

TP RESPIRATION

La vision du programme

- 2^{ème} Année :
 - L'étude des différents exemples est conduite autour de l'optimisation des différents paramètres de la loi de Fick.
 - Les observations sont menées à différentes échelles et sur des supports de natures différentes: **dissections** si nécessaires, **coupes histologiques**, **analyse de diagrammes** d'échanges, **préparations tissulaires**.
 - En particulier, les relations entre l'échangeur respiratoire et la convection interne (brassage ou appareils circulatoires) font l'objet d'une attention particulière.
 - Ces séances s'appuient sur ce qui a été fait lors des 5 séances de 1^{ère} année consacrées aux plans d'organisation. Pour les animaux disséqués en première année, la séance s'appuie entre autres sur des études de lames.
 - Gestes exigibles au concours :
 - Mettre en évidence les échangeurs respiratoires sur les exemples cités ou proches de ceux cités ;
 - Montage de filaments branchiaux et de trachées.
 - Les séances prévues poursuivent plusieurs objectifs :
 - illustrer le chapitre de cours consacré à l'étude des échanges gazeux respiratoires ;
 - apprendre à disséquer les appareils respiratoires de ces deux animaux ainsi que les relations anatomiques avec leur appareil circulatoire (en se limitant à leur cœur et au départ de leurs troncs artériels).
- Pour information, rappel du programme de 1^{ère} année :
- Observations en lien avec la partie II-A-2 (morphologie et anatomie) :
 - Souris : appareil digestif, **appareil « cardio-respiratoire »**, **limité au départ du cœur des principaux vaisseaux**, appareil uro-génital ; coloration et observation du contenu du caecum
 - Poisson téléostéen : appareil digestif, **région branchie cœur avec au moins un arc aortique**, appareil reproducteur
 - Ecrevisse – langoustine : **extraction des appendices** (sans la nomenclature des parties des appendices), appareil digestif, appareil circulatoire, **cavité branchiale**, appareil reproducteur, chaîne nerveuse dans la région abdominale
 - Criquet : extraction des pièces buccales – (nomenclature limitée au nom de l'appendice), **montage de trachées**

1. DES ECHANGEURS RESPIRATOIRES NON SPECIALISES : RESPIRATION TEGUMENTAIRE

Chez un certain nombre d'organismes, la respiration est gérée par la surface tégumentaire. Ils ont tous en commun de mener une vie aquatique, ou d'évoluer dans un milieu relativement humide qui leur permet d'entretenir la présence d'une voile humide à leur surface, humidité permettant la dissolution des gaz, processus indispensable au franchissement des surfaces d'échanges biologiques.

1.1 Une respiration tégumentaire banale chez une planaire

Animaux dulcicoles, mobiles et carnivores, les planaires sont des « vers plats » : ce sont plathelminthes.

Dotée d'une double polarité et d'une symétrie bilatérale, la planaire est bien sûr un bilatérien.

L'unique orifice digestif s'ouvre sur sa face ventrale, tandis que son pôle antérieur est marqué par la présence d'ocelles et de tentacules sensoriels.

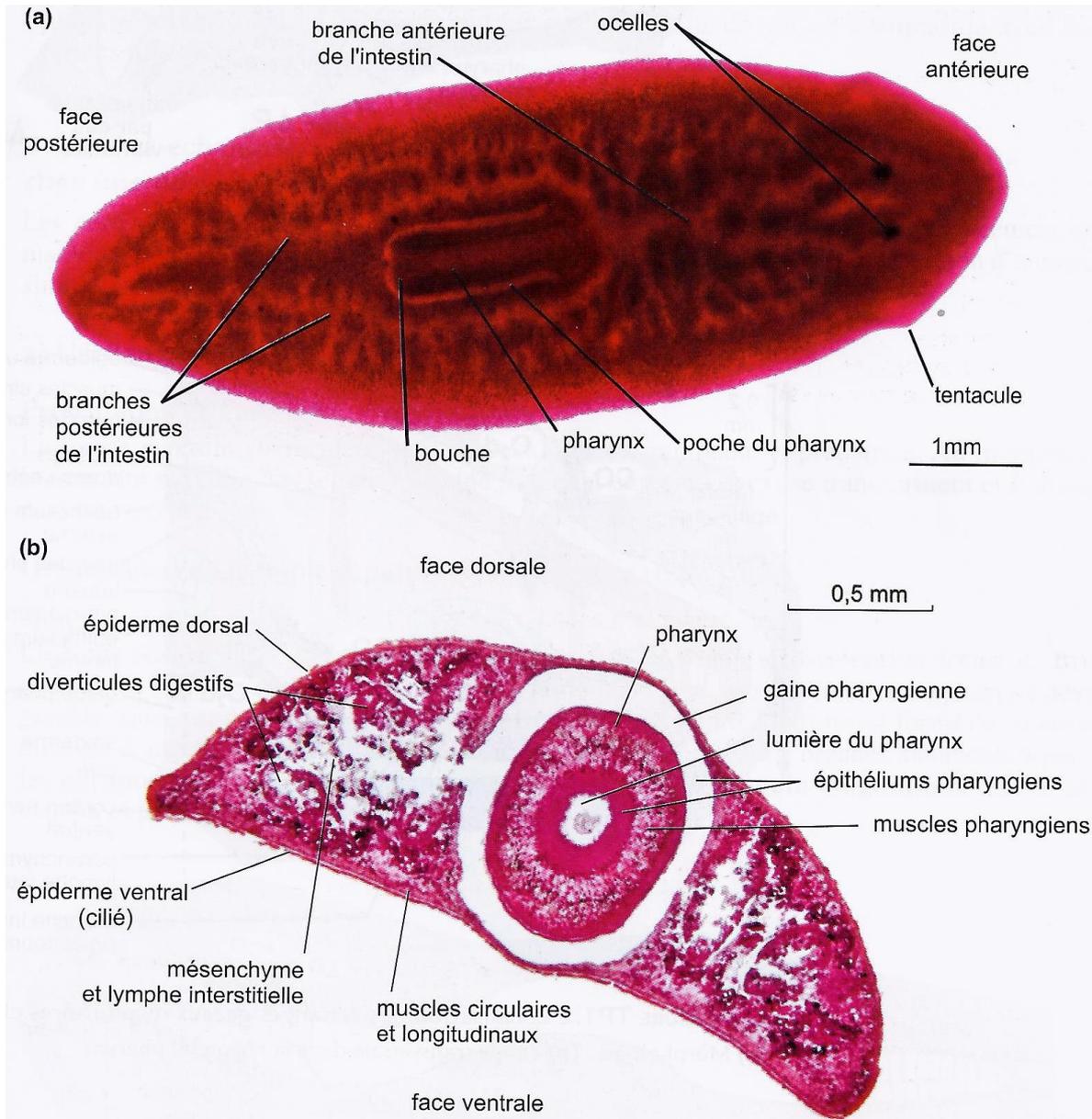


Figure 1.1 : Organisation de la planaire.

(a) Observation d'une préparation microscopique in toto (vue dorsale), (b) coupe transversale dans la région pharyngienne.

Une planaire est recouverte par un épiderme à structure épithéliale simple, épithélium cilié sur sa face ventrale. Les organes sont baignés par une lymphe interstitielle qui peut être mise en mouvement au gré des déformations du corps qui accompagnent ses ondulations locomotrices...l'animal ne dispose pas d'appareil circulatoire.

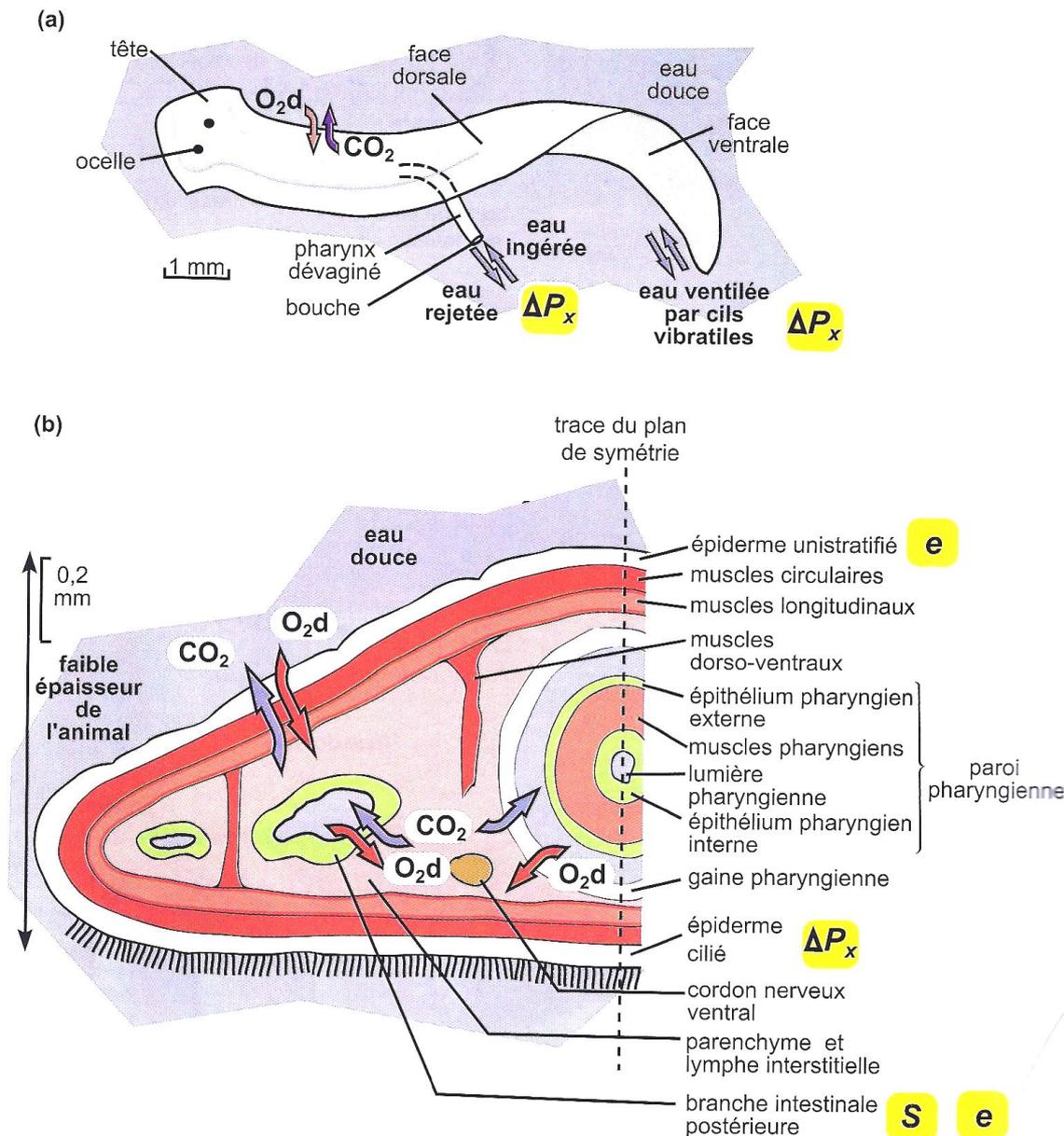


Figure 1.2 Localisation des échanges gazeux respiratoires chez une planaire

Sur le côté ventral, et après avoir étiré la langue protractile vers l'avant, on peut repérer la **glotte**, ouverture par laquelle on placera dès à présent un petit cathéter et qui fait communiquer la **cavité buccale** avec les poumons situés dans la cavité générale.

Les caractéristiques de surface(S), d'entretien des gradients (ΔP_x), et la faible épaisseur (e) optimisant les échanges respiratoires sont figurés.

→ Bilan : Grande surface tégumentaire, faible épaisseur de l'épithélium séparant eau et lymphe, ciliature ventrale et mouvements corporels entretenant les gradients de P_p

1.2 Une respiration tégumentaire « améliorée » chez une néréis

Une néréis est un ver marin de la zone de balancement des marées sur fonds sableux.

Son corps, doublement polarisé et présentant une symétrie bilatérale, est formé d'une succession d'anneaux quasi-similaires : c'est un bilatérien annélide.

L'observation du corps montre :

- une **partie antérieure**, la tête, qui porte la bouche (trompe dévaginée) ou un orifice pharyngien (trompe invaginée) et des organes sensoriels. Cette tête est constituée d'un segment prébuccal –**prostomium**– accompagné des deux premiers anneaux dont les structures locomotrices latérales (parapodes) sont ici transformées en pièces sensorielles surnuméraires ; ces deux anneaux forment le **péristomium**.
un **tronc constitué de quelques dizaines d'anneaux** à structures morphologique et anatomique identiques –des **métamères**–, portant latéralement des organes locomoteurs pairs : les parapodes.
Ce tronc est parcouru longitudinalement par un vaisseau dorsal, tandis qu'un sillon marque sa face ventrale.
- une **partie postérieure**, le **pygidium** porteuse de cirres sensoriels.

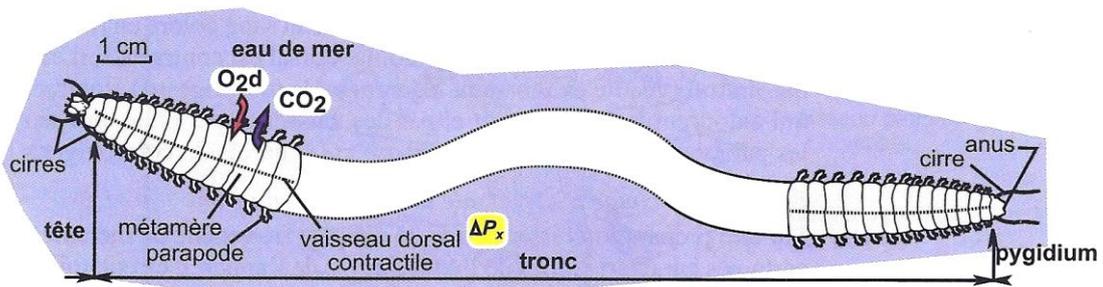


Figure 1.3 : Morphologie d'une néréis

Les parapodes sont découpés en deux rames, dorsale (notopode) et ventrale (neuropode) ; ils portent également des cirres sensoriels. Leur tégument est constitué d'un épithélium simple au travers duquel il est possible d'observer sur un animal frais un réseau de capillaires sanguins relativement dense.

Ce parapode est maintenu étalé par des acicules chitineux.

Prélever un parapode en l'arrachant à la base le long du tronc après avoir enroulé le flanc de celui-ci autour d'un doigt ; le prélèvement peut se faire à la pince.

Étaler le parapode sur la platine sombre de la loupe binoculaire et observer avec un éclairage supérieur réfléchi.

Monter le parapode dans une goutte d'eau entre deux lames de verre, et observer au microscope.

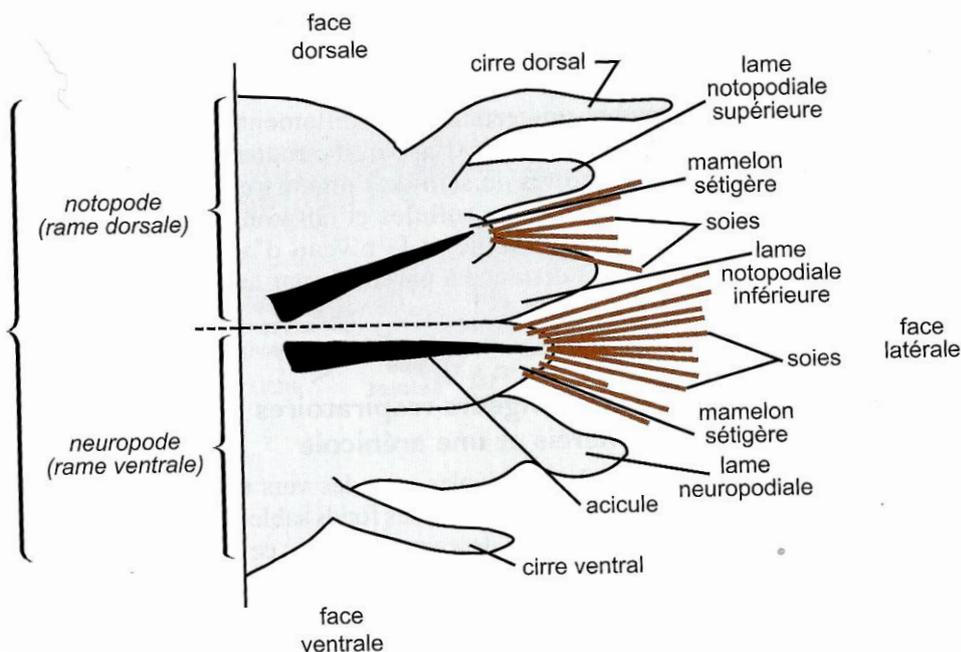


Figure 1.4 : Schéma d'observation d'un parapode isolé.

Il est possible de procéder à une dissection partielle d'un animal frais pour montrer les relations entre l'échangeur respiratoire et la convection interne (ici l'appareil circulatoire contenant du sang coloré en rouge du fait de la présence d'hémoglobine dissoute dans le plasma).

Réaliser une incision médiadorsale dans la partie antérieure du tronc de l'animal : réaliser une boutonnière dans la région médiane et inciser le long de la ligne médiadorsale d'arrière vers l'avant jusqu'à la tête. Découper les cloisons qui délimitent les métamères (dissépinements) pour pouvoir écarter les bords tégumentaires. Observer les organes en place et notamment l'appareil circulatoire et ses relations avec le tégument.

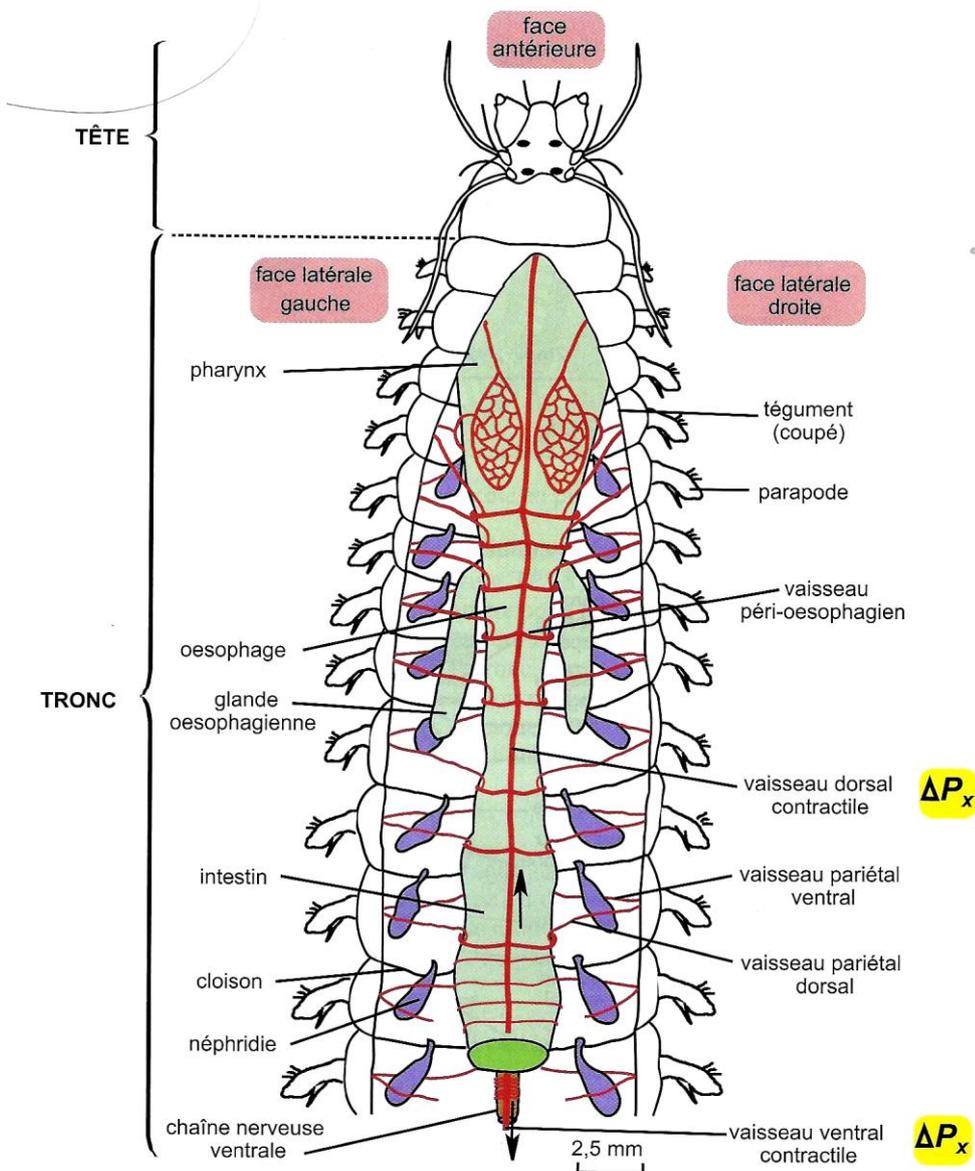


Figure 1.5 : Organisation interne de la partie antérieure d'une néréis ; appareil circulatoire et ses relations avec le tégument.

Des préparations microscopiques de coupe de cet animal peuvent aussi vous être proposées. Il faudra alors procéder à leur observation et à la réalisation de schémas d'observation simple, ou de schémas fonctionnels relatifs à la fonction respiratoire...

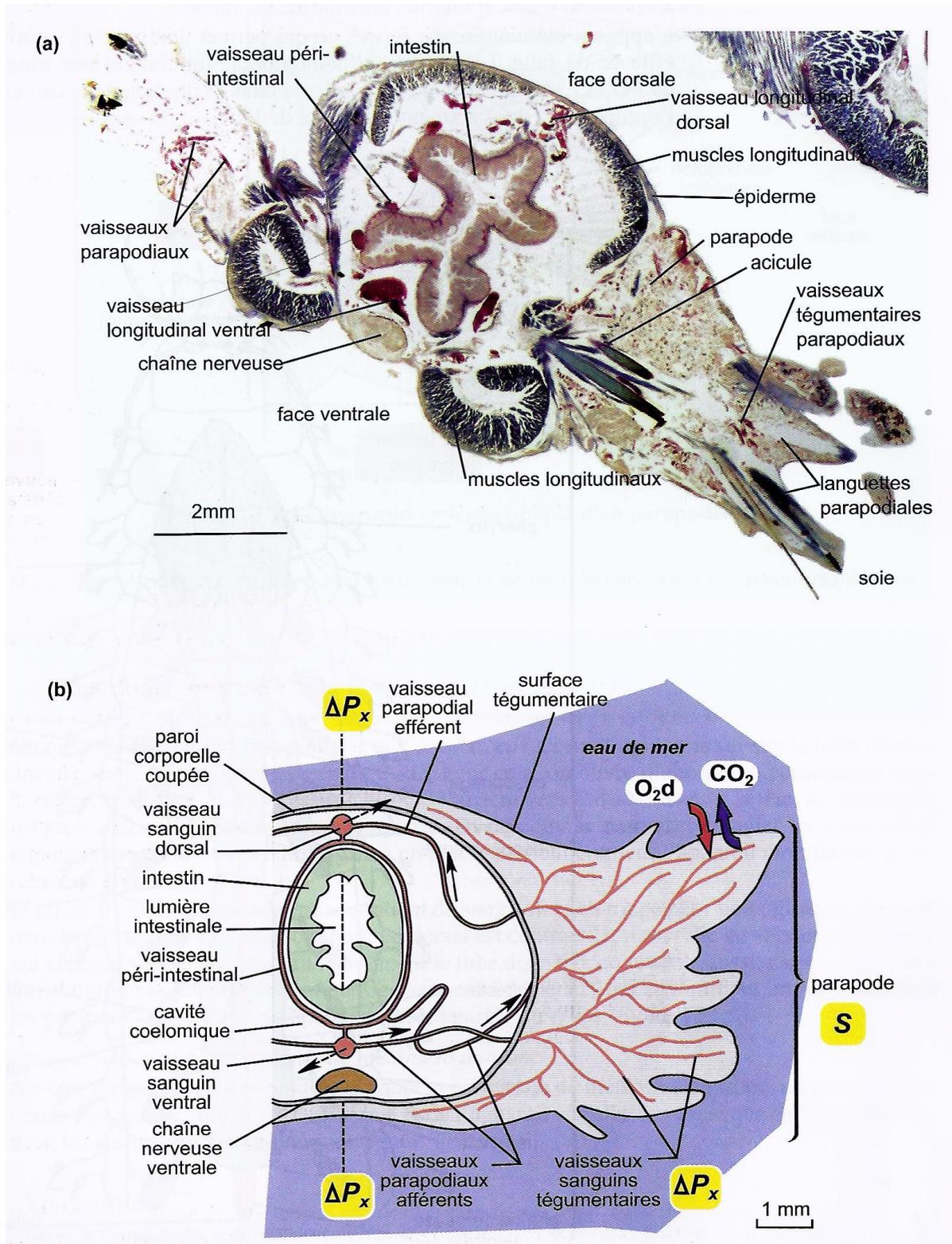


Figure 1.6 : Coupe transversale d'un métamère troncal de néréis.
 (a) observation, (b) schéma fonctionnel

Transition : Il existe aussi des animaux qui présentent à la surface de leurs corps des évaginations tégumentaires qui baignent dans l'eau du milieu de vie et qui sont perfusées par l'appareil circulatoire : ce sont donc des branchies.

L'arénicole des pêcheurs en est un exemple. C'est un annélide tubicole des fonds sableux, qui porte dans sa région troncale, 13 paires de branchies filamenteuses dorsales correspondant chacune à la transformation de la rame parapodiale dorsale d'un métamère.

Ceci fait l'objet d'une illustration en cours.

2. L'APPAREIL RESPIRATOIRE DU POISSON ET SES RELATIONS AVEC L'APPAREIL CIRCULATOIRE

La truite ou le gardon sont des poissons osseux d'eau douce ; l'observation d'un gardon placé dans un aquarium permet de mettre en évidence l'existence de mouvements « ventilatoires » créant un courant d'eau depuis la bouche jusqu'aux ouïes (courant d'eau tracé par quelques gouttes de bleu de méthylène placé devant la bouche par exemple).

Ces poissons présentent les caractéristiques générales des Vertébrés : double polarité, plan de symétrie bilatérale, corps régionalisé en tête + tronc + queue portant des nageoires impaires (dorsale + caudale + anale) et deux paires de nageoires paires (pectorales + pelviennes).

2.1 Dissection

a. Incisions générales

Sectionner sur un côté de l'animal l'opercule qui recouvre les branchies.

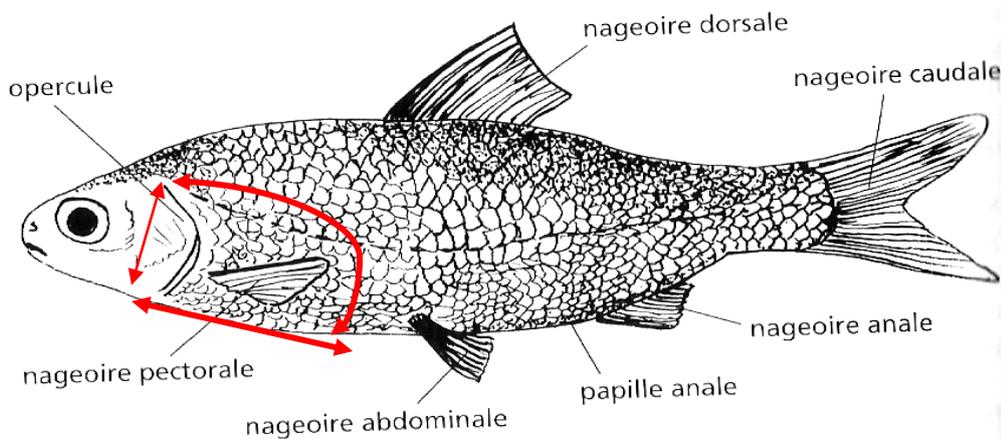
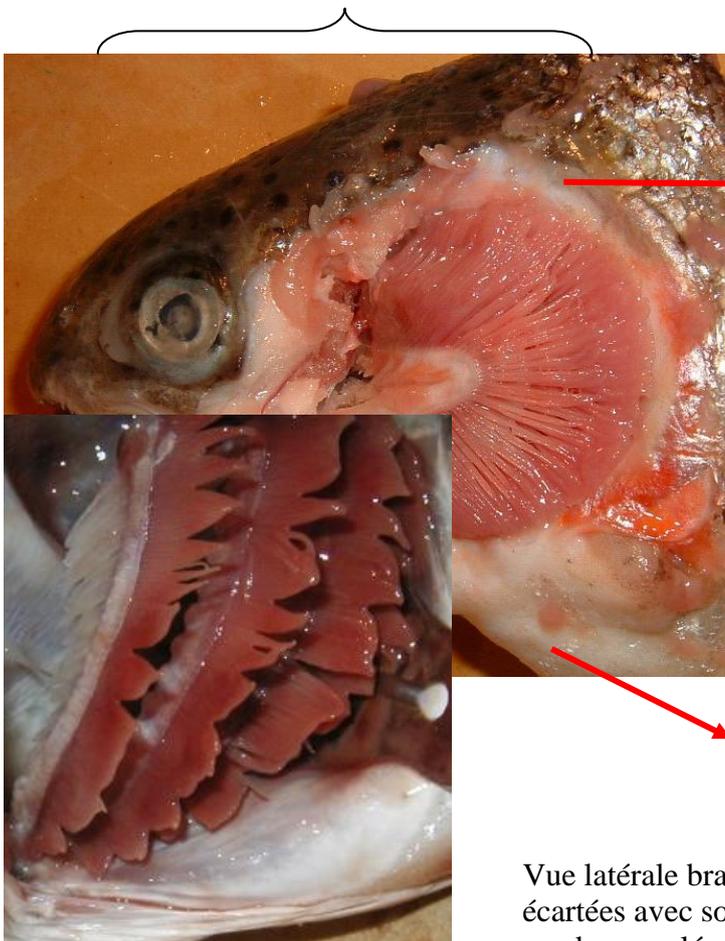


Figure 2.1 : Plan des incisions à opérer

Opercule sectionné sur le côté gauche de l'animal



Ouverture d'un volet musculo-cutané vers l'arrière

Figure 2.2 : Vue latérale gauche des branchies après élimination de l'opercule

Vue latérale branchies écartées avec sortie de sonde cannelée entre deux d'entre elles

Ouvrir un volet musculo-cutané un peu en arrière de la région operculaire dégagée et sur la face ventrale de l'animal ; inciser peau et muscle sur la face ventrale vers la commissure de la mâchoire inférieure en veillant à conserver les ciseaux les plus tangentiels possible afin de ne pas léser la région aortique ventrale située dessous.
Retirer délicatement la cloison musculuse et osseuse séparant la région branchiale de la cavité générale du côté étudié.

Dégager le cœur de son péricarde.

Repérer les 4 paires de branchies, le cœur avec ses 4 parties (sinus veineux, oreillette, ventricule, bulbe artériel), et l'arrivée des troncs veineux depuis l'arrière et depuis la face dorsale (canaux de Cuvier).

Placer alors l'animal dans une cuvette à dissection, dos contre liège à l'avant en le laissant vers l'arrière reposer sur le flanc opposé à celui disséqué ; le fixer grâce à des épingles.

Recouvrir d'eau.

b. Dissection des racines aortiques ventrales

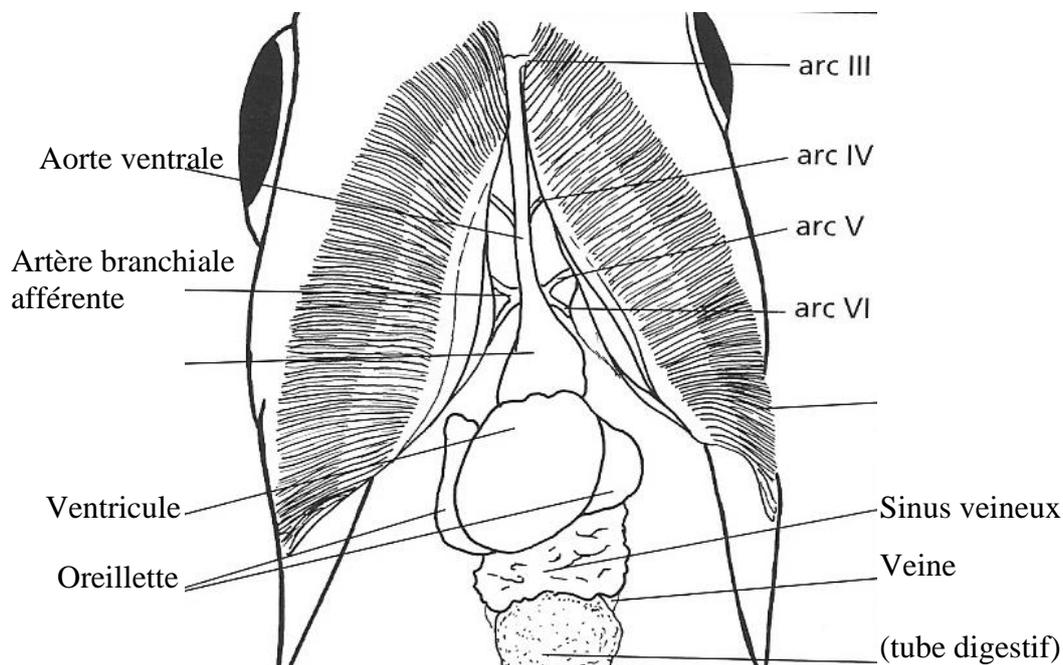


Figure 2.3 : Détail de la région cardiaque et branchiale en vue ventrale

Vers l'avant du cœur, suivre le départ de l'aorte ventrale et l'extraire progressivement des tissus qui l'entourent en dilacérant avec des pinces ces derniers et en s'aidant de petites incisions.

Attention, cette aorte tend à s'enfoncer en direction de l'appareil branchiale et ne demeure pas si ventrale qu'à la sortie du cœur.

Dégager et individualiser tout d'abord une paire de racines aortiques doubles afférentes aux branchies : ce sont les racines des aortiques VI et V.

Placer si possible un fil de couleur à la base de chacune d'elles, au moins d'un côté.

Poursuivre vers l'avant en recommençant des travaux similaires pour le départ des racines aortiques IV et III situées respectivement au milieu de la région branchiale ventrale et tout à l'avant de cette même région.

c. Identification des vaisseaux

Faire passer un fil autour des canaux de Cuvier et de la veine sus-hépatique si vous la repérez.

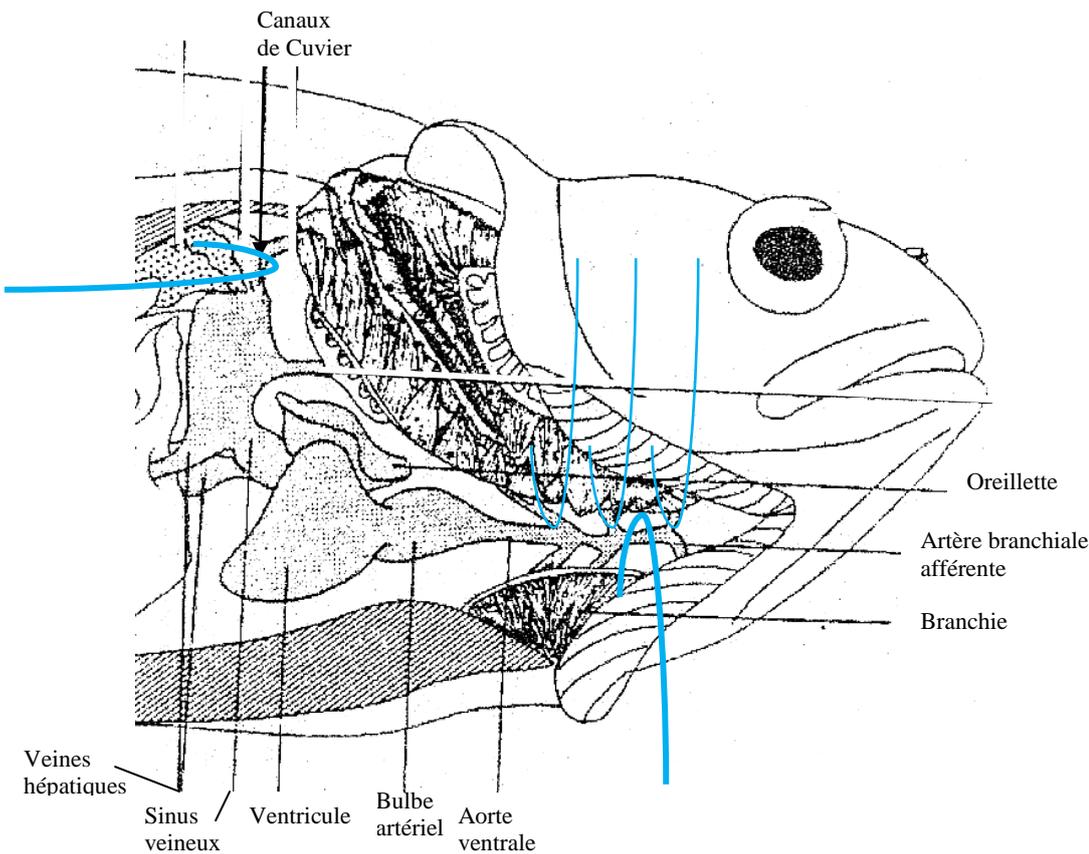


Figure 2.4 : Vue latéro-ventrale droite de l'appareil respiratoire du poisson et des relations avec l'appareil circulatoire

d. Présentation finale

Rincer votre cuvette et remplir d'eau propre dès lors que toutes les incisions et dilacérations sont achevées.

Placer des épingles numérotées sur les organes en respectant la numérotation portée sur la feuille « légendes », à l'extrémité des fils et des éventuelles flèches cartonnées utilisées.

Placer les étiquettes classiques de polarité et de latéralité.

Poser un papier noir pour cacher les régions éventuellement ouvertes de la cavité générale mais sans rapport avec le sujet.

→ Vous devez savoir faire : une présentation avec épingles numérotées et une dissection plus classique avec un éventuel dessin légendé de l'appareil disséqué en veillant alors à sa fidélité par rapport à ce que vous pouvez observer dans la cuvette.

1.2 Etude d'une branchie extraite

Une branchie peut être extraite du bouquet remplissant la région pharyngée.

Elle peut être observée à la loupe binoculaire.

Il est aussi possible de prélever une ou deux lames sur cet échantillon et de les placer dans une goutte d'eau entre lame et lamelle pour observation microscopique : vous devez y voir les lamelles.

Un dessin (ou un schéma) légendé peut vous être demandé.

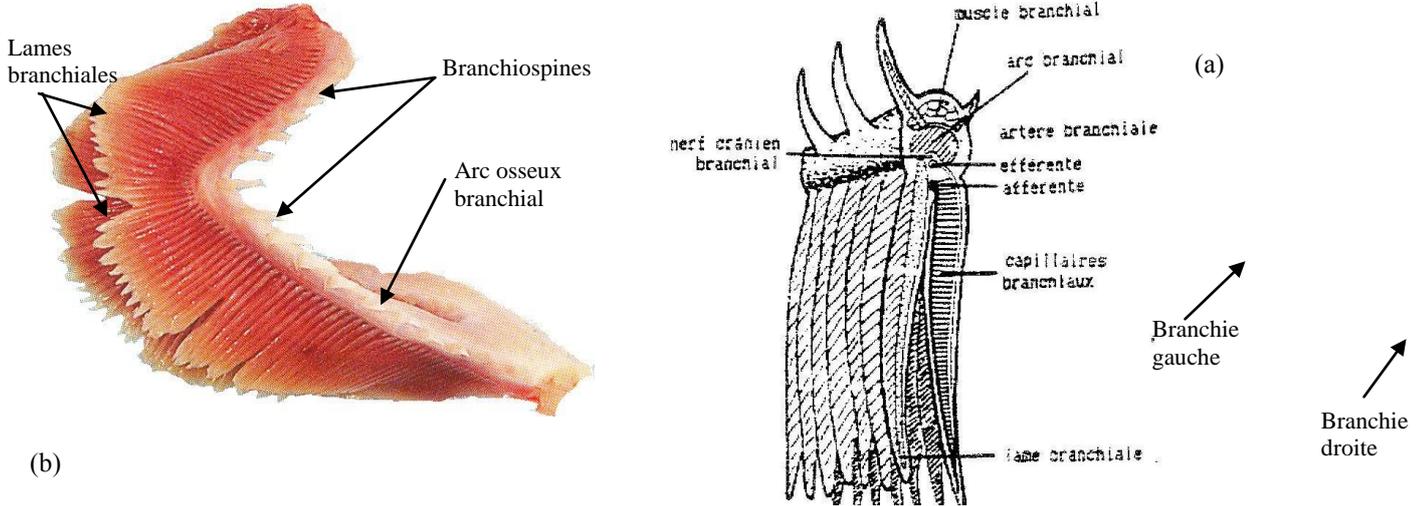


Figure 2.5 : (a) Branchie isolée, (b) Fragment de lame branchiale (MO x 400)

1.3 Etude d'une coupe histologique de branchie (du commerce)

Ce sont théoriquement des coupes transversales à l'axe squelettique de la branchie : elles coupent en général ce corps squelettique vascularisé et passent par une ou plusieurs paires de lames sur lesquelles il est possible de rechercher des secteurs montrant bien quelques lamelles.

Les lamelles sont limitées par une assise épithéliale à deux types de cellules (pavimenteuse + pilier) recouvrant un conjonctif peu visible sauf par ses lacunes sanguines dans lesquelles des érythrocytes nucléés peuvent être repérés.

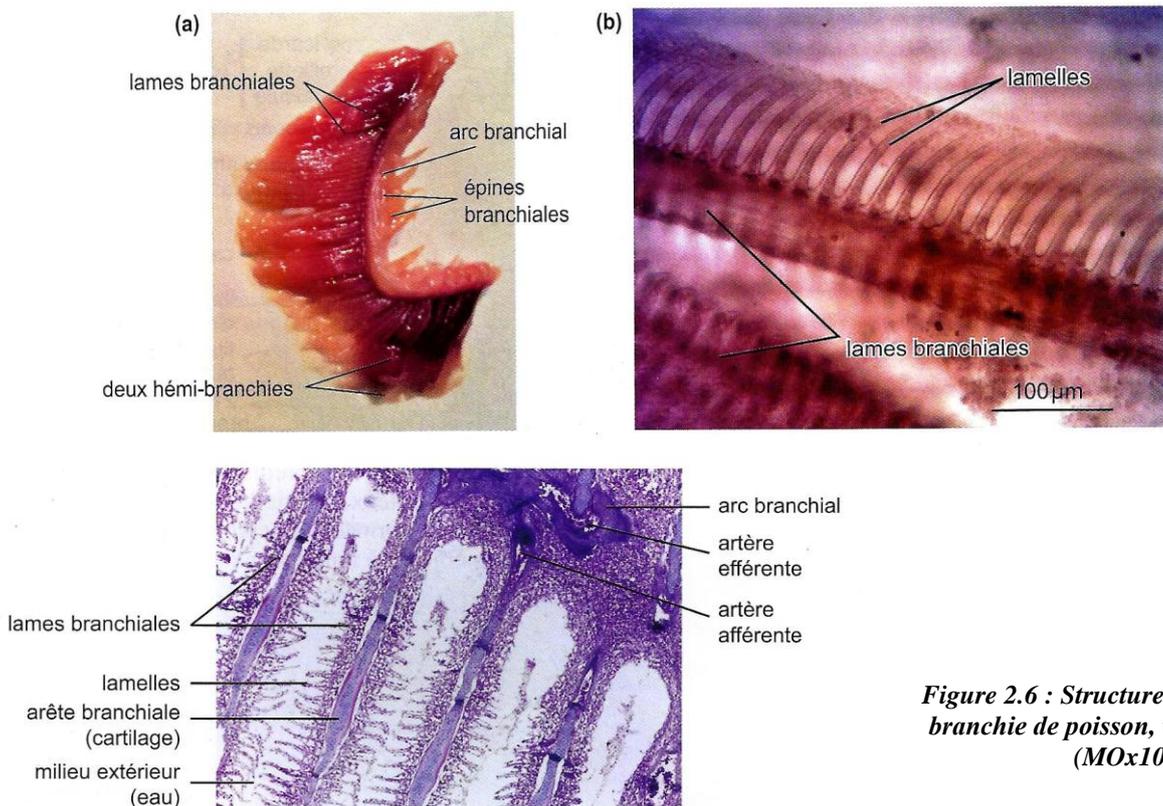


Figure 2.6 : Structure histologique de branchie de poisson, vue d'ensemble (MOx100)

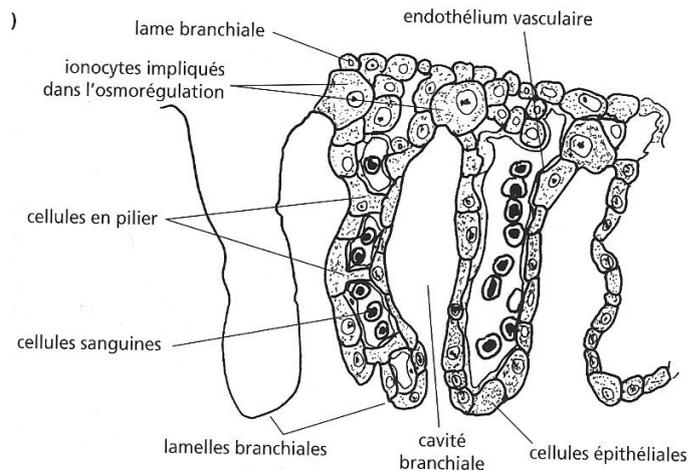


Figure 2.7 : Schéma d'organisation des lamelles branchiales (fort grossissement)

3. L'APPAREIL RESPIRATOIRE DE LA MOULE

La moule, *Mytilus edulis*, est un animal marin des côtes rocheuses vivant fixé à leur surface par le biais de filaments de byssus, dans la zone de balancement des marées (et supportant les variations physico-chimiques associées à cette évolution permanente du milieu).

L'animal est recouvert d'une coquille bivalve qui enferme un corps mou composé d'une masse viscérale sur la face ventrale de laquelle est placé un pied musculueux.

Un repli tégumentaire, le manteau, tapisse la face interne de la coquille qu'il produit d'ailleurs : c'est la manteau palléal ; il délimite à l'intérieur de l'animal une cavité baignant les organes : la cavité palléale.

Cette organisation est bilatérienne à corps mou non segmenté comportant typiquement masse viscérale, pied et généralement une tête, ici absente, est typique des Mollusques.

La présence d'une coquille bivalve et de branchies filamenteuses dont l'association forme des feuillettes (lames) → Lamellibranches.

A marée basse, elles profitent de leur coquille externe comme d'un abri hermétique dans lequel elles poursuivent une vie aquatique alors qu'elles sont exondées.

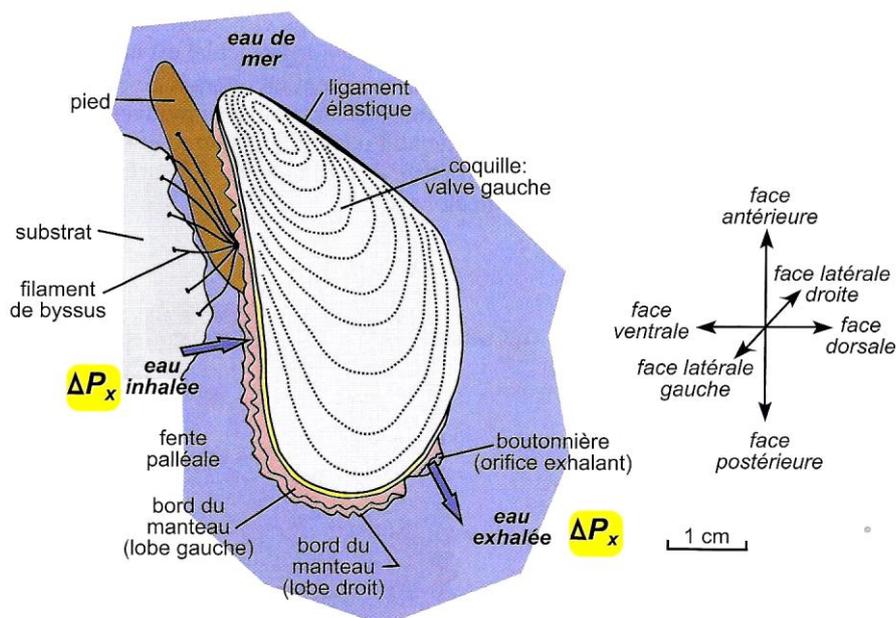


Figure 3.1 : La moule dans sa coquille

a. Organisation d'ensemble de l'animal extrait de la coquille, dans sa cavité palléale

Extraire le corps des valves en le décollant délicatement alors qu'il a été généralement échaudé. Ceci est aussi possible sur des moules fraîches en s'aidant d'un scalpel.
 Observer les traces des muscles qui correspondent à celles vues sur la coquille.
 Repérer le bord palléal ventral ouvert et la boutonnière anale dorsale et postérieure.
 Observer les nombreux vaisseaux qui parcourent le manteau.
 Sur la face dorsale, on peut aussi voir le cœur par transparence, en forme de hache avec un unique ventricule médian dont la pointe est dirigée vers l'arrière et deux oreillettes situées plus latéralement.
 Ouvrir la bordure palléale et épingler les bords du manteau dans la cuvette.

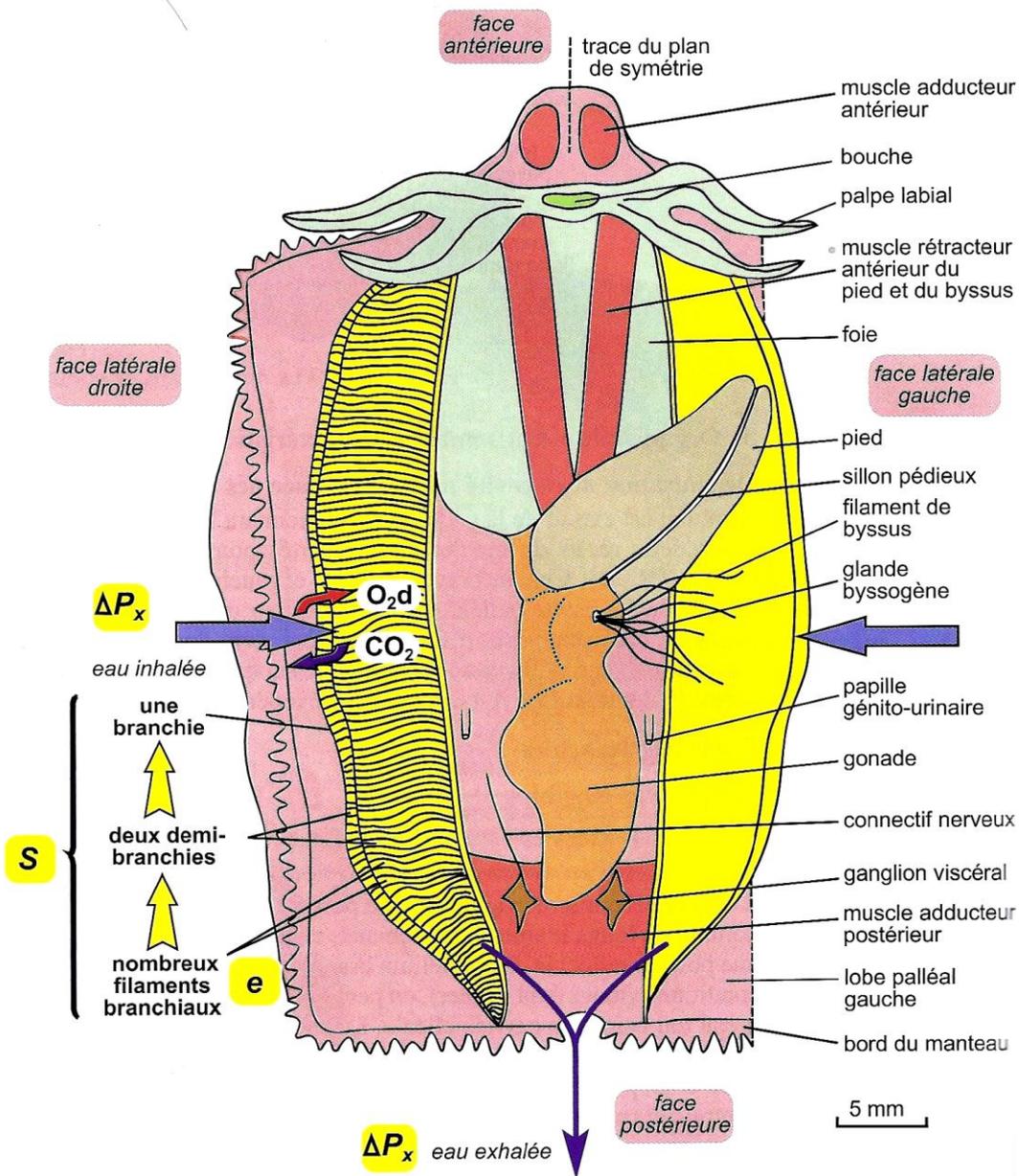


Figure 3.2 : les organes de la cavité palléale, vue ventrale

Le courant d'eau est figuré en bleu, et les caractéristiques de surface (S), d'entretien des gradients (ΔP_x) optimisant les échanges respiratoires sont figurés.

a. Organisation de l'échangeur respiratoire

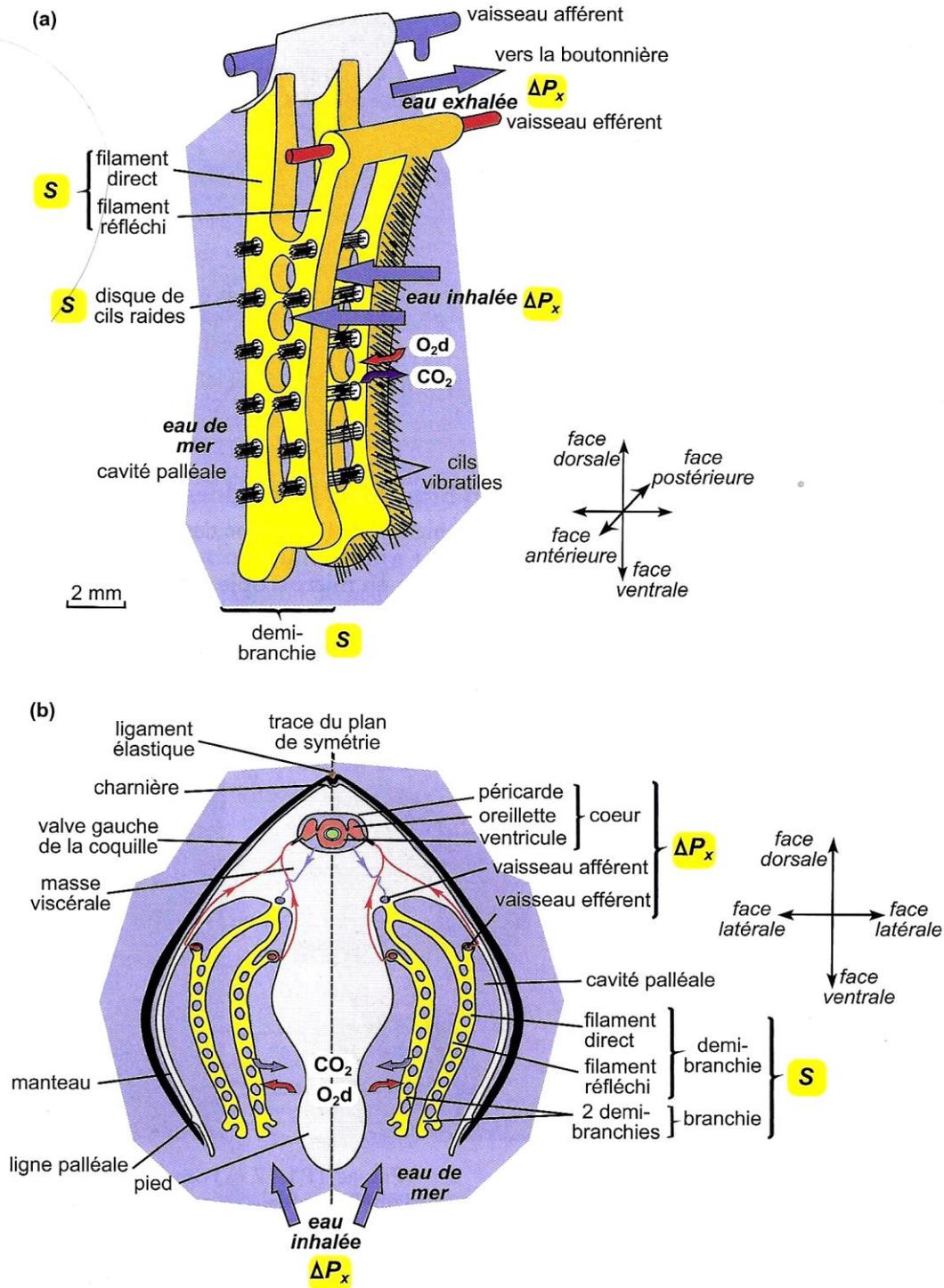


Figure 3.3 : Organisation des branchies de la moule

(a) agencement des filaments branchiaux, (b) disposition des branchies dans la cavité palléale (schéma CT)

Le courant d'eau est figuré en bleu, et les caractéristiques de surface (S), d'entretien des gradients (ΔP_x) optimisant les échanges respiratoires sont figurés.

Il est possible de prélever des fragments de branchies de moule sur un animal vivant après l'avoir sorti de sa coquille ou ouvert celle-ci en sectionnant le muscle postérieur avec un scalpel.

Découper avec des ciseaux fins un petit morceau de branchie, placer le dans un verre de montre avec de l'eau et tenter d'en séparer les feuillets avec des pinces fines.

Monter morceau d'un feuillet entre lame et lamelle dans une goutte d'eau, le mieux étant de disposer d'eau de mer.

Un feuillet est formé de différents filaments unis entre eux par des **disques de jonction** organisés en **brosses de cils raides**. Sur leur bordure d'apparence claire, l'épithélium est cilié.

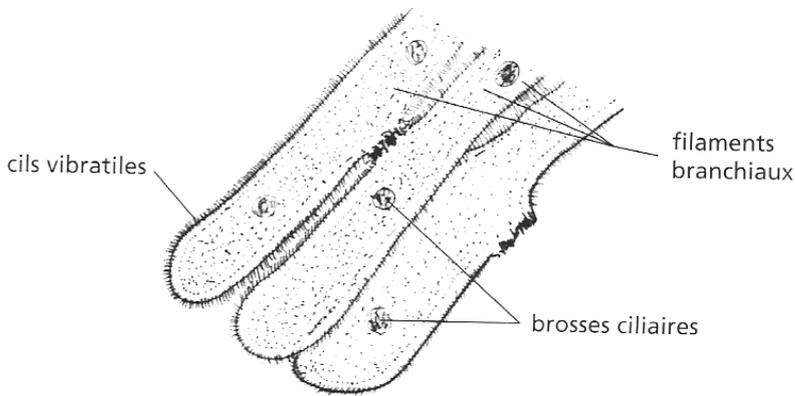
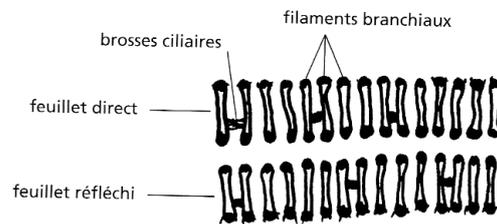
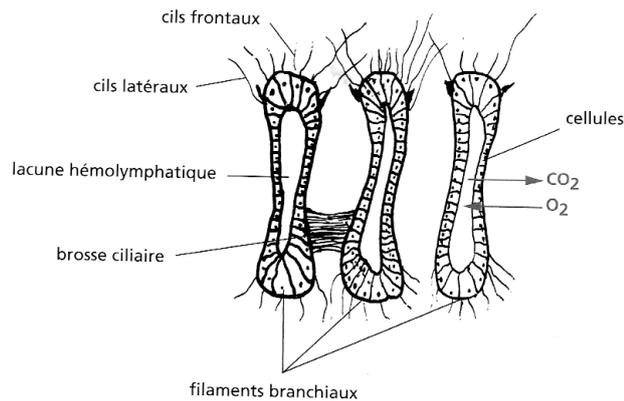


Figure 3.4 : Schéma interprétatif de l'observation d'un montage de branchie de moule

Des préparations microscopiques filaments ; les cellules ciliées sont situées plus interne. Au centre des correspondent aux secteurs où Les **filaments directs et réfléchis conjonctifs**.



montrent des coupes des situées en périphérie, des quant à elles en position feuillets, les lacunes circule l'hémolymphe sont liés par des **ponts**



interprétatifs de branchies de moule

Figure 3.5 : schémas l'observation de coupes de

4. L'APPAREIL RESPIRATOIRE DU CRIQUET

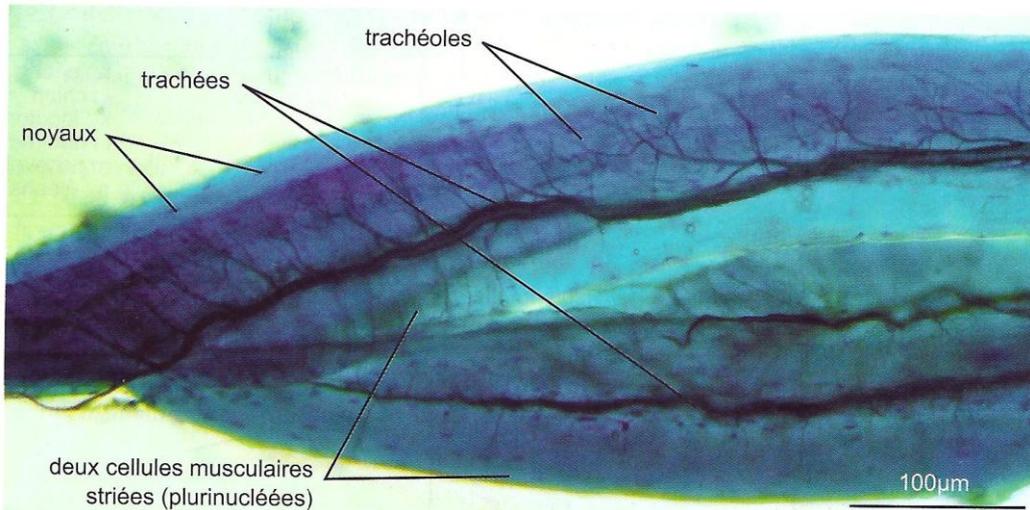
L'observation externe d'un criquet révèle la présence, de chaque côté de l'animal le long du thorax et de l'abdomen, d'orifices respiratoires –**stigmates**- : 2 paires thoraciques et 8 paires abdominales. Ils ouvrent sur un réseau de tubes –**trachées**- se ramifiant partout dans le corps.

Il est possible d'observer l'organisation ramifiée du système trachéen en prélevant des portions tissulaires chez un animal frais.

Découper et prélever un stigmate abdominal en emmenant avec lui quelques trachées.

Etaler sur une lame, recouvrir d'une goutte d'eau et d'une lamelle ; observer.

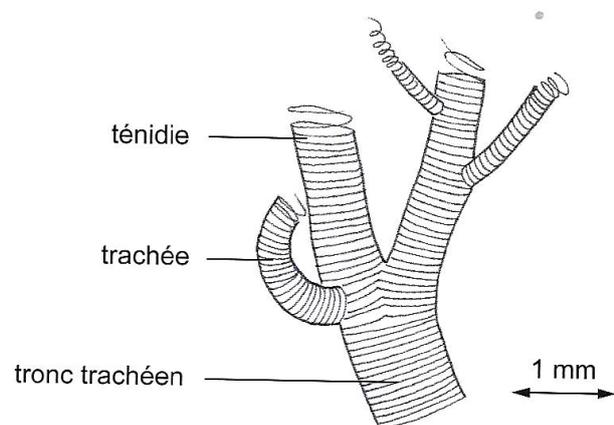
Inciser la cuticule qui recouvre le fémur de la patte P3, prélever un peu de tissu musculaire et les trachées qui le jouxtent. Etaler sur une lame, recouvrir d'une goutte d'eau et d'une lamelle ; observer.



(a)



(b)



(c)

Figure 4.1 : Trachées du criquet observées en microscopie optique (a) au contact de cellules musculaires striées, (b) isolées (c) schéma

5. LE POUMON DES MAMMIFÈRES

Les Mammifères ont des **poumons parenchymateux (figure 5.1)** enfouis dans la cage thoracique, entourés d'une plèvre (pulmonaire) contribuant avec la plèvre thoracique à la formation d'une **cavité pleurale** aveugle (ne communiquant avec rien).

Ce poumon est composé de **voies aérophores, de vaisseaux** dont nous avons déjà explicité les caractéristiques, et de **tissu conjonctif** ennoyant les types tissulaires précédents. Ce conjonctif innervé et vascularisé est riche en collagène, en fibres élastiques qui confèrent au poumon l'élasticité dont il use pour l'expiration passive.

Nous n'explicitons ici que la structure des voies aérophores spécifiques du poumon.

Elles peuvent être subdivisées en deux parties :

- une partie conductrice seulement, au sein de laquelle l'air va et vient sans que se réalisent d'échanges ;
- une portion respiratoire dans la paroi de laquelle des échanges deviennent possibles.

5.1 Les voies aérophores conductrices

Prolongeant à l'intérieur du poumon la trachée et les bronches extra-pulmonaires, les bronches intra-pulmonaires se ramifient en bronchioles.

La structure d'une petite bronche conductrice (**figure 5.2**) en coupe transversale et en microscopie optique montre plusieurs couches tissulaires concentriques :

- **une muqueuse** : un **épithélium simple** [cellules ciliées nombreuses + cellules à mucus] + un **conjonctif sous-jacent** riche en élastine -**le chorion**- .
- **une musculuse** : constituée de **myocytes lisses** plus nombreux vers les bronchioles que vers les bronches ; elle permet de moduler la conductivité de l'arbre bronchique à l'air.
- **une adventice** : **enveloppe conjonctive externe** qui intègre la bronchiole aux tissus environnants.

Entre adventice et musculuse, des **amas cartilagineux** forment des anneaux de plus en plus discontinus des bronches vers les bronchioles (**figures 5.2 et 5.3**).

5.2 Les voies aérophores respiratoires et la surface alvéolaire

Elles sont constituées des terminaisons des **bronchioles (figure 5.4)**, les **bronchioles respiratoires** débouchant dans les **canaux alvéolaires** qui se résolvent en multiples **sacs alvéolaires** dont les contours sont subdivisés en petits alcôves, les **alvéoles** (pour information, nom masculin en principe !). Cette organisation confère au poumon un aspect très découpé semblable à une dentelle.

En microscopie optique (figures 5.4 et 5.5) :

Canaux, sacs et alvéoles apparaissent autour de **quelques vaisseaux** et **bronchioles** souvent groupés, les interstices résiduels correspondant à du **conjonctif**.

A fort grossissement, la paroi des alvéoles montre une **structure épithéliale plate** ; entre deux parois alvéolaires contiguës, on peut parfois observer les **lumières de certains capillaires** (ou petits vaisseaux).

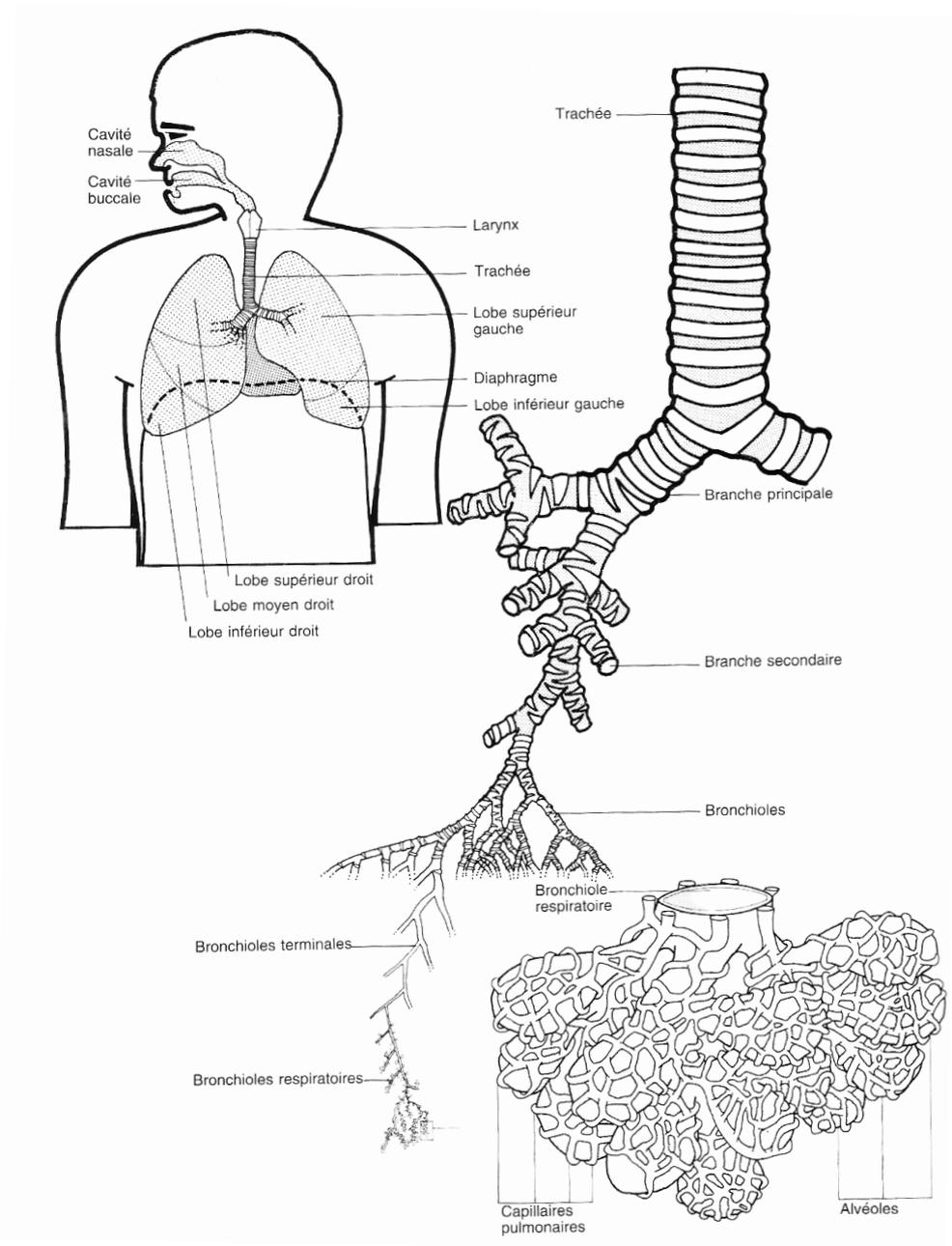


Figure 5.1 : Structure de l'appareil respiratoire humain

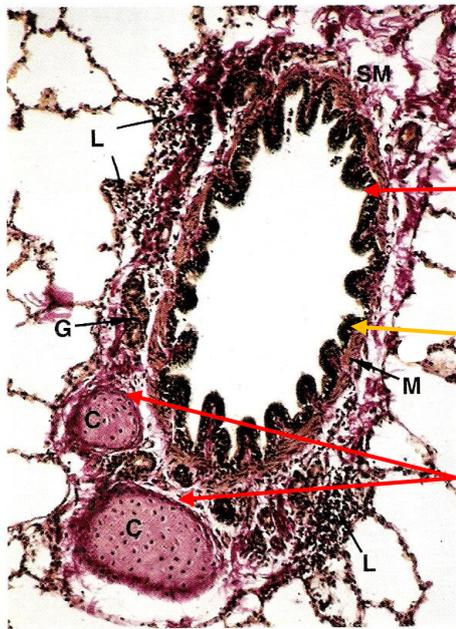


Figure 5.2 : Bronche intrapulmonaire (x800)
 (L : amas lymphocytaires ; G : glandes)

Muqueuse : épithélium + chorion

Musculeuse (M)

Amas cartilagineux d'apparence très discontinue

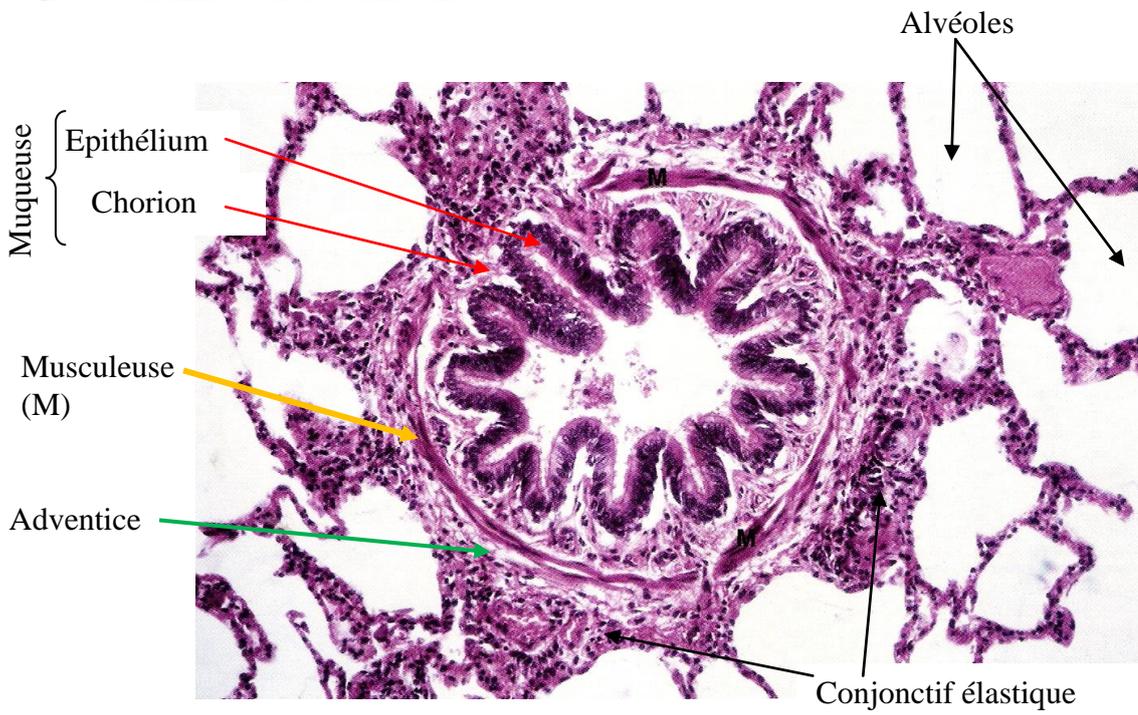


Figure 5.3 : Bronchiole (x160)

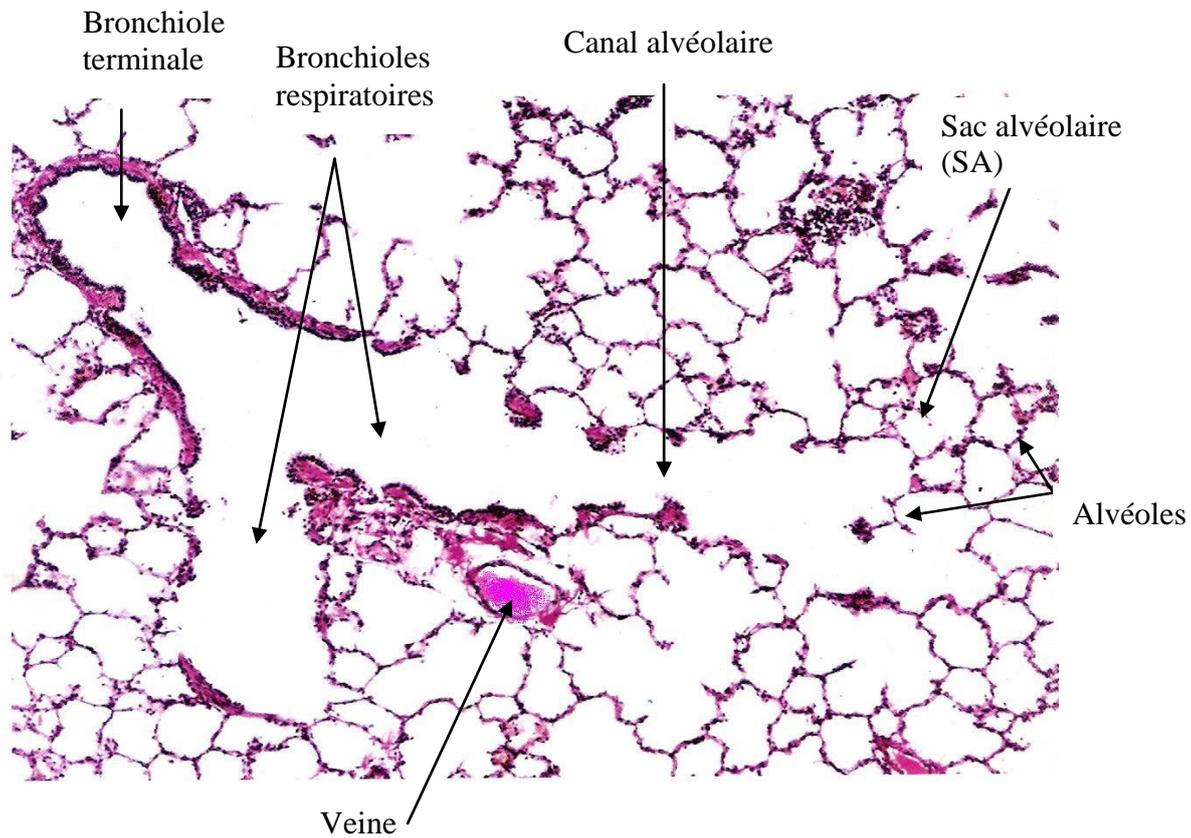


Figure 5.4 : Poumon parenchymateux ; partie terminale de l'arbre respiratoire

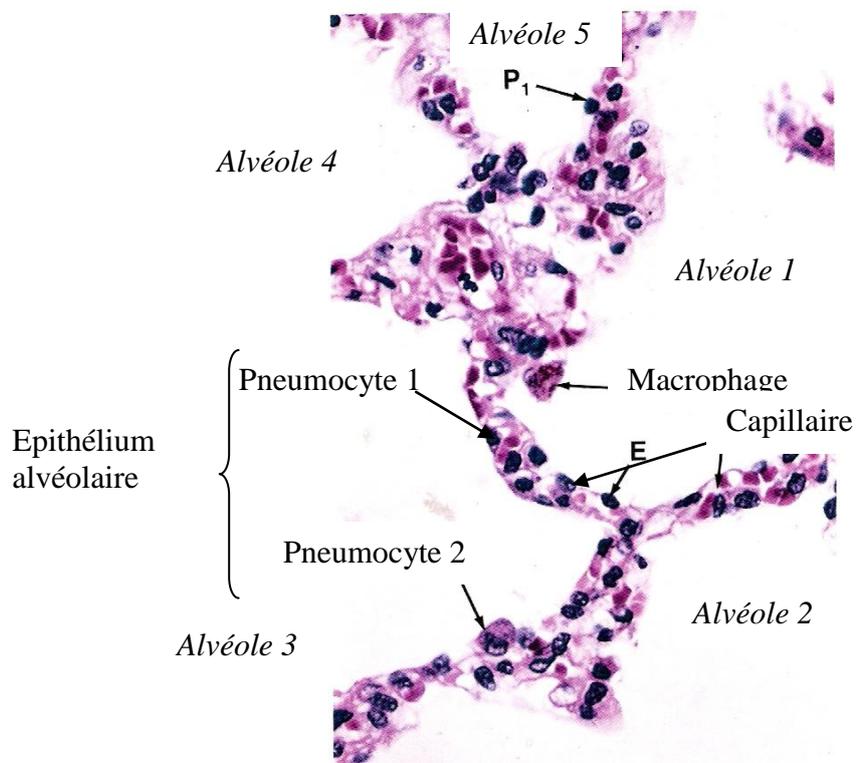


Figure 5.5 : Alvéoles et parois alvéolaires (x480)

En microscopie électronique (figures 5.6 et 5.7) :

Elle permet surtout de préciser la structure de la paroi alvéolaire.

On distingue les **pneumocytes I**, **cellules plates** au noyau rarement observable, des **pneumocytes II**, plus **volumineux** et qui sécrètent le **surfactant** (tensio-actif) qui tapisse la surface des alvéoles en facilitant leur déploiement.

Des **capillaires** sont présents dans la paroi conjonctive qui sépare deux parois alvéolaires contigües, et **des leucocytes** en diapédèse ou ayant déjà migré à la surface de l'alvéole peuvent parfois être observés.

Remarque : dans ces parois inter-alvéolaires, les basales de l'endothélium vasculaire et de l'épithélium alvéolaire sont réunies, ce qui diminue l'épaisseur séparant l'alvéole du sang et favorise donc les échanges hém-alvéolaires.

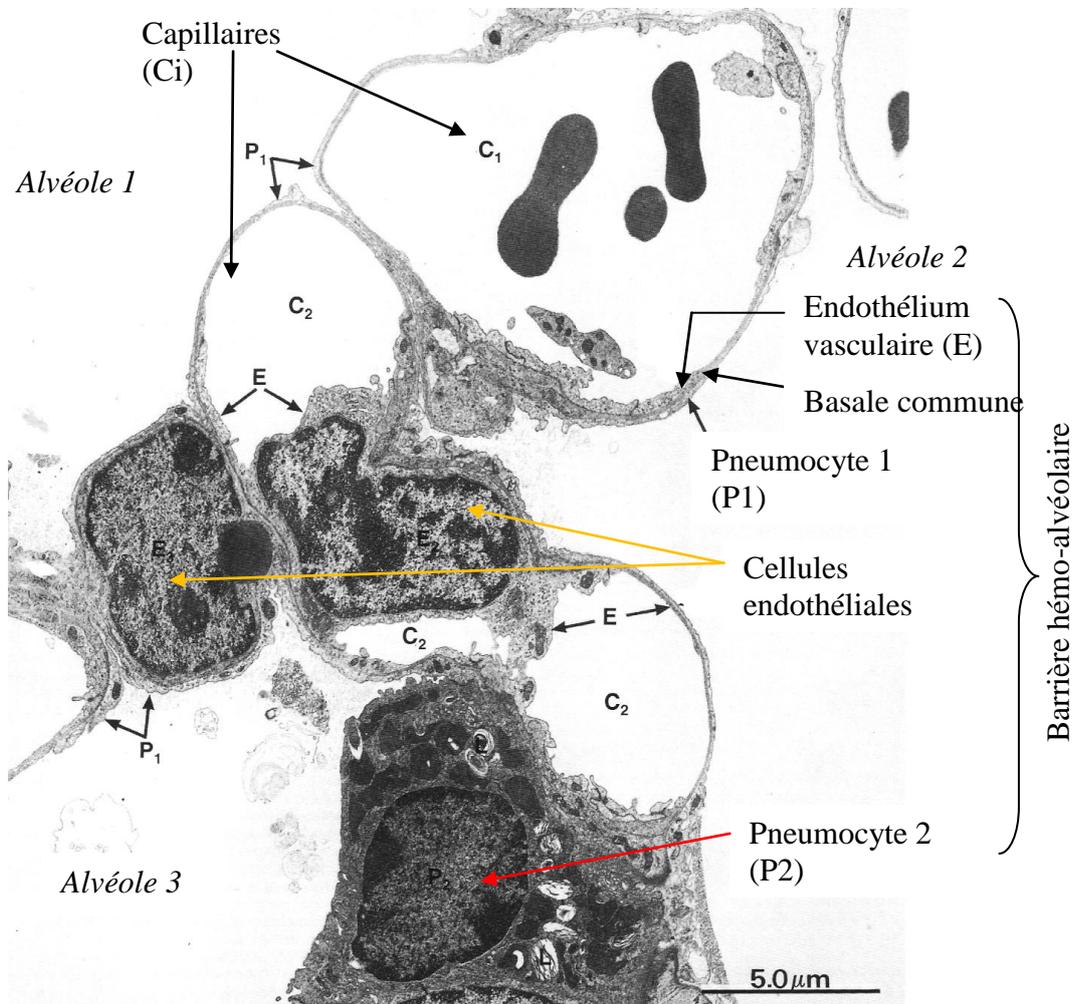


Figure 5.6 : Paroi alvéolaire (MET x6000)

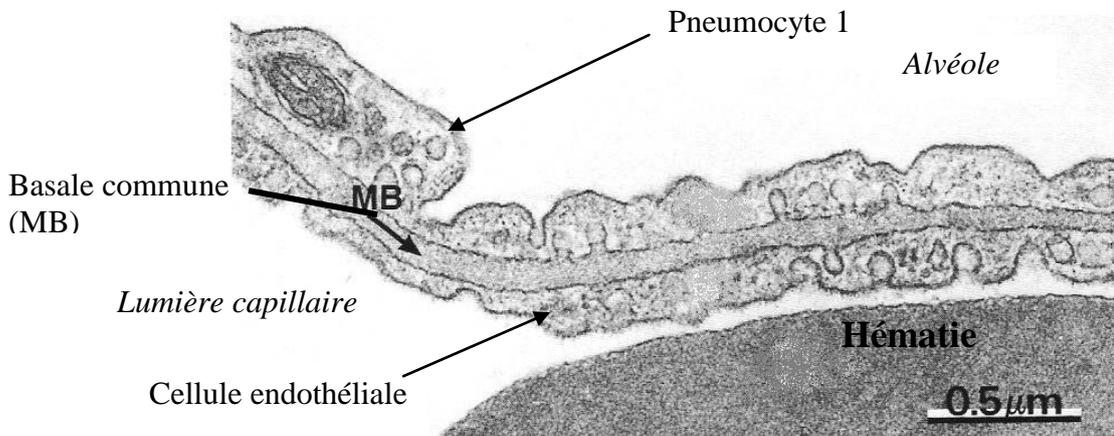


Figure 5.7 : Paroi alvéolaire (MET x 34000)