confère une grande liberté de déplacement sur le globe et dans la lutte contre les parasites fongiques (mycoses). La grande majorité de ces parasites ne peuvent pas se développer dans des organismes à température élevée. Il est intéressant de noter que l'ornithorhynque, qui a une température basale de 32° seulement, est bien plus susceptible aux mycoses que les placentaires avec leur température plus élevée.



### 1.3.2. Des adaptations particulières

Les mammifères sont caractérisés par le fait qu'ils n'ont que deux jeux successifs de dents (dents de lait et dents définitives) ; les dents peuvent ainsi s'ajuster les unes aux autres au cours du développement, garantissant une meilleure jonction, donc une meilleure mastication et une digestion plus rapide. En outre, des adaptations anatomiques permettent aux mammifères de détecter les hautes fréquences sonores, inaccessibles aux reptiles (chez les mammifères actuels, on trouve des espèces entendant des fréquences jusqu'à 100'000 Hz, alors que chez les non-mammifères, l'ouïe cesse à 10'000 Hz). Cela leur est utile pour détecter les proies au bruit, mais aussi pour communiquer sans être repérés. Les adaptations anatomiques en question sont les suivantes : dans l'oreille interne, un muscle (stapedius) agit sur la chaîne des osselets (issue d'os qui faisaient originellement partie de l'articulation de la mâchoire) et bloque les basses fréquences, ce qui permet à l'oreille interne d'analyser les hautes fréquences. De plus, les mammifères sont seuls à posséder un second jeu de cellules ciliées (dites externes) le long de la membrane basilaire. Ces cellules changent de forme très rapidement, ce qui change les propriétés mécaniques du système par déflexion de la membrane basilaire, et permet aux cellules ciliées internes de mieux analyser les fréquences élevées ([Crompton and Jenkins, 1973](#) ; [Jon, 2013](#)).

### 1.4. Evolution du système nerveux

Les espèces primitifs (exp : les reptiles) présentent des structures corticales beaucoup plus simple. Les reptiles du paléozoïque (les therapsidés) étaient diurnes ; les reptiles du mésozoïque (les dinosaures) ont repris leurs niches écologiques et les ont éliminés. Seuls les therapsidés en quelque sorte "aberrants" (nocturnes) ont survécu : les (futurs) mammifères. Chez les reptiles, une grande partie de l'analyse visuelle a lieu dans la rétine.

Par ailleurs, passer aux sens non visuels (en particulier l'ouïe, mais aussi l'odorat) nécessitait de la machinerie neurale centrale additionnelle par rapport aux reptiles. Et intégrer plusieurs sens en nécessite encore plus, et des structures spécialisées. En effet, l'information en provenance des différents systèmes sensoriels, très différente selon la modalité sensorielle évidemment, se réfère pourtant à des événements uniques, spécifiques, du monde réel, impliquant des objets situés dans l'espace et dans le temps. Il est nécessaire d'identifier, au travers des différents sens, les traits communs à ces événements : d'unifier la représentation indépendamment du canal sensoriel, d'où l'émergence de codes pour où et quand, et des structures qui les représentent et vont les traiter. Ce nouveau cerveau crée donc une représentation complexe du monde réel (Robert, 1964 ; 1982 ; Jon, 2013).

On constate que le développement du cerveau est globalement semblable chez tous les vertébrés: en utilisant des marqueurs génétiques, on constate lors du développement l'existence de zones homologues entre les différents vertébrés, qui sont donc dérivées de zones présentes chez l'ancêtre commun: le cortex des mammifères (qui inclut le néocortex et l'hippocampe) est homologue au cortex dorsal des amphibiens et des reptiles (hippocampe inclus), et à l'hyperstriatum des oiseaux (qui inclut le wulst); le septum, lié à l'hippocampe, est présent chez tous, de même que le striatum, qui joue un rôle dans le contrôle des muscles. Cependant, le cerveau a suivi un chemin évolutif différent chez les reptiles et donc chez les oiseaux, par rapport aux mammifères (Jon, 2013).

Cette évolution divergente des zones homologues (cortex vs. hyperstriatum) est manifeste quand on compare les cerveaux du hibou et du singe de nuit (douroucouli, *Aotus trivirgatus*): celui de l'oiseau montre une structure appelée « wulst » qui ne contient qu'une seule carte fortement organisée spatialement. Le wulst, au contraire du néocortex, ne contient pas de cellules pyramidales, seulement des cellules stellaires (c'est une spécialisation des oiseaux : les reptiles, dont ils sont issus, ont des neurones pyramidaux).

Etant donné que le néocortex des mammifères contient de nombreuses cartes adjacentes, il nécessite davantage de fibres connectrices (matière blanche) que le wulst (en raison des connexions entre cartes). Dans le néocortex, le volume de la matière blanche (axones) croît comme la puissance 1.318 du volume de la matière grise (corps cellulaires), donc plus vite que la matière grise, le câblage du néocortex des mammifères est coûteux. Les oiseaux sont descendants des dinosaures; en réalité, du point de vue de la systématique, les oiseaux sont des dinosaures théropodes, et le poulet est donc un cousin lointain du tyrannosaure. En termes d'encéphalisation, *Archaeopteryx* (une des formes intermédiaires entre dinosaures et oiseaux) avait un cerveau deux fois plus grand que si ça avait été un dinosaure, mais pas encore de wulst: le wulst apparaît à la fin du Mésozoïque ou au début du Cénozoïque, il y a 60 millions d'années. L'encéphalisation actuelle des oiseaux est récente : elle date de seulement 20 millions d'années (Jon, 2013 ; Jon, 2017 ; Nomura and Hirata, 2017).

Le néocortex, qui comporte six couches de neurones, est unique aux mammifères, et était probablement présent déjà chez les premiers vrais mammifères. Cinq couches de neurones pyramidaux ayant des dendrites horizontales (basales) et des dendrites verticales (apicales) ont des terminaisons se trouvant dans la couche supérieure (couche 1). Chaque couche a des connexions spécifiques vers d'autres parties du cerveau. L'entrée vient des structures sous-corticales thalamiques et se fait de manière topographique vers la couche 4 (Jon, 2013 ; Jon, 2017 ; Nomura and Hirata, 2017).

La pression de la sélection a pu mener à la constitution d'une structure si élaborée à partir de la structure corticale beaucoup plus simple des reptiles et c'est peut-être à la nécessité de trouver plus de nourriture plus vite, en raison des contraintes énergétiques: les mammifères primitifs étaient homéothermes, dissipaient beaucoup de chaleur (en raison de leur petite taille, ils avaient un rapport surface/volume défavorable), et ne pouvaient stocker beaucoup de graisse (toujours à cause de leur taille) (Robert and Casadevall, 2009).

### 1.5. Une structure en carte pour l'analyse visuelle

Alors que les informations olfactives ne sont pas (ou peu) ordonnées spatialement de manière intrinsèque, l'espace visuel, lui, est ordonné : il y a des relations de voisinage et d'ordre dans le spectacle visuel : par exemple, si un point A est à gauche de B, et B à gauche de C, alors A est à gauche de C. Ceci est valable dans tous les spectacles visuels, et donc l'existence de telles relations est un invariant qui a pu être "extrait" lors de l'évolution et incorporé dans les structures neurales qui vont traiter l'information visuelle, optimisant ainsi leur fonctionnement. Cette structuration spatiale a donc conditionné le développement des structures neurales : autrement dit, l'existence d'une "topographie" de l'espace visuel a influencé l'évolution vers une organisation topographique des structures qui traitent l'information relative à cet espace. Le résultat actuel (une organisation rétinotopique des circuits) laisse supposer que les précurseurs de cette organisation étaient plus efficaces (et/ou plus faciles à mettre en place lors du développement) que d'autres architectures. Ainsi, une des plus anciennes cartes topographiques du cerveau se trouve dans le toit du mésencéphale. Cette carte existe chez tous les vertébrés actuels ; il s'agit du tectum optique, ou colliculus supérieur ([Scott and Toru, 2001](#)).

### 1.6. Adaptation anatomique et physiologique au cours de l'évolution

L'évolution des espèces animales a augmenté l'efficacité des systèmes nerveux des vertébrés : la myélinisation des axones. La myéline est sécrétée par les cellules oligodendriales qui s'enroulent autour des axones. Elle isole les axones, et réduit « le cross-talk » (interférence) entre axones voisins. De plus, elle augmente la vitesse et l'efficacité du signal axonal grâce aux nœuds de Ranvier, ces interruptions dans la gaine de myéline : les potentiels d'action sautent de nœud en nœud (conduction saltatoire). Comme l'équilibre ionique ne doit être recréé qu'aux nœuds, et pas tout le long de l'axone, l'axone myélinisé est beaucoup moins gourmand en énergie.

Les vertébrés à mâchoires sont presque le seul clade à posséder :

- Des axones myélinisés.
- Une cuirasse protégeant le corps (la cuirasse dérive de la crête neurale, un groupe de cellules embryonnaires propres aux vertébrés ; ces cellules sont également à l'origine du crâne, des mâchoires, des dents, et du système nerveux périphérique);
- Des branchies et des muscles respiratoires ;
- Des mâchoires ;
- Le système vestibulaire (qui permet en particulier la stabilisation de l'image rétinienne et l'orientation du corps relativement à la verticale) ;
- L'hémoglobine à quatre chaînes (Zalc, 2006).

Les mollusques céphalopodes (pieuvres, calamars...), comme les premiers vertébrés, sont des prédateurs. L'évolution de leur système sensoriel et de leur cerveau est parallèle à celle des vertébrés. Comme ces derniers, les céphalopodes possèdent :

- Des mécanismes respiratoires spécialisés ;
  - Des mécanismes sensoriels élaborés (vision, odorat, statocystes)
  - Un contrôle moteur raffiné (manipulation à l'aide de nombreux tentacules – huit chez les poulpes) et une locomotion élaborée (à réaction)
  - Une bonne mémoire visuelle.
- La molécule qui transporte l'oxygène dans le sang des céphalopodes est l'hémocyanine (fondée sur le cuivre), quatre fois moins efficace que l'hémoglobine

Cependant, Les axones invertébrés sont enroulés par des cellules gliales, mais n'ont pas de myéline compacte. En conséquence, les potentiels d'action le long des axones invertébrés se propagent à environ 1 m / s, ou moins. Ceci est suffisant pour la survie des petits animaux (entre 0,1 et 30 cm). Parmi les invertébrés, seuls les céphalopodes sont plus grands. En augmentant leur diamètre axonal à 1 mm ou plus, les céphalopodes ont pu augmenter la vitesse de propagation des potentiels d'action et donc adapter la conduction nerveuse à leur plus grande taille corporelle.

Cependant, en raison de la contrainte physique imposée par le crâne et les vertèbres, les vertébrés devaient trouver une solution alternative. Ceci a été obtenu en introduisant la gaine de myéline, ce qui conduit les potentiels d'action à se propager à des vitesses de 50 à 100 m / s sans augmenter le diamètre de leurs axones. Tous les axones des vertébrés ne sont cependant pas myélinisés. Chez les protovertébrés (lancelets, hagfishes, lamproies), qui appartiennent aux agnathes (poissons sans mâchoires), les axones ne sont pas enveloppés par la myéline. Parmi les vertébrés vivants, les espèces myélinisées les plus anciennes sont les poissons cartilagineux (requins, rayons), ce qui suggère que l'acquisition de la myéline est concomitante à l'acquisition d'une mâchoire à charnière. L'association étroite entre l'apparition d'une mâchoire à charnière et la gaine de myéline a conduit à la spéculation selon laquelle parmi les poissons dévoniens qui ont disparu aujourd'hui, les conodontes et les ostracodermes sans mâchoires ne sont pas myélinisés et que la myéline a été acquise pour la première fois par les gnathostomes les plus âgés : Placodermes ([Zalc, 2006](#)).

## 2. Généralités sur le système nerveux

Dans le système nerveux des vertébrés on distingue le système nerveux central (SNC) et le système nerveux périphérique (SNP) ([Aurélia, 2014](#)).

Le système nerveux central (**Figure 2.3**) joue, dans l'organisme, un rôle essentiel, autant dans le comportement conscient de l'individu que pour les processus inconscients. Il est constitué d'un réseau complexe de communications dont les influx règlent le fonctionnement des organes, il permet l'intégration et le traitement des informations que le SNP transporte de ou vers les organes périphériques. Le SNC est principalement formé de substance blanche et de substance grise. L'anatomie le décompose en trois parties : la moelle, le tronc cérébral et le cerveau ([BLOT, 1991](#)).

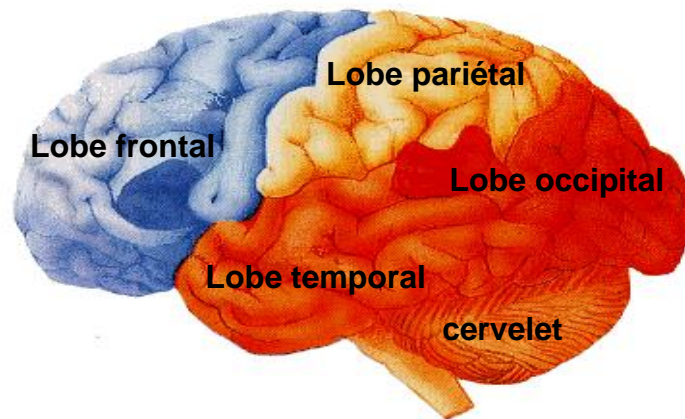


Figure (02). Le système nerveux central (in Cyril, 1998).

Le SNP correspond à l'ensemble des formations nerveuses situées hors de l'étui crânien et n'est constitué que de voies de conduction, avec ou sans relais. Il est divisé en deux formations : les nerfs cérébro-spinaux, qui participent aux voies de la vie somatique, et les nerfs du système autonome, qui constituent les voies de la vie végétative. Il comprend à la fois des nerfs moteurs, sensitifs ou mixtes, selon le sens de direction du message nerveux, et des nerfs autonomes. Le système nerveux autonome innervé les organes assurant les fonctions homéostasiques du corps par opposition aux fonctions de la vie de relation. Il est encore dénommé système nerveux végétatif.

## 2.1. Rappel Anatomique et histologique

Le tissu nerveux se compose de cellules nerveuses (neurone), de cellules gliales (cellule de soutien et de développement) et de vaisseaux (Yong, 2008)

**2.1.1. Le neurone** constitue l'unité fonctionnelle de base du système nerveux. Il est constitué de trois parties schématisées sur la figure 2 :

- Des dendrites qui reçoivent les stimuli (D),
- Un corps cellulaire qui transforme les impulsions (C),

- Un axone, un prolongement cylindrique d'un mètre, qui transporte et transmet par son arborisation terminale, la synapse, les impulsions reçues (BS) (Riche, 2006).

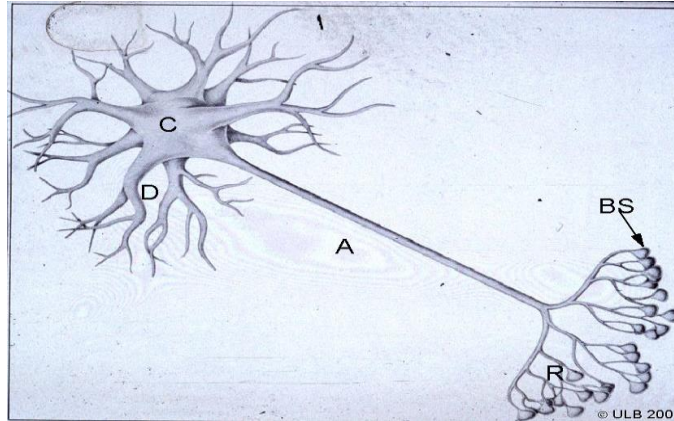


Figure (03). Structure générale d'un neurone. (in Riche, 2006) C : corps cellulaire ; D : dendrite ; A : axone ; BS : synapse.

Histologiquement, la myélinisation de fibres nerveuses s'effectue par les oligodendrocytes dans le SNC et par les cellules de Schwann dans le SNP (Riche, 2006).

**2.1.2. Les oligodendrocytes** sont les cellules gliales les plus nombreuses de la substance blanche et sont également abondantes dans la substance grise. Les oligodendrocytes sont des cellules de tailles relativement grande à chromatine dispersée et possèdent de courts prolongements. Un oligodendrocyte peut être responsable de la myélinisation de plus de 50 axones différents tandis qu'un axone peut être myélinisé par plusieurs oligodendrocytes (Aurélia, 2014).

### 2.1.3. La barrière hématoencéphalique

Les capillaires du SNC ont une architecture classique comportant des cellules endothéliales aplaties reposant sur une membrane basale. Ces cellules endothéliales sont reliées par des jonctions intercellulaires serrées (ou zone occludens). Les péricytes sont les cellules musculaires lisses associées aux endothéliums. A l'extérieur, l'endothélium est complètement revêtu par les pieds périvasculaires des astrocytes.



Les capillaires du SNC sont imperméables à certains constituants plasmatiques, en particulier les grosses molécules formant ainsi une barrière sang-cerveau. Cette barrière est renforcée par la présence de transporteurs d'efflux capables d'évacuer de nombreuses molécules potentiellement délétères pour le cerveau et situés au niveau de la membrane apicale de l'endothélium, qui contient de plus à sa surface, différentes enzymes capables de détruire les métabolites neurotoxiques et les substances humorales neuro-actives. Le maintien de cette barrière protectrice semble dépendre des pieds périvasculaires des astrocytes (Obermeier et al., 2013).

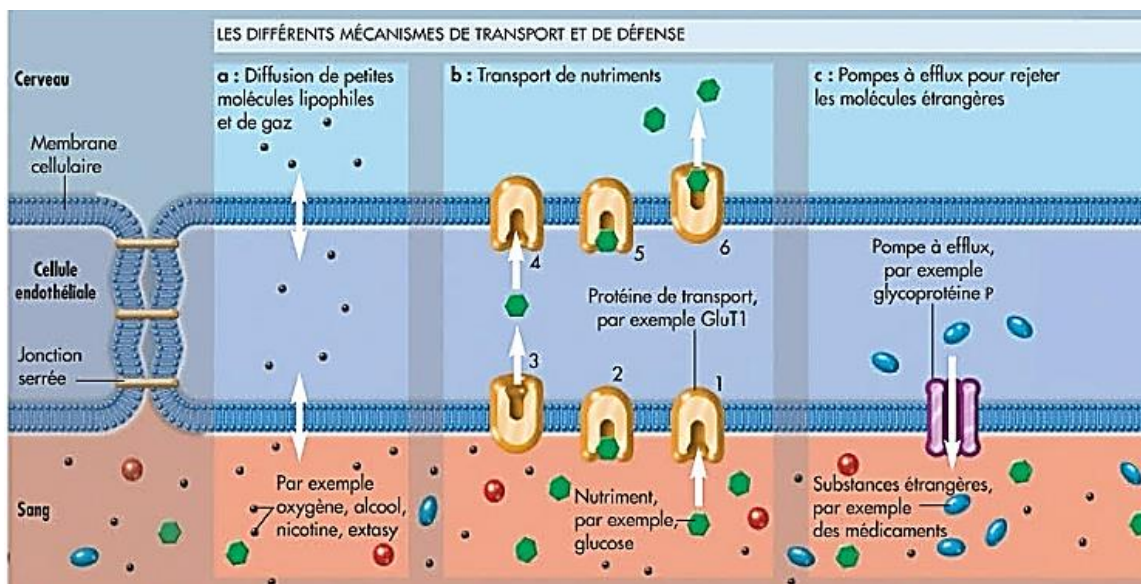


Figure (04). Barrière hématoencéphalique (cours de médecine 2013).

#### 2.1.4. Histologie du nerf périphérique

Les nerfs crâniens, au nombre de 10 paires, sont issus pour la plupart de la partie ventrale de l'encéphale appelé le tronc cérébral. Ils sortent par les orifices de la base du crâne. Les nerfs spinaux, au nombre de 36 paires, sont issus de la moelle épinière et sortent par les foramens intervertébraux. Les nerfs du système autonome se distribuent à toutes les parties du corps et principalement aux viscères. Ils présentent sur leur trajet des ganglions nombreux, et irrégulièrement disposés.

L'origine réelle des nerfs, déterminée par la position des corps cellulaires, varie en fonction de leur rôle. Elle est située dans la corne ventrale de la substance grise médullaire pour les motoneurones et dans les ganglions spinaux pour les neurones sensitifs. Ceci est schématisé dans la figure 5 (Riche, 2006).

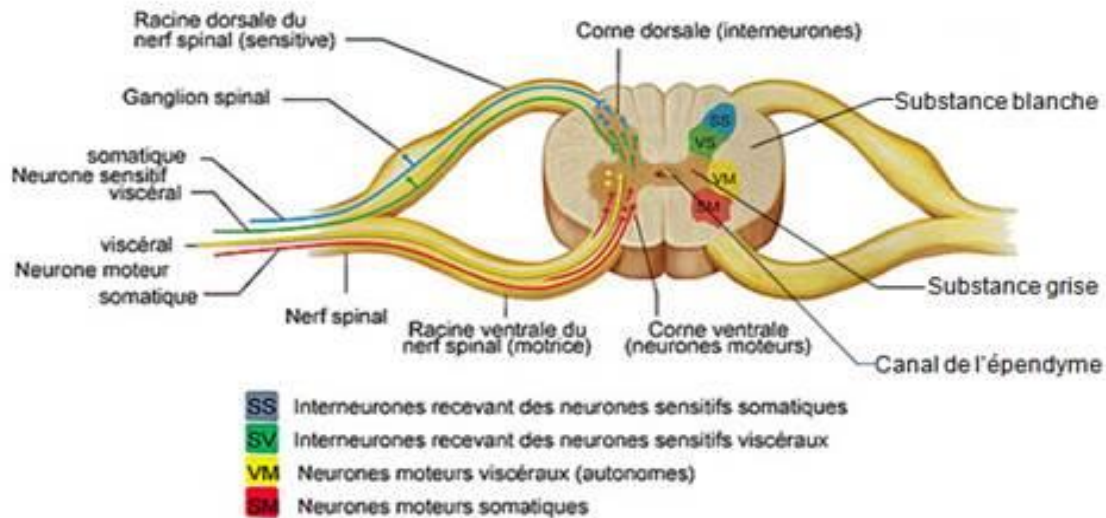


Figure (05). Schéma de la coupe transversale de la moelle épinière (BLOT, 1991).

Les prolongements axonaux des neurones sont regroupés en faisceaux, et constituent les nerfs périphériques (BLOT, 1991). Par exemple, le nerf sciatique, qui est l'un des nerfs les plus longs de l'organisme.

Un nerf est donc un assemblage de fibres nerveuses, elles-mêmes constituées d'une association entre des prolongements axonaux et des cellules de soutien. Nous allons maintenant aborder les différences de ces nerfs, tant dans leur structure, que dans leur physiologie (Riche, 2006).

Dans un premier temps nous développerons l'histologie du tissu nerveux périphérique. Plusieurs enveloppes successives assurent les fonctions de soutien et de nutrition des fibres nerveuses, en entourant les milliers d'axones qui les constituent. On peut distinguer trois enveloppes (Figure 6) :

- L'endonèvre : elle est le support des fibres nerveuses. Elle est constituée d'une matrice extracellulaire riche en glycosaminoglycane, de collagène orienté

longitudinalement, et de rares fibroblastes. Elle entoure chaque axone et cellules de Schwann, ainsi que quelques capillaires.

- Le périnèvre : elle délimite un faisceau nerveux (groupe de fibres et endonèvre). Il s'agit d'un tissu fibreux, constitué de sept à huit couches de cellules concentriques aplaties, séparées par des couches de collagène. Les cellules sont unies par des complexes de jonction et chaque couche de cellules est entourée par une lame basale. Elle agit comme une barrière de diffusion périfasciculaire.

- L'épinèvre : c'est un tissu connectif qui réunit les multiples faisceaux d'axones former un tronc nerveux. C'est une couche externe de tissu lâche, formée de collagène et de fibroblastes, qui peut aussi contenir du tissu adipeux et une artère. (Duncan, 1980 ; Stevens, 1993 ; Fuhrer, 1996)

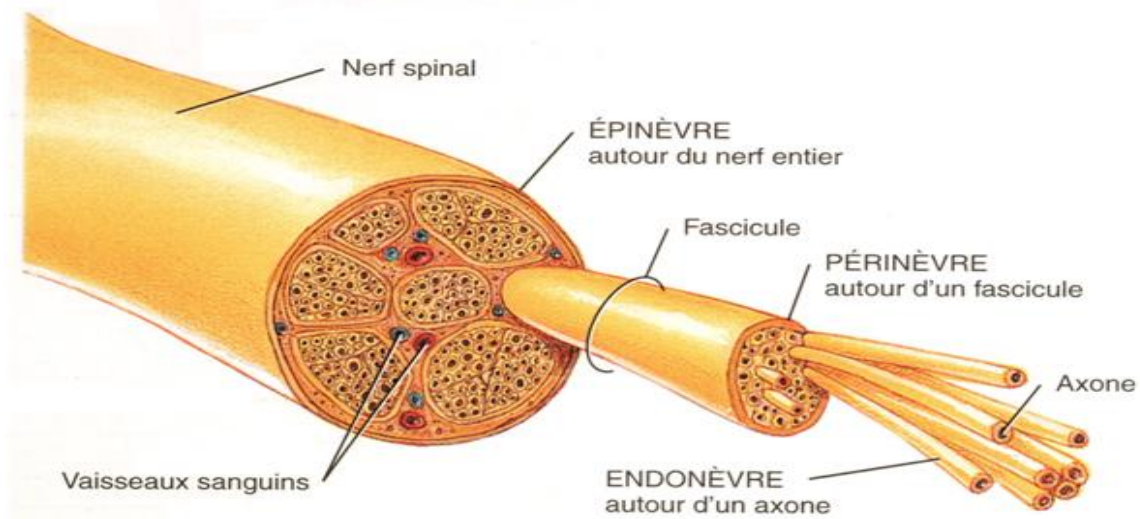


Figure (06). Schéma de coupe transversale de nerf périphérique (BLOT, 1991)

Cette structure histologique est semblable pour tous les nerfs périphériques. Néanmoins il existe des différences entre les fibres nerveuses, d'une part pour le sens de conduction (motrices ou sensibles) et, d'autre part, pour la structure de leur enveloppe de myéline (Riche, 2006).

### 2.1.5. Les axones : myélinisés ou amyélinisés

Précédemment, nous avons vu que la division entre SNC et SNP se fondait, histologiquement, sur la nature des cellules satellites entourant les axones (oligodendrocytes ou cellules de Schwann). Il existe deux types de fibres nerveuses au sein même du SNP, des fibres myélinisées, et des fibres non myélinisées (**Figure 7**). Ces deux types de fibres sont entourés par des cellules de Schwann : - Un axone simple est entouré d'une succession de cellules de Schwann, sur toute sa longueur, pour les fibres myélinisées. Le diamètre de la fibre est de 1 à 15  $\mu\text{m}$  (Riche, 2006).

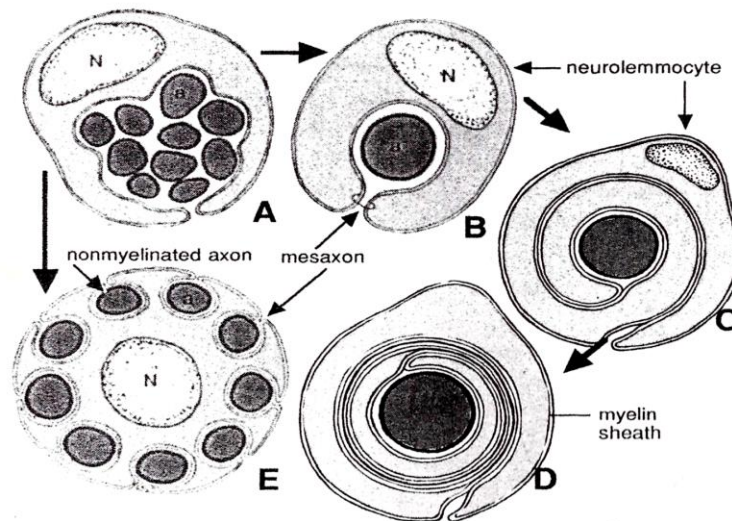


Figure (07). Schéma des deux types de fibres du SNP (d'après (Fuhrer, 1996)

Légende : Fibre myélinisée (D) et non myélinisée (E)

La proportion de fibres myélinisées et amyélinisées d'un nerf varie d'un site anatomique à l'autre. Les cellules de Schwann enroulent des couches en spirales autour de l'axone, formant ainsi une gaine de myéline (**Figure 8**). Une spirale serrée, composée d'une double épaisseur de membranes plasmiques fusionnées se forme, le cytoplasme de la cellule de soutien étant éliminé de la plupart des espaces entre les couches membranaires (Riche, 2006).

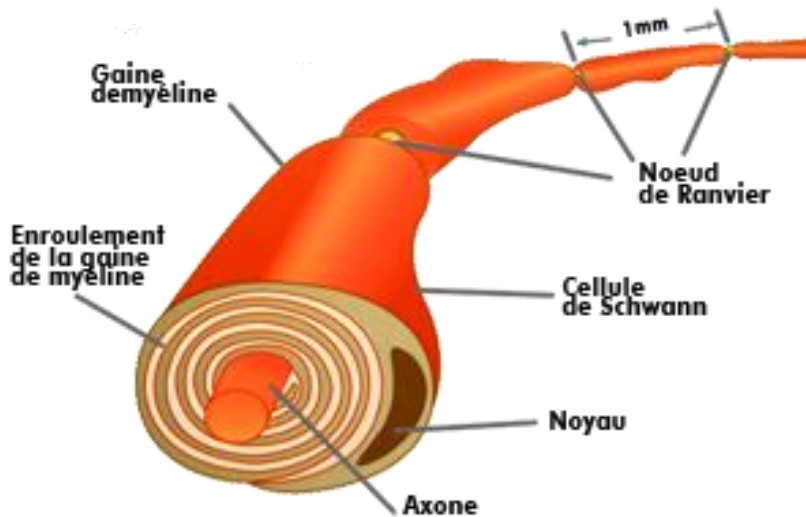


Figure (08). Schéma de fibre nerveuse myélinisée (BLOT, 1991).

L'épaisseur de la gaine de myéline dépend du nombre de couches (ou lamelles) enroulées autour de l'axone. Chaque cellule de Schwann possède une lame basale externe nette qui la sépare de l'endonèvre. La membrane plasmique de ces cellules contient des lipides et des protéines (Stevens, 1993). De nombreuses enzymes sont importantes pour la synthèse et la dégradation des lipides, et l'absence de l'une d'entre elles peut entraîner un dommage sur la couche de myéline, et l'accumulation anormale de substrat. Nous détaillerons le rôle de cette couche isolante ultérieurement.

La myélinisation d'un axone forme de petites unités de 1 à 2 mm de longueur, constituées par une cellule de soutien. L'espace séparant chaque unité cellulaire de myéline est appelé nœud de Ranvier. Au niveau de cette structure, les cellules myelinogènes forment des boucles paranodales de cytoplasme (**Figure 9**). L'axone a alors un diamètre légèrement supérieur à celui des régions internodales qui contiennent la plupart des canaux  $\text{Na}^+$  de la membrane. L'épaississement de la membrane est visible au microscope. Ces canaux sont absents sur la membrane de l'axone, sous la gaine de myéline. Ils jouent un rôle physiologique important dans la conduction nerveuse (Stevens, 1993).

La longueur d'un internoeud varie avec le diamètre ou le périmètre de l'axone. Similairement, l'épaisseur de la couche de myéline varie directement avec le périmètre de l'axone. Ainsi, l'axone qui possède le plus grand périmètre a les plus longs internoeuds et la couche de myéline la plus épaisse (Summers *et al.*, 1995).

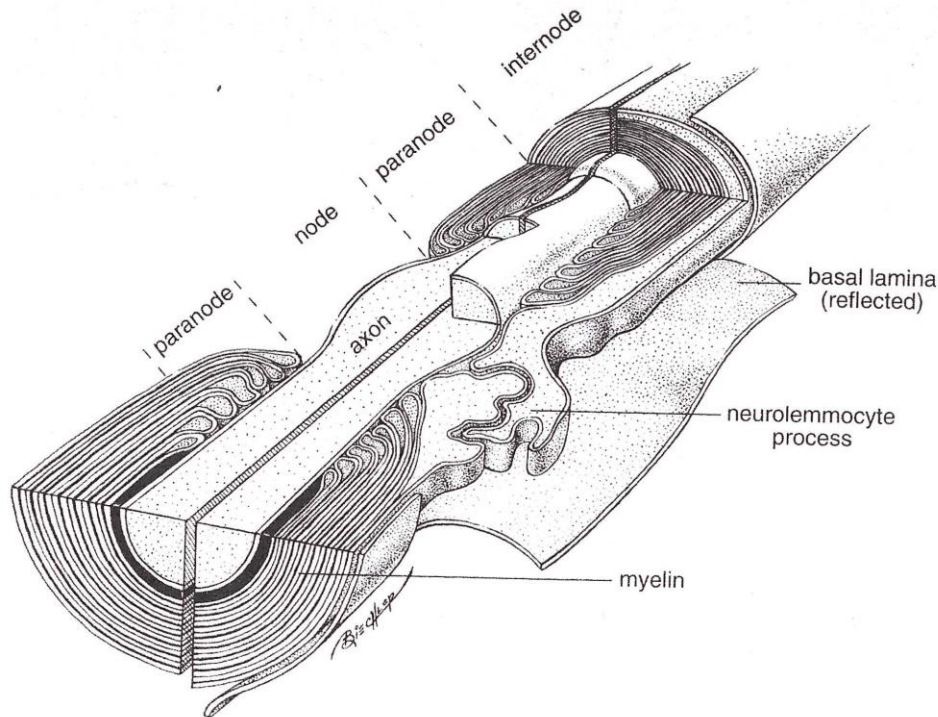


Figure (09). Schéma de la gaine de myéline et du nœud de Ranvier (Fuhrer, 1996).

### 2.1.6. Cytologie de l'axone et du neurone

Au microscope électronique, l'axone qui est délimité par une membrane appelée axolemme, est constitué de nombreux neurofilaments et microtubules, qui forment le cytosquelette axonal (Duncan, 1980). Ce dernier est fortement organisé pour maintenir la forme des cellules, plus particulièrement leurs longs axones, qui peuvent atteindre un mètre de longueur.

Il existe également un réseau très organisé de microtubules, qui transportent dans les deux sens, les substances et les organites. Les neurones ont un métabolisme très actif qui est nécessaire à l'entretien d'une surface massive de membrane et au maintien des gradients électrochimiques.

Le réticulum endoplasmique granulaire, l'appareil de Golgi, les mitochondries et les lysosomes sont ainsi retrouvés en grand nombre dans le cytoplasme des neurones (Stevens, 1993). De plus, l'axone joue un rôle important dans la régulation de la production de myéline. D'après Duncan (1980), ces faits ont été établis en expérimentant une anastomose, dans laquelle un nerf myélinisé comme le nerf phrénique, est anastomose au tronc sympathique cervical, principalement non myélinisé. Après la régénération, il y a une augmentation significative du nombre de fibres myélinisées du tronc sympathique, compare au nombre de fibres myélinisées observées dans le tronc sympathique témoin. Ceci suggère que l'axone ordonne aux cellules de Schwann de produire la myéline. Ces interactions entre axone et cellule de soutien sont devenues une ouverture importante pour les recherches actuelles sur les maladies du SNP.

## **2.2. Physiologie du neurone**

### **2.2.1. Le transport axonal**

L'entretien métabolique d'un axone de longue taille nécessite un système de transport des organites, des enzymes et des métabolites provenant du péricaryon. Des observations d'axones *in vivo* ont montré que le matériel passe à la fois de façon rétrograde et antérograde. Beaucoup de recherches ont permis de découvrir le rôle et la dynamique des flux axonaux (Duncan, 1980). Il en existe trois principaux :

Le transport axonal lent. Les enzymes et les éléments du cytosquelette sont transportés vers la périphérie de l'axone (vitesse de 1 à 5 mm/24h).

Le transport axonal antérograde rapide. Il s'agit du déplacement des organites, entourés d'une membrane, comme les vésicules de sécrétion. Il est assuré par des mécanismes de transport des microtubules, utilisant la kinésine comme moteur moléculaire (vitesse de 400 mm/24h).

Le transport rétrograde rapide. Il permet le retour vers le péricaryon des organites devenus inefficaces ainsi que celui des membranes altérées revenant de la terminaison synaptique (vitesse de 300 mm/24h). Il est lui aussi assuré par des mécanisme microtubulaires utilisant cette fois ci la dynéine comme moteur moléculaire (Stevens, 1993).

L'implication du flux axonal en terme clinique peut ne pas sembler évidente mais une altération ou une réduction du transport peut produire des anomalies morphologiques de l'axone se traduisant par une expression clinique (Duncan, 1980).

### 2.2.2. L'influx nerveux

Comme toute cellule, le neurone possède un potentiel de membrane de repos (-70 mV), établi par les gradients électriques ioniques de part et d'autre de la membrane. Le milieu extracellulaire est riche en ions sodium alors que l'intérieur de la cellule contient une plus grande quantité d'ions potassium. L'excitation d'un neurone s'accompagne de la dépolarisation de la membrane cellulaire, par échange ionique et de la propagation d'un potentiel (Riche, 2006).

L'axolemmes est la membrane plasmique de l'axone. Il contient, dans ses différentes régions, des protéines spécialisées. Des pompes ioniques membranaires entretiennent le gradient électrique basal. Les canaux ioniques à ouverture intermittente modifient le gradient électrochimique transmembranaire en constituant des pores. Ceux-ci peuvent changer leur perméabilité aux ions en réponse à des signaux spécifiques. Les canaux récepteur-dépendant sont situés dans les synapses et s'ouvrent à leur liaison a des neurorécepteurs. Enfin, les canaux potentiel-dépendant, impliqués dans la dépolarisation rapide et explosive lors de l'excitation cellulaire, sont très nombreux dans la membrane plasmique (Riche, 2006).

Si le potentiel de dépolarisation est faible, inférieur au seuil critique, la dépolarisation restera locale, et aucun des canaux ne s'ouvrira. Ce potentiel se dissipe par diffusion sur de courtes distances. L'axone se comporte comme un câble électrique conducteur (Riche, 2006).



Si une zone de membrane est dépolarisée au-dessus du seuil critique, les canaux à sodium et potassium à ouverture intermittente s'ouvrent. Cela provoque un changement explosif du potentiel de membrane, appelé potentiel d'action.

L'ouverture des canaux potentiel dépendant, qui permettent de créer ce potentiel d'action, peut être considérée comme un système local d'amplification de la dépolarisation membranaire. Dans ce cas, le courant se propage jusqu'au bout de l'axone, provoquant une réaction en chaîne. Il déclenche sur son chemin l'ouverture intermittente des canaux ioniques (Stevens, 1993).

La vitesse de propagation du potentiel d'action dépend, d'une part, de la résistance et de la capacitance de l'axone et, d'autre part, de l'existence d'une gaine de myéline. La capacitance est la propriété d'un conducteur électrique à emmagasiner une charge électrique (Riche, 2006).

### **2.2.3. Le rôle de la couche de myéline et des nœuds de Ranvier**

Plus le diamètre de l'axone augmente, plus la capacitance diminue et, inversement, la vitesse augmente. Mais les besoins métaboliques sont alors nettement augmentés dans les plus gros axones.

Si les fuites de courants sont minimisées par un isolant, la vitesse de conduction est alors accrue. Les cellules de Schwann permettent l'isolation et la réduction de la capacitance électrique, grâce à leur couche riche en lipides. Cette gaine de myéline est discontinue avec des internœuds séparés par des nœuds de Ranvier. La dépolarisation rapide au niveau d'un nœud de Ranvier (ouverture des canaux à sodium) est suivie d'une diffusion passive du courant sous la gaine isolante, jusqu'au prochain nœud. La fuite du courant est alors rendue minime. Au nœud suivant, il y a une augmentation de la dépolarisation. Seule la membrane du nœud de Ranvier est excitable. On parle ainsi de diffusion saltatoire du potentiel d'action, puisqu'il saute d'un nœud à nœud (Olivier, 1987 ; Stevens, 1993).

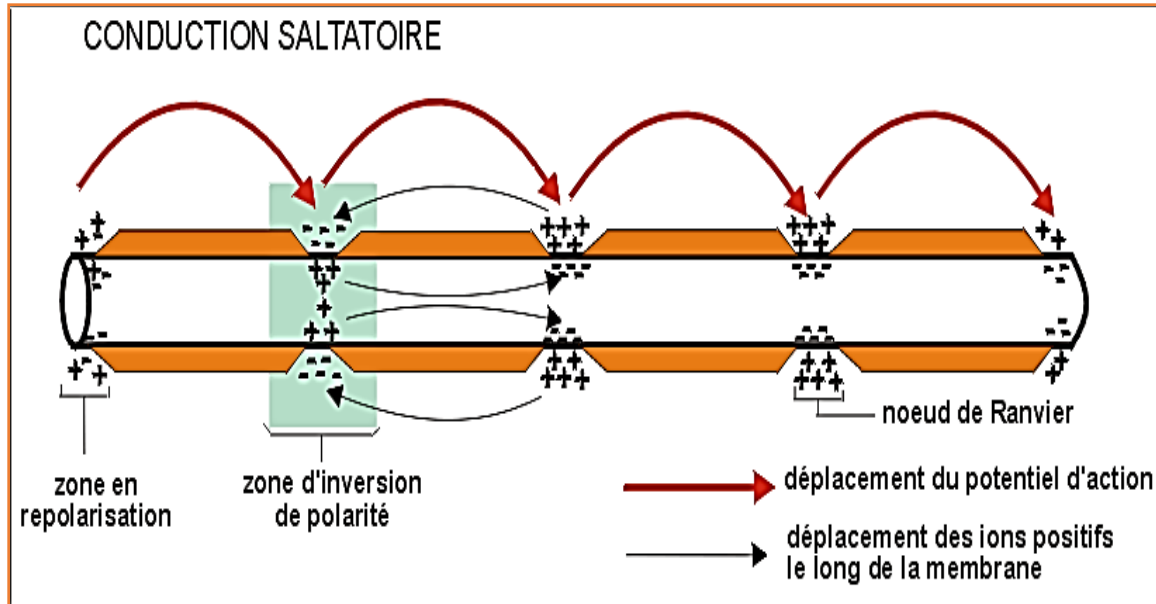


Figure (10). Schéma de la conduction saltatoire (cours de biologie en ligne, 2010)

La demande d'énergie est donc réduite dans les axones myélinisés par rapport aux non myélinisés. En effet, l'entrée des ions sodium est limitée à de petites zones au lieu de se faire sur la surface axonale entière. La dépolarisation est alors plus efficace. L'effet principal de ce type de conduction est d'accélérer la vitesse de conduction dans les fibres myélinisées (Riche, 2006).

### 2.3. Dégénérescence axonale et démyélinisation segmentaire.

Quel que soit l'étiologie, les neuropathies périphériques sont induites par des processus (Figure 11) qui affectent soit l'axone (dégénérescence axonale), soit la gaine de myéline (démyélinisation) (Duncan, 1980 ; BLOT, 1991).

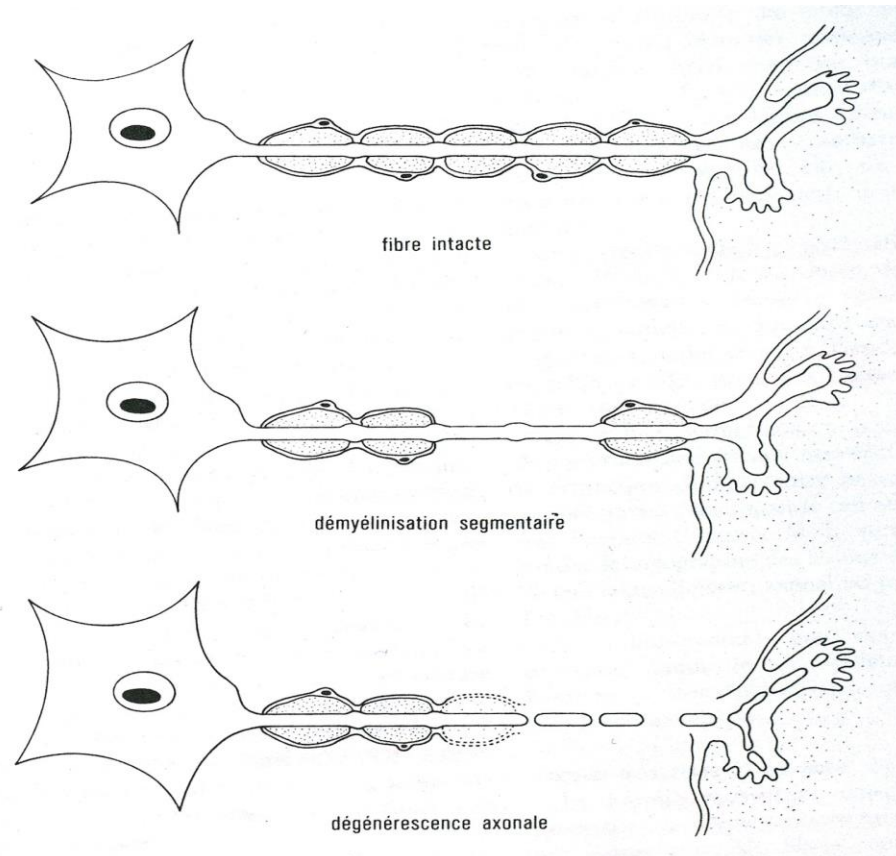


Figure (11) : Lésions élémentaires (BLOT, 1991)

### 2.3.1. La dégénérescence axonale

L'axone est une structure hautement spécialisée, de plusieurs centaines à plusieurs milliers de fois plus long que le corps cellulaire dont il provient. La vie de cette expansion dépend des flux axonaux. Ils transportent les substances synthétisées dans les corps cellulaires jusqu'aux terminaisons axonales et évacuent les catabolites. Plusieurs types de lésions peuvent affecter cette structure.

La dégénérescence Wallerienne, il s'agit de la dégénérescence de l'élément distal de l'axone, suite à une section, ou au dommage de celui-ci. Elle a lieu quelques heures après la lésion. Elle reste la plus commune des dégénérescences axonales (Riche, 2006).

La dégénérescence axonale rétrograde. Ce type de lésion est secondaire à un dysfonctionnement du corps cellulaire nerveux ou de l'axone lui-même. Elle débute dans les parties distales et progresse de façon centripète et rétrograde vers les corps cellulaires. Les fibres nerveuses les plus longues sont préférentiellement touchées et sont atteintes plus distalement. Si le processus causal se maintient, la dégénérescence se poursuit et va intéresser les fibres nerveuses de plus en plus courtes. Le mécanisme sous-jacent n'est pas complètement élucidé. Ce changement pathologique est aussi connu sous le nom de lésion « *dying back* ». Histologiquement, cette lésion ressemble à la dégénérescence Wallerienne.

Autres lésions axonales, elles comprennent l'atrophie axonale, les lésions dystrophiques (accumulations d'éléments du cytosquelette, comme les microtubules ou les neurofilaments), les axones géants et les inclusions anormales. Elles ne seront pas développées ici.

Enfin, contrairement au système nerveux central, le système nerveux périphérique est capable de se régénérer. La réussite de cette régénérescence dépend de la distance qui sépare la lésion du corps cellulaire et de la réinnervation de l'organe cible. Elle a lieu si le corps cellulaire est intact et les enveloppes nerveuses conservées (souvent le cas lors de dégénérescence Wallerienne) à la vitesse de 1 mm/ jour (Duncan, 1980; Olivier, 1987 ; BLOT, 1991; Summers *et al.*, 1995; Vallat, 2001; Vallat and Magy,; 2004).

### **2.3.2. La démyélinisation segmentaire**

Les maladies affectant la production de l'enveloppe de myéline ou les cellules de Schwann, entraînent une perte de l'épaisseur de la couche de myéline entourant les axones ; ces derniers restant intacts. La perte de myéline est habituellement segmentaire et débute au niveau d'un nœud de Ranvier. Elle peut atteindre l'internœud en entier ou seulement la région paranodale. En général, ce processus est aléatoire, affectant quelques cellules de Schwann et en épargnant d'autres.

Une seule fibre nerveuse peut parfois être atteinte en de nombreux endroits. L'évolution va vers la mise à nu plus ou moins complète et sur une plus ou moins longue distance de l'axone. L'axone démyélinisé perd alors sa conduction saltatoire et la vitesse de conduction nerveuse chute. La démyélinisation sur plus d'un espace internodal entraîne un arrêt de la conduction (BLOT, 1991; Vallat, 2001 ; Ickinson and Lecouteur, 2002).

La séparation entre lésions axonales et lésions démyélinisantes est souvent arbitraire, les lésions étant souvent mixtes. De plus une atteinte primitivement axonale peut devenir démyélinisante et inversement une atteinte d'abord démyélinisante provoque, si l'affection est chronique ou grave, une atteinte axonale. L'axone et la cellule de Schwann constituent une entité fonctionnelle à part entière (BLOT, 1991).

Des études antérieures (Crichton and Ward, 2006 ; Crichton *et al.*, 2011) rapportent que de nombreuses maladies neurodégénératives (ND) sont la conséquence de la carence et d'une dysrégulation de l'homéostasie du fer cérébral. Dans ces troubles, les altérations locales des niveaux de fer ou des protéines impliquées dans le métabolisme du fer ont souvent été signalées. Cependant, il n'est toujours pas clair si cela est causatif ou une conséquence des processus dégénératifs.

#### **2.4. Myélinisation et métabolisme du fer**

Le fer (Fe) est un cofacteur nécessaire dans de nombreux processus métaboliques du système nerveux central (SNC), y compris la phosphorylation oxydante, la synthèse de la myéline, la production de neurotransmetteurs, le métabolisme de l'oxyde nitrique et le transport de l'oxygène. Il joue un rôle important dans le transfert d'électrons et est un cofacteur pour un grand nombre d'enzymes (Beard *et al.*, 1993 ; Thompson *et al.*, 2001 ; Crichton, 2008), y compris un certain nombre d'enzymes clés de la biosynthèse des neurotransmetteurs dans le cerveau, telles que la tyrosine hydroxylase, impliquée dans la synthèse des catécholamines, y compris Dopamine, tryptophane hydroxylase impliquée dans la

synthèse de la sérotonine et de la monoamine oxydase, impliquée dans le métabolisme de la dopamine (Crichton and Ward 2006).

Néanmoins, le désir de clarifier les altérations de l'homéostasie du fer dans les maladies neurodégénératives a déclenché un intérêt nouveau à comprendre la gestion du métabolisme du fer dans le système nerveux. En conséquence, il est bien établi que le cerveau se caractérise par des échanges de fer limités, puisque la barrière hémato-encéphalique (BHE) limite son transport et qu'elle exprime toutes les protéines impliquées dans les mécanismes systémiques de régulation du fer (Ke and Qian, 2007 ; Moos *et al.*, 2007). Cela comprend les protéines pour l'absorption de fer cellulaire (transporteurs de métaux, récepteurs de transferrine [TfRs], ferroxidases), protéines de stockage de fer (ferritines), exportateur de fer cellulaire (ferroportine [FPN1]) et protéines régulatrices de fer (Iron Responsive Proteins 1 and 2) (Mills *et al.*, 2010 ; Crichton *et al.*, 2011). Au contraire, on connaît peu le métabolisme du fer dans le système nerveux périphérique (PNS). Ce manque d'intérêt reflète probablement une considération selon laquelle les modifications du fer dans le PNS pourraient être moins pertinentes.

Lors de la régénération nerveuse, une autre source de fer peut être représentée par l'hème. Dans les cellules de Schwann de la myéline phagocytée dans les nerfs sciatiques, la protéine de stress hème oxygénase 1 (HO-1) est induite (Hirata *et al.*, 2000). Le HO-1 catalyse l'oxydation de l'hème par la biliverdine avec la libération de  $Fe^{2+}$  et de CO, et on pense qu'il est impliqué dans la protection des cellules contre les dommages oxydatifs (Tolosano *et al.*, 2010). Fait intéressant, l'induction de l'expression de HO-1 est parallèle à l'expression de TfR1, ce qui suggère que le fer dérivé par le catabolisme de l'hème est recyclé pendant la régénération nerveuse. Les Cellules de Schwann expriment également l'hémopexine, la protéine hémescavenger impliquée dans le catabolisme de l'hème (Tolosano *et al.*, 2010). L'hémopexine est présente à faible niveau dans le nerf sciatique (Swerts *et al.*, 1992), mais elle s'accumule fortement après une blessure nerveuse, alors que son niveau diminue progressivement pendant la régénération (Camborieux *et al.*, 1998). Ainsi, un trafic exceptionnel de fer / hème semble se produire pendant la phase aiguë de la régénération nerveuse.

En somme, l'évolution des espèces animales et plus particulièrement le système nerveux et son mode de fonctionnement par rapport au mode de traitement des informations repose sur une amélioration continue du niveau de myélinisation qui confère au système nerveux trois propriétés à savoir :

- Economie du temps
- Economie de l'espace
- Economie d'énergie

Les trois propriétés des câbles nerveux présentent des similitudes avec les matériaux supraconducteurs.

## **2.5. La supraconductivité**

La supraconductivité est la propriété que possèdent certains matériaux à ne s'opposer au passage du courant, c'est-à-dire à avoir une résistance nulle, à condition que leur température soit inférieure à une certaine valeur appelée température critique ( $T_c$ ). Ces matériaux s'opposent également aux champs magnétiques externes. Ce phénomène a lieu à des températures très basses. Les courants électriques peuvent donc circuler à travers un métal sans aucune dissipation d'énergie ([Mangin and Kahn, 2013](#)).

### **2.5.1. Découverte et historique de la supraconductivité**

Ce phénomène, qui a été découvert en 1911, a connu plusieurs périodes correspondant aux divers axes de recherche.

La Première liquéfaction (1908) de l'hélium atteignant la plus basse des températures connues : 4,2K, ce qui est équivalent à  $-269^{\circ}\text{C}$  dans le laboratoire du physicien hollandais ONNES.

Le laboratoire travaillant (1911) sur l'étude de la résistivité du mercure à la température de liquéfaction de l'hélium, découvrit que celle-ci s'annulait en dessous de 4,15K.

Une liste des éléments simples supraconducteurs très vite établie : On s'aperçoit que tous les éléments n'étaient pas supraconducteurs, et que l'Or, l'Argent et le Cuivre, considérés comme les meilleurs métaux, ne présentaient aucune trace de supraconductivité. A cette époque, l'élément simple possédant la plus haute température critique était le niobium avec 9,2K. Les chercheurs tentèrent alors de trouver des alliages à plus haute température critique, à base de niobium.

Meissner et Oschenfeld (1933) découvrirent la propriété d'un barreau de métal pur à être imperméable à tout champ magnétique, que l'on appelle depuis l'effet Meissner.

Puisque aucune théorie n'était établie pour ce nouveau phénomène, les chercheurs ne suivaient aucunes règles et jouaient donc en quelques sortes avec les atomes. Par conséquent, les échantillons obtenus n'étaient pas toujours supraconducteurs cela permettait de trouver des températures plus basses que d'ordinaire. On atteignait 0,7°K pour le titanate de strontium dopé au niobium, franchissant la barre du dixième de Kelvin.

D'ailleurs, le nitrure de niobium (NbN) avec 17,3°K et Nb<sub>3</sub>Ge avec 23,3°K a détenu le record des meilleurs alliages jusqu'au 1986. Cependant, toutes les directions susceptibles d'apporter des réponses étaient prises en compte afin de trouver un fil conducteur qui permettrait de poser les bases d'une théorie. Certains finissaient par croire que ce phénomène était cantonné en dessous d'une limite de température infranchissable.

Une autre question qu'on se posait à cette époque était de savoir d'où provenait ce phénomène, qu'aucune théorie ne savait expliquer. Plusieurs théories assez puissantes ont été proposées par London, Ginzburg et Landau (1935, 1952), mais elles étaient incomplètes.

En 1957, une partie de la réponse fut donnée par la théorie BCS (expliqué dans II), mise au point par BARDEEN, COOPER et SCHRIEFFER, expliquant une théorie pouvant décrire le phénomène au niveau microscopique, alors que la découverte de celui-ci datait déjà de 45 ans. Par conséquent, ses auteurs ont reçu le prix Nobel en 1974.



Ce fut une année charnière dans l'histoire des supraconducteurs, car c'est à ce moment-là que la théorie BCS fut remise en cause, avec la découverte d'un supraconducteur à 34°K qu'avaient fait les ingénieurs d'IBM Zurich (Suisse), alors que celle-ci prédisait de ne pas dépasser 30K. Neuf mois plus tard, on le découvrit à 92°K. Cette année fut un tournant car de nouveaux composés ont été découverts : des oxydes métalliques céramiques contenant des lanthanides. Par conséquent, de nouvelles générations de composés apparurent tels que Ba-La-Cu-O, Y-Ba-Cu-O et Ti-Sr-Ca-Cu-O\*. Les deux derniers permettent de dépasser la température de l'azote liquide (77°K, soit -196°C) coûtant dix fois moins cher que l'hélium liquide et refroidissant vingt fois mieux ([Cancino, 2005](#)).

Cette découverte déclencha une course aux supraconducteurs à « haute température critique ».

-En 1988, on parvint à fabriquer des supraconducteurs à plus de 100K.

-En 1995, le record de température critique reproductible fut atteint avec des composés au mercure à une température de 164K mais nécessitant de hautes pressions. On ne désespère pas d'obtenir un jour des supraconducteurs à la température ambiante ([Mangin and Kahn, 2013](#)).

### 2.5.2. Explications du phénomène

Pour expliquer le phénomène de la supraconductivité, commençons par une petite introduction de physique quantique ! Le mot clé est : quantum ! Un quantum d'énergie qui correspond à une quantité d'énergie de la dualité onde – corpuscule. L'énergie ne peut s'échanger que par quanta : la discontinuité est de mise en physique.

Les phonons sont au son, ce que les photons sont à la lumière. Par définition, le photon est la plus petite unité d'énergie que peut posséder un mode de vibration lumineuse, tandis que le phonon est la plus petite quantité d'énergie que peut posséder un mode de vibration cristalline (vibration des atomes dans un solide) ([Cancino, 2005](#)).

Dans un cristal (un type de solide), les atomes sont placés de manière très ordonnée. Ce sont les forces interatomiques qui leur confèrent leur arrangement spécifique. Ces forces jouent le même rôle que les ressorts dans un système « masse-ressort ». Par conséquent, si on déplace légèrement un atome de sa position initiale et qu'on le relâche, il se mettra à osciller, comme un pendule. Etant donné que cet atome est relié aux autres par les forces électrostatiques qui agissent entre eux. Les autres atomes du cristal se mettront eux aussi à vibrer, d'où le nom vibration cristalline. Il y aura alors propagation d'une onde de déformation dans le solide.

Les atomes d'un cristal forment une structure vibrante. Un courant qui circule correspond à un déplacement d'électrons. Leur propagation s'accompagne de choc : ils rebondissent sur différents obstacles (impuretés, défauts de structure...) et ces rebonds non élastiques s'accompagne d'une perte d'énergie sous forme de chaleur : c'est le célèbre effet Joule ([Etourneau, 1986](#)).

### **2.5.3. Les propriétés d'un supraconducteur**

#### **1. L'effet Meissner**

Lorsqu'un supraconducteur est placé dans un champ magnétique, ce premier possède alors la particularité de dévier les lignes du champ magnétique hors du matériau. En fait, lorsqu'il est soumis à un champ magnétique, un supraconducteur crée des courants à sa surface, qui produisent un champ magnétique qui s'oppose au passage du champ magnétique qu'on lui soumet. On dit que le supraconducteur devient diamagnétique ([Mangin and Kahn, 2013](#)).

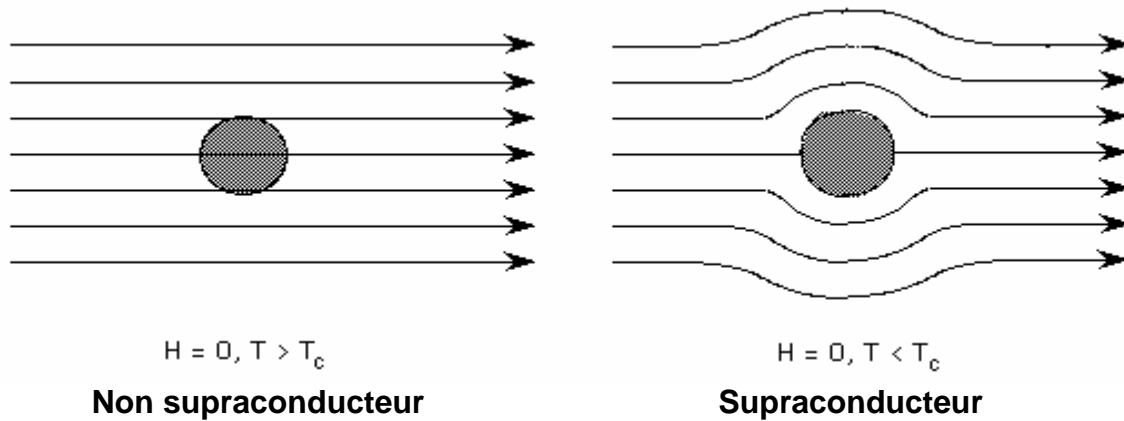


Figure (12) : L'effet meissner (Mangin and Kahn, 2013)

Pour illustrer cette théorie, on peut placer un aimant au-dessus d'un supraconducteur, et observer que l'aimant se trouve en lévitation au-dessus du supraconducteur.

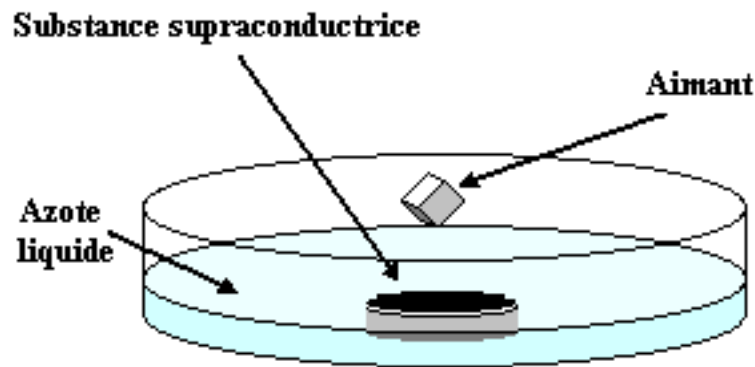


Figure (13) : Expérience qui illustre la théorie de l'effet meissner (Mangin and Kahn, 2013)

## 2. La Théorie BCS (Bardeen, Cooper et Schrieffer)

La théorie BCS décrit la supraconductivité comme un phénomène quantique. Elle est basée sur le couplage des électrons dans certains métaux. En effet, dans les métaux dits en paire, les électrons se déplacent deux à deux, c'est ce que l'on appelle les paires de Cooper (Mangin and Kahn, 2013).

Elles obéissent au principe de l'interaction phonon-électron : Lorsqu'un électron traverse un réseau d'ions positifs, ceux-ci attirent d'abord le premier électron.

Une fois passé, cet électron va modifier la position de ce réseau, mais très légèrement étant donné la grande inertie des ions, et de telle façon que, localement, le métal va être chargé positivement durant un certain temps, ce qui va permettre d'attirer un autre électron, qui va alors se trouver proche du premier électron, malgré la répulsion coulombienne entre ces deux particules de charge négative, étant alors trop faible pour les éloigner. On observe donc un phénomène de couplage des électrons, car le premier électron émet un phonon, qui va être absorbé par le second, et ainsi de suite (Mangin and Kahn, 2013).

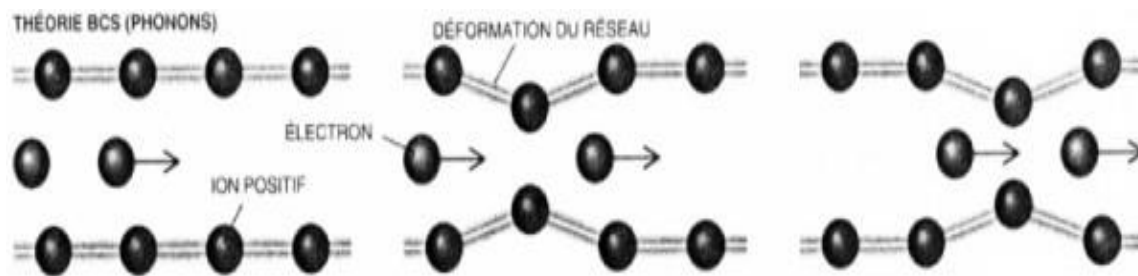


Figure (14) : La théorie BCS (Mangin and Kahn, 2013)

Lorsque la température est élevée, les ions du matériau sont alors en mouvement, s'agitent, et l'équilibre est alors rompu et les paires de Cooper disparaissent.

La théorie BCS explique bien qu'à basse température, les électrons ne subissent aucune dissipation d'énergie par effet Joules car ils ne rencontrent aucun obstacle, étant donné que le premier électron fraie un chemin au second qui se trouve aspiré, sans frottement contre les particules des matériaux, ce qui n'est évidemment pas le cas lorsque ces dernières sont agitées. La théorie BCS ne s'applique donc qu'à des matériaux étant supraconducteurs à basse température (jusqu'à 30K) (Mangin and Kahn, 2013).

### 3. L'effet Josephson

Cet effet, observable à basse température, est une conséquence de la supraconductivité. Si on sépare deux matériaux supraconducteurs par une mince couche d'isolant (de l'oxyde par exemple), alors on constate qu'un courant

électrique continu peut circuler librement entre les deux supraconducteurs, traversant l'isolant.

Cet effet est dû aux paires de Cooper (cf. la théorie BCS) qui passent d'un supraconducteur à l'autre par effet Tunnel (processus purement quantique). Le matériau non conducteur, appelé jonction Josephson, se comporte alors comme un supraconducteur (Mangin and Kahn, 2013).

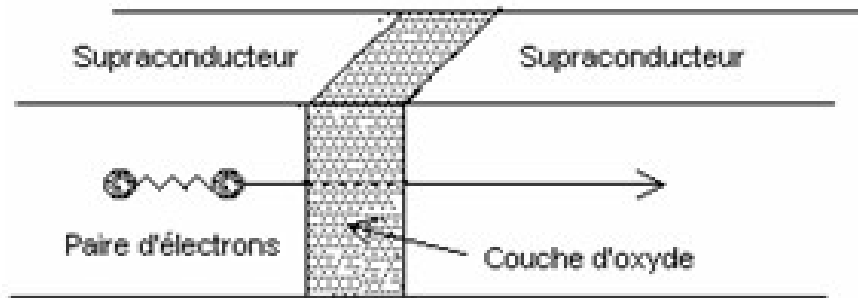


Figure (15) : Effet Josephson (Mangin and Kahn, 2013)

Cependant, cet effet possède des limites. En effet, le courant continu circulant entre les deux supraconducteurs doit être très faible pour que l'effet Tunnel soit observé. Si le courant que l'on fait circuler est supérieur au courant critique, alors la jonction Josephson se comporte comme un obstacle, et la résistance, jusqu'à présent nulle, devient très importante (Mangin and Kahn, 2013).

#### 2.5.4. La température critique d'un supraconducteur

La théorie BCS explique que lorsque le matériau est supraconducteur, c'est-à-dire à une température inférieure à la température critique, alors la résistance interne au matériau est nulle. Cependant, lorsqu'il atteint la température critique, alors on constate un état transitoire, dans lequel la résistance du supraconducteur va augmenter très vite pour un faible écart de température. Bien évidemment, lorsque la température du supraconducteur est supérieure à la température critique, alors il se comporte comme un simple conducteur ohmique, vérifiant la relation  $u=R.i$  (Etourneau, 1986).

On peut tracer un graphique montrant l'évolution de la résistivité du supraconducteur en fonction de la température :

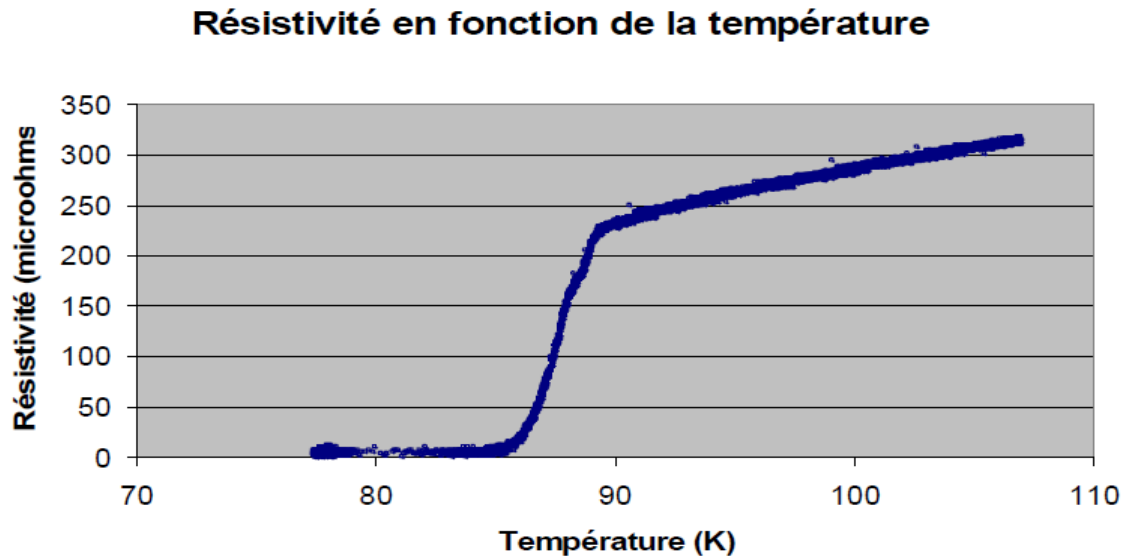


Figure (16) : l'évolution de la résistivité du supraconducteur en fonction de la température (Mangin and Kahn, 2013).

### 2.5.5. Les différents types de supraconducteurs

Dans l'histoire, les premiers supraconducteurs furent des métaux simples comme le mercure, plomb et aluminium. Dans les recherches qui poursuivirent, on montra que les matériaux étant supraconducteurs pouvaient être de natures diverses : métaux simples ou complexes, organiques ou non organiques, céramiques ou oxydes.

### 2.5.6. Les applications de la supraconductivité, réalisations et projets

Dans le domaine de l'environnement

On met à profit les propriétés magnétiques des supraconducteurs pour la filtration de l'eau. En effet, il existe des particules magnétiques qui s'attachent à la poussière. Ces particules sont mélangées à l'eau, capturent les poussières, puis sont séparées du milieu liquide par un puissant champ magnétique généré par des

supraconducteurs, emportant les impuretés avec elles. C'est ainsi qu'à l'aide des supraconducteurs, on peut purifier l'eau (Etourneau, 1986).

Mis à part ce procédé, les supraconducteurs peuvent également aider à assainir l'air. Mais on ne s'y prend pas de la même façon, car le but n'est pas le même. Contrairement à l'épuration de l'eau, on ne cherche pas à extraire les poussières, mais bien à éliminer les agents polluants avant qu'ils soient éjectés dans l'environnement. Par exemple, lors de la combustion du charbon, les polluants contenus dans celui-ci (principalement du soufre) sont expulsés dans l'air avec les autres composantes de la fumée. Cependant, tous ces éléments n'ont pas les mêmes propriétés magnétiques, on les sépare donc avant la combustion grâce à un aimant supraconducteur. C'est donc un bon exemple que la technologie ne fait pas que polluer l'environnement, mais elle aide aussi à le préserver (Etourneau, 1986).

#### **a. Transport du courant**

Le transport du courant entre les centrales électriques et les habitations ou industries passe aujourd'hui uniquement par des câbles en cuivre ou en aluminium. L'inconvénient de ces deux métaux est d'avoir une résistance, qui, bien qu'elle soit faible en comparaison de celle d'autres matériaux, entraîne une très grosse perte d'énergie pendant le transport, essentiellement sous forme de chaleur. De plus, le cuivre étant très lourd, on le remplace petit à petit par de l'aluminium, plus léger mais plus résistif, ce qui augmente les pertes de courant et oblige à faire passer des tensions plus importantes (Etourneau, 1986).

L'application des supraconducteurs dans le transport d'énergie est alors ici parfaitement justifiée. En effet, du fait de leur résistivité nulle, les supraconducteurs évitent la perte de courant par effet Joule (dissipation thermique). Ils permettent en outre de faire passer beaucoup plus de courant qu'une ligne classique, et ce dans un câble de section inférieure à celle des câbles conventionnels (Etourneau, 1986).

Ainsi, 8400 Kg de câble de cuivre pourraient être remplacés par seulement 110 Kg de câble supraconducteur, ce qui faciliterait grandement les travaux d'enfouissement des lignes téléphoniques lors de la complétion d'installations

existantes ou de l'établissement de nouvelles lignes. Cependant, le système de réfrigération de ces câbles reste un désavantage à leur implantation sur le marché.

L'idée de créer des réseaux supraconducteurs qui ne perdent pas d'énergie par effet joule permet la création de lignes qui transportent des courants élevés mais à basse tension et sans perte d'énergie. Aujourd'hui les lignes de fort courant électrique sont à très hautes tensions pour limiter les pertes qui demeurent cependant importantes. En effet, la puissance du courant perdue par effet Joules est fonction du carré de l'intensité :  $P_j = R \cdot i^2$ . C'est pour cela que l'on a recours à des lignes à haute tension, afin de minimiser l'intensité, pour un même courant circulant ( $P=UI$ ) (Etourneau, 1986).

Par ce principe, on peut fabriquer des circuits intégrés qui perdent peu d'énergie par effet Joule et donc réduire leur consommation électrique, ce qui est important pour les appareils portatifs. Mais on a aussi la possibilité de créer des puces électroniques dont les pistes sont plus resserrées sans craindre les effets néfastes de la chaleur dégagée et ainsi augmenter considérablement le nombre de transistors et par suite les performances des processeurs actuels (Etourneau, 1986).

#### **b. Le domaine médical**

Autrefois, une tumeur au cerveau signifiait automatiquement une opération et l'ouverture de la boîte crânienne. Il en était de même pour les autres parties du corps. Cependant, les choses ont bien changé depuis. Aujourd'hui, l'exploration du corps humain sans dommage ni intrusion est de plus en plus facile à réaliser et de plus en plus précise, surtout depuis la venue de la résonance magnétique nucléaire en imagerie médicale. En effet, l'utilisation des rayons X n'est plus la seule méthode pour obtenir des images corporelles. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) a d'ailleurs l'avantage de n'avoir recours à aucun type de radiations, ces dernières pouvant devenir dommageables lorsqu'on y est surexposé. L'IRM offre aussi un meilleur contraste entre les différents tissus que les rayons X et ce, sans avoir à injecter de substances contrastantes au patient. C'est grâce à la supraconductivité qu'a pu naître cette nouvelle technologie (Etourneau, 1986).



En effet, l'IRM (un long tube, au cœur d'un puissant électroaimant supraconducteur) repose entièrement sur la puissance de l'électroaimant qui est la base même de l'appareil. Il faudrait des centaines de kilowatts pour qu'un aimant conventionnel atteigne le champ magnétique désiré. Par conséquent, l'utilisation d'un aimant supraconducteur est très avantageuse (Etourneau, 1986).

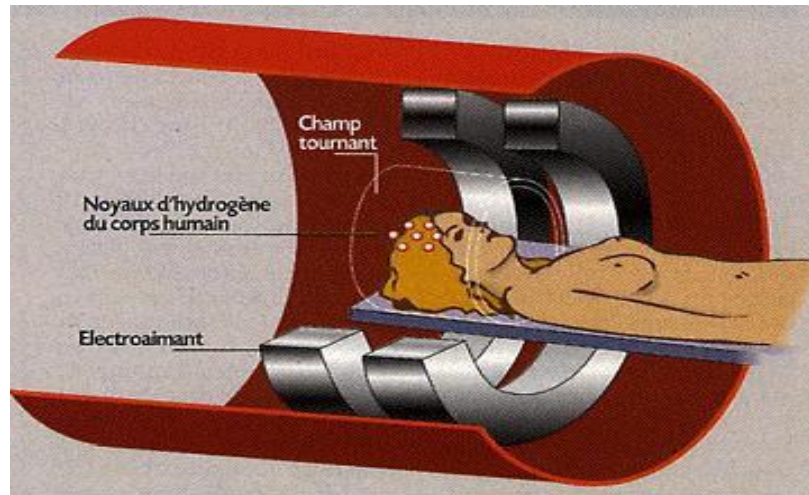


Figure (17) : Mode de fonctionnement de l'IRM ([irm-facile.net](http://irm-facile.net), 2017)

L'IRM est basé sur le principe suivant : le patient, placé sous un détecteur, est soumis à un champ magnétique constant qui agit principalement sur les noyaux des atomes d'hydrogène des molécules d'eau qui composent majoritairement le corps humain (environ 70% de celui-ci, ce sont eux qui sont ciblés en IRM). Les noyaux (sont caractérisés par un moment magnétique nucléaire qui est quantifié : ils sont équivalents à de petits aimants) des atomes ayant un moment magnétique, agissent donc comme des aimants microscopiques en présence d'un champ magnétique. Les moments magnétiques de ces noyaux s'orientent alors à la façon de l'aiguille d'une boussole. Lorsqu'ils sont tous dans la même direction, sous l'effet du champ magnétique, ils subissent l'effet d'un second champ magnétique variable orthogonal au précédent auquel ils sont maintenant sensibles, qui les fait osciller : le signal de résonance magnétique. L'analyse de leur retour en position d'équilibre, une fois le champ variable arrêté, permet d'obtenir l'image en 3-D du corps. Des champs magnétiques très intenses (0,5 à 4 Tesla) et très stables sont nécessaires à l'imagerie médicale pour

améliorer la résolution des images. Ils peuvent être obtenus à l'aide d'aimants supraconducteurs (Etourneau, 1986).

### c. Supraconductivité et lévitation

Le train flottant est souvent désigné sous le nom de Maglev car il s'agit d'un train à lévitation (lev) magnétique (mag). La vitesse maximale d'un train à lévitation magnétique s'élève à plus de 500 km/h (en avril 1999, le prototype japonais a atteint 550 km/h). Les trains traditionnels ne peuvent pas atteindre une telle vitesse, car ils sont limités par l'adhésion qu'ont les roues avec les rails. Pour leur part, les trains à lévitation magnétique sont construits de sorte à ce qu'il n'y ait aucun contact entre la partie mobile et la partie immobile. Afin de permettre au Maglev d'entrer en lévitation et d'être propulsé grâce à l'électromagnétisme (Mangin and Kahn, 2013).

Les travaux d'Abdelmelek *et al.*, (2003) montrent clairement l'existence d'un comportement supraconducteur-like au niveau du nerf sciatique de la grenouille attribuable à l'intégrité de la gaine de myéline. Les supra courants sont générés par des nanopores existant au niveau de la structure nerveuse. Les nanopores pourrait être un nano laboratoire pour tester les effets des nanoparticules organiques ou inorganiques sur les propriétés électriques des nerfs à basse température.

## 3. Propriétés physico-chimiques des nanoparticules

### 3.1. Définition

Une nanoparticule est un assemblage de quelques centaines à quelques milliers d'atomes, formant un objet dont au moins une dimension est comprise entre 1 et 100 nm. Cette définition exclut donc les objets dont la plus petite dimension est comprise entre 100 et 1000 nm. Ces particules, bien que de taille nanométrique, étant désignées comme submicrométriques (Faraji and Wipf, 2009) (Figure 18).

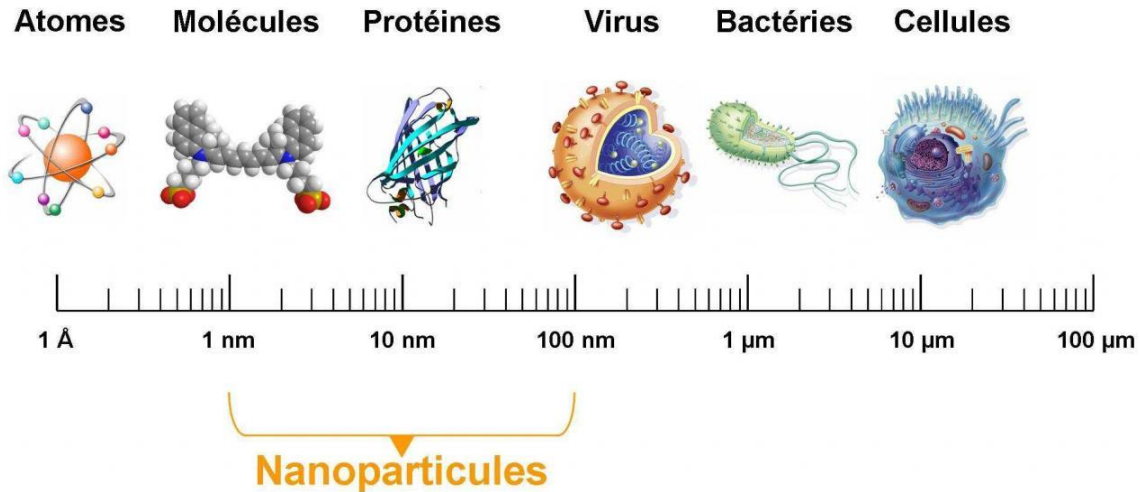


Figure (18) : Gamme de tailles des nanoparticules comparées à celle des principales structures chimiques et biologiques (Faraji and Wipf, 2009).

La faible taille des nanoparticules leur confère des propriétés intéressantes : elle offre en effet une importante surface spécifique et une grande stabilité. Mais ce sont surtout leurs capacités à esquiver les défenses immunitaires et leur capacité à cibler une population de cellules particulières qui en font des vecteurs prometteurs.

L'utilisation des nanoparticules pour la détection et le traitement des pathologies ouvre un nouveau domaine de recherche. L'un des terrains d'application le plus prometteurs, et aussi le plus avancé actuellement, est la délivrance de médicaments (« *drug delivery* » en anglais) (Letchford and Burt, 2007) et en particulier le développement de thérapies ciblées pour l'oncologie. En effet, véhiculer les molécules anticancéreuses par des nanoparticules permet d'augmenter leur sélectivité pour les tumeurs, et ainsi de réduire les sévères effets secondaires accompagnant les chimiothérapies (Wong et al., 2007).

### 3.2. Les différents types de nanoparticules

La définition des nanoparticules est uniquement basée sur la taille de ces objets : au moins une des dimensions de l'objet doit être inférieure à 100 nm. Cette définition n'est donc pas limitative vis-à-vis de la composition de ces particules. Il existe ainsi une grande variété de nanoparticules allant des particules d'or aux liposomes, en passant par les nanoparticules polymériques. Si le choix du cœur des particules est primordial en ce qui concerne la protection et l'éventuel relargage des agents d'intérêt, le contrôle de la surface l'est tout autant. Ce sont en effet ses propriétés de surface qui permettront à la particule de véhiculer les agents thérapeutiques ou diagnostiques vers la zone ciblée. La composition du cœur des nanoparticules est très variée : il peut s'agir d'assemblages organiques ou inorganiques (**Figure 19**) (Faraji et Wipf, 2009).

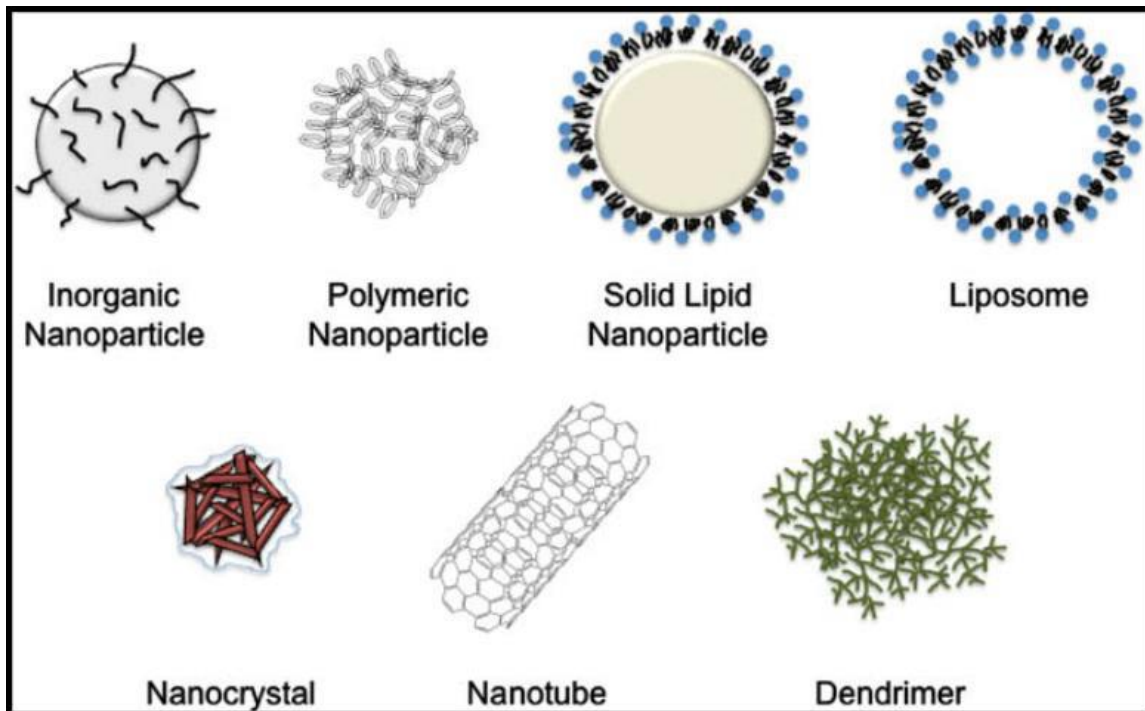


Figure (19): Quelques types de nanoparticules utilisées dans la recherche biomédicale et pour la délivrance des médicaments (Faraji et Wipf, 2009).

### 3.2.1. Nanoparticules inorganiques

Plusieurs types de nanoparticules inorganiques ont été développés. Les plus courantes sont les nanoparticules métalliques d'or (Parak et al., 2003 ; Liu et al., 2007 ; Ghosh et al., 2008) ou d'argent (Kashiwagi et al., 2006 ; Ahamed et al., 2010), les nanoparticules magnétiques (Cheon et Lee, 2008 ; Kumar et al., 2010), les nanoparticules en silice (Yan et al., 2007 ; Vivero-Escoto et al., 2010) et les nanocristaux semi-conducteurs (Michalet et al., 2005 ; Biju et al., 2010). La majorité des particules magnétiques se base sur l'utilisation d'oxydes de fer superparamagnétiques. Ces particules sont constituées de petites particules de maghémite ( $\text{Fe}_2\text{O}_3$ ) ou de magnétite ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), de quelques nanomètres de diamètre, qui peuvent être encapsulées dans une matrice de silice, de polymère ou de polysaccharide (dextran) (Kumar et al., 2010).

Les particules magnétiques d'oxyde de fer sont désignées par le terme SPIO (« SuperParamagnetic Iron Oxide ») pour celles dont la taille est comprise entre 50 et 500 nm, et USPIO (« Ultra small SuperParamagnetic Iron Oxide ») si leur diamètre est inférieur à 50 nm. Il existe également des nanoparticules d'oxydes de fer monocristallins de moins de 3 nm de diamètre (MION ou « Monocristalline Iron Oxyde Nanoparticles ») encapsulés dans une coque de dextran pour aboutir à une taille d'environ 10 nm (Kumar et al., 2010).

#### 3.2.1.1. Développement des NSPM et leurs applications

Les NSPM (les Nanoparticules SuperParaMagnetic) sont des NPs (Nanoparticules) de forme sphérique et de nature cristalline, caractérisées par une aimantation appropriée. Les paramagnétismes des NSPM sont dus à la présence d'ions, d'atomes ou de molécules possédant un moment magnétique. L'aimantation qui en résulte est due à l'orientation de ces moments sous l'effet de leur interaction ou/et sous l'effet d'un champ magnétique externe. Les NPs d'oxyde de fer grâce à leurs propriétés uniques sont utilisées dans une grande variété d'applications biomédicales telles que la création d'agent de contraste pour l'imagerie par résonance magnétique (IRM) (Fahlvik and Klaveness, 1993), la

vectorisation ciblée de médicaments (Sahoo and Labhasetwar, 2003 ; Thwin *et al.*, 2005), et la destruction du tissu tumoral par une hyperthermie (Brannon-Peppas and Blanchette, 2004). Les NPs les plus utilisées dans ce domaine sont les NPs d'oxyde de fer (magnétite, maghémite) (Gupta and Gupta, 2005). Les NSPM ont une propriété unique de superparamagnétisme qui leur confère des avantages tels que la production de chaleur par un champ magnétique alternatif, et une capacité à être guidé vers un tissu ou un organe spécifique par un champ magnétique externe. (Bulte *et al* 2001 ; Gupta and Gupta, 2005 ; Huber, 2005 ; Ito *et al.*, 2005 ; Liu *et al* 2006 ; Hautot *et al.*, 2007).

Ces NPs ont actuellement des applications cliniques courantes mais sont également en développement pour aider le diagnostic dans le domaine du cancer, des maladies dégénératives et inflammatoires mais aussi pour les pathologies cardiovasculaires comme le risque de plaque d'athérome. On peut aussi les utiliser comme biomarqueurs pour évaluer l'effet des traitements correspondants. Christen, (2000) a montré que le métabolisme de fer est impliqué dans la maladie d'Alzheimer et que la concentration du fer dans le cerveau de ces malades est élevée (Christen, 2000). Les NPs de taille comprise entre 10 et 100 nm possèdent le pouvoir de transporter les médicaments à travers la barrière hémato-encéphalique. Lorsqu'un chélateur de fer est lié à une particule nanométrique (NPs), cette particule peut servir comme un véhicule pour délivrer le chélateur vers le cerveau (Alyautdin *et al.*, 1998). Liu *et al* (2006) ont montré que lorsque les NPs liées à un chélateur de fer, il se forme un complexe capable de traverser la BHE et de faire expulser l'excès de fer à l'extérieur du cerveau ce qui va réduire les symptômes de la maladie.

Plusieurs facteurs sont responsables de l'apparition de ces propriétés uniques à l'échelle nanométrique : le grand pourcentage d'atomes à la surface par rapport au volume et l'augmentation du nombre d'atomes à la surface, Ces phénomènes prennent de plus en plus d'importance alors que la taille d'un matériau diminue en dessous de 100 nm.

Le développement des méthodes de synthèse permet un meilleur contrôle de la taille, de la morphologie et de la pureté des nanomatériaux, ce qui permet ainsi de mieux contrôler leurs propriétés (Goya et al 2003 ; Gould, 2006 ;). Pour être utilisé efficacement dans les applications cliniques et afin d'améliorer leurs biocompatibilités et la biodistributions, les NSPM ont été enrobées par des molécules biologiques complexes tels que les anticorps, les peptides et des médicaments. Ce qui concerne les molécules biologiques utilisées pour le revêtement de surface, des facteurs tels que la stabilité, la biocompatibilité, la biodégradabilité et la chimie de surface doivent être pris en considération pour contrôler leurs interactions cellulaires, les mécanismes d'absorption des cellules et les interactions stériques/électrostatique avec les macromolécules intracellulaires. Toutes ces caractéristiques sont essentielles à la réussite de l'application des NSPM. Sans enrobage, les NSPM ont des surfaces hydrophobes avec une grande surface par rapports au volume et une tendance à s'agglomérer (Lu et al., 2007). L'enrobage de surface a permet les NSPM de disperser dans les ferrofluides homogènes et améliorent leur stabilité. Plusieurs groupes de molécule d'enrobage sont utilisés pour modifier la chimie de surface des NSPM (**Figure.20**)

:

- a- des polymères organiques, tels que le polyéthylène glycol
- b- des métaux inorganiques, tels que l'or
- c- les oxydes minéraux tels que le silice et le carbone
- d- Molécules et structures bioactives, telles que des liposomes, des peptides et des ligands

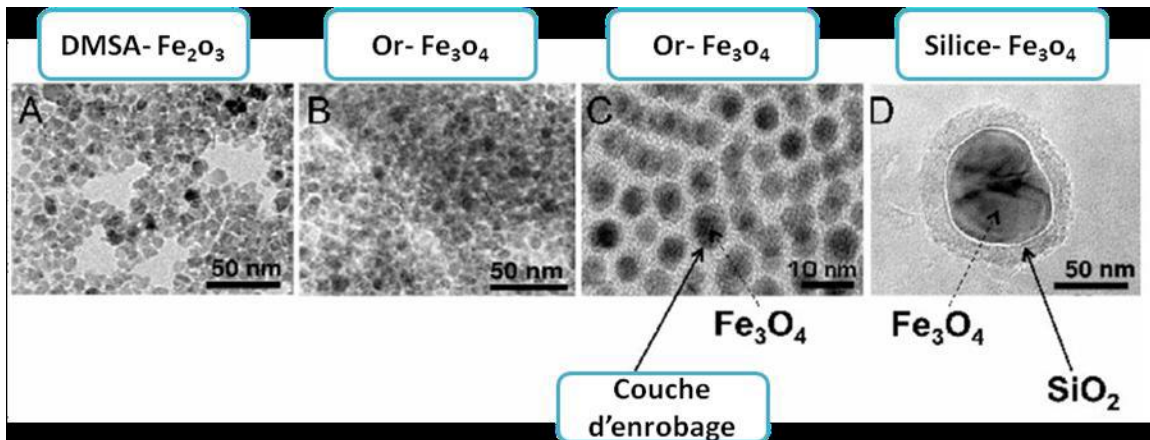


Figure (20) : Des exemples des NSPM de taille et de compositions chimiques différentes. Microscopie électronique à transmission (MET). A) NPs de Maghémite (Fe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>) enrobées par dimercaptosuccinic acid (DMSA) (8nm) B) NPs de Magnétite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) enrobées par l'or (50 nm) C) NPs de Magnétite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) enrobées par l'or (10 nm) x50 de B, D) NPs de Magnétite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) enrobées par le silice (50 nm) (in Barhoumi, 2014).

Cet enrobage a pour but de fonctionnaliser les NSPM afin de les rendre reconnaissables par les cellules cibles uniquement. Ainsi, il a été démontré chez des rats, que des NSPM étaient capables de délivrer des substances médicamenteuses directement dans des tumeurs cérébrales (Gupta and Gupta, 2005) (Figure 21).

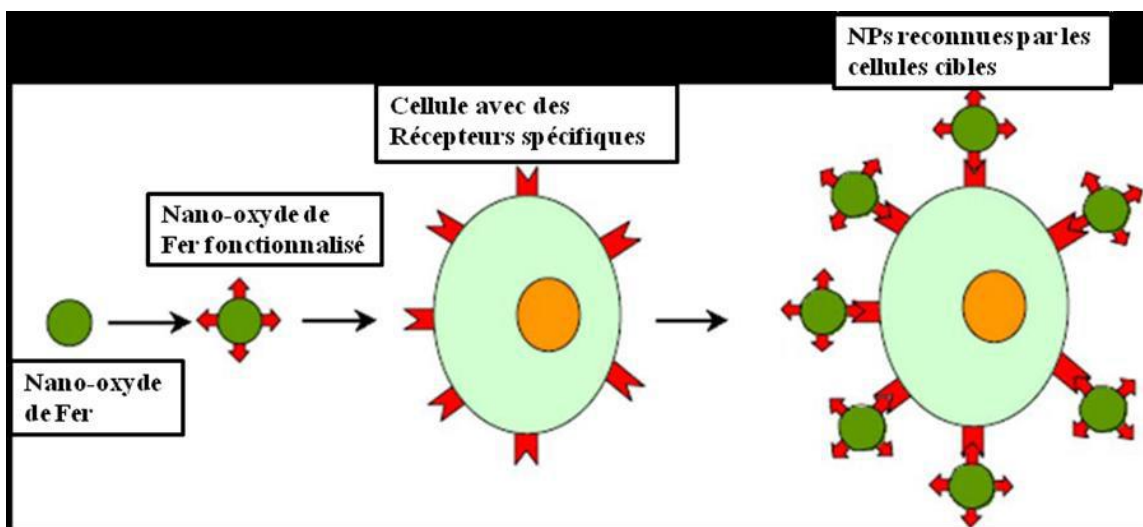


Figure (21) : Schéma illustrant la fonctionnalisation des nano-oxydes de fer et leur reconnaissance par des cellules cibles (Gupta and Gupta, 2005).



### 3.2.2. Nanocristaux de semi-conducteurs ou boîtes quantiques

Les puits quantiques ou *quantum dots* (QDs) appelés aussi boîtes quantiques sont des nanocristaux de semi-conducteurs mesurant, en général, entre 2 et 10 nm et possédant des propriétés optiques et électriques qui dépendent de leur taille (Maureen et al., 2009).

Les propriétés optiques des boîtes quantiques sont dues à leur composition (Figure 22) :

➤ **Un cœur cristallin semi-conducteur** : les couples d'éléments les plus couramment utilisés sont les suivants : cadmium/sélénium, cadmium/tellure, indium/arsenic ou indium/phosphore ;

➤ **Une coque semi-conductrice** : le cœur est recouvert d'une coque formée également d'un matériau semi-conducteur avec une bande interdite plus large comme le sulfure de zinc afin de passiver la surface tout en stabilisant les propriétés optiques de ces nanoparticules.

La structure cœur/coquille est entourée par une troisième couche formée de molécules hydrophiles assurant la solubilisation des puits quantiques dans les solutions aqueuses. A la surface de ce revêtement, des molécules de fonctionnalisation pourraient être fixées afin de permettre la fonctionnalisation des quantum dots (Hild et al., 2008).

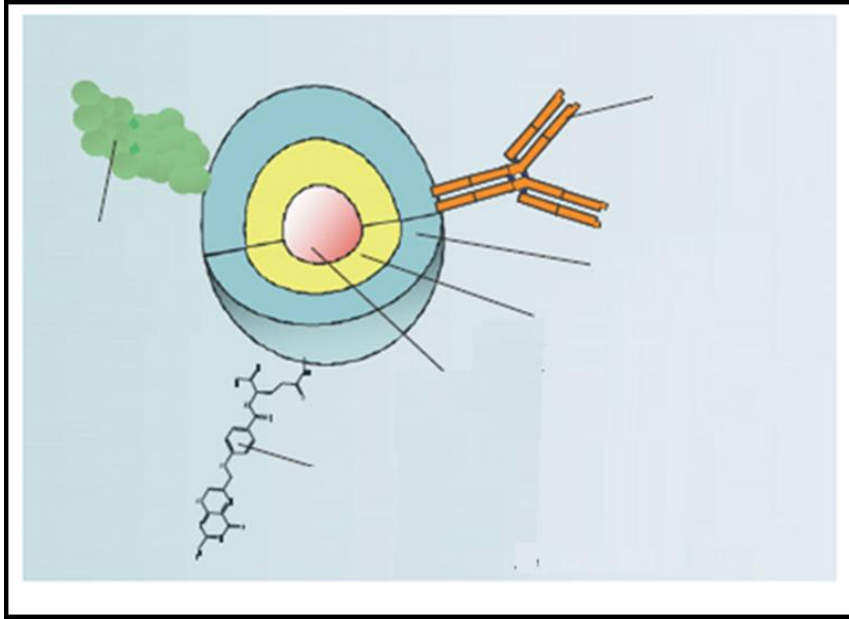


Figure (22) : Structure schématique d'une boîte quantique (Hild et al., 2008).

La figure 22 montre la présence d'un coeur entouré par une coque (jaune). La structure coeur/coquille ou « *core/shell* en anglais » est entouré à son tour par une troisième couche (bleu) formé par des molécules hydrophiles.

Ce dernier manteau permet d'une part, la solubilisation des nanocristaux (hydrophobes) et d'autre part leur fonctionnalisation en assurant la fixation, à leurs surfaces, de molécules de fonctionnalisation (anticorps, peptides...) (Hild et al., 2008).

Les QDs sont des fluorophores inorganiques qui possèdent :

- Une émission dépendante de leur taille : l'émission des QDs varie, en général, entre 450 et 850 nm, cette émission peut être ajustée en jouant sur la taille et la composition du QD (Peng et Peng, 2001).
- Une forte absorbance de lumière : les *quantum dots* peuvent être excités par la lumière blanche (Kim et al., 2004 ; Emerich et Thanos, 2006), le laser de 405 ou 488nm, la lumière filtrée bleu-violet (Bruchez, 2005). Une source de lumière UV est capable d'exciter les QDs quelles que soient leurs tailles (Ozkan, 2004).

➤ Une fluorescence vive : les boîtes quantiques sont efficaces en ce qui concerne la conversion de l'excitation lumineuse en émission avec un rendement quantique (efficacité relative de la fluorescence comparée aux autres voies de désexcitation = nombre de photons émis / nombre de photons absorbés), en général, au-dessus de 50% (Bruchez, 2005). Les puits quantiques sont caractérisés par une large séparation entre les spectres d'excitation et d'émission ou déplacement de Stocks « *Stocks shift* en anglais » qui représente la différence (en longueur d'onde ou en fréquence) entre la position du pic du spectre d'absorption et le pic du spectre d'émission de la même transition électronique. Cette caractéristique améliore la sensibilité de la détection puisque le spectre d'émission entier peut être détecté (Jaiswal et Simon, 2004).

➤ Une forte photostabilité : grâce à leur nature inorganique, les QDs entretiennent des interactions minimales avec leur environnement ce qui contribue à leur photostabilité (Bruchez, 2005).

➤ Un spectre d'émission symétrique et étroit : le spectre d'émission peut être très étroit avec des pics ayant une largeur à mi-hauteur allant de 20 à 40 nm « FWHM pour *full-width at half-maximum* en anglais » (Jaiswal et Simon, 2004 ; Bruchez, 2005).

### 3.2.3. Nanoparticules polymériques

Les premières nanoparticules polymériques développées par Couvreur et al. (1979) dans les années 1980 sont à base de polyalkylcyanoacrylates. Différents polymères ont ensuite été utilisés avec succès pour former des nanoparticules, les plus couramment utilisés actuellement étant le poly (acide lactique), le poly (acide glycolique) et leur copolymère le poly (lactide-coglycolide), respectivement abrégés en anglais PLA, PGA et PLGA. Ces polymères ont l'avantage d'avoir une grande biocompatibilité et d'être biodégradables. Ils sont ainsi utilisés depuis de nombreuses années pour fabriquer des dispositifs médicaux et des implants sous-cutanés (Letchford et Brut, 2007).

### 3.2.4. Nanotubes de carbone

Les nanotubes de carbone « CNT pour *Carbone NanoTubes* en anglais » représentent une classe de fullerènes formée par une ou plusieurs couches de graphène arrangées en structures cylindriques. Les nanotubes de carbone constituent une nouvelle forme de molécules de carbone. Enroulés dans un réseau hexagonal d'atomes de carbone, ces cylindres creux peuvent avoir des diamètres aussi petits que 0,70 nm et atteindre plusieurs millimètres de longueur. Chaque bout peut être ouvert ou fermé par une demi-molécule de fullerène (Iijima, 1991).

Il existe deux types de nanotube de carbone :

- Le premier type est le nanotube de carbone monoparois « SWCNT pour *Single-walled Carbone Nanotubes* en anglais » il est formé par une couche enroulée de graphène (Klumpp et al., 2006). Le diamètre d'un SWCNT varie de 0,40 à 3 nm et sa longueur peut atteindre 1 $\mu$ m (Aillon et al., 2009) ;
- Le deuxième type est le nanotube de carbone multiparois « MWCNT pour *Multi-walled Carbone Nanotubes* en anglais » : il est composé de plusieurs couches concentriques de graphite. La distance séparant deux couches successives d'un MWCNT est d'environ 0,34 nm (Klumpp et al., 2006). Le diamètre d'un MWCNT varie de 1,40 à 100 nm et sa longueur mesure plusieurs microns (Aillon et al., 2009). Les nanotubes de carbone multiparois peuvent atteindre des diamètres de 20 nm. De plus, ils sont chimiquement et thermiquement très stables.

Les deux types de nanotubes (SWCNT et MWCNT) sont utilisés comme des nanotransporteurs pour la délivrance parentérale des médicaments et des gènes et aussi pour la thérapie ciblée des cancers (Lanone and Boczkowski, 2006). Toutefois, la toxicité reste peu connue (Fiorito et al., 2006).

### 3.2.5. Nanoparticules lipidiques

Ces nanoparticules sont constituées d'un coeur lipidique, généralement à base de triglycérides biodégradables, bioassimilables et non toxiques. Parmi les particules entrant dans cette catégorie, les nanoparticules lipidiques solides « SLN pour *Solid Lipid Nanoparticles* en anglais » sont les plus étudiées (Muller et al., 2000 ; Wong et al., 2007). Le coeur de ces particules développées au cours des années 1990 est constitué d'une matrice de lipides qui est solide à température ambiante mais également à la température du corps humain. Cette matrice plus ou moins cristallisée est stabilisée par une couche de surfactants. Les lipides utilisés sont soit des triglycérides hautement purifiés, soit des mélanges de glycérides ou des cires. Parmi les nanoparticules lipidiques on trouve également les nanocapsules lipidiques ou « LNC pour *Lipid NanoCapsules* en anglais », qui sont constituées d'un cœur lipidique liquide entouré par une coque solide (Heurtault et al., 2003 ; Peltier et al., 2006).

### 3.2.6. Liposomes

Les liposomes sont des vésicules constituées d'une ou plusieurs doubles couches concentriques de phospholipides et de molécules de cholestérol encapsulant un réservoir aqueux. La taille des liposomes varie entre 30 nm et plusieurs micromètres (Torchilin, 2006). Ces particules sont depuis de nombreuses années utilisées comme outils pour la biologie, la biochimie et la médecine en tant que transporteurs de principes actifs thérapeutiques ou d'agents de contraste (Gregoriadis, 1976). Leur caractère non toxique et biocompatible fait de ces colloïdes des systèmes intéressants pour les applications *in vivo*.

### 3.2.7. Nanoparticules biosynthétisées

Certains microorganismes tels que les bactéries, les cyanobactéries, les algues les actinomycètes et les levures sont capables de synthétiser des nanoparticules inorganiques comme par exemple les nanoparticules de gypse, de silice, de calcium, de fer, de plomb, d'or et d'argent (Singaravelu et al., 2007 ;

Govindaraju et al., 2008 ; Govindaraju et al., 2009 ; Mata et al., 2009). Cette synthèse peut se produire soit dans le milieu intracellulaire (Smith et al., 1998) soit dans le milieu extracellulaire (Holmes et al., 1995). Certains organismes marins sont également capables de synthétiser des nanoparticules métalliques à l'instar des nanoparticules d'or (Inbakandan et al., 2010) ou d'argent (Khanna and Nair, 2009).

Des études *in vitro* réalisées sur des cellules humaines cancéreuses et saines ont montré que ces cellules peuvent produire des nanoparticules métalliques au niveau intracellulaire. Ces nanoparticules ont été localisées au niveau cytoplasmique et nucléaire. La taille des nanocomplexes détectés au niveau nucléaire était plus petite par rapport à celle des nanoparticules détectées dans le cytoplasme (Anshup et al., 2005).

La biosynthèse des nanoparticules inorganiques a été aussi décrite chez des végétaux chlorophylliens terrestres comme *Medicago sativa* (Gardea-Torresdey et al., 2002), *Sesbania drummondii* (Sharma et al., 2007) et *Salix viminalis* (Lukaszewicz et al., 2009).

### 3.3. Applications des nanomatériaux

Les nanotechnologies sont actuellement considérées comme la nouvelle révolution industrielle, l'utilisation des NPs dans les produits commerciaux est en constante croissance. D'après la Business Communications Company (BCC), la part des nanotechnologies utilisées pour la production de produits de consommation au niveau mondial est estimée à 6,7 milliards de dollars en 2005 et devrait atteindre 10,5 milliards de dollars en 2010 avec un taux moyen annuel de croissance de 9,1 %. L'utilisation des nanomatériaux est particulièrement forte dans le domaine des produits pharmaceutique et de beauté, ce qui inclut les produits d'hygiène personnelle, les vêtements, les cosmétiques, Alimentation et électroniques (**Figure.23**).

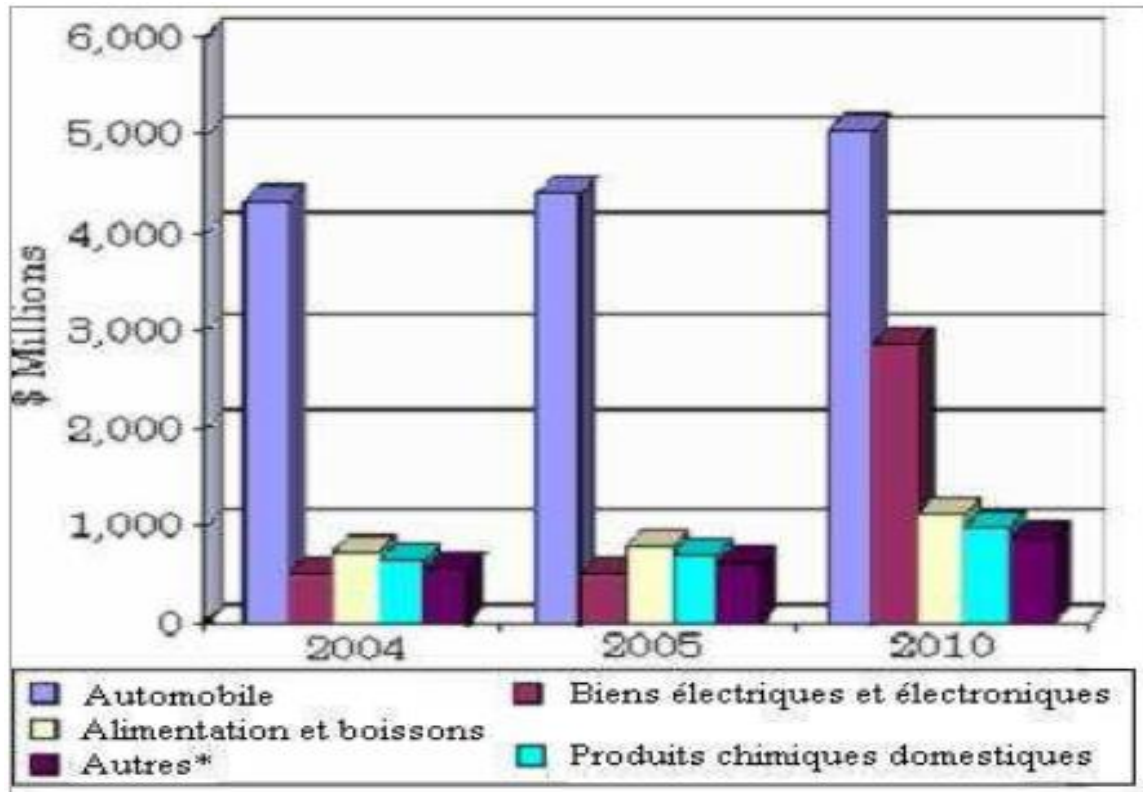


Figure (23) : évolution du marché des principaux secteurs utilisant les nanotechnologies depuis 2004 (Business Communications Company (BCC)).

### 3.4. Biodistribution des NPs dans l'organisme

Les NPs insolubles ou peu solubles dans les fluides biologiques sont les plus préoccupantes. A cause de leur taille infime, plusieurs études ont démontré un comportement qui est unique aux NPs. Certaines peuvent franchir nos différents mécanismes de défense et être transportées sous forme insoluble dans l'organisme. Elles peuvent donc se retrouver dans le sang en ayant franchi les membranes pulmonaires ou gastro-intestinales, se distribuer dans les différents organes et s'accumuler à certains sites spécifiques (Oberdörster *et al.*, 2005). D'autres peuvent voyager le long des nerfs olfactifs et pénétrer directement dans le cerveau ou encore franchir les barrières cellulaires et rejoindre le noyau de la cellule (Figure.24).

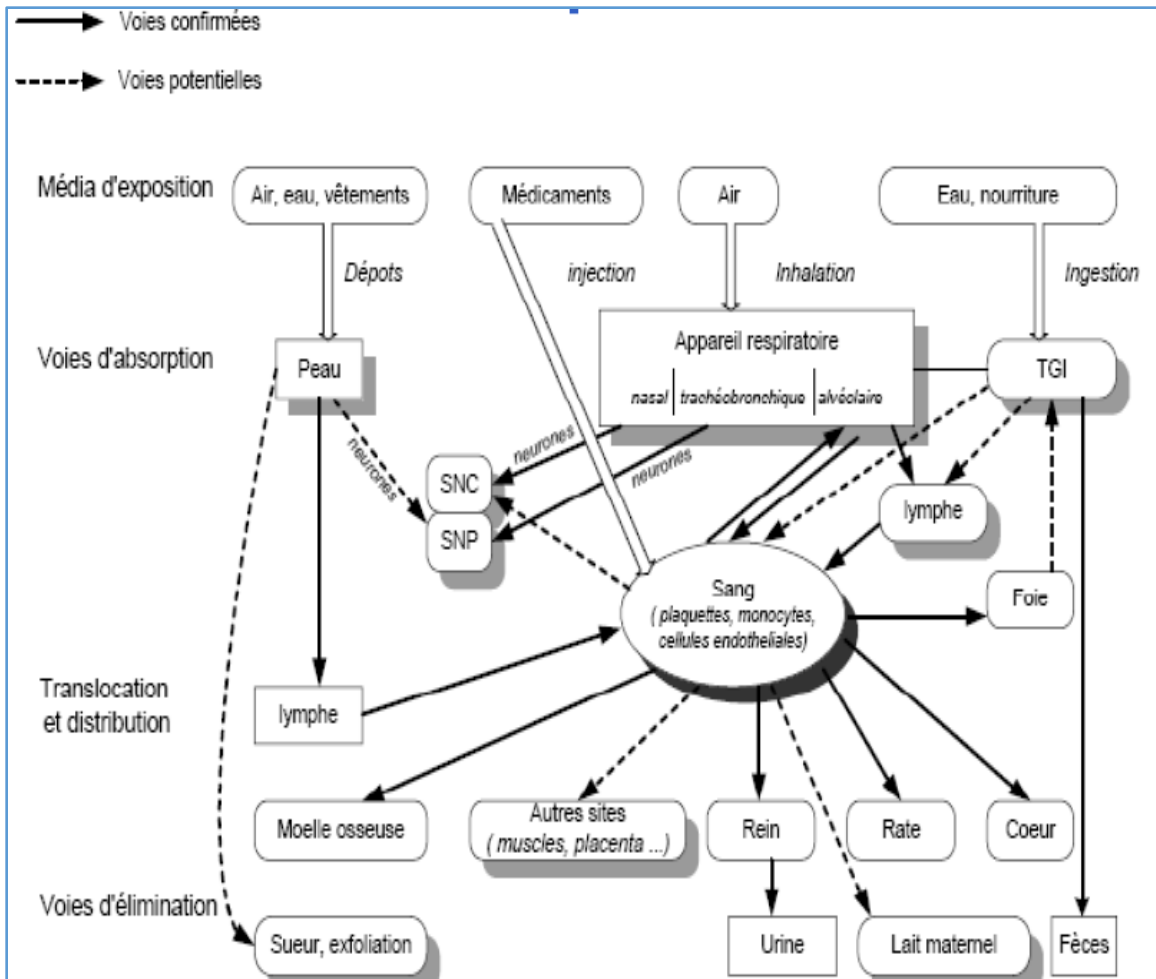


Figure (24) : Mode d'exposition et mécanisme d'absorption des NPs dans l'organisme (Oberdorster et al., 2005).

Lors de leur internalisation intracellulaire, les NSPM sont accumulées au sein des lysosomes où ils sont dégradés en ions de fer par des enzymes hydrolysant à un pH bas selon les voies endogènes du métabolisme du fer (Gupta et al., 2007). La taille des NSPM, la charge, la chimie de surface et la voie d'administration s'influencent mutuellement leur temps de circulation et leurs biodistribution dans le corps (Duguest et al., 2006), les NSPM > 200 nm sont généralement séquestrés par la rate via une filtration puis par phagocytose, tandis que les plus petites NSPM <10 nm sont rapidement éliminées par la clairance rénale (Gupta et al., 2007). La biodistribution des NSPM est de 80-90% dans le foie, 5-8% dans la rate et 1-2% dans la moelle osseuse (Duguest et al., 2006). La chimie de surface des NSPM détermine leurs efficacité et le mécanisme de leurs



internalisation dans les cellules ainsi que leur biodistribution global dans les systèmes biologique (Gupta and Gupta, 2005 ; Unfried *et al.*, 2007) et leur toxicité potentielle (Oberdorster *et al.*, 2007 ; Vega-Villa *et al.*, 2008). Un point à noter est que les NSPM s'accumulent dans le cerveau, le foie, la rate et les poumons après leur inhalation, démontrant leur capacité à traverser la barrière hémato-encéphalique (Kown *et al.*, 2008).

# OBJECTIFS

## De la thèse

L'évolution du système nerveux a été un facteur important dans l'adaptation des espèces animales à leurs environnements. Le mécanisme derrière l'amélioration de la propagation de l'impulsion nerveuse est lié à l'amélioration de qualité de la gaine de myéline. La myélinisation est tributaire du fer qui joue un rôle clé dans la transmission électrique et chimique mais aussi dans l'orientation des espèces animales dans leur migration.

L'objectif de notre recherche sera :

- L'étude des propriétés électriques des nerfs sciatiques chez quatre espèces (Grenouille, caméléon, poussin et lapin) à basse température et l'évaluation du nombre des cellules de Schwann au cours de l'évolution.
- Proposer une approche innovante pour la classification du règne animale en se basant sur le comportement supraconducteur.
- Evaluer l'impact de la ligature des nerfs sciatique sur la gaine de myéline et le rôle du fer dans la régénération des nerfs.
- La recherche des nanostructures dans la tête (Système nerveux et crane).

# CHAPITRE

## II

---

*Matériel & Méthodes*

---

## 1. Le model biologique

Les animaux utilisés dans cette étude sont des grenouilles (*Rana esculenta*, 100g), des caméléons (*Chamaeleo camameleon*, 200g), des poussins (*Gallus gallus domesticus*, 200g), des lapins *Albinos* (2 Kg) et des Rats *Wistar*. Les animaux ont été soignées selon le code de pratique tunisien pour le soin et l'utilisation des animaux à des fins scientifiques et les protocoles expérimentaux ont été approuvés par le Comité d'éthique de la Faculté des sciences de Bizerte en Tunisie.

## 2. Le protocole Expérimental

### 2.1. La technique des quatre points

Des échantillons de nerfs sciatiques ( $n = 6$ ) ont été récoltés à partir de grenouilles (*Rana esculenta*, 10g), de caméléon (*Chamaeleo camameleon*, 200g), de poussin (*Gallus gallus domesticus*, 200g) et de lapin *albinos* (2 Kg) avec une anesthésie légère (Halothane 2,50% air). Les segments proximaux des nerfs sciatiques (1 cm) ont été récoltés afin d'étudier la résistivité et l'étude histologique. Les nerfs sciatiques ont été conservés dans du tampon Ringer pendant 1 à 5 min. La composition du tampon Ringer est la suivante : solution de  $\text{NaHCO}_3$  à 1%,  $\text{CaCl}_2$  à 1%, KCl à 1% et NaCl à 0,60%. Ensuite, on a étudié les variations de résistivité électrique du nerf sciatique à température variable en utilisant la technique à quatre points qui est la méthode la plus courante pour déterminer la température critique ( $T_c$ ) d'un supraconducteur,  $T_{\text{Conset}}$  est la température à laquelle la résistivité commence à diminuer. Dans la présente expérience, nous avons étudié l'effet de la diminution et de l'augmentation de la température sur la résistivité des nerfs. La variation de température a été obtenue en utilisant un cryostat rempli de gaz à échange d'hélium (réfrigérateur à cycle fermé). La température a été mesurée en utilisant un capteur de diode Si calibré avec une précision de 0,10 K et variait de 300K à 200K. Les fils sont attachés à un matériau par deux méthodes : le nerf était posé sur les fils chez la grenouille, le caméléon, le poussin et le lapin et surtout insérés dans les nerfs de la grenouille. Les deux

files externes (la distance entre les files 'courant': 8 mm) ont été utilisés comme files de courant et les deux autres comme files de tension (la distance entre les files 'courant': 2 mm) pour enregistrer les différences de potentiel. Grâce à deux de ces points une tension est appliquée, nous avons utilisé un courant variable avec très basse fréquence (36Hz). La valeur du courant utilisé pour les mesures de résistivité était de 20  $\mu\text{A}$  (Abdelmelek *et al.*, 2003a; 2003b), et, si le matériau est conducteur, un courant s'écoule. Ensuite, s'il existe une résistance dans le matériau, une tension apparaîtra sur les deux autres points conformément à la loi d'Ohm. Lorsque le matériau entre dans un état supraconducteur, sa résistance chute à zéro et aucune tension n'apparaît à travers le deuxième ensemble de points (Abdelmelek *et al.*, 2003a; 2003b; Mbainabeye *et al.*, 2012) (Figure 25).

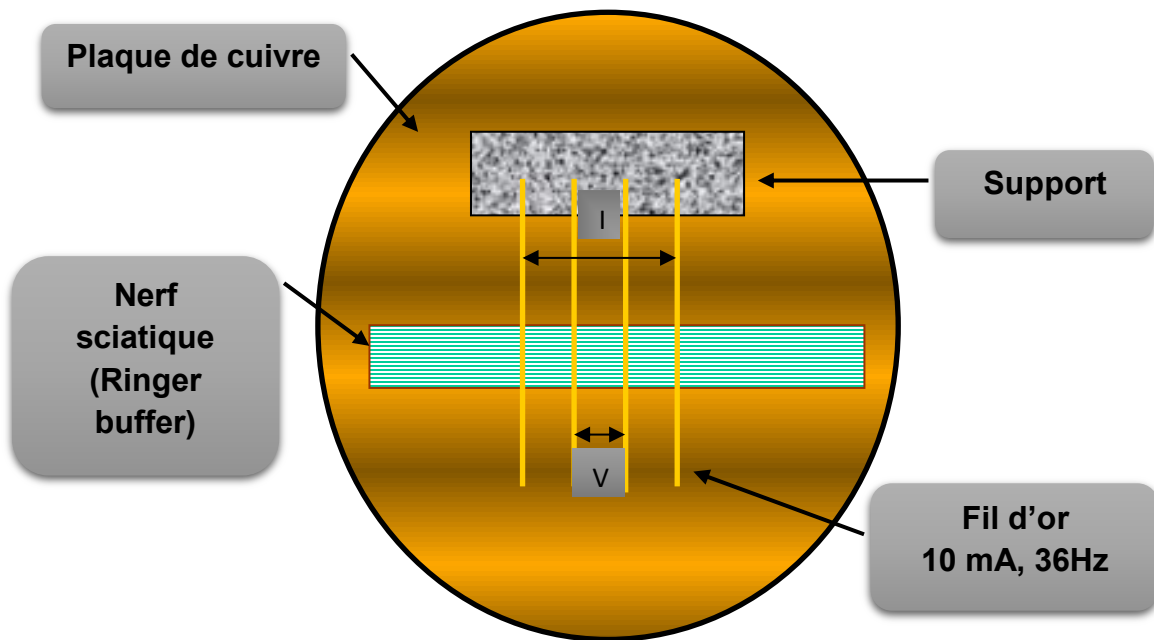


Figure (25). La technique des quatre points. (Abdelmelek *et al.*, 2003)

*I*: courant; *V*: voltage

## 2.2. Etude histologique sur le nerf sciatique

### 2.2.1. Préparation des tissus

Les animaux ont été sacrifiés en utilisant une anesthésie légère et leurs nerfs sciatiques ont été immédiatement récoltés, placés dans des cassettes et fixés dans du formol neutre à 10% pendant au moins 48 heures; Par la suite les échantillons sont prêts à être placés dans un automate de type Leika TP1020 (**Figure 28, 29**) (Hanini *et al.*, 2011 ; Trabelsi *et al.*, 2013).

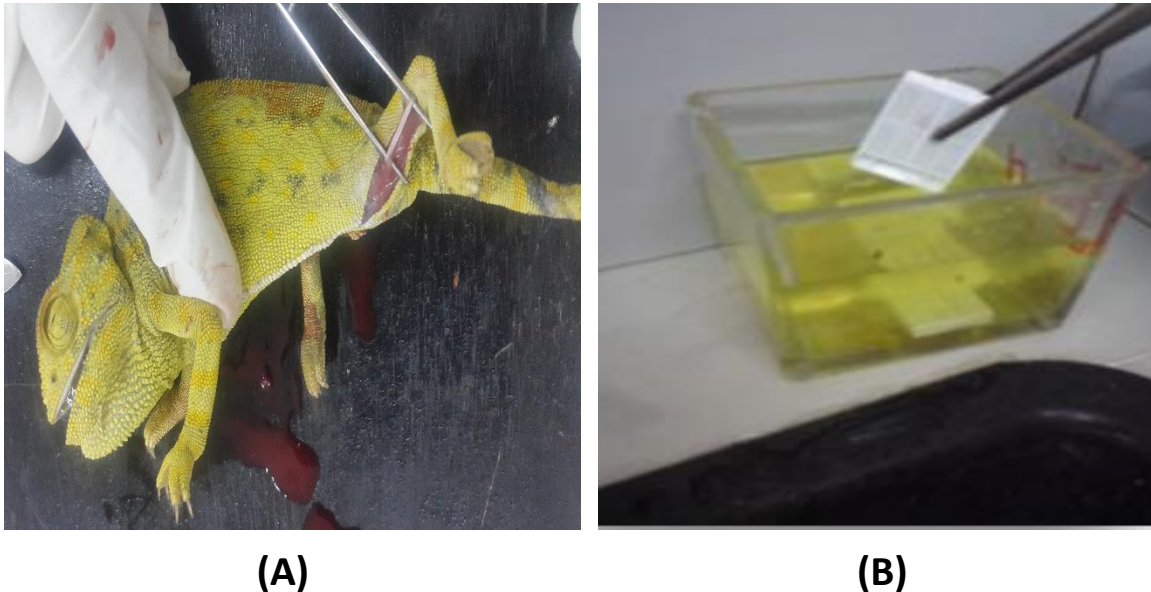


Figure (26). **(A)** extraction du nerf sciatique. **(B)** Des cassettes contenant les nerfs sciatiques fixés dans du formol neutre à 10% (© Azzouz, 2015).

#### ❖ Déshydratation et éclaircissement

Les échantillons subissent une déshydratation à l'aide d'un automate (Leika TP1020) dans lequel ils ont été transférés dans des bains différents d'alcool, de toluène et de paraffine durant 24 heures (**Figure 29**).

Tout d'abord, la déshydratation : Cette opération vise à extraire l'eau des tissus par trempage des échantillons dans sept bains successifs d'alcool (éthanol) en concentration croissante, un bain d'alcool à 80° (1h00), trois bains d'alcool à 95° (1<sup>er</sup> Bain:1h00, 2<sup>eme</sup> et 3<sup>eme</sup> bain: 1h30) ensuite 3 bains d'alcool à 100° (1<sup>er</sup> bain:1h00, 2<sup>eme</sup> et 3<sup>eme</sup> bain: 1h30).

Ensuite, l'éclaircissement à travers le xylène : c'est un solvant qui remplace l'agent de déshydratation (alcool) et permettra une pénétration rapide de la paraffine dans le tissu. Cette étape se déroule en trois bains successifs de xylène (1<sup>er</sup> Bain : 2h00, 2<sup>ème</sup> bain : 2h30 et 3<sup>ème</sup> bain : 1h30).

L'étape finale consiste à utiliser deux bains de paraffine à 57 ° C pour imprégner les échantillons (1<sup>er</sup> et 2<sup>ème</sup> bain: 2h00).

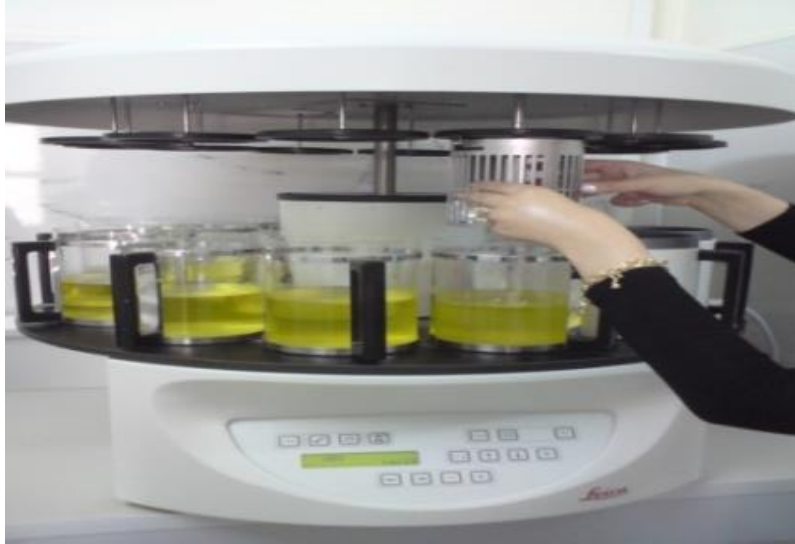


Figure (27). Automate de déshydratation (Leika TP1020) (© Azzouz, 2015)

### ❖ Inclusion

Les échantillons sont revêtus de blocs de paraffine. La préparation des blocs a été effectuée avec un distributeur de paraffine et une plaque froide (15°C) qui permet l'orientation de l'échantillon. Ensuite, la coupe est réalisée selon des procédés usuels en utilisant un microtome à une épaisseur de 3 microns (**Figure 30**).

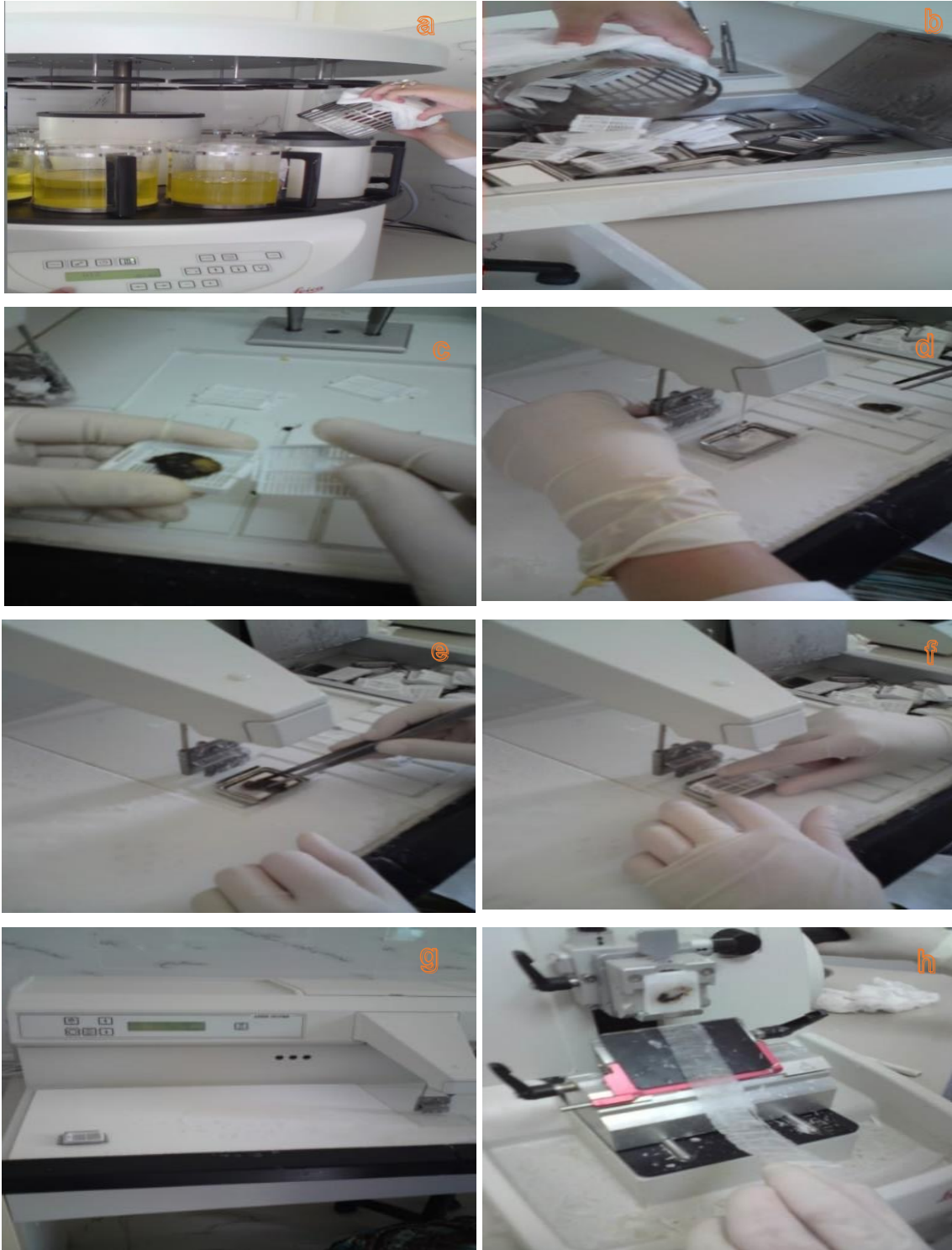


Figure (28). Le système d'inclusion et la réalisation des coupes (© Azzouz, 2015)



- A-Sortie des cassettes
- B-Transfert des cassettes.
- C- Enlèvement du couvercle de la cassette.
- D-Verser la paraffine.
- E-Dépôt et orientation du tisse dans le moule.
- F-Inclusion du tissu à l'aide de la cassette.
- G-Cassette au froid.
- H-La coupe des blocs à l'aide du microtome

### ❖ Coloration tinctoriale à l'hématoxyline éosine (HE)

C'est une coloration tinctoriale qui permet d'étudier la topographie générale des tissus, la cytologie et les lésions. L'hématoxyline est le colorant le plus utilisé en technique histologique.

Le protocole de cette coloration est le suivant :

#### **Déparaffinage**

1/ Toluène pendant 10 minutes

#### **Réhydratation**

2/ Alcool absolu pendant 5 minutes

3/ Alcool dilué pendant 5 minutes

4/ Eau courante - trempage

#### **Coloration**

6/ Hémalun pendant 10 minutes

7/ Eau pendant 10 minutes

8/ Eosine pendant 5 minutes

9/ Eau – trempage

#### **Déshydratation**

8/ Alcool dilué pendant 5 minutes

9/ Alcool absolu pendant 5 minutes

10/ Toluène pendant 10 minutes

11/ Montage à l'Eukitt entre lame et lamelle.

Cette coloration permet une bonne étude topographique des tissus, elle colore le noyau en bleu et les structures cytoplasmiques et intercellulaires en rose.

### 2.2.2. Interprétation des coupes histologiques

Les sections de tissus ont été examinées et les images ont été capturées avec un microscope d'analyse d'image automatique (Leica Qwin) (Hanini *et al.*, 2011; Trabelsi *et al.*, 2013). Le traitement de l'image a été réalisé avec le logiciel ImageJ (Trabelsi *et al.*, 2013) dans le but d'évaluer le nombre de cellules de Schwann au cours de l'évolution chez les quatre espèces (Grenouille, Caméléon, Poussin et lapin), le taux de dégénérescence de la myéline après une ligature du nerf sciatique et le taux de régénération après injection de fer dans le sac lymphatique de la grenouille.

### 2.3. Méthode de calcul des cellules de Schwann des nerfs sciatiques chez quatre espèces (Grenouille, caméléon, poussin et lapin)

La méthode de calcul de la topographie des cellules de Schwann chez les différentes espèces a été réalisée selon le modèle présenté dans la figure. 29.

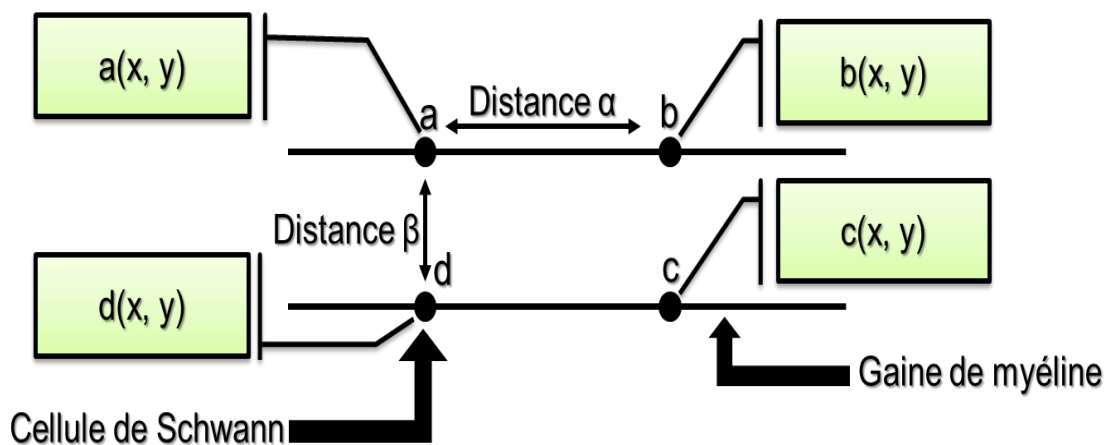


Figure (29). Méthodes de calcul de la topographie des cellules de Schwann dans différentes espèces. Les points (a, b, c, d) donnent les coordonnées x et y (© Azzouz, 2017).

#### 2.4. La pose des ligatures sur les nerfs sciatiques et le traitement avec le fer

Les grenouilles (*Rana esculenta*) pesant 150-200g ont été réparties au hasard en trois groupes: groupe témoin (n = 6), groupe ligaturé (n = 6) et ligature + traité avec du sulfate de fer ( $\text{FeSO}_4$ ) (n = 6). Les nerfs sciatiques ont été ligaturés pendant 72 heures par l'application de deux ligatures de nylon étroitement liées autour du nerf sciatique à 0,5 cm de distance, ~ 1 cm distal au tendon du muscle obturatorinternus. Après les ligatures, les grenouilles ont reçu une solution de sulfate de fer (1,50 mg / kg de  $\text{FeSO}_4$ ) par injection dans le sac lymphatique. Au troisième jour, les segments proximaux des échantillons de nerf sciatique (n = 6) ont été obtenus après décapitation des grenouilles (*Rana esculenta*) puis récoltés afin d'étudier les coupes histologiques (**Figure 27**).

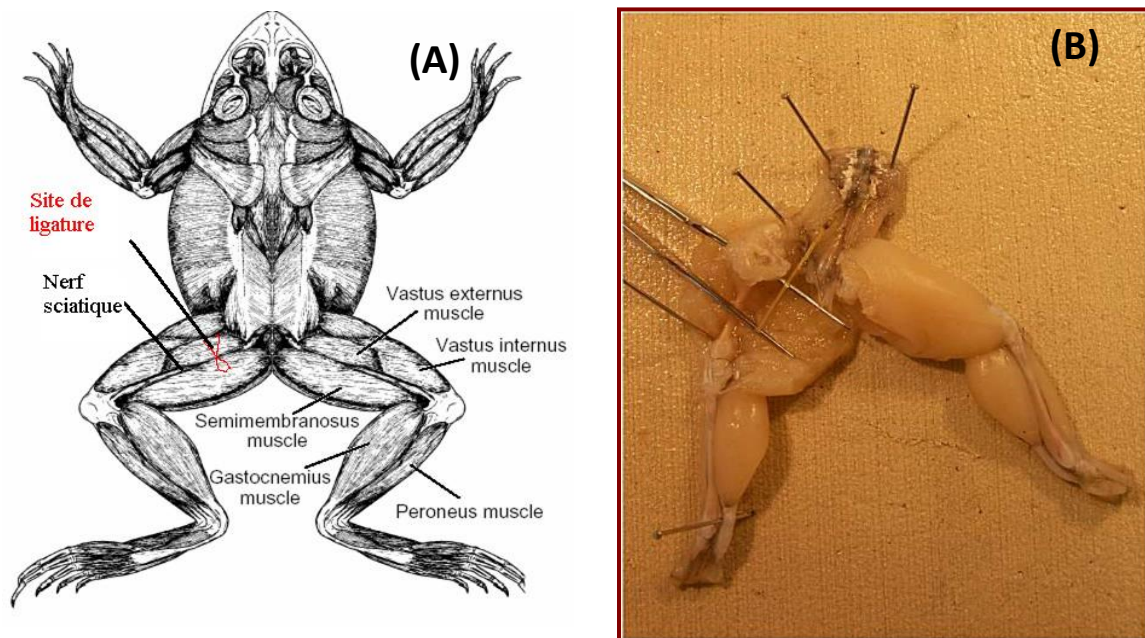


Figure (30). (A) Ligature du nerf sciatique. (B) extraction du nerf sciatique (in Abdelmelek, 2008)

## 2.5. Préparation des poudres

Les cerveaux et les crânes des espèces étudiés (grenouille, fougère, poussin, lapin et rat) ont été prélevés après décapitation. Les échantillons prélevés ont été placés dans une étuve pendant 5 jours à 50°C. Après dessiccation totale, les échantillons sont broyés puis tamisés (Trabelsi et al., 2013).



Figure (31). Dissection et extraction du cerveau et du crane (© Azzouz, 20015).

### 2.5.1. Diffractométrie de rayon X

#### 2.5.1.1. Obtention et analyse des diffractogrammes

Les diagrammes de poudre ont été enregistrés sur un diffractomètre BRUKER D8 ADVANCE (**Figure 34**). Le diffractomètre adopte un montage en réflexion et les diffractogrammes sont enregistrés en géométrie Bragg-Brentano et en mode  $\theta$ - $\theta$  avec échantillon fixe. La source des rayons X est constituée par un tube céramique à anode de cuivre ( $\lambda_{\text{K}\alpha 1} = 1.54056 \text{ \AA}$ ). Les enregistrements sont effectués dans les gammes angulaires respectives 20-60 en  $2\theta$  avec un pas de comptage de  $0.02^\circ$  en  $2\theta$ , des temps d'acquisition de 17 heures et une fente d'analyse 0.6 mm.



Figure (32). Diffractomètre sur poudre (© Azzouz, 2015)

Les diagrammes obtenus sont exploités par un ensemble de logiciels comme X'Pert HighScore Plus de Philips Panalytical, le logiciel Match de Crystal Impact qui permettent de le comparer au fichiers PDF 'Powder Diffraction Files' disponibles dans les banques de données radiocristallographiques comme JCPDS-ICDD (Joint Committee on Powder Diffraction Standards-International Center of Diffraction Data).

La procédure d'identification des phases se présente comme suit :

- Mesure des angles  $\theta_{hkl}$  sous lesquels des intensités diffractées sont observées ;
- Calcule des valeurs de  $d_{hkl}$  correspondantes, d'après la loi de Bragg ;
- Comparaison des valeurs de  $d_{hkl}$  obtenues avec celles de substances connues.

### 2.5.1.2. Principe

Après toute élaboration d'un nouveau matériau, sa caractérisation structurale s'impose car elle permet de l'identifier et de déterminer ses paramètres cristallographiques. Ces informations peuvent être déduites à partir du spectre de diffraction des rayons X réalisés à l'aide d'un diffractomètre. Le signal de diffraction enregistré  $I(2\theta)$  est formé d'une série de raies correspondant aux réflexions des plans (hkl) du matériau cristallin exploré et en constitue une empreinte. Les rayons X utilisés en diffraction sont ceux de la raie K du cuivre, de longueur d'onde 0,15 nm, et qui sont diffusés élastiquement par les électrons de l'échantillon étudié (**Figure 31**). Pour obtenir un diagramme de poudre, un échantillon composé d'un grand nombre de nanocristaux orientés aléatoirement est éclairé par un faisceau monochromatique. Un détecteur récupère l'intensité diffusée en fonction de l'angle  $2$  de détection par rapport au faisceau incident. Le diffractogramme obtenu est caractéristique de la structure cristalline d'un matériau, et permet ainsi de déterminer la composition et la structure des nanocristaux grâce à l'utilisation d'une base de données regroupant un grand nombre de diagrammes de poudres de composés modèles. La finesse des pics du diffractogramme est donnée par la formule de Scherrer, qui indique que les pics sont d'autant plus fins que les cristallites constituant l'échantillon sont gros. Cette méthode de caractérisation est inutilisable pour les petits nanocristaux (inférieurs à 3 nm de diamètre) mais est d'autant plus facile à interpréter que les nanocristaux sont gros. Les directions dans lesquelles les interférences sont constructives, appelées les pics de diffraction, sont données par la loi de Bragg :

$$2d_{hkl} \sin(\theta) = n\lambda \text{ (Equ. 2)}$$

- $2\theta$  : angle de diffraction (angle de Bragg) ;
- $d_{hkl}$  : distance inter-réticulaire entre deux plans successifs d'une famille de plans (hkl) ;
- $\lambda$  : longueur d'onde du rayonnement utilisé ;
- $n$  : ordre de réflexion (entier).

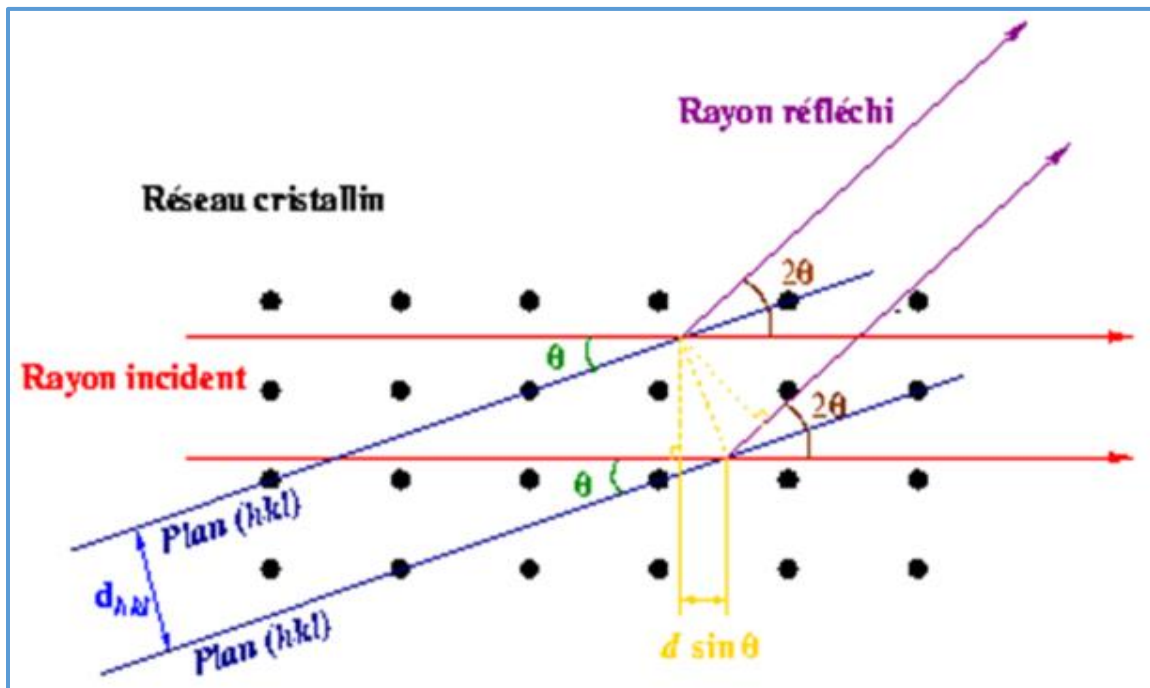


Figure. (33). Schéma de principe de diffraction des rayons X par une famille de plans réticulaire (hkl) (© Sébastien Merkel, 2000)

Le protocole expérimental consiste à soumettre le composé, en poudre, à un faisceau de rayons X monochromatiques et à recueillir le cliché de diffraction qu'il émet : de la valeur  $\theta$  de chaque raie, en mesurant les angles de diffraction des rayons X, il est possible d'en déduire les distances inter-réticulaires  $d$  de la famille de plan (hkl) correspondante. L'étude du diffractogramme permet de remonter à un grand nombre d'informations sur les caractéristiques structurales et microstructurales du matériau étudié telles que les structures cristallines, la taille des cristallites, les taux de défauts structuraux, les macro et micro contraintes et la présence d'une texture.

Le schéma de principe d'un diffractomètre comporte essentiellement un générateur de rayons X, un goniomètre permettant l'orientation de l'échantillon, un détecteur et une chaîne électronique pour l'amplification et l'enregistrement (Figure 32).

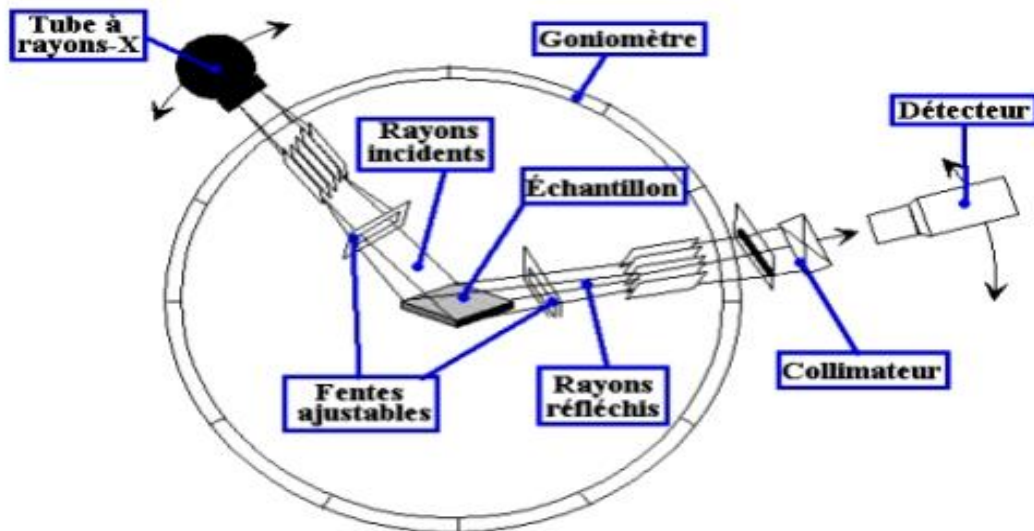


Figure (34). Schéma d'un diffractomètre de rayons X (L.R.M.H, 2014).

Le diagramme de diffraction constitue l'empreinte caractéristique de la structure des substances cristallines analysées. A partir de la largeur à mi-hauteur d'un pic de diffraction, il est possible d'estimer la taille moyenne des cristaux en appliquant la formule de Scherrer :

$$L_{DRX} = K\lambda / \beta \cos(\theta) \text{ (Equ. 3)}$$

- **K** : est le facteur de forme, il dépend de la morphologie des particules qui constituent la poudre ( $K=0.9$  pour des cristaux sphériques) ;
- $\lambda$  : longueur d'onde de la radiation utilisée ;
- $\beta = \beta_{\cos} - \beta_{\text{inst}}$  est la différence entre la largeur à mi-hauteur d'un pic observé et la largeur instrumentale ( $\beta_{\text{inst}}$ ). Cette dernière est déterminée à partir d'un échantillon massif standard parfaitement cristallisé.



### 2.5.2. La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (FTIR)

La Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (ou FTIR : Fourier Transformed InfraRed Spectroscopy) est basée sur l'absorption d'un rayonnement infrarouge par le matériau analysé. Elle permet via la détection des vibrations caractéristiques des liaisons chimiques, d'effectuer l'analyse des fonctions présentes dans le matériau. L'analyse s'effectue à l'aide d'un spectromètre à transformée de Fourier (**Figure 35**).



Figure (35). Spectromètre à transformée de Fourier (© Azzouz, 2015)

Le spectromètre irradie une substance avec un faisceau infrarouge large bande et qui mesure les longueurs d'onde absorbées et les intensités de l'absorption. Cette substance transmet un faisceau dont l'intensité est généralement plus faible que l'intensité de faisceau incident. Cette diminution d'intensité traduit le fait que la substance absorbe quelques fréquences infrarouges caractéristiques de sa composition moléculaire. Le graphe qui présente l'intensité de transmise en fonction de la fréquence (exprimée en  $\text{cm}^{-1}$ ) constitue le spectre d'absorption infrarouge caractérisant la substance étudiée.

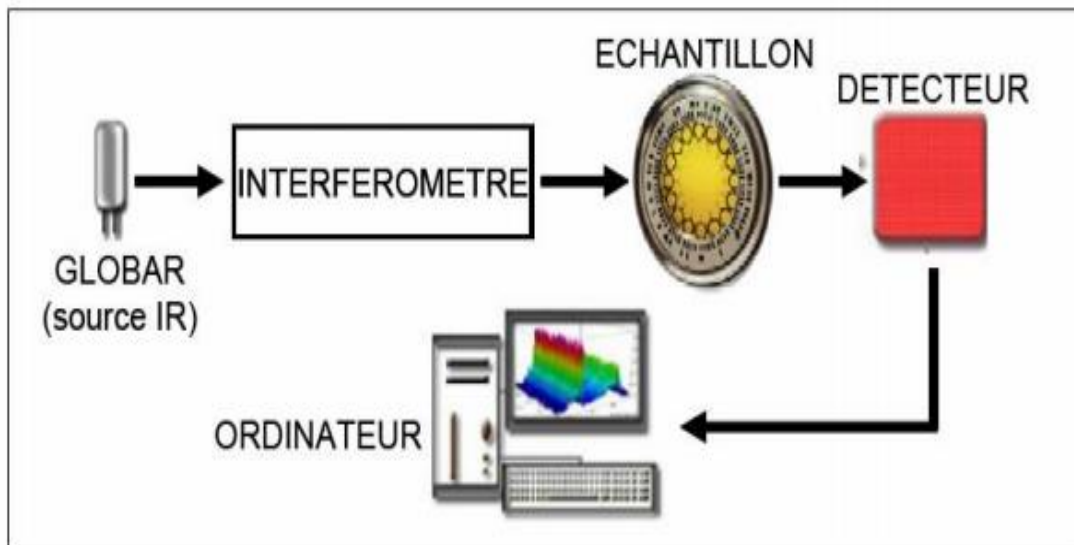


Figure (36). Schéma de principe d'un spectromètre FT-IR (culture sciences chimie enseignants, 2017)

## 2.6. Analyse statistique

L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide de l'analyse de variance (ANOVA) pour la comparaison entre les groupes. Les valeurs de (\*)  $p \leq 0.01$ , (\*\*)  $p \leq 0.001$ , (\*\*\*)  $p \leq 0.0001$  ont été considérées comme statistiquement significatives. Les données sont représentées sous la forme d'une moyenne  $\pm$  erreur standard de la moyenne (SEM).

## Schéma général du protocole

Le protocole utilisé dans notre étude est résumé dans le schéma ci-dessous :

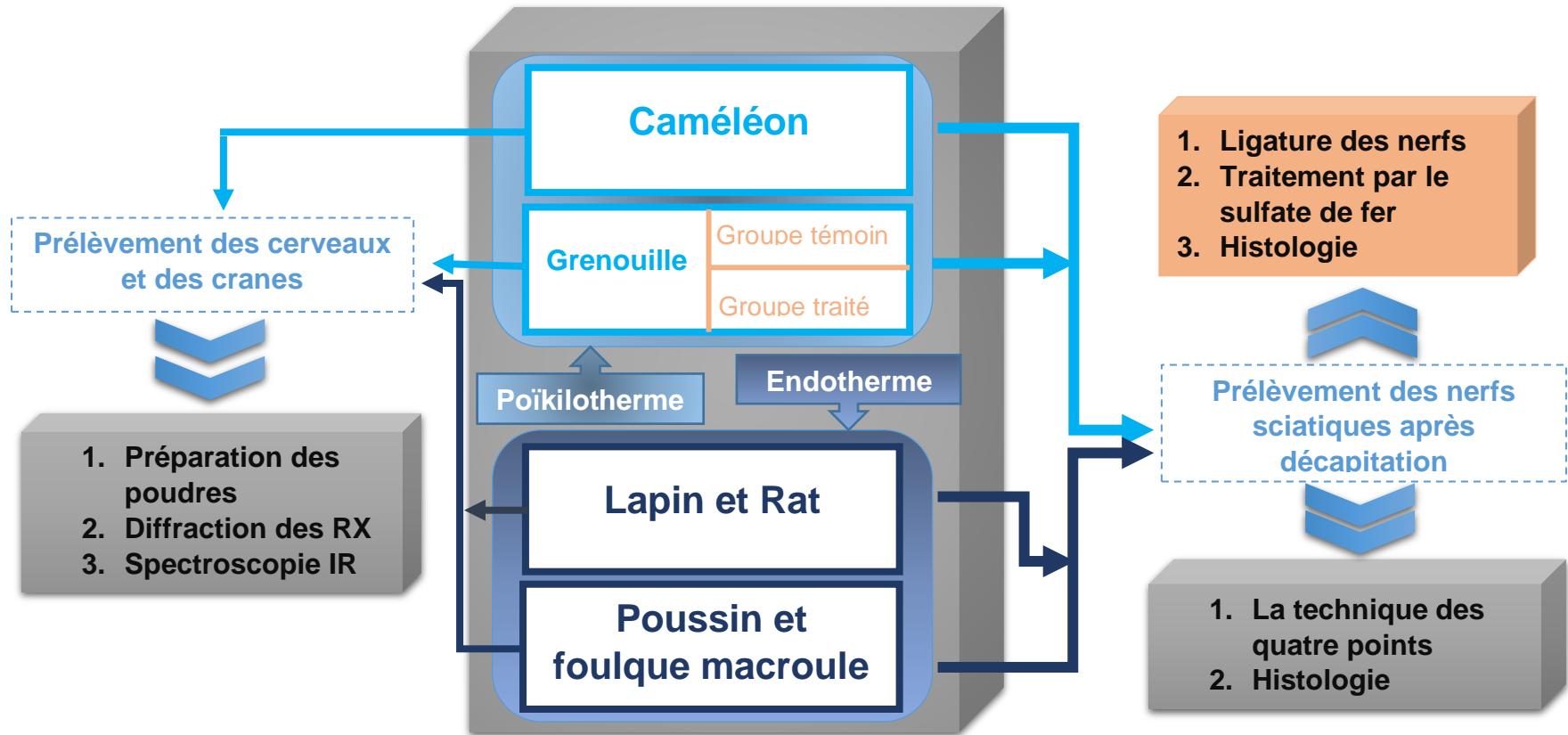


Figure (37). Schéma général du protocole utilisé dans notre étude (© Azzouz, 2017)

# CHAPITRE

## III

---

*Impact de l'évolution sur le comportement électrique des nerfs chez quatre espèces (Grenouille, caméléon, poussin et lapin)*

---

***“Rien n'a de sens, en biologie, si ce n'est à la lumière de l'évolution.”***

***T.G. Dobzhansky, biologiste***

## 1. Contexte & Objectifs

Des études physiologiques ont montré des changements neurochimiques et électriques dans le système nerveux durant les variations de la température du globe qui pourraient être associées à des mécanismes adaptatifs, conduisant à l'évolution des espèces des poïkilothermes (à sang froid) aux homéothermes (à sang chaud) (Abdelmelek *et al*, 2000; 2001; 2003a). L'évolution est double électrique et chimique (Abdelmelek *et al*, 2000; 2001). Des études antérieures ont suggéré la présence de mécanismes adaptatifs impliquant le système dopaminergique et les voies sérotoninergiques au niveau de la moelle épinière et le nerf sciatique lors de l'acclimatation au froid (Abdelmelek *et al*, 2000 ; 2003b). En revanche, peu d'études abordent l'implication des signaux électriques à très basse température dans l'adaptation des espèces animales. Des études antérieures ont rapporté une augmentation du degré de myélinisation au cours de l'évolution qui pourrait être impliquée dans la neuromodulation de deux composantes : la transmission neurochimique à basse température et les réponses électriques adaptées du système nerveux à différents stimuli environnementaux. Il est intéressant de noter que la vitesse de conduction et l'amplitude du potentiel électrique dépendent également de la température, du diamètre axonal, de la présence de myéline et des propriétés de la membrane, localement au site d'enregistrement et généralement le long du nerf (Lagerspetz and Talo, 1967; Talo and Lagerspetz, 1967; Barton and Harvey 2000 ; Stålberg and Erdem, 2000; Waxman, 2000 ; Abdelmelek *et al*, 2000; 2003b; 2003c). Une étude antérieure de Mbainabeye *et al.*, 2012 révèle différentes réponses électriques des nerfs sciatiques de grenouille lors de la diminution de la température et propose un modèle basé sur les ondelettes. On peut donc s'attendre à ce que la sélection naturelle sur le neurone ou la conduction nerveuse ait pu provoquer plusieurs changements structurels et fonctionnels (Barton and Harvey, 2000 ; Abdelmelek *et al*, 2003a; 2003b; 2003c).

La présente étude vise à examiner les propriétés électriques des nerfs sciatiques de différentes espèces (grenouille, caméléon, oiseau et lapin) par l'évaluation du nombre de cellules de Schwann

## 2. Résultats

### 2.1. Évolution de la résistance électrique normalisée ( $R / R_a$ ) du nerf sciatique en termes de température $T$ ( $^{\circ}\text{K}$ ) chez les quatre espèces

Chez la grenouille, le nerf sciatique était posé sur les contacts électriques.

L'analyse de la figure 38A montre trois zones :

- ✚ Une augmentation  $dR / dT > 0$  montrant un comportement semiconducteur ;
- ✚ Suivi par une chute brutale entre  $T_{C_{\text{onset}}}$  et  $T_{C_0}$  indiquant la présence d'une transition résistive ;
- ✚ Une troisième zone indiquant la présence d'un comportement supraconducteur.

Ensuite, les contacts ont été insérés dans le nerf sciatique de la grenouille.

L'analyse de la figure 38B montre trois zones :

- ✚ Une diminution linéaire  $dR / dT < 0$  observée pour  $239^{\circ}\text{K} < T < 300^{\circ}\text{K}$  montrant un comportement métallique ;
- ✚ Suivi par une chute brutale entre  $T_{C_{\text{onset}}}$  et  $T_{C_0}$  en dessous de  $235^{\circ}\text{K}$  indiquant la présence d'une transition résistive ;
- ✚ Une troisième zone indiquant la présence d'un comportement supraconducteur.

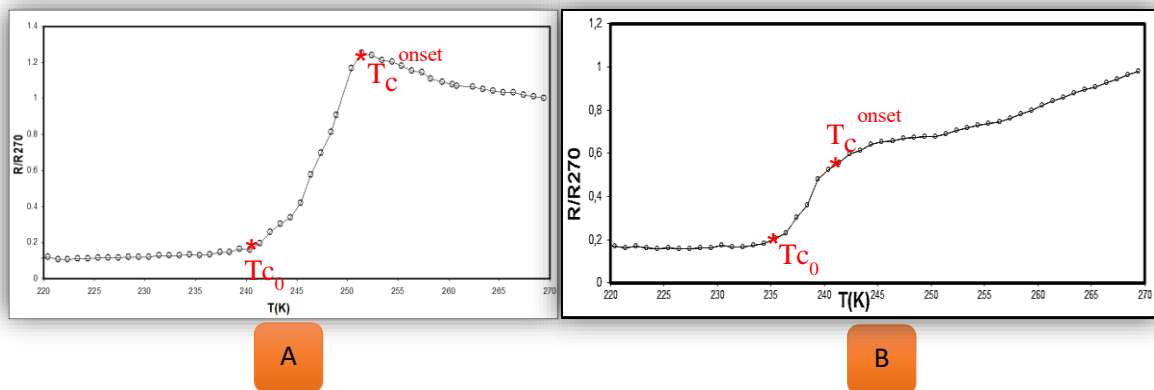


Figure (38). Évolution de la résistance électrique normalisée ( $R / R_a$ ) du nerf sciatique de la grenouille en termes de température  $T$  ( $^{\circ}\text{K}$ ), (A) enregistrement externe avec des câbles d'or, (B) enregistrement interne avec des câbles d'or ( $\Delta T = 252 - 241 = 11\text{K}$ ).

Chez le caméléon, lorsque le nerf sciatique était posé sur les contacts électriques, une stabilité de la résistivité du nerf a été observée pour  $252^{\circ}\text{K} < T < 300^{\circ}\text{K}$  et une élévation brusque de la conductivité a été enregistré en dessous de  $240^{\circ}\text{K}$  (**Figure 39**). Puis, à des températures inférieures à  $240^{\circ}\text{K}$ , la résistivité du nerf reste constante montrant un comportement supraconducteur.

De plus, chez le poussin, une augmentation de la résistivité du nerf sciatique a été observée pour  $280^{\circ}\text{K} < T < 300^{\circ}\text{K}$  et une élévation brusque de la conductivité a été observée en dessous de  $244^{\circ}\text{K}$ , indiquant un comportement supraconducteur (**Figure 39**).

Enfin chez le lapin, une diminution de la résistivité du nerf sciatique a été observée pour  $258^{\circ}\text{K} < T < 298^{\circ}\text{K}$  et une élévation brusque de la conductivité a été observée en dessous de  $258^{\circ}\text{K}$  (**Figure 39**).

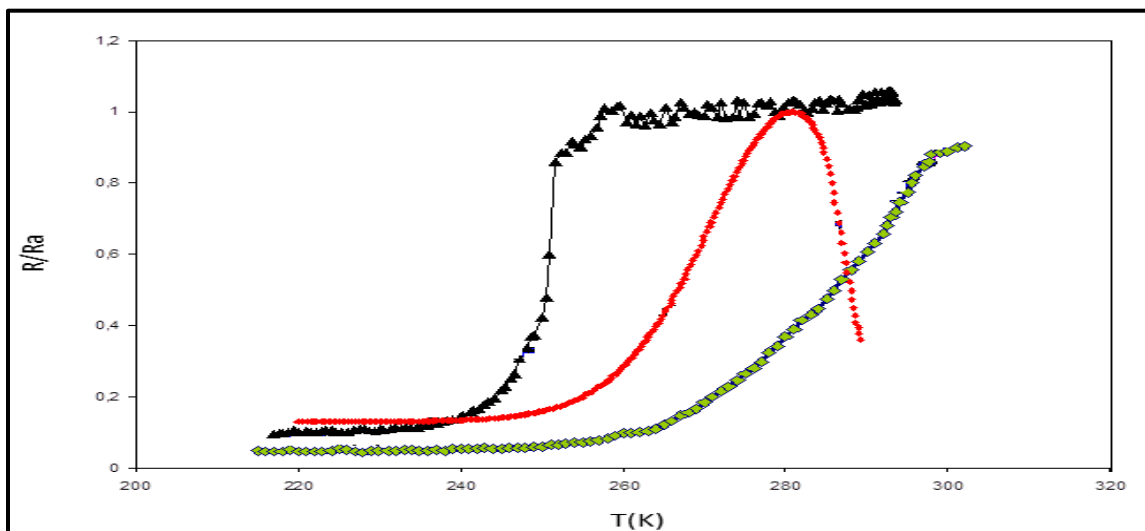


Figure (39). Comparaison du comportement électrique à basse température des nerfs sciatiques du caméléon (flèches), du poussin (ligne pointillée) et du lapin (carreaux).

La présente étude a révélé que l'évolution des quatre espèces animales des poïkilothermes vers l'homéothermes augmente la moyenne de  $\Delta T$  de 11,50 à 38,00 (les valeurs de la température critique :  $T_c$ ,  $T_{\text{Conset}}$  et  $T_{c0}$  ont été utilisées pour le calcul de  $\Delta T$  des différents nerfs dans le tableau 1).



Tableau (01). Température de transition des nerfs sciatiques du caméléon, de la grenouille, du poussin et du lapin. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  SEM, pour des groupes de 6 animaux chacun, la moyenne  $\Delta T$  (K) de l'endotherme a été comparée aux poikilotherm \*\*\*  $p = 0,0001$ . \*\*\*  $p = 0,0001$

		Tc (K)	T <sub>Concct</sub> (K)	T <sub>C<sub>0</sub></sub> (K)	$\Delta T$ (K)	La moyenne $\Delta T$ (K)
Grenouille	inséré	227 $\pm$ 0,03	239 $\pm$ 0,02	235 $\pm$ 0,07	11 $\pm$ 0,04	Poikilotherm 11,50 $\pm$ 0,22
	Superposé	238 $\pm$ 0,05	252 $\pm$ 0,08	241 $\pm$ 0,09		
Caméléon	Superposé	238 $\pm$ 0,07	252 $\pm$ 0,09	240 $\pm$ 0,04	12 $\pm$ 0,02	
Poussin	Superposé	240 $\pm$ 0,02	280 $\pm$ 0,05	244 $\pm$ 0,07	36 $\pm$ 0,01	Endotherm 38,00 $\pm$ 0,89***
Lapin	Superposé	245 $\pm$ 0,01	298 $\pm$ 0,08	258 $\pm$ 0,06	40 $\pm$ 0,03	

## 2.2. Sections histologiques

Les sections longitudinales des nerfs sciatiques montrent la présence de fibres nerveuses avec des cellules de Schwann entourant la gaine de myéline de la grenouille (**Figure 40a**), le caméléon (**Figure 40b**), le poussin (**Figure 40c**) et le lapin (**Figure 40d**).

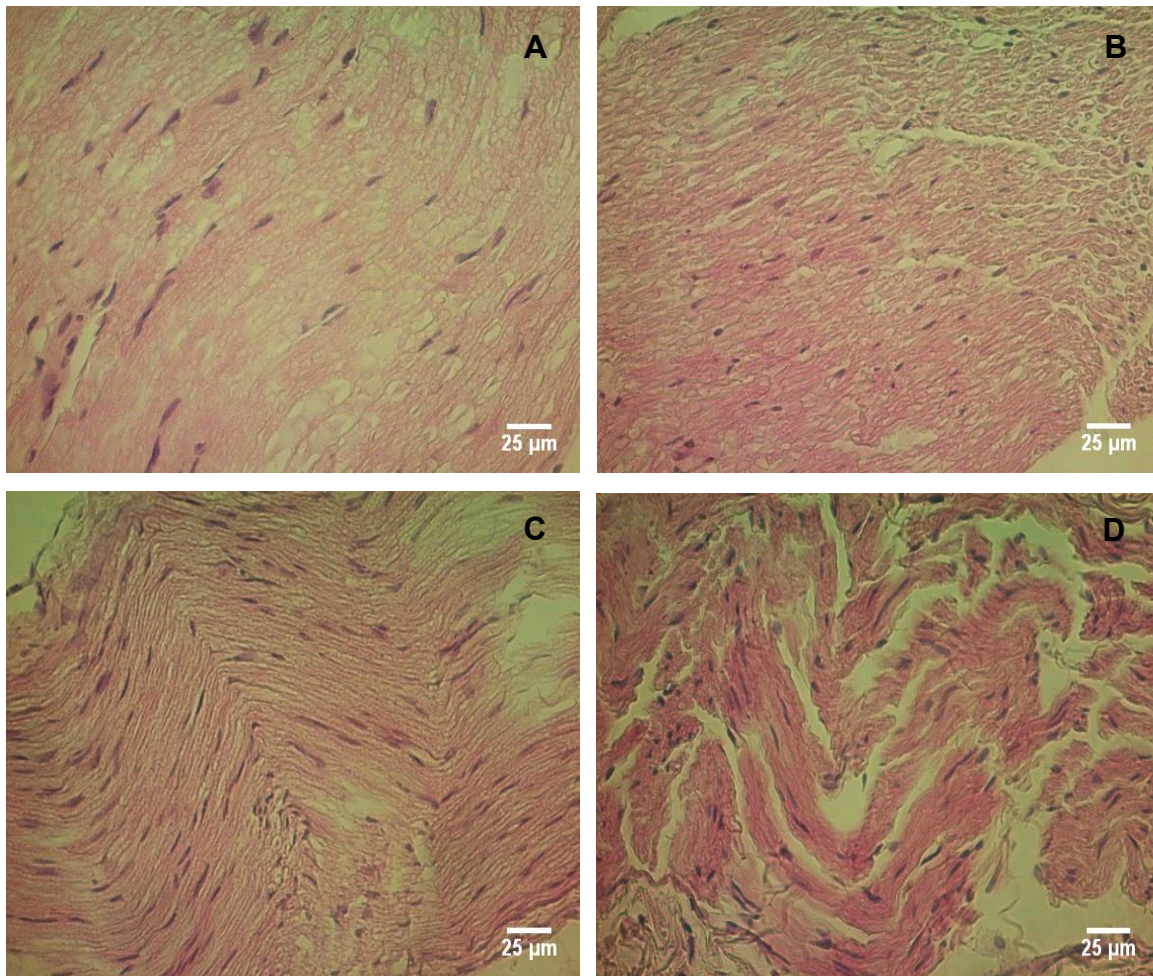


Figure (40). Sections longitudinales du nerf sciatique: (A) grenouille, (B) caméléon, (C) poussin et (D) lapin (Hematoxyline-Eosine X40).

L'évaluation du nombre de cellules de Schwann a été effectuée à l'aide du logiciel Image J (Trabelsi *et al* 2013). L'analyse des données a révélé que le nombre des cellules de Schwann est plus élevé chez les homéothermes comparés aux poïkilothermes ( $173,50 \pm 16,55$  vs  $63,75 \pm 7,70$ , \*\*\*  $p = 0,0001$ ) (Figure 41).

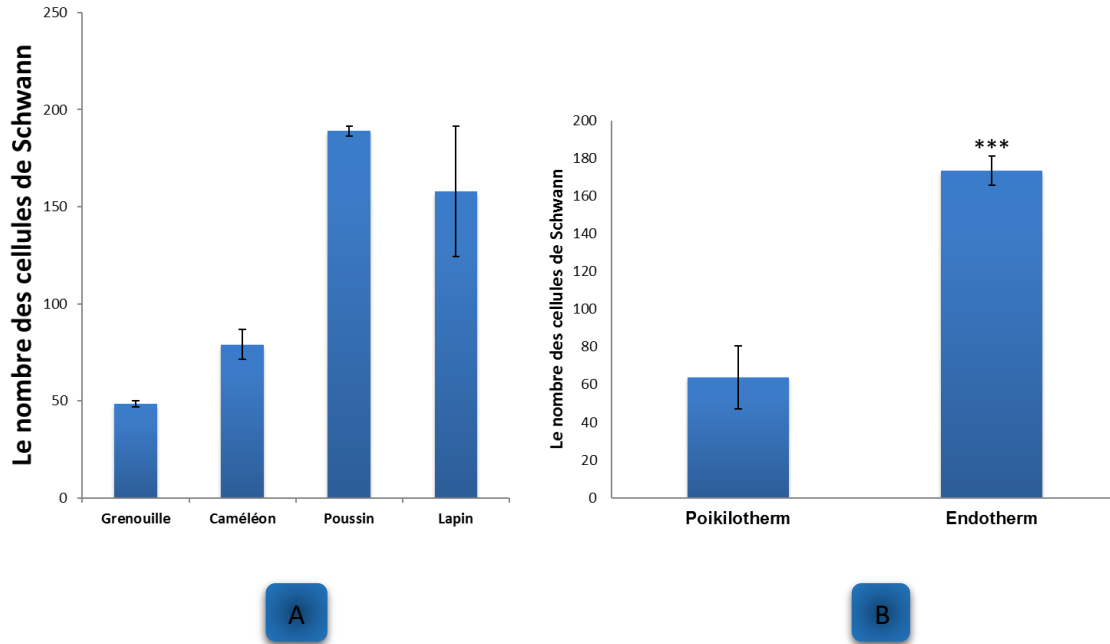


Figure (41). Nombre de cellules de Schwann (A) chez quatre espèces : grenouille, caméléon, poussin et lapin ; (B) chez les poïkilothermes vs endothermes. Les valeurs sont données comme la moyenne  $\pm$  SEM pour les groupes de 6 animaux chacun, le nombre de cellules de Schwann des endothermes vs poïkilothermes \*\*\*  $p < 0,0001$

De plus, notre analyse basée sur le calcul des cellules de Schwann selon notre modèle de leur disposition dans la figure 26 révèle qu'au cours de l'évolution la densité des cellules augmente chez les quatre espèces étudiées.

L'estimation de la distance a-b, b-c, c-d et a-d montre que ces intervalles étaient plus élevés chez les poïkilothermes par rapport aux homéothermes (**Figure 42**).

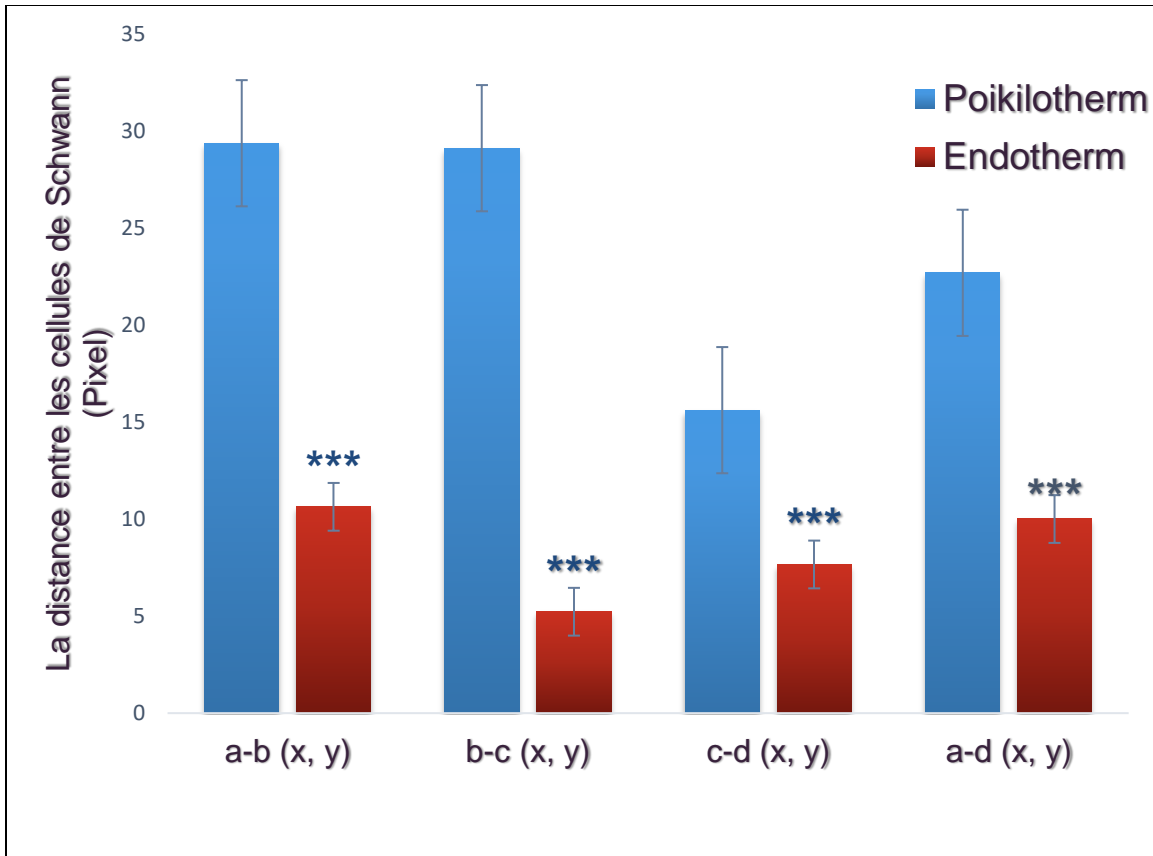


Figure (42). La distance entre deux cellules de Schwann (point a-b, b-c, c-d et a-d) chez les Poikilothermes vs Endothermes. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  SEM, pour des groupes de six animaux chacun, la distance entre les cellules de Schwann des endothermes vs poikilothermes \*\*\*  $p < 0,0001$

### 3. Discussion

La présente étude a indiqué que les basses températures induisent une diminution brutale de la résistivité des nerfs chez les quatre espèces étudiées. La diminution de la résistivité à basse température montrant la présence d'un comportement supraconducteur-like. L'analyse des propriétés électriques a démontré clairement une translation de la température critique ( $T_c$ ) des poïkilothermes (grenouille, caméléon) vs homéothermes (oiseaux, lapin). Les améliorations électriques ont été associées à l'augmentation du nombre de cellules de Schwann au cours de l'évolution des espèces animales.

Des résultats antérieurs ont démontré l'existence d'un comportement de type supraconducteur dans le nerf sciatique de la grenouille ([Abdelmelek et al, 2003a](#); [2003c](#); [Mbainabeye et al, 2012](#)).

La compréhension des fonctions complexes du système nerveux au cours de l'évolution nécessite une approche multidisciplinaire basée sur les propriétés électriques et / ou neurochimiques des nerfs ([Abdelmelek et al, 2000](#); [2003a](#); [2003b](#); [2003c](#)). Selon nos résultats, la diminution marquée de la résistivité à basse température a été observée chez toutes les espèces étudiées. Le comportement électrique observé pourrait être médié par un mécanisme ayant de nombreuses similitudes avec les supraconducteurs organiques ou inorganiques ([Schön et al, 2000](#); [Kasumov et al, 2001](#); [Abdelmelek et al, 2003a](#); [2003c](#); [Mbainabeye et al 2012](#)). Le comportement électrique a été divisé en deux groupes : le premier groupe avec  $T_c$  en dessous de 260 K (grenouille et caméléon) et le second groupe avec un  $T_c$  en dessus de 260 K (oiseau et lapin). Ainsi, la diminution ou l'augmentation de la température a un effet proportionnel sur la résistivité du nerf sciatique chez les quatre espèces, indiquant l'intégrité de la structure durant la phase descendante et ascendante de la température au niveau du cryostat. Ces résultats pourraient être expliqués par des propriétés anatomiques fondamentales et fonctionnelles des nerfs qui pourraient expliquer en partie la transition dans la température critique ( $T_c$ ) observée.

Il est intéressant de noter que l'utilisation de  $\Delta T$  comme marqueur de l'hétérogénéité pourrait être utile pour mieux comprendre les changements fondamentaux anatomiques et fonctionnels au cours de l'évolution des espèces (Abdelmelek *et al.*, 2003a). L'évolution des espèces a augmenté le  $\Delta T$  des poïkilothermes ( $\Delta T$  : 11.50K) aux homéothermes ( $\Delta T$ : 38.00K), montrant une augmentation de la complexité des structures nerveuses qui leur permettant de travailler comme un supraconducteur à haute température.

Les études histologiques ont démontré une augmentation significative du nombre de cellules de Schwann au cours de l'évolution, comme le montrent les figures 40 (a, b, c, d) et la figure 41, indiquant une corrélation entre la quantité de la gaine de myéline et l'amélioration des propriétés électriques des nerfs à basse température chez les quatre espèces étudiées. En effet, Abdelmelek *et al.*, (2003) et Mbainabeye *et al.*, (2012) ont rapporté que le comportement de type supraconducteur est lié au développement de la fonction métabolique, au développement de la myéline et l'arrangement tridimensionnel des protéines et des canaux ioniques. Adam et Friede (1988), Martin *et al.*, (2008) ont constaté que l'épaisseur relative des gaines de myéline est corrélée avec l'évolution des espèces. Nos données démontrent que la distance entre les cellules de Schwann (a-b, b-c) est plus faible chez les homéothermes par rapport aux poïkilothermes, indiquant probablement que l'angle de repliement des gaines de myéline est considéré comme indice évolutif. Cependant, l'analyse des données (**Figure 26**) a révélé que la myélinisation durant l'évolution était corrélée à l'augmentation de la densité des cellules de Schwann. Tous les résultats concordent avec notre modèle de disposition des cellules de Schwann dans la figure 26, ce qui indique que chez les poïkilothermes la distance ( $\alpha$ ,  $\beta$ ) (entre les cellules de Schwann) est plus importante par rapport aux homéothermes (**Figure 42**). Les valeurs les plus élevées des paramètres b-c (X, Y) chez les poïkilothermes pourraient s'expliquer par la diminution de la quantité de gaines de myéline et de son repliement par rapport aux homéothermes.

En fait, la vitesse de propagation pour les neurones moteurs des mammifères est de 10 à 120 mètres / sec, alors que pour les neurones sensoriels non myélinisés, elle est de 5 à 25 mètres / s (Kenneth, 1996; Ahmed *et al*, 2012). Les fibres nerveuses conduisent l'influx nerveux très rapidement parce que la gaine de myéline forme les nœuds de Ranvier, ce qui permet à l'impulsion nerveuse de sauter d'un nœud à un autre et de Voyager plus rapidement (Abdelmelek *et al*, 2003a). Dans le nerf, le mécanisme de la conduction saltatoire sur les parties des nerfs dépourvues de myéline et la supraconductivité présentent de nombreuses similitudes. De plus, le changement de gradient du comportement supraconducteur-like dans le système nerveux, des poïkilothermes aux homéothermes, est corrélé au degré de myélinisation (Abdelmelek *et al*, 2003a).

Le calcul du rapport  $\Delta T$  endothermes /  $\Delta T$  poïkilothermes donne une valeur de 3,30 probablement liée aux trois étapes les plus importantes de l'évolution des espèces et de la régulation du métabolisme de sorte que  $3,3 / 3 = 1,1$  (poïkilothermes (1,1), hibernant (1,1) et homéothermes 1,1).

#### **4. Conclusion**

La présente étude a indiqué pour la première fois, à notre connaissance, que les basses températures induisent une diminution de la résistivité des nerfs chez les quatre espèces étudiées, montrant un comportement supraconducteur-like. Les données montrent clairement une transition dans la température critique ( $T_c$ ) des poïkilothermes aux homéothermes, indiquant des changements adaptatifs des nerfs au cours de l'évolution confirmée par l'augmentation des gaines de myéline qui ont été corrélées au nombre et la densité des cellules de Schwann.



# CHAPITRE

## IV

---

*La prévention de la démyélinisation du nerf sciatique par le fer*

---

## 1. Contexte & Objectifs

Le système nerveux de la grenouille a été considéré comme un outil important dans les études électrophysiologiques (Katsuki *et al.*, 2006; Banasr *et al.*, 2010 Mbainabeye *et al.*, 2012; Li-Hua *et al.*, 2015; Das *et al.*, 2016). La gaine de myéline est une organelle membranaire spécialisée du système nerveux élaborée par des oligodendrocytes dans le système nerveux central et par des cellules de Schwann dans le système nerveux périphérique (Lemke, 1992). Cette organelle se compose d'une grande feuille de membrane plasmique qui est emballée à plusieurs reprises et très étroitement compacte autour des axones (Lemke, 1992). La myéline est essentielle pour la conduction rapide des potentiels d'action chez les vertébrés (Das *et al.*, 2016). Connor et Benkovic (1992) ont suggéré que dans le système nerveux central, la myéline est une membrane riche en lipides composée d'oligodendrocytes. Ces oligodendrocytes sont enrichis en fer et en transferrine (Connor et Benkovic, 1992). De plus, la transferrine a été identifiée comme un facteur essentiel pour la myélinisation (Espinosa de Los Menteros *et al.*, 1999 ; Tran *et al.*, 2012; Polin *et al.*, 2013; Radlowski and Johnson, 2013; Rao *et al.*, 2013). La dégénérescence wallerienne (WD) peut être induite par un écrasement ou une section nerveuse expérimentale, ce qui favorise une cascade d'événements décrite par Waller (1850). La séquence des événements caractéristiques de WD commence par l'afflux de  $Ca^{++}$  (Martinez et Ribeiro, 1998), suivie d'une désintégration du cytosquelette axonal et d'une rupture de la gaine de myéline. Ensuite, les macrophages sont recrutés dans la zone de la lésion afin de phagocytter les débris des axones et de myéline (Stoll *et al.*, 1989; Stoll *et al.*, 2002). Le processus de régénération commence par la germination des axones au nœud de Ranvier le plus proche dans le segment proximal du nerf (Stoll et Muller, 1999). En outre, lorsque des ligatures ont été utilisées pour serrer le nerf tibial chez les lapins, le nerf distal au site de constriction a subi une réduction du diamètre des fibres axonales et externes et de la vitesse de conduction (Baba *et al.*, 1982, 1983). Des changements distants pourraient être détectés dans les 7 à 12 jours suivant l'apparition de la constriction ; L'élimination des ligatures a été suivie d'une récupération partielle.

Le fer est impliqué dans de nombreux processus du système nerveux central (Woods *et al.*, 1976). Il joue un rôle clé dans la maintenance et la formation de myéline (Beard *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 2001; Rao *et al.*, 2013; Levi et Taveggia, 2014). De plus, l'importance du fer dans la production de myéline a été démontrée par des études montrant que la diminution de la disponibilité du fer dans le régime alimentaire est associée à l'hypomyélinisation (Lozoff *et al.*, 2006 ; Todorich *et al.*, 2009 ; Greminger *et al.*, 2014; Jougleux *et al.*, 2014). Les besoins en fer devraient dépasser la consommation de fer pendant les 6 à 18 premiers mois de la vie postnatale (Lozoff *et al.*, 2006 ; Rao et Georgieff, 2007).

En soulignant en outre l'importance de ce composant, la présente étude vise d'abord à étudier l'effet de la ligature du nerf sciatique sur les gaines de myéline. Deuxièmement, l'implication du fer dans la régénération des nerfs.

## 2. Résultats

### 2.1. Impact de la pose des ligatures sur la gaine de myéline chez la grenouille

Chez les grenouilles de contrôle, les fibres de myéline colorées rapidement en rose avec éosine présentait une répartition homogène (**Figure 43**). Les noyaux de Schwann étaient représentés en noir (**Figure 43A**). Après la pose des ligatures (2h, 24h et 72h), nous observons une dégénérescence de certaines fibres avec une rupture axonale (**Figure 43B, 43C, 43D**). L'évaluation qualitative démontre que la dégénérescence était proportionnelle au temps de la ligature au niveau des nerfs sciatiques de la grenouille.

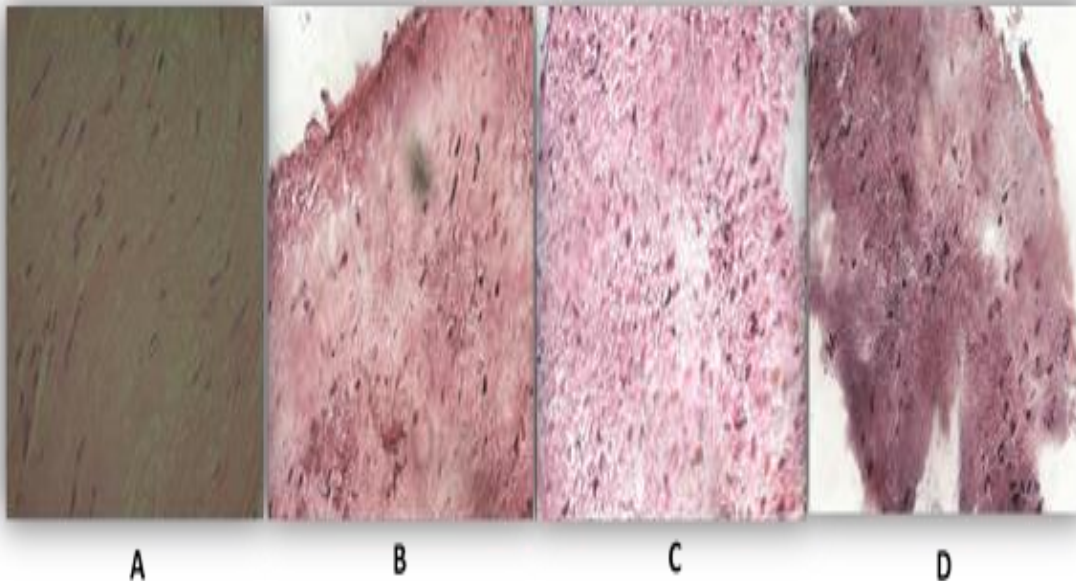


Figure (43). Section transversale à travers le nerf sciatique de la grenouille (Hematoxyline-Eosine X 640). (A) groupe témoin, (B) ligature durant deux heures sur les gaines de myéline, (C) ligature durant 24 heures sur les gaines de myéline, (D) ligation après 72h

Chez le groupe témoin, la moyenne des cellules de Schwann était d'environ 68%. La ligature induit une diminution du nombre de cellules de Schwann après 2h (-33,82%, \*\*\*  $p < 0,0001$ ), 24h (-58,82%, \*\*\*  $p < 0,0001$ ) et 72h (-26,47%, \*\*\*  $p < 0,0001$ ) Comparé au groupe témoin (**Figure 44**).

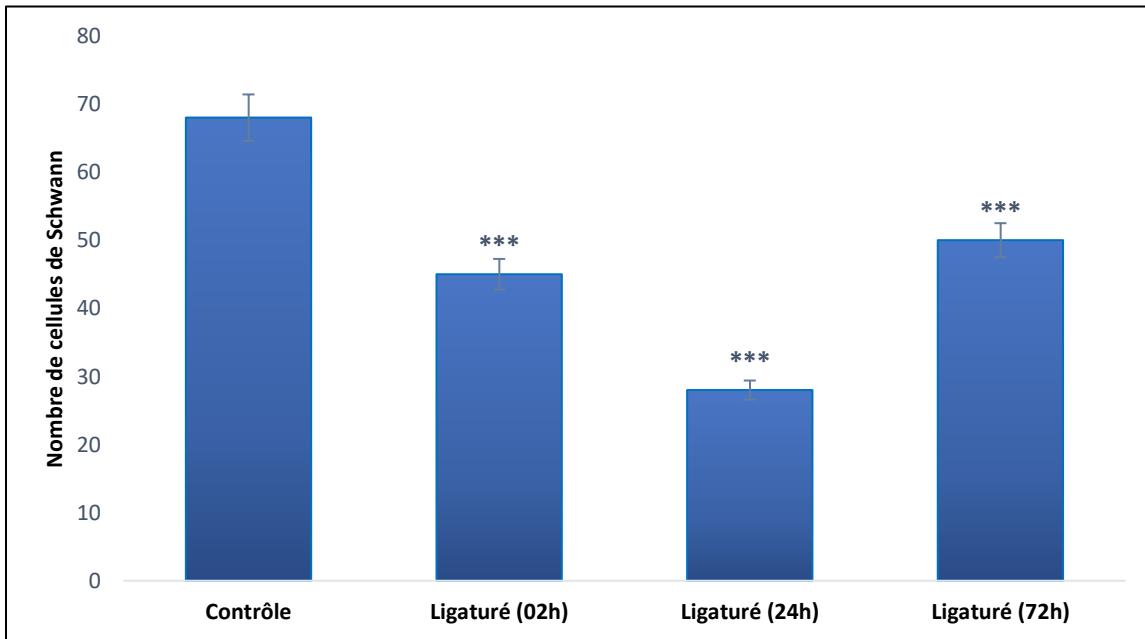


Figure (44). Analyse quantitative du nombre de cellules de Schwann après la pose d'une ligature (2 h, 24h et 72h). Les valeurs sont données comme moyenne  $\pm$  SEM, pour des groupes de six animaux chacun. Le nombre de cellules de Schwann du groupe ligaturé a été comparé au groupe témoin  $p < 0,0001$ .

## 2.2. Impact du traitement des nerfs sciatiques ligaturés par le sulfate de fer chez la grenouille

La figure 45 montre des coupes histologiques représentatives des nerfs sciatiques de la grenouille après la pose de la ligature ou une ligature suivie d'un traitement de fer. Soixante-douze heures après la ligature, la dégénérescence de certaines fibres avec une rupture axonale et une rupture de la myéline a été observée (**Figure 45B**). Fait intéressant, l'administration de fer réduit la dégénérescence des gaines de myéline classiquement observées dans le nerf sciatique des grenouilles ligaturés (**Figure 45C**).

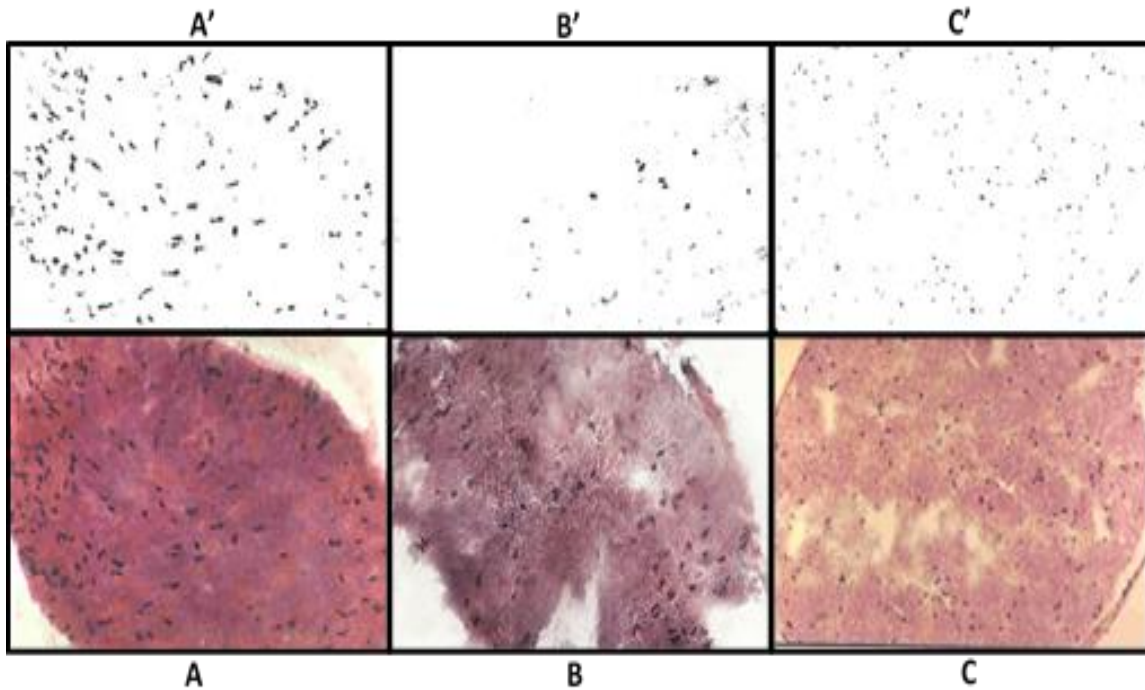


Figure (45). **(A)** Une coupe transversale du nerf sciatique de la grenouille témoin (Hématoxyline-Eosine X 640), **(A')** coupe transversale à travers le nerf sciatique contrôle (Binaire); **(B)** coupe transversale à travers le nerf sciatique ligaturé soixante-douze heures (Hématoxyline-Eosine X 640), **(B')** coupe transversale à travers le nerf sciatique ligaturé soixante-douze heures (Binaire); **(C)** coupe transversale à travers le nerf sciatique ligaturé trois jours avec injection de sulfate de fer (Hématoxyline-Eosine X 640), **(C')** coupe transversale à travers le nerf sciatique ligaturé trois jours avec injection de sulfate de fer (binaire).

Après la pose de la ligature (72h), nous avons observé une diminution du nombre des cellules de Schwann (-26,47%, \*\*\* p <0,0001). Il est important de mentionner qu'après la ligature et le traitement à base du fer, nous notons une augmentation du nombre de cellules de Schwann (+ 104,41%, \*\*\* p <0,0001) **(Figure 46)**.

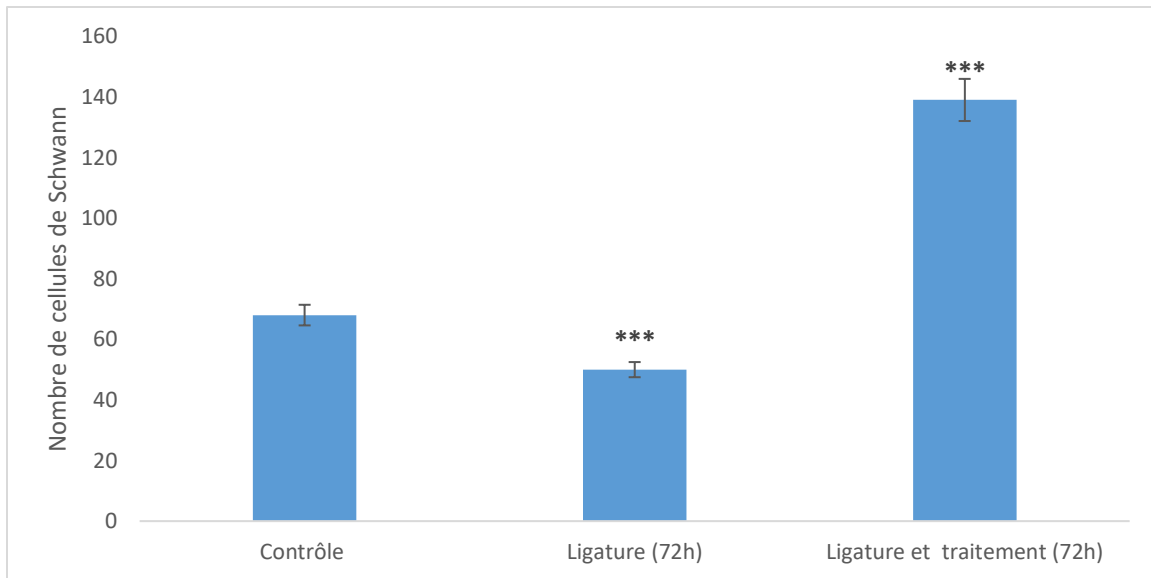


Figure (46). Analyse quantitative du nombre des cellules de Schwann après la pose de la ligature ou ligature associée à l'injection de sulfate de fer. Les valeurs sont données en moyenne  $\pm$  SEM, pour des groupes de 6 animaux chacun,  $p < 0,0001$

### 3. Discussion

La présente étude indique que la pose de la ligature (2h, 24h et 72h) du nerf sciatique des grenouilles provoque une dégénérescence proportionnelle de la myéline. Par conséquent, l'administration du fer (dans le sac lymphatique) réduit la dégénérescence des gaines de myéline classiquement observées après la pose de la ligature nerveuse dans les nerfs sciatiques des grenouilles. Ainsi, nos données indiquent que le fer prévient l'apparition d'un processus dégénératif ou contribue à la stimulation de la myélinisation nerveuse.

Des recherches antérieures indiquent que le fer peut jouer un rôle important dans la régénération nerveuse par son rôle neuroprotecteur et l'activation de certains facteurs neurotrophiques tels que le facteur neurotrophique dérivé du cerveau (FNDC) (Segal, 2003; Althaus, 2004; Radlowski and Johnson, 2013; Ziv-Polat *et al.*, 2014). Les résultats des expériences actuelles basées sur l'histologie du nerf sciatique de la grenouille indiquent que le taux de cellules de Schwann a diminué après la pose de la ligature 2 heures, 24 heures et 72 heures; indiquant

l'existence d'un processus dégénératif proportionnel à la durée des ligatures. Encore, nous notons qu'après la ligature du nerf sciatique de la grenouille, des dommages au niveau de la gaine la myéline et une perturbation de l'architecture cellulaire (Baba *et al.*, 1983 ; Jack *et al.*, 2013). En fonction de la nature et de la gravité de l'impact initial de la ligature sur le nerf sciatique de la grenouille, la réponse réparatrice endogène et neurophysiologique est substantielle à partir de 72h. Cependant, afin d'obtenir une récupération fonctionnelle, le segment nerveux endommagé doit être reconstruit et confirmé par des études comportementales et électrophysiologiques. L'objectif de la présente étude était de montrer que la restauration nerveuse peut être favorisée après un traitement à base du fer. Afin d'évaluer les interactions entre le fer et les cellules de Schwann nous pouvons également montrer l'existence d'un mécanisme de prévention concomitante à la démyélinisation. Par ailleurs, nous avons cherché à déterminer les premiers changements qui se produisent après la pose de la ligature au niveau du nerf sciatique (2h), 24h ou 72h. Le processus régénératif après la pose d'une ligature commence après 72h. Par contre le traitement à base de fer rend la récupération précoce et accentue le processus régénératif à partir de 72h. L'administration de facteurs neurotrophiques comme BDNF, NGF; GDNF; NT 3 et 4 ont montré des effets bénéfiques sur la régénération des nerfs (Huang et Huang, 2006; Yanru *et al.*, 2014; Ziv-Polat *et al.*, 2014). Dans la présente étude, nous avons démontré que le traitement avec le fer régénère les gaines de myéline. Cette constatation pourrait s'expliquer par les effets bénéfiques du fer sur l'action de certains facteurs neurotrophiques comme la neurotrophine-4 (NT-4) et le facteur de croissance de fibroblastes (FCFb) (Lobner et Ali, 2002 ; Radlowski and Johnson, 2013) qui sont impliqués dans la neuroprotection. Des études *in vivo* et *in vitro* ont montré que la neurotrophine (NT) influe la prolifération, la différenciation, la survie et la régénération des oligodendrocytes matures et des précurseurs oligodendriaux en faveur de la réparation de la gaine de myéline. Deux modèles *in vivo* ont fourni des preuves directes que NT peut améliorer la remyélinisation (Williams *et al.*, 1984 ; Shine *et al.*, 1985 ; Williams et Varon, 1985; Madison *et al.*, 1987 ; Rich *et al.*, 1989 ; Althaus, 2004 ; Polin *et al.*, 2013; Radlowski and Johnson, 2013).



Promouvoir la régénération en stimulant le deuxième système de messagerie AMP cyclique a été un concept attrayant depuis de nombreuses années, car de nombreux facteurs de croissance agissent à travers le deuxième messager, l'AMP cyclique pourrait stimuler les neurones pour surmonter cet obstacle. Les premières expériences *in vitro* ont démontré que l'addition d'AMPc dans le milieu de culture améliore l'élongation des neurites (Roisen *et al.*, 1972). Mais si les neurones sont amorcés avec de l'AMP cyclique, leurs processus centraux régénèrent vigoureusement malgré leur environnement (Neumann *et al.*, 2002 ; Qui *et al.*, 2002 ; Qui and Filbin, 2002; Pita-thomasetal., 2010; Knott Eric *et al.*, 2017). Les mécanismes sous-jacents à cette régénération ne sont pas clairs, mais on peut s'attendre à ce que les facteurs qui favorisent la croissance ou la survie des neurones jouent un rôle important dans la restauration de l'intégrité neuronale. Graeber *et al.*, (1989) ont montré une augmentation des récepteurs de la transferrine dans la régénération des neurones moteurs et que ce phénomène est fonctionnel avec une prise élevée de fer exogène. La myéline est une structure membranaire multilamellaire qui contient des taux élevés de cations métalliques divalents, y compris le zinc (Berlet *et al.*, 1994), dont la plupart sont liés aux protéines. Plusieurs auteurs ont proposé un rôle pour les cations de zinc dans le compactage de la gaine de myéline mature (Inouye et Kirschner, 1984 ; Earl *et al.*, 1988; Riccio *et al.*, 1995; Tsang *et al.*, 1997). Cependant, les effets spécifiques du zinc sur les protéines de myéline et leurs interactions putatives n'ont pas été étudiés en détail. La protéine basique de la myéline s'est révélée être une protéine liant le zinc (Berlet *et al.*, 1994 ; Cavatorta *et al.*, 1994; Tsang *et al.*, 1997) et il a été montré que le zinc favorise son agrégation (Cavatorta *et al.* , 1994; Riccio *et al.*, 1995). Cependant, il convient de noter que les concentrations de zinc utilisées dans ces études étaient suffisamment élevées pour induire la précipitation non spécifique de la plupart des protéines à partir d'échantillons de protéines dilués, tels que les homogénats nerveux et cellulaire. À partir de la discussion précédente, il est clair que l'élévation de la concentration de fer dans le nerf périphérique dégénéré, en particulier le nerf sciatique de la grenouille, peut avoir un impact positif sur la régénération.

#### **4. Conclusion**

La présente étude décrit, pour la première fois, que le sulfate de fer ( $\text{FeSO}_4$ ) empêche la dégénérescence suite à la pose d'une ligature au niveau du système nerveux de la grenouille. Ainsi, le fer pourrait favoriser la régénération dans le nerf périphérique de la grenouille.

# CHAPITRE

## V

---

### *La recherche des nanostructures au niveau de tête (cerveau et crâne)*

---

*'There is plenty of room at the bottom. Many of the cells are very tiny, but they are active: they manufacture substance; they walk around; they wiggle: and they do all kinds of marvelous things all on a very small scale. Also they store information. Consider the possibility that we too can make things very small which does what we want when we want-and that we can manufacture an object that maneuvers at that level'*

***Richard P. Feynman***

## 1. Contexte & Objectifs

Les études antérieures sur l'éthologie montrent clairement que les oiseaux s'orientent par rapport à la direction du Nord magnétique ou une source magnétique artificielle.

L'information provenant du champ magnétique de la Terre joue un rôle clé dans l'orientation des oiseaux, mais les mécanismes physiologiques permettant aux oiseaux de sentir le champ magnétique terrestre restent l'un des mystères non résolus et les plus fascinants de la biologie.

L'hypothèse selon laquelle les oiseaux migrateurs utilisent le champ géomagnétique pour l'orientation avait été proposée dès 1859 ([Von Middendorff, 1859](#)). L'utilisation d'une boussole magnétique par les oiseaux migrateurs a d'abord été démontrée chez les robins européens ([Wiltschko and Merkel, 1966](#)).

De plus, le fait que les oiseaux migrateurs et les pigeons domestiques présentent des changements dans leur comportement d'orientation après un traitement par impulsion magnétique puisse être pris comme preuve d'un système magnétorécepteur basé sur du matériel ferrimagnétique ([Davila et al., 2005](#)).

Le mécanisme biophysique de la magnétoréception et leurs navigations est mal élucidé. Par contre il y a plusieurs théories et des études préliminaires qui impliquent les nanocristaux de la magnétite comme magnétorécepteurs dans le bon fonctionnement et la précision de cette boussole biologique qui est en interaction continue avec les lignes du champ magnétique terrestre.

Les suggestions d'un magnétorécepteur à base de magnétite incluent des particules de magnétite à un seul domaine ([Kirschvink and Gould, 1981](#)), des particules fixes de magnétite superparamagnétique ([Kirschvink et al., 1985](#)) ou des cristaux liquides contenant de la magnétite ([Edmonds, 1996](#)).

Au contraire, peu ou pas d'études qui évoquent la présence de cette boussole biologique chez les autres espèces « grenouille, poussin, lapin, rat ».

Le présent chapitre a pour objectif la recherche de nanostructures au niveau de la tête (cerveau et crane) en ayant recours à deux méthodes d'analyse : la DRX et la spectroscopie infra-rouge.

## 2. Résultats

### 2.1. Etude qualitative par la diffraction des rayons X chez les cinq espèces

L'analyse du diagramme DRX obtenu à partir de la poudre du cerveau chez la grenouilles montre 24 pics (**Figure 47, Tableau 2**).

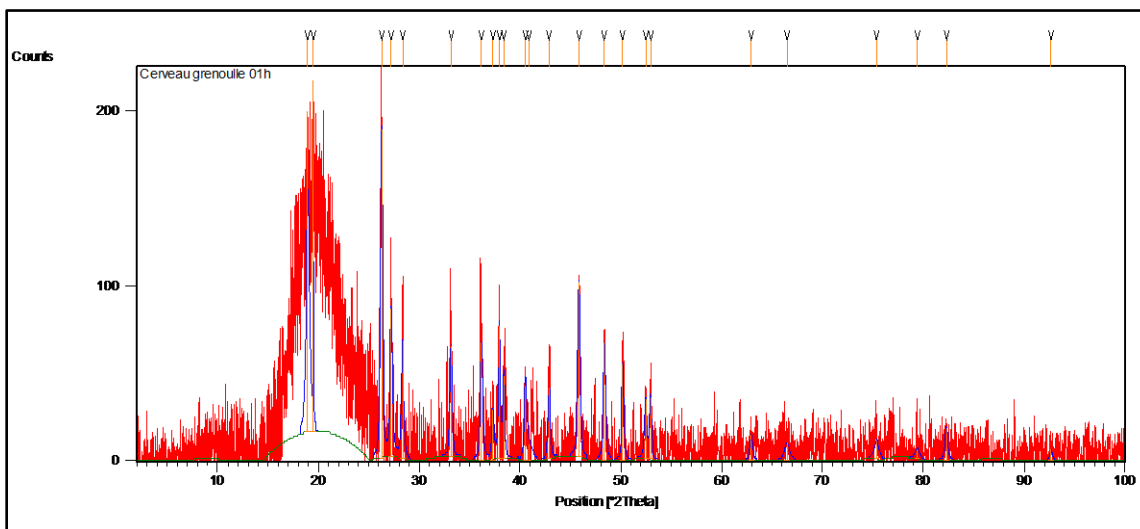


Figure (47). Diffractogramme obtenu à partir de la poudre de cerveau chez la grenouille

Le diffractogramme montre des pics ayant des  $2\theta$  qui présentent des analogies avec les nanoparticules de magnétite et/ou de maghémite seulement. Par ailleurs, la confrontation des pics avec les bases de données pourrait plaider probablement en faveur de la présence de nanocontaminants comme le ZnO.... et le CdS..... L'analyse des diffractogrammes est réalisée par les logiciels X'Pert HighScore Plus et le logiciel Match qui permettent de les comparer aux fichiers PDF « Powder Diffraction Files ». Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne de ces nanoparticules est comprise entre 1,8 et 2,5 nm.

Les paramètres des pics sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau (02). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de cerveau chez la grenouilles.

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	18,9541	4,67834	18
2	19,4925	4,55032	18
3	26,2647	3,39039	18
4	27,225	3,27294	18
5	28,3325	3,14747	18
6	33,1508	2,70018	18
7	36,171	2,48135	18
8	37,3054	2,40846	18
9	37,9487	2,3691	18
10	38,3823	2,34333	18
11	40,5554	2,22264	19
12	40,9089	2,20424	19
13	42,8909	2,10686	19
14	45,8445	1,97776	19
15	48,3755	1,88003	19
16	50,1944	1,81608	19
17	52,4539	1,74305	19
18	52,9425	1,7281	19
19	62,9547	1,47521	20
20	66,4937	1,40502	21
21	75,3984	1,25966	22
22	79,4422	1,20538	23
23	82,304	1,17056	23
24	92,697	1,06461	25

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre du crane chez la grenouille

Le diagramme de diffraction ci-dessous est obtenu à partir d'une poudre de crane chez la grenouille (**Figure 48, Tableau 3**).

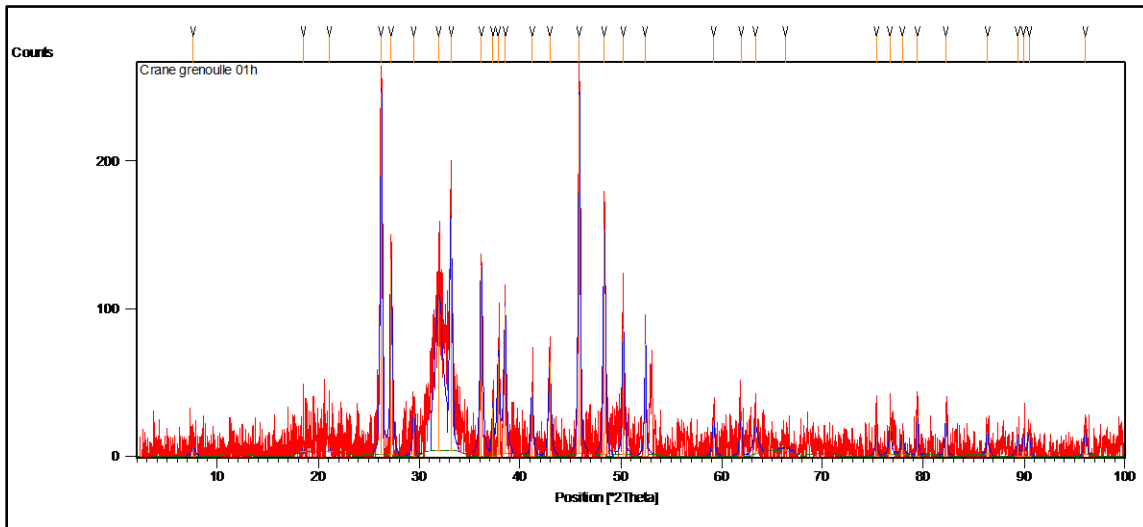


Figure (48). Diffractogramme obtenu à partir de la poudre du crane chez grenouilles

Le diffractogramme montre l'apparition de trente-deux pics au niveau du diagramme du crane chez la grenouille (**Figure 48, Tableau 3**). La confrontation des pics avec les bases de données des logiciels X'Pert HighScore Plus et Match montre l'existence de nanoparticules de magnétite et de maghémite. De même, le crane est contaminé par des quantum dots de type CdS et ZnO. L'analyse des diffractogrammes est réalisée par la formule de Scherrer, la taille moyenne de ces nanoparticules est de 1,70 et 2,60 nm.



Tableau (03). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du crane chez la grenouille.

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	7,5718	11,66613	17
2	18,48	4,79728	18
3	21,08	4,21109	18
4	26,241	3,3934	18
5	27,2337	3,27191	18
6	29,4378	3,03176	18
7	31,9541	2,79852	18
8	33,1387	2,70114	18
9	36,158	2,48221	18
10	37,2801	2,41003	18
11	37,8477	2,37519	18
12	38,5254	2,33495	18
13	41,2129	2,18868	19
14	42,9598	2,10364	19
15	45,8861	1,97606	19
16	48,3742	1,88008	19
17	50,2603	1,81385	19
18	52,4384	1,74352	19
19	59,2048	1,55938	20
20	61,8966	1,49787	20
21	63,3783	1,46637	20
22	66,3649	1,40744	21
23	75,3595	1,26021	22
24	76,7273	1,24112	22
25	77,9467	1,22472	22
26	79,4294	1,20554	23
27	82,2509	1,17118	23
28	86,3804	1,12547	24
29	89,4058	1,09506	24
30	89,9585	1,08976	25
31	90,4976	1,08467	25
32	96,1041	1,03569	26

## Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre du cerveau chez la foulque macroule

Le diagramme de diffraction et les pics sont obtenus à partir de la poudre de cerveau chez la foulque macroule (**Figure 49, Tableau 4**).

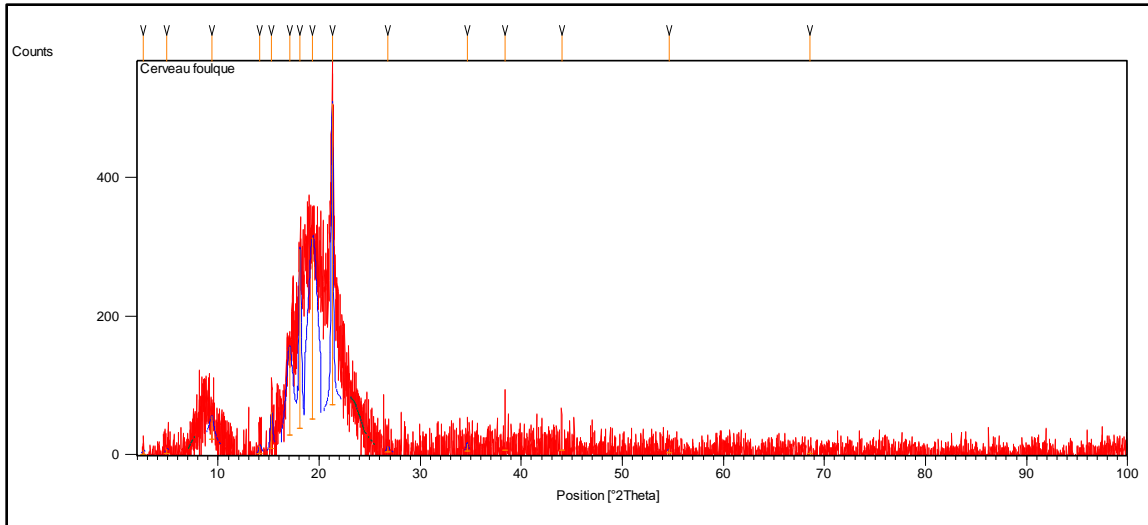


Figure (49). Diffractogramme obtenu à partir de la poudre du cerveau chez la foulque macroule

L'analyse de la figure 49 et du tableau 4 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de magnétite et/ou la maghémite. Néanmoins, il existe un décalage des pics puisque les nanoparticules dans les systèmes biologiques sont formées à basse température. La confrontation des pics pourrait plaider en faveur de la présence de nanocontaminants comme le ZnO et le CdS. Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne des nanoparticules est de 1,7 et 2,1 nm.

Tableau (04). Paramètres des pics du diffractogramme à partir d'une poudre du cerveau chez la foulque macroule.

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	2,5773	34,25128	17
2	4,9096	17,98453	17
3	9,357	9,44402	17
4	14,1425	6,25735	18
5	15,2815	5,79343	18
6	17,0637	5,19214	18
7	18,1139	4,8934	18
8	19,3548	4,58237	18
9	21,2915	4,16973	18
10	26,8025	3,32356	18
11	34,6341	2,58786	18
12	38,42	2,34111	18
13	44,02	2,0554	19
14	54,6406	1,67834	20
15	68,574	1,36738	21

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre de l'apex du crane chez la foulque macroule

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez la foulque est donné par la figure 50 et le tableau 5.

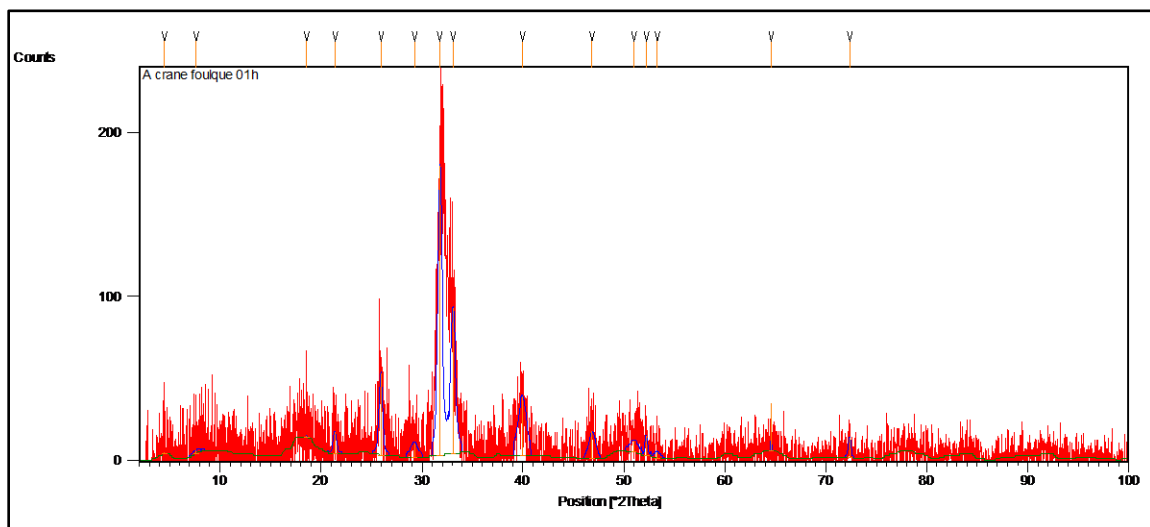


Figure (50). Diffractogramme obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez la foulque macroule

L'analyse de la figure 50 et du tableau 5 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de magnétite et/ou la maghémite au niveau de l'apex du crane chez la foulque. La confrontation des pics pourrait plaider en faveur de la présence de nanocontaminants comme le ZnO et le CdS. Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne de ces nanoparticules est de 1,7 et 2,1 nm.

Tableau (5). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de l'apex du crane chez la foulque macroule

Numéro.	Position [ $^{\circ}$ 2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	4,48	19,70812	17
2	7,6746	11,51017	17
3	18,6	4,76659	18
4	21,3739	4,15384	18
5	25,9219	3,43444	18
6	29,2407	3,05174	18
7	31,7908	2,81252	18
8	33,0776	2,706	18
9	39,937	2,25562	18
10	46,8721	1,93676	19
11	50,9901	1,78959	19
12	52,2141	1,75049	19
13	53,3403	1,71615	19
14	64,5844	1,44187	21
15	72,3444	1,30512	22

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre de la base du crane chez la foulque macroule

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre de la base du crane chez la foulque est donné par la figure 51 et le tableau 6.

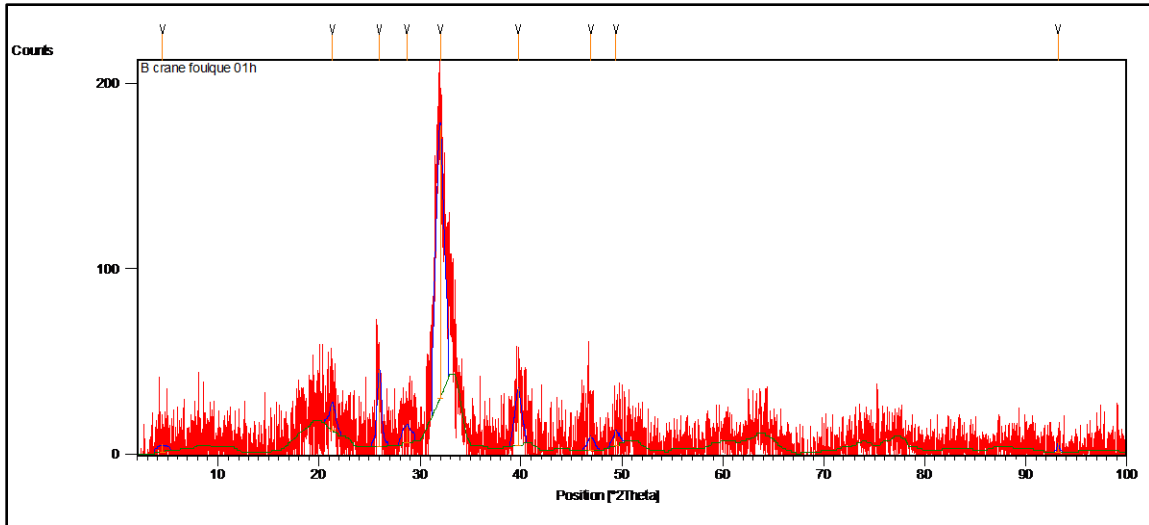


Figure (51). Diffractogramme obtenu avec la poudre de la base du crane de la foulque macroule

L'analyse de la figure 51 et le tableau 6 Montre l'absence des nanoparticules de magnétite et de maghémite au niveau du diagramme de la base du crane chez la foulque. L'analyse des diffractogrammes est réalisée par les logiciels X'Pert HighScore Plus et le logiciel Match qui permettent de les comparer aux fichiers PDF « Powder Diffraction Files ».

Tableau (06). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de la base du crane de la foulque macroule

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	4,4587	19,80238	17
2	21,344	4,1596	18
3	25,9728	3,42782	18
4	28,7256	3,10529	18
5	31,9717	2,79702	18
6	39,7448	2,26608	18
7	46,9216	1,93483	19
8	49,4308	1,84233	19
9	93,2132	1,06006	25

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre du cerveau du poussin

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre du cerveau du poussin est donné par la figure52 et le tableau 7.

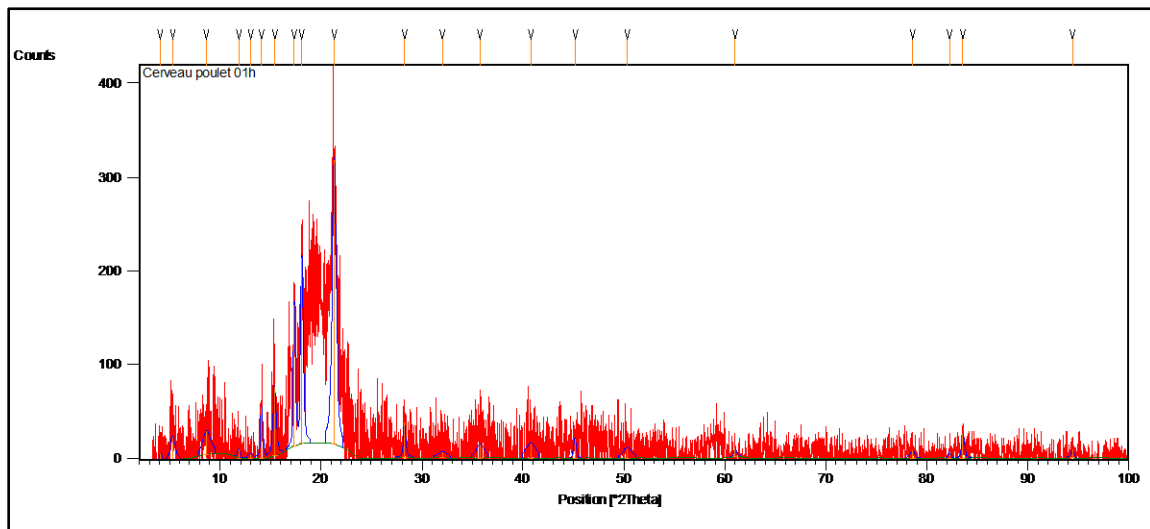


Figure (52). Diffractogramme obtenu avec la poudre du cerveau du poussin

L'analyse de la figure 52 et du tableau 7 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de magnétite et/ou la maghémite au niveau du diagramme du cerveau des poussins. La confrontation des pics pourrait plaider en faveur de la présence de nanocontaminants de CdS et probablement du ZnO. Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne de ces nanoparticules est de 1,7 et 2,6 nm.

Tableau (07). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du cerveau du poussin

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	4,1034	21,51625	17
2	5,2982	16,6664	17
3	8,6716	10,18888	17
4	11,8437	7,46618	17
5	12,9985	6,80535	17
6	14,1304	6,26266	18
7	15,3951	5,75093	18
8	17,3686	5,10168	18
9	18,1154	4,89301	18
10	21,3102	4,16612	18
11	28,2775	3,15347	18
12	32,0233	2,79263	18
13	35,7461	2,50986	18
14	40,7823	2,21079	19
15	45,1558	2,00631	19
16	50,3444	1,81102	19
17	61,026	1,51713	20
18	78,5724	1,21653	22
19	82,2611	1,17107	23
20	83,6015	1,15567	23
21	94,4258	1,04962	26

## Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre de l'apex du crane chez le poussin

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez le poussin est donné par la figure 53 et le tableau 8.

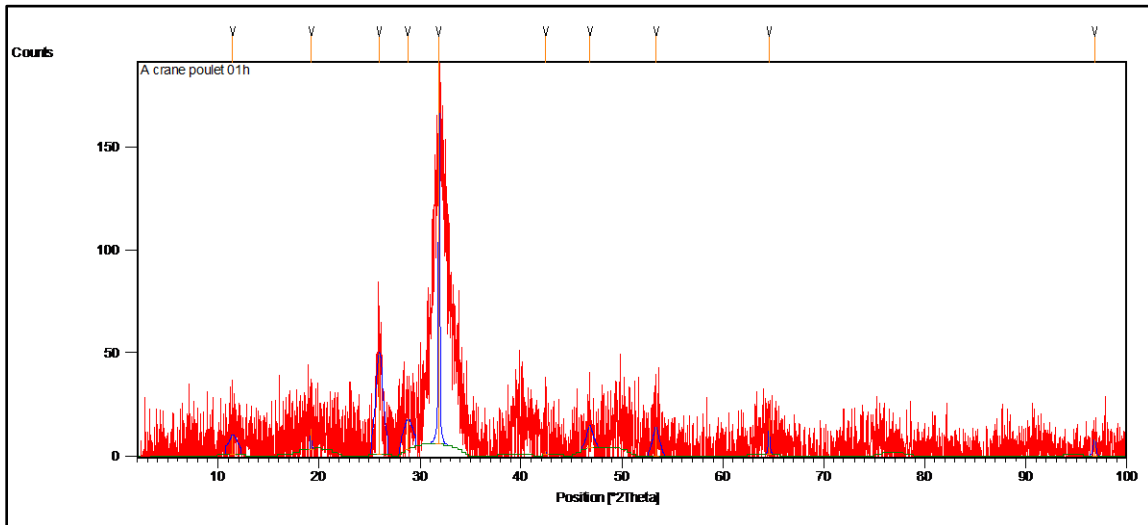


Figure (53). Diffractogramme obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez le poussin

L'analyse de la figure 53 et du tableau 8 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de magnétite au niveau du diagramme de la partie apex du crane chez les poussins. La confrontation des pics pourrait plaider probablement en faveur de la présence de CdS. L'analyse des diffractogrammes est réalisée par les logiciels X'Pert HighScore Plus et le logiciel Match qui permettent de les comparer aux fichiers PDF « Powder Diffraction Files ». Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne de ces nanoparticules est de 1,70 et 2,60 nm.



Tableau (08). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de l'apex du crane chez le poussin

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	11,4923	7,69366	17
2	19,2291	4,61206	18
3	25,9869	3,426	18
4	28,7976	3,09768	18
5	31,8789	2,80495	18
6	42,46	2,12724	19
7	46,8203	1,93879	19
8	53,3764	1,71507	19
9	64,58	1,44196	21
10	96,8148	1,02997	26

**Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre de la base du crane chez le poussin**

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre de la base du crane chez le poussin est donné par la figure 54 et le tableau 9.

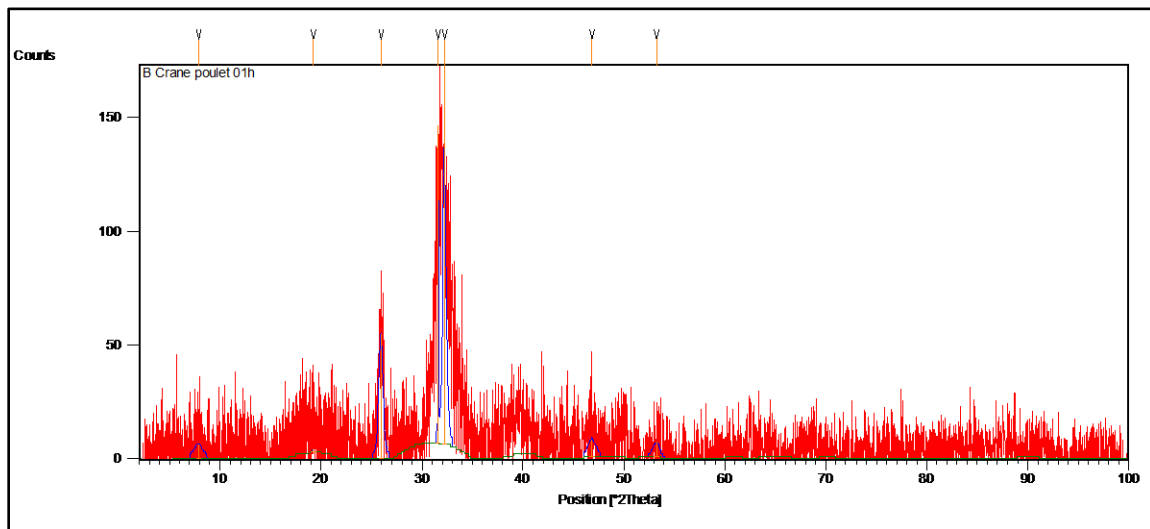


Figure (54). Diffractogramme obtenu avec la poudre de la base du crane chez le poussin

L'analyse de la figure 54 et le tableau 9 montre l'absence des nanoparticules de magnétite et de maghémite au niveau du diagramme de la base du crane chez le poussin.

Tableau (09). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre de la base du crane chez le poussin

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	7,8592	11,24025	17
2	19,22	4,61421	18
3	25,9278	3,43368	18
4	31,6337	2,82613	18
5	32,2244	2,77567	18
6	46,8231	1,93868	19
7	53,2152	1,71989	19

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre du cerveau du rat

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre du cerveau du rat est donné par la figure 55 et le tableau 10.

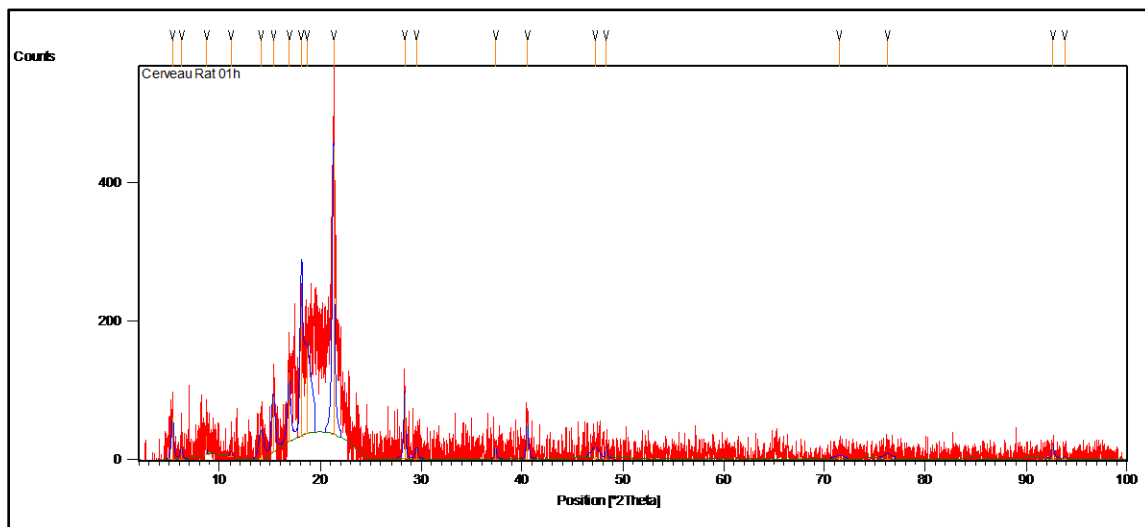


Figure (55). Diffractogramme obtenu avec la poudre du cerveau du rat

L'analyse de la figure 55 et du tableau 10 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de maghémite et probablement de magnétite au niveau du diagramme du cerveau des rats. La confrontation des pics pourrait plaider en faveur de la présence de CdS. L'analyse des diffractogrammes est réalisée par les logiciels X'Pert HighScore Plus et le logiciel Match qui permettent de les comparer aux fichiers PDF « Powder Diffraction Files ». Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne de ces nanoparticules est de 1,7 et 2,5 nm.

Les paramètres des pics sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau (10). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du cerveau du rat

Numéro.	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	5,3202	16,59748	17
2	6,1932	14,25976	17
3	8,7232	10,12876	17
4	11,1361	7,93898	17
5	14,1264	6,26444	18
6	15,3147	5,78092	18
7	16,8828	5,24734	18
8	18,1044	4,89594	18
9	18,6397	4,75652	18
10	21,2837	4,17124	18
11	28,3491	3,14567	18
12	29,5154	3,02396	18
13	37,3701	2,40444	18
14	40,5393	2,22348	19
15	47,2702	1,92138	19
16	48,3722	1,88015	19
17	71,4649	1,31901	21
18	76,2481	1,24772	22
19	92,6865	1,0647	25
20	93,8296	1,05472	25

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre du crane du rat

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre de crane du rat est donné par la figure 56 et le tableau 11.

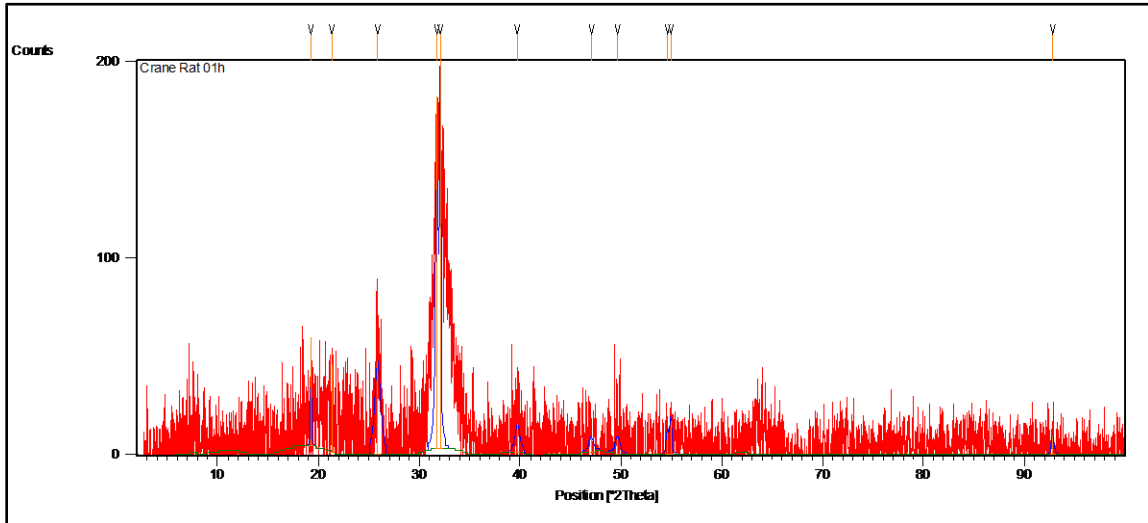


Figure (56). Diffractogramme obtenu avec la poudre du crane du rat

L'analyse de la figure 56 et du tableau 11 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de magnétite et probablement la maghémite au niveau du diagramme du crane des rats. L'analyse des diffractogrammes est réalisée par les logiciels X'Pert HighScore Plus et le logiciel Match qui permettent de les comparer aux fichiers PDF « Powder Diffraction Files ». Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne de ces nanoparticules est de 1,80 et 2,50 nm.

Tableau (11). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du crane du rat

Numéro	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	19,2508	4,6069	18
2	21,3271	4,16285	18
3	25,8694	3,44129	18
4	31,756	2,81552	18
5	32,0745	2,78829	18
6	39,7513	2,26572	18
7	47,0461	1,93001	19
8	49,6569	1,83447	19
9	54,6284	1,67869	20
10	54,9258	1,6703	20
11	92,83	1,06343	25

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre du crane du lapin

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre du cerveau du lapin est donné par la figure 57 et le tableau 12.

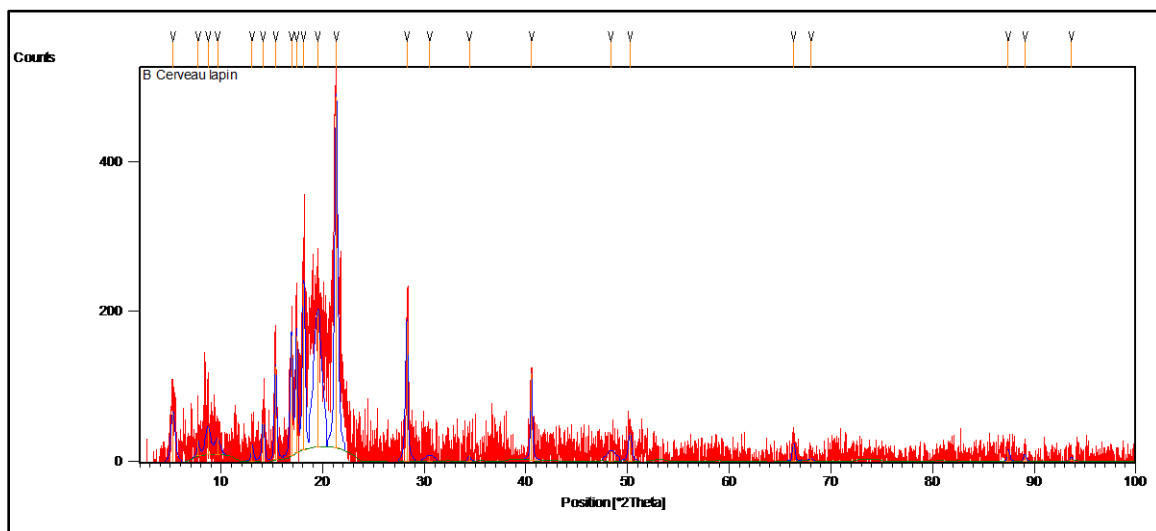


Figure (57). Diffractogramme obtenu avec la poudre du cerveau du lapin

L'analyse de la figure 57 et du tableau 12 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de magnétite et/ou la maghémite au niveau du diagramme du cerveau chez le lapin. Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne des nanoparticules est comprise entre 1,80 - 2,5 nm.

Tableau (12). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du cerveau du lapin

Numéro	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	5,2495	16,82071	17
2	7,7178	11,44589	17
3	8,6841	10,17431	17
4	9,6198	9,18667	17
5	13,0648	6,77099	17
6	14,114	6,26992	18
7	15,3471	5,76879	18
8	16,8932	5,24415	18
9	17,4106	5,08944	18
10	18,117	4,89258	18
11	19,5036	4,54776	18
12	21,3245	4,16336	18
13	28,2487	3,15661	18
14	30,4859	2,92987	18
15	34,3998	2,60495	18
16	40,5438	2,22325	19
17	48,3625	1,8805	19
18	50,2446	1,81438	19
19	66,3522	1,40768	21
20	68,0334	1,37693	21
21	87,5039	1,11389	24
22	89,1006	1,09802	24
23	93,6729	1,05607	25

### Diffractogrammes obtenus à partir de la poudre du crane du lapin

Le diagramme de diffraction obtenu avec la poudre du crane chez le lapin est donné par la figure 58 et le tableau 13.

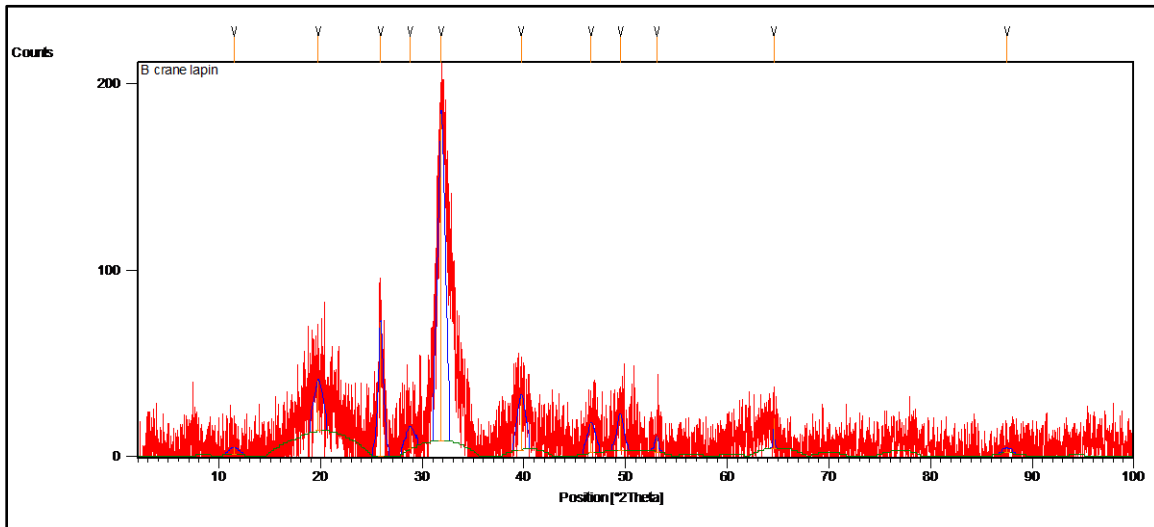


Figure (58). Diffractogramme obtenu avec la poudre du crane du lapin

L'analyse de la figure 58 et du tableau 13 montre des pics qui présentent plusieurs similitudes avec les nanoparticules de magnétite et probablement la maghémite au niveau du diagramme du crane du lapin. Selon la formule de Scherrer, la taille moyenne des nanoparticules est comprise entre 1,70 - 2,10 nm.

Tableau (13). Paramètres des pics du diffractogramme de la poudre du crane du lapin

Numéro	Position [°2Th.]	Distance inter-réticulaire d (Å)	Taille de la cristallite
1	11,4516	7,72092	17
2	19,7557	4,49028	18
3	25,9004	3,43724	18
4	28,7483	3,10289	18
5	31,8655	2,8061	18
6	39,7359	2,26656	18
7	46,6276	1,94635	19
8	49,4734	1,84085	19
9	53,0632	1,72446	19
10	64,5896	1,44176	21
11	87,5411	1,11352	24

## 2.2. Etude qualitative par spectroscopie infrarouge chez les cinq espèces

### 🌈 Chez la grenouille

#### ❖ Cerveau

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre du cerveau chez la grenouille montre l'apparition d'une bande large et intense localisées à  $3304,24\text{ cm}^{-1}$  qui correspond selon les tables de fréquence des vibrations de valence caractéristiques en IR à un groupement acide carboxylique (O-H associé), une bande fine d'une intensité moyenne vers  $2939,75\text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité très faible vers  $2868,84\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une absorption très faible vers  $1740,30\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique de type benzénique (C-H), une absorption fine d'une intensité forte vers  $1653,97\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amide tertiaire (C=O), une absorption d'une intensité forte vers  $1548,15\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C- $\text{NO}_2$ ), quatre bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1403,96\text{ cm}^{-1}$ ;  $1237,83\text{ cm}^{-1}$ ;  $1072,63\text{ cm}^{-1}$  et  $849,49\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) et deux bandes d'absorption d'une intensité faible vers  $698,30\text{ cm}^{-1}$ ;  $522,59\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à une fraction inorganique. **(Figure 59 A).**

#### ❖ Crane

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre du crane chez la grenouille montre l'apparition de deux bandes localisées à  $3314,26\text{ cm}^{-1}$  et  $3285,15\text{ cm}^{-1}$  d'une intensité très large qui correspondent à un groupement acide carboxylique (O-H associé), deux bandes vers  $2938,40\text{ cm}^{-1}$  et  $2868,14\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une absorption moyenne à forte vers  $1644,77\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une bande large d'une intensité moyenne vers  $1457,94\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes), une bande localisée à  $1017,03\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) ;



Une absorption moyenne à faible vers  $869,92\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique (1H) (=C-H), deux bandes localisées à  $706,47\text{ cm}^{-1}$  et  $559,35\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent peut-être à une fraction inorganique (**Figure 59 B**).

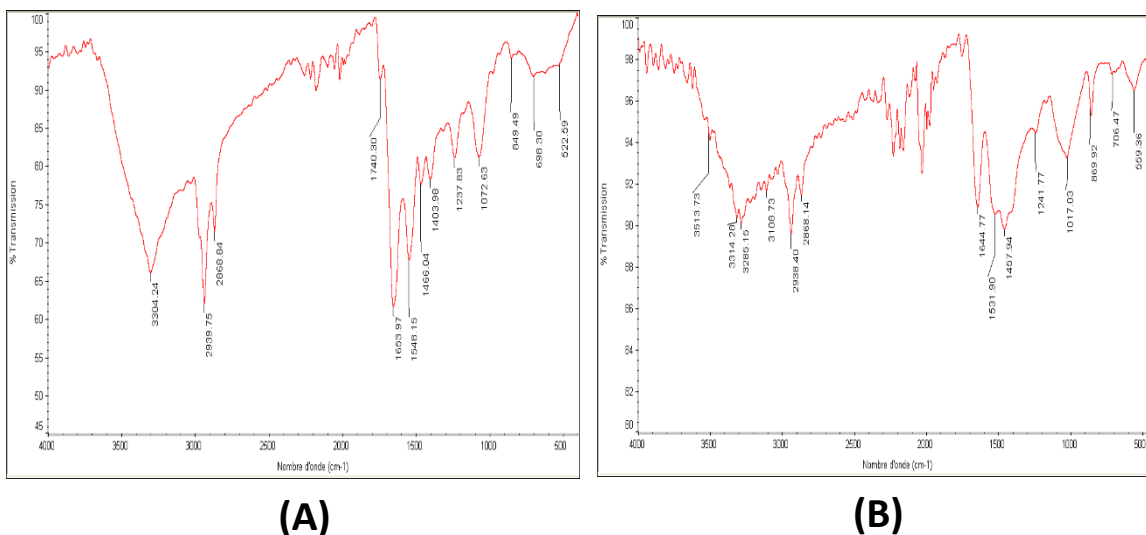


Figure (59). (A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau de la grenouille. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crâne de la grenouille.

## 🌈 Chez la foulque macroule

### ❖ Cerveau

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre du cerveau chez la foulque macroule montre l'apparition d'une bande large d'une intensité moyenne à forte localisées à  $3295,24\text{ cm}^{-1}$  qui correspond selon les tables de fréquence des vibrations de valence caractéristiques en IR à un groupement amide primaire (N-H libre), une bande fine d'une intensité moyenne à forte vers  $2937,27\text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne à faible vers  $2867,11\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes) (C-H), une absorption très faible vers  $1745.41\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique de type benzénique (C-H), une absorption fine d'une intensité moyenne à forte vers  $1640.90\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1546,68\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>) ;

Une bande d'une intensité faible vers  $1469,55\text{ cm}^{-1}$  qui peut correspondre à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes), quatre bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1405,61\text{ cm}^{-1}$  ;  $1236,45\text{ cm}^{-1}$  ;  $1067,37\text{ cm}^{-1}$  et  $980,36\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) et deux bandes d'absorption d'une intensité faible vers  $708,33\text{ cm}^{-1}$ ;  $535,19\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à une fraction inorganique. **(Figure 60 A)**

## ❖ Crane

### a. Apex

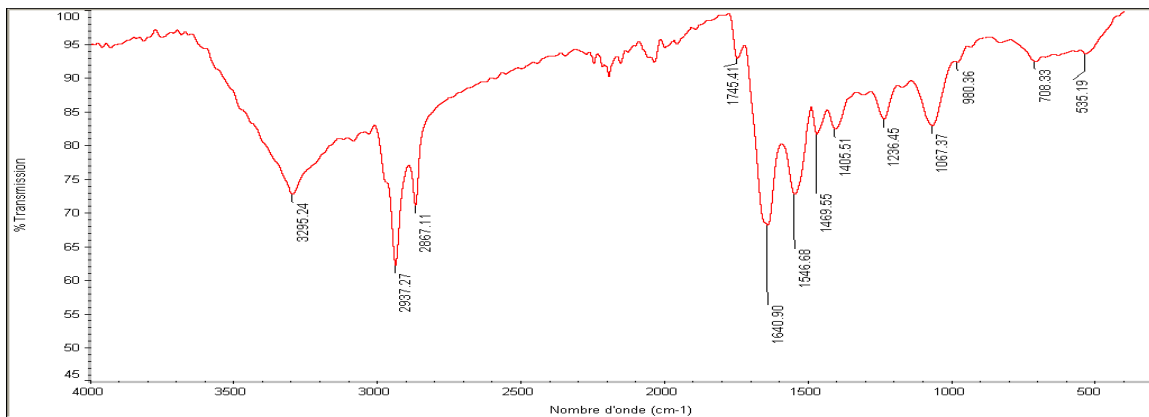
Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez la fougère macroule montre l'apparition d'une bande localisées à  $3315,44\text{ cm}^{-1}$  d'une intensité faible qui correspond à un groupement amide secondaire (N-H associé), une absorption moyenne vers  $1639,73\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1547,33\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C- $\text{NO}_2$ ), une bande large d'une intensité faible vers  $1457,94\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes), une bande moyenne localisée à  $1022,36\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine aliphatique (C-N), une absorption faible vers  $879,57\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique (1H) (=C-H), trois bandes localisées à  $606,58\text{ cm}^{-1}$  ;  $572,99\text{ cm}^{-1}$  et  $400,79\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent peut être à une fraction inorganique **(Figure 60 B)**.

### b. Base

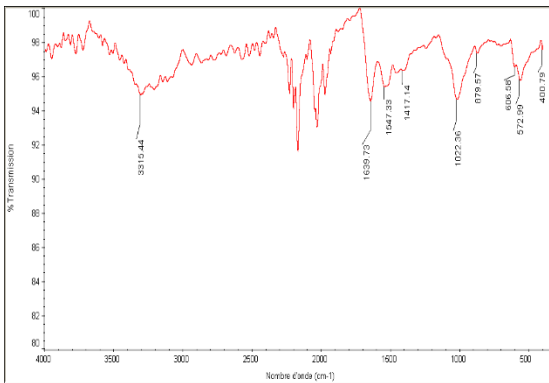
Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de la base du crane chez la fougère macroule montre l'apparition d'une bande très large localisées à  $3316,18\text{ cm}^{-1}$  d'une intensité forte qui correspond à un groupement acide carboxylique (O-H associé), une bande fine d'une intensité moyenne à forte vers  $2938,62\text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne à faible vers  $2869,24\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une bande fine et intense vers  $1651,65\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amide (C-O) ;

Une absorption d'une intensité moyenne à forte vers  $1546,79 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>), une absorption faible vers  $1462,30 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes), trois bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1401,30 \text{ cm}^{-1}$  ;  $1242,23 \text{ cm}^{-1}$  et  $1070,69 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C), une bande localisée à  $612,85 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond peut être à une fraction inorganique

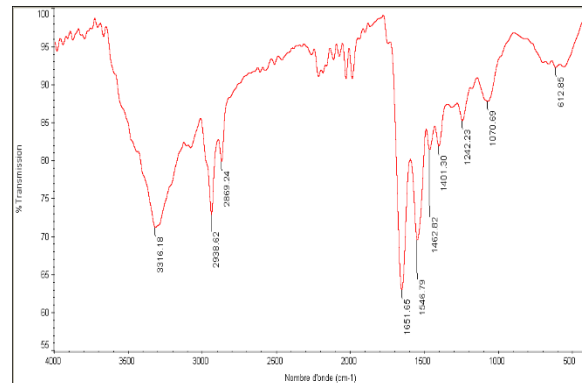
**Figure 60 C)**



**(A)**



**(B)**



**(C)**

Figure (60). **(A)** Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau de la foulque macroule. **(B)** Spectre IR obtenu avec la poudre du crâne de la foulque macroule. **(C)** Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crâne chez la foulque macroule.

## ✚ Chez le poussin

### ❖ Cerveau

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre du cerveau chez le poussin montre l'apparition d'une bande large d'une intensité moyenne localisées à  $3295,83 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond selon les tables de fréquence des vibrations de valence caractéristiques en IR à un groupement amide primaire (N-H libre), une bande fine d'une intensité moyenne à forte vers  $2936,43 \text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne à faible vers  $2866,47 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une absorption très faible vers  $1762,55 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique de type benzénique (C-H), une absorption fine d'une intensité moyenne vers  $1650,78 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1546,86 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C- $\text{NO}_2$ ), une bande d'une intensité faible vers  $1468,96 \text{ cm}^{-1}$  qui peut correspondre à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes), une absorption intensité faible vers  $1468,96 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes), trois bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1404,96 \text{ cm}^{-1}$  ;  $1235,82 \text{ cm}^{-1}$  et  $1063,68 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) et deux bandes d'absorption d'une intensité faible vers  $706,47 \text{ cm}^{-1}$ ;  $543,02 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à une fraction inorganique. **(Figure 61 A).**

### ❖ Crane

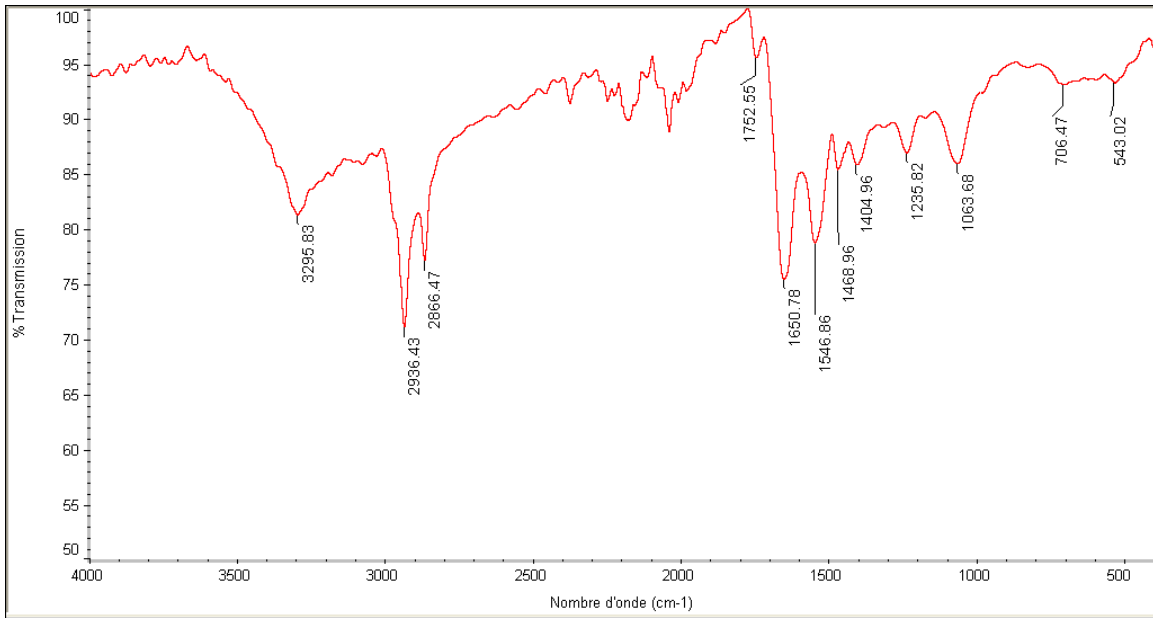
#### a. Apex

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez le poussin montre l'apparition d'une bande localisées à  $3570,94 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine secondaire (N-H), une absorption vers  $3452,44 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine (N-H), une bande localisée à  $3293,08 \text{ cm}^{-1}$  d'une intensité faible qui correspond à un groupement amide primaire (N-H libre), une absorption faible vers  $2966,17 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement alcool ou phénol (O-H) ;

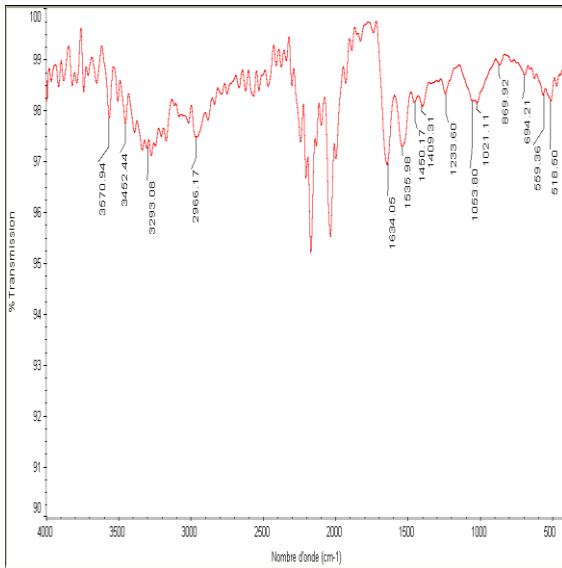
Une absorption moyenne vers  $1634,05\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1535,98\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>), une bande d'une intensité faible vers  $1450,31\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes), quatre bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1409,31\text{ cm}^{-1}$  ;  $1233,60\text{ cm}^{-1}$  ;  $1053,80\text{ cm}^{-1}$  et  $869,92\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C), trois bandes localisées à  $694,21\text{ cm}^{-1}$  ;  $559,36\text{ cm}^{-1}$  et  $518,50\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent peut être à une fraction inorganique **(Figure 61 B)**.

#### b. Base

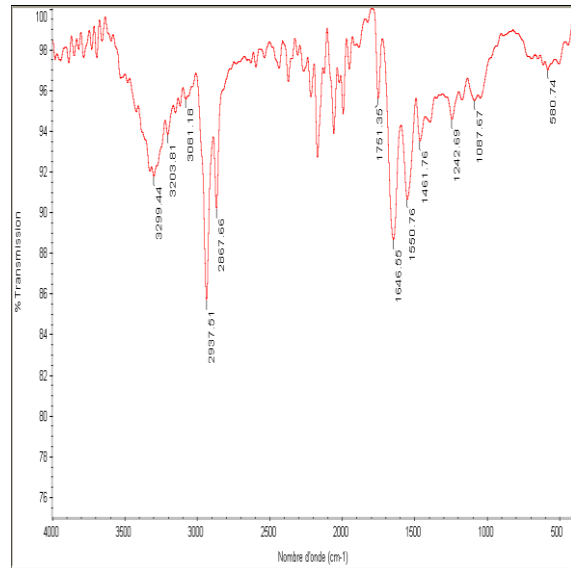
Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de la base du crane chez le poussin montre l'apparition d'une bande large localisées à  $3299,44\text{ cm}^{-1}$  d'une intensité moyenne qui correspond à un groupement amide primaire (N-H libre), une bande fine d'une intensité moyenne à forte vers  $2937,61\text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne à faible vers  $2867,66\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes) (C-H), une absorption moyenne à faible vers  $1751,35\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement alcène, une bande fine d'une intensité moyenne à forte vers  $1646,55\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1550,76\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>), une absorption faible vers  $1461,76\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes), deux bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1242,69\text{ cm}^{-1}$  et  $1087,67\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C), une bande localisée à  $580,74\text{ cm}^{-1}$  qui correspond peut être à une fraction inorganique **(Figure 61 C)**.



(A)



(B)



(C)

Figure (61). (A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau du poussin. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crâne du poussin. (C) Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crâne chez le poussin

## 🚩 Chez le lapin

### ❖ Cerveau

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre du cerveau chez le lapin montre l'apparition d'une bande large d'une intensité moyenne à forte localisées à  $3297,92 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond selon les tables de fréquence des vibrations de valence caractéristiques en IR à un groupement amide primaire (N-H libre), une bande fine d'une intensité forte vers  $2933,07 \text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne vers  $2867,70 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une absorption très faible vers  $1746,83 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique de type benzénique (C-H), une absorption fine d'une intensité moyenne à forte vers  $1657,70 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1549,81 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C- $\text{NO}_2$ ), une bande d'une intensité faible vers  $1470,63 \text{ cm}^{-1}$  qui peut correspondre à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes), six bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1407,13 \text{ cm}^{-1}$  ;  $1239,21 \text{ cm}^{-1}$  ;  $1069,08 \text{ cm}^{-1}$  et  $984,34 \text{ cm}^{-1}$  ,  $939,39 \text{ cm}^{-1}$  et  $824,97 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) et deux bandes d'absorption d'une intensité faible vers  $721,22 \text{ cm}^{-1}$ ;  $551,19 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à une fraction inorganique. **(Figure 62 A).**

### ❖ Crane

#### a. Apex

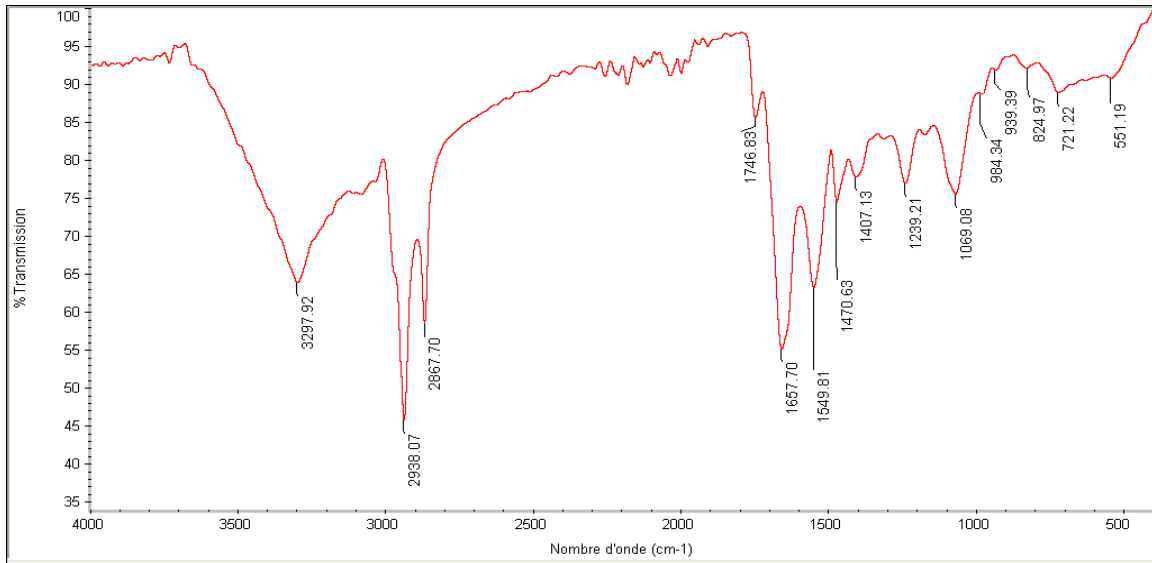
Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez le lapin montre l'apparition d'une bande large localisées à  $3299,44 \text{ cm}^{-1}$  d'une intensité moyenne qui correspond à un groupement amide primaire (N-H libre), une bande fine d'une intensité forte vers  $2937,72 \text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne vers  $2868,05 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une absorption moyenne vers  $1749,64 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique de type benzénique (C-H) ;

Une absorption moyenne vers  $1649,79\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1543,79\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>), une bande d'une intensité faible vers  $1467,82\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes), une bande moyenne localisée à  $1056,37\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine aliphatique (C-N), (**Figure 62 B**).

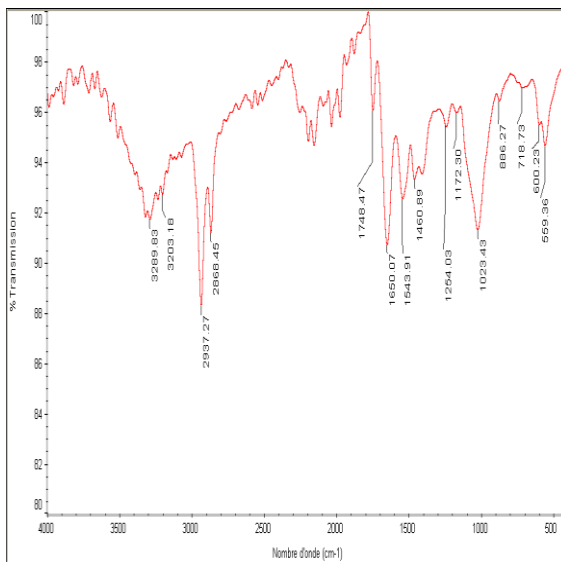
#### **b. Base**

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de la base du crane chez le lapin montre l'apparition d'une bande large localisées à  $3299,56\text{ cm}^{-1}$  d'une intensité moyenne qui correspond à un groupement amide primaire (N-H libre), une bande fine d'une intensité forte vers  $2937,79\text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne vers  $2868,05\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes) (C-H), une absorption moyenne vers  $1749.64\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement alcène, une bande fine d'une intensité moyenne vers  $1649,87\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1543,79\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>), une absorption faible vers  $1467,82\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes), deux bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1242,80\text{ cm}^{-1}$  et  $1056,37\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaine linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) (**Figure 62 C**).

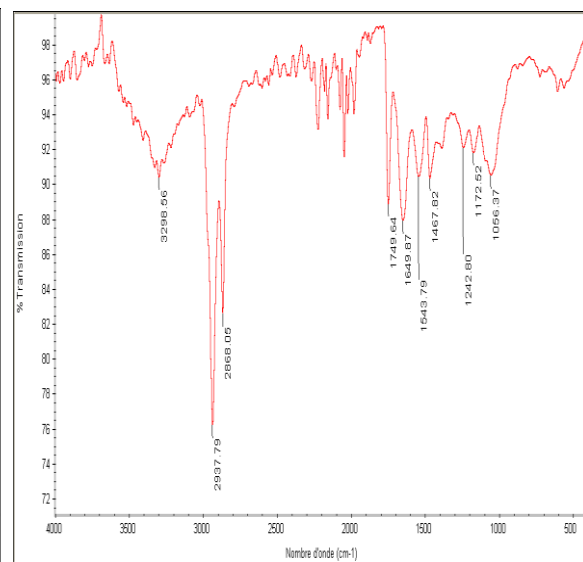




(A)



(B)



(C)

Figure (62). (A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau du lapin. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crâne du lapin. (C) Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crâne chez le lapin

## 🚩 Chez le rat

### ❖ Cerveau

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre du cerveau chez le rat montre l'apparition d'une bande large d'une intensité moyenne à forte localisées à  $3302,17 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond selon les tables de fréquence des vibrations de valence caractéristiques en IR à un groupement acide carboxylique (O-H associé), une bande fine d'une intensité forte vers  $2938,42 \text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne vers  $2867,57 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une absorption très faible vers  $1745,03 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique de type benzénique (C-H), une absorption fine d'une intensité moyenne à forte vers  $1657,87 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1549,15 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C- $\text{NO}_2$ ), une bande d'une intensité faible vers  $1470,41 \text{ cm}^{-1}$  qui peut correspondre à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes), quatre bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1405,41 \text{ cm}^{-1}$  ;  $1239,13 \text{ cm}^{-1}$  ;  $1065,22 \text{ cm}^{-1}$  et  $972,08 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) et deux bandes d'absorption d'une intensité faible vers  $704,85 \text{ cm}^{-1}$ ;  $547,11 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à une fraction inorganique. **(Figure 63 A).**

### ❖ Crane

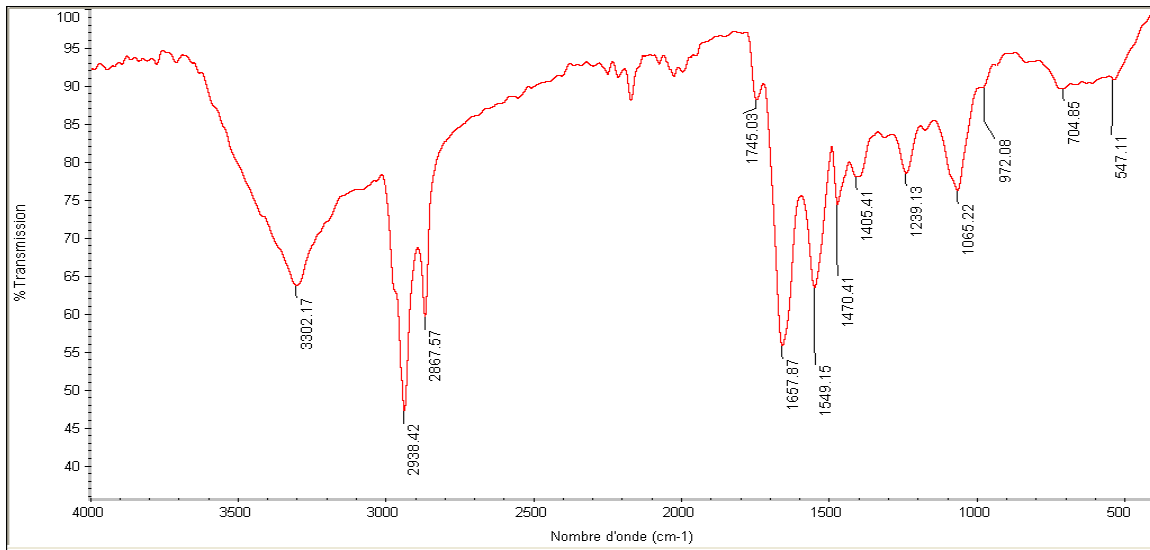
#### a. Apex

Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de l'apex du crane chez le rat montre l'apparition d'une bande large localisées à  $3276,94 \text{ cm}^{-1}$  d'une intensité moyenne qui correspond à un groupement amide secondaire (N-H associé), une bande fine d'une intensité moyenne vers  $2936,12 \text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne à faible vers  $2866,64 \text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement  $\text{CH}_2$  (alcanes) (C-H), une absorption faible vers  $1748,39 \text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement aromatique de type benzénique (C-H) ;

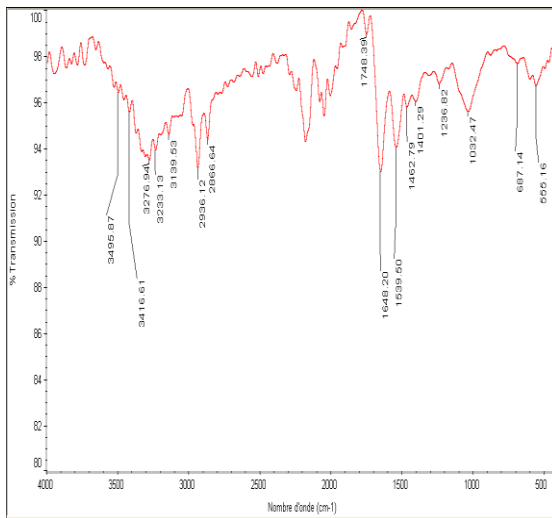
Une absorption moyenne vers  $1648,20\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1539,50\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>), une bande d'une intensité faible vers  $1462,79\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes), trois bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1401,29\text{ cm}^{-1}$ ;  $1236,82\text{ cm}^{-1}$  et  $1032,47\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) et deux bandes d'absorption d'une intensité faible vers  $687,14\text{ cm}^{-1}$ ;  $555,16\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à une fraction inorganique **(Figure 63 B)**.

#### b. Base

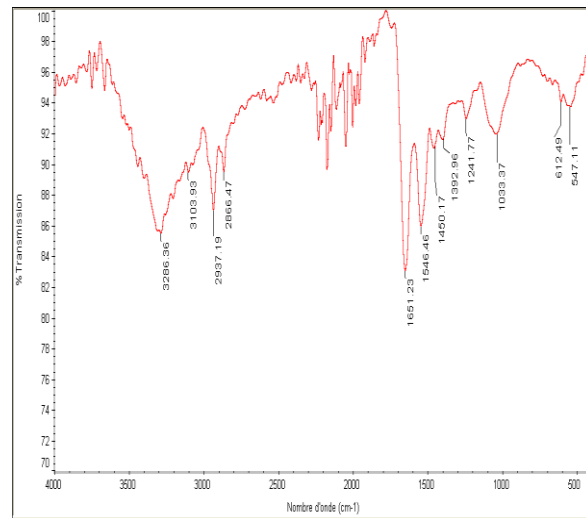
Le spectre infrarouge obtenu avec la poudre de la base du crane chez le rat montre l'apparition d'une bande large localisées à  $3286,36\text{ cm}^{-1}$  d'une intensité moyenne qui correspond à un groupement amide primaire (N-H libre), une bande fine d'une intensité moyenne vers  $2937,19\text{ cm}^{-1}$  suivie d'une bande fine d'une intensité moyenne à faible vers  $2866,47\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes) (C-H), une bande fine d'une intensité moyenne à forte vers  $1651,23\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement amine primaire (N-H), une absorption d'une intensité moyenne vers  $1546,46\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un Composé nitro aromatique (C-NO<sub>2</sub>), une absorption faible vers  $1450,17\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à un groupement CH<sub>2</sub> (alcanes), deux bandes d'absorption d'une intensité moyenne à faible vers  $1241,77\text{ cm}^{-1}$  et  $1033,37\text{ cm}^{-1}$  qui correspond à une chaîne linéaire d'un squelette carboné des alcanes (C-C) et deux bandes d'absorption d'une intensité faible vers  $612,49\text{ cm}^{-1}$ ;  $547,11\text{ cm}^{-1}$  qui correspondent à une fraction inorganique. **(Figure 63 C)**.



(A)



(B)



(C)

Figure (63). (A) Spectre IR obtenu avec la poudre du cerveau du rat. (B) Spectre IR obtenu avec la poudre du crâne du rat. (C) Spectre IR obtenu avec la poudre de la base du crâne chez le rat

**Les spectres IR obtenu avec la poudre des cerveaux et des crânes chez les quatre espèces étudiées montre la présence des composés organiques entre  $3600\text{ cm}^{-1}$  et  $800\text{ cm}^{-1}$  et probablement d'une fraction inorganique en dessous de  $700\text{ cm}^{-1}$ .**

### 3. Discussion

Le présent travail montre la présence des nanoparticules de magnétite et/ou de maghémite au niveau des cerveaux et des cranes chez toutes les espèces étudiées. De plus, nos données indiquent l'existence des nanocontaminants de types quantum dots comme le Cds et le ZnO chez la grenouille, la fougère macroule, le poussin et le rat.

Des études antérieures montrent que les animaux migrateurs pourraient orienter et naviguer par une interaction continue avec le champ magnétique terrestre (Wiltschko and Wiltschko, 2005 ; Nathaniel *et al.*, 2015). Néanmoins, la base cellulaire du sens magnétique demeure un mystère scientifique non résolu. Une théorie qui vise à expliquer comment les animaux détectent le champ magnétique est l'hypothèse de la magnétite (Lohmann, 2010 ; Nathaniel *et al.*, 2015). Deux hypothèses sont avancées (i) la première voie de magnétoréception et l'intégration sensorielle de l'information magnétique (Schulten *et al.*, 1978 ; Ritz *et al.*, 2010 ; Nathaniel *et al.*, 2015), Des réactions chimiques magnéto-sensible liés à la cryptochrome sensible à la lumière bleue (Ritz *et al.*, 2000 ; Gegear *et al.*, 2008 ; Niebner *et al.*, 2013). (ii) La deuxième hypothèse connu sous le nom de l'hypothèse de la magnétite, soutient que la magnétite (Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>) est couplée à un canal ionique mécanosensible. Une force appliquée par la magnétite sur le canal en raison d'influences magnétiques entraînerait ainsi une modification du potentiel de la membrane et de l'activation neuronale subséquente (Kirschvink *et al.*, 2001 ; Cadiou and McNaughton, 2010) Chez les oiseaux, une boussole dépendant de la lumière a été associée à la rétine et à une région du tégument aviaire connue sous le nom de groupe N (Mouritsen *et al.* 2004 ; Zapka *et al.* 2009). En revanche, l'hypothèse de la magnétite a été associée à la branche ophtalmique du nerf trijumeau et plus récemment au système vestibulaire (Kirschvink and Gould, 1981 ; Mora *et al.*, 2004 ; Winklhofer and Kirschvink, 2010 ; Wu and Dickman , 2011).

Nos résultats de DRX obtenus à partir des poudres des différents cerveaux et crânes chez la grenouille, la fougère macroule, le poussin, le rat et le lapin montrent clairement l'existence de nanoparticules minérales de type magnétite et/ou maghémite. Cependant, [Walker et al., \(1997\)](#) ont pu détecter des unités magnétiquement répondantes dans les enregistrements électrophysiologiques de la branche ophtalmique superficielle (rosV) du nerf trijumeau de la truite arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*) et retrouver l'origine de certaines de ces unités dans l'épithélium olfactif. Les cellules magnétoréceptrices candidates dans l'épithélium sensoriel olfactif ont été suggérées pour contenir des inclusions cristallines riches en fer ([Walker et al., 1997](#)) remarquables avec des propriétés magnétiques compatibles avec la magnétite ([Diebel et al., 2000](#)). De même, les résultats de [Ritz et al. 2004](#); [Thalau et al., 2005](#); [Wiltschko et al. 2005](#) ont suggéré que les oiseaux migrateurs utilisaient des récepteurs à base de magnétite ainsi que des mécanismes de paires radicales. Par conséquent, le mécanisme à base de magnétite fournissait aux oiseaux des informations magnétiques qui ont été interprétées à l'aide de la «carte» de navigation basée sur l'expérience pour indiquer la position, tandis que les processus de paires radicales fournissaient des informations directionnelles pour la boussole magnétique innée ([Munro et al., 1997](#), [Wiltschko and Wiltschko 2005](#); [Wiltschko and Wiltschko 2006](#)). Ceci était en accord avec les études électrophysiologiques, où des unités dans le système trigéminal qui innervent la région, où la magnétite est située dans les oiseaux ([Bason and Brennon 1986](#); [Hanzlik et al., 2000](#); [Williams and Wild 2001](#); [Fleissner et al., 2003](#)), ont répondu aux changements d'intensité magnétique ([Semm and Beason 1990](#)). Les terminaux dendritiques afférents contiennent des grappes de nanocristaux de magnétite (granulométrie comprise entre 2 et 5 nm). Les grappes sont disposées dans des groupes de 10-20 grappes dans une configuration en chaîne le long de la membrane non myélinisée de la borne ([Fleissner et al., 2003](#)). La taille moyenne des grappes est de 1 nm ([Davila et al., 2003](#)). Les unités dans certaines parties du système visuel (tectum opticum) ont répondu aux changements de direction magnétique ([Semm et al., 1984](#); [Semm and Demaine, 1986](#)).

De plus, plusieurs groupes ont tenté d'identifier les cellules sensorielles primaires associées à un magnétorécepteur à base d'oxyde de fer (Presti and Pettigrew, 1980 ; Treiber *et al.*, 2012 ; Nathaniel *et al.*, 2015). La plupart ont utilisé la réaction Prussian Blue qui étiquette le fer ferrique. Cependant, cette méthode est d'utilité limitée car elle tache toutes les cellules riches en fer. Cela a conduit à la confusion des macrophages riches en fer avec un système de détection magnétique conservé dans le bec supérieur des oiseaux (Fleissner *et al.*, 2003 ; Treiber *et al.*, 2012). Une autre approche pour identifier les magnétorécepteurs putatifs à base de magnétite est d'exploiter les propriétés magnétiques innées de ces cellules. Une telle approche a récemment été adoptée par Eder *et al.*, (2012), qui a utilisé un champ magnétique artificiel pour identifier les cellules magnétiques dans la rosette olfactive de la truite. Leur système a utilisé deux paires de bobines de Helmholtz pour produire un champ magnétique rotatif fort (2 mT). Le dépistage des cellules en suspension a entraîné l'identification d'un petit nombre de cellules (1-4 sur 10 000 cellules) qui ont tourné à une fréquence correspondant au champ appliqué à l'extérieur. La mesure de leur fréquence limite (la vitesse à laquelle une cellule tournante ne peut plus tourner en synchronisme avec le champ externe) a permis d'estimer le moment magnétique. Ces moments, qui variaient de 4 à 100  $\text{m}^2$ , dépassaient largement les estimations précédentes (Diebel *et al.*, 2000). En utilisant de la lumière et de la microscopie électronique ponctuelles à une seule cellule (CLEM) couplé à la spectroscopie de perte d'énergie électronique (EELS) et à la microscopie électronique à transmission filtrée par énergie (EFTEM) et le marqueur de membrane FM1-43, ils ont pu identifier des particules de fer de 1 à 2  $\mu\text{m}$  proches de la membrane cellulaire, ce qui, selon eux, étaient constitués de cristaux de magnétite à un seul domaine. L'application du CLEM à une seule cellule aux cellules magnétiques de la truite n'a pas permis d'identifier des structures intracellulaires compatibles avec la magnétite biogène (Nathaniel *et al.*, 2015). Cependant, Notre travail illustre une nouvelle méthode pour tester et confirmer l'hypothèse de l'existence de la magnétite et de la maghémite ce qui plaide en faveur de l'existence d'une boussole biologique.

#### 4. Conclusion

La présente étude a confirmé pour la première fois, à notre connaissance, la présence de nanoparticules de magnétite et/ou de maghémite impliqué dans la navigation et l'orientation des espèces animales au niveau des cerveaux et des cranes chez la grenouille, la foulque macroule, le poussin, le rat et le lapin. Ainsi, nos résultats plaident en faveur de la présence des nanocontaminants de type quantum dots comme le CdS et le ZnO.



# **DISCUSSION GENERALE**

---

---

## Discussion Générale

Les capacités incroyables du cerveau sont assurées par un réseau de communication extrêmement complexe qui interconnecte des milliards de neurones. La transmission électrique et/ou chimique est d'une importance majeure dans la fonction des cellules nerveuses, jouant un rôle fondamental dans le traitement des signaux et des informations. La génération de potentiel électrique à travers la membrane cellulaire est provoquée et contrôlée par le flux d'ions spécifiques à travers des canaux implantés dans la membrane. La température affecte la vitesse de conduction et l'amplitude du potentiel électrique, tant sur le site d'enregistrement que généralement le long du nerf (Hopf and Maurer, 1990).

La résistance au froid de la grenouille dépend peut-être de l'état d'activité du système nerveux dans divers tissus à basse température. Dans un environnement froid, des périodes de perte de chaleur intense se produisent dans tous les tissus du corps. C'est pourquoi les animaux doivent développer un mécanisme de gestion de l'énergie (Abdelmelek *et al.*, 2004). La transduction du signal dans le système nerveux est profondément sensible à la température. L'acclimatation de la fonction nerveuse à la variation de la température ambiante a fait l'objet de nombreuses recherches (Prosser and Nelson, 1981; Hopf and Maurer, 1990 ; Abdelmelek *et al.*, 2003a;). Cependant, les mécanismes de la propagation des impulsions électriques à basse température ne sont pas bien compris. La durée et la propagation du potentiel d'action sont fortement influencées par des changements de température aigus (Hodgkin and Katz, 1949), principalement en raison de la sensibilité des canaux ioniques sous-jacents à la température (Hodgkin *et al.*, 1952). De plus, des éléments de preuve indirectes suggèrent que l'effet tunnel peut se produire à travers les jonctions entre micro régions dans les systèmes vivants (Abdelmelek *et al.*, 2003a). Il a été proposé que le comportement électrique du système nerveux aurait aussi des similitudes avec la supraconductivité électrique (Del Giudice *et al.*, 1973 ; Abdelmelek *et al.*, 2003a)

Au cours des dernières années, plusieurs études de la conductivité électrique dans le nerf sciatique ont montré l'existence d'un comportement de type supraconducteur ([Hopf and Maurer, 1990](#) ; [Abdelmelek et al., 2003a](#)).

➤ L'objectif de cette étude était principalement d'étudier la variation de la résistivité des nerfs sciatiques chez différentes espèces en fonction de la température ambiante. De plus, étudier l'implication de la gaine de myéline dans ce mécanisme. Ainsi la recherche des nanostructures dans la tête (SN et crane).

Nous avons analysé la résistivité électrique des nerfs sciatiques à différentes températures entre 200°k et 300°K chez les poïkilothermes ; (la grenouille et le caméléon) et les endothermes : (le poussin et le lapin). Les résultats témoignent de la présence des changements adaptatifs des nerfs au cours de l'évolution confirmée par l'augmentation du nombre de cellules de Schwann. Le comportement électrique a été divisé en deux groupes : le premier groupe avec  $T_c$  inférieur à 260 K (grenouille et caméléon) et le deuxième groupe supérieur à 260 K (oiseau et lapin). L'évolution a provoqué un déplacement des  $T_c$  basses (supraconducteur froid : grenouille/caméléon) en direction des  $T_c$  hautes (supraconducteur chaud : poussin/lapin). Cette translation pouvait expliquer l'amélioration de traitement de l'information.

Nos résultats portent dans la continuation des travaux de [Abdelmelek et al, 2003a; 2003c; Mbainabeye et al, 2012](#).

La différence entre les endotherme (oiseau et lapin,  $T_{Conset}$ : 300° K) et les poïkilotherm (grenouille et caméléon,  $T_{Conset}$ : 250°K) peut être expliqué en utilisant  $\Delta T$  comme marqueur de l'hétérogénéité pour mieux comprendre les changements fondamentaux anatomiques et fonctionnels des nerfs liées au développement de la fonction métabolique et au développement de la myéline ([Abdelmelek et al., 2003a](#)). L'évolution des espèces a augmenté le  $\Delta T$  des poïkilothermes ( $\Delta T$ : 11,50K) par rapport aux homéothermes ( $\Delta T$ : 38,00K), montrant une augmentation de la complexité des structures nerveuses qui leur permettant de travailler comme

un supraconducteur à haute température. Ainsi, Le calcul du rapport  $\Delta T$  endotherme /  $\Delta T$  poïkilotherme donne une valeur de 3,30 probablement liée aux trois étapes les plus importantes de l'évolution des espèces animales et de la régulation du métabolisme de sorte que  $3,30/3 = 1,10$  (poïkilothermes (1,10), hibernants (1,10) et homéothermes (1,10)).

Si on suppose l'existence d'un comportement supraconducteur dans les nerfs, il y a de plus en plus des preuves pour attribuer cette supraconductivité à la gaine de myéline. Il est important de mentionner l'existence de nombreuses études portant sur la relation entre la structure de la matière vivante et ses propriétés électrique en tant que supraconducteur ([Fink and Schönenberger, 1973](#); [Hopf and Maurer, 1990](#); [Abdelmelek et al., 2003a](#) ; [2003c](#)). Le mécanisme de la supraconductivité présente plusieurs similitudes avec la conduction saltatoire. Les fibres nerveuses conduisent les impulsions nerveuses très rapidement parce que la gaine de la myéline présente les nœuds de Ranvier, ce qui permet à l'impulsion nerveuse de passer d'un nœud à un autre et de voyager plus rapidement ce qui crée un mode de conduction saltatoire ([Abdelmelek et al., 2003a](#)).

De plus, la myéline accélère la conduction des impulsions nerveuses d'un facteur de dix ou plus par rapport aux fibres non-myélinisées de même diamètre. Cela augmente la capacité de traitement de l'information nerveuse ce qui augmente la précision temporelle, synchronise plus étroitement les cibles spatialement distribuées et prévient des retards plus courts dans les boucles de rétroaction ([Hartline and Colman, 2007](#)).

Dans la présente investigation, les études histologiques ont montré une augmentation du nombre de cellules de Schwann au cours de l'évolution, comme le montre les figures 40 (a, b, c, d) et la figure 41; indiquant une corrélation entre la quantité de myéline et l'amélioration des propriétés électriques des nerfs à basse température chez les quatre espèces étudiées. Nos résultats confirment les travaux de [Adam et Friede \(1988\)](#), [Martin et al., \(2008\)](#), qui ont constaté que l'épaisseur relative des gaines de myéline est corrélée avec l'évolution des espèces. Nos données démontrent que la distance entre les cellules de Schwann

(a-b, b-c) est plus élevée chez les poïkilothermes qui pourraient s'expliquer par la faible quantité de myéline et du repliement de cette gaine. De plus, le changement de gradient du comportement supraconducteur-like dans le système nerveux, des poïkilotherme aux homéothermes, est corrélé au degré de myélinisation (Abdelmelek *et al*, 2003a).

Une transmission rapide et efficace du potentiel d'action portant des neuro-signaux dépend de la gaine de myéline (Jessen and Mirsky, 2005; Rasband, 2011). Cependant, la réduction de la myéline dans l'axone des nerfs périphériques entraîne une réduction de la vitesse de conduction nerveuse (Das *et al.*, 2016).

Le 2ème volet de la thèse évalue l'implication du fer dans le mécanisme de la myélinisation et son impact sur les propriétés électriques des nerfs à basse température.

La présente étude indique que la destruction de la gaine de myéline par la pose de ligature (2h, 24h et 72h) des nerfs sciatiques de la grenouille provoque une dégénérescence proportionnelle de la gaine de myéline. En revanche, l'administration du fer (dans le sac lymphatique) réduit la dégénérescence des gaines de myéline classiquement observées après la pose de ligature. Ainsi, nos données indiquent que le fer empêche le processus dégénératif et / ou contribue probablement à la récupération nerveuse. Cela montre le rôle important du fer dans la maintenance et la formation de myéline, Nos résultats sont en concordance avec des travaux antérieurs (Beard *et al.*, 1993 ; Thompson *et al.*, 2001; Crichton *et al.*, 2011; Levi et Taveggia, 2014)

D'autres investigations ont montré que le fer est un cofacteur nécessaire dans la synthèse de la myéline et pour un certain nombre d'enzymes clés de la biosynthèse des neurotransmetteurs dans le cerveau (Beard *et al.*, 1993; Thompson *et al.*, 2001; Crichton, 2008; Levi and Taveggia, 2014). De plus, Lozoff *et al.*, 2006; Todorich *et al.*, 2009 ont montré que la diminution de la disponibilité du fer dans le régime alimentaire est associée à l'hypomyélinisation. Nos expériences basées sur l'histologie du nerf sciatique ligaturé de la grenouille

indiquent que le taux de cellules de Schwann a diminué après 2 heures, 24 heures et 72 heures; révélant un processus dégénératif proportionnel à la durée de la pose de ligature. Nous notons qu'après la ligature du nerf sciatique de la grenouille, des dommages de la myéline et une perturbation de la cytoarchitecture se sont produits dans les nerfs. Par ailleurs, nous avons observé une distribution typique non randomisée de la démyélinisation secondaire. Pourtant, en fonction de la nature et de la gravité de l'impact initial de la ligature sur le nerf sciatique de la grenouille, la réponse réparatrice endogène et neurophysiologique est substantielle après 72h.

L'objectif de la présente étude était de montrer que la restauration nerveuse peut être favorisée après un traitement à base de fer qui fournit une continuité structurale tridimensionnelle sur le site ligaturé du nerf sciatique. Dans la présente étude, nous avons cherché à déterminer les premiers changements qui se produisent après la pose de ligatures (2h) et plus tard après 24h ou 72h. La récupération physiologique a été observée après 72h de ligature. En revanche, la récupération thérapeutique a été observée plus tôt. Ainsi, le fer peut faciliter la récupération du nerf sciatique entre deux heures et trois jours après la ligature.

Nous suggérons que le traitement avec le fer régénère les gaines de myéline. Cette constatation pourrait s'expliquer par les effets bénéfiques du fer sur l'action de certains facteurs neurotrophiques comme la neurotrophine-4 (NT-4) et le facteur de croissance de fibroblastes basique (bFGF) qui servent dans la neuroprotection ([Lobner et Ali, 2002](#)). De même, Graeber et al., (1989) ont montré une augmentation des récepteurs de la transferrine dans la régénération des neurones moteurs et que ce phénomène est fonctionnel avec une prise élevée de fer exogène. En plus, des études *in vivo* et *in vitro* ont montré que la neurotrophine (NT) influence la prolifération, la différenciation, la survie et la régénération des oligodendrocytes matures et des précurseurs oligodendriaux en faveur de la réparation de la myéline ([Althaus, 2004](#)).

Une autre régénération thérapeutique peut être la conséquence de nombreuses modalités et de différentes stratégies telles que l'administration de facteurs neurotrophiques comme BDNF, NGF; GDNF; NT 3 et 4 (Huang et Huang, 2006; Yanru *et al.*, 2014; Ziv-Polat *et al.*, 2014). Certaines stratégies pour favoriser la régénération des axones à travers les nœuds des nerfs ont inclus la modification de l'environnement de l'espace en augmentant la matrice (Williams et Varon, 1985; Madison *et al.*, 1987), en ajoutant des cellules de Schwann (Williams *et al.*, 1984 ; Shine *et al.*, 1985), administrant des facteurs favorisant la croissance (Rich *et al.*, 1989). Promouvoir la régénération en stimulant le deuxième système de messagerie AMP cyclique (Roisen *et al.*, 1972).

Enfin, nous avons évoqué la possibilité que l'élévation de la concentration du fer dans le nerf périphérique dégénéré, en particulier le nerf sciatique de la grenouille, peut avoir un impact positif sur la régénération.

Le fer pourrait avoir des rôles neurophysiologiques mais aussi dans l'orientation des espèces migrateurs et d'autres espèces animales.

Des structures riches en fer ont été décrites dans le bec des pigeons domestiques, des poulets et de plusieurs espèces d'oiseaux migrateurs. Bien que les nanoparticules de fer de magnétite et de maghémite possèdent des propriétés magnétiques exceptionnelles et pourrait influencer le sens d'orientation des espèces animales.

De ce fait le troisième chapitre de notre étude porte dans un premier lieu sur la recherche de nanoparticules de magnétite et de maghémite au niveau du cerveau et du crane de plusieurs espèces animales (la grenouille, la foulque macroule, le poussin, le rat et le lapin) afin de confirmer l'hypothèse de magnétoréception. Ainsi, la recherche de nanocontaminants inorganiques.

Dans notre investigation, l'analyse des poudres obtenus à partir des cerveaux et des crânes de cinq espèces (la grenouille, la foulque macroule, le poussin, le rat et le lapin) par DRX montre clairement l'existence de nanoparticules de magnétite et de maghémite. De plus, nos résultats plaident en faveur de la présence de nanocontaminants (CdS et du ZnO).

Yorke (1979, 1981), inspiré par l'aiguille de la boussole, a été le premier à suggérer la magnétoréception des oiseaux sur la base de chaînes de cristaux ferromagnétiques. Une substance ferromagnétique biogénique, la magnétite, un oxyde de fer spécifique  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  a été retrouvée dans une variété d'organismes allant des bactéries aux arthropodes (Kirschvink *et al.*, 1985 ; Lowenstam, 1962). En fonction de la taille, les particules de magnétite ont des propriétés magnétiques différentes : celles de plus de 1  $\mu\text{m}$  sont multidomaines avec une faible aimantation nette, alors que les cristaux de moins de 1  $\mu\text{m}$  sont principalement des domaines individuels portant un moment magnétique stable. Les plus petits avec des tailles inférieures à 0,05  $\mu\text{m}$  sont superparamagnétiques; Ils manquent d'un moment magnétique stable, mais leurs moments peuvent être alignés par un champ magnétique externe (Kirschvink, 1989). Kirschvink and Gould (1981) a considéré théoriquement un certain nombre de façons dont les récepteurs à base de cristaux de magnétite pourraient fonctionner et plusieurs modèles concurrents sur le mode fonctionnel des récepteurs ont été transmis et discuté puisque, certains basés sur des domaines uniques, d'autres sur des particules superparamagnétiques et même d'autres étaient des modèles hybrides basés sur les deux (Kirschvink and Walker, 1985; Edmonds, 1992; Shcherbakov and Winklhofer, 1999; Davila *et al.*, 2003, 2005; Fleissner *et al.*, 2007; Solov'yov and Greiner, 2007; Walker, 2008).

La magnétite biogène a également été trouvée chez les oiseaux. Sur la base des mesures de rémanence, Beason and Nichols (1984) et Beason and Brennon (1986) ont identifié des particules magnétiques dans la région ethmoïde, associées à la branche ophtalmique du nerf trijumeau. Les particules riches en fer dans cette zone, en particulier dans la cavité nasale, ont également été indiquées



par des études histologiques (Beason and Nichols, 1984, Williams and Wild, 2001) et supposées être des particules de magnétite isolées. Hanzlik *et al.*, (2000) et Winklhofer *et al.*, (2001) ont rapporté des structures contenant de très petites particules riches en fer à un endroit spécifique dans la peau muqueuse aux bords intérieurs du bec supérieur, qui ont été identifiés comme de la magnétite superparamagnétique par des méthodes cristallographiques et magnétophométriques (Tian *et al.*, 2007). Des études histologiques ultérieures ont révélé qu'elles sont associées à une série de plaquettes riches en fer, toutes intégrées dans les terminaux sensoriels du nerf ophtalmique (Fleissner *et al.*, 2003, 2007). Ces structures ont d'abord été décrites chez les pigeons, mais des structures correspondantes ont également été trouvées chez les poulets domestiques et deux espèces passerelles, le Robin européen, *Erithacus rubecula* et la paruline du jardin, *Sylvia borin* (Fleissner *et al.*, 2007; Stahl *et al.*, 2007), De sorte qu'ils semblent être une caractéristique commune de tous les oiseaux.

Les études comportementales soutiennent l'implication de la magnétite et le système trigéminique dans la magnétoréception, mais montrent clairement que la boussole d'inclinaison normalement utilisée par les oiseaux représente un système distinct. Cependant, si cette boussole est perturbée par certaines conditions de lumière, les oiseaux migrateurs montrent des réponses «à direction fixe» au champ magnétique, qui proviennent des récepteurs dans le bec. Ensemble, ces résultats soulignent qu'il existe des magnéto-récepteurs à base de magnétite situés dans le bec supérieur près de la peau. Leur fonction naturelle semble enregistrer l'intensité magnétique et constituer ainsi une composante de la «carte de navigation» multi-factorielle des oiseaux (Wiltschko and Wiltschko, 2013).

Les résultats DRX montrent clairement la présence de la magnétite et /ou la maghémite ce qui n'implique pas le fonctionnement de la boussole mais l'existence des éléments constituant ladite boussole biologique. Pour cela, des études éthologiques sont nécessaires pour montrer l'interaction du champ magnétique terrestre (CMT) avec les nanoparticules inorganiques de type magnétite ou maghémite. Par ailleurs, la présente méthodologie montre clairement la présence de nanocontaminants chez les animaux.

# CONCLUSION & PERSPECTIVES

---

*Synthèse des résultats*

---

## Conclusion et perspectives

L'objectif de ce travail était d'étudier les propriétés électriques des réseaux nerveux à basse température au cours de l'évolution notamment chez les poïkilothermes et les endothermes. L'explication de l'amélioration des propriétés électriques des nerfs à basse température (supraconduction) repose sur l'évaluation de la quantité et de la qualité de la gaine de myéline par le dénombrement des cellules de Schwann et l'implication du fer dans ce processus.

Par ailleurs, une recherche Par la DRX a permis de démontrer la présence de nanoparticules de magnétite et de maghémite au niveau de la tête (cerveau, crane) des espèces étudiées.

La présente méthodologie a pu révéler la présence de nano contaminants au niveau de la tête (CdS, ZnO), des études plus poussées sont nécessaires pour la compréhension des modalités de la contamination

Comme perspectives nous proposons :

- D'élaborer une classification du règne animal par analogie avec la classification périodique de Mendeleïev qui repose sur la Tc du comportement supraconducteur.
- D'étudier l'impact des changements du champ magnétique terrestre sur la magnétite (boussole biologique) dans le système nerveux des espèces animales.
- D'étudier la disposition des particules de magnétite dans le tissu et la nature de la connexion dans le système nerveux et développer un modèle physique sur les effets d'une impulsion magnétique sur le sens magnétique au niveau cellulaire.
- D'étudier l'interaction entre le changement climatique et le comportement supraconducteur du système nerveux des différentes espèces animales.

CMT : Champ Magnétique Terrestre

SN : Système Nerveux

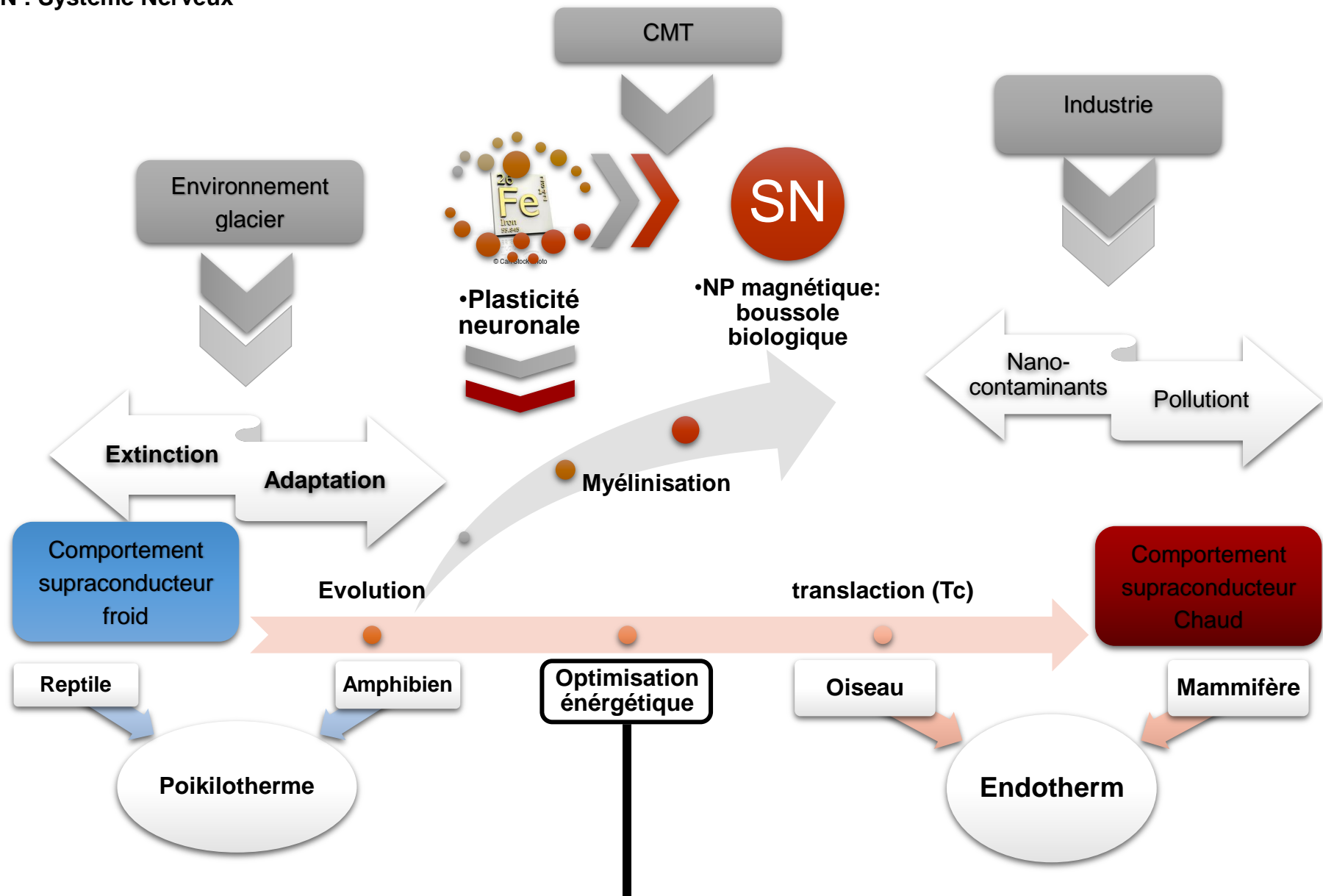


Figure (64). Schéma de synthèse : Etude des propriétés électriques des nerfs à basse température et la recherche des nanostructures dans la tête (Cerveau & crane) chez les espèces animales (© Azzouz, 2017)

# **REFERENCES**

# **BIBLIOGRAPHIQUES**

---

---

- Abdelmelek H, Chater S, Sakly M. (2001) Acute exposure to magnetic field depresses shivering thermogenesis in rat. *J. Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering*, 46: 164-166.
- Abdelmelek H, Cottet-Emard JM, Pequignot JM, Barré H. (2003b). Sciatic nerve monoaminergic system responses to cold acclimatization in Muscovy duckling. *J Neural Transm* 110:1359-67.
- Abdelmelek H, Cottet-Emard JM, Pequignot JM, Barré H. (2000). Changes with age in spinal cord monoaminergic system responses to cold acclimatization. *J. Neural. Transm.* 107: 1175-1185.
- Abdelmelek H, M. Ben Salem, M. Sakly and M. Pitkänen. (2004). Electrical Superconductor-like behaviour through nerves. *Neurocomputing (soumis)*
- Abdelmelek H, M'Chirgui A, Ben Salem M, Sakly M. (2003a). Impact of evolution on the electrical properties of sciatic nerves: Superconductivity-like. *Physical and Chemical News (in press)*.
- Abdelmelek, H, El-May Ben Hamouda A, Ben Salem M, Pequignot JM, Sakly M. (2003c). Electrical conduction through nerve and DNA. *Chinese Journal of Physiology* 46: 1-8.
- Abdelmelek, H., Amara S., M'Chirgui, A., Ben Salem, M and Sakly, M. (2002). Effects of acute exposure to magnetic field on sciatic nerve electrical properties: Biosuperconductivity. *Biomag* 2002: 1109-1115.
- Adam and Friede RL. (1988). The number of frog sciatic axons increases continually during body growth; *Anatomy and Embryology*. 178: 537-541.
- Ahamed M, Posgai R, Gorey TJ, Nielsen M, Hussain SM, Rowe JJ. (2010). Silver nanoparticles induced heat shock protein 70, oxidative stress and apoptosis in *Drosophila melanogaster*. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 242:263–269.
- Ahmed S, Malik S, Azeem MA, Noushad S. (2012). Sciatic nerve conduction velocity and locomotory patterns in frog, uromastix and rabbit. *The Journal of Animal and Plant Sciences*, 22: 878-883.
- Aillon KL, Xie Y, El-Gendy N, Berkland CJ, Laird Forrest M. (2009). Effects of nanomaterial physicochemical properties on in vivo toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 61: 457-466.
- Alexis F, Pridgen EM, Langer R, Farokhzad OC. (2010). Nanoparticle technologies for cancer therapy. *Handbook of experimental pharmacology*.;(197):55–86.

- Althaus H H. (2004). Remyelination in multiple sclerosis: a new role for neutrophins Prog Brain Res. 146:415-32.
- Alyautdin, R.N., Tezikov, E.B., Ramge, P., Kharkevich, D.A., Belgy, D.J, Kreuter, j. (1998). Significant entry of tubocurarine into the brain of rats by adsorption to polysorbate 80-coated polybutylcyanoacrylate nanoparticles: an in situ brain perfusion study. J. Microencapsul; 15 67-74.
- Anshup A, Venkataraman JS, Subramaniam C, Kumar RR, Priya S, Kumar TRS, Omkumar RV, John A, Pradeep T. (2005). Growth of gold nanoparticles in human cells. Langmuir. 21(25):11562–11567.
- Aurélia N. (2014). Mécanisme de résistance à la chimiothérapie dans les gliomes de haut grade de l'enfant : Implication des systèmes de répartition de l'ADN et de l'hypoxie intra-tumorale. Thèse de doctorat, Université de Strasbourg
- Baba M, Fowler CJ, Jacobs JM, Gilliatt RW. (1982). Changes in peripheral nerve fibres distal to a constriction. J Neural Sci 54: 197-208.
- Baba M, Gilliatt R W, Jacob J M. (1983). Recovery of distal changes after constriction by a ligature. J Neurol Sci Aug; 60(2):233-46.
- Banasr S, Sbai O, Ould-Yahoui A, Gueye Y, Sakly M, Abdelmelek H. (2010). Ligation induced Matrix-Metalloproteinase-9 activity in frog peripheral nervous system Archives Italiennes de Biologie, 148: 397-403.
- Banik, N. L., Gohil, K. and Davison, A. N. (1976). The action of Snake Venom, Phospholipase A and Trypsin on Purified Myelin in vitro. Biochem. J. 159, 273–277.
- Barhoumi I. (2014). Étude des risques toxicologique et écotoxicologique des nanoparticules superparamagnétique (NSPM) : utilisation de trois nspm. Thèse de doctorat, université de Carthage, Tunisie.
- Barton RA and Harvey PH Mosaic evolution of brain structure in mammals. (2000). Nature 405: 1055-1058.
- Beard JL, Connor JR, and Jones BC. (1993). Iron in the brain. Nutr Rev 51: 157–170.
- Beason, R. C. & Brennon, W. J. (1986). Natural and induced magnetization in the bobolink, (*Dolichonyx oryzivorus*). Ethology 91, 75–80.
- Beason, R. C. and Nichols, J. E. (1984). Magnetic orientation and magnetically sensitive material in a transequatorial migratory bird. Nature 309, 151–153. (doi:10.1038/309151a0)



- Berg, B. V. D. et al. Guillain-Barre. (2014). syndrome: pathogenesis, diagnosis, treatment and prognosis. *Nat. Rev. Neurol.* 10, 469–482.
- Berlet, H.H., Bischoff, H., Weinhardt, F. (1994). Divalent metals of myelin and their differential binding by myelin basic protein of bovine central nervous system. *Neurosci. Lett.* 179, 75–78
- Biju V, Mundayoor S, Omkumar RV, Anas A, Ishikawa M. (2010). Bioconjugated quantum dots for cancer research: Present status, prospects and remaining issues. *Biotechnology Advances.* 28:199–213.
- Blot S. (1991). Electrodiagnostic des maladies neuromusculaires. *Point Vét.* 23, 585595
- Bourbonnais G. *Systeme Nerveux : Communication Nerveuse. Neurophysiologie.* université de Laval, Canada <http://www.jpboiseret.eu/biologie/index.php/systeme/systeme-nerveux/27-communication-nerveuse>
- Brannon-Peppas L and Blanchette JO. (2004). Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy. *Adv Drug Deliv Rev.* (11):1649-59.
- Bruchez MP. (2005). Turning all the lights on: quantum dots in cellular assays. *Curr Opin Chem Biol.* 9:533–537.
- Bulte JW, Douglas T, Witwer B, Zhang SC, Strable E, Lewis BK, et al. (2001). Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and in vivo tracking of stem cells. *Nat Biotechnol*; 19: 1141\_7.
- Cadiou H, McNaughton PA. (2010). Avian magnetite-based magnetoreception: A physiologist's perspective. *J R Soc Interface* 7(Suppl 2):S193–S205.
- Camborieux L, Bertrand N, and Swerts JP. (1998). Changes in expression and localization of hemopexin and its transcripts in injured nervous system: a comparison of central and peripheral tissues. *Neuroscience* 82: 1039–1052.
- Cancino Julián. (2005). Approche théorique et expérimentale des principes fondamentaux de la supraconductivité. Thèse de doctorat, Université De Genève Faculté Des Sciences.
- Cavatorta, P., S. Giovanelli, A. Bobba, P. Riccio, A. G. Szabo, and Quagliarello E. (1994). Myelin basic protein interaction with Zn and phosphate: fluorescence studies on the water-soluble form of the protein. *Biophys. J.* 66:1174–1179.
- Chaline J. (2006). *Quoi de neuf depuis Darwin ?* Paris : Ellipses
- Cheon J, Lee JH. (2008). Synergistically Integrated Nanoparticles as Multimodal Probes for Nanobiotechnology. *Acc Chem Res.* 41:1630-1640.

- Christen, Y. (2000). Oxidative stress and Alzheimer disease. *Am. J. Clin Nutr.* 71,621S-629S.
- Connor J R., Benkovic S. A. (1992). Iron regulation in the brain: histochemical, biochemical, and molecular considerations. *Ann. Neurol.* 32: S51-S61.
- Costanzo, E., Allenspach, A.L., and Lee, R.E.J.R. (2000). Electrophysiological and ultrastructural correlates of cryoinjury in sciatic nerve of the freeze-tolerant wood frog, *Rana sylvatica*. *J. Comp. Physiol. [B]* 169: 351-359.
- Crichton R R., Dexter D T., Ward Roberta J. (2011). Brain iron metabolism and its perturbation in neurological diseases. *J Neural Transm* 118:301–314. DOI 10.1007/s00702-010-0470-z.
- Crichton RR, Ward RJ. (2006). Metal-based neurodegeneration. From molecular mechanisms to therapeutic strategies John Wiley and Sons, pp 227
- Crichton RR. (2008) Biological chemistry: an introduction. Elsevier, Amsterdam, p 369.
- Crompton A W and Jenkins F A. (1973). Mammals from Reptiles: A Review of Mammalian Origins. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*. Vol. 1:131-155. <https://doi.org/10.1146/annurev.ea.01.050173.001023>
- Cyril Jaggi M. (1998). Segmentation par méthode markovienne de l'encéphale humain en imagerie par résonance magnétique : théorie, mise en oeuvre et évaluation. Thèse de doctorat, Université de Caen/Basse-Normandie
- Darwin Ch. (1921). L'origine des espèces au moyen de la sélection naturelle ou la lutte pour l'existence dans la nature. Traduit sur l'édition anglaise définitive (6ème édition) par Edmond Barbier. Paris : Alfred Costes Editeur, paris, 1921.
- Das H. K, Das D, Doley R, Sahu P. P. (2016). Quantifying Demyelination in NK venom treated nerve using its electric circuit model. *Scientific Reports*.
- Davila, A. F., Fleissner, G., Winklhofer, M. and Petersen, N. (2003). A new model for a magnetoreceptor in homing pigeons based on interacting clusters of superparamagnetic magnetite. *Phys. Chem. Earth* 28, 647–652. (doi:10.1016/S1474-7065(03)00118-9)
- Davila, A. F., Winklhofer, M., Shcherbakov, V. P. and Petersen, N. (2005) Magnetic pulse affects a putative magnetoreceptor mechanism. *Biophys. J.* 89, 56–63. (doi:10.1529/biophysj.104.049346).
- Das, H.K., Das, D., Doley, R., Sahu, P.P. (2016). Quantifying Demyelination in NK venom treated nerve using its electric circuit model. *Sci. Rep.*

- Del Giudice, E., Doglia, S., Milani, M., Smith, C.W. and Vitiello, G. (1973). Biological sensitivity to weak magnetic field due to biological superconductive josephson junctions. *Physiol. Chem. and Phys.* 5: 786-791,
- Diebel CE, Proksch R, Green CR, Neilson P, Walker MM. (2000). Magnetite defines a vertebrate magnetoreceptor. *Nature* 406:299–302.
- Dobson J. (2006). Gene therapy progress and prospects: magnetic nanoparticle-based gene delivery. *Gene therapy.*;13(4):283–287.
- Duguet E, Vasseur S, Mornet S, Devoisselle JM. (2006). Magnetic nanoparticles and their applications in medicine. *Nanomed*;1(2):157–68.
- Duncan ID. (1980). Peripheral nerve disease in the dog and cat. *Vet. Clin. North Am. (Small Anim. Pract.)*, 10, 177-211
- Earl C, Chantry A, Mohammad N, and Glynn P. (1988). Zinc ions stabilise the association of basic protein with brain myelin membranes. *J. Neurochem.* 51, 718-724.
- Eder SH, et al. (2012). Magnetic characterization of isolated candidate vertebrate magnetoreceptor cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 109(30):12022–12027
- Edmonds, D. (1996). A sensitive optically detected magnetic compass for animals. *Proc. R. Soc. B.* 263:295–298.
- Edmonds, D. T. (1992). A magnetite null detector as the migrating bird's compass. *Proc. R. Soc. B* 249, 27–31. (doi:10.1098/rspb.1992.0079)
- Emerich DF, Thanos CG. (2006). The pinpoint promise of nanoparticle-based drug delivery and molecular diagnosis. *Biomol Eng.* 23:171–84.
- Espinosa de los M A, Kumar S, Zhao P, Huang C, J, Nazarian R, Pan T, Scully Chang R, de Vellis J. (1999). Transferrin is an essential factor for myelination. *Neurochem. Res*; 24: 235-248.
- Etourneau J. (1986). Les matériaux supraconducteurs : problèmes et perspectives d'utilisation. Nouvelles orientations des recherches. *Revue Phys. Appliqué.* P150. doi : 10.1051/rphysap:019860021011064 900
- Fahlvik, A.K. and Klaveness, J. (1993). Iron oxides as MR Imaging contrast agents. *J. magn. reson imaging*, 3(1): 187-194.
- Faraji AH, Wipf P. (2009). Nanoparticles in cellular drug delivery. *Bioorganic & Medicinal Chemistry.* 17:2950–2962.
- Fernandez-Moran, H. (1950). Electron microscope examination of the myelin sheath and axial cylinder in the internodal section of neural fibers. *Experientia* 6, 339–342.

- Fink H.W, and Schöenberger, C. X. (1973). Electrical conduction through DANN molecules. *Nature*, vol. 398, 407-410.
- Fiorito S, Serafino A, Andreola F, Togna A, Togna G. (2006). Toxicity and biocompatibility of carbon nanoparticles. *J Nanosci Nanotechnol.* 6:591–599.
- Fleissner, G., Holtkamp-Roitzler, E., Hanzlik, M., Winklhofer, M., Fleissner, G., Petersen, N. & Wiltshko, W. (2003). Ultrastructural analysis of a putative magnetoreceptor in the beak of homing pigeons. *J. Comp. Neurol.* 458, 350–360. (doi:10.1002/cne.10579)
- Fleissner, G., Stahl, B., Thalau, P., Falkenberg, G. and Fleissner, G. (2007) A novel concept of Fe-mineral-based magnetoreception: histological and physicochemical data from the upper beak in homing pigeons. *Naturwissenschaften* 94, 631–642. (doi:10.1007/s00114-007-0236-0)
- Fuhrer L. (1996). Les Examens complémentaires dans les syndromes neuromusculaires. *Electrodiagnostic et biopsie musculaires et nerveuses. Point Vét.*, 27 (172), 823832.
- Ganim, R. B., E. L. Peckol, J. Larkin, M. L. Ruchhoeft, and J. S. Cameron. (1998). ATP-sensitive K1 channels in cardiac muscle from cold-acclimated goldfish: characterization and altered response to ATP. *Comp. Biochem. Physiol. A* 119: 395–401.
- Gardea-Torresdey JL, Parson JG, Gomez E, Peralta-Videa J, Troiani HE, Santiago P, Yacaman MJ. (2002). Formation and growth of Au nanoparticles inside live alfalfa plants. *Nano Letters.* 2:397-401.
- Gegear RJ, Casselman A, Waddell S, Reppert SM. (2008). Cryptochrome mediates lightdependent magnetosensitivity in *Drosophila*. *Nature* 454(7207):1014–1018.
- Ghosh P, Han G, De M, Kim CK, Rotello VM. (2008). Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced Drug Delivery Reviews.* 60:1307–1315.
- Gould P. (2006). Nanomagnetism shows in vivo potential. *Nano Today*; 1: 34\_9.
- Govindaraju K, Khaleel Basha S, Ganesh Kumar V, Singaravelu G. (2008). Silver, gold and bimetallic nanoparticles production using single-cell protein (*Spirulina platensis*) Geitler. *J Mater Sci.* 43:5115-5122.
- Govindaraju K, Kiruthiga V, Ganesh Kumar V Singaravelu G. (2009). Extracellular synthesis of silver nanoparticles by a marine alga, *Sargassum wightii* and their antibacterial effects. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology.* 9:5497-5501.

- Goya GF. (2003). Berquo´ TS, Fonseca FC, Morales MP. Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles. *J Appl Phys.*; 94: 3520\_8.
- Graeber M B, Ravish G, Kreutzberg G W. (1989).. Increase of transferrin receptors and iron uptake in regenerating motor neurons. *J.Neurosci. Res.* Jul;23(3):342-5.
- Gregoriadis G. (1976). Carrier Potential of Liposomes in Biology and Medicine. *New England Journal of Medicine.* 295:704-710.
- Greminger, A.R., Lee, D.L., Shrager, P., Mayer-Proschel, M. (2014). Gestational iron deficiency differentially alters the structure and function of white and gray matter brain regions of developing rats. *J. Nutr.* 144, 1058–1066.
- Gupta AK, Naregalkar RR, Vaidya VD, Gupta M. (2007). Recent advances on surface engineering of magnetic iron oxide nanoparticles and their biomedical applications. *Nanomed*;2(1):23–39.
- Gupta, A.K. and Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. *Biomaterials*, 26(18): 3995.
- Hanini A, Schmitt A, Kacem K, Chau F, Ammar S, Gavard J. (2011). Evaluation of iron oxide nanoparticle biocompatibility. *Int J Nanomedicine.* 6:787-94.
- Hanzlik, M., Heunemann, C., Holzkamp-Ro¨tzler, E., Winklhofer, M., Petersen, N. and Fleissner, G. (2000). Superparamagnetic magnetite in the upper beak tissue of homing pigeons. *BioMetals* 13, 325–331. (doi:10.1023/A:1009214526685)
- Hartline D.K. and Colman D.R. (2007). Rapid Conduction and the Evolution of Giant Axons and Myelinated Fibers. *Current Biology* 17, R29–R35. DOI 10.1016/j.cub.2006.11.042
- Hautot D, Pankhurst QA, Morris CM, Curtis A, Burn J, Dobson J. Preliminary. (2007). Observation of elevated levels of nanocrystalline iron oxide in the basal ganglia of neuroferritinopathy patients. *Biochim Biophys Acta*; 1772: 21\_5.
- Heurtault B, Saulnier P, Pech B, Venier-Julienne MC, Proust JE, Phan-Tan-Luu R, Benoît JP. (2003). The influence of lipid nanocapsule composition on their size distribution. *European Journal of Pharmaceutical Sciences.* 18:55-61.
- Hild WA, Breunig M, Goepferich A. (2008). Quantum dots – Nano-sized probes for the exploration of cellular and intracellular targeting. *European*

Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 68:153–168.

Hirata K, He JW, Kuraoka A, Omata Y, Hirata M, Islam AT, Noguchi M, and Kawabuchi M. (2000). Heme oxygenase1 (HSP-32) is induced in myelin-phagocytosing Schwann cells of injured sciatic nerves in the rat. *Eur J Neurosci* 12: 4147–4152,.

Hodgkin, A. L., and Katz, B. (1949). The effect of temperature on the electrical activity of the giant axon of the squid. *J. Physiol.* 109: 240–249.

Hodgkin, A. L., Huxley, A. F., and Katz, B. (1952). Measurement of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of *Loligo*. *J. Physiol.* 116: 424–448.

Holmes JD, Smith PR, Evans-Gowing R, Richardson DJ, Russel DA, Sodeau JR. (1995). Energydispersive X-ray analysis of the extracellular cadmium sulfide crystallites of *Klebsiella aerogenes*. *Arch Microbiol.* 163(2):143–147.

Hopf, H.C. and Maurer, K. (1990). Temperature dependence of the electrical and mechanical responses of the adductor pollicis muscle in humans. *Muscle Nerve* 13: 259-262, [http://classiques.uqac.ca/classiques/darwin\\_charles\\_robert/origine\\_especes/darwin\\_origine\\_des\\_especes.pdf](http://classiques.uqac.ca/classiques/darwin_charles_robert/origine_especes/darwin_origine_des_especes.pdf)

Huang Y-C, Huang Y-Y. (2006). Tissue engineering for nerve repair. *Biomedical Engineering:*

*Applications, Basis and Communications.*18:100–110.

Huber DL. (2005). Synthesis, properties, and applications of ironnanoparticles. *Small*; 1: 482\_501.

Ickinson PJ. Lecouteur RA. (2002). Muscle and nerve biopsy. *Vet. Clin. North Am. (Small Anim. Pract.)*, 32, 63-69.

Iijima S. (1991). Helical microtubules of graphite carbon. *Nature.* 354:56-58.

Inbakandan D, Venkatesan R, Ajmal Khan S. (2010). Biosynthesis of gold nanoparticles utilizing Marine sponge *Acanthella elongata* (Dendy, 1905). *Colloids Surf B.* 81:634-639.

Inouye, H, and Kirschner D. A. (1984) . Effects of ZnCl<sub>2</sub> on membrane interactions in myelin of normal and shiverer mice. *Biochim. Biophys. Acta.* 776:197-208.

Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T. (2005). Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J Biosci Bioeng*;100: 1\_11.

Jack Rosenbluth, Amanda Mierzwa, Seema Shroff., 2013. Molecular Architecture of Myelinated Nerve Fibers: Leaky Paranodal Junctions and Paranodal Dysmyelination. *The Neuroscientist* 19(6). DOI: 10.1177/1073858413504627.

- Jaiswal JK, Simon SM. (2004). Potentials and pitfalls of fluorescent quantum dots for biological imaging. *Trends Cell Biol.* 14:497–504.
- Jessen, K. R. and Mirsky, R. (2005). The origin and development of axon ensheathment and myelin growth. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 671–690.
- Jon H. Kaas. (2013). *The Evolution of Brains from Early Mammals to Humans.* Wiley Interdiscip Rev Cogn Sci. Jan-Feb; 4(1): 33–45. doi: 10.1002/wcs.1206.
- Jon H. Kaas. (2017). *The Organization of Neocortex in Early Mammals. Evolution of Nervous Systems (Second Edition).* Volume 2, Pages 87-101.
- Jougleux, J.L., Rioux, F.M., Church, M.W., Fiset, S., Surette, M.E. (2014). Mild iron deficiency anaemia during pregnancy and lactation in guinea pigs alters amplitudes and auditory nerve velocity, but not brainstem transmission times in the offspring's auditory brainstem response. *Nutr. Neurosci.* 17, 37–47.
- Kashiwagi Y, Yamamoto M, Nakamoto M. (2006). Facile size-regulated synthesis of silver nanoparticles by controlled thermolysis of silver alkylcarboxylates in the presence of alkylamines with different chain lengths. *Journal of Colloid and Interface Science.* 300:169–175.
- Kasumov AY, Kociak M, Guéron S, Revlet B, Volkov VT, Klinov DV, Bouchiat H. (2001). Proximity-induced superconductivity in DNA. *Science* 291: 280-282.
- Katsuki R, Fujita T, Koga A, Liu T, Nakatsuka T, Nakashima M and Kumamoto E. (2006). Tramadol, but not its major metabolite (mono-Odemethyl tramadol) depresses compound action potentials in frog sciatic nerves. *British Journal of Pharmacology* 149, 319–327.
- Ke Y and Qian ZM. (2007) Brain iron metabolism: neurobiology and neurochemistry. *Prog Neurobiol* 83: 149–173.
- Kenneth RK. (1996). Membrane potential and action potential in electricity. In, *College Physics for Students of Biology and Chemistry.* <http://www.rwc.uc.edu/koehler/biophysics/contents.html>
- Khanna PK, Nair CKK. (2009). Synthesis of silver nanoparticles using cod liver oil (fish oil): green approach to nanotechnology. *International Journal of Green Nanotechnology: Physics and Chemistry.* 1:3–9.
- Kim S, Lim YT, Soltesz EG, De Grand AM, Lee J, Nakayama A, Parker JA, Mihaljevic T, Laurence RG, Dor DM, Cohn LH, Bawendi MG, Frangioni JV. (2004). Near-infrared fluorescent type II quantum dots for sentinel lymph

- node mapping. *Nat Biotechnol.* 22:9397.
- Kirschvink JL, Gould JL. (1981). Biogenic magnetite as a basis for magnetic field detection in animals. *BioSystems* 13:181–201.
- Kirschvink JL, Walker MM, Diebel CE. (2001). Magnetite-based magnetoreception. *Curr Opin Neurobiol* 11(4):462–467.
- Kirschvink, J. L. (1989). Magnetite biomineralization and geomagnetic sensitivity in higher animals: an update and recommendation for future study. *Bioelectromagnetics* 10, 239–259. (doi:10.1002/bem.2250100304).
- Kirschvink, J. L. and Gould, J. L. (1981). Biogenetic magnetite as a basis for magnetic field detection in animals. *BioSystems* 13, 181–201. (doi:10.1016/0303-2647(81)90060-5)
- Kirschvink, J. L. and Walker, M. M. (1985). Particle-size considerations for magnetite-based magnetoreceptors. In *Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms* (eds J. L. Kirschvink, D. S. Jones & B. J. MacFadden), pp. 243–256. New York, NY: Plenum Press.
- Kirschvink, J. L., Jones, D. S. and MacFadden, B. J.(eds). (1985). *Magnetite biomineralization and magnetoreception in organisms*, pp. 647–669. New York, NY: Plenum Press.
- Kirschvink, J., and J. Gould. (1981). Biogenic magnetite as a basis for magnetic field detection in animals. *BioSystems*. 13:181–201.
- Kirschvink, J., M. Walker, S. Chang, A. Dizon, and K. Peterson. (1985). Chains of single-domain magnetite particles in chinook salmon, *Oncorhynchus tshawytscha*. *J. Comp. Physiol. A.* 157:375–381.
- Klumpp C, Kostarelos K, Prato M, Bianco A. (2006). Functionalized carbon nanotubes as emerging nanovectors for the delivery of therapeutics. *Biochimica et Biophysica Acta.* 1758:404–412.
- Knott Eric, P., Assi Mazen, Rao, Sudheendra N.R., Pearse, Damien D. (2017). Phosphodiesterase inhibitors as a therapeutic approach to neuroprotection and repair. *Int. J. Mol. Sci.* 18 (4), 696. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18040696>.
- Kumar A, Jena PK, Behera S, Lockey RF, Mohapatra S, Mohapatra S. (2010). Multifunctional magnetic nanoparticles for targeted delivery. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine.* 6:64–69.
- Kuwabara, S. Guillain-Barre. (2007). Syndrome. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 7(1), 57–62.
- Kwon JT, Hwang SK, Jin H, Kim DS, Minai-Tehrani A, Yoon HJ, Choi M, Yoon TJ, Han DY, Kang YW, Yoon BI, Lee JK, Cho MH. (2008). Body



- distribution of inhaled fluorescent magnetic nanoparticles in the mice. *J Occup Health*;50(1):1–6.
- Laboratoire de Recherche des Monuments historiques. (2014). Diffraction de rayons X (DRX). <http://www.lrmh.fr/Diffraction-de-rayons-X-DRX.html>
- Lagerspetz KYH, Talo A. (1967). Temperature acclimation of the functional parameters of the giant nerve fibers in *Lumbricusterrestris*: I. Conduction velocity and the duration of the rising and falling phase of action potential. *J. Exp. Biol.* 47: 471–480.
- Lanone S, Boczkowski J. (2006). Biomedical applications and potential health risks of nanomaterials: molecular mechanisms. *Curr Mol Med.* 6:651–663.
- Lemke, G. (1992). in *An Introduction to Molecular Neurobiology* (Hall, Z. W., ed), 2nd Ed; 281–312, Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Letchford K, Burt H. (2007). A review of the formation and classification of amphiphilic block copolymer nanoparticulate structures: micelles, nanospheres, nanocapsules and polymersomes. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 65:259-269.
- Levi S, and Taveggia C. (2014). Iron Homeostasis in Peripheral Nervous System, Still a Black Box? *Antioxid Redox Signal.* doi: 10.1089/ars.2013.5813.
- Levi S, and Taveggia C. (2014). Iron Homeostasis in Peripheral Nervous System, Still a Black Box? *Antioxid Redox Signal.* doi: 10.1089/ars.2013.5813.
- Li-Hua Y, Hui-Min Y, Qiu-Ping X, Wei S, Yan-Liang X, Wei M, Yu-Ping L, Xin-Ping L, and Chun-Hua Y. (2015). Cordycepin Decreases Compound Action Potential Conduction of Frog Sciatic Nerve In Vitro Involving Ca<sup>2+</sup>-Dependent Mechanisms. *Neural Plast.* 2015: 927817.
- Liu G, Men P, Harris PL, Rolston RK, Perry G, Smith MA. (2006). Nanoparticle iron chelators: a new therapeutic approach in Alzheimer disease and other neurologic disorders associated with trace metal imbalance. *Neurosci Lett*; 406: 189\_93.
- Liu Y, Shipton MK, Ryan J, Kaufman ED, Franzen S, Feldheim DL. (2007). Synthesis, stability, and cellular internalization of gold nanoparticles containing mixed peptide-poly(ethylene glycol) monolayers. *Analytical Chemistry.* 79:2221-2229.
- Lobner D, Ali C. (2002). Mechanisms of bFGF and NT-4 potentiation of necrotic neuronal death. *Brain Research.* 954: 42–50. doi.org/10.1016/S0006-8993(02)03337-1.

- Lohmann KJ. (2010). Magnetic-field perception. *Nature* 464:1140–1142
- Lowenstam, H. A. (1962). Magnetite in denticles capping in recent chitons (Polyplacophora). *Geol. Soc. Am. Bull.* 73, 435–438. (doi:10.1130/0016-7606(1962)73[435:MIDCIR]2.0.CO;2 ).
- Lozoff B, Beard J, Connor J, Felt B, Georgieff M, and Schallert T. (2006). Long-Lasting Neural and Behavioral Effects of Iron Deficiency in Infancy. *Nutr Rev.*; 64 (5 Pt 2): S34–S91. doi: 10.1301/nr.2006.may.S34-S43.
- Lu AH, Salabas EL, Schuth F. (2007) Magnetic nanoparticles: synthesis, protection, functionalization, and application. *Angew Chem Int Ed Engl*;46(8):1222–44. [PubMed: 17278160].
- Lukaszewicz JP, Wesolowski RP, Cyganiuk A. (2009). Enrichment of *Salix viminalis* Wood in Metal Ions by Phytoextraction. *Pol J Environ Stud.* 18:507-511.
- Madison, R D, Da Silva, C, Dikkes, P, Chiu, T H, Sidman, R L. (1987). Peripheral nerve regeneration with entubulation repair: Comparison of biodegradable nerve guides versus polyethylene tubes and the effects of a laminin-containing get. *Exp.Neurol.* 95,378-390.
- Mangin P and Kahn R. (2013). *Supraconductiv : Introduction.* EDP Sciences. ISBN 978-2-7598-0657-7.
- Martin PM1, Cifuentes-Diaz C, Garcia M, Goutebroze L, Girault JA. (2008). Axon and Schwann cells... so far away, so close. *j.neurol.* 164:1057-62.
- Martinez AMB and Ribeiro LCV. (1998). Ultrastructural localization of calcium in peripheral nerve fibers undergoing Wallerian degeneration: an oxalatepyroantimonate and X-ray microanalysis study. *J Submicrosc Cytol Pathol* 30(3): 451-458.
- Mata YN, Torres E, Blázquez ML, Ballester A, González F, Munoz JA. (2009). Gold(III) biosorption and bioreduction with the brown alga *Fucus vesiculosus*. *J Hazard Mater.* 166:612-618.
- Maureen A, Walling, Jennifer A. Novak and Jason RE Shepard. (2009). Quantum Dots for Live Cell and In Vivo Imaging. *Int J Mol Sci.* 10:441-491.
- Mbainabeye J, Ezzedine BB, Mohamed BS, Moshen S, Abdelmelek H. (2012). Analysis and Characterization of the Electrical Conductivity Behavior of the Sciatic Nerve using Wavelet Transform and Signal Processing. *International Journal of Electronics Communication and Computer Engineering.* 4: 2278–4209.
- Michalet X, Pinaud FF, Bentolila LA, Tsay JM, Doose S, Li JJ, Sundaresan G, Wu AM, Gambhir SS, Weiss S. (2005). Quantum dots for live cells, in

- vivo imaging, and diagnostics. *Science*. 307:538-544.
- Mills E, Dong XP, Wang F, and Xu H. (2010). Mechanisms of brain iron transport: insight into neurodegeneration and CNS disorders. *Future Med Chem* 2: 51–64.
- Moos T, Rosengren NT, Skjorringe T, and Morgan EH. (2007). Iron trafficking inside the brain. *J Neurochem* 103: 1730–1740,.
- Mora CV, Davison M, Wild JM, Walker MM. (2004). Magnetoreception and its trigeminal mediation in the homing pigeon. *Nature* 432(7016):508–511.
- Morin-G. (2006). Parenté entre les êtres vivants fossiles et actuels, Phylogénèse, Evolution La recherche de lien de parentés parmi les Vertébrés. Cour Terminale S Lycée Montaigne SVT
- Mouritsen H, et al. (2004). Cryptochromes and neuronal-activity markers colocalize in the retina of migratory birds during magnetic orientation. *Proc Natl Acad Sci USA* 101(39):14294–14299.
- Muller, RH, Mader K, Gohla S. (2000). Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery - a review of the state of the art. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 50:161-177.
- Munro, U., Munro, J. A., Phillips, J. B., Wiltschko, W. (1997). Effect of wavelength of light and pulse magnetization on different magnetoreception systems in a migratory bird. *Aust. J. Zool.* 45, 189–198. (doi:10.1071/ZO96066)
- Nathaniel B. E, Tanja F, Simon N, Paul P , Mattias L, , Robert W. H , Artemis P. A , Lyubov U , Thomas H , Guenter P. R , Martin S , Jeremy A. S, and David A. K. (2015). No evidence for intracellular magnetite in putative vertebrate magnetoreceptors identified by magnetic screening. *PNAS*, 112/262–267
- Neumann, S., Bradke, F., Tessier-Lavigne, M., and Basbaum, A.I. (2002). Regeneration of sensory axons within the injured spinal cord induced by intraganglionic cAMP elevation. *Neuron*. 34, 885-893.
- Niebner C, et al. (2013). Magnetoreception: Activated cryptochrome 1a concurs with magnetic orientation in birds. *J R Soc Interface* 10(88):20130638.
- Nomura T.and Hirata T.(2017). The Neocortical Homologues in Nonmammalian Amniotes: Bridging the Hierarchical Concepts of Homology Through Comparative Neurogenesis. *Evolution of Nervous Systems (Second Edition)*. Volume 2, Pages 195-204,

- Oberdörster, G., Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, Carter J, Karn B, Kreyling W, Lai D, Olin S, Monteiro-Riviere N, Warheit D, Yang H. (2005). Principles for characterizing the potential human health effects from exposure to nanomaterials; ILSI Research Foundation/Risk Science Institute Nanomaterial Toxicity Screening Working Group; 6;2:8.
- Obermeier B, Daneman R, and Ranshoff R.M. (2013). Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. *Nat.Med.* 19, 1584-1596.
- Ogay, A. Y., Rzhovsky, D. I., Murashev, A. N., Tsetlin, V. I. and Utkin, Y., N. (2005). Weak neurotoxin from *Naja kaouthia* cobra venom affects haemodynamic regulation by acting on acetylcholine receptors. *Toxicon* 45, 93–99.
- Olivier. H. M. (1987). *Veterinary neurology*. Toronto: WB Saunders Company. 554p
- Ozkan M. (2004). Quantum dots and other nanoparticles: what can they offer to drug discovery? *Drug Discov Today*. 9:1065–1071.
- Parak WJ, Pellegrino T, Boudreau R, Le Gros M, Gerion D, Micheel CM, Larabell CA, Alivisatos P. (2003) Biological applications of colloidal nanocrystals. *Nanotechnology*. 14:15-27.
- Peltier S, Oger JM, Lagarce F, Couet W, Benoît JP. (2006). Enhanced oral paclitaxel bioavailability after administration of paclitaxel-loaded lipid nanocapsules. *Pharmaceutical Research*. 23:1243-1250.
- Peng ZA, Peng X. (2001). Formation of High-Quality CdTe, CdSe, and CdS Nanocrystals Using CdO as Precursor. *J Am Chem Soc.* 123:183-184.
- Per E. Ahlberg and Andrew R. Milner. (1994). The origin and early diversification of tetrapods. *Nature* vol 368.
- Pita-thomas, Wolfgang, Fernandez-Martos, Carmen, Yunta, Mónica, Nieto-Diaz, Manuel. (2010). Gene expression of axon growth promoting factors in the deer antler. *PLoS One* 5 (12), e15706. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0015706>.
- Polin, V., Coriat, R., Perkins, G., Dhooze, M., Abitbol, V., Leblanc, S., Chaussade, S. (2013). Iron deficiency: from diagnosis to treatment. *Dig. Liver Dis.* 45, 803–809.
- Presti D, Pettigrew JD. (1980). Ferromagnetic coupling to muscle receptors as a basis for geomagnetic field sensitivity in animals. *Nature* 285(5760):99–101.

- Prosser, C. L., and Nelson D. O. (1981). The role of nervous systems in temperature adaptation of poikilotherms. *Annu. Rev. Physiol.* 43: 281–300.
- Qui J, Cai C M and Filbin M. (2002). A role of cAMP on regeneration during development and after injury. *Prog.Br.Res.* 137,381-387.
- Radlowski, E.C., Johnson, R.W. (2013). Perinatal iron deficiency and neurocognitive development. *Front. Hum. Neurosci.* 7, 585.
- Raivich G., Hellweg R., Kreutzberg G. W. (1991). NGF receptor-mediated reduction in axonal NGF uptake and retrograde transport following sciatic nerve injury and during regeneration. *Neuron* 7, 151–164. [10.1016/0896-6273\(91\)90083-C](https://doi.org/10.1016/0896-6273(91)90083-C)
- Rao R, Georgieff MK. (2007). Iron in fetal and neonatal nutrition. *Semin Fetal Neonatal Med.* 12(1):54-63.
- Rao, R., Tkac,I., Unger, E.L.,Ennis, K.,Hurst, A., Schallert, T., Georgieff,M.K.. (2013). Iron supplementation dose for perinatal iron deficiency differentially alters the neurochemistry of the frontal cortex and hippocampus in adult rats. *Pediatr. Res.* 73, 31–37
- Rasband, M. N. (2011). Composition, assembly, and maintenance of excitable membrane domains in myelinated axons. *Semin. Cell Dev. Biol.* 22, 178–184.
- Riccio P., Giovannelli S., Bobba A., Romito E., Fasano A., Bleve-Zacheo T., Favilla R., Quagliariello E., and Cavatorta P. (1995). Specificity of zinc binding to myelin basic protein. *Neurochem. Res.* 20, 1107-1113.
- Rich KM, Alexander TD, Pryor JC, Hollowell JP. (1989). Nerve growth factor enhances regeneration through silicone chambers. *Exp Neurol* 105:162-170.
- Riche Céline. (2006). La polyneuropathie héréditaire du leonberg: caractérisation clinique, électromyographique et génétique. Thèse doctorale Ecole Nationale Veterinaire D'alfort.
- Ritz T, Adem S, Schulten K. (2000). A model for photoreceptor-based magnetoreception in birds. *Biophys J* 78(2):707–718
- Ritz T, Ahmad M, Mouritsen H, Wiltschko R, Wiltschko W. (2010). Photoreceptorbased magnetoreception: Optimal design of receptor molecules, cells, and neuronal processing. *J R Soc Interface* 7(Suppl 2):S135–146
- Ritz, T., Thalau, P., Phillips, J. B., Wiltschko, R. & Wiltschko, W. (2004). Resonance effects indicate a radical-pair mechanism for avian magnetic compass. *Nature* 429, 177–180. (doi:10.1038/nature02534)

- Robert L. Carroll. (1964). The earliest reptiles. *Zool J Linn Soc* 45 (304): 61-83. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1964.tb00488.x>
- Robert L. Carroll. (1982). Early Evolution of Reptiles. *Annual Review of Ecology and Systematics*. Vol. 13:87-109. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.es.13.110182.000511>.
- Robert L. Carroll. (2001). The origin and early radiation of terrestrial vertebrates. *Journal of paleontology* 75(6):1202-1213. doi. Org /10.1666/0022-3360(2001)075
- Robert. V.A, Casadevall, A. (2009). Vertebrate endothermy restricts most fungi as potential pathogens. *JID* , 200, 1623-1626
- Roisen, F, Murphy, R, Pichichero, M, Braden, W. (1972). Cyclic adenosine monophosphate stimulation of axonal elongation. *Science*.175,73-74.
- Rosenthal, J.J. and Bezanilla, F. (2000). Seasonal variation in conduction velocity of action potentials in squid giant axons. *Biol. Bull.* 199: 135-143.
- Sahoo, S.K. and Labhasetwar, V. (2003). Nanotech approaches to drug delivery and imaging. *Drug Discov. Today*, 8(24): 1112.
- Schön JH, KlocCh, Batlogg B. (2000). Superconductivity in molecular crystals induced by charge injection. *Nature* 406: 702-704.
- Schulten K, Swenberg CW, Weller A. (1978). A biomagnetic sensory mechanism based on magnetic field modulated coherent electron spin motion. *Z Phys Chem NF* 111:1-5
- Scott Husband and Toru Shimizu. (2001). Chpitre: Evolution of the Avian Visual System (livre Avian visual cognition) Department of Psychology, University of South Florida. <http://www.pigeon.psy.tufts.edu/avc/husband/>.
- Sébastien Merkel. (2000). Introduction à la diffraction de rayons X. Université Lille 1, France. <http://merkel.texture.rocks/DiffractionX/node1.php>
- Segal, R. (2003). Selectivity in neurotrophin signaling: Theme and variations. *Annu. Rev.Neurosci.*26,299-330.
- Semm, P. and Beason, R. C. (1990). Responses to small magnetic variations by the trigeminal system of the bobolink. *Brain Res. Bull.* 25, 735-740. (doi:10.1016/0361-9230(90) 90051-Z)
- Semm, P. and Demaine, C. (1986). Neurophysiological properties of magnetic cells in the pigeon's visual system. *J. Comp. Physiol. A* 159, 619-625. (doi:10.1007/ BF00612035)
- Semm, P., Nohr, D., Demaine, C. & Wiltschko, W. (1984). Neural basis of the magnetic compass: interaction of

- visual, magnetic and vestibular inputs in the pigeon's brain. *J. Comp. Physiol. A* 155, 283–288. (doi:10.1007/BF00610581)
- Sharma NC, Sahi SV, Nath S, Parsons JG, Gardea-Torresdey JL, Pal T. (2007). Synthesis of plant-mediated gold nanoparticles and catalytic role of biomatrix-embedded nanomaterials. *Environ Sci Technol.* 41:5137-5142.
- Shcherbakov, V. P. & Winklhofer, M. (1999). The osmotic magnetometer: a new model for magnetite-based magnetoreceptors in animals. *Eur. Biophys. J.* 28, 380–392. (doi:10.1007/s002490050222).
- Shine, H D, Harcourt, P G, Sidman, R. (1985). Cultured peripheral nervous system cells support peripheral nerve regeneration through tubes in the absence of a distal nerve stump. *J. Neurosci. Res.* 14, 393-401.
- Singaravelu G, Arockiyamari J, Ganesh Kumar V, Govindaraju K. (2007). A novel extra cellular biosynthesis of monodisperse gold nanoparticles using marine algae, *Sargassum wightii* Greville. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 57:97-101
- Smith PR, Holmes JD, Richardson DJ, Russell DA, Sodeau JR. (1998). Photophysical and photochemical characterization of bacterial semiconductor cadmium sulfide particles. *J Chem Soc Faraday Trans.* 94:1235-1241.
- Solov'yov, I. A. and Greiner, W. (2007). Theoretical analysis of an iron mineral-based magnetoreceptor model in birds. *Biophys. J.* 93, 1493–1509. (doi:10.1529/biophysj.107.105098)
- Stahl, B., Fleissner, G., Fleissner, G. and Falkenbegr, G. (2007). Cross-species unveiling of a putative avian magnetoreceptor, pp. 1269–1270. *HASYLAB annual report 2006*, Desy, Hamburg, Germany
- Stålberg E, Erdem H. (2000). Nerve conductive studies. *NorolBil D*, volume 17, issue 2.
- Stephanova, D. L., Daskalova, M. S. and Alexandrov, A. S. (2006). Differences in membrane properties in simulated case of demyelinating neuropathies, intermodal focal demyelination with conduction block. *J. Biol. Phys.* 32, 129–144.
- Stevens a., Lowe J. (1993). Système nerveux. In : *Histologie*, Paris : Ed. Pradel, 206-225.
- Stoll G, Griffin JW, Li CY, Trapp BD. (1989). Wallerian degeneration of the peripheral nervous system: participation of both Schwann cells and macrophages in myelin degradation. *J Neurocytol* 18: 671-683.
- Stoll G, Jander S, Schroeter M. (2002). Detrimental and beneficial effects of injury-induced inflammation

and cytokine expression in the nervous system. *AdvExp MedBio*. 513: 87-113.

Stoll G, Müller HW. (1999). Nerve injury, axonal degeneration and neural regeneration: basic insights. *Brain Pathol* 9: 313-325.

Summers BA, Cummings J, De La Hunta A. (1995). Diseases of the peripheral nervous system. In: *Veterinary neuropathology*. St Louis: Ed. Mosby. 402- 481.

Swerts JP, Soula C, Sagot Y, Guinaudy MJ, Guillemot JC, Ferrara P, Duprat AM, and Cochard P. (1992). Hemopexin is synthesized in peripheral nerves but not in central nervous system and accumulates after axotomy. *J Biol Chem* 267: 10596–10600,

Talo A, Lagerspetz KYH. (1967). Temperature acclimation of the functional parameters of the giant nerve fibers in *Lumbricusterrestris*: II. The refractory period. *J. Exp. Biol.* 47: 481–484.

Thalau, P., Ritz, T., Stapput, K., Wiltschko, R. & Wiltschko, W. (2005). Magnetic compass orientation of migratory birds in the presence of a 1.315 MHz oscillating field. *Naturwissenschaften* 92, 86–90. (doi:10.1007/s00114- 004-0595-8)

Thompson KJ, Shoham S, and Connor JR. (2001). Iron and neurodegenerative disorders. *Brain Res Bull* 55: 155–164.

Thompson KJ, Shoham S, and Connor JR. (2001). Iron and neurodegenerative disorders. *Brain Res Bull* 55: 155–164.

Thwin SS., Fink AK, Lash TL, Silliman RA. (2005). Predictors and outcomes of surgeons' referral of older breast cancer patients to medical oncologists. 1; 104(5):936-42.

Tian, L., Xiao, B., Lin, W., Zhang, S., Zhu, R. & Pan, Y. (2007). Testing for the presence of magnetite in the upper-beak skin of homing pigeons. *BioMetals* 20, 197–203. (doi:10.1007/s10534-006-9027-x)

Todorich B, Pasquini JM, Garcia CI, Paez PM, Connor JR. (2009). Oligodendrocytes and Myelination: The Role of Iron. *GLIA* 57:467–478.

Tolosano E, Fagoonee S, Morello N, Vinchi F, and Fiorito V. (2010). Heme scavenging and the other facets of hemopexin. *Antioxid Redox Signal* 12: 305–320.

Toothaker, T. B. and Brannagan, T. H. (2007). Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathies: current treatment strategies. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 7(1), 63–70.

Torchilin VP. (2006). Multifunctional nanocarriers. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 58:15321555.

Trabelsi H, Azzouz I, Ferchichi S, Tebourbi O, Sakly M, Abdelmelek H. (2013). Nanotoxicological evaluation of oxidative responses in rat



nephrocytes induced by cadmium. *Int J Nanomedicine* 8: 3447-53.

Trabelsi H, Azzouz I, Sakly M, Abdelmelek H. (2013). Subacute toxicity of cadmium on hepatocytes and nephrocytes in rat could be considered as a green biosynthesis of nanoparticles. *Int J Nanomedicine*. 8:1121–1128.

Trabelsi H. (2010). Synthèse des nanoparticules minérales *in vivo* chez le rat. Thèse de doctorat, Université de Carthage, Bizerte, Tunisie.

Treiber CD, et al. (2012). Clusters of iron-rich cells in the upper beak of pigeons are macrophages not magnetosensitive neurons. *Nature* 484(7394):367–370

Tsang D., Tsang Y S., Ho W K., and Wong R N. (1997). Myelin basic protein is a zinc-binding protein in brain: possible role in myelin compaction. *Neurochem. Res.* 22, 811-819.

Tran, P.V., Fretham, S.J.B., Wobken, J., Miller, B.S., Georgieff, M.K. (2012). Gestational/neonatal iron deficiency suppresses and iron treatment reactivates IGF signaling in developing rat hippocampus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 302, E316–E324.

Unfried K, Albrecht C, Klotz LO, Von Mikecz A, Grether-Beck S, Schins RPF. (2007). Cellular responses to nanoparticles: Target structures and

mechanisms. *Nanotoxicology* ;1(1):52–71.

Vallat JM, Magy L. (2004). Neuropathies périphériques : généralités. In: *Traité de neurologie*. EMC-Consult [en-ligne], Elsevier [<http://www.emcconsulte.com/affiche-article?item=30301&cap=1&filetype=1>] (consultée le 10 mars 2005)

Vallat MD, Vallat-Decouvelaere MD. (2001). Nerve biopsy: current indications and results. In: CROS D, editor. *Peripheral neuropathy: a practical approach to diagnosis and management*. Philadelphia: Williams & Wilkins, 20-41.

Vega-Villa KR, Takemoto JK, Yáñez JA, Remsberg CM, Forrest ML, Davies NM. (2008). Clinical toxicities of nanocarrier systems. *Adv Drug Deliv Rev*;60(8): 929–38.

Vivero-Escoto JL, Slowing II, Lin VSY. (2010). Tuning the cellular uptake and cytotoxicity properties of oligonucleotide intercalator-functionalized mesoporous silica nanoparticles with human cervical cancer cells HeLa. *Biomaterials*. 31:1325–1333.

von Middendorff, A. (1859). *Die Isepiptesen Russlands*. *Mem. Acad. Sci. St. Petersburg VI, Ser. Tome.* 8:1–143.

Walker MM, Diebel CE, Haugh CV, Pankhurst PM, Montgomery JC. (1997). Structure and function of the

vertebrate magnetic sense. *Nature* 390:371–376.

Walker, B. H., L. H. Gunderson, A. P. Kinzig, C. Folke, S. R. Carpenter, and L. Schultz. (2006). A handful of heuristics and some propositions for understanding resilience in social-ecological systems. *Ecology and Society* 11(1): 13.

Walker, M. M. (2008). A model for encoding magnetic field intensity by magnetite-based magnetoreceptor cells. *J. Theor. Biol.* 250, 85–91. (doi:10.1016/j.jtbi.2007.09.030)

Waller A. (1850). Experiments on the Section of the Glossopharyngeal and Hypoglossal Nerves of the Frog, and Observations of the Alterations Produced Thereby in the Structure of Their Primitive Fibres. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, Vol. 140, pp. 423-429.

Waxman SG. (2000). Conduction in myelinated, unmyelinated, and demyelinated fibers. *Arch Neurol*, 34: 385-9.

Williams LR, Varon S. f. (1985). Modification of fibrin matrix formation in situ enhances nerve regeneration in silicone chambers. *J Comp Neurol*. Jan 8;231(2):209-20.

Williams, L R, Powell, H C, Lundborg, G, Varon, S. (1984). Competence of nerve tissue as distal insert promotion nerve regeneration in a silicon chamber. *Brain Res.* 293,201-211.

Williams, M. N. and Wild, J. M. (2001). Trigeminally innervated iron-containing structures in the beak of homing pigeons and other birds. *Brain Res.* 889, 243–246. (doi:10.1016/S0006-8993(00)03114-0)

Wiltschko R. and Wiltschko W. (2013). The magnetite-based receptors in the beak of birds and their role in avian navigation. *J Comp Physiol A* 199:89–98. DOI 10.1007/s00359-012-0769-3.

Wiltschko W, Wiltschko R. (2005). Magnetic orientation and magnetoreception in birds and other animals. *J Comp Physiol A* 191:675–693.

Wiltschko, R. and Wiltschko, W. (2006). Magnetoreception. *BioEssays* 28, 157–168.

Wiltschko, R., Ritz, T., Stapput, K., Thalau, P. & Wiltschko, W. (2005). Two different types of light-dependent responses to magnetic fields in birds. *Curr. Biol.* 15, 1518–1523. (doi: 10.1016/j.cub.2005.07.037)

Wiltschko, W., and F. Merkel. (1966). Orientierung zugunruhiger Rotkehlchen im statischen Magnetfeld. *Verh. dt. zool. Ges.* 59:362–367.

Winklhofer M, Kirschvink JL. (2010). A quantitative assessment of torque-transducer models for

magnetoreception. *J R Soc Interface* 7(Suppl 2):S273–289.

Winklhofer, M., Holtkamp-Roitzler, E., Hanzlik, M., Fleissner, G. & Petersen, N. (2001). Clusters of superparamagnetic magnetite particles in the upper-beak skin of homing pigeons: evidence of a magnetoreceptor? *Eur. J. Miner.* 13, 659–669. (doi:10.1127/0935-1221/2001/0013-0659)

Wong HL, Bendayan R, Rauth AM, Li Y, Wu XY. (2007). Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev.* 59:491-504.

Wood, D., Bruner, J., & Ross, G. (1976). The role of tutoring in problem solving. *Journal of Child Psychology and Child Psychiatry*, 17, 89–100.

Wu LQ, Dickman JD. (2011). Magnetoreception in an avian brain in part mediated by inner ear lagena. *Curr Biol* 21(5):418–423

Xia Y, Xiong Y, Lim B, Skrabalak SE. (2009). Shape-controlled synthesis of metal nanocrystals: simple chemistry meets complex physics? *Angewandte Chemie.* ;48(1):60–103.

Yan J, Estévez MC, Smith JE, Wang K, He X, Wang L, Tan W. (2007). Dye-doped nanoparticles for bioanalysis. *Nano Today.* 2:44-50.

Yanru Z, Hui Z, Kaka K, and Wenhua H. (2014). Chemically extracted acellular allogeneic nerve graft

combined with ciliary neurotrophic factor promotes sciatic nerve repair. *Neural Regen Res.* doi: 10.4103/1673-5374.137588.

Yorke, E. D. (1979). A possible magnetic transducer in birds. *J. Theor. Biol.* 77, 101–105. (doi:10.1016/0022-5193(79) 90140-1)

Yorke, E. D. (1981). Sensitivity of pigeons to small magnetite field variations. *J. Theor. Biol.* 89, 533–537. (doi:10.1016/0022-5193(81)90367-2).

Young, B. (2008) Atlas d'histologie fonctionnelle de weather (de Boeck).

Zalc B. (2006). The acquisition of myelin: a success story. *Novartis Found Symp*; 276:15-21; discussion 21-5, 54-7, 275-81.

Zapka M, et al. (2009). Visual but not trigeminal mediation of magnetic compass information in a migratory bird. *Nature* 461(7268):1274–1277.

Ziv-Polat Ofra, Shahar Abraham, Levy Itay, Skaat Hadas. (2014). Neuman Sara, Fregnan Federica, Geuna Stefano, Grothe Claudia, Haastert-Talini Kirsten, and Margel Shlomo. The Role of Neurotrophic Factors Conjugated to Iron Oxide Nanoparticles in Peripheral Nerve Regeneration: In Vitro Studies. *Biomed Res Int.* doi: 10.1155/2014/267808.

<http://www.medecine-cours.com/2013/01/barriere-hemato-encephalique-gardien-du.html>

<http://www.jpboeret.eu/biologie/index.php/systeme/systeme-nerveux/27-communication-nerveuse>

<http://culturesciences.chimie.ens.fr/content/introduction-a-la-spectroscopie-infrarouge-ir-754>

# PUBLICATIONS

---

*Iron prevents demyelination of frog sciatic nerves.....*

*Sciatic Nerve Cryo-Conservation and Superconductor-Like Behavior.....*

*Energy Management and Health: Implication of Nervous System*

*Superconductor-Like Behaviour.....*

---



## Research paper

## Iron prevents demyelination of frog sciatic nerves



Amina Azzouz<sup>a,\*</sup>, Amel Hanini<sup>b</sup>, Zihad Bouslama<sup>a</sup>, Linda Saili<sup>a</sup>, Sihem Benaceur<sup>b</sup>, Mohsen Sakly<sup>b</sup>, Souhil Tliba<sup>c</sup>, Hafedh Abdelmelek<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire d'Ecologie des Systèmes Terrestres et Aquatiques, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar, BP 12, 23000 Sidi Amar, Annaba, Algeria

<sup>b</sup> Laboratoire de Physiologie Intégrée, Faculté des Sciences, Université de Carthage, Jarzouna, Bizerte 7021, Tunisia

<sup>c</sup> Laboratoire de Génie Biologique des Cancers, Faculté de Médecine, Université Abderrahmane Mira, Aboudaou, Bejaia 06000, Algeria

## ARTICLE INFO

## Keywords:

Sciatic nerve  
Myelin  
Ligation  
Degeneration  
Iron sulphate  
Histology

## ABSTRACT

Metal ions are of particular importance in nervous system function, notably iron. However, very little has been done to investigate its physiological role in frog peripheral nervous system. The present research aim to evaluate i) the time-effect of sciatic nerve ligation and/or ii) iron sulphate (1.50 mg/kg, *in lymphatic sac*) on frog myelin sheaths. Histological sections following ligation shows degeneration of some fibres with axonal and myelin breakdown associated to a decrease of Schwann cells number following 2 h ( $45.00 \pm 0.30$ ,  $p < 0.0001$ ), 24 h ( $28.00 \pm 0.020$ ,  $p < 0.0001$ ). Interestingly, iron administration reduces the degeneration of myelin sheaths classically observed in frog ligated sciatic nerve associated with an increase of Schwann cells number ( $139.00 \pm 0.50$ ,  $p < 0.0001$ ). Thus, iron could prevent degeneration or promote regeneration induced by ligation in frog sciatic nerve.

## 1. Introduction

Frog nervous system was considered as an important tool in electrophysiological studies (Banar et al., 2010; Mbainabeye et al., 2012; Li-Hua et al., 2015; Das et al., 2016). The myelin sheath is a specialized membranous organelle of the nervous system elaborated by oligodendrocytes in the central nervous system and by Schwann cells in the peripheral nervous system (Lemke, 1992). This organelle consists of a large sheet of plasma membrane that is repeatedly wrapped and very tightly compacted around axons (Lemke, 1992). Myelin is essential for rapid conduction of action potentials in vertebrates (Das et al., 2016). Connor and Benkovic (1992) suggested that in the central nervous system, myelin is a lipid rich membrane composed of oligodendrocytes. These oligodendrocytes are enriched in iron and transferrin; furthermore, transferrin has been identified as an essential factor for myelination (Tran et al., 2012; Polin et al., 2013; Radlowski and Johnson, 2013; Rao et al., 2013). Wallerian degeneration (WD) can be induced by experimental nerve crush or section, which promotes a cascade of events described by Waller (1850). The sequence of characteristic events of WD starts with  $Ca^{+2}$  influx followed by axonal cytoskeleton disintegration and myelin sheath breakdown. After that, macrophages are recruited in the lesion area in order to phagocyte axon and myelin sheath debris (Stoll et al., 2002). The process of regeneration starts with axon sprouting at the nearest node of Ranvier in the nerve proximal stump. Moreover, when ligatures were used to constrict tibial nerve in

rabbits, nerve distal to the site of constriction underwent a reduction in axonal and external fibre diameter and in conduction velocity (Baba et al., 1982, 1983). Distal changes could be detected within 7–12 days of the onset of constriction; removal of the ligatures was followed by partial recovery.

Previous investigations showed the importance of iron in myelin production has been demonstrated by studies showing that decreased availability of iron in the diet is associated with hypomyelination (Greminger et al., 2014; Jougleux et al., 2014). Iron is involved in many central nervous system processes, playing a key role in myelin formation maintenance (Rao et al., 2013; Levi and Taveggia, 2014). In addition, iron requirements are expected to exceed iron intake during the first 6–18 months of postnatal life (Greminger and Mayer-Pröschel, 2015).

The present study aims firstly to study the effect of sciatic nerve ligation on myelin sheaths and secondly, to evaluate the involvement of iron in nerve regeneration.

## 2. Material and methods

## 2.1. Animals

Frogs (*Rana esculenta*) were cared for under the Tunisian code of practice for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes and the experimental protocols were approved by the Faculty Ethics Committee

\* Corresponding author.

E-mail address: [mina.azzouz@yahoo.fr](mailto:mina.azzouz@yahoo.fr) (A. Azzouz).

of *Faculté des Sciences de Bizerte*, Tunisia. Animals were subjected to regular monitoring on the zoo technical and health. Frogs (*Rana esculenta*) weighing 15–20 g were randomly divided into three groups: control group (n = 6), ligated group (n = 6) and ligated + treated with iron sulphate (FeSO<sub>4</sub>) group (n = 6). The sciatic nerves were ligated during 2, 24, and 72 h by the application of two nylon ligatures tightly tied around the sciatic nerve 0.50 cm apart, ~1 cm distal to the tendon of the obturator internus muscle. Following ligatures, frogs received a solution of iron sulphate a dose of 1.50 mg of FeSO<sub>4</sub> per Kg of body weight (ferrous sulphate dissolved in sodium chloride 0.9%) by injection in lymphatic sac. At the third day, the proximal segments of sciatic nerve samples (n = 6) were obtained after sacrifice of frogs (*Rana esculenta*) then harvested in order to study histological sections.

## 2.2. Histological study on sciatic nerve

For histological analysis, 4 µm-thick sections of paraffin embedded organs were stained with hematoxylin and eosin (Hanini et al., 2011). Tissue sections were examined and images were captured with automatic image analyzer microscope (Leica Qwin) (Hanini et al., 2011; Trabelsi et al., 2013; Ferchichi et al., 2016). Image processing was carried out with ImageJ software (Trabelsi et al., 2013; Ferchichi et al., 2016) in the purpose to evaluate the rate of myelin degeneration after a sciatic nerve ligation and the rate of regeneration after iron injection.

## 2.3. Statistical analysis

Statistical analysis of data was performed using analysis of variance (ANOVA) for comparison between groups. Values for (\*\*\*) p ≤ 0.0001 were considered statistically significant. The data are shown as a mean ± Standard Error of the Mean (SEM).

## 3. Results

In control frog, myelin fibres stained with Hematoxylin and eosin showed homogeny distribution (Fig. 1). The Schwann cell's nucleus was represented in black (Fig. 1A). Following ligation (2 h, 24 h and 72 h) we observe degeneration of some fibres with axonal and myelin breakdown (Fig. 1B–D). The qualitative evaluation demonstrates that degeneration was proportional to the time of ligation in frog sciatic nerves until 24 h post-ligation. In control group, the average of Schwann cells was about (68.00 ± 0.30). The ligation induced a decrease of Schwann cells number following 2 h (–33.82%, \*\*\*p < 0.0001), 24 h (–58.82%, \*\*\*p < 0.0001), and 72 h (–26.47%, \*\*\*p < 0.0001) Compared to control group (Fig. 2).

### 3.1. Impact of iron treatment on frog ligated sciatic nerves

Fig. 3 shows representative histological sections of frog sciatic

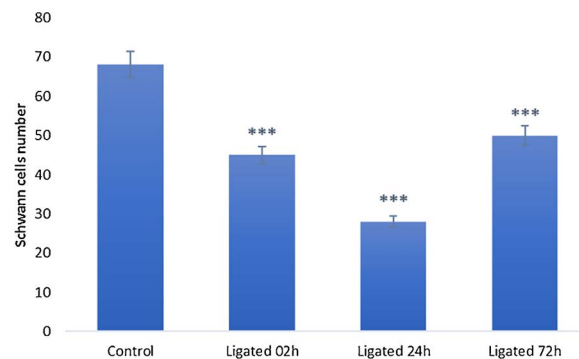


Fig. 2. Quantitative analysis of Schwann cells number following ligation (2 h; 24 h and 72 h). Values are given as the mean ± SEM, for groups of 6 animals each. Schwann cells number of ligated group was compared with control group p < 0.0001.

nerves following ligation or ligation and iron treatment. Seventy two hours after ligation, degeneration of some fibres with axonal and myelin breakdown was seen (Fig. 3B). Interestingly, iron administration reduces the degeneration of myelin sheaths classically observed in ligated frog sciatic nerve (Fig. 3C).

Following ligation (72 h), we observe a decrease of Schwann cells number (–26.47%, \*\*\*p < 0.0001). Interestingly, following ligation and iron treatment we note an increase of Schwann cells number compared to control (+104.41%, \*\*\*p < 0.0001) (Fig. 4).

## 4. Discussion

The present investigation indicated that ligation (2 h, 24 h and 72 h) of frog sciatic nerve caused proportional myelin degeneration. In addition, iron administration (*in lymphatic sac*) reduces the degeneration of frog sciatic myelin sheaths classically observed following nerve ligation. Thus, our data point that iron prevents degenerative process and/or probably contribute to nerve recovery (Fig. 5).

Previous investigations point that iron can play a great role in nerve regeneration through its neuroprotective role and the activation of some neurotrophic factors such as Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) (Radlowski and Johnson, 2013; Ziv-Polat et al., 2014). The results from the present experiments based on frog sciatic nerve histology indicated that the rate of Schwann cells decreased following 2 h, 24 h and 72 h; indicating degenerative process proportional to time of ligation. Interestingly, we note that following frog sciatic nerve ligation paranodal myelin damage and cytoarchitecture disruption occurred in nerves and it showed typical non-random distribution of secondary demyelination. All these finding emphasize the role of axon in the genesis of paranodal demyelination (Baba et al., 1983; Jack et al., 2013). Yet, depending on the nature and the severity of the initial impact of ligature on frog sciatic nerve, the endogenous and

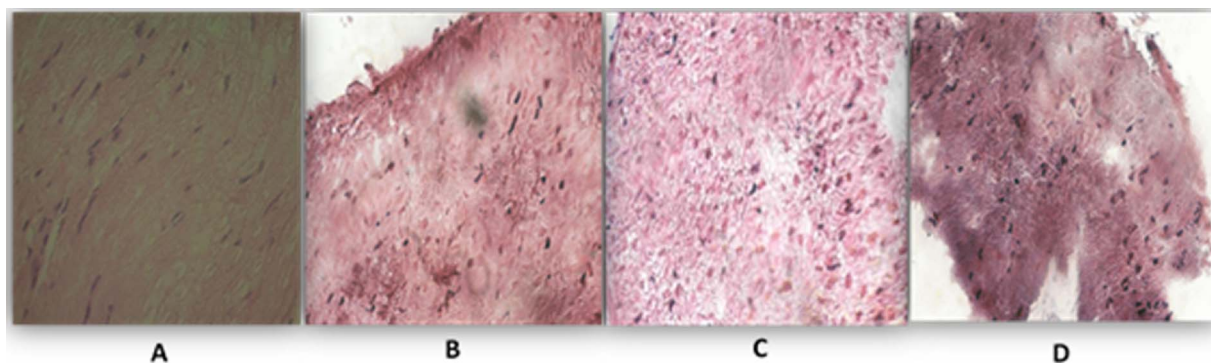
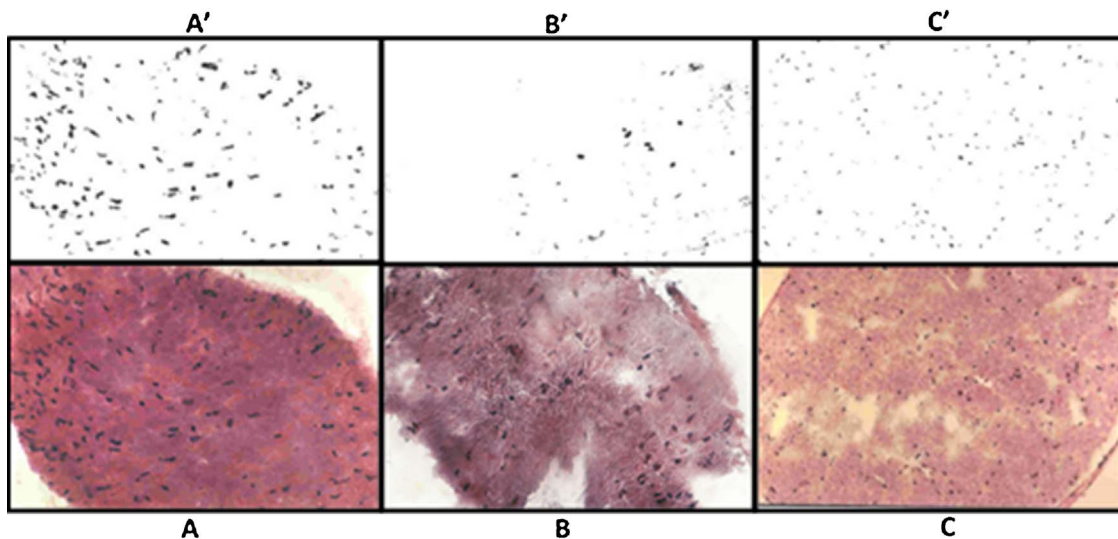
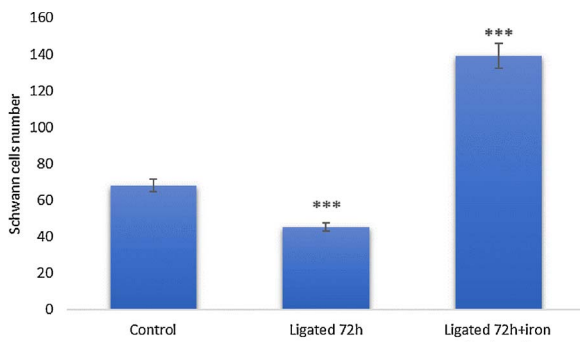


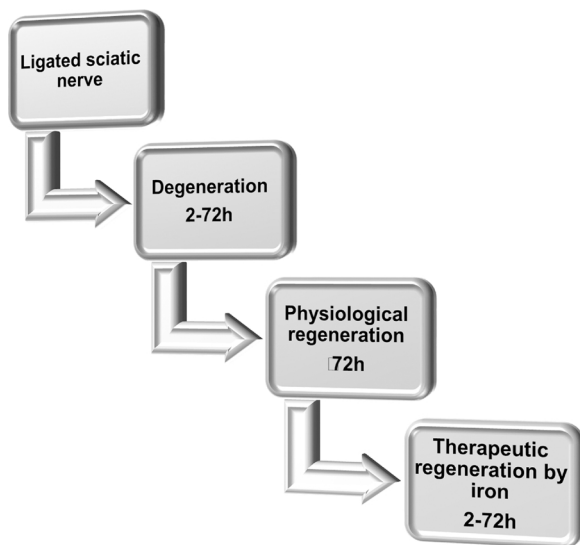
Fig. 1. Cross section through frog sciatic nerve (Hematoxylin-Eosin X 640). A: Sham control, B: ligation for two hours on myelin sheaths and, C: ligation for 24 h h on myelin sheaths, D: following 72 h.



**Fig. 3.** A cross section through the frog sciatic nerve (Hematoxylin-Eosin X 640), A' cross section through the sciatic nerve (Binary); B cross section through the sciatic nerve ligated for seventy two hours (Hematoxylin-Eosin X 640), B' cross section through the sciatic nerve ligated for seventy two hours (Binary); C cross section through the sciatic nerve ligated for three days with injection of iron sulphate (Hematoxylin-Eosin X 640), C' cross section through the sciatic nerve ligated for three days with injection of iron sulphate (Binary).



**Fig. 4.** Quantitative analysis of Schwann cells following ligation or ligation associated with injection of iron sulphate. Values are given as the mean ± SEM, for groups of 6 animals each,  $p < 0.0001$ .



**Fig. 5.** Summary scheme.

neurophysiological reparative response is substantial after 72 h post-ligation. However, in order to achieve functional recovery, the damaged nerve segment must be reconstructed and confirmed by

behavioral or electrophysiological studies. In the present study, we aimed at determining the early changes occurring after nerve ligation (2 h) and later following 24 h or 72 h. Banasr et al. (2010) studied the influence of ligation on the expression of gelatinase in frog sciatic nerve. Interestingly, the investigation reported for the first time that (Matrix metalloproteinases) MMP-2 and MMP-9 are physiologically expressed in frog sciatic nerve, and MMP-9 expression increases following nerve injury. As previously reported, ligation of sciatic nerve induced MMP-9 at the early phases, but the mechanism of MMP-9 induction at the latter phases was still unclear. The study suggests that MMP-9 can be considered as a marker for degenerative changes that follows nerve ligation in frog nerve (Banasr et al., 2010).

The study point to evaluate the physiological or therapeutically recovery (with iron) of sciatic nerve. Interestingly, physiological recovery was observed following 72 h of ligation. By contrast, therapeutic recovery with iron was observed earlier following ligation.

So, iron can facilitate recovery of sciatic nerve between two hours and three days post ligation. Other therapeutic regeneration can be the consequence of many modalities and different strategies such as the administration of neurotrophic factors like BDNF, NGF; GDNF; NT 3 and 4 (Huang and Huang, 2006; Radlowski and Johnson, 2013; Yanru et al., 2014; Ziv-Polat et al., 2014). Promoting regeneration by iron in different species has been an appealing concept for many years but there are a few data related to frog investigation. Our data demonstrated that treatment with iron regenerate myelin sheaths. This present finding could be explained by the beneficial effects of iron on the action of some neurotrophic factors like neurotrophin-4 (NT-4) and basic fibroblast growth factor (bFGF) (Lobner and Ali, 2002; Radlowski and Johnson, 2013) that serve in the neuroprotection. *In vitro* and *in vivo* studies have shown that NT influence proliferation, differentiation, survival and regeneration of mature oligodendrocytes and oligodendrial precursors in favor of myelin repair. Two *in vivo* models provided direct evidence that NT can improve remyelination (Polin et al., 2013; Radlowski and Johnson, 2013). Some strategies for promoting axon regeneration across nerve gaps have included modifying the gap environment by augmenting the matrix (Williams and Varon, 1985; Madison et al., 1987), adding Schwann cells, administering growth-promoting factors or cyclic AMP (Neumann et al., 2002; Qui et al., 2002; Pita-thomas et al., 2010; Knott Eric et al., 2017). The mechanisms underlying the regeneration of frog sciatic nerve are unclear. Graeber et al. (1989) showed an increase in transferrin receptors in regenerating motor neurons with an elevated up take of exogenous iron. Myelin is a



multilamellar membrane structure that contains high levels of divalent metal cations, including zinc, most of which is bound to proteins. Several authors have proposed a role for zinc cations in the compaction of the mature myelin sheath (Riccio et al., 1995; Tsang et al., 1997). However, the specific effects of zinc on myelin proteins and their putative interactions have not been studied in detail. Myelin basic protein has been shown to be a zinc-binding protein (Tsang et al., 1997), and zinc has been shown to promote its aggregation (Riccio et al., 1995). From the previous discussion, it is clear that elevation of iron concentration in degenerated peripheral nerve especially frog sciatic nerve can have a positive impact on regeneration probably via interaction with divalent metals like zinc or selenium.

## 5. Conclusion

The present investigation described, for the first time as far as we know, that iron sulphate (FeSO<sub>4</sub>) could prevent degeneration or promote regeneration of frog sciatic nerve.

## Conflict of interest

The authors declare no competing financial interests.

## References

- Baba, M., Fowler, C.J., Jacobs, J.M., Gilliatt, R.W., 1982. Changes in peripheral nerve fibres distal to a constriction. *J. Neural Sci.* 54, 197–208.
- Baba, M., Gilliatt, R.W., Jacob, J.M., 1983. Recovery of distal changes after constriction by a ligature. *J. Neural Sci.* 60 (August (2)), 233–246.
- Banasr, S., Sbai, O., Ould-Yahoui, A., Gueye, Y., Sakly, M., Abdelmelek, H., 2010. Ligation induced Matrix-Metalloproteinase-9 activity in frog peripheral nervous system. *Arch. Ital. Biol.* 148, 397–403.
- Connor, J.R., Benkovic, S.A., 1992. Iron regulation in the brain: histochemical, biochemical, and molecular considerations. *Ann. Neurol.* 32, S51–S61.
- Das, H.K., Das, D., Doley, R., Sahu, P.P., 2016. Quantifying Demyelination in NK venom treated nerve using its electric circuit model. *Sci. Rep.*
- Ferchichi, Soumaya, Trabelsi, Hamdi, Azzouz, Inès, Hanini, Amel, Rejeb, Ahmed, Tebourbi, Olfa, Sakly, Mohsen, Abdelmelek, Hafedh, 2016. Evaluation of oxidative response and tissular damage in rat lungs exposed to silica-coated gold nanoparticles under static magnetic fields. *Int. J. Nanomed.* 2711. <http://dx.doi.org/10.2147/IJN.S103140>. 11(default).
- Graeber, M.B., Ravish, G., Kreutzberg, G.W., 1989. Increase of transferrin receptors and iron uptake in regenerating motor neurons. *J. Neurosci. Res.* 23 (July (3)), 342–345.
- Greminger, A.R., Mayer-Pröschel, Margot, 2015. Identifying the threshold of iron deficiency in the central nervous system of the rat by the auditory brainstem response. *ASN Neuro* 1–10. <http://dx.doi.org/10.1177/1759091415569911>.
- Greminger, A.R., Lee, D.L., Shrager, P., Mayer-Pröschel, M., 2014. Gestational iron deficiency differentially alters the structure and function of white and gray matter brain regions of developing rats. *J. Nutr.* 144, 1058–1066.
- Hanini, A., Schmitt, A., Kacem, K., Chau, F., Ammar, S., Gavard, J., 2011. Evaluation of iron oxide nanoparticle biocompatibility. *Int. J. Nanomed.* 6, 787–794.
- Huang, Y.-C., Huang, Y.-Y., 2006. Tissue engineering for nerve repair. *Biomed. Eng.: Appl. Basis Commun.* 18, 100–110.
- Jougleux, J.L., Rioux, F.M., Church, M.W., Fiset, S., Surette, M.E., 2014. Mild iron deficiency anaemia during pregnancy and lactation in guinea pigs alters amplitudes and auditory nerve velocity, but not brainstem transmission times in the offspring's auditory brainstem response. *Nutr. Neurosci.* 17, 37–47.
- Knott Eric, P., Assi Mazen, Rao, Sudheendra N.R., Pearse, Damien D., 2017. Phosphodiesterase inhibitors as a therapeutic approach to neuroprotection and repair. *Int. J. Mol. Sci.* 18 (4), 696. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms18040696>.
- Lemke, G., 1992. An Introduction to Molecular Neurobiology. In: Hall, Z.W. (Ed.), 2nd ed. Sinauer Associates, Sunderland, MA, pp. 281–312.
- Levi, Sonia, Taveggia, Carla, 2014. Iron homeostasis in peripheral nervous system, still a black box? *Antioxid. Redox Signal.* <http://dx.doi.org/10.1089/ars.2013.5813>.
- Li-Hua, Y., Hui-Min, Y., Qiu-Ping, X., Wei, S., Yan-Liang, X., Wei, M., Yu-Ping, L., Xin-Ping, L., Chun-Hua, Y., 2015. Cordycepin decreases compound action potential conduction of frog sciatic nerve in vitro involving Ca<sup>2+</sup>-dependent mechanisms. *Neural Plast.* 2015, 927817.
- Lobner, D., Ali, C., 2002. Mechanisms of bFGF and NT-4 potentiation of necrotic neuronal death. *Brain Res.* 954, 42–50. [http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993\(02\)03337-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0006-8993(02)03337-1).
- Madison, R.D., Da Silva, C., Dikkes, P., Chiu, T.H., Sidman, R.L., 1987. Peripheral nerve regeneration with entubulation repair: comparison of biodegradable nerve guides versus polyethylene tubes and the effects of a laminin-containing gel. *Exp. Neurol.* 95, 378–390.
- Mbainabeye, J., Ezzedine, B.B., Mohamed, B.S., Moshen, S., Abdelmelek, H., 2012. Analysis and characterization of the electrical conductivity behavior of the sciatic nerve using wavelet transform and signal processing. *Int. J. Electron. Commun. Comput. Eng.* 4, 2278–4209.
- Neumann, S., Bradke, F., Tessier-Lavigne, M., Basbaum, A.I., 2002. Regeneration of sensory axons within the injured spinal cord induced by intraganglionic cAMP elevation. *Neuron* 34, 885–893.
- Pita-thomas, Wolfgang, Fernandez-Martos, Carmen, Yunta, Mónica, Nieto-Díaz, Manuel, 2010. Gene expression of axon growth promoting factors in the deer antler. *PLoS One* 5 (12), e15706. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0015706>.
- Polin, V., Coriat, R., Perkins, G., Dhooge, M., Abitbol, V., Leblanc, S., Chaussade, S., 2013. Iron deficiency: from diagnosis to treatment. *Dig. Liver Dis.* 45, 803–809.
- Qui, J., Cai, C.M., Filbin, M., 2002. A role of cAMP on regeneration during development and after injury. *Prog. Br. Res.* 137, 381–387.
- Radlowski, E.C., Johnson, R.W., 2013. Perinatal iron deficiency and neurocognitive development. *Front. Hum. Neurosci.* 7, 585.
- Rao, R., Tkac, I., Unger, E.L., Ennis, K., Hurst, A., Schallert, T., Georgieff, M.K., 2013. Iron supplementation dose for perinatal iron deficiency differentially alters the neurochemistry of the frontal cortex and hippocampus in adult rats. *Pediatr. Res.* 73, 31–37.
- Riccio, P., Giovannelli, S., Bobba, A., Romito, E., Fasano, A., Blevè-Zacheo, T., Favilla, R., Quagliariello, E., Cavatorta, P., 1995. Specificity of zinc binding to myelin basic protein. *Neurochem. Res.* 20, 1107–1113.
- Stoll, G., Jander, S., Schroeter, M., 2002. Detrimental and beneficial effects of injury-induced inflammation and cytokine expression in the nervous system. *Adv. Exp. Med. Biol.* 513, 87–113.
- Trabelsi, H., Azzouz, I., Ferchichi, S., Tebourbi, O., Sakly, M., Abdelmelek, H., 2013. Nanotoxicological evaluation of oxidative responses in rat nephrocytes induced by cadmium. *Int. J. Nanomed.* 8, 3447–3453.
- Tran, P.V., Fretham, S.J.B., Wobken, J., Miller, B.S., Georgieff, M.K., 2012. Gestational-neonatal iron deficiency suppresses and iron treatment reactivates IGF signaling in developing rat hippocampus. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 302, E316–E324.
- Tsang, D., Tsang, Y.S., Ho, W.K., Wong, R.N., 1997. Myelin basic protein is a zinc-binding protein in brain: possible role in myelin compaction. *Neurochem. Res.* 22, 811–819.
- Waller, A., 1850. Experiments on the section of the glossopharyngeal and hypoglossal nerves of the frog, and observations of the alterations produced thereby in the structure of their primitive fibres. *Philos. Trans. R. Soc. Lond.* 140, 423–429.
- Williams, L.R., Varon, S. f., 1985. Modification of fibrin matrix formation in situ enhances nerve regeneration in silicone chambers. *J. Comp. Neurol.* 8 (January (2)), 209–220.
- Yanru, Zhang, Hui, Zhang, Kaka, Katiella, Wenhua, Huang, 2014. Chemically extracted acellular allogeneic nerve graft combined with ciliary neurotrophic factor promotes sciatic nerve repair. *Neural Regen. Res.* <http://dx.doi.org/10.4103/1673-5374.137588>.
- Ziv-Polat, Ofra, Shahar, Abraham, Levy, Itay, Skaat, Hadas, Neuman, Sara, Fregnan, Federica, Geuna, Stefano, Grothe, Claudia, Haastert-Talini, Kirsten, Margel, Shlomo, 2014. The role of neurotrophic factors conjugated to iron oxide nanoparticles in peripheral nerve regeneration: in vitro studies. *BioMed. Res. Int.* <http://dx.doi.org/10.1155/2014/267808>.