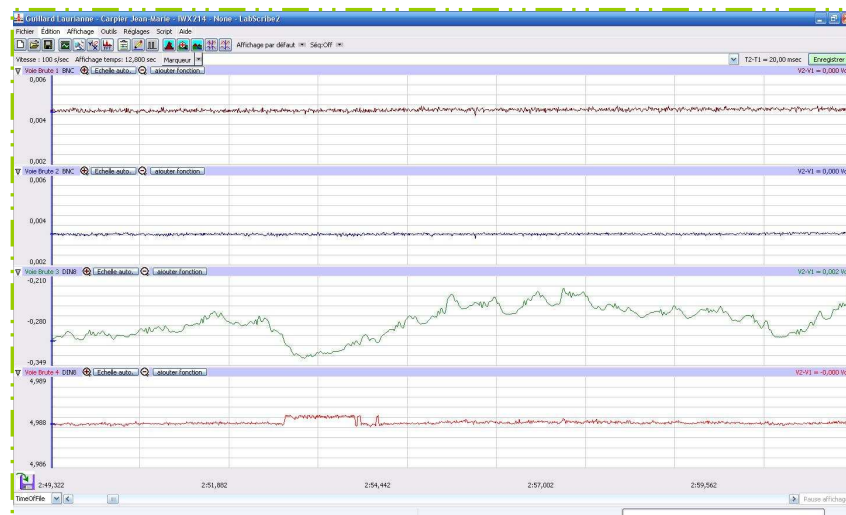
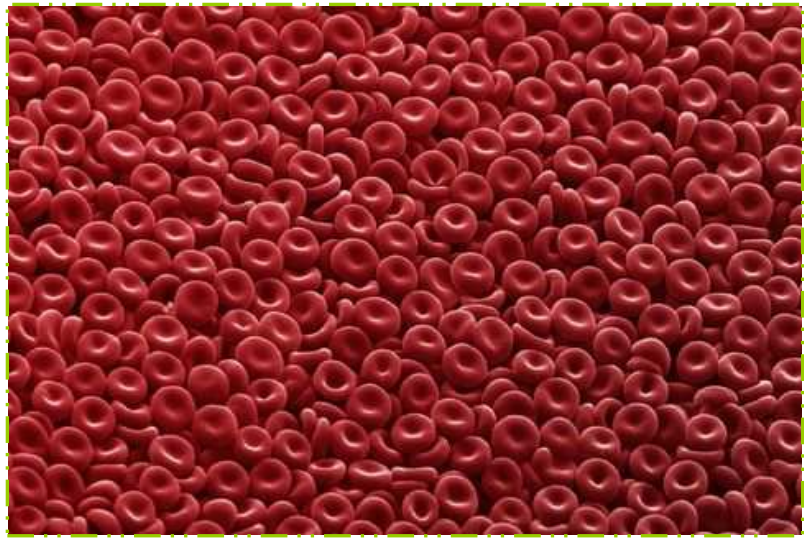
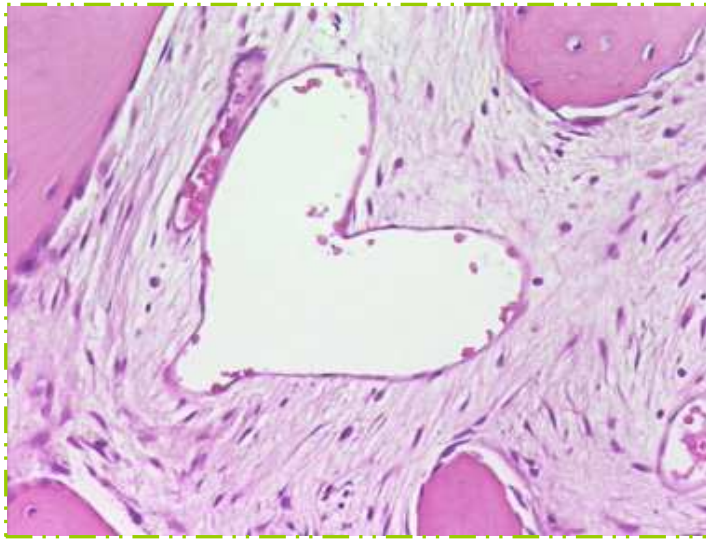


PHYSIOLOGIE ANIMALE

Compte-rendu des travaux pratiques



Auteur : GUILLARD Laurianne
CARPIER Jean-Marie

Encadrement : Madame C. GUILLAUME

Sommaire

Chapitre 1 : Histologie	3
<u>Introduction</u>	3
<u>I-Matériel et méthode</u>	3
A- <u>Préparation des coupes histologiques</u>	3
B- <u>Observation</u>	4
<u>II-Observations et exploitations</u>	5
A- <u>Etude de la structure de glandes sécrétrices</u>	5
1- <u>La glande thyroïde</u>	5
a) <u>Thyroïde en hypoactivité</u>	5
b) <u>Thyroïde en hyperactivité</u>	7
c) <u>Activité et variation de structure</u>	8
2- <u>Glande lacrymale</u>	9
3- <u>Le pancréas</u>	11
4- <u>Exploitation</u>	14
B- <u>Etude histologique et pathologie</u>	14
1- <u>Foie sain</u>	14
2- <u>Foie cirrhotique</u>	15
3- <u>Exploitation</u>	16
C- <u>Etude de la structure d'une artère et d'une veine</u>	17
1- <u>Artère</u>	18
2- <u>Veine</u>	19
3- <u>Comparaison artère/veine</u>	19
D- <u>Etude de la structure de la moelle épinière et du cerveau</u>	20
1- <u>Moelle épinière</u>	20
2- <u>Cerveau</u>	22
<u>Conclusion</u>	24
Chapitre 2 : Etude des paramètres sanguins	25
<u>Introduction</u>	25
<u>I-Matériels et méthodes</u>	25
A- <u>Etude quantitative des hématies et des leucocytes</u>	25
1- <u>Préparation des lames de Malassez</u>	25
a) <u>Description</u>	25
b) <u>Mise en place de la lamelle et de la solution</u>	26
2- <u>Préparation des dilutions</u>	27
a) <u>Préparations des solutions de dilution</u>	27
b) <u>Utilisation de l'unopette</u>	27
3- <u>Observation et lecture</u>	29
B- <u>Etude qualitative des leucocytes</u>	29
1- <u>Reconnaissance des leucocytes</u>	29
a) <u>La lignée myéloïde</u>	29
b) <u>La lignée lymphoïde</u>	30
2- <u>Etablissement de la formule leucocytaire</u>	30
a) <u>Réalisation d'un frottis sanguin</u>	30
b) <u>Observation et établissement de la formule leucocytaire</u>	30
<u>II-Observations et exploitations</u>	31
A- <u>Etude quantitative des hématies et leucocytes</u>	31
1- <u>Numération des hématies</u>	31
a) <u>Observation et numération des hématies du sang dilué manuellement</u>	31

b)Observation et numération des hématies du sang dilué par l'unopette.....	32
c)Comparaisons	32
2-Numération des leucocytes	33
B-Etude qualitative leucocytes.....	33
Conclusion.....	34
Chapitre 3 : Réponse électrodermale	35
Introduction	35
I-Matériel et méthode	35
A-Méthode d'acquisition.....	35
1-Dispositif d'acquisition	35
2-Logiciel d'acquisition	36
B-Enregistrement et stimulations.....	37
1-Enregistrement et étalonnage	37
2-Enoncé de mots	37
3-Enonciation d'un mensonge.....	38
4-Stimulations brusques	38
II-Résultats et discussion.....	39
A-Etalonnage.....	39
B-Enoncé de mots	40
1-Stimulus induisant une réponse électrodermale.....	40
2-Stimulus n'induisant pas de réponse électrodermale	41
C-Enonciation d'un mensonge	42
D-Stimulations brusques	43
Conclusion.....	44
Liste des figures	45
Bibliographie.....	47

Chapitre 1 : Histologie

(TP n° 1)

Introduction

La biologie est, en très grande partie et par différents moyens, basée sur l'observation du vivant. Ainsi, l'histologie est l'étude morphologique des tissus d'un organisme. Ces tissus sont composés de structures et cellules spécialisées et s'assemblent de manière variable pour former des organes qui eux-mêmes formeront des appareils dédiés aux grandes fonctions de l'organisme (respiration, digestion, etc.,...).

Nous nous sommes alors intéressés à la structure de certains tissus et notamment :

- au tissu de glandes sécrétrices,
- au tissu hépatique en s'intéressant à une pathologie connue,
- à certain tissu de l'appareil circulatoire,
- au tissu nerveux de la moelle épinière et du cerveau.

I-Matériel et méthode

La structure précise des tissus n'est pas visible à l'œil nu. Afin de bien les observer, de bien caractériser les cellules, on utilise un microscope dit « optique » ou « photonique ». Certaines préparations sont nécessaires avant l'observation.

A- Préparation des coupes histologiques

L'observation au microscope nécessite la préparation de coupe histologique du tissu à observer.

Cette préparation se réalise principalement en quatre grandes étapes :

- fixation
- inclusion
- coupe
- coloration

La fixation sert à stopper les réactions au sein du tissu ainsi qu'à durcir le tissu, ce qui facilite alors la coupe. Différents fixateurs peuvent être utilisés selon les molécules à fixer (fixation des lipides, pontage entre protéines, etc.,...). Le liquide de Bouin est par exemple un fixateur très utilisé.

L'inclusion est indispensable avant la coupe. Différentes techniques sont utilisées. On a notamment l'inclusion en paraffine qui rend au tissu, à l'origine hétérogène, une consistance homogène, rigide et hydrophobe et pourra être conservée de nombreuses années.

La coupe se fait avec un microtome, sorte de lame animée d'un mouvement vertical et sous laquelle passe le bloc de tissu qui est alors coupé tous les 4 à 6µm environ. Les coupes sont alors déposées sur des lames de verre. Le tissu peut aussi être congelé et coupé par un cryomicrotome.

La coloration est indispensable pour observer un matériel biologique transparent. Elle nécessite de déparaffiner la coupe car les colorants sont en solution aqueuse. On utilise en général des colorants qui ont une certaine affinité selon les pH.

Les coupes histologiques qui ont été observées lors de ce TP étaient fournies et pour la plupart colorées à l'hémalun-éosine ; cette coloration topographique met à la fois en valeur les structures dites basophiles (hématéine), qui comportent donc des entités acides, et les structures acidophiles (éosine), qui présentent des entités basiques.

B- Observation

Le microscope utilisé est un microscope photonique classique (*figure n°1 et 2*) et l'observation du matériel biologique se fait par transparence. La lumière traverse la préparation et est recueillie et dirigée par un système de deux lentilles convergentes (objectif puis oculaire) jusqu'à l'œil de l'observateur (*figure n°1*).

Figure n°1 : Microscope photonique (vu de face).



Figure n°2 : Microscope photonique (vu de profil).

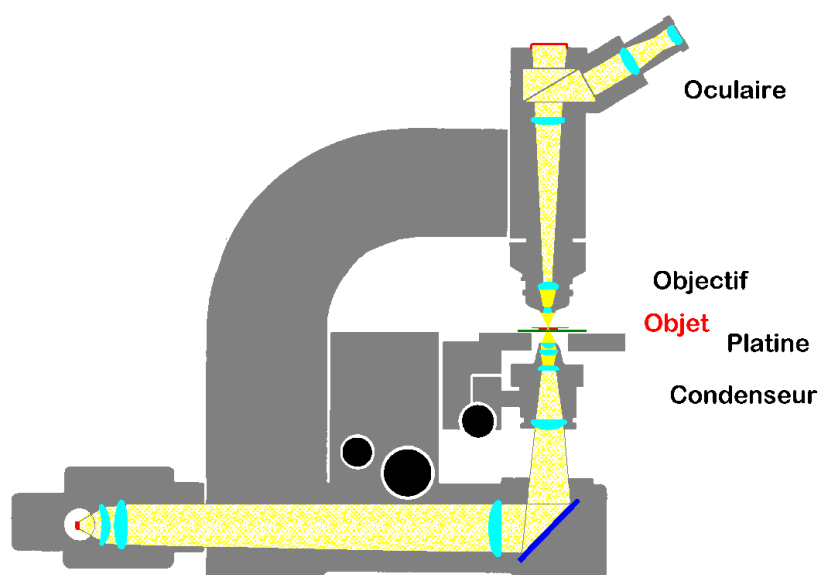
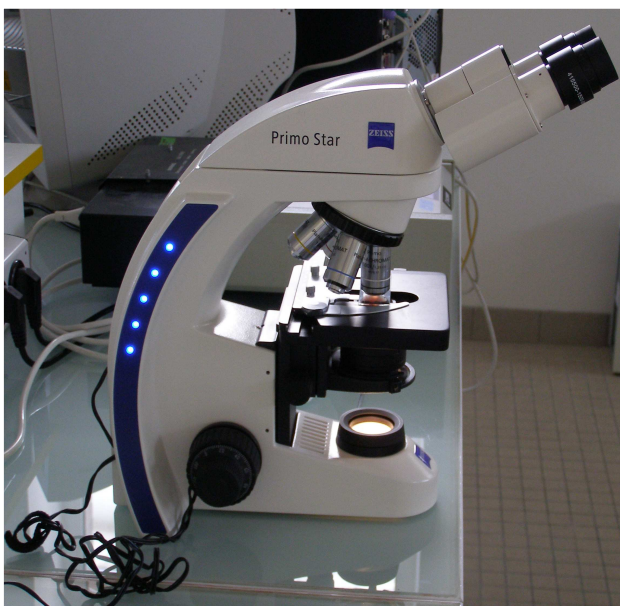


Figure n°3 : Schématisation du système interne d'un microscope photonique classique

La mise au point se fait d'abord au faible grossissement afin d'observer l'organisation globale du tissu et aussi de choisir le champ intéressant, le plus caractéristique à dessiner. En fonction des tissus à observer, des structures à dessiner, on peut augmenter le grossissement, de manière judicieuse.

II-Observations et exploitations

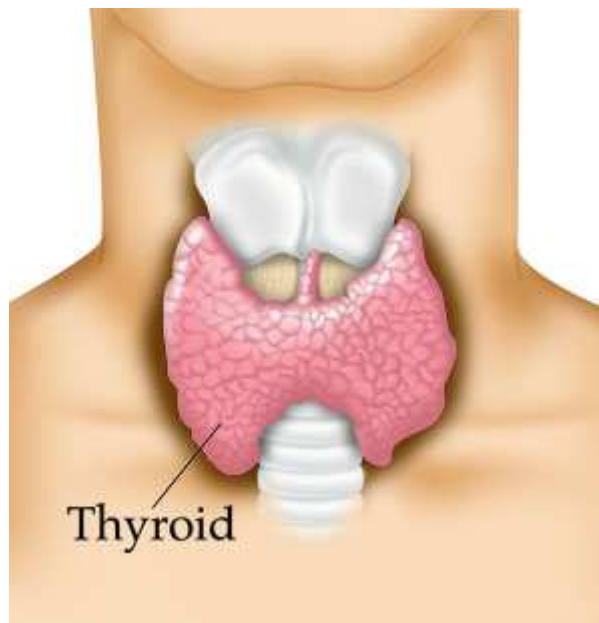
A- Etude de la structure de glandes sécrétrices

Trois glandes sécrétrices ont été observées : la glande thyroïde, les glandes lacrymales, et le pancréas.

1- La glande thyroïde

D'un point de vue anatomique la glande thyroïde est une glande située à la base du cou en avant de la trachée et du larynx chez l'homme comme le montre la *figure n°4* :

Figure n°4 : Schématisation de la thyroïde en place, chez l'homme.



(CASEY, 2007)

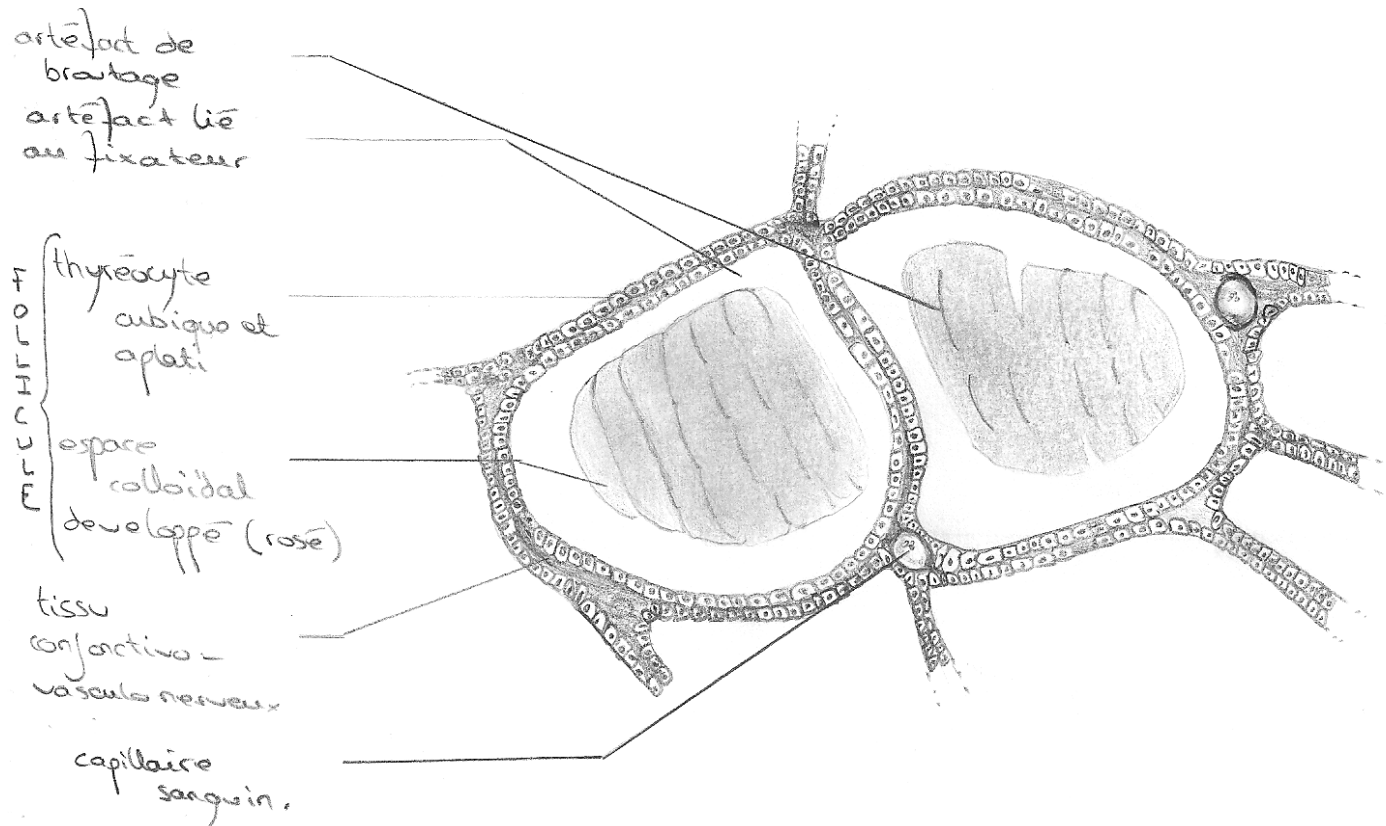
La glande thyroïde sécrète les hormones thyroïdiennes T_3 - T_4 qui jouent un rôle important dans le métabolisme général.

D'un point de vue histologique, selon l'activité de la glande, les cellules thyroïdiennes n'ont pas le même aspect.

a) Thyroïde en hypoactivité

On schématise sur la *figure n°5* des follicules thyroïdiens en hypoactivité.

Figure n°5 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande thyroïde colorée l'hémalun-éosine (grossissement X400).



On observe très nettement une structure en follicules assemblés.

Ces vésicules thyroïdiennes sont des structures plus ou moins sphériques constituées en périphérie par un épithélium simple constitué en majorité par des cellules spécialisées (deux types cellulaires en réalité), les thyrocytes qui sont cubiques et aplatis. Au centre, ces follicules thyroïdiens présentent une cavité, l'espace colloïde, rempli du liquide colloïde.

Cet espace colloïde est relativement développé, rendant les follicules thyroïdiens volumineux.

C'est ainsi que la taille du follicule, l'aspect de la colloïde ainsi que des thyrocytes nous permettent d'affirmer que ces follicules sont en hypoactivité.

De plus, chacun de ces follicules est tapissé par un tissu conjonctivo-vasculo-nerveux plus ou moins développé et visible entre deux follicules voisins ; ce dernier présente du tissu conjonctif, des capillaires sanguins et des éléments nerveux.

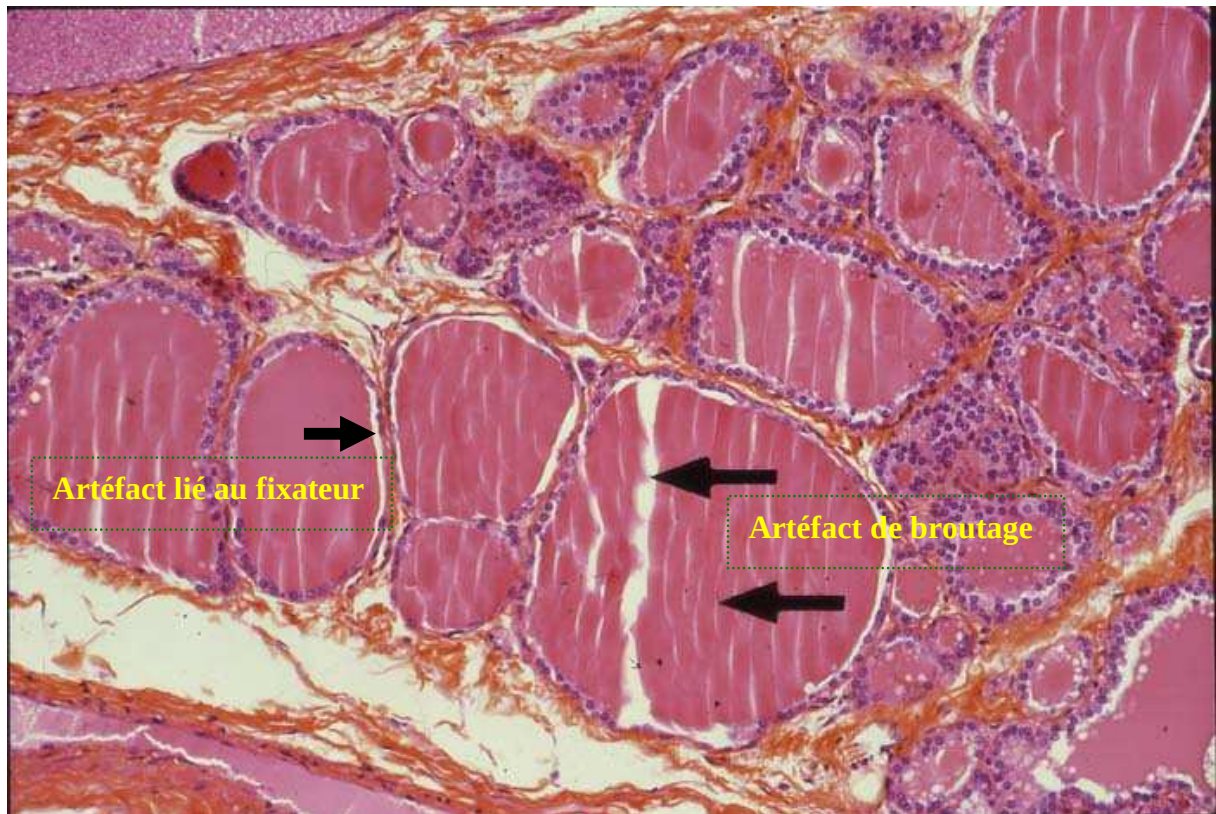
Enfin, on note deux artéfacts liés à la préparation des coupes.

Ainsi, dans l'espace colloïde un décollement plus ou moins important (ici, sur tout le pourtour) est visible. Cet artéfact est lié au fixateur qui lors de son application a induit une rétraction de la colloïde.

Le second artéfact dit de « brutage » est lié à la coupe qui crée toute une série de « discontinuités » dans la colloïde.

On peut voir ces artéfacts sur les *figures n°5 et 6*.

Figure n°6 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande thyroïde colorée l'hématéine-éosine-safran (fort grossissement).

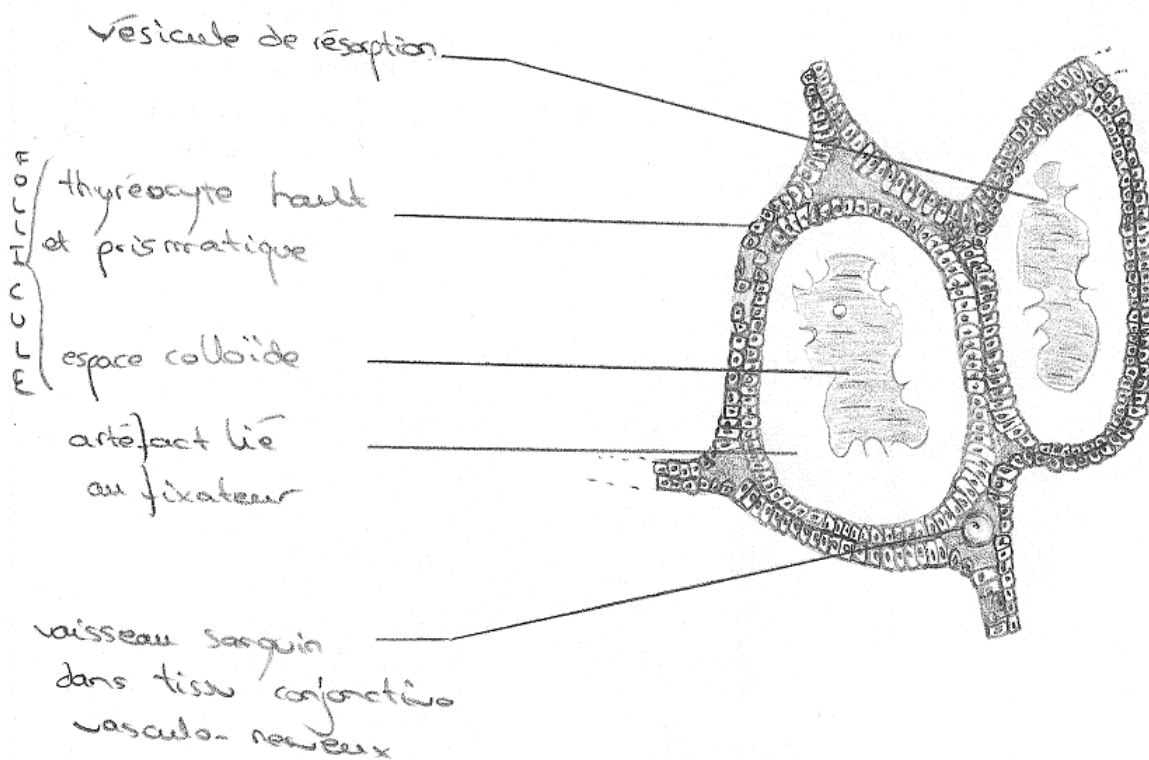


(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

b) Thyroïde en hyperactivité

La structure histologique observée est schématisée sur la *figure n°7* :

Figure n°7 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande thyroïde colorée l'hémalum-éosine (grossissement X400).



On remarque très clairement que les follicules thyroïdiens ont une taille relativement faible due à la colloïde qui a un faible volume.

Les thyrocytes sont d'aspect plutôt haut et prismatique.

La colloïde présente sur tout son pourtour, l'artéfact caractéristique lié au fixateur.

On note également un aspect caractéristique de la colloïde d'un follicule en hyperactivité : elle présente des vésicules de résorption, normalement en regard des thyrocytes.

Sur coupe histologique réelle, l'aspect des vésicules de résorption de la colloïde est le suivant en 2, (en 1, un thyrocyte) :



(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

Figure n°8 : Observation au microscope photonique de l'épithélium de follicule thyroïdien coloré à l'hémalun-erythrosine-safran (fort grossissement).

Des vaisseaux sanguins sont également observables dans le tissu conjonctivo-vasculo-nerveux.

c) Activité et variation de structure

Acides aminés et molécules d'iode présents dans le sang, dans les capillaires sanguins traversant le tissu conjonctivo-vasculaire, sont capturés par les thyrocytes des follicules thyroïdiens. Ces éléments sont transférés vers l'espace colloïde ; le volume de la colloïde augmente alors. Le follicule est en hypoactivité.

Des réactions s'opèrent dans la colloïde à partir de l'iode stocké et des dérivés d'acides aminés formés à partir des acides aminés captés dans le sang. Ces réactions contribuent à former les précurseurs des hormones thyroïdiennes.

Les cellules thyroïdiennes entrent alors en activité et phagocytent la colloïde grâce à des pseudopodes (excroissance temporaire de la membrane). Les vésicules de résorption décrites sont en réalité les traces de cette phagocytose. Le volume de la colloïde diminue.

Les dernières réactions conduisant à la formation des hormones T_3 - T_4 s'opèrent dans le cytoplasme. Ces hormones ainsi que les déchets de leur production sont libérés dans le sang et iront réguler l'activité de tissu-cibles.

Ainsi, les follicules les plus volumineux sont les moins actifs alors que les plus petits sont les plus actifs.

2- Glande lacrymale

La glande lacrymale est une glande située à l'angle supéro-externe du globe oculaire, comme le montre la *figure n°9*.

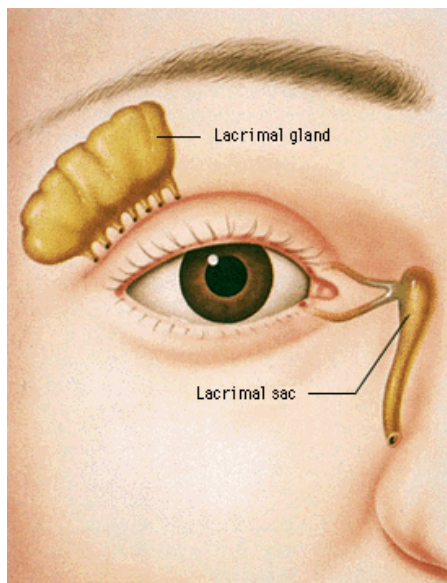
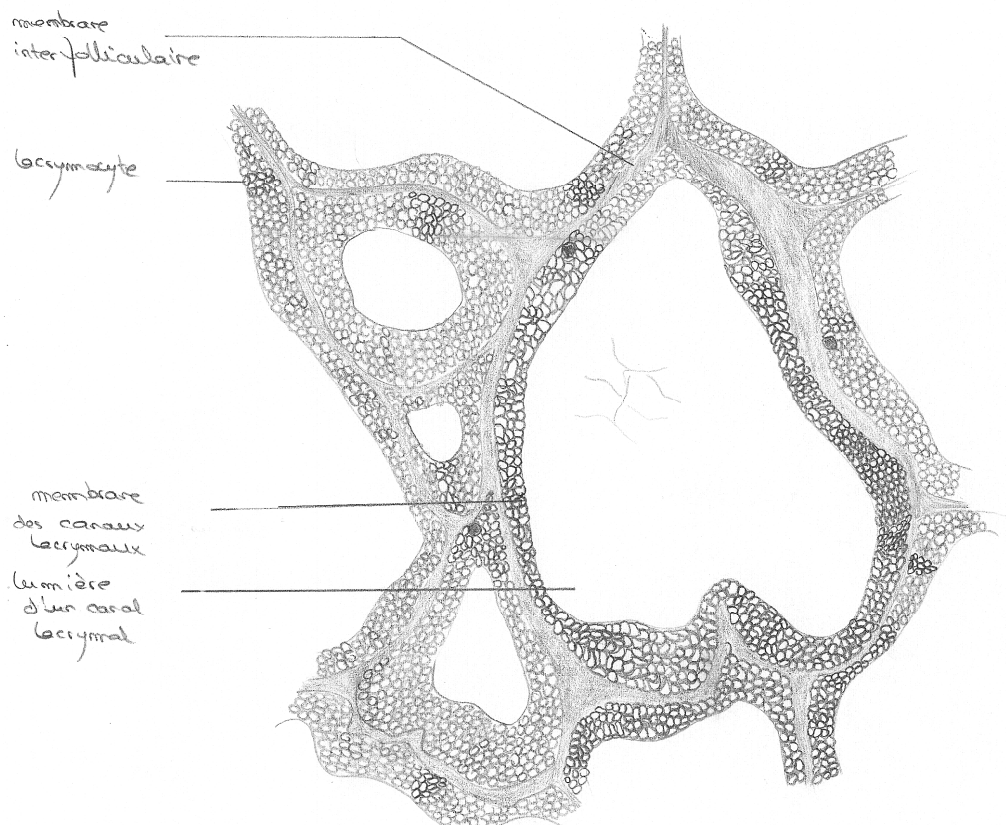


Figure n°9: Glande lacrymale en place chez l'homme.

(DARLING, 2008)

La structure observée est représentée sur le dessin suivant, *figure n°10* :

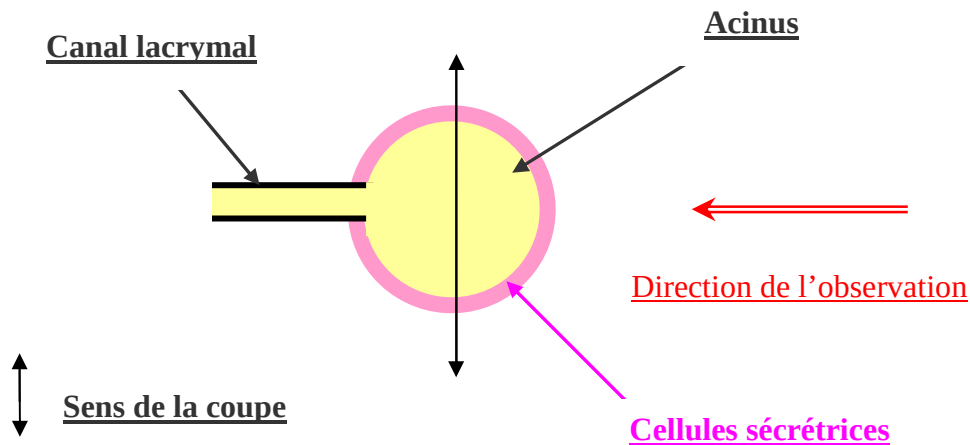
Figure n°10 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande lacrymale (grossissement X400).



La glande lacrymale est formée par un grand nombre d'unités excrétrices qui sont les tubulo-acinus.

Ces unités sont constituées par des cellules sécrétrices nombreuses situées entre la basale et ce qui semble être une membrane les séparant de la lumière centrale, l'ensemble formant l'acinus. Un acinus est un cul de sac de sécrétion se poursuivant par un canal lacrymal. La structure « d'une glande », d'une unité excrétrice est donc celle-ci :

Figure n°11 : Schéma d'une unité sécrétrice de glande lacrymale.



Les cellules sécrétrices sont dites acineuses car elles sécrètent dans des acinus et séreuses car leur sécrétion est de type protéique enzymatique. En effet, cette dernière est composée de chlorure de sodium mais aussi de lysozyme. Le liquide lacrymal a donc un rôle de nutrition mais aussi protecteur de la cornée.

Les unités excrétrices sont séparées entre elles par un tissu conjonctif plus ou moins épais et peuvent s'organiser en lobules (Lo) comme le montre la *figure n°12* :

Figure n°12 : Coupe histologique d'une glande lacrymale de singe, incluse en paraffine (grossissement X132).



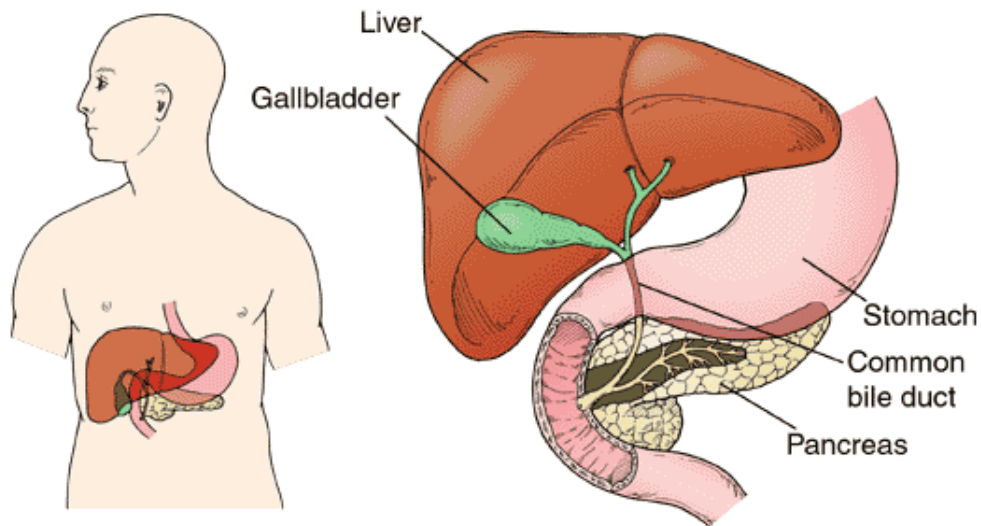
Légende :

- Lo. Lobes
- CT. Tissu conjonctif
- SA. Acinus séreux
- N. Noyaux au pôle basal des cellules

(GARTNER & HIATT, 2005)

3- Le pancréas

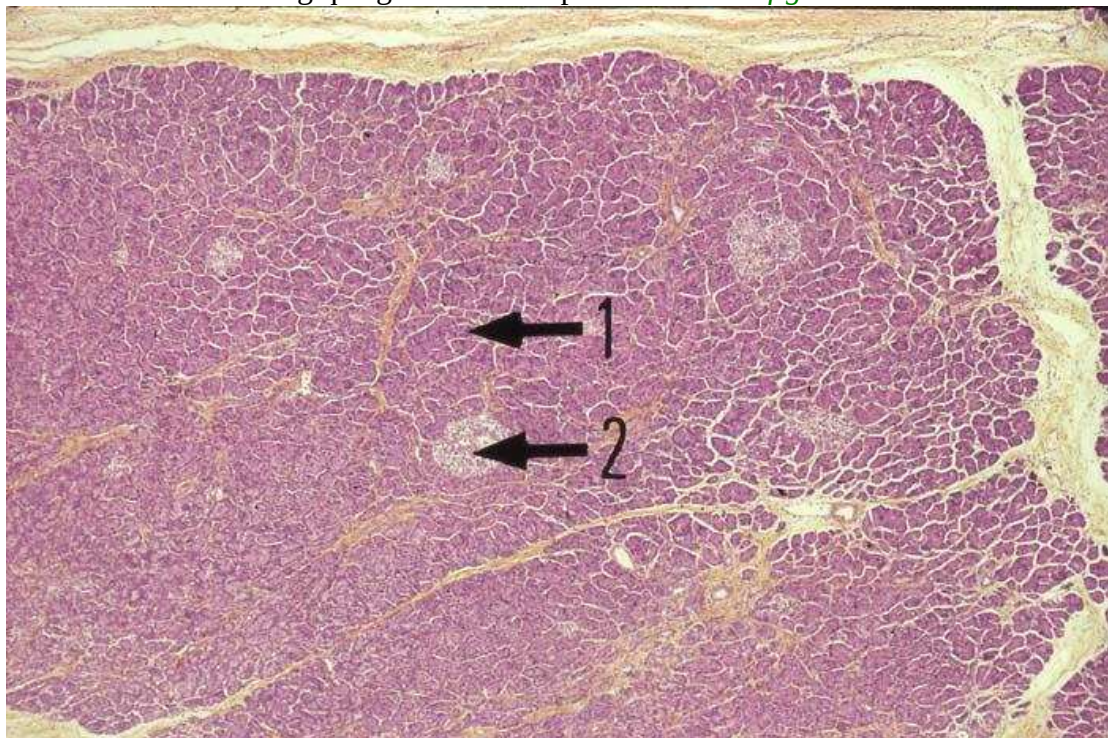
Le pancréas (*figure n°13*) est une glande dite amphicrine. Elle présente à la fois des unités sécrétrices exocrines et endocrines.



(FAIRVIEW HEALTH SERVICES, 2007)

Figure n°13 : Schématisation du pancréas en place, chez l'homme.

La structure histologique générale est représentée sur la *figure n°14*.



(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

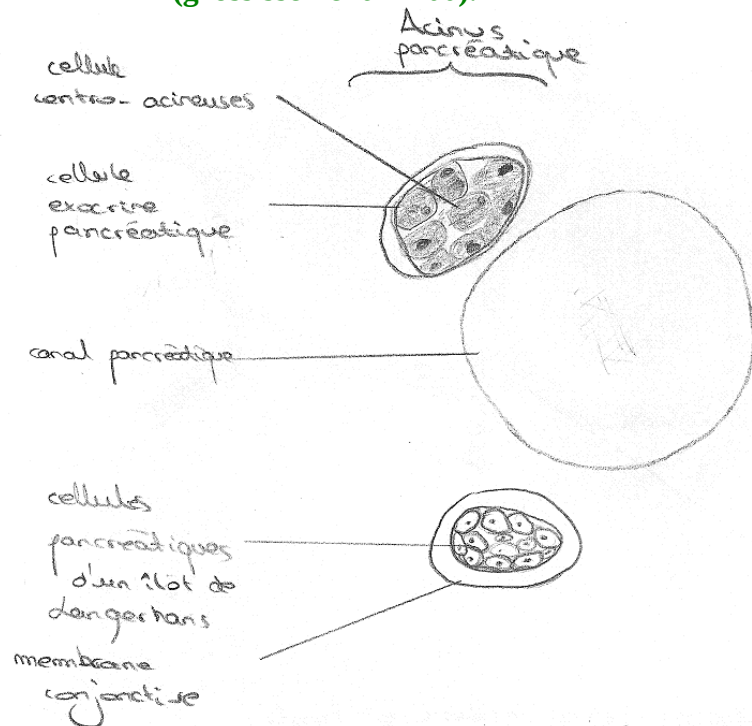
Figure n°14 : Observation au microscope photonique d'une coupe de pancréas colorée à l'hémalun-érythrosine-safran (faible grossissement)

Légende

1. Unité exocrine
2. Unité endocrine

L'observation de la coupe de pancréas est représentée sur la *figure n°15* :

Figure n°15 : Observation au microscope photonique d'une coupe de pancréas (grossissement X400).

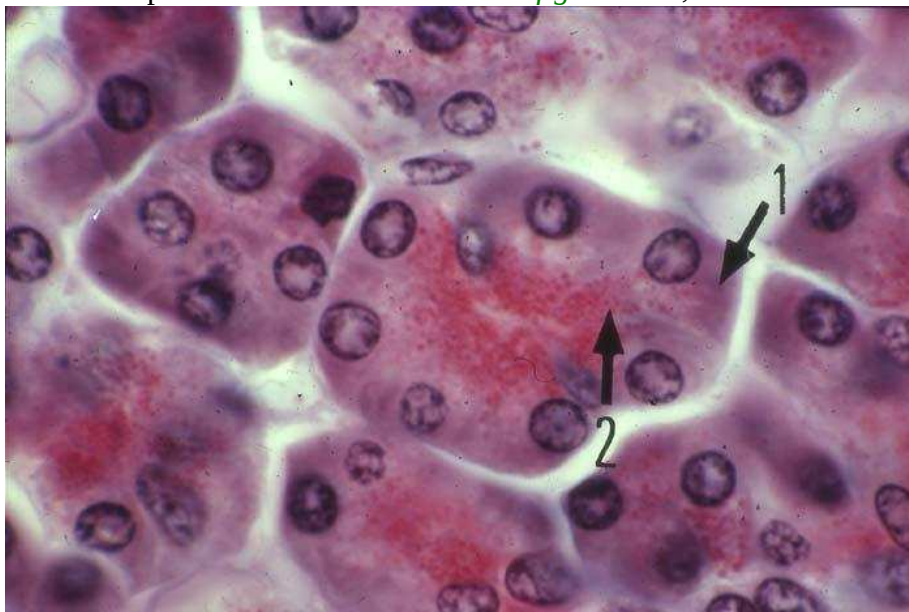


On distingue deux parties dans cette coupe.

En effet, d'une part, on observe des groupes de cellules plutôt volumineuses et sombres (basophiles). Ce sont les cellules exocrines qui synthétisent les grains de zymogènes, enzymes pancréatiques. Elles sont en réalité organisées, comme pour la glande lacrymale, au niveau d'un acinus. Cependant, des cellules peuvent faire saillie dans la lumière de l'acinus ; ces cellules sont les cellules centro-acineuses, dont le rôle est mal connu, peut-être la régénération des cellules endocrines du pancréas.

Des canaux volumineux sont présents pour la collection du contenu des acini.

On peut observer un acinus sur la *figure n°16*, suivante :



Légende :

1. Cellule exocrine
2. Grains de zymogène

(FACULTES
UNIVERSITAIRES NOTRE-
DAME DE LA PAIX, 2007)

Figure n°16: Observation au microscope photonique d'une coupe d'acinus pancréatique colorée à l'hémalum-érythrosine-safran (fort grossissement).

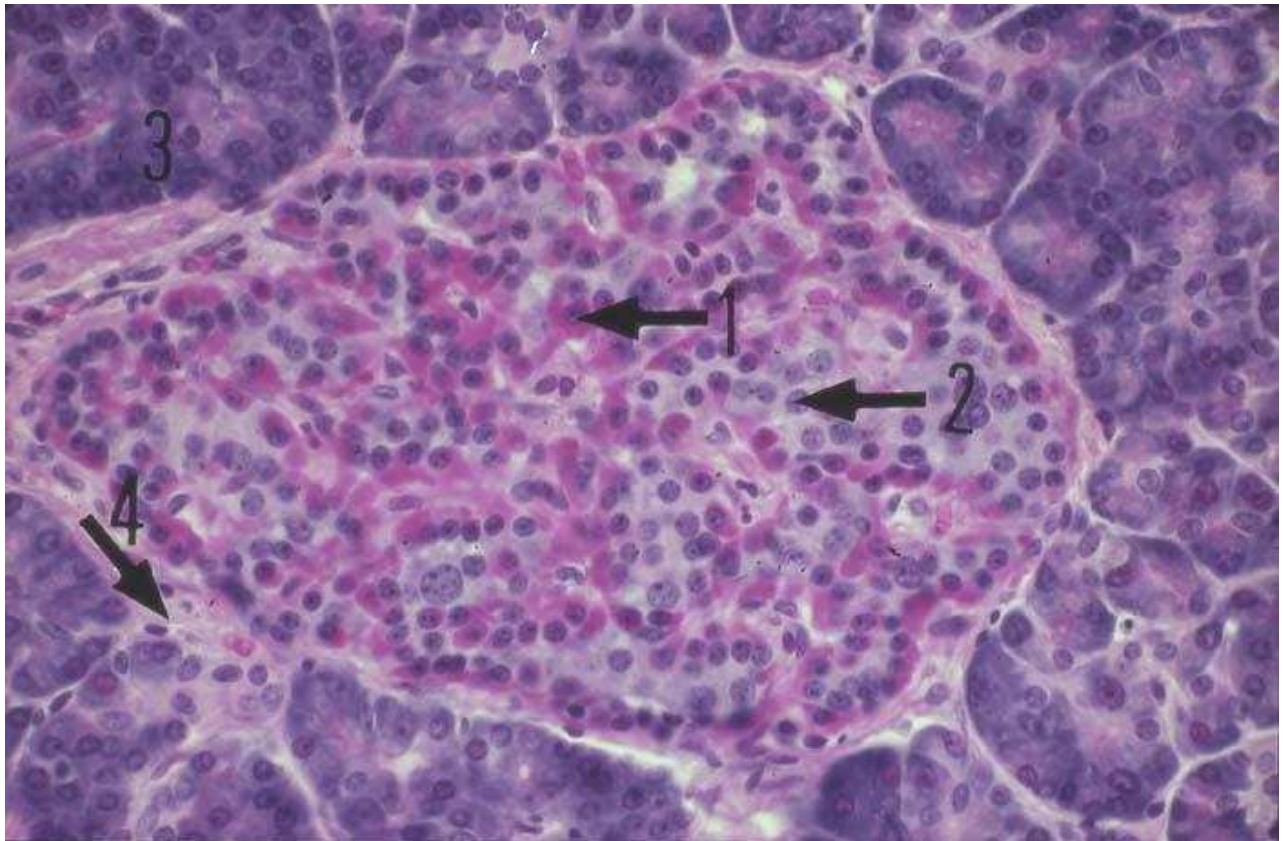
D'autre part, on note la présence d'amas de cellules, bien plus claires (*figure n°17, en 1 et 2*). Ces « îlots » constituent la portion exocrine du pancréas, on parle des îlots de Langerhans. Ils comportent 4 types cellulaires endocrines différents chez l'homme :

- les cellules α sécrétant le glucagon, hormone hyperglycémiant,
- les cellules β sécrétant l'insuline, hormone hypoglycémiant,
- les cellules δ sécrétant le somatostatine dont le rôle est varié (essentiellement inhibiteur sur différentes sécrétions comme celles de l'insuline, du glucagon, ou d'hormone hypophysaire),
- les cellules PP sécrétant le polypeptide pancréatique qui a une action hyperglycémiant.

Il existe, sur la coupe observée, une conjonctive autour des îlots, ce qui nous pousse à nous dire que ce tissu a peut-être été extrait d'un pancréas de rat.

Enfin, on notera que les îlots de Langerhans n'étaient pas aussi regroupés que ce que l'on peut voir dans un pancréas humain. Ces îlots étaient en effet beaucoup plus diffus d'une taille légèrement plus grande que celle des acini.

Figure n°17: Observation au microscope photonique d'un îlot de Langerhans colorée à l'hémalun-érythrosine-safran (fort grossissement).



(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

Légende

1. cellule α
2. cellule β
3. portion exocrine
4. capsule conjonctive

4- Exploitation

Nous avons observé qu'en ce qui concerne la glande lacrymale et la portion exocrine du pancréas, les unités sécrétrices sont des structures en acinus ou en tubulo-acinus reliées à des canaux qui se jettent dans des canaux plus importants et pour finir dans des canaux excréteurs terminaux.

Il s'agit bien là de glandes exocrines qui d'un point de vue physiologique excrètent dans le milieu extérieur : les larmes sur la cornée ensuite évacuées dans les fosses nasales, les grains de zymogènes dans la lumière intestinale.

A l'inverse, les glandes endocrines sont dépourvues de canaux excréteurs.

Pour les îlots de Langerhans du pancréas et la thyroïde, les structures cellulaires sont respectivement des amas cellulaires et des follicules entourés de capillaires sanguins (non observés pour les îlots de Langerhans).

Des précurseurs sont captés dans le sang et servent à synthétiser des molécules qui retourneront dans le sang. Ainsi, d'un point de vue général, la sécrétion endocrine correspond à la sécrétion de toute substance fabriquée par une cellule dans le milieu intérieur.

Cependant, très souvent cette notion est restreinte à la sécrétion d'hormones comme les hormones T_3 - T_4 ou l'insuline qui sont libérées dans le sang (une condition sine qua non pour qualifier une hormone) et régulent l'activité d'un tissu-cible.

Une glande amphicrine est à la fois endocrine et exocrine.

B- Etude histologique et pathologie

1- Foie sain

Tout comme le pancréas, le foie est un organe appartenant à l'appareil digestif, comme on peut le voir sur la *figure n°13* (« liver »).

On schématise les structures observées sur la *figure n°18* :

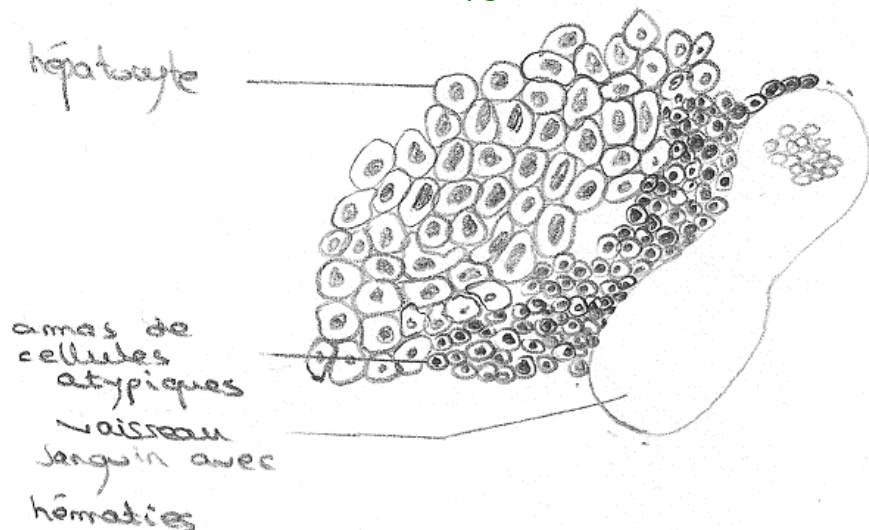


Figure n°18 : Observation au microscope photonique d'une coupe de foie sain colorée à l'hémalun-éosine (grossissement X400)

Une population cellulaire prédomine très largement dans le foie ; ces cellules sont regroupées sous le nom général d'hépatocytes. On remarque que ces cellules sont assez volumineuses, plutôt polygonales avec un noyau bien visible.

Cependant, une deuxième population a été observée. Les cellules sont plus petites, arrondies et regroupées en amas relativement volumineux mais ne sont pas obligatoirement aux abords de vaisseaux sanguins comme le schéma semble le suggérer. Deux hypothèses sont possibles.

Ces cellules sont peut-être des précurseurs d'éléments figurés du sang ; cette hypothèse n'est possible que dans le cas d'un foie fœtal. L'hypothèse la plus probable est cependant qu'il s'agit de population de cellules biliaires mais elles n'ont pas été observées sur d'autres coupes.

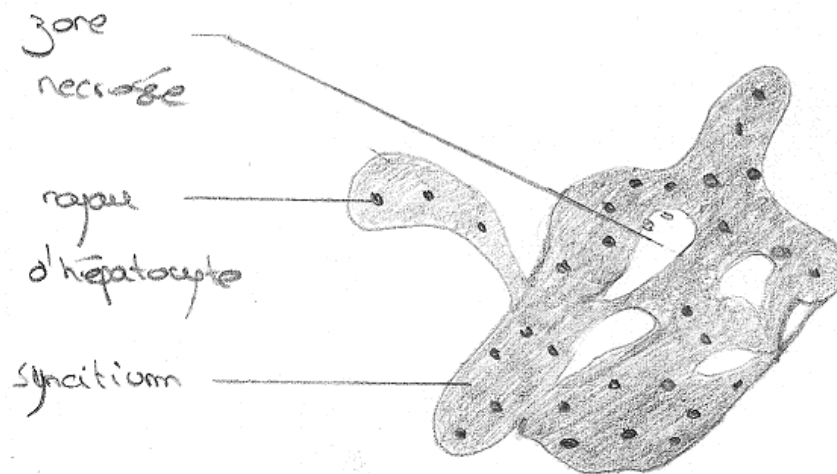
A noter que le foie a une structure lobulée avec des cloisons interlobulaires, sauf chez l'homme où les lobules sont plutôt mis en valeur par des techniques de coloration mettant en relief le glycogène.

2- Foie cirrhoté

La cirrhose est une pathologie propre au foie.

Ses effets sur la structure histologique du foie ont été représentés sur la *figure n° 19*.

Figure n°19 : Observation au microscope photonique d'une coupe de foie cirrhoté colorée à l'hémalun-éosine (grossissement X400).

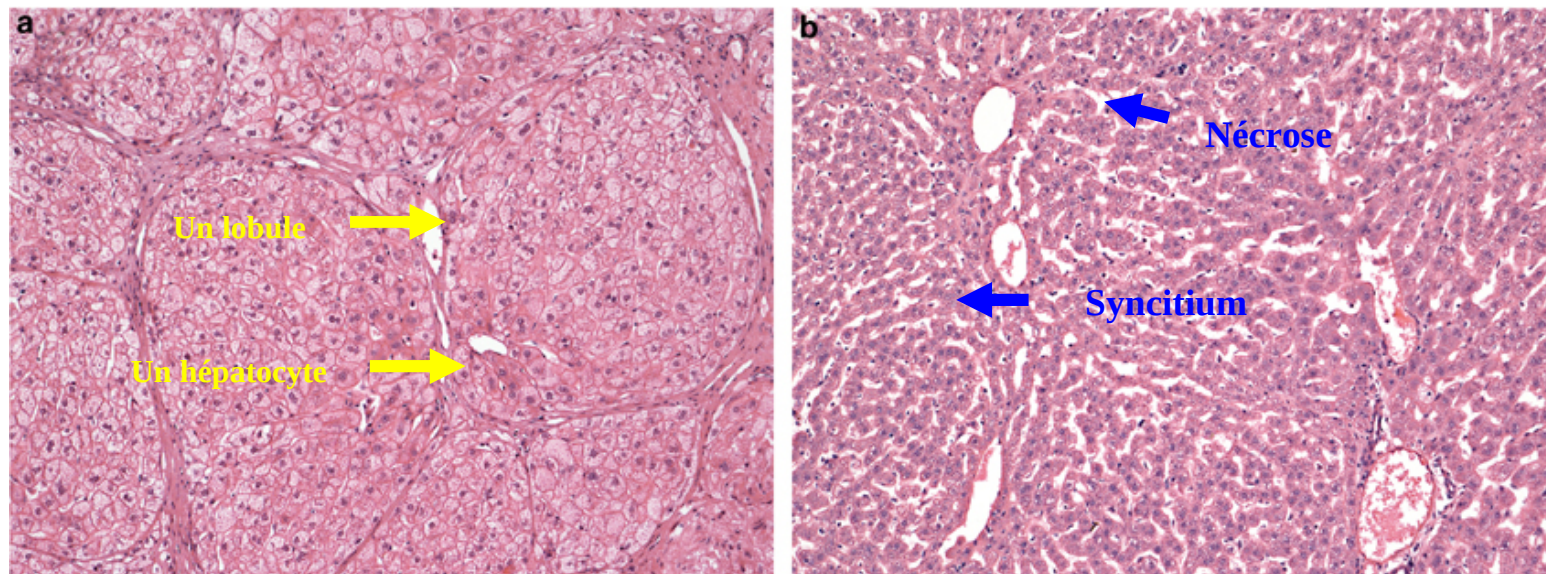


La structure du foie cirrhoté est totalement bouleversée.

En effet, les membranes des hépatocytes disparaissent et laissent place à des syncytiums avec des noyaux libres entrecoupés de zones nécrosées. Le tissu cellulaire n'a plus de structure vraiment cohérente.

On peut ainsi comparer deux structures histologiques saine et cirrhotée (*figure n°20*).

Figure n°20 : Observation au microscope photonique d'une coupe de foie sain (a) et de foie cirrhoté (b) chez le lapin et colorée à l'hémalun-éosine (grossissement X100).



(ALTER et al.,2008)

3- Exploitation

Le foie est une glande amphicrine et présente ainsi une sécrétion endocrine dans le milieu intérieur et une sécrétion exocrine, dans le milieu extérieur. Une chose particulière est que les fonctions endocrine et exocrine sont assurées par un seul et même type cellulaire : l'hépatocyte.

La sécrétion exocrine concerne la bile (acide) qui passe dans la lumière du duodénum et joue un rôle dans la digestion.

La sécrétion endocrine n'est pas du tout hormonale. Elle consiste en la libération dans le sang d'un certain nombre de protéines mais aussi du glucose. Le foie produit également du cholestérol qui peut être exporté dans le sang par les LDL (Low Density Lipoproteins) et assure aussi le catabolisme du cholestérol apporté par les HDL (High Density Lipoproteins).

Le foie constitue en très grande partie la réserve de glucose. Il stocke le glucose sanguin sous forme de glycogène par des réactions de glycogénogénèse et le libère en hydrolysant le glycogène par la voie métabolique de la glycogénolyse (sous l'influence de l'insuline et du glucagon).

Une cirrhose est une pathologie grave, multifactorielle.

Ainsi, comme nous l'avons décrit, une cirrhose hépatique est d'un point de vue histologique un véritable bouleversement de la structure du foie avec un ensemble de zones nécrosées et cicatricielles et de syncytiums.

D'un point de vue physiologique, on peut facilement imaginer que la cirrhose altère les différentes fonctions hépatiques. Le glucose sanguin serait difficilement stocké dans le foie car dans le syncytium les réactions nécessaires à ce stockage s'opéreraient difficilement ou tout simplement parce que les hépatocytes sont altérés et ne présentent plus les récepteurs à l'insuline. Il pourrait alors en résulter une élévation de la glycémie pouvant engendrer un diabète et inévitablement une glycosurie.

De même, on peut penser que le métabolisme du cholestérol peut aussi être atteint avec sûrement une augmentation du taux de cholestérol apporté par l'alimentation dans le sang et se déposant dans les artères pour former des plaques d'athéromes, d'où des risques

d'accidents cardio-vasculaires. Il serait aussi possible que le taux de cholestérol diminue puisqu'il est en grande partie produit par le foie. Cela aurait sûrement un impact sur la fluidité des membranes cellulaires, dans le sens d'une rigidification.

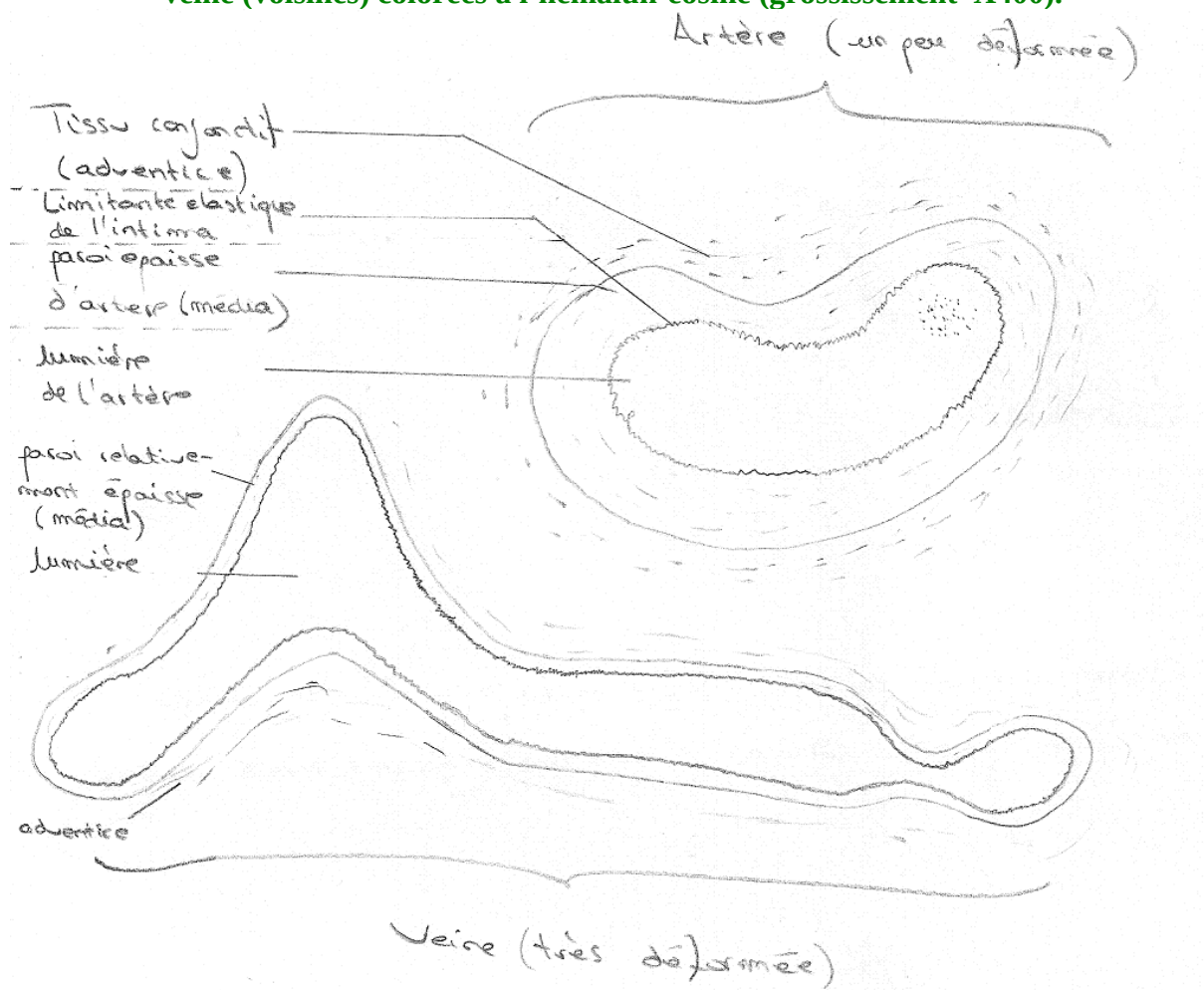
Enfin, la cirrhose impacterait aussi sur la fabrication d'acide biliaire et donc sur la digestion. On observe d'ailleurs un amaigrissement en cas de cirrhose.

C- Etude de la structure d'une artère et d'une veine

Artères et veines sont des conduits véhiculant le sang dans l'organisme et sont donc des structures appartenant à l'appareil circulatoire. Les artères amènent le sang du cœur aux organes alors que les veines ramènent le sang au cœur.

Les différences de structures entre veines et artères ont été observées sur coupe histologique et représentées sur la *figure n°21* ;

Figure n°21 : Observation au microscope photonique d'une coupe d'artère et de veine (voisines) colorées à l'hémalum-éosine (grossissement X400).



1- Artère

L'artère présente trois parties plus ou moins visibles selon les coupes. On parle de tuniques.

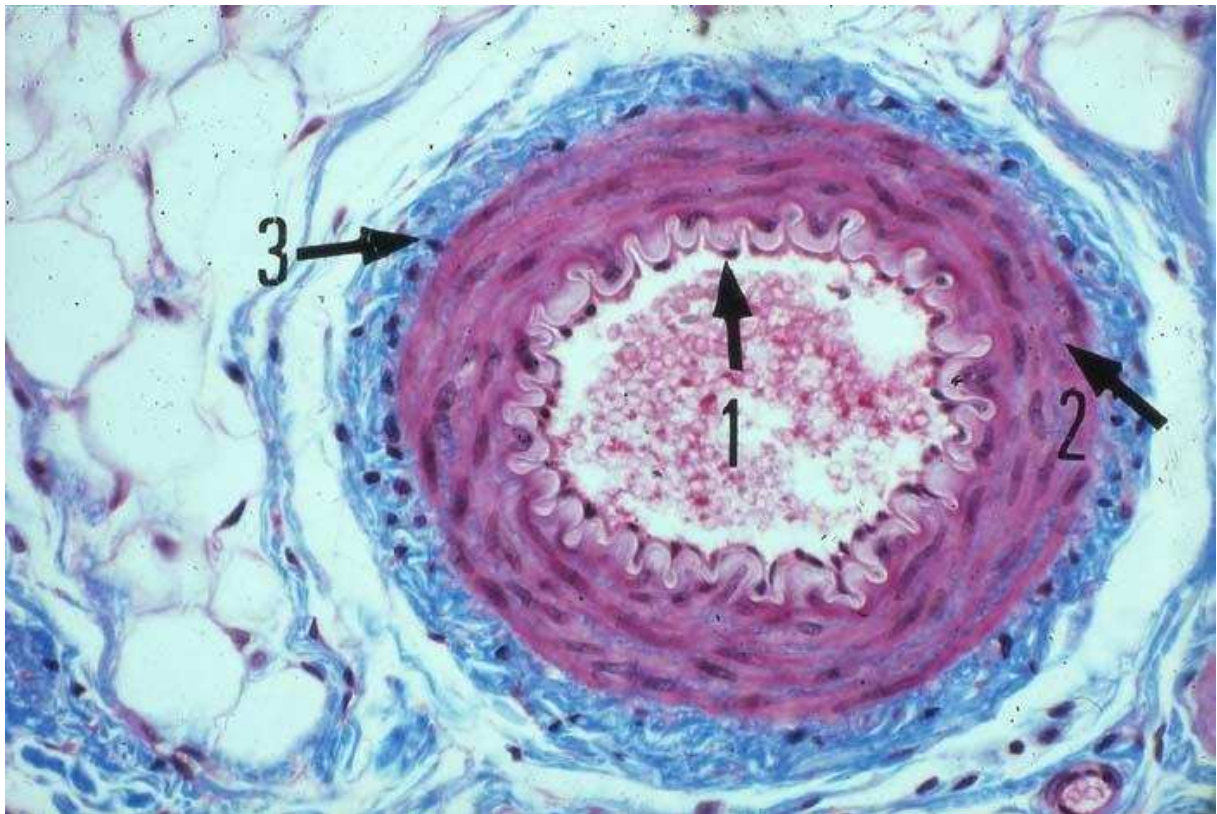
La plus interne est l'intima formée par l'endothélium et d'un conjonctif sous-jacent. Elle donne un aspect frisé au pourtour de la lumière vasculaire dans laquelle on peut distinguer des hématies.

La tunique intermédiaire, et de loin la plus développée, est la média. Elle est formée par des cellules musculaires lisses ; la disposition des fibres musculaires semble plutôt être annulaire sur cette coupe.

La tunique la plus externe est l'adventice, du tissu conjonctif essentiellement.

On notera que selon les types d'artères, l'importance des différentes tuniques varie.

La structure en tuniques de l'artère s'observe très bien sur cette coupe :



(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

Figure n°22 : Observation au microscope photonique d'une coupe d'artère de moyen calibre colorée au trichrome de Masson (fort grossissement).

Légende :

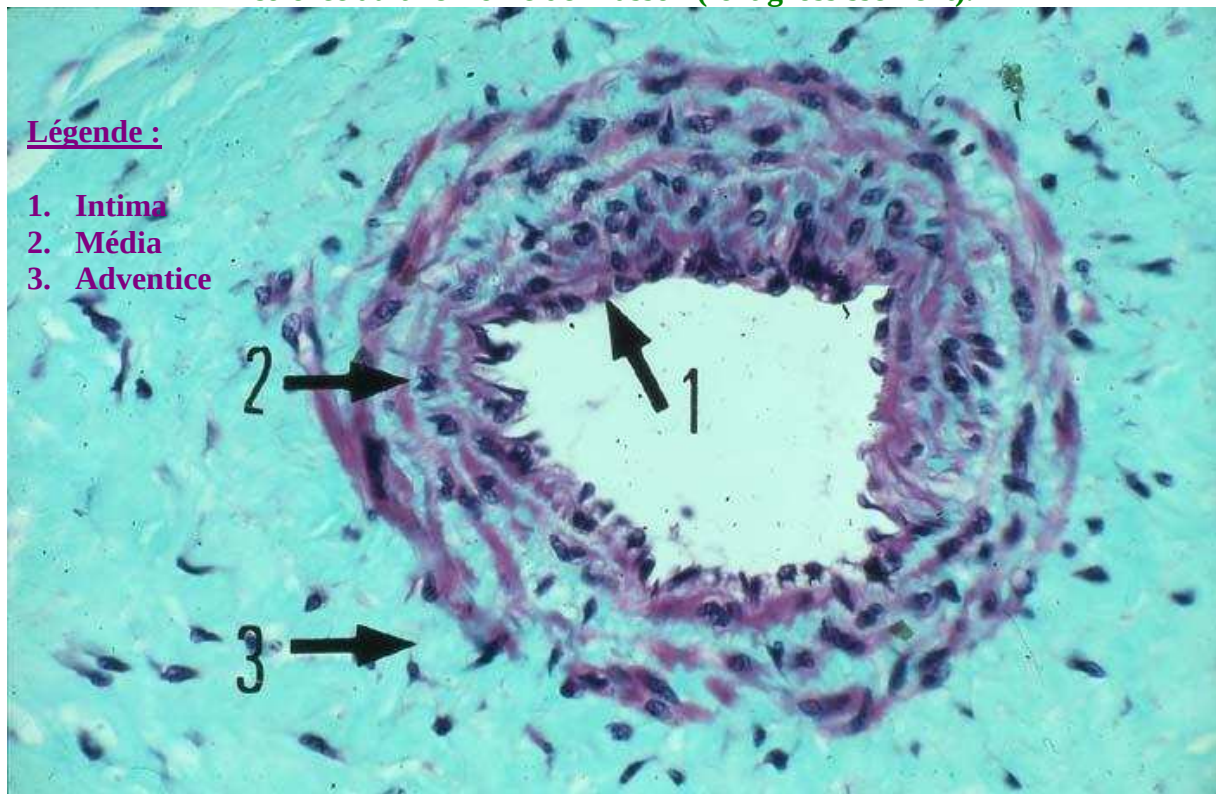
1. Intima
2. Média
3. Adventice

2- Veine

La structure en tuniques de la veine est plus difficile à voir que pour les artères puisque chacune de ces tuniques est moins épaisse. Cependant, elles sont bien présentes (intima, média, adventice).

On retrouve ainsi cette structure sur la *figure n°23*.

Figure n°23 : Observation au microscope photonique d'une coupe de veine colorée au trichrome de Masson (fort grossissement).



Légende :

- 1. Intima
- 2. Média
- 3. Adventice

(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

On peut noter que les fibres musculaires de la média sont beaucoup moins denses que pour l'artère avec donc plus de tissu conjonctif.

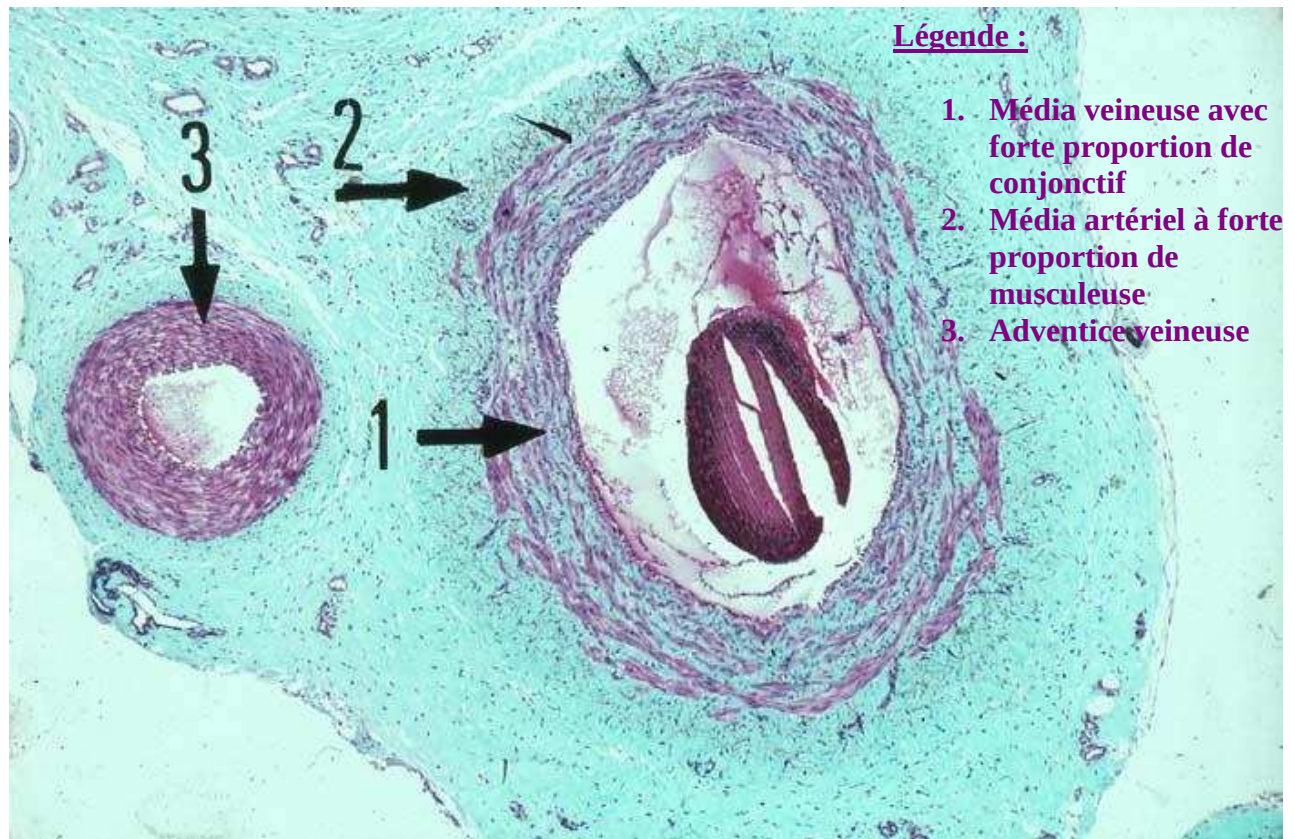
3- Comparaison artère/veine

Il existe plusieurs différences significatives entre veines et artères outre le sens de transport du sang dans l'organisme (*figure n°21 et 24*).

En effet, d'un point histologique, on note que la paroi des veines est plus fine que celle des artères avec, notamment, une média présentant des fibres musculaires moins denses, moins développées et plus de conjonctif que dans l'artère. Il en résulte inévitablement une différence de déformabilité : les veines sont beaucoup plus déformables que les artères et cela se voit bien sur la coupe qui a été observée.

On note également que le diamètre des veines est beaucoup plus important que le diamètre de l'artère lui correspondant. En fait, bien souvent, on associe à une artère, une veine qui suit le même trajet.

Figure n°24 : Observation au microscope photonique d'une coupe d'artère et de veine colorée au trichrome de Masson (fort grossissement).



(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

D'un point de vue fonctionnel, les artères véhiculent un sang sous forte pression conférée au niveau des ventricules alors que les veines transportent un sang sous faible pression.

On comprend donc mieux pourquoi les veines sont plus distensibles que les artères. Ce phénomène s'appelle la compliance et permet d'augmenter le volume du vaisseau pour rehausser la pression.

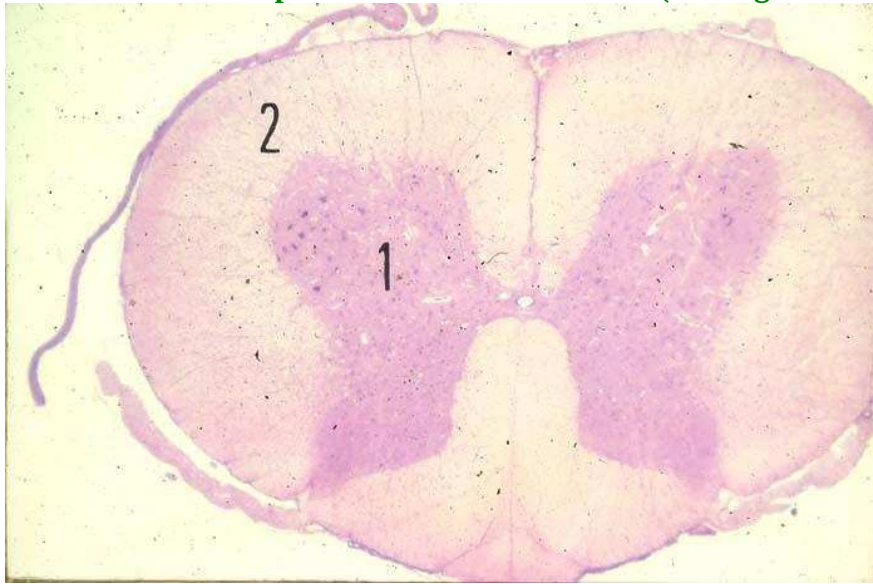
D'autres mécanismes entrent en jeu comme la pulsation des artères voisines, une contraction des muscles environnants ou encore un système de valvules et contribuent également au transport du sang subissant une faible pression dans les veines.

D- Etude de la structure de la moelle épinière et du cerveau

1- Moelle épinière

La moelle épinière fait partie du système nerveux central. Sa structure globale a l'aspect présenté par la *figure n°25*.

Figure n°25 : Observation au microscope photonique d'une coupe de moelle épinière colorée au Dominici (faible grossissement).



Légende :

1. Substance grise
2. Substance blanche

(FACULTES
UNIVERSITAIRES NOTRE-
DAME DE LA PAIX, 2007)

On observe une disposition particulière du tissu nerveux avec une substance claire en périphérie et une substance sombre, interne.

La structure de la moelle épinière observée est représentée sur ce schéma :

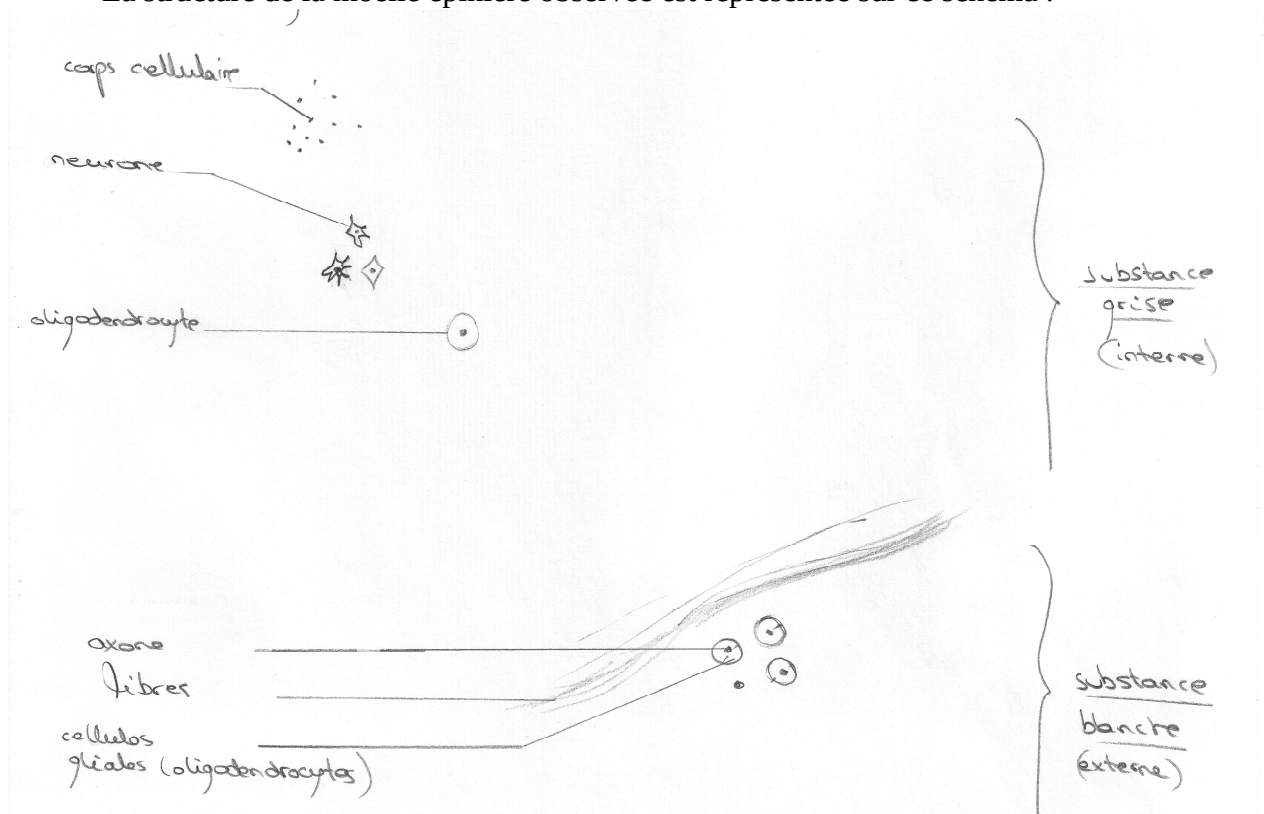


Figure n°26 : Observation au microscope photonique d'une coupe de moelle épinière de mammifère (grossissement X400).

Au niveau de la substance grise, on note la présence de corps cellulaires très nombreux, visibles essentiellement grâce aux noyaux. Ce sont des neurones.

Des cellules gliales sont également présentes, les oligodendrocytes.

Au niveau de la substance blanche, on peut observer un très grand nombre de fibres nerveuses que ce soit en coupe longitudinale ou en coupe transversale. Certaines sont myélinisées, d'autres non. Ainsi, on voit très nettement, des fibres, en coupe transversale, entourées par des éléments blancs, arrondis : ce sont les oligodendrocytes formant la gaine de myéline. La spiralisation de ces cellules gliales ne s'observent quasiment pas, on note seulement de toutes petites « scissures » internes de chaque côté de la fibre myélinisée.

Cette structure est nettement observable sur la *figure n°27*.

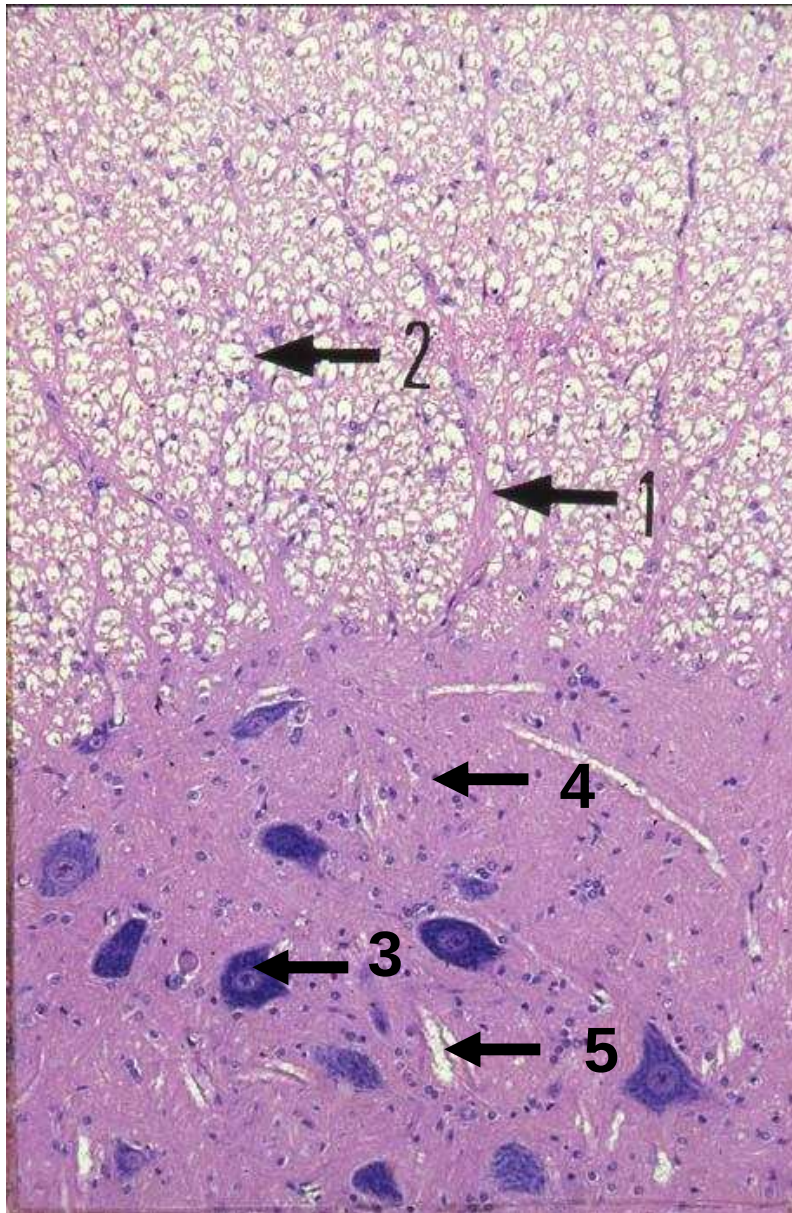


Figure n°27 : Observation au microscope photonique d'une coupe de moelle épinière colorée au Dominici (fort grossissement).

Légende :

1. Fibre amyélinique
2. Fibre myélinisée (fibre et oligodendrocytes)
3. Corps cellulaire de neurone
4. Corps cellulaire d'oligodendrocyte
5. Lumière d'un capillaire sanguin

On note sur cette figure que l'aspect sur coupe histologique de la substance blanche est beaucoup moins homogène que dans la substance grise. Cela vient du fait que les fibres de la substance grise sont toutes amyéliniques, ce qui donne d'ailleurs, en majeure partie, cet aspect sombre.

(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

2- Cerveau

La structure histologique du cerveau a été observée mais non représentée. On l'observe globalement sur la *figure n°28*, en coupe longitudinale.

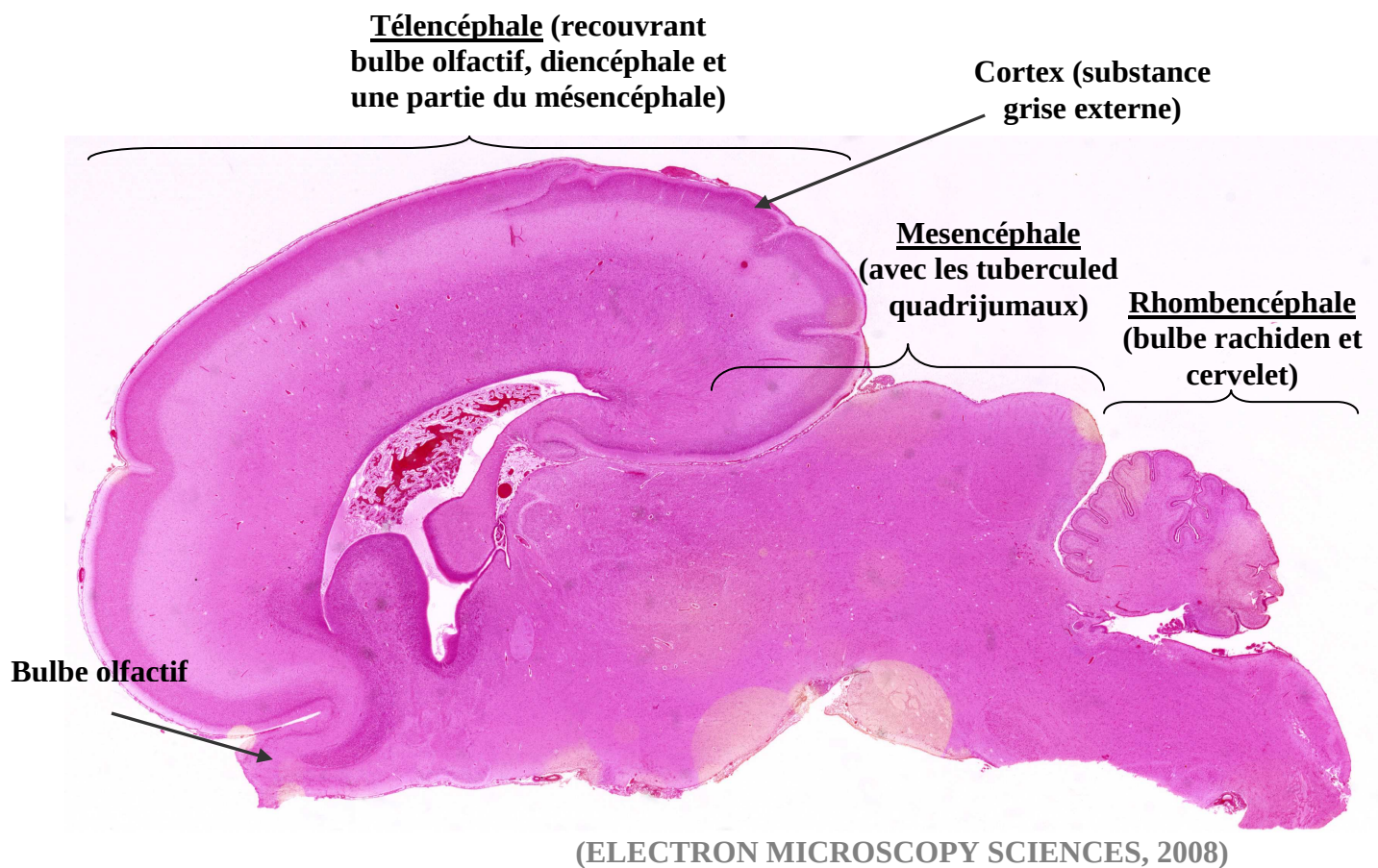


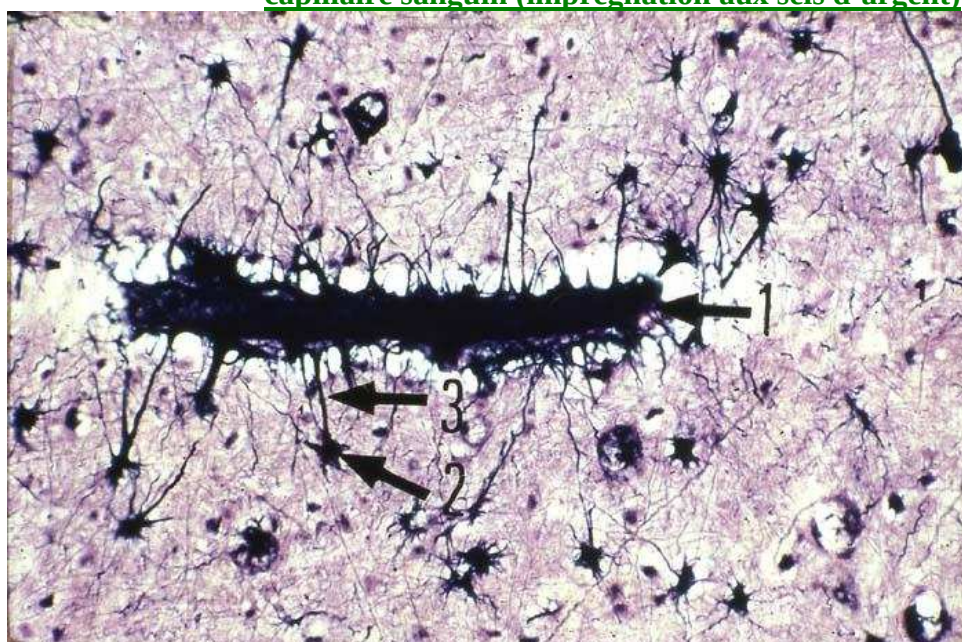
Figure n°28 : Coupe histologique d'un cerveau de mammifère.

On note que la structure est inversée par rapport à la moelle épinière ; en effet, la substance blanche est interne alors que la substance grise est externe.

Cette structure semble de plus, plus complexe, plus dense mais on retrouve bien les éléments définis dans la moelle épinière.

Une structure, qui n'a pas été observée est celle formée par des astrocytes, autre type de cellules gliales, émettant des pieds vasculaires comme on le remarque sur la *figure n°29*.

Figure n° 29 : Observation au microscope photonique de la relation entre astrocytes et capillaire sanguin (imprégnation aux sels d'argent)



Légende :

1. Capillaire sanguin
2. Astrocyte
3. Pied vasculaire

(FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007)

Ces cellules réalisent ce que l'on appelle la barrière hématoencéphalique ; c'est par elles que transitent les nutriments qui seront distribués aux neurones.

Conclusion

Ainsi, l'histologie, par un certain nombre de méthodes et de techniques, nous permet d'observer des structures tissulaires et d'en comprendre de manière plus ou moins précise l'organisation.

Nous l'avons vu, certaines pathologies comme la cirrhose engendrent un véritable chamboulement structural altérant la fonction de l'organe en question, ce qui met clairement en relief, le lien étroit entre organisation tissulaire et fonctionnement d'un organe.

Chapitre 2 : Etude des paramètres sanguins

(TP n° 2)

Introduction

Les analyses hématologiques sont pratiquées sur le sang pour permettre le diagnostic ou le suivi de certaines maladies. Le sang est composé d'un liquide, le plasma, dans lequel flottent des éléments figurés (globules rouges, globules blancs et plaquettes) et un grand nombre de substances (protéines, hormones, vitamines, etc.).

Ainsi, l'hématologie, qui étudie la physiologie et les pathologies du sang, regroupe l'analyse des cellules du sang mais aussi d'éléments dissous dans le plasma comme les facteurs de la coagulation ou les anticorps. Elle en dégage des paramètres comme ceux de l'hémogramme ou bien d'une formule leucocytaire, paramètres fluctuant selon les espèces mais aussi selon le sexe au sein d'une même espèce.

I-Matériels et méthodes

Le sang étudié lors ce T.P. provenait d'un rat (embranchement des vertébrés, classe des mammifères, *Rattus sp*). Pour chaque étude, le sang provenait toujours du même échantillon.

A- Etude quantitative des hématies et des leucocytes

L'étude quantitative des éléments figurés du sang consiste tout simplement en un comptage de ces cellules, mais cela par des techniques spécifiques.

Une technique simple est l'utilisation d'un hématimètre. Nous avons à notre disposition un hématimètre de Malassez.

1- Préparation des lames de Malassez

a) Description

Une lame ou cellule de Malassez est une lame de verre avec un espace, une chambre d'une certaine épaisseur, au fond de laquelle est gravée une grille contenant des carrés de 50µm de côté (*figure n°30*).

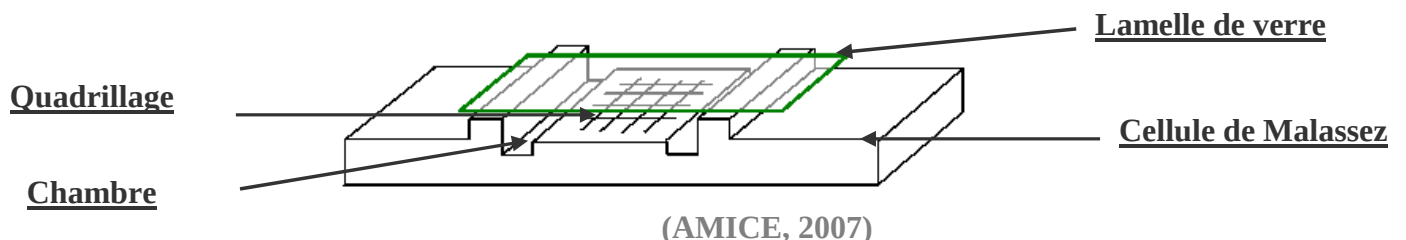
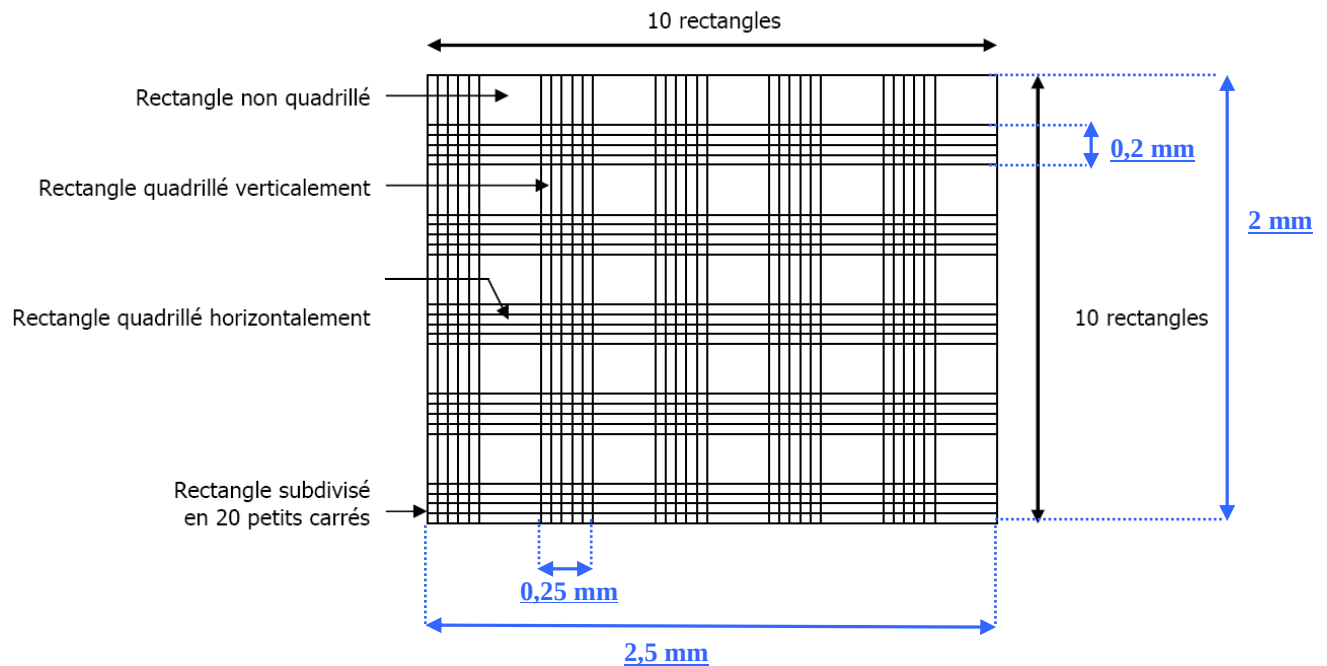


Figure n°30 : Schéma d'une lame de Malassez.

Comme le montre la *figure n°31* suivante, une cellule de Malassez possède un quadrillage spécifique comportant 100 rectangles au total, 10 rectangles en longueur et 10 en largeur.



(Adapté et modifié de l'ACADEMIE DE ROUEN, 2008)

Figure n°31 : Schéma d'une grille de Malassez.

Parmi les 100 rectangles, on trouve 25 rectangles qui sont subdivisés en 20 petits carrés afin de faciliter le comptage.

Cette cellule est souvent utilisée pour le comptage de cellules car le volume de la chambre est connu (du fait de ses dimensions). Ainsi, la surface correspondante à un rectangle est connue (0,25mm par 0,2mm) et la surface de l'ensemble de la grille est 100 fois supérieure. L'épaisseur de la chambre est également connue (200µm).

b) Mise en place de la lamelle et de la solution

Pour la mise en place de la lamelle, il est conseillé d'humecter les deux plateaux latéraux et de faire adhérer parfaitement la lamelle.

Pour cela, il faut placer la lamelle tout en pratiquant un mouvement de va et vient jusqu'à perception d'une résistance.

La chambre de comptage est remplie par capillarité à l'aide d'une micropipette, avec la solution contenant les éléments sanguins à compter ; les éléments sont alors laissés sédimenter.

Enfin, les éléments déposés sur le quadrillage par unité de surface et donc de volume sont observés au microscope.

Cependant, pour un souci de visibilité au microscope, le sang prélevé doit être dilué.

2- Préparation des dilutions

a) Préparations des solutions de dilution

En ce qui concerne les hématies le sang prélevé est dilué 200 fois avec un diluant isotonique (conservation des hématies), le liquide Marciano dont les caractéristiques sont les suivantes :

- 2,2g de sulfate de sodium cristallisé ($\text{Na}_2\text{SO}_4, 10 \text{ H}_2\text{O}$),
- 1 cm^3 de méthanal à 30%
- 100 cm^3 d'eau distillée.

Nous disposons de méthanal à 37%. Le volume de ce méthanal à prélever pour obtenir 1mL à 30% est donc de :

$$\frac{30 \times 1}{37} = \underline{0,81 \text{ mL}} \text{ complétés par } 0,19 \text{ mL d'eau distillée.}$$

En ce qui concerne les leucocytes, le liquide de dilution devra être hypotonique pour lyser les hématies. Ainsi, une dilution de 20 fois est réalisée dans du liquide de Hayem dont les caractéristiques sont les suivantes :

- 0,25 g de bleu de méthylène,
- 5 cm^3 d'acide éthanoïque,
- 100 cm^3 d'eau distillée.

Le bleu de méthylène colore les leucocytes.

50 μL de sang sont dilués dans 9.95 mL de Marciano et 50 autres dans 0,95mL de Hayem.

Cependant, sachant qu'il y a eu une erreur dans la préparation du Hayem, certainement trop de bleu de méthylène, 10 ml de chlorure de sodium à 0,9% ont été rajoutés au 1 ml de solution. Le sang a donc été dilué 11 fois plus.

Les solutions diluées sont alors prêtes à être placées dans la chambre de la lame de Malassez.

b) Utilisation de l'unopette

Une unopette, représentée sur la *figure n°32*, est utilisée pour faciliter les manipulations de dilution.



(ANIMAL REPRODUCTION SYSTEMS, 2008)

Figure n°32 : Photographie d'une unopette et d'un hématimètre.

Deux types d'unopettes peuvent être utilisés selon les éléments à compter ; en effet, celles qui sont utilisées afin de dénombrer les hématies contiennent un volume connu d'un diluant isotonique ne détériorant pas ces dernières. Au contraire, les unopettes utilisées dans le but de dénombrer les leucocytes doivent contenir un diluant hypotonique lysant les hématies et préservant les leucocytes.

L'étude qui a été faite en se servant d'une unopette a été effectuée dans le but de compter des hématies.

Comme indiqué sur le schéma ci-dessous (*figure n°33*), on perfore le diaphragme (**A**) et on prélève l'échantillon grâce à la pipette qui se remplit par capillarité (**B**) ;

Le remplissage est total et est stoppé automatiquement lorsque le sang prélevé atteint le volume calibré.

On place la pipette dans la chambre contenant la solution diluante et on crée ensuite une pression sur le réservoir pour l'y verser grâce au relâchement de cette pression (**C**).

Après homogénéisation (**D**), du sang dilué est prélevé et placé sur une lame de Malassez (**E**).

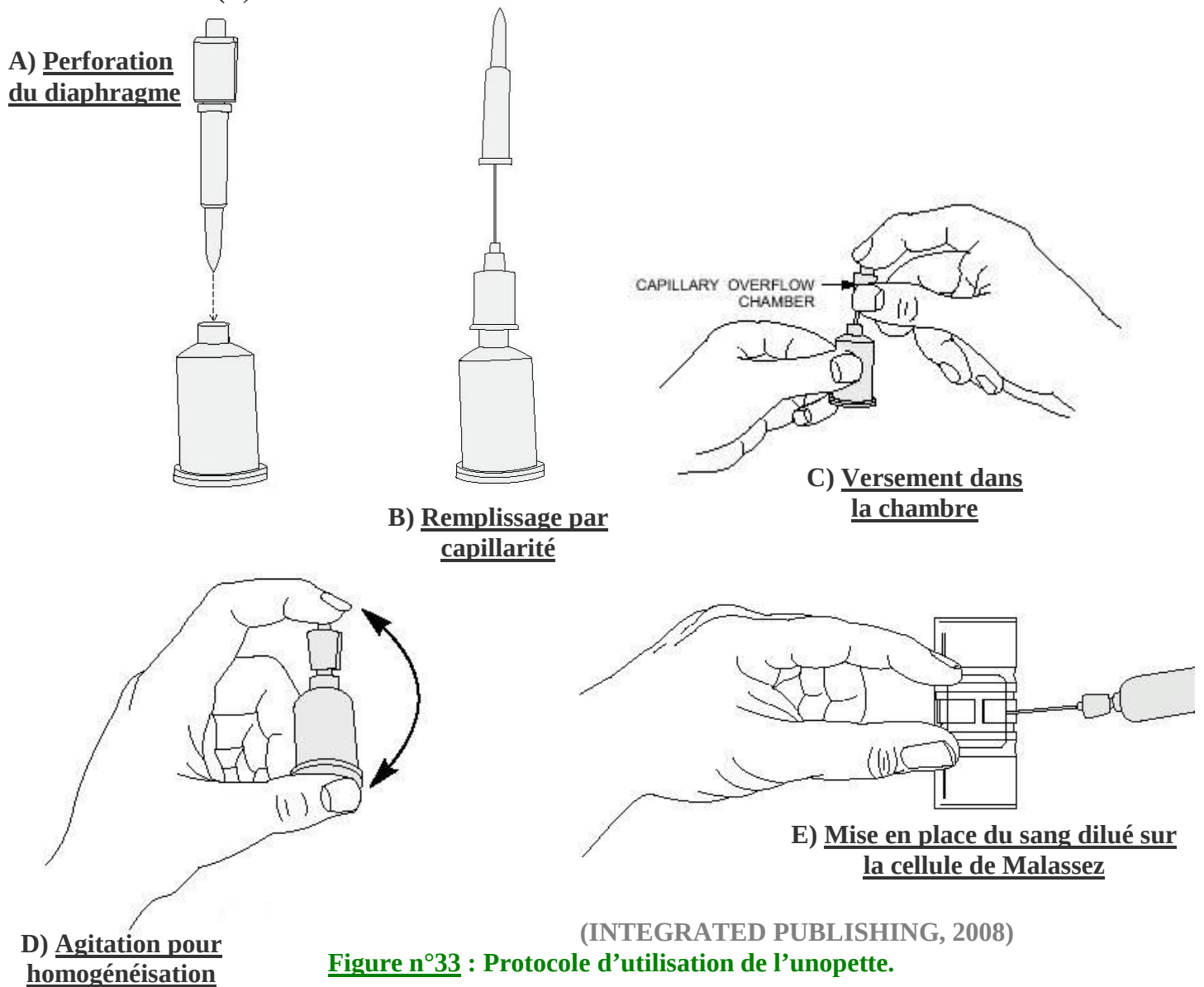


Figure n°33 : Protocole d'utilisation de l'unopette.

Nous avons donc prélevé un volume précis de sang que nous avons dilué dans un volume connu.

3- Observation et lecture

L'observation se fait au microscope photonique au faible grossissement, tout d'abord, afin de repérer le quadrillage de la cellule de Malassez. Une fois ce quadrillage repéré, l'observation peut se faire à un grossissement de X400.

La numération des cellules peut alors se faire, sur plusieurs rectangles à 20 carrés en respectant la règle de comptage. Nous avons compté les hématies contenues dans 3 rectangles.

B- Etude qualitative des leucocytes

Cette étude qualitative réside dans la reconnaissance des différents leucocytes et l'établissement de leurs proportions relatives, de la formule leucocytaire.

1- Reconnaissance des leucocytes

Les leucocytes ou globules blancs sont des cellules nucléées spécialisées dans la défense de l'organisme contre les agressions de l'extérieur. Ils sont beaucoup moins nombreux dans le sang que les globules rouges.

Ce groupe de cellules est un groupe hétérogène de cellules dont les fonctions et durée de vie sont très variables. D'une manière très générale, on distingue deux familles de leucocytes selon la manière dont ils sont produits et mûrissent :

- la lignée myéloïde (production et maturation dans la moelle osseuse),
- la lignée lymphoïde (maturation dans les organes lymphoïdes).

Hématie



a) La lignée myéloïde

La lignée myéloïde comporte quatre populations leucocytaires distinctes.



Les granulocytes neutrophiles sont facilement reconnaissables par leur noyau polylobé dont les lobes sont reliés entre eux par de fins ponts nucléaires. Leur cytoplasme est granuleux : il renferme des granulations (lysosomes) colorées au May-Grünwald-Giemsa (M.G.G).



Les granulocytes éosinophiles présentent aussi un noyau polylobé (deux lobes en général) mais on les reconnaît avant tout grâce à leurs granulations relativement volumineuses, roses-orangées lorsqu'elles sont colorées au M.G.G.



Les granulocytes basophiles, quant à eux, présentent des granulations volumineuses, sombres cachant plus ou moins le noyau. Le noyau est en général bilobé.



Les monocytes, plus volumineux que les précédents possèdent un noyau volumineux, sans lobe et réniforme.

b) La lignée lymphoïde

La lignée lymphoïde ne comporte qu'une seule population cellulaire (comprenant elle-même des sous-populations), il s'agit de lymphocytes.

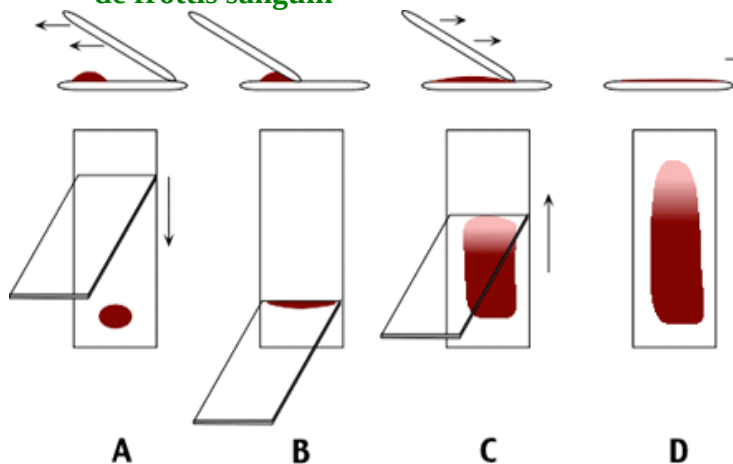


Leur taille est petite, quasiment comparable à celle d'une hématie. Le rapport nucléocytoplasmique est élevé, et peu de cytoplasme est visible.

2- Etablissement de la formule leucocytaire

La formule leucocytaire est établie en réalisant un frottis sanguin puis en comptant les différentes populations leucocytaires.

Figure n°34 :
Schéma de la technique
de frottis sanguin



a) Réalisation d'un frottis sanguin

La technique de frottis est une technique particulière permettant un étalement homogène du sang sur une lame de verre (*figure n°34*, ci-contre)

Une petite goutte de sang est déposée à environ 1 cm de l'extrémité d'une lame.

Une lamelle est approchée de cette goutte, inclinée à 45° par rapport à la lame et mise à son contact (**A**). Cette goutte adhère par capillarité tout du long de la base de la lamelle (**B**). La lamelle est alors poussée de manière rectiligne (**A**) de façon à étaler le sang en couche mince et uniforme (**D**).

(WILD LIFE CONSERVATION SOCIETY, 2008)

Pour l'observation au microscope la coloration au May-Grunwald est nécessaire. Celui-ci colore de manière différentielle les différentes zones d'une cellule sanguine en fonction de son caractère acidophile, basophile, neutrophile ou éosinophile.

b) Observation et établissement de la formule leucocytaire

La technique d'observation et d'établissement de la formule leucocytaire consiste à observer la lame grossie 400 fois au microscope, d'une manière rectiligne sur toute sa longueur. Chaque leucocyte coloré au MGG est observé, déterminé et comptabilisé.

Pour un nombre total suffisant de leucocytes comptés, on détermine les proportions de chaque leucocyte en calculant leur rapport sur le nombre total de leucocytes comptabilisés. Les proportions des différents globules blancs sont alors obtenues et la formule leucocytaire établie.

II-Observations et exploitations

A- Etude quantitative des hématies et leucocytes

1- Numération des hématies

a) Observation et numération des hématies du sang dilué manuellement

L'observation au microscope de la cellule de Malassez a révélé la présence d'éléments arrondis, biconcaves, anucléés : les hématies (*figure n°35*, ci-dessous). On peut également noter la présence d'éléments de taille égale aux hématies ou légèrement inférieure et de structures irrégulières. Ces éléments sont des hématies qui soit ont subi un traumatisme osmotique, soit sont des hématies vieilles ; on parle d'échinocytes.

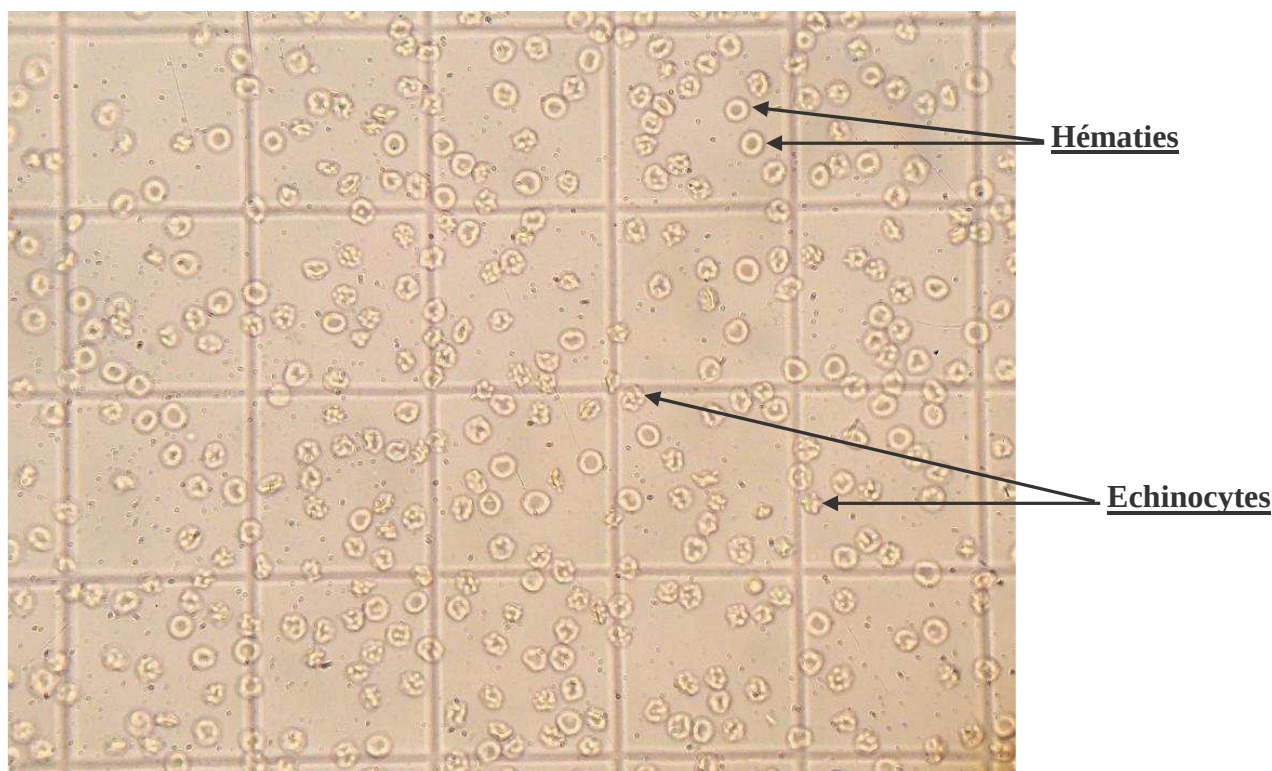


Figure n°35 : Observation au microscope d'un des 25 rectangles quadrillés de la cellule de Malassez utilisée (grossissement X400)

La numération des hématies sur trois rectangles quadrillés est consignée dans le tableau suivant:

<u>Rectangles observés</u>	<u>Nombre d'hématies</u>
N°1	222
N°2	271
N°3	273

Figure n°36 : Numération des hématies dans les rectangles quadrillés de la cellule de Malassez.

Ainsi, sur un rectangle, on compte en moyenne 255 hématies. Nous avons alors en notre possession toutes les données pour **calculer la concentration cellulaire en hématies**.

En effet, le volume d'un rectangle d'une lame de Malassez se calcule par la relation fondamentale :

$$V = \text{Longueur} \times \text{largeur} \times \text{épaisseur}$$

Soit,

$$V = 0,2(\text{mm}) \times 0,2(\text{mm}) \times 0,25(\text{mm}) = 0,01\text{mm}^3$$

Nous savons que le sang est dilué 200 fois et qu'il y a 100 rectangles au total. Ainsi, la concentration cellulaire pour 1mm^3 est de :

$$255 \times 100 \times 200 = \underline{5,1.10^6 \text{ hématies/mm}^3 \text{ de sang}}$$

D'où, en litres :

$$5,1.10^6 \times 10^6 = \underline{5,1.10^{12} \text{ hématies/L de sang}}$$

b) Observation et numération des hématies du sang dilué par l'unopette

En observant au microscope, à vue d'œil, nous pouvons nous rendre compte que d'une part, la concentration est bien plus importante que pour la numération précédente, et d'autre part, peu d'échinocytes sont observés.

Le comptage du sang dilué par l'unopette révèle, en effet, 462 hématies par rectangles en moyenne. La méthode de calcul étant tout à fait similaire à la précédente, on obtient :

$$462 \times 100 \times 200 \times 1000 \times 1000 = \underline{9,24.10^{12} \text{ hématies/Litre.}}$$

c) Comparaisons

Selon DESCAT (2002), les valeurs théoriques de la concentration sanguine en hématies sont variables selon l'âge du rat et vont de 5 à $12,5.10^{12}$ hématies par litres de sang.

Nous constatons donc que nos résultats concordent avec cette fourchette de valeur.

Cependant, pour un même échantillon de sang, les valeurs obtenues pour une dilution manuelle bien que du même ordre de grandeur semblent significativement différentes. Cette différence peut s'expliquer par une plus grande précision de l'unopette, dans le prélèvement du sang et dans la dilution.

On peut également émettre l'hypothèse qu'il y a eu une erreur de manipulation lors de la préparation de la solution de Marciano qui n'était pas isotonique. La présence d'un grand nombre d'échinocytes dans le premier cas semble être en corrélation avec cette hypothèse.

A noter que chez l'homme la concentration moyenne d'hématies par litre de sang est du même ordre de grandeur ($4,2$ et $5,2 \times 10^{12}$ hématies/litre).

2- Numération des leucocytes

Sur 19 rectangles, nous avons compté en moyenne 3,1 leucocytes ce qui représente ainsi:

$$3,1 \times 5,2 \times 20 \times 11 \times 1000 \times 1000 = 3,5.10^9 \text{ leucocytes/Litre.}$$

Les normes leucocytaires, chez le rat, indiquées par DESCAT (2002) vont de 3 à 15 leucocytes/Litre. Même s'il est faible notre résultat se situe donc dans la norme.

Chez l'homme, la valeur moyenne de leucocytes s'étend de 4 à 10.10^9 par litre de sang. La valeur observée pour le rat est donc proche de celle de l'homme.

B- Etude qualitative leucocytes

L'observation du frottis sanguin réalisé est représentée sur la *figure n° 37* ci-dessous :

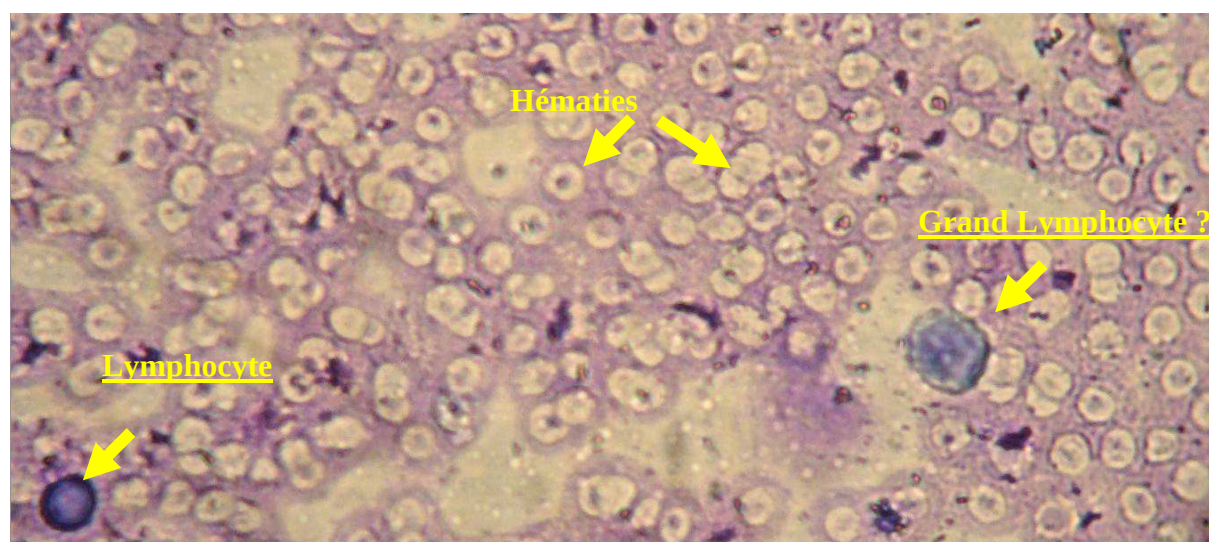


Figure n°37 : Frottis sanguin observé au microscope photonique (grossissement X400) après coloration au M.G.G., chez le rat.

L'établissement de la formule leucocytaire ainsi que ses normes pour un rat mâle de 15 mois (*Rattus norvegicus*) sont consignées dans le tableau suivant :

<u>Systèmes</u>	<u>Mononucléaire</u>		<u>Polynucléaire (granulocytes)</u>		
	Lymphocyte	Monocyte	Neutrophile	Eosinophile	Basophile
<u>Populations leucocytaires</u>					
<u>Proportions observées</u>	59% 13/22	22,7% 5/22	18,18% 4/22	0%	0%
<u>Normes (DESCAT, 2002)</u>	56%	5,2 %	35,4%	3,1%	<1%

Figure n°38 : Formule leucocytaire observée et normale chez *Rattus sp*

Ainsi, en ce qui concerne les lymphocytes, les éosinophiles et les basophiles, les proportions observées concordent relativement bien avec les normes. On constate que les lymphocytes sont la population cellulaire la plus représentée. D'ailleurs, d'une manière globale, quelque soit le sexe et l'âge du rat, cette population sera toujours la plus importante avec des variations allant de 50 à 95% (DESCAT, 2002)

Cependant, en ce qui concerne les monocytes et les neutrophiles, les résultats ne concordent pas avec les normes. Les monocytes semblent être plus représentés alors que la formule leucocytaire normale révèle une proportion relativement faible.

La première hypothèse qui peut-être formulée est que le rat que nous avons étudié présente à la fois une neutropénie (en tous les cas une diminution de la population) et une monocytose. Cela est peu plausible car une monocytose répond à une infection au cours de laquelle la population de neutrophile ne peut qu'augmenter et non diminuer.

La seconde hypothèse réside dans un problème de reconnaissance et de différenciation entre les neutrophiles et les monocytes. En effet, parfois, les ponts nucléaires des neutrophiles ne sont pas si étroits qu'en théorie et laissent apparaître au grossissement auquel nous les avons observés un noyau plutôt réniforme, les confondant avec des monocytes.

On notera que chez l'homme, la population leucocytaire prédominante est celle des granulocytes neutrophiles.

Conclusion

L'ensemble de ces techniques (numérations et frottis sanguins) est très largement utilisés en hématologie pour émettre un diagnostic en cas de pathologie : anémie, polyglobulie, leucopénie, leucocytose voire même infestation par un parasite.

Il faut bien comprendre qu'il existe de grandes variations du nombre d'éléments figurés sanguins au sein d'un même individu (selon l'état physiologique, l'âge, l'altitude, etc.,...) mais aussi selon les sexes et les espèces.

Chapitre 3 : Réponse électrodermale

(TP n° 3)

Introduction

Les multiples stimuli captés par les récepteurs du système nerveux peuvent induire des effets psychiques variables qui peuvent avoir des effets parfois insoupçonnables au niveau somatique. Nous nous sommes intéressés à ces répercussions somatiques en essayant de mettre en valeur le lien entre un état affectif et la variation de la sudation au niveau de certaines zones du corps ; on parle de réponse électrodermale.

I-Matériel et méthode

L'étude de la réponse électrodermale nécessite un appareillage électronique et informatique pour l'acquisition des données.

A- Méthode d'acquisition

1- Dispositif d'acquisition

Ainsi, l'appareillage électronique présente trois composantes :

- les capteurs placés aux régions palmaires de l'index et du majeur,
- le boîtier d'acquisition raccordé aux différents capteurs
- l'ordinateur possédant le logiciel d'acquisition et relié au boîtier d'acquisition (*figure n°40*).

On dispose de trois types de capteurs puisque la réponse galvanique n'a pas été la seule à avoir été mesurée lors de l'expérience :

- l'amplificateur de la réponse électrodermale (variation faible, en microquantités) relié aux capteurs (*figure n°39*),
- les électrodes pour l'électrocardiogramme,
- la ceinture respiratoire.

Figure n°39 :
Amplificateur de la
réponse électrodermale
(gauche) et capteur de la
conductance épidermique
(droite et gauche)



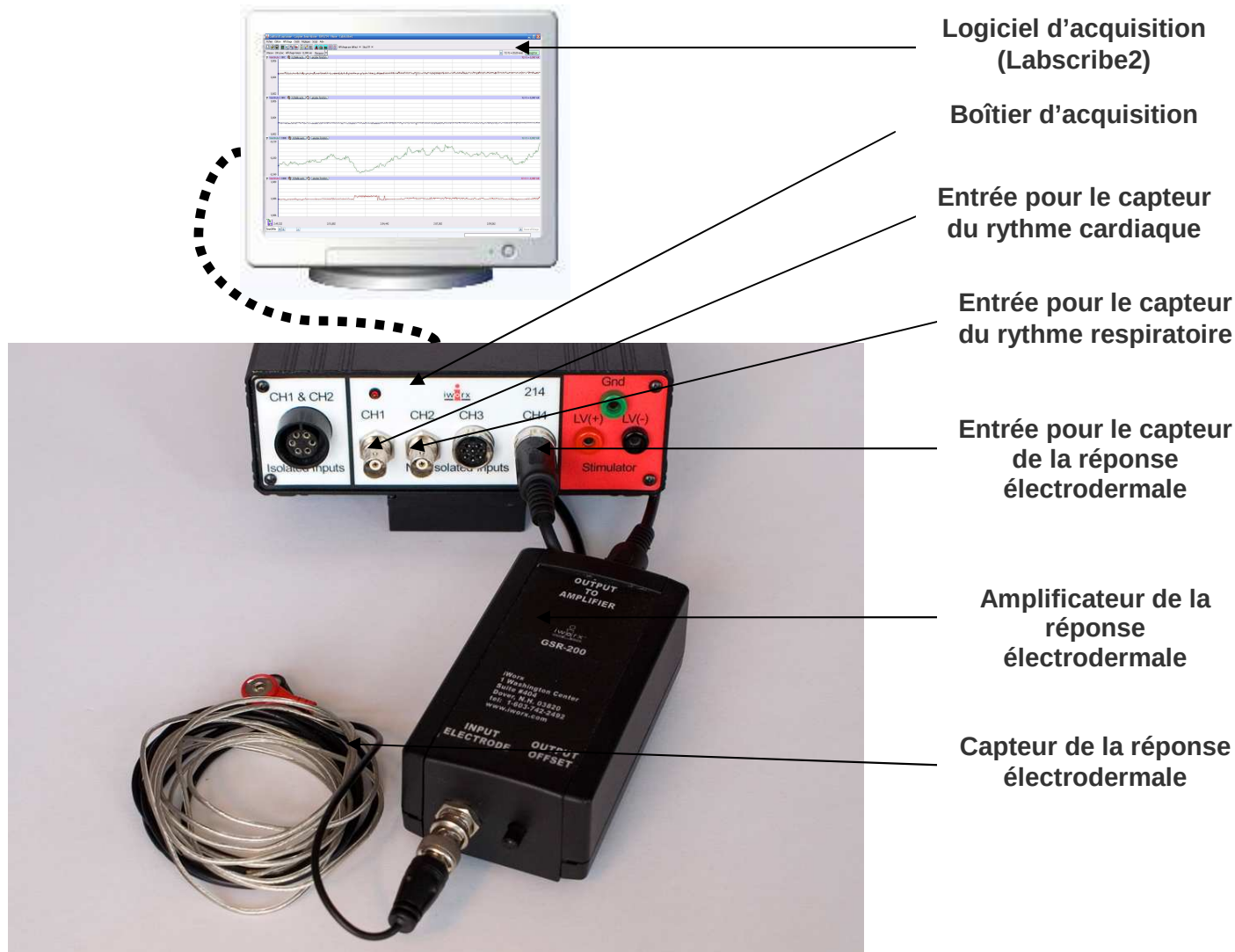


Figure n°40 : Représentation de l'ensemble du dispositif d'acquisition.

2- Logiciel d'acquisition

Le logiciel d'acquisition, Labscribe2, retranscrit les données en temps réel sous forme de graphique. Concernant la réponse électrodermale, ce graphique représente la conductance (μ Siemens) en fonction du temps (secondes).

Il faut régler l'échelle pour que le signal soit visible à l'écran ; la mesure du temps et de l'amplitude se font grâce aux curseurs.

Cependant, lors du T.P. le logiciel n'a pas été configuré avant l'enregistrement pour traiter les données en siemens mais en volts. C'est pourquoi, par la suite nous parlerons en unités arbitraires.

De plus, nous avons eu quelques problèmes lors de l'analyse de notre enregistrement, sûrement à cause d'une mauvaise configuration du logiciel avant l'enregistrement. En effet, d'une part les résultats laissent apparaître des courbes atypiques et d'autre part, les valeurs V_1 et V_2 permettant les mesures des amplitudes sont constamment nulles quelle que soit la position des curseurs. Nous nous sommes donc procurés les résultats de GIROT Cécile et ANOTAUX Jennifer.

B- Enregistrement et stimulations

Etant donné que cette étude a pour objectif d'étudier l'activité nerveuse et notamment l'activité du système nerveux végétatif, il faut stimuler le cerveau et étudier les réponses, en l'occurrence, les réponses électrodermales.

Trois types de stimulations ont été réalisés au cours de ce T.P :

- l'énoncé de mots.
- l'énonciation d'un mensonge.
- des stimulations sensorielles brusques,

1- Enregistrement et étalonnage

Une fois le sujet installé correctement, dos à l'écran d'enregistrement pour ne pas influencer la réponse, l'avant bras et la main pour lesquels est enregistrée la réponse électrodermale au repos (posés sur la table), l'enregistrement peut débuter en cliquant sur le bouton .

Pendant deux minutes, l'enregistrement se fait sans stimulation afin de s'assurer de la stabilité des rythmes cardiaque et respiratoire mais surtout de la réponse électrodermale.

De plus, il est important de noter que lors d'une inspiration forcée, il existe une réponse électrodermale. Celle-ci constitue donc une référence, un étalon pour l'étude des réponses aux stimulations et doit donc être mesurée.

C'est la raison pour laquelle, après deux minutes sans stimulation, il est demandé à l'individu étudié de réaliser une inspiration forcée et un maintien en apnée durant quelques secondes.

Les diverses stimulations peuvent alors débuter.

Chaque stimulation doit être marquée sur l'enregistrement au moment précis de son occurrence afin de pouvoir repérer cette stimulation sur l'enregistrement lors de l'analyse et de connaître la latence de la réponse. Pour cela, un marqueur est inscrit dans le champ de texte (*figure n°41*) et on clique sur le bouton marqueur lors de l'énonciation.



Figure n°41 : Champ de texte du logiciel Labscribe2

Pour chaque stimulation, il faut attendre que la réponse se soit stabilisée. La réponse électrodermale étant connue pour être une réponse de longue durée et un temps de latence long, la durée entre deux stimulations peut parfois être longue (en minutes).

2- Enoncé de mots

Des mots dont certains ont à priori une connotation émotionnelle et d'autres non, sont successivement énoncés à la personne.

Chaque mot est une stimulation et fera donc l'objet d'un marqueur.

La liste de mots et leur chronologie est la suivante :

<u>Heure</u>	<u>Mot énoncé</u>	<u>Heure</u>	<u>Mot énoncé</u>
10:53:44.966	crayon	11:03:14.946	pops
10:54:32.451	sandwich	11:08:04.226	pierre
10:55:17.421	thibault	11:08:49.601	crayon
10:56:15.086	fleur	11:09:17.701	mylène
10:56:59.931	burette	11:10:19.246	burette
10:58:02.031	biscarosse	11:11:07.436	équitation
10:59:02.531	Mac Do	11:11:40.866	voiture
10:59:58.596	collier	11:12:13.271	Biscarosse
11:01:00.101	Pops	11:13:26.806	pops
11:01:34.726	voiture	11:01:00.101	mylène
Figure n°42 : Liste des mots énoncés en tant que stimulation pour une réponse électrodermale			

3- Enonciation d'un mensonge

Il s'agit d'étudier la réponse électrodermale de l'individu qui ment.
Quatre objets sont présentés à la personne testée qui en choisi un secrètement.

Les quatre objets sont ensuite à nouveau présentés dans un ordre différent que lors du choix. L'individu est alors interrogé sur son choix pour chaque objet, chaque objet constituant

<u>Heure</u>	<u>Occurrences et stimulations</u>
11:16:34.704	Choix de l'objet
11:16:50.769	Présentation de l'objet 1
11:17:30.854	Présentation de l'objet 2
11:18:20.194	Présentation de l'objet 3
11:18:53.839	Présentation de l'objet 4
Figure n°43 : Chronologie et liste des occurrences et stimulations pour l'énonciation d'un mensonge lors de l'étude de la réponse électrodermale	

une stimulation.

La chronologie de ces stimulations est consignée dans le tableau suivant :

4- Stimulations brusques

Les dernières stimulations sont des stimulations « brusques » au sens où il y a une action « agressive » réalisée sur le sujet.

Les trois stimulations brusques réalisées sont retrouvées dans le tableau suivant.

Heure	Stimulations brusques
11:21:27.073	bisou
11:22:13.238	tirer les cheveux
11:23:34.328	froid
Figure n°44 : Chronologie et liste des stimulations brusques lors de l'étude de la réponse électrodermale	

II-Résultats et discussion

A- Etalonnage

L'inspiration forcée réalisée est visible sur la *figure n°45*, ci-dessous où sont représentées les trois voies d'acquisition du rythme cardiaque (« **cardio** »), du rythme respiratoire (« **pneumo** ») ainsi que de la réponse électrodermale (« **RED** »).

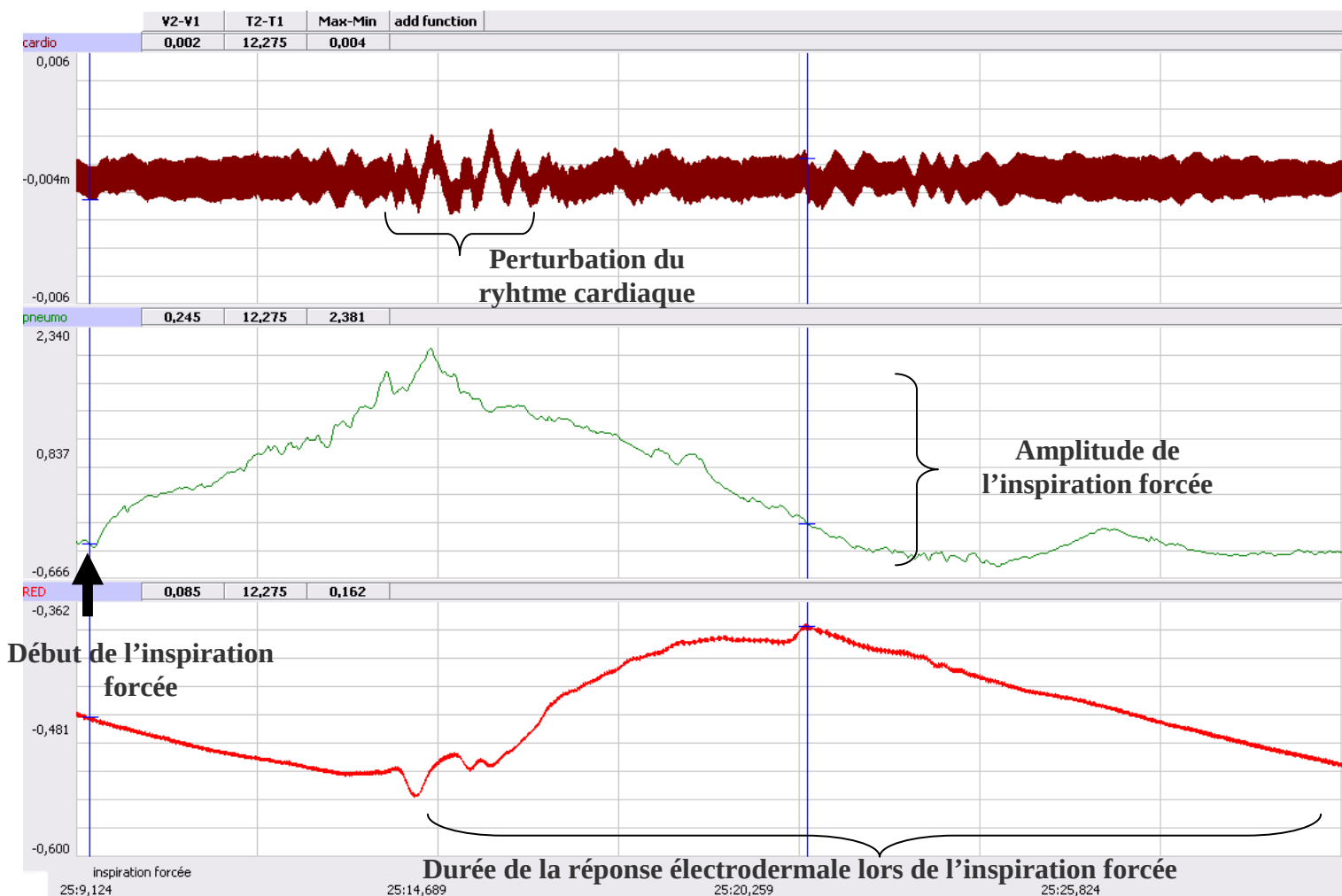


Figure n°45 : Réponse électrodermale (courbe rouge) lors de l'inspiration forcée (courbe verte).

L'amplitude de la réponse électrodermale lors de cette inspiration forcée est de 0,139 unités.

B- Enoncé de mots

Une bonne analyse des résultats réside dans le choix des stimuli à étudier.

1- Stimulus induisant une réponse électrodermale

Nous nous intéressons à la stimulation « biscarosse » (10h58min02s). Le dérours de la réponse électrodermale est représenté sur la *figure n°46*, suivante.

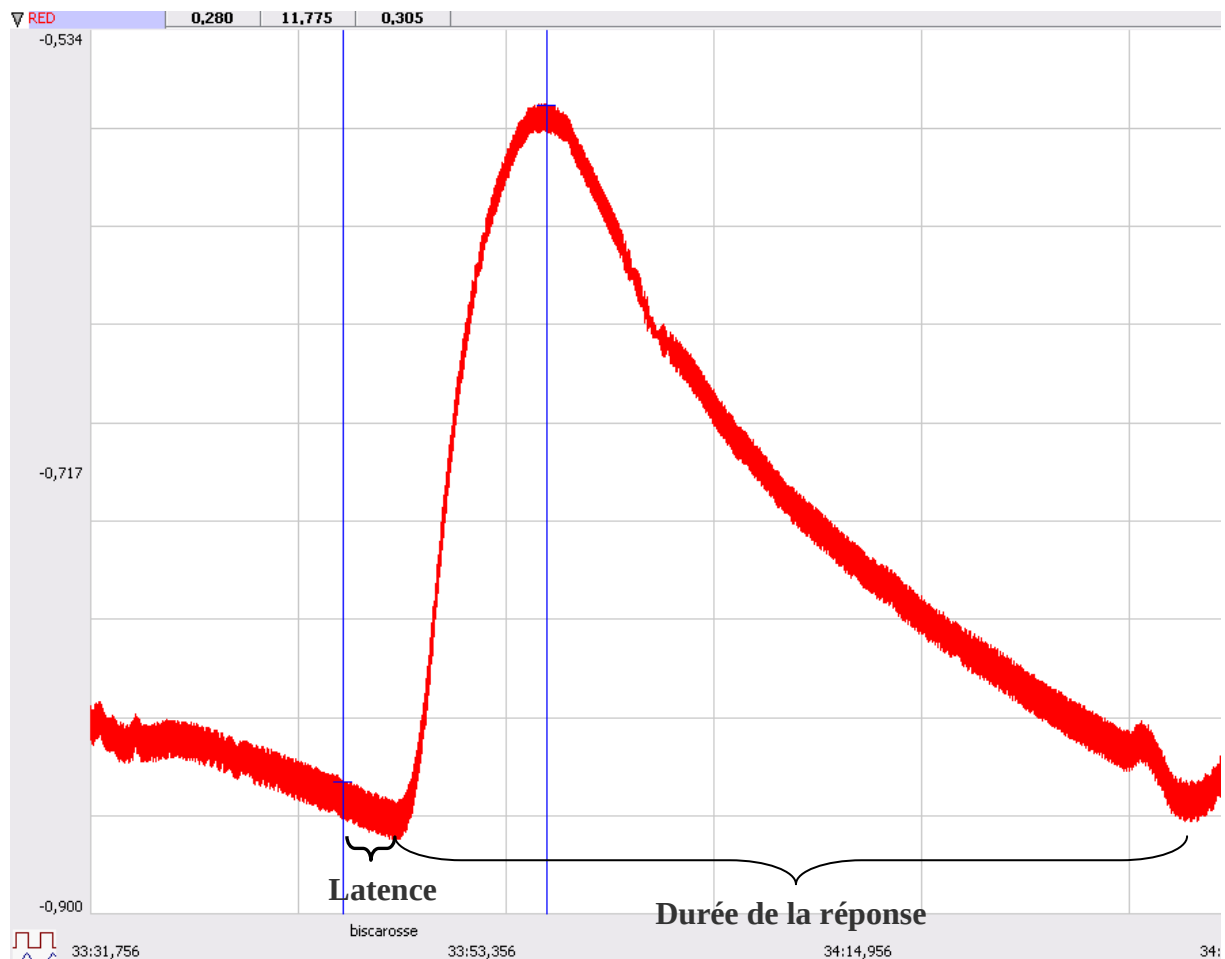


Figure n°46 : Courbe représentative de la réponse électrodermale lors de l'énoncé du mot « biscarosse ».

On observe une réelle réponse au stimulus étant donné le brusque changement dans le dérours de la courbe.

Ainsi, cette courbe se caractérise tout d'abord par un **temps de latence** qui peut être estimé à 3,22 secondes.

La courbe croît alors de manière significative puis décroît pour à peu près retrouver son niveau initial ; on peut estimer que cette réponse a une **durée** de 45,760 secondes.

Enfin, **son amplitude** est d'environ 0,305 unités, soit $\frac{0,305}{0,139} \approx 2,19 = 219\%$; l'étalon étant une vraie réponse électrodermale, et l'amplitude de cette réponse étant augmentée à

environ 120% par rapport à l'étalon, on peut affirmer que la réponse induite par le stimulus « biscarosse » est bien significative : le stimulus a bien engendré une réponse électrodermale chez le sujet.

2- Stimulus n'induisant pas de réponse électrodermale

Pour la stimulation « MacDo » (10h59min02s), comme le montre l'évolution de la courbe ci-dessous (*figure n° 47*).

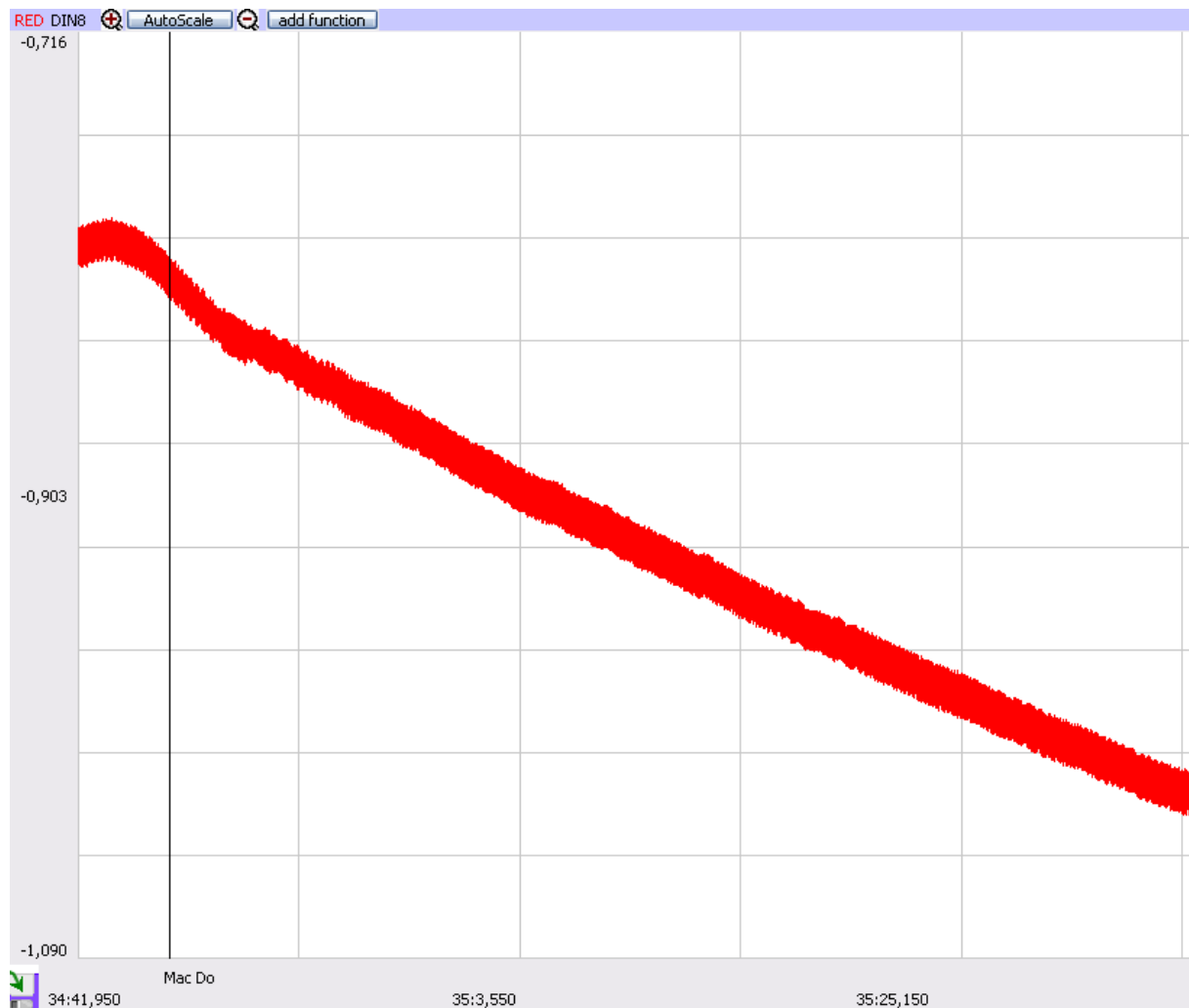


Figure n°47 : Courbe représentative de l'évolution de la conductance épidermique au cours du temps après la stimulation « MacDo ».

On constate donc que pour une même nature du stimulus, en l'occurrence, l'énonciation de mots, il y a ou non une réponse électrodermale. Ce n'est donc pas, ici, la nature du stimulus qui induit une réponse mais le mot en lui-même, sa signification et donc peut-être sa connotation émotionnelle.

Il est donc probable que le mot « biscarosse » évoque des émotions chez l'individu testé.

C- Enonciation d'un mensonge

Afin d'éventuellement détecter le mensonge grâce à la réponse électrodermale, nous suivons la même méthode que pour l'exercice précédent.

L'évolution de la conductance épidermique au cours du temps est représentée sur la *figure n°48* ci-dessous :

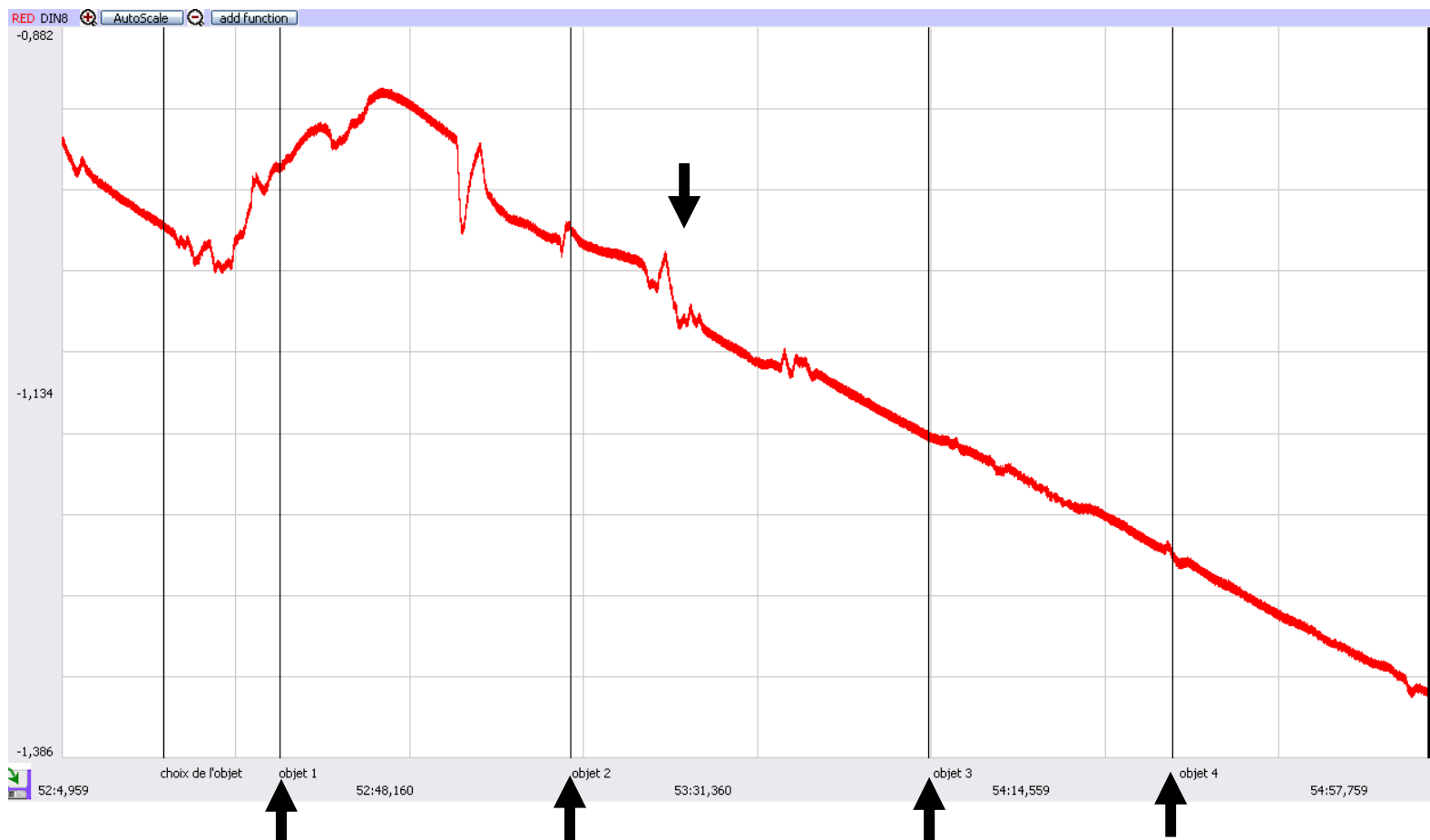


Figure n°48 : Courbe représentative de la réponse électrodermale lors du questionnement du sujet sur l'objet choisi.

On observe que lors du choix de l'objet, il y a eu une perturbation de la conductance cutanée. De plus, la « stimulation », ou en tout cas le fait de poser la question de l'objet choisi, a été réalisée lors de cette perturbation rendant l'exploitation d'une éventuelle réponse électrodermale impossible. Nous nous intéressons donc qu'aux stimulations relatives aux objets n°2, 3 et 4.

Pour ces stimulations, nous ne constatons une perturbation de la réponse cutanée que pour la stimulation relative à l'objet n°2. A première vue, cette perturbation ne semble pas significative.

S'il s'agissait d'une réponse, on pourrait dire que sa **latence** est d'environ 11,85 secondes et sa **durée** d'environ 3,42 secondes. Cela n'est pas cohérent car la latence est plus longue que la réponse elle-même.

De plus son amplitude est de 0,028 unités, c'est-à-dire 20% de l'amplitude de l'étalon.

Tous ces éléments nous indiquent que cette perturbation ne peut pas être considérée comme une réponse électrodermale.

Ainsi, deux cas sont possibles ; soit l'objet n°1 est l'objet choisi mais la réponse électrodermale est occultée par la perturbation lors du choix, auquel cas, le manipulateur aurait dû attendre une stabilisation avant de commencer à questionner, soit le sujet n'a tout simplement pas réagi à la stimulation du mensonge.

Dans ce dernier cas, le mensonge ne serait donc pas source d'émotion chez le sujet, dans le contexte de l'expérience.

D- Stimulations brusques

Cet exercice nous permet d'étayer les hypothèses émises pour les deux exercices précédents, à savoir que la réponse électrodermale est une réponse qui est à la base induite par une émotion.

En effet, la stimulation brusque par définition va induire un état de stress chez le patient et donc par extension, une émotion.

Nous nous intéressons à la stimulation «tirer les cheveux » (11h22min13s). L'évolution de la conductance cutanée au cours du temps suivant cette stimulation est représentée sur la *figure n°49*.

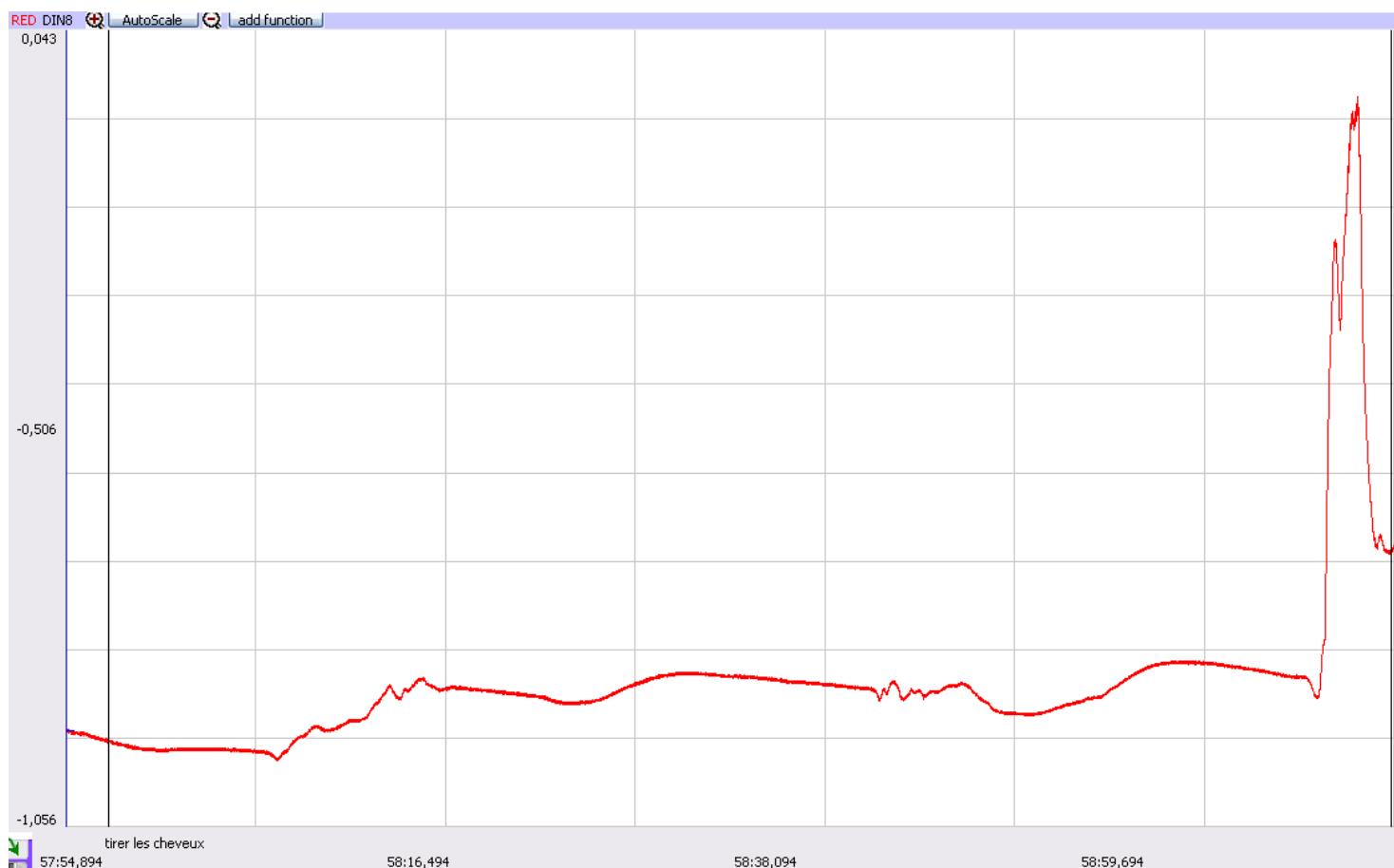


Figure n°49 : Courbe représentative de la réponse électrodermale lors de la stimulation « tirer les cheveux ».

La réponse s'observe par un « pic de conductance » très franc. On note un **temps de latence** long d'environ 76,44 secondes. **La durée** de la réponse est difficile à déterminer

puisque qu'une autre stimulation a immédiatement suivi le « pic » qui en lui-même a une durée de 4,71 secondes. **L'amplitude**, quant à elle, est de 2,713 unités, soit 1951,8 % de l'amplitude de l'étalon. Cette réponse est donc tout à fait significative.

Ainsi, la stimulation brusque a entraîné chez le sujet une réponse électrodermale franche et massive. Ceci nous permet d'affirmer que la réponse électrodermale est très liée à l'induction d'un stress, d'une émotion chez le sujet.

De plus, en comparant, les intensités des différentes réponses étudiées, on s'aperçoit qu'elles sont proportionnelles à l'intensité du stress ou de l'émotion provoquée.

Conclusion

Ainsi, la sudation au niveau de cette région du corps, induite par l'activité du système nerveux végétatif et plus précisément par le système sympathique crée une certaine conductance cutanée. Il existe des variations de ces conductances qui répondent à des stimuli. Ces variations sont des réponses électrodermales.

En réalité, ces stimuli sont perçus par les organes des sens, traités, intégrés au niveau de l'encéphale qui peut induire un état affectif ou non, selon le stimulus.

Le système végétatif étant contrôlé par l'encéphale (aux niveaux bulbaire et cortical), peut alors répercuter des états affectifs par des effets somatiques et notamment par une augmentation de la sudation se traduisant par une réponse électrodermale.

La réponse électrodermale est un de ces effets somatiques possibles mais elle n'est pas la seule : augmentation de la fréquence respiratoire, cardiaque, etc.,...Cependant, contrairement à ces autres effets, la réponse électrodermale s'observe pour des variations minimales de la conductance mais aussi pour des états affectifs qui sont peut-être même non décelés par le sujet lui-même : le simple exercice des énoncés de mots nous l'a prouvé.

Enfin, n'oublions pas que les états affectifs ont eu et ont très souvent d'une manière générale un rapport étroit avec l'expérience et plus largement la mémoire ; cette dimension prend forme lors de l'intégration et du traitement de l'information au niveau du cerveau. Ainsi, un individu percevant un signal est influencé lors de cette intégration et cette influence de la mémoire a également des effets sur la réponse apportée, en l'occurrence, la réponse électrodermale. Ceci explique par exemple que certains mots prononcés engendrent une réponse et d'autres non : dans le cas d'une réponse l'individu a fait appel à sa mémoire, à un souvenir heureux ou malheureux provoquant un état affectif influençant le système nerveux végétatif qui a induit une réponse électrodermale.

Liste des figures

Figure n°1 : Microscope photonique (vu de face).

Figure n°2 : Microscope photonique (vu de profil).

Figure n°3 : Schématisation du système interne d'un microscope photonique classique

Figure n°4 : Schématisation de la thyroïde en place, chez l'homme.

Figure n°5 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande thyroïde colorée à l'hémalum-éosine (grossissement X400)

Figure n°6 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande thyroïde colorée à l'hématéine-éosine-safran (fort grossissement).

Figure n°7 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande thyroïde colorée à l'hémalum-éosine (grossissement X400).

Figure n°8 : Observation au microscope photonique de l'épithélium de follicule thyroïdien coloré à l'hémalum-érythrosine-safran (fort grossissement).

Figure n°9 : Glande lacrymale en place chez l'homme

Figure n°10 : Observation au microscope photonique d'une coupe de glande lacrymale (grossissement X400)

Figure n°11 : Schéma d'une unité sécrétrice de glande lacrymale

Figure n°12 : Coupe histologique d'une glande lacrymale de singe, incluse en paraffine (grossissement X132)

Figure n°13 : Schématisation du pancréas en place, chez l'homme.

Figure n°14 : Observation au microscope photonique d'une coupe de pancréas colorée à l'hémalum-érythrosine-safran (faible grossissement)

Figure n°15 : Observation au microscope photonique d'une coupe de pancréas (grossissement X400)

Figure n°16 : Observation au microscope photonique d'une coupe d'acinus pancréatique colorée à l'hémalum-érythrosine-safran (fort grossissement)

Figure n°17 : Observation au microscope photonique d'un îlot de Langerhans colorée à l'hémalum-érythrosine-safran (fort grossissement)

Figure n°18 : Observation au microscope photonique d'une coupe de foie sain colorée à l'hémalum-éosine (grossissement X400)

Figure n°19 : Observation au microscope photonique d'une coupe de foie cirrhotique colorée à l'hémalum-éosine (grossissement X400)

Figure n°20 : Observation au microscope photonique d'une coupe de foie sain (a) et de foie cirrhotique (b) chez le lapin et colorée à l'hématéine-éosine (grossissement X400).

Figure n°21 : Observation au microscope photonique d'une coupe d'artère et de veine (voisines) colorées à l'hémalum-éosine (grossissement X40).

Figure n°22 : Observation au microscope photonique d'une coupe d'artère de moyen calibre colorée au trichrome de Masson (fort grossissement).

Figure n°23 : Observation au microscope photonique d'une coupe de veine colorée au trichrome de Masson (fort grossissement).

Figure n°24 : Observation au microscope photonique d'une coupe d'artère et de veine colorée au trichrome de Masson (fort grossissement).

Figure n°25 : Observation au microscope photonique d'une coupe de moelle épinière colorée au Dominici (faible grossissement).

Figure n°26 : Observation au microscope photonique d'une coupe de moelle épinière de mammifère (grossissement X400).

Figure n°27 : Observation au microscope photonique d'une coupe de moelle épinière colorée au Dominici (fort grossissement).

Figure n°28 : Coupe histologique d'un cerveau de mammifère.

Figure n° 29 : Observation au microscope photonique de la relation entre astrocytes et capillaires sanguins (imprégnation aux sels d'argent)

Figure n°30 : Schéma d'une lame de Malassez.

Figure n°31 : Schéma d'une grille de Malassez.

Figure n°32 : Photographie d'une unopette et d'un hématimètre.

Figure n°33 : Protocole d'utilisation de l'unopette.

Figure n°34 : Schéma de la technique de frottis sanguin

Figure n°35 : Observation au microscope d'un des 25 rectangles quadrillés de la cellule de Malassez utilisée (grossissement X400)

Figure n°36 : Numération des hématies dans les rectangles quadrillés de la cellule de Malassez.

Figure n°37 : Frottis sanguin observé au microscope photonique (grossissement X400) après coloration au M.G.G., chez le rat.

Figure n°38 : Formule leucocytaire observée et normale chez *Rattus sp*

Figure n°39 : Amplificateur de la réponse électrodermale (gauche) et capteur de la conductance épidermique (droite et gauche)

Figure n°40 : Représentation de l'ensemble du dispositif d'acquisition.

Figure n°41 : Champ de texte du logiciel Labscribe2

Figure n°42 : Liste des mots énoncés en tant que stimulation pour une réponse électrodermale

Figure n°43 : Chronologie et liste des occurrence et stimulations pour l'énonciation d'un mensonge lors de l'étude de la réponse électrodermale

Figure n°44 : Chronologie et liste des stimulations brusque lors de l'étude de la réponse électrodermale

Figure n°45 : Réponse électrodermale (courbe rouge) lors de l'inspiration forcée (courbe verte).

Figure n°46 : Courbe représentative de la réponse électrodermale lors de l'énoncé du mot « biscarosse ».

Figure n°47 : Courbe représentative de l'évolution de la conductance épidermique au cours du temps après la stimulation « MacDo».

Figure n°48 : Courbe représentative de la réponse électrodermale lors du questionnement du sujet sur l'objet choisi.

Figure n°49 : Courbe représentative de la réponse électrodermale lors de la stimulation « tirer les cheveux ».

Bibliographie

Ouvrages

GARTNER L. P., HIATT J. L., 2005. *Color atlas of histology*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 439p.

Références électroniques

ACADEMIE DE ROUEN, 2008. TP : la numération cellulaire. [en ligne].

< <http://biotechno.ac-rouen.fr/blp/TPnumerationcellulaire.pdf> > (Page consultée le 12 décembre 2008).

ALTER H. J., CHENG L.-F., ESTEBAN J. M., JIN B., LIU X.-L., QIU Q., SHIH J. W.-K., SUN T., WANG H.-D., YANG Y.-S., YAO L., ZHANG Z.-C., 2007. Reversibility of experimental rabbit liver cirrhosis by portal collagenase administration. [en ligne].

<http://www.nature.com/labinvest/journal/v85/n8/fig_tab/3700304f5.html> (Page consultée le 12 décembre 2008).

AMICE J., 2007. Faculté de médecine et des sciences de la santé de BREST. [CD-ROM]. UBO, Brest.

ANIMAL REPRODUCTION SYSTEMS, 2008. Hemacytometer/Unopette® Kit. [en ligne].

< http://www.arssales.com/boar/html/b-hema_unopette.html > (Page consultée le 12 décembre 2008).

CASEY C., 2007. Thyroid disease and new technology to test for it. [en ligne].

<http://www.associatedcontent.com/article/160506/thyroid_disease_and_new_technology.html?cat=70> (Page consultée le 12 décembre 2008).

DARLING D., 2008. The internet encyclopedia of science. [en ligne].

< http://www.daviddarling.info/encyclopedia/L/lacrimon_gland.html > (Page consultée le 12 décembre 2008).

ELECTRON MICROSCOPY SCIENCES, 2008. Histology and light microscopy. [en ligne].

<http://www.emsdiasum.com/microscopy/products/digital/histology_scanner.aspx> (Page consultée le 12 décembre 2008).

FACULTES UNIVERSITAIRES NOTRE-DAME DE LA PAIX, 2007.

Histologie générale. [en ligne].

<<http://webcampus.fundp.ac.be/courses/MMEDB151/document/HG/startHG.html>> (Page consultée le 19 décembre 2008).

FAIRVIEW HEALTH SERVICES, 2007. Health library. [en ligne].

<http://www.fairview.org/healthlibrary/content/aha_pancreas_art.htm> (Page consultée le 12 décembre 2008).

INTEGRATED PUBLISHING, 2008. Unopette procedure. [en ligne].

<<http://www.tpub.com/corpsman/232.htm>> (Page consultée le 12 décembre 2008).

WILD LIFE CONSERVATION SOCIETY, 2008. Necropsie. [en ligne].

<http://www.wcs.org/swhigh_tech_tools/wildlifehealthscience/fvp/168570/guidelinesandpapers/necropsymanualfrench/169815> (Page consultée le 12 décembre 2008).