



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la
Recherche Scientifique
جامعة البليدة 1
Université Blida 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biotechnologies

Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme d'un Master Académique

Option

Biotechnologie et Pathologie Moléculaire

Thème

**Etude des particularités cellulaires des alvéoles
pulmonaires d'un rongeur déserticole (*Jaculus Jaculus*)
à hibernation souterraine**

Présenté par :

TIBRI Nour El Houda

Devant le jury :

<i>M. CHELGHOUM H.</i>	Maitre de conférences B	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Présidente</i>
<i>M. BENAZOUZ F.</i>	Maitre Assistante A	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Examinatrice</i>
<i>M. DJAZOULI ALIM FZ.</i>	Professeur	<i>SNV, Blida1</i>	<i>Promotrice</i>

Session 2021 / 2022



Dédicaces



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de respect, reconnaissance et de remerciement à :

Mes chères mamans

Fatema et Zahra

Mon Père

Mohammed (Allahyarhmo)

Ma chère sœur

Bouchra

Mes chers oncles

Ali, Ahmed, Aissa, Abdelkrim, Hamed

Mes tantes

Loubna et Rima

Mon cher frère

Achref

Ma belle sœurette

Samar

Mon grand-père

Mohamed

Ma belle grand-mère

Fatema Zahra

Toutes mes chères amies

Amissa, Khawla, Zola, Saida, Feriel, Soumia

Toute ma famille qui porte le nom Tibri

Et A tous mes enseignants depuis l'école primaire jusqu'à l'université.

Tibri Hour el Houda ...



Remerciements



Remerciements

En tout premier lieu, je remercie **le bon Dieu**, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

La réalisation de ce mémoire a été possible grâce au concours de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma reconnaissance.

Je tiens à remercier avec plus grande gratitude les membres du jury qui me font le grand honneur d'évaluer ce travail :

À **M. CHELGHOU M.H.** pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ce mémoire. Je remercie également **M. BENAZOUZ F.** pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de participer au jury en tant que l'examinatrice de mon mémoire.

Ma plus grande gratitude va à madame **DJAZOULI.A.** pour sa disponibilité et la confiance qu'elle m'a accordée. J'aimerais aussi la remercier pour ses précieux conseils qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je me rends compte que ce mémoire n'est pas encore parfait et il existe toujours des fautes soit dans l'écriture, soit dans la grammaire de chaque phrase, et à partir de cela, j'accepterais volontairement des critiques et des suggestions afin de pouvoir l'améliorer.

Mes vifs remerciements s'adressent à tous ceux qui m'ont aidé à la réalisation de MEB, spécialement **Mr Chaybi.A** (allahyarhmo), **Mr Benmamer.Z**, et madame **Zahra. F.** Je vous remercie pour votre soutien dans ce travail.

Je tiens à remercier toutes les personnes qui ont contribué au succès de mon stage et qui m'ont aidée lors de la rédaction de ce mémoire. Je souhaite particulièrement remercier Madame **Hamdani.K.** Merci pour ton aide et tes nombreux services rendus. Je remercie également Mr **Benmalem.A** pour son aide pratique et son soutien moral.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs de la faculté **S.N.V** pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles. Ainsi, toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits,

leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de me rencontrer et de répondre à mes questions durant mes recherches.

Je voudrais remercier particulièrement **Remili.FZ,Nadia**, et **Mr Kamel** pour leur sympathie et leur efficacité dans l'organisation et la résolution des problèmes administratifs

Mes remerciements vont également à tous ceux et celles qui ont contribué de près ou de loin, par leurs conseils, leurs suggestions et par leurs encouragements, à la réalisation de ce mémoire.

Je tiens à remercier Ma maman adorée **Fatema**, qui a fait de nombreux sacrifices afin que j'accède à la meilleure éducation possible, en plus de m'inculquer des valeurs fondamentales telles que la rigueur, la persévérance, l'assiduité, la curiosité, et la valorisation d'un travail de qualité. Merci pour ton courage, ta force et ta sagesse, tout ce que tu m'inspires et m'a transmis. Tu as rendu mon enfance heureuse. Merci d'avoir été pour moi un exemple de réussite. Je t'aime à jamais.

Je remercie également ma deuxième Maman **Fatema zohra Bouchami**. Tu es tout simplement une femme extraordinaire, mon ange-gardien, mon inspiration. Tes conseils permanents m'ont appris beaucoup de choses toutes ces années. Sans toi, je n'aurais jamais su différencier le bien du mal. Tu as toujours fait en sorte que je m'épanouisse dans la vie en m'aidant à trouver ce que je voulais faire. Tu as toujours été là pour me guider dans la bonne direction. Tu me supporte dans mes projets, tu me pousse à progresser et tu m'apprécies tel que je suis. J'ai de la chance d'avoir une mère comme toi. Je t'aime infiniment.

Ma sœur **Bouchra**, je ne trouve pas toujours les mots pour te remercier de l'amour que tu m'as témoigné au cours des années, des paroles d'encouragements que tu as su prononcer et du soutien extraordinaire que tu m'as offert. Tu es un cadeau du ciel. Je suis vraiment chanceuse de t'avoir à la fois comme sœur et comme amie, et je peux honnêtement dire que j'ai beaucoup appris de toi. Je t'aime mon ange.

Je tiens à remercier tata **Nawel**, Merci d'être là quand ça ne va pas, et de me prêter ton épaule quand j'en ai de besoin. Merci d'apaiser mes pleurs peu importe la situation, tu as toujours les

mots qu'il faut et tu sais reconnaître les moments où j'ai simplement besoin d'une oreille attentive pour m'écouter. Je tiens à te remercier et à te faire part de toute ma gratitude pour l'aide financière et l'encouragement.

Je tiens à remercier très sincèrement tous les membres de ma famille pour leur soutien et leurs encouragements constants durant ces années. Leur présence de tous les instants a été pour moi un atout indispensable pour mener à bien ce travail. Spécialement mes oncles **Ali, Ahmed, Aissa et Mhamed** qui m'ont accompagné, aidé, soutenu et encouragé tout au long de ma vie. Je vous aime.

Je souhaite remercier de tout mon cœur mon cousin préféré **Achref**, Un mec génial que j'aime comme mon frère. Je tiens à te remercier et à te faire part de toute ma gratitude pour l'aide et le soutien moral que tu m'as apporté, et je te remercier surtout pour tous les moments d'enfance passés avec toi.

Je souhaite remercier également Ma petite sœur adorée **Samar** pour le soutien dans les jours difficiles en préparant le café. Tu es *le* chocolat de *ma* vie *sœur*.

A mes amies **Anissa, Khawla** Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des sœurs et des amies sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Je vous aime.

A **Chabane.FZ**, Par ces quelques mots d'amitié je tiens à t'exprimer ma gratitude et ma reconnaissance sans failles. Merci pour tous les bons moments passés ensemble, Pour ton aide et soutien toutes ces dernières années. Avoir une amie sur qui compter dans les moments difficiles est comme un cadeau de l'existence. Je t'aime.



Résumé



Etude des particularités cellulaires des alvéoles pulmonaires d'un rongeur déserticole (*Jaculus Jaculus*) à hibernation souterraine

Notre travail a porté sur l'étude des particularités cellulaires des voies pulmonaires d'un rongeur déserticole à hibernation souterraine. Notre modèle animale est un rongeur déserticole (*Jaculus jaculus*) qui vit en milieu souterrain, ce qui pourrait probablement constituer un biomarqueur par sa réponse aux conditions de l'environnement. Notamment, l'étude d'adaptation respiratoire des rongeurs déserticoles n'est peu ou pas présente dans la littérature. Afin d'appréhender les particularités microanatomique et histo-fonctionnelle de chaque élément composant le tissu pulmonaire, nous avons exploré le parenchyme pulmonaire par la technique histologique classique en utilisant les colorations topographiques (Trichrome de Masson et l'Hématoxyline Eosine) et la microscopie électronique à balayage (MEB). Les résultats histologiques ont révélé que l'épithélium des bronchioles est de type prismatique pseudostratifié, les cellules possèdent de gros noyaux arrondis occupant une importante surface cytoplasmique. En outre, l'épithélium alvéolaire est de type pavimenteux simple, comporte deux types cellulaires, pneumocytes 1 sont des cellules squameuses, et pneumocyte 2 cellules arrondies qui sont moins nombreuses. De plus, nous avons pu mettre en évidence des substances noirâtres dans certaines régions du parenchyme pulmonaire à savoir les périphéries alvéolaire et capillaire et à l'intérieur des macrophages alvéolaires. Nous avons noté que certaines alvéoles semblent avoir des parois rompues et dilatées. Par ailleurs, le MEB caractérisé par l'absence des bronchioles respiratoires. De même, une caractéristique notable des alvéoles de la gerboise est la présence des pores inter-alvéolaires. Nous avons pu mettre en évidence la présence de structures bacillaire de 3 μm à 8 μm . Il est suggéré que, l'organisation du parenchyme pulmonaire de *Jaculus jaculus* et les ramifications de ses voies aériennes sont similaires à celles de plusieurs espèces de mammifères comme la souris, le rat et la gerbille. En outre, cet organe serait un biomarqueur d'un environnement enrichie en substances polluantes, et qu'il pourrait constituer un réservoir d'infections microbienne pour l'homme par la présence de bactéries bacillaire dans les poumons.

Mots clés : *Jaculus jaculus*, parenchyme pulmonaire, microanatomie, MEB, biomarqueur.



Abstract



Study of cellular peculiarities of the pulmonary alveoli of a desert rodent(*Jaculus Jaculus*) with underground hibernation

Our work focused on the study of the cellular peculiarities of the pulmonary pathways of a desert rodent that hibernates underground. Our animal model is a desert rodent (*Jaculus jaculus*) which lives in an underground environment, which could probably constitute a biomarker by its response to environmental conditions. In particular, the study of respiratory adaptation of desert rodents is little or not present in the literature. In order to understand the microanatomical and histo-functional peculiarities of each element making up lung tissue, we explored the pulmonary parenchyma by the classical histological technique using topographic stains (Masson's trichrome and Hematoxylin Eosin) and scanning electron microscopy (SEM). Histological results revealed that the epithelium of the bronchioles is pseudostratified prismatic type, the cells have large rounded nuclei occupying a large cytoplasmic surface. In addition, the alveolar epithelium is simple squamous in type, has two cell types, pneumocytes 1 are squamous cells, and pneumocyte 2 are rounded cells which are fewer in number. In addition, we were able to bring out black substances in certain regions of the pulmonary parenchyma, especially on the alveolar and capillary peripheries and inside the alveolar macrophages. We have noted that some alveoli appear to have ruptured and dilated walls. In addition, the SEM characterized by the absence of respiratory bronchioles. Likewise, a notable characteristic of the alveoli of the jerboa is the presence of the interalveolar pores. We were able to demonstrate the presence of bacillary structures from 3 μm to 8 μm . It is suggested that the organization of the lung parenchyma of *Jaculus jaculus* and the ramifications of its airways are similar to those of several species of mammals such as mice, rats and gerbils. In addition, this organ would be a biomarker of an environment enriched in polluting substances, and that it could constitute a reservoir of microbial infections for humans through the presence of bacillary bacteria in the lungs.

Keywords: *Jaculus jaculus*, lung parenchyma, microanatomy, SEM, biomarker.



ملخص



دراسة الخصائص الخلوية للحويصلات الهوائية الرئوية لقارض صحراوي (جاكولوسجاكولوس)

يتميز بسبات تحت الأرض

ركز عملنا على دراسة الخصائص الخلوية للمسارات الرئوية لقارض صحراوي يقوم بسبات تحت الأرض. نموذجنا الحيواني هو أحد القوارض الصحراوية التي تعيش في بيئة تحت الأرض (جاكولوسجاكولوس)، والتي يمكن أن تشكل على الأرجح علامة بيولوجية من خلال استجابتها للظروف البيئية. خاصة، أندراسة التكيف التنفسي للقوارض الصحراوية قليلة أو غير موجودة في الأدبيات. من أجل فهم الخصائص التشريحية الدقيقة والوظيفية النسيجية لكل عنصر مكون للنسيج الرئوي، كشفنا عن الحمة الرئوية بالتقنية النسيجية الكلاسيكية باستخدام الملون الطبوغرافي (هيماتوكسيلين يوزينو ثلاثي كرومات الماسون) والمسح المجهر الإلكتروني. أظهرت النتائج النسيجية أن ظاهرة القصبات هي من النوع المنشوري المطبق. تحتوي الخلايا على نوى مستديرة كبيرة تحتل سطحًا حشويًا كبيرًا. بالإضافة إلى ذلك، فإن الظهارة السنخية هي نوع بسيط من الخلايا الحرشفية، ولها نوعان من الخلايا، الخلايا الرئوية 1 هي خلايا حرشفية، والخلايا الرئوية 2 المستديرة وهي أقل عددًا. إضافة إلى ذلك، تمكنا من إبراز مواد سوداء في مناطق معينة من الحمة الرئوية، وهي الأطراف السنخية والشعيرية وداخل الضامة السنخية. لقد لاحظنا أن بعض الحويصلات تبدو وكأنها تمزقت وتوسعت جدرانها. بالإضافة إلى ذلك، تميز المسح المجهر الإلكتروني ونبيغيب القصبيات التنفسية. أيضا، فإن السمة البارزة للحويصلات الهوائية للجربوع هي وجود مسامات بين السنخية. كما تمكنا من اثبات وجود هياكل عسوية من 3 ميكرومتر إلى 8 ميكرومتر. يُقترح أن تنظيم حمة الرئة لجاكولوسجاكولوس وتشعبات مجاريها الهوائية تشبه تلك الموجودة في عدة أنواع من الثدييات مثل الفئران والجرذان والجربوع. بالإضافة إلى ذلك، سيكون هذا العضو علامة بيولوجية لبيئة غنية بالمواد الملوثة، ويمكن أن يشكل مستودعًا للعدوى الميكروبية للإنسان من خلال وجود البكتيريا العسوية في الرئتين.

الكلمات المفتاحية :

حمة الرئة، علم التشريح الدقيق، جاكولوسجاكولوس، العلامات البيولوجية، المسح المجهر الإلكتروني.



Sommaire



SOMMAIRE

Introduction.....	01
CHAPITRE I : Données Bibliographiques	
I. Structure et biologie cellulaire et moléculaire de l'alvéole pulmonaire	03
I.1. Données sur l'appareil respiratoire.....	03
I.2. Les subdivisions de l'appareil respiratoire	03
I.2.1. Zone extrathoracique.....	03
I.2.2. Zone trachéo-bronchique.....	03
I.2.3. Zone alvéolo-interstitielle ou pulmonaire	04
I.3. Structure de l'appareil respiratoire.....	05
I.3.1. Compartiments parenchymateux pulmonaires	05
I.3.1.1. Lobes pulmonaires	05
I.3.1.2. Lobules pulmonaires	05
I.3.2. Les voies pulmonaires	05
I.3.2.1 Voies respiratoires supérieures	06
I.3.2.2 Voies respiratoires inférieures	06
I.4. Histologie de l'appareil respiratoire	07
I.4.1. Caractéristiques de la muqueuse respiratoire	07
I.4.1.1 Mucus de l'épithélium respiratoire	07
I.4.2. Structure des bronchioles	08
I.4.3. Structure de l'alvéole pulmonaire	10
I.4.3.1. Vascularisation et type de capillaires	11
I.4.3.2. La barrière alvéolo-capillaire	12
I.4.4. La plèvre	12
I.4.4.1. Organisation histologique	12
II. Rôles des populations cellulaires et Matrice extra cellulaire de l'environnement alvéolaire	13
II.1. Cellules épithéliales alvéolaires	13
II.1.1. Cellules épithéliales alvéolaires de type I	13
II.1.2. Les cellules épithéliales alvéolaires de type II	13
II.1.2.1 Le surfactant et sa composition	14

II.1.2.2. La formation du surfactant pulmonaire	15
II.1.2.3. Fonction du surfactant	15
II.2. La cellule endothéliale	16
II.3. Les fibroblastes..	17
II.4. Les macrophages alvéolaires	17
II.5. La matrice extracellulaire	17
III. Les poumons et les voies respiratoires : organes cible pour les particules aéroportées	18
III.1. Mécanismes de dépôt des particules inhalées	18
III.2. Voies d'élimination des particules aéroportées	19
III.2.1. Cinétique de la clairance pulmonaire	19
IV. Adaptation physiologique des rongeurs à hibernation souterraine	22
V. Adaptation respiratoire des animaux à hibernation souterraine	22

CHAPITRE II: Matériel et méthodes

1. Lieu de réalisation de la partie expérimentale.....	23
2. Matériel d'étude	23
2.1 Matériel Biologique	23
2.2 Matériel non biologique.....	25
3. Méthodes d'études	25
3.1 Prélèvement.....	25
3.2 Fixation.....	25
3.3 Préparation des blocs de paraffine....	25
3.3.1 La déshydratation et éclaircissement	25
3.3.2 Imprégnation	25
3.3.3 Inclusion	26
3.3.4 Microtomie	26
3.3.5 Etalement des coupes	26
3.4 Coloration histochimique des coupes.....	26
3.4.1 Déparaffinage et hydratation.....	26
3.4.2 Coloration Hématoxyline et l'éosine	27

3.4.3	Coloration Trichrome de Masson.....	27
	3.4.4Montage	27
4.	Observations à la loupe binoculaire et au Microscope et capture d'images.....	28
5.	Microscopie Electronique à Balayage	28
6.	Mesure des dimensions des bactéries retrouvées dans les alvéoles de <i>Jaculus jaculus</i> ..	28

CHAPITRE II : Résultats

1.	Anatomie de l'appareil respiratoire de <i>Jaculus jaculus</i>	29
2.	La Microanatomie du poumon de la gerboise	29
2.1	Types de cellules alvéolaires.....	32
2.2	Vascularisation du parenchyme pulmonaire.....	32
2.3	Particularités retrouvées dans les microstructures pulmonaires de la gerboise déserticole.....	36

CHAPITRE IV : Discussion

I.	Microanatomie comparée et particularités des éléments pulmonaires chez <i>Jaculus jaculus</i>	41
II.	Répartition des pores inter-alvéolaires.....	43
III.	Signes d'adaptation à l'environnement	45
	Conclusion	48
	RéférencesBibliographiques	49
	Annexe	52

Liste des figures

Figure 1 : Appareil respiratoire	04
Figure 2 : Vue schématique des voies aériennes inférieures et des terminaisons alvéolaires	04
Figure 3 : schéma d'une partie d'un lobule pulmonaire.....	05
Figure 4 : Ramifications des voies aériennes	06
Figure 5 : Bifurcation des voies bronchiques jusqu'aux sacs alvéolaires.....	07
Figure 6 : Composition cellulaire dans les différentes subdivisions des voies pulmonaires.	07
Figure 7 : Composition cellulaire dans les différentes subdivisions des voies pulmonaires (suite).....	08
Figure 8 : Structure cellulaire des voies aériennes montrant les formes et les couches de cellules le long de la trachée.....	08
Figure 9 : Comparaison d'une bronche et d'une bronchiole terminale.....	09
Figure 10 : Coupe d'un poumon d'un chien.....	09
Figure 11 : Coupe d'une bronchiole terminale d'un poumon de chien	10
Figure 12 : Structure d'un alvéole pulmonaire.....	11
Figure 13 : Morphologie de la paroi capillaire.....	11
Figure 14 : photographie au MEB de la paroi alvéolaire.....	12
Figure 15 : Structure histologique d'une plèvre.....	12
Figure 16 : surface de la paroi alvéolaire dans le poumon humain vu par MEB.....	13
Figure 17 : Structure des protéines tensioactives (SP-A, SP-B, SP-C et SP-D).....	14
Figure 18 : Le métabolisme du surfactant pulmonaire.....	15
Figure 19 : principaux rôles de SP-A et SP-D dans l'immunité.....	16
Figure 20 : Les échanges gazeux au niveau de l'alvéole pulmonaire	17
Figure 21 : Les principaux mécanismes de dépôt des particules sur la paroi des voies respiratoires.....	18
Figure 22 : Voies de transduction du TLR-4.....	21
Figure 23 : Petite gerboise à la rentrée de son terrier.....	22
Figure 24 : Jaculus jaculus.....	23
Figure 25 : Répartition de jerboa en Afrique et Asie.....	24
Figure 26 : Anatomie de poumons de la gerboise déserticole	30
Figure 27 : Aspect alvéolaire au microscope électronique à balayage.....	31

Figure 28 : Micrographies démontrant des coupes transversales au niveau des lobes pulmonaires de la gerboise déserticole.....	33
Figure 29 : Micrographies démontrant les alvéoles et leur composante cellulaire.....	34
Figure 30 : Aspect des alvéoles et leur vascularisation.....	35
Figure 31 : Parenchyme pulmonaire présentant des infiltrations cellulaire et de substance noirâtre.....	37
Figure 32 : Cellules alvéolaires polymorphonucléaires.....	38
Figure 33 : Mise en évidence d'amas de structures bacillaire par microscope à balayage...	39
Figure 34 : Mesure de dimension des bactéries bacillaires par le programme ImageJ	40
Figure 35 : Anatomie comparée des voies aériennes inférieures observée par le MEB.....	42
Figure 36 : Une micrographie électronique à balayage montre la répartition des pores inter-alvéolaires chez plusieurs espèces.....	44
Figure 37 : Micrographie électronique à balayage de certaines bactéries pathogènes.....	47
Figure 38 : Trousse de dissection.....	61
Figure 39 : Les gants.....	61
Figure 40 : Poumon de <i>Jaculus Jaculus</i> après la fixation.....	61
Figure 41 : Boîtes de pétri.....	62
Figure 42 : Moules métalliques.....	62
Figure 43 : Les cassettes à inclusion.....	62
Figure 44 : Balance de laboratoire.....	63
Figure 45 : Etuve.....	63
Figure 46 : Distributeur de paraffine.....	64
Figure 47 : Fiole de banquise.....	64
Figure 48 : Les blocs de paraffine.....	65
Figure 49 : Microtome.....	65
Figure 50 : Bain marie.....	66
Figure 51 : Ruban de paraffine.....	66
Figure 52 : Lames gélatinées.....	66
Figure 53 : Lamelles.....	67
Figure 54 : verre de montre.....	67
Figure 55 : Papier absorbant.....	68
Figure 56 : Papier filtre.....	68
Figure 57 : Parafilm.....	68

Figure 58: Plaque chauffante.....	69
Figure 59: La loupe binoculaire.....	69
Figure 60: Microscope photonique.....	70
Figure 61: Tampon PBS à 10%.....	70
Figure 62: Paraffine solide.....	71
Figure 63: Poumon séché de J . Jaculus pour la technique de MEB.....	71
Figure 64: Ruban conducteur carbone Double face.....	72
Figure 65: Scotch carbone (en noir) pour la fixation des objets.....	72
Figure 66: Support spécifique au MEB (plot métallique).....	72
Figure 67: Microscope électronique à Balayage.....	73

Liste des tableaux

Tableau 1 :Voies d'éliminations des particules dans et hors des voies respiratoires... **18**

Liste des abréviations

A : alvéoles

Ar : Artériole

BR : bronche respiratoire

BT : bronchiole terminale

C : capillaire

CEA : Cellule épithéliale alvéolaire

DA : canaux alvéolaires

EA : espace alvéolaire

LD : Lobe droit

LG : Lobe gauche

MEB : microscope électronique à balayage

MEC : Matrice extra cellulaire

MO : microscope optique

P II: Pneumocyte 2

P I: Pneumocyte 1

PE : Parenchyme des échanges gazeux

PL : Plèvre pulmonaire

S : septa alvéolaire

SA : sacs alvéolaires

VR : voies respiratoires

VS : vaisseau sanguin



Introduction



Les changements globaux et la pollution de l'environnement (air, sol, eau..) est un problème qui devient de plus en plus sérieux pour la santé. Des études épidémiologiques ont démontrées une relation entre les maladies respiratoires et la pollution (**BaezaA, Francelyne, 2007**). Une mauvaise qualité de l'air pourrait accentuer le développement des maladies cardiaques et pulmonaires. Actuellement, l'OMS estime que 90% de la population mondiale est exposée à une mauvaise qualité de l'air. Pour comprendre comment la pollution atmosphérique affecte notre santé, il faut s'intéresser à sa composition. Le réel fléau se trouve dans les particules fines qui la composent.

Du point de vue physiologique, la gerboise déserticole, est un rongeur déserticole présent trois différentes adaptations en réponse à son milieu, l'hibernation, l'estivation et la torpeur. Les gerboises hibernantes montrent plusieurs adaptations leur permettant de survivre à la faible température (6°C) à laquelle elles sont soumises. Plusieurs paramètres caractérisant l'hibernation de la gerboise ont été décrits, tel que la durée des torpeurs et les éveilles périodiques (El Ouezzani et al., 2011). Pendant l'hibernation, la température rectale de la gerboise chute de 37°C à environ $9,8 \pm 0,7^\circ\text{C}$ et il en est de même pour la fréquence cardiaque qui tombe de 300 battements /min à environ $9,3 \pm 1,5$ battements /min. En sortant de l'hibernation, la gerboise augmente sa consommation d'oxygène qui atteint son maximum (6,44ml /h/g) à partir de 25°C, et se maintient jusqu'à 30°C (El Hilali et Veillat 1975 ; Hooper et El Hilali, 1972).

Le rôle principal consiste en l'échange gazeux au niveau du parenchyme respiratoire qui oxygène le sang et élimine le dioxyde de carbone, d'autres rôles sont attribués à ce système : Immunitaire, neuroendocrine, métabolique et régulateur de pH.

Chez les mammifères, l'épithélium alvéolaire est composé de deux types cellulaires : les cellules épithéliales de type I et les cellules épithéliales de type II. Les cellules de type I sont des cellules très aplaties couvrant environ 95 % de la surface épithéliale. En raison de cette étendue et compte tenu des types des jonctions cellulaires, les cellules de type I jouent vraisemblablement un rôle prépondérant dans le maintien d'une barrière anatomique et dans les échanges gazeux entre l'air intra-alvéolaire et les compartiments sanguins du poumon (Matthay MA, et al., 1996) .

Sur la base de la nature de l'environnement de la gerboise et de ses particularités physiologiques adaptatives nous avons recherché les caractéristiques cellulaires de son parenchyme pulmonaire. D'autre part, nous nous sommes posé la question est ce que les cellules des alvéoles pulmonaires pourraient nous apporter des informations sur la qualité de larespiration dont vie l'animale ?, un environnement connu par la chaleur, ainsi que l'activité agricole et l'industrie pétrolière.



Données Bibliographiques



I. Structure et biologie cellulaire et moléculaire de l'alvéole pulmonaire

I.1. Données sur l'appareil respiratoire

La respiration est un mécanisme complexe qui a pour but l'oxygénation des tissus et l'élimination du gaz carbonique (dioxyde de carbone) issu des processus respiratoires. Cette fonction est exercée par les poumons qui réalisent les mouvements d'inspiration et d'expiration. Le terme respiration a deux sens différents selon que l'on considère le niveau de l'organisme ou le niveau cellulaire:

- **Au niveau de l'organisme**: la respiration correspond à l'ensemble des échanges gazeux entre l'organisme et son milieu, c'est-à-dire, l'absorption de l'oxygène (O_2) contenu dans l'air atmosphérique ou dissous dans l'eau et le rejet de gaz carbonique (CO_2).
- **Au niveau cellulaire**: la respiration est l'ensemble des processus permettant la production d'énergie chimique utilisable par les cellules à partir de la dégradation, en présence d'oxygène, de petites molécules organiques fournies par la digestion. Cette dégradation est totale et aboutit finalement à la formation de gaz carbonique et d'eau. [1].

I.2. Les subdivisions de l'appareil respiratoire

Trois (03) subdivisions sont distinguées (**Fig.1**)

I.2.1. Zone extrathoracique comprenant les cavités nasales et le naso-pharynx jusqu'au larynx où débute la trachée: Les cavités nasales et le naso-pharynx sont recouverts d'un épithélium cylindrique pseudo stratifié cilié riche en cellules caliciformes. Les cellules de cet épithélium sont unies les unes aux autres par des jonctions serrées constituant ainsi une barrière physique vis-à-vis de l'environnement extérieur. Cette région participe à l'humidification et le réchauffement de l'air inspiré.

I.2.2. Zone trachéo-bronchique, de la trachée aux bronchioles terminales

Elles sont revêtues d'une muqueuse spécialisée, l'épithélium qui tapisse la muqueuse c'est un épithélium de type pseudostratifié constitué majoritairement de cellules ciliées, et en moindre quantité, de cellules caliciformes, sécrétrices de mucus et de cellules basales, qui servent de progéniteurs aux cellules ciliées et aux cellules caliciformes. Cet épithélium est rendu imperméable grâce à 3 complexes jonctionnels intercellulaires: les jonctions serrées apicales ainsi que les jonctions intermédiaires et les desmosomes latéraux.

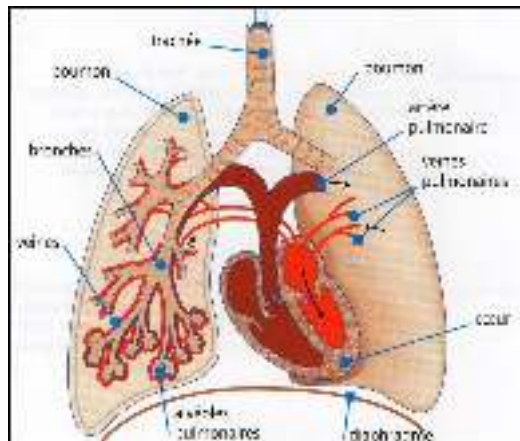


Figure 1. Appareil respiratoire. (Vincent, 2016)

I.2.3. Zone alvéolo-interstitielle ou pulmonaire lieu de l'hématose

A partir du niveau des bronchioles terminales, des alvéoles viennent interrompre la paroi des bronchioles permettant ainsi les échanges gazeux d'où le nom de bronchioles respiratoires. Lorsque toute la paroi des bronchioles est constituée d'alvéoles, on parle de conduits alvéolaires qui se poursuivent par les sacs alvéolaires et enfin les alvéoles. On appelle lobule secondaire de Miller une entité anatomique polygonale comprenant 3 à 5 unités respiratoires terminales (ou acini), chaque acinus dépendant d'une bronchiole terminale. Ces structures sont délimitées par un tissu conjonctif de soutien, les septa interlobulaires, permettant le support des veines pulmonaires et des vaisseaux lymphatiques. [2]

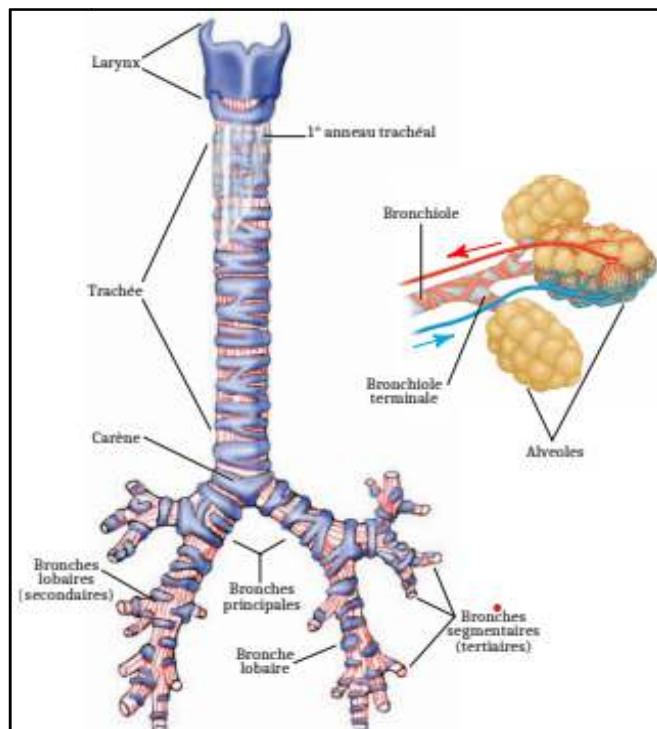


Figure 2. Vue schématique des voies aériennes inférieures (à gauche) et des terminaisons alvéolaires (à droite) (Seikel et al., 2010)

I.3. Structure de l'appareil respiratoire

I.3.1. Compartiments parenchymateux pulmonaires

I.3.1.1. Lobes pulmonaires

Les poumons des mammifères sont variablement divisés en lobes. Un lobe est défini comme une partie large du tissu pulmonaire qui est alimentée par une large bronche issue soit d'une bronche principale, soit de la trachée. Des fissures interlobaires séparent les lobes.

I.3.1.2. Lobules pulmonaires

Un lobule est défini comme la plus petite portion du poumon entourée par un septum de tissu conjonctif (**Fig. 3**). Il existe différents types de poumons, en fonction de leur lobulation, et de leur plèvre viscérale. Ils sont classés d'après Lekeux (1993) en :

Type 1 est caractérisé par une lobulation marquée, avec des lobules secondaires distinctement séparés par des septums. La plèvre viscérale est épaisse et le nombre de bronchioles respiratoires est globalement faible (porcins, ovins, et bovins). **Le type 2** ne présente pas de subdivisions en lobules secondaires. La plèvre viscérale est fine et les bronchioles respiratoires sont nombreuses (chiens, chats, singe). **Le type 3** présente une subdivision interlobulaire incomplète. La plèvre viscérale est épaisse et on ne compte que peu de bronchioles respiratoires (équins). [3]

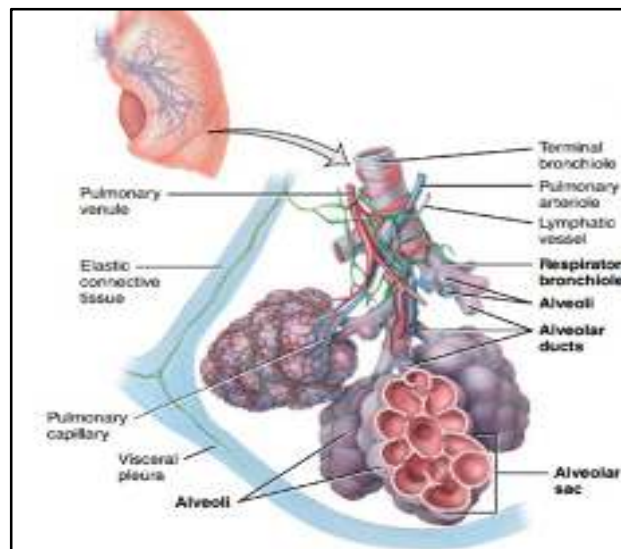


Figure 3 : schéma d'une partie d'un lobule pulmonaire (Tortora and Grabowski, 2004)

I.3.2. Les voies pulmonaires

L'appareil respiratoire est constitué par un ensemble d'organes et de tissus aux fonctions variées. Il renferme les voies respiratoires extra-pulmonaires, les voies respiratoires intrapulmonaires et le parenchyme respiratoire, les deux derniers sont retrouvés dans les poumons. Shields, et collaborateurs (2005), a représenté les voies respiratoires selon leur fonction comme suite :

- **Voies de conduction** : à partir de la trachée vers les bronchioles, cette zone a le rôle de conduire et distribuer de l'air dans les unités pulmonaires périphériques.
- **Voies de transition** : est la zone qui fait la transition entre la zone de conduction et la zone respiratoire incluant à la fois des éléments de conduction (bronchioles terminales) et des éléments respiratoires (bronchioles respiratoires et canaux alvéolaires) (*Fig. 4*).
- **Voies de respiration** : les alvéoles pulmonaires, est la zone de l'échange gazeuse. [4]

I.3.2.1 Voies respiratoires supérieures

Appelées aussi voies aériennes supérieures, elles sont extra-thoraciques et comprennent : Le nez et les fosses nasales, Le pharynx et le larynx conduisent l'air depuis le milieu ambiant jusqu'aux poumons. Le rôle est d'acheminer, filtrer, humidifier et réchauffer l'air.

I.3.2.2 Voies respiratoires inférieures

Le système respiratoire inférieur est intra-thoracique, comprend les zones de conduction et de transition au niveau des sacs alvéolaires par les échanges gazeux. [5]

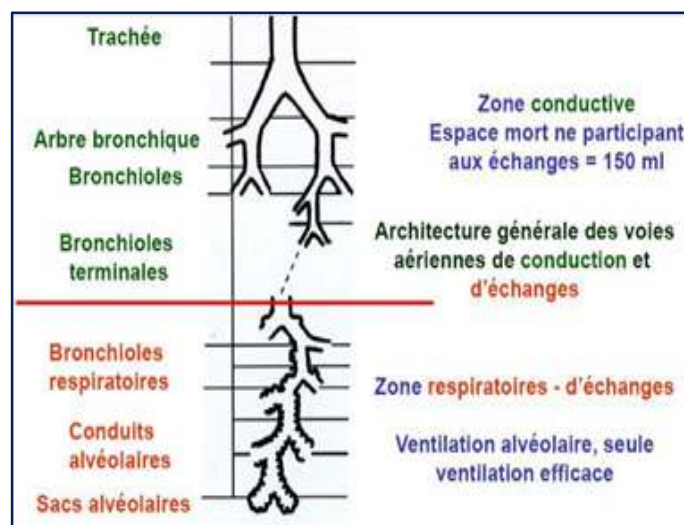


Figure 4. Ramifications des voies aériennes. (Ait Yahia , 2019)

L'ensemble des ramifications, appelé arbre bronchique, forme une structure hiérarchique complexe maximisant les surfaces d'échange où oxygène, gaz carbonique et vapeur d'eau essentiellement migrent vers ou depuis le réseau de capillaires sanguins (*Fig.2*)[6].

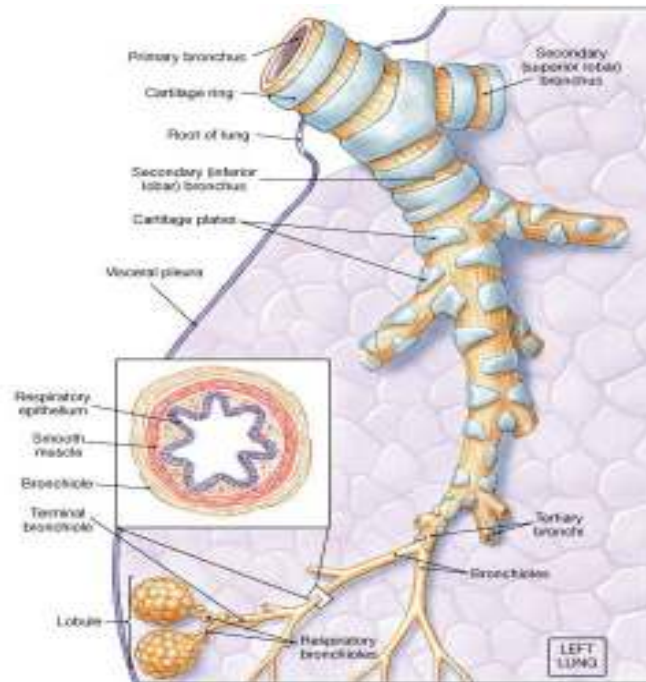


Figure 5. Bifurcation des voies bronchiques jusqu'aux sacs alvéolaires. (Wood, 2009)

I.4. Histologie de l'appareil respiratoire

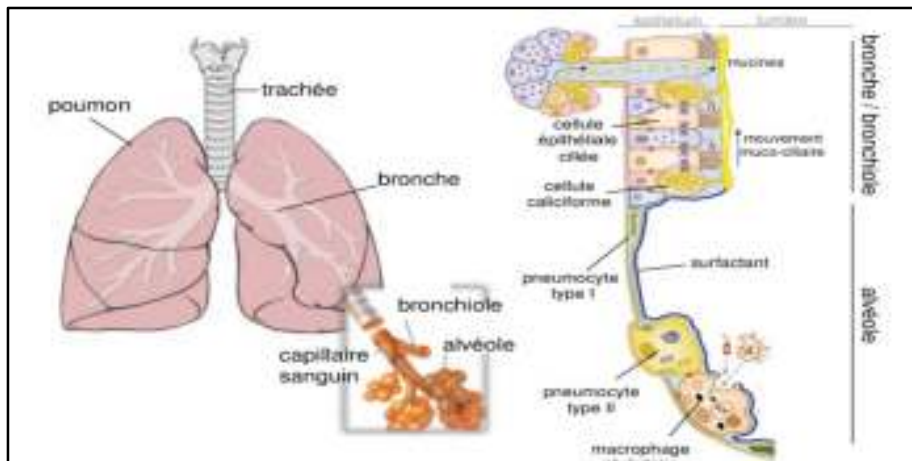


Figure 6. Composition cellulaire dans les différentes subdivisions des voies pulmonaires (Porte, 2015).

I.4.1. Caractéristiques de la muqueuse respiratoire

Elle est formée d'un épithélium respiratoire ; un épithélium prismatique pseudostratifié, et d'un chorion contenant de glandes séro-muqueuses sécrètent le mucus, des lymphocytes participent à la réponse immunitaire, et de nombreux vaisseaux. [7]

I.4.1.1 Mucus de l'épithélium respiratoire

IL est sécrété par les glandes sous muqueuses et les cellules caliciformes. Il composé d'eau, et de mucines qui lui confèrent sa viscosité et ses propriétés rhéologiques. Outre son rôle de barrière

physique, il participe à la défense antibactérienne. Le mucus bordant cet épithélium est composé de deux phases, une phase profonde liquide qui permet le mouvement des cils, et une phase superficielle plus solide qui permet de piéger les particules. [8]

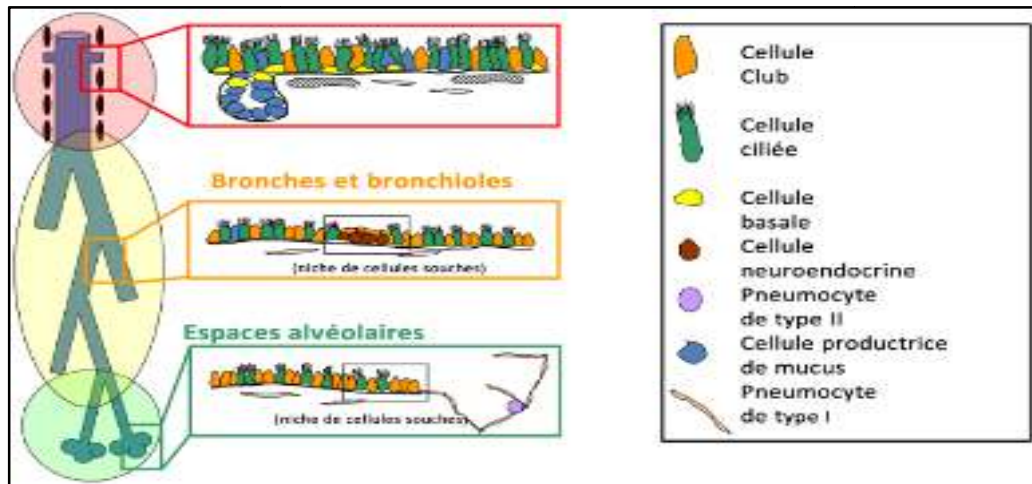


Figure 7. Composition cellulaire dans les différentes subdivisions des voies pulmonaires. (suite) (porte, 2015)

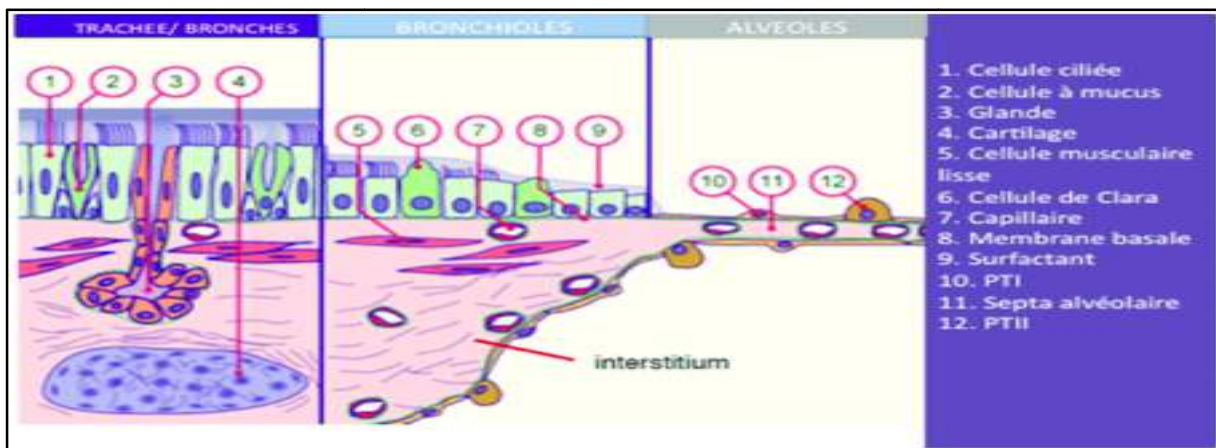


Figure 8. Structure cellulaire des voies aériennes montrant les formes et les couches de cellules le long de la trachée. Diminution de l'épaisseur pour favoriser les échanges gazeux par diffusion simple. (Julien, 2008)

I.4.2. Structure des bronchioles

Sont des tubes dont la paroi est dépourvue de cartilage et de glandes. Leur épithélium est composé de cellules ciliées et de cellules de Clara. Les cellules de Clara caractérisées par un cytoplasme riche en mitochondries et en réticulum endoplasmique lisse. Elles sont considérées comme des cellules progénitrices capable de se différencier en cellules ciliées. Elles sécrètent par exocytose une glycoprotéine majeure de la MEC ; le glycosaminoglycane ; et sont spécialisées dans le métabolisme des toxines. (Fig. 9).[9]

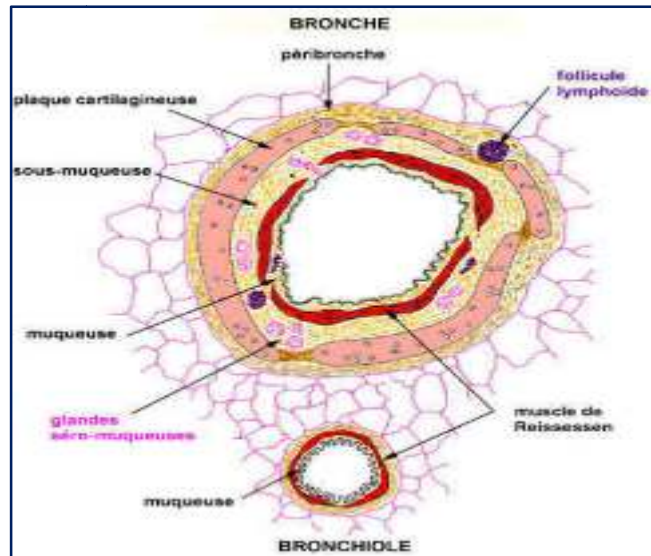


Figure 9. Comparaison d'une bronche et d'une bronchiole terminale. (AMAR,2019)

Le passage entre bronchioles terminales (BT) et bronchioles respiratoires (BR) constitue la transition entre la partie conductrice du poumon et sa partie respiratoire. La paroi des BR est interrompue par des alvéoles. Ce sont des évaginations sacculaires de la paroi, tapissées par des cellules épithéliales pavimenteuses assez minces pour permettre les échanges gazeux d'où le nom de bronchiole respiratoire. Les BT des bronchioles respiratoires sont en continuité avec les canaux alvéolaires (Fig. 10) (Fig. 11). Les canaux alvéolaires se terminent dans de petits espaces appelés acini respiratoires délimités par les bords de diverses cloisons inter-alvéolaires réparties au sein d'un amas d'alvéole. [2]

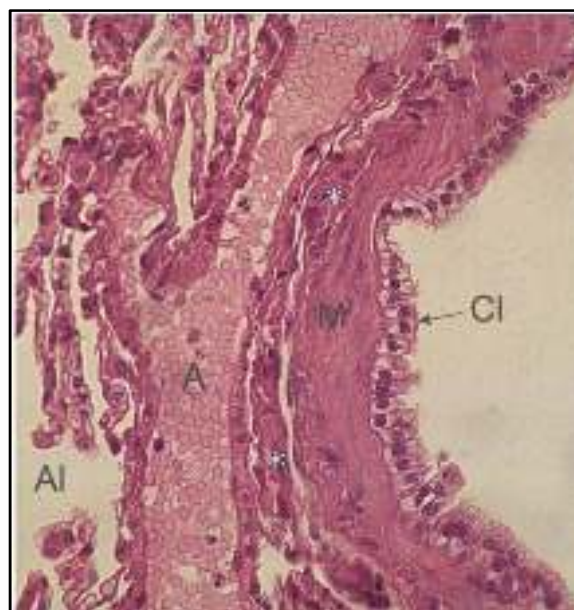


Figure 10. Coupe d'un poumon d'un chien.

coupe transversale d'une bronchiole respiratoire. Les cellules sécrétrices de Clara (Cl), qui composent l'épithélium de cette bronchiole, sont posées sur les cellules musculaires lisses (M) vues ici en coupe longitudinale. La tunique musculaire est séparée, par une couche de tissu conjonctif (*), d'une artériole (A). À gauche de la photo on note la présence d'alvéoles pulmonaires affaissées (Al). Coloration: H-É Grossissement: $\times 800$. (Clermont et al., 2013)

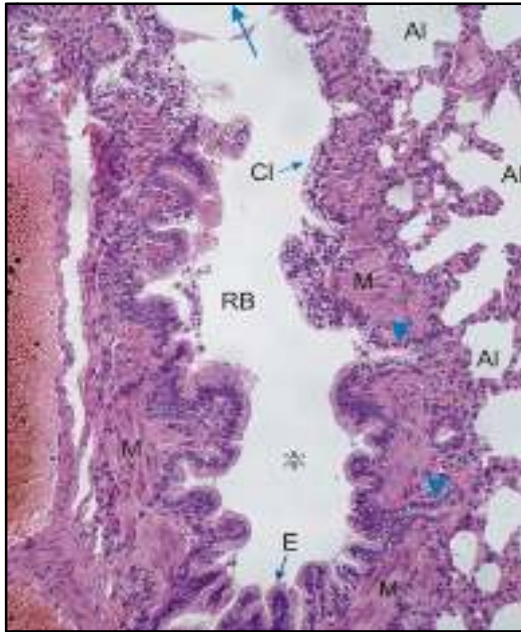


Figure 11. Coupe d'une bronchiole terminale d'un poumon de chien. Une bronchiole terminale (*) continue avec une bronchiole respiratoire (RB) qui se dirige vers un canal alvéolaire (flèche bleue au sommet). La bronchiole respiratoire (RB) montre en surface un épithélium simple formé de cellules claires non ciliées, ou cellules de Clara (CI). Ces cellules sont posées sur la tunique de cellules musculaires lisses (M). La paroi de cette bronchiole est perforée par des ouvertures (pointes de flèches) qui ouvrent dans des alvéoles pulmonaires (Al). Coloration: H-É. Grossissement: $\times 175$ (Clermont et al. 2013)

I.4.3. Structure de l'alvéole pulmonaire

L'alvéole est l'unité fonctionnelle du poumon, elle est constituée de trois éléments : l'épithélium du capillaire, l'interstitium et l'épithélium alvéolaire, en contact avec l'air. Elle est tapissée de deux cellules épithéliales, pneumocyte I et pneumocyte II.

Les alvéoles sont séparées par des minces cloisons inter-alvéolaires qui contiennent des fibroblastes, des macrophages et un réseau de capillaires formant la barrière alvéolo-capillaire, c'est à ce niveau que se font les échanges gazeux. La charpente des cloisons est formée de fibres élastiques et réticulaires. (Fig.12)[10]

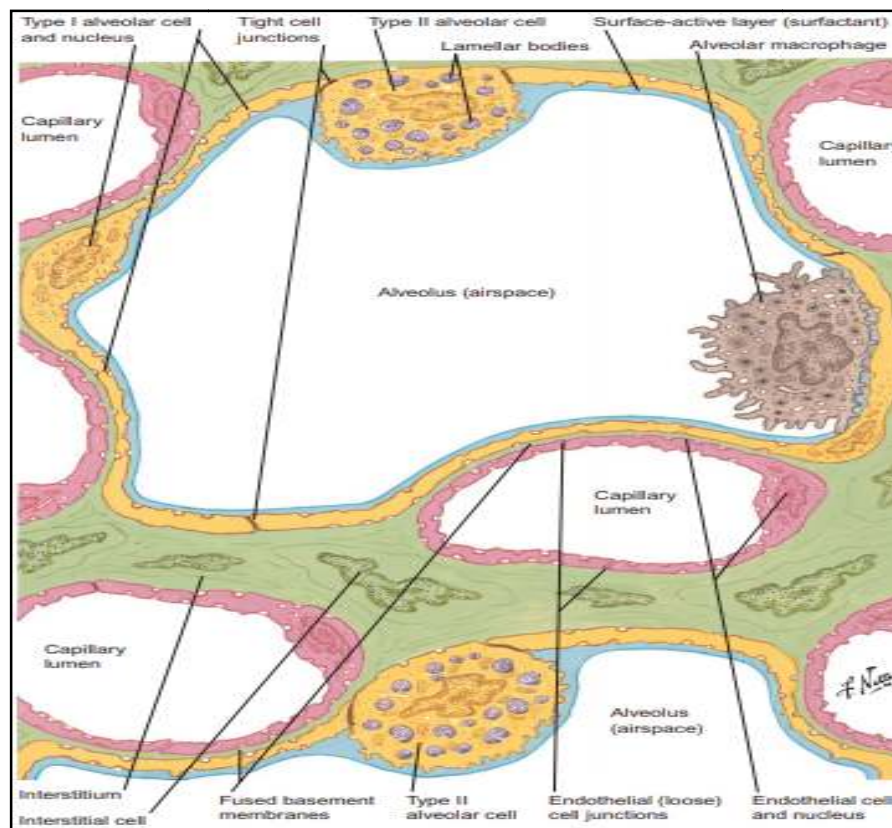


Figure 12. Structure d'un alvéole pulmonaire. (David et al., 2018)

I.4.3.1. Vascularisation et type de capillaires

Sont des tubes étroitement associés aux CEAs I, Leur diamètre de 8 à 11 µm permet le passage des cellules sanguines. Les capillaires n'ont ni media ni adventice. La paroi capillaire est revêtue par un endothélium très mince dont la membrane basale est soutenue par un réseau lâche de fibres de réticuline. Les cellules endothéliales sont allongées dans la direction du courant sanguin et leur noyau aplati, elles ont peu d'organites. Les poumons ont des capillaires de type continu et non fenestré. Les capillaires continus n'ont pas d'ouverture dans leur paroi et sont limités continuellement par la cellule endothéliale. Les capillaires fenestrés ont de petites ouvertures appelées fenêtrés qui permettent le passage rapide des macromolécules. Les capillaires discontinus (sinusoïdes), possèdent une large lumière et de nombreuses fenêtrés. (Fig.13) [11]

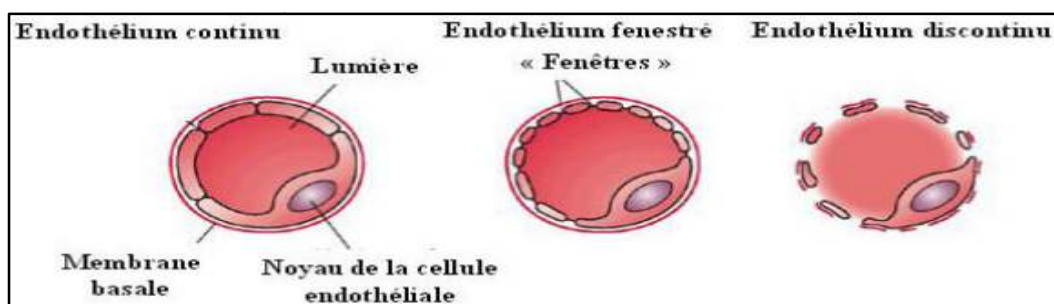


Figure 13. Morphologie de la paroi capillaire d'après (Cleaver and Melton, 2003)

I.4.3.2. La barrière alvéolo-capillaire

Les échanges gazeux se réalisent au niveau de la barrière alvéolo-capillaire. L'endothélium de capillaire pulmonaire est bordé par une membrane basale, fusionnée au niveau du septum alvéolaire à la membrane basale de l'épithélium alvéolaire. Le septum alvéolaire est constitué d'un tissu conjonctif de soutien (Interstitium), cet interstitium renferme des fibres élastiques et de collagène, des fibroblastes, des cellules musculaires lisses et des mastocytes. **(Fig.14) [11]**

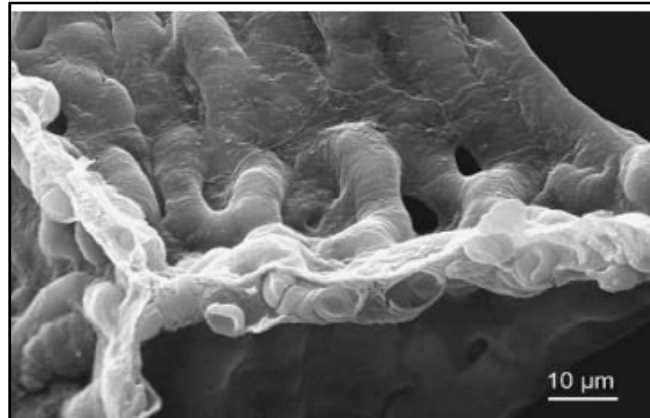


Figure 14 : photographie au MEB de la paroi alvéolaire montrant les capillaires pulmonaires avec leurs érythrocytes, séparés de l'air par une barrière de tissu très mince.(Weibel and Ewald, 1963)

I.4.4. La plèvre

Elle est formée de deux feuillets : plèvre viscérale : en contact avec le poumon plèvre pariétale : tapisse la cavité thoracique. Entre ces deux feuillets se trouve la cavité pleurale (Elle permet le bon glissement des feuillets pendant la respiration), contenant un film liquidien.

I.4.4.1. Organisation histologique

La structure est relativement simple avec une muqueuse formée par :

(I) Un épithélium : Appelé alors mésothélium, il est formé d'une seule assise de cellules pavimenteuses (aplaties), possédant des microvillosités au pôle apical. (II) Un tissu conjonctif fibro-élastique avec d'assez nombreux vaisseaux et nerfs. Les terminaisons nerveuses sensibles sont exclusivement situées dans le feuillet pariétal. Le liquide pleural est formé par un transsudat du plasma sanguin : il contient peu de protéines (<15g/l), pauvre en cellules libres comme les histiocytes et les cellules mésothéliales. **(Fig.15)[12].**

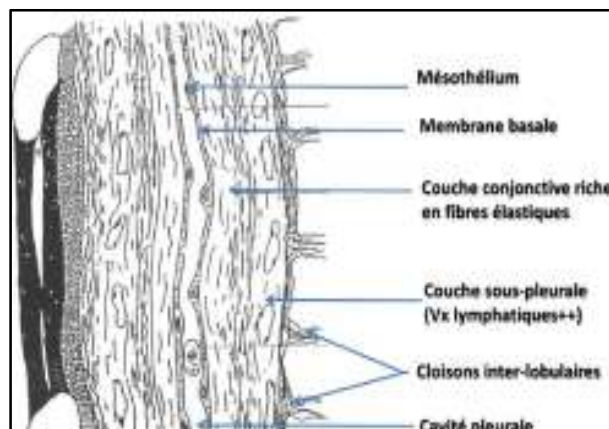


Figure 15. Structure histologique d'une plèvre. (Anonyme, 2021)

II. Rôles des populations cellulaires et Matrice extra cellulaire de l'environnement alvéolaire

II.1. Cellules épithéliales alvéolaires

II.1.1. Cellules épithéliales alvéolaires de type I (pneumocytes de type I : PI)

Elles sont des cellules squameuses (très aplaties), occupent 95% de la surface alvéolaire (ne représentent qu'un tiers des cellules de l'épithélium alvéolaire), ces cellules sont pauvres en organelles intracellulaires et possèdent de longs prolongements cytoplasmiques. Les PI avec les capillaires constituent le principal composant de la fine barrière. Elles sont unies par des jonctions étanches serrées (tight junctions) et reposent sur la lame basale fusionnée avec la membrane basale de l'endothélium des capillaires alvéolaires, leur face apicale est en contact avec l'air, alors que la face basale est étroitement liée aux cellules endothéliales des capillaires sanguins, pour former la barrière alvéolo-capillaire. Cet arrangement particulier de cellules épithéliales et endothéliales favorise les échanges gazeux et constitue une barrière de protection contre tous les micro-organismes. Outre leur rôle structurel dans les échanges gazeux, elles régulent les fluides alvéolaires notamment par les aquaporines. Deux marqueurs phénotypiques des CEAs I sont connus actuellement : l'aquaporine 5 et le T1 alpha est une protéine, récemment identifiée, exprimée dans les plexus choroïdiens, l'épithélium cilié et la membrane apicale des P I.[10]

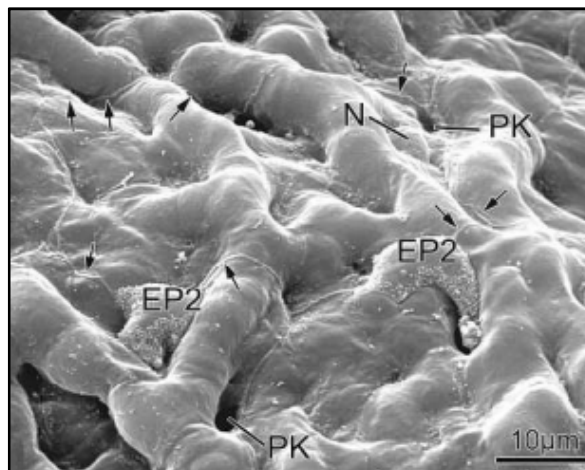


Figure 16. surface de la paroi alvéolaire dans le poumon humain vu par MEB révélant l'épithélium alvéolaire en mosaïque constitué d'EP1 et d' EP2 . les flèches indiquent la limite du feuillet cytoplasmique de la cellule EP1 , qui s'étend sur de nombreux capillaires . on observe également 2 pores de Kohn (PK) . N= noyau de la cellule EP1.(Weibel and Ewald. 1963)

II.1.2. Les cellules épithéliales alvéolaires de type II (pneumocytes de type II : PII)

Les P II sont de forme cuboïdale apparaissent isolées ou en petits groupes, liées aux cellules de type I par des jonctions intercellulaires serrées, elles possèdent un fort potentiel mitogénique et sont considérées comme les cellules progénitrices des P I. Les P II sont impliqués dans la sécrétion des différents constituants du surfactant pulmonaire. Elles possèdent des corps lamellaires contiennent les composants du surfactant pulmonaire (les phospholipides, les protéines B et C, et des traces de

protéine A) et des corps multivésiculaires, sont de grands vacuoles de 250 à 1000 nm de diamètre contenant de petites vésicules de 550 à 100 nm de diamètre .[10]

Les P II ont d'autres fonctions dans des processus autres que la sécrétion du surfactant :

- Réparation épithéliale alvéolaire suite aux agressions par prolifération puis différenciation en PI .
- Maintien de la balance des fluides et des électrolytes notamment par transport transépithélial.
- Défense innée (notamment dans la métabolisation des xénobiotiques par l'action des enzymes antioxydants).
- Modulation des cytokines, des facteurs de croissance et des récepteurs respectifs.
- Interactions cellule-cellule et cellule –matrice extracellulaire. [11]

II.1.2.1 Le surfactant et sa composition

Est un film mince qui tapisse l'intérieur des alvéoles pulmonaires, est une structure vitale essentielle à l'homéostasie pulmonaire. Le surfactant possède des capacités tensioactives, elle permet de diminuer les tensions qui s'exercent sur la paroi des alvéoles, empêchant de ce fait la survenue d'un affaissement de celles-ci. Le surfactant joue également un rôle immunitaire et dans la perméabilité alvéolaire (effet anti-œdémateux).

Le surfactant est synthétisé par les P II, elles secrètent, régulent la sécrétion et recyclent le surfactant. Il est composé de phospholipides, dont le composant majeur est dipalmitoyl phosphatidylcholine, et de 4 apoprotéines distinctes (SP-A, SP-B, SP-C et SP-D) en faible quantité (**Fig.17**). Les protéines B et C sont de petites tailles et hydrophobes. Une fois synthétisées dans le pneumocyte II, elles sont emballées et associées aux lipides dans les corps lamellaires puis libérées à la surface des alvéoles. Les protéines A et D sont de grandes tailles, hydrophiles, elles jouent un rôle dans les mécanismes de défense contre les infections pulmonaires. Par des mécanismes encore inconnus, les macrophages pulmonaires jouent un rôle majeur dans l'élimination du surfactant pulmonaire endommagé. [13].

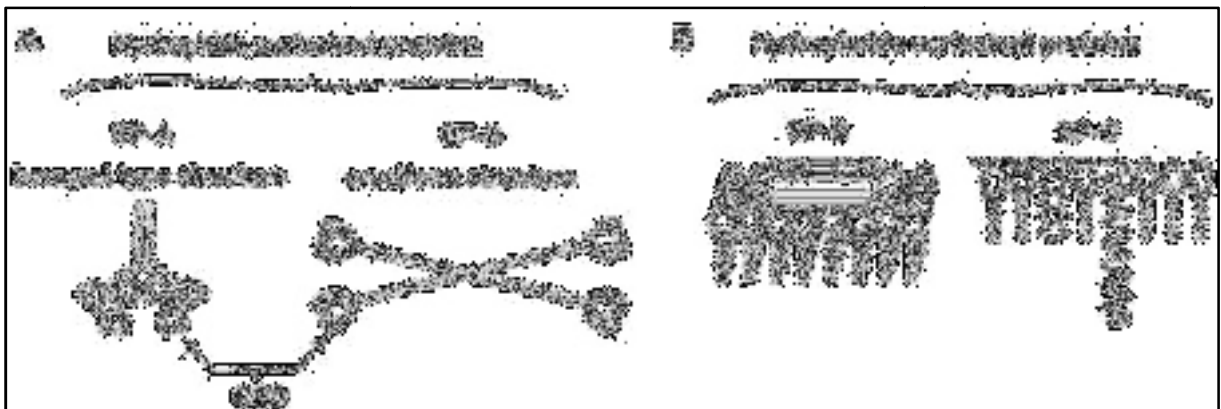


Figure 17.Structure des protéines tensioactives (SP-A, SP-B, SP-C et SP-D). (A) SP-A et SP-D sont des protéines tensioactives hydrophiles et font partie de la famille des collectines. Les caractéristiques structurales communes sont un amino N-terminal, un domaine semblable au collagène, une région du cou et un domaine de reconnaissance des glucides (CRD). (B) SP-B et SP-C sont des protéines tensioactives hydrophobes et jouent un rôle dans les fonctions biophysiques des tensioactifs. On les trouve en association étroite avec les phospholipides tensioactifs.(Christmann et al.,2009).

II.1.2.2. La formation du surfactant pulmonaire

Le surfactant représente environ 5% de la surface alvéolaire totale, il est produit et sécrété par les P II.

Des triglycérides sont fournis aux P II par les lipofibroblastes. Les composantes du surfactant sont générées dans le réticulum endoplasmique des P II puis transportées dans l'appareil de Golgi pour subir de modifications structurales. Elles sont ensuite stockées sous forme de corps lamellaires, jusqu'à leur sécrétion par exocytose dans l'hypophase alvéolaire. Les corps lamellaires sont transformés en tubules de myéline grâce à l' $\alpha 1$ -antitrypsine et la convertase. Cette structure est transportée à l'interface air-liquide des alvéoles afin de former une monocouche lipidique continue, le surfactant pulmonaire. Le fort taux de recyclage des composants du surfactant (environ 85%) s'effectue par endocytose. Lors de l'inhalation, une portion du surfactant est présente dans l'hypophase sous forme de multicouche lipidique transitoire. Par la pression du mouvement respiratoire, ces vésicules lipidiques sont formées et recyclées par les P II, puis dégradées par les lysosomes.[14]

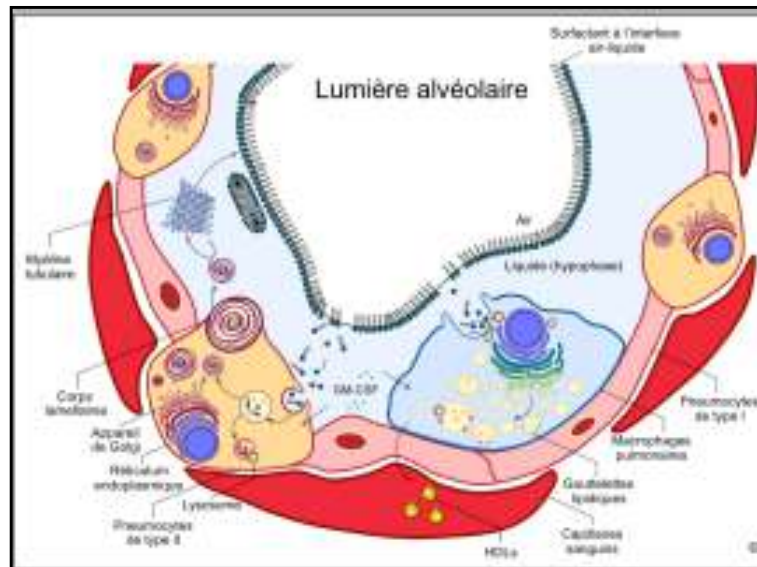


Figure 18. Le métabolisme du surfactant pulmonaire (Auger, 2017).

II.1.2.3. Fonction du surfactant

Les apoprotéines constitutives du surfactant ont un rôle très important :

_ SP-A : est une glycoprotéine hydrophile de 36 Kda calcium dépendante. Elle sert à la stabilisation de la myéline tubulaire. IL protège contre les microbes en se liant aux polysaccharides à mannose présents à la surface des bactéries et participe au recyclage des phospholipides par les CEAs II.

_ SP-B et les SP- C : protéines lipophiles de 9 Kda et 3.5 Kda respectivement, constituent un support pour l'étalement des lipides à l'interface air/eau. Ces deux apoprotéines permettent l'adaptation à la respiration à la naissance en maintenant l'ouverture des alvéoles en fin d'expiration.

_ SP-D : glycoprotéine de 43 Kda assez proche de la SP-A, contribue aussi à la défense antimicrobienne en provoquant l'agglutination des organismes Gram –négatifs. [11]

Dans l'immunité, à la région trachéobronchique, le surfactant se situe entre l'hypophase et le mucus. Le mucus et l'hypophase disparaissent progressivement dans les régions distales, il persiste alors une monocouche de surfactant au niveau de la surface de l'épithélium alvéolaire. Lorsque des particules atteignent la surface du surfactant, elles sont déplacées vers l'hypophase du fait des forces de mouillage. Elles sont alors principalement phagocytées par les macrophages alvéolaires et peuvent interagir avec la SP-A. En diminuant la tension superficielle des alvéoles en fin d'expiration, le surfactant facilite l'élimination des particules et des débris cellulaires vers les voies aériennes plus larges. L'interaction des particules avec la SP-A n'est pas encore bien comprise mais il semblerait que la SP-A et la SP-D puissent interagir avec les macrophages et les leucocytes pour moduler la réaction inflammatoire induite.[15]

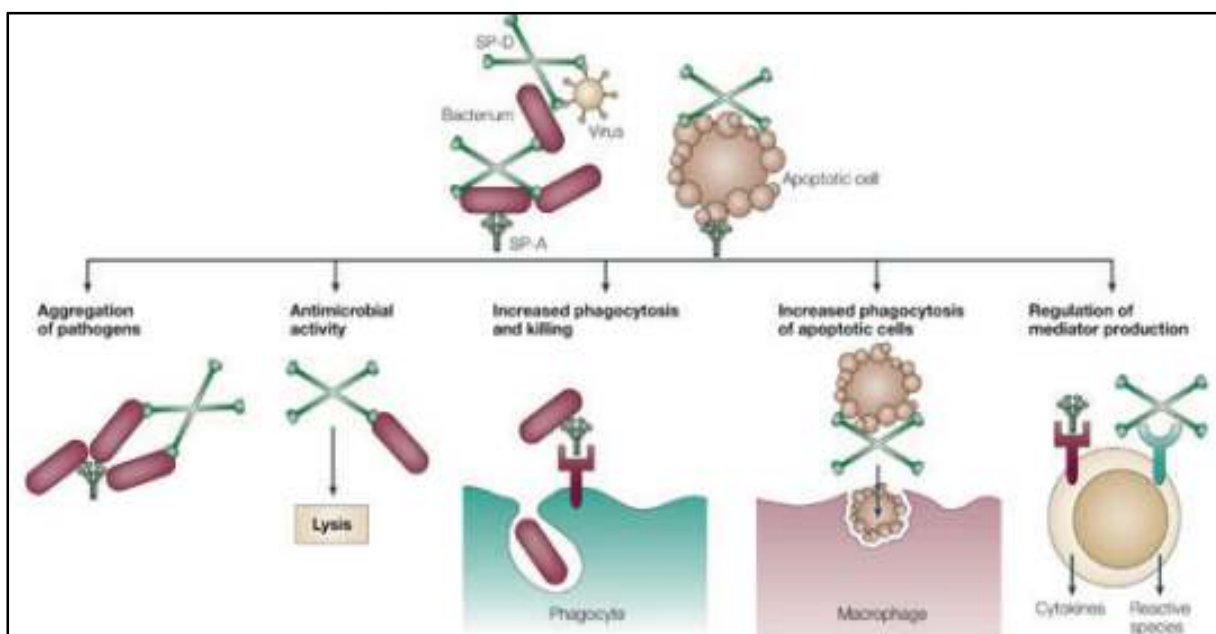


Figure 19. Principaux rôles de SP-A et SP-D dans l'immunité.(Wright, 2005)

II.2. La cellule endothéliale

Les cellules endothéliales capillaires représentent 30% des cellules pulmonaires . Elles sont en contact étroit les unes avec les autres, associées par des jonctions serrées (Tight and gap junction) .Le cytoplasme de ces cellules contient des mitochondries, des appareils de Golgi, ribosomes et d'autres structures pour leur activité métabolique, cependant leurs extensions cytoplasmiques (inférieure à 1 um) sont dépourvues en organelles spécialisées mais contiennent de nombreuses vésicules de pinocytose, ouvertes sur l'espace vasculaire. Elles constituent une barrière physique continue entre l'air alvéolaire et le sang circulant. Elles assurent la diffusion rapide des gaz, le transport de matériel entre le sang et les tissus. Les cellules endothéliales peuvent augmenter la vasoperméabilité en produisant des métabolites de phospholipides. Elles peuvent moduler l'inflammation en produisant des cytokines pro-inflammatoires, des chimiokines, et des facteurs de croissance. [16]

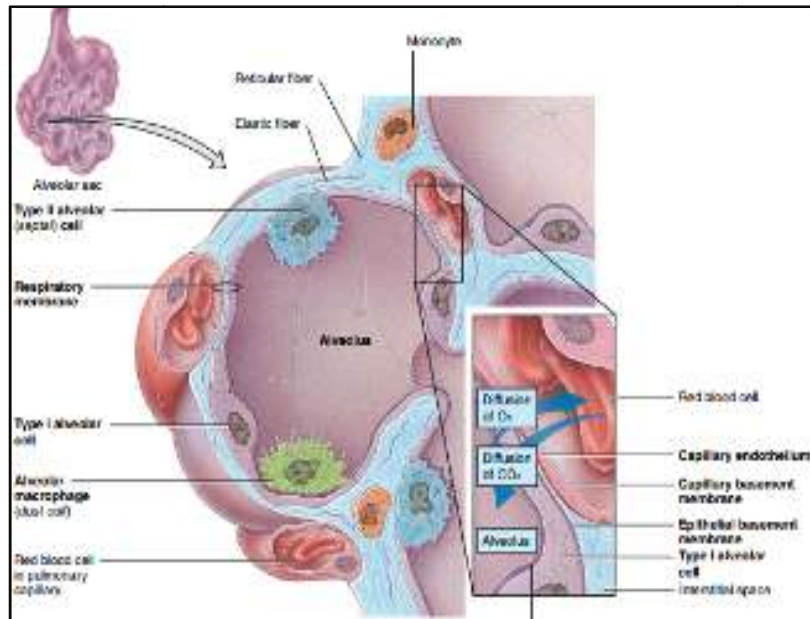


Figure 20. Les échanges gazeux au niveau de l'alvéole pulmonaire. (Tortora and Derrickson, 2016)

II.3. Les fibroblastes

Les fibroblastes sont des cellules allongées, avec un large noyau ovale, et un cytoplasme riche en organites. Ils produisent les composants de la matrice extracellulaire comme les glycosaminoglycanes, fibronectines et collagènes de type 1 et de type III. Les fibroblastes sécrètent aussi des enzymes, dont la collagénase, et des inhibiteurs de métalloprotéases (TIMPs).[16]

II.4. Les macrophages alvéolaires

Le macrophage alvéolaire est une grande cellule dont la forme irrégulière, Son noyau excentré, comprenant un ou deux nucléoles et une chromatine nucléaire diffuse, et son cytoplasme abondant, riche en mitochondries, réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, inclusions cytoplasmiques, granules, vacuoles et vésicules de pinocytose, reflètent son métabolisme très actif. Ils peuvent être collectés par lavage broncho-alvéolaire. Les macrophages alvéolaires, issus de la transformation des monocytes circulants, sont considérés comme la première ligne de défense du système immunitaire inné. Ils sont impliqués dans la reconnaissance des pathogènes et dans la phagocytose ainsi que dans la sécrétion des médiateurs de l'inflammation. [16]

II.5. La matrice extracellulaire

Le tissu interstitiel (interstitium) est constitué d'une matrice extracellulaire dans laquelle des cellules, majoritairement des fibroblastes, sont distribuées de façon éparse. Celles-ci ne sont pas associées entre elles, mais sont entourées de tissu conjonctif. Parmi ces cellules, des cellules musculaires lisses, des péricytes (cellules aplaties entourant les cellules endothéliales capillaires et pouvant avoir une fonction contractile) et les cellules effectrices (macrophages, mastocytes, lymphocytes, cellules dendritiques). La matrice extracellulaire est un réseau complexe composé de

deux classes principales de macromolécules, les polysaccharides glycosaminoglycane et les protéines fibreuses. La membrane basale exerce un rôle fondamental dans la régénération tissulaire après une lésion. La membrane basale sert aussi de barrière sélective, elle empêche les fibroblastes du tissu conjonctif sous-jacent d'entrer en contact avec les cellules épithéliales mais laisse passer les macrophages et les lymphocytes.[16]

III. Les poumons et les voies respiratoires : organes cible pour les particules aéroportées

A chaque inspiration, avec la pénétration de l'air, des milliers de particules pénètrent aussi dans les poumons où elles sont déposées et retenues pour différentes périodes de temps et par différents mécanismes. Les poumons représentent un organe très sensible aux agressions directes de l'environnement extérieur. Les différents modèles d'agression sur l'animal sont centrés autour de deux régions anatomiques distinctes :

- Les zones de conduction (voies aériennes) dont deux pathologies humaines courantes : l'asthme et la broncho-pneumopathie chronique obstructive peuvent illustrer l'importance physiologique.
- Les zones d'échange gazeux (poumon profond) dont deux pathologies humaines : le syndrome de détresse respiratoire aigu (SDRA) et la pneumopathie interstitielle commune illustrent l'importance physiologique. [17]

III.1. Mécanismes de dépôt des particules inhalées

Les mécanismes de dépôt des particules sont : la collision, l'interception, la sédimentation, et la diffusion. Ces mécanismes sont dépendants à la fois des particularités anatomiques des voies respiratoires (le diamètre, la présence des cils, le surfactant pulmonaire etc.) et à la fois des paramètres physiques des particules (taille, morphologie, propriétés de surface etc.). C'est justement dans ce contexte que le poumon exerce aussi des fonctions d'épuration (élimination des particules pénétrant dans les voies respiratoires). Par la suite, les particularités anatomiques des poumons et des voies respiratoires qui pourront être déterminants dans le dépôt et la rétention des particules inhalées vont être présentés.(Fig.21). [17]

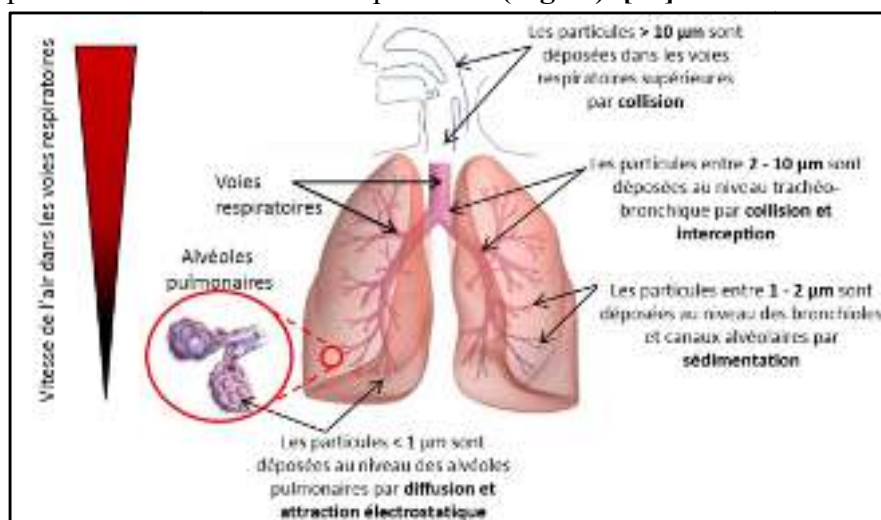


Figure 21. les principaux mécanismes de dépôt des particules sur la paroi des voies respiratoires en fonction de leur taille (Gehr et al., 2000)

III.2. Voies d'élimination des particules aéroportées

Ces particules sont éliminées en fonction de leur taille. Les particules les plus grosses peuvent être éliminées par translocation par l'ascenseur muco-ciliaire. Grâce aux cellules ciliées de l'épithélium de la trachée et des bronches, le mucus qui contient les particules est envoyé vers le système digestif afin d'être éliminé. Ce mécanisme permet d'éliminer les particules en moins de 24h. Les particules plus petites qui ont atteint le niveau alvéolaire, peuvent être phagocytées par les macrophages qui les dirigent vers l'ascenseur muco-ciliaire pour les éliminer via le système digestif. Ce processus ne permet pas une élimination rapide. L'efficacité de ce mécanisme de clairance dépend fortement de l'efficacité des macrophages alvéolaires pour détecter les particules déposées, et se déplacer vers le site de leur dépôt, puis les phagocyter. Ce processus de phagocytose des particules déposées a lieu en quelques heures (6 à 12 h) après le dépôt. Si les macrophages alvéolaires sont dépassés (par exemple suite à l'exposition d'un nombre très important de particules), les particules peuvent interagir avec les cellules épithéliales respiratoires qui tapissent les alvéoles. Les particules peuvent traverser la barrière par internalisation et par transcytose et ensuite être transportés par le sang dans différents organes. . [17]

Tableau 1. Voies d'élimination des particules dans et hors des voies respiratoires (Oberdorster, 2005)

	Mécanisme	Région
Translocation physique	Mouvement muco-ciliaire	Extra-thoracique, trachéo-bronchique
	Phagocytose des macrophages	trachéo-bronchique, alvéolaire
	Endocytose épithéliale	Extra-thoracique, trachéo-bronchique, alvéolaire
	Translocation interstitielle	trachéo-bronchique, alvéolaire
	Drainage lymphatique	trachéo-bronchique
	Circulation sanguine	trachéo-bronchique, alvéolaire
	Capteurs de neurones	Extra-thoracique, trachéo-bronchique
Clairance chimique	Dissolution	Extra-thoracique, trachéo-bronchique, alvéolaire
	Lessivage	
	Liaison protéique	

III.2.1. Cinétique de la clairance pulmonaire

La clairance pulmonaire est l'élimination de substances inhalées de l'appareil respiratoire par le transport des particules et par l'absorption dans les liquides biologiques. Elle peut être chimique ou mécanique. [2]

III.2.1.1. La clairance mécanique

Correspond au transport des particules grâce au tapis muco-ciliaire. La structure, le nombre, le mouvement et la coordination des cils présents dans les voies respiratoires ainsi que la quantité, la composition et les propriétés rhéologiques de la couche périciliaire du mucus sont des déterminants de la clairance muco-ciliaire. Les facteurs physiologiques tels que l'âge, le sexe, la posture, Le

sommeil et l'exercice influencent la clairance du fait d'une modification des cils, du mucus ou de la couche périciliaire, ou une combinaison de ceux-ci. Certains polluants sont connus pour avoir un effet néfaste sur la clairance (fumée de tabac, dioxyde de soufre, acide sulfurique, dioxyde d'azote, ozone). Certaines maladies affectent la clairance comme l'asthme, la dilatation des bronches, la bronchite chronique, la mucoviscidose et certaines infections aiguës des voies respiratoires. [2]

- **Le Mucus**

Ce film constitue la première défense de l'épithélium vis-à-vis des agents biologiques ou particules inhalées. Il est constitué d'une hypophase aqueuse péri ciliaire (phase sol) dont la hauteur doit être maintenue à 7 μm pour conserver l'efficacité des battements ciliaires, et d'une phase gel superficielle (épaisseur de 0,5 à 5 μm) ayant une composition protéique et chimique précise. Il existe un continuum entre le liquide recouvrant l'épithélium de la région trachéo-bronchique et celui du compartiment alvéolaire. Le mucus disparaît progressivement jusqu'au compartiment alvéolaire où seul le surfactant persiste. Dans une zone de transition dont les limites sont mal délimitées, la phase gel du mucus serait discontinue laissant la phase sol à nu.[2]

- **Les cils**

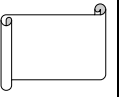
Un cil est constitué d'une tige, d'une zone de transition, d'un corpuscule basal et d'une racine. La longueur du cil est de 5 à 7 μm dans la trachée et 2 à 3 μm à la 7^{ème} génération. La tige est constituée en périphérie de 9 paires de microtubules (A et B) reliées entre elles par des ponts de nexine. Ces microtubules interagissent avec les 2 microtubules centraux grâce à des ponts radiaires. Les fibres A sont dotées de bras de dynéine externe et interne responsables de l'activité ATPasique. La tige est entourée d'une membrane plasmique identique à celle de la cellule. La tige interagit avec le cytosquelette sous-jacent grâce à la zone de transition, au corpuscule basal et à la racine.

Les cils permettent le déplacement du mucus, tout le long de l'arbre bronchique, vers le pharynx. L'apex du cil est muni de « griffes » qui s'accrochent à la phase gel du mucus.

Les battements ciliaires (12 à 15 battements par seconde) ont lieu dans l'hypophase et se déroulent en 4 phases :

- phase active : déploiement du cil pour s'ancrer à la phase gel.
- phase active de propulsion du mucus
- phase de récupération, le cil se replie sur lui-même.
- Phase de repos

Dans la région extrathoracique (fosses nasales), les battements actifs des cils déplacent le film muqueux vers le carrefour aérodigestif à une vitesse moyenne très variable de 0,5 à 24 mm/minute. Dans la région trachéo-bronchique, cette vitesse est comprise entre 1 et 15 mm/minute. Plus on se



rapproche des régions distales des voies aériennes, plus la fréquence de battement diminue et plus la longueur des cils diminue.[2]

III.2.1.2. La clairance chimique

Essentiellement effectuée par le MP, peut avoir lieu dans le mucus ou le liquide interstitiel. Elle représente l'ensemble des processus chimiques ou enzymatiques permettant de rendre un composé plus soluble pour favoriser son passage dans la circulation systémique. [2]

III.2.1.3. Phagocytose par le macrophage

Le macrophage (MP) joue un rôle essentiel dans l'élimination des particules inhalées insolubles. Son but principal est de purifier l'espace alvéolaire en phagocytant les particules toxiques pour atteindre ensuite le tapis muco-ciliaire ou l'interstitium puis les lymphatiques. Il peut également jouer le rôle de cellule présentatrice d'antigène ; il a donc un rôle pivot entre l'immunité innée et l'immunité adaptative.

Les récepteurs de type Toll (TLR) sont des récepteurs transmembranaires présents à la surface du MP et font partie de la famille des PAMPs (pathogen-associated molecular patterns). Les TLR 2 et 4 semblent être les deux TLR principaux permettant la reconnaissance des particules. Cette reconnaissance entraîne une activation en chaîne de voies intracellulaires permettant la production de médiateurs de l'inflammation par l'activation de facteurs de transcription comme le facteur nucléaire KB (NF-KB) ou de l'activateur de protéines 1 (AP-1). La reconnaissance de particules par les TLR active le MP qui initie alors leur phagocytose.(Fig.22) [2]

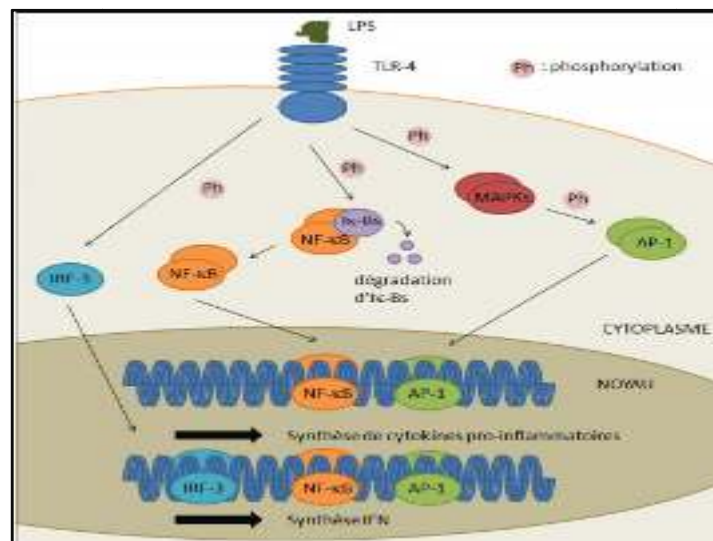


Figure 22. Voies de transduction du TLR-4 (Kawai and Akira, 2006)

IV. Adaptation physiologique des rongeurs à hibernation souterraine

Toutes les espèces hibernantes présentent une stratégie d'économie d'énergie identique pendant l'hibernation via une diminution du métabolisme et de la température corporelle.[18]

La gerboise est un animal saisonnier par excellence, qui entre en vie ralentie en hiver lorsque les conditions environnementales contraignante deviennent une source de divers types de stress. En effet, pendant cette saison, la gerboise diminue sa température interne, ralentit ses fonctions physiologiques et ses réactions métaboliques, accumule les tissus adipeux et rentre en hibernation. Plusieurs paramètres caractérisant l'hibernation de la gerboise ont été décrits, tel que la durée des torpeurs et les éveilles périodiques. Pendant l'hibernation, la température rectale de la gerboise chute de 37°C à environ $9,8 \pm 0,7^{\circ}\text{C}$ et il en est de même pour la fréquence cardiaque qui tombe de 300 battements /min à environ $9,3 \pm 1,5$ battements /min. En sortant de l'hibernation, la gerboise augmente sa consommation d'oxygène qui atteint son maximum ($6,44\text{ml /h/g}$) à partir de 25°C , et se maintient jusqu'à 30°C . [19]



Figure 23. Petite gerboise à la rentrée de son terrier. (Anonyme, 2021)

V. Adaptation respiratoire des animaux à hibernation souterraine

En condition anoxique expérimentale, il a été observé chez de nombreux animaux souterrains une diminution drastique de l'activité locomotrice. Cette adaptation comportementale a pour effet de réduire les coûts énergétiques durant les périodes de basse teneur en oxygène (en diminuant les besoins en oxygène). Chez les Mammifères, Les échanges gazeux sont réduits au cours de la torpeur ou de l'hibernation du fait de la réduction de la fréquence respiratoire qui s'installe parallèlement à la chute du métabolisme. L'hibernation est une période d'hypométabolisme. Ce dernier, caractérisant les animaux hypogés (vivant sous terre) a longtemps été relié à la pauvreté en nourriture, mais il a été émis plus récemment l'hypothèse que ce métabolisme réduit était également le reflet d'une adaptation aux basses teneurs en oxygène : un hypométabolisme se traduit par une demande en oxygène plus faible et donc par une augmentation de la survie en anoxie. [20]



Matériel Et Méthodes



1. Lieu de réalisation de la partie expérimentale

La partie expérimentale était déroulée au laboratoire histotechnologie département de Biotechnologies et agro-écologie, université Blida1 : les étapes de circulation/ inclusion, microtomie. La microscopie électronique à balayage : Faculté des sciences, Département de physique, université Blida1.

2. Matériel d'étude

2.1. Matériel Biologique

Notre modèle animale est la petite gerboise mâle pesant entre 50-60 g dont le régime alimentaire est constitué de grains. Le matériel biologique d'intérêt est le poumon.

2.1.1. Classification

Royaume : animaux

Sous-royaume : Les bilatériens

Phylum : cordés

Sous-phylum : vertébrés

Superclasse : Tétrapode

Classe : mammifères

Sous-classe : Théria

Infra-classe : Eutheria

Ordre : rongeurs

Sous-ordre : gerbilles

Famille : Dipodidae

Genre : *Jaculus* - Gerboises du désert d'Afrique, Gerboises du désert

Espèce : *Jaculus jaculus* - Petite Gerboise égyptienne



Figure 24 : Jaculus jaculus. (Boulebier,2013)

2.1.2. Distribution mondiale

La petite gerboise (Fig.24) peut être trouvée en Asie centrale, en Afrique du Nord et en Arabie dans des pays comme l'Algérie, le Maroc, le Soudan, l'Arabie Saoudite... L'espèce est particulièrement commune en Égypte, d'où son nom commun, Lesser Egyptian Jerboa. (Brown et al., 1994); Elles côtoient les milieux désertiques et semi-désertiques, qu'ils soient rocheux ou sablonneux.

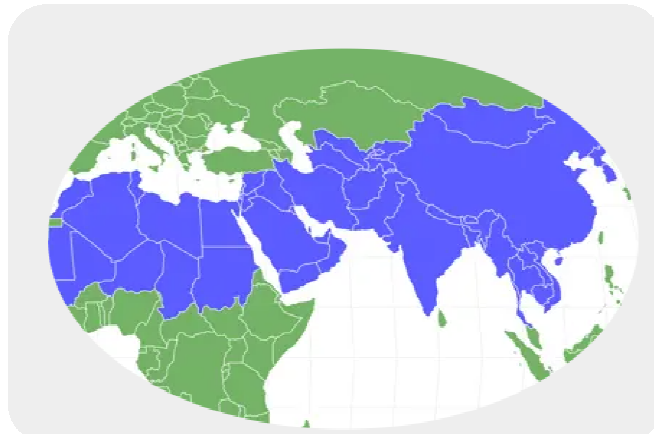


Figure 25 :Répartition de jerboa en Afrique et Asie. Jerboa Animal Facts | AZ Animals

2.1.3. Description de l'animale

L'animal appartient aux rongeurs adaptés à une locomotion par bond : membre postérieur considérablement allongé, les membres antérieurs sont courts les yeux sont gros, les oreilles bien développées à Longévité : 6 ans $\frac{1}{2}$. La queue est longue et joue le rôle d'un balancier lors des bonds (Aulagnier et Thevenot, 1986). *Jaculus jaculus*, est un rongeur déserticole nocturne, de petite taille appelé "la gerboise du désert" ou "la petite gerboise de l'Egypte" comparée à la grande gerboise (*Jaculus orientalis*) de la famille des Dipodidae.

Toutes les gerboises sont des omnivores qui se nourrissent de matières végétales et d'insectes. La petite gerboise est un petit rongeur adopte un régime alimentaire principalement végétarien, essentiellement constitué de fruits secs, d'herbe sèche, de racines, de graines, mais elle se nourrit aussi d'insectes qui lui apportent les protéines dont elle a besoin (Happold, 1967).

La gerboise comme d'autres animaux des régions désertiques qui a la particularité de pouvoir se passer de boisson. L'animal se nourrit de racines quand il pleut, c'est pourquoi elle peut passer 3 (trois) ans sans boire une goutte. Comme il y a peu de nourriture dans le désert, la gerboise parcourt parfois plusieurs centaines de mètre pour trouver des plantes qu'elle enfouit profondément dans des galeries souterraines, Par contre, on ignore comment elle fait pour retrouver son terrier. Les terriers ont une chambre principale et un tunnel de sortie de secours. Pendant les hivers pluvieux, les gerboises creusent leurs terriers sur les côtés des collines pour éviter les inondations en laissant généralement l'entrée du terrier ouverte, alors qu'en été les terriers sont généralement creusés sur des zones moins élevées près de la végétation, et le trou d'entrée est branché avec le sol, peut-être pour éviter l'entrée de serpents et de l'air chaud(Kirmitz, 1962).

En période sèche, surtout pendant la chaleur du jour, la gerboise reste dans son terrier et se désaltère en suçant les plantes et les grains qu'elle a stockés.

2.2. Matériel non biologique

Est représenté par les matériaux et les réactifs utiles (**voir Annexes 1**).

3. Méthodes d'études

3.1 Prélèvement

Les gerboises ont subi une anesthésie par inhalation au chloroforme pure imbibé dans du coton.

L'extraction des poumons était effectuée par l'ouverture de la cavité abdominale suivie par l'ouverture de la cavité thoracique (**Fig. 26**).

3.2. Fixation

La fixation a pour but la conservation des structures dans un état aussi proche que possible de leur état vivant, elle s'oppose aux processus de l'autolyse tissulaire et microbien. elle permet aussi le durcissement de la pièce tissulaire. Le prélèvement était immergé dans un volume de liquide fixateur à 10% dans le tampon phosphate, pH : 7.2.

3.3. Préparation des blocs de paraffine

3.3.1. Déshydratation et éclaircissement

L'intérêt de la déshydratation est d'éliminer le fixateur par les alcools, L'éclaircissement sert à remplacer l'eau par l'alcool puis par le xylène ou le toluène pour attirer la paraffine dans le tissu et augmenter la transparence de ce dernier. Les tissus sont déshydratés en passant dans différents bains d'alcool de concentration croissante (50 % ,70 %, 90 % et trois passages dans du 100 %), puis dans du xylène ou toluène (deux bains). La durée du cycle de déshydratation dépend de la nature des échantillons et de leur taille (**voir fiche technique N°2, annexe**).

3.3.2. Imprégnation à la paraffine

Le but d'imprégnation est de faire rentrer la paraffine entre les éléments tissulaires pour donner une rigidité au tissu lui permettant de conserver sa structure interne au moment de la coupe. Les échantillons sont donc immergés dans de la paraffine liquéfiée à 60° (deux bains) maintenue. Ces étapes étaient réalisées manuellement (**voir fiche technique N°3, annexe**).

3.3.3. Inclusion à la paraffine

Elle consiste à rigidifier l'échantillon avec un milieu d'inclusion de paraffine et obtenir un bloc de renfermant le tissu solidifié prêt pour la microtomie. L'inclusion s'effectue à la fin du dernier bain de paraffine. Jusqu'à son placement final dans un moule. Ce dernier est rempli par une fine couche de paraffine. L'échantillon est plaqué dans le fond du moule avec la pince (une pince chaude), le moule est recouvert avec une cassette plastique (qui servait de couvercle), avant de remplir cette dernière de paraffine liquide. Il faut bien adapter la hauteur du moule à celle de l'échantillon (**voir annexe**). Les blocs sont rapidement refroidis sur la glace (**voir annexes 3**).

3.3.4. Microtomie

Le bloc à couper peut être monté horizontalement ou verticalement dans la pince rapide du microtome, et il est important de noter sur chaque bloc l'orientation choisie, de manière à faciliter d'éventuelles coupes supplémentaires en évitant de trop grandes pertes de matière. Le passage du bloc de paraffine dans un microtome permet de réaliser des sections de 2 à 5 μm disposées en séries régulières sous forme d'un ruban (**voir annexes**).

3.3.5. Etalement des coupes

Pour faire adhérer les coupes sur les lames de verre, il est nécessaire de les rendre collantes en utilisant des lames gélatinées. Le ruban issu du microtome est déposé délicatement dans un bain marie réglé à 45°C pour déplier la paraffine. Les coupes sont recueillies sur des lames gélatinées. Une fois l'étalement effectué, les lames sont séchées à température ambiante (**voir annexes 3**).

3.4. Coloration histochimique des coupes

L'observation des coupes, directement après leur confection, ne permet pas d'accéder à la connaissance des diverses caractéristiques. La microscopie optique rend nécessaire le renforcement de contrastes au sein de l'échantillon biologique en utilisant certaines des propriétés biochimiques de ses constituants et/ou différentes structures. En jouant sur leurs affinités sélectives vis-à-vis de substances colorantes, il est possible de différencier spécifiquement par coloration.

3.4.1. Déparaffinage et hydratation

Avant toute coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine et réhydratées pour rendre les tissus perméables aux colorants (solutions aqueuses ou alcooliques).

Le déparaffinage consiste, comme son nom l'indique, à éliminer la paraffine. Les lames sont placées sur une plaque chauffante (de 45 à 60°C) pendant 15 min. Afin d'obtenir la liquéfaction et donc l'élimination de la paraffine périphérique. La réhydratation permet l'élimination de la paraffine intracellulaire. Les lames sont déparaffinées complètement dans deux bains de xylène / toluène puis hydratées graduellement dans des bains d'alcool de degrés décroissant (de l'alcool à 100° jusqu'à l'alcool à 50°), le dernier bain consiste à un passage des coupes dans de l'eau distillée. Une fois réhydratés, les tissus sont alors prêts pour la coloration.

3.4.2. Coloration hématoxyline et l'éosine

C'est une technique de coloration topographique, la plus utilisée en histologie animale et en anatomie pathologique de routine. Les solutions d'hématoxyline contiennent de l'hématéine et un mordant métallique (sels d'aluminium ou de fer). Ce mordant est responsable de la coloration. La coloration HE est une coloration bi-chromatique qui se compose d'un colorant nucléaire et colorant cytoplasmique. L'hématéine est un colorant basique se fixe par affinité aux molécules acides (ADN) permettant de colorer le noyau en bleu-violet. L'éosine est un colorant acide se fixe par affinité aux molécules basiques permettant de colorer le cytoplasme en rose et les fibres dans une gamme de roses plus ou moins vifs selon l'acidophilie des différents éléments (**fiche technique N° 5, annexe**).

3.4.3. Coloration de Trichrome de Masson

La coloration trichrome de Masson est utilisée pour différencier les fibres de collagènes et le tissu musculaire dans des coupes histologiques, cette coloration associe trois colorants : un colorant nucléaire violet (Hématoxyline), un colorant cytoplasmique rouge (Fuchsine ponceau) et un colorant des fibres de collagènes vert (vert lumière ou bleu d'aniline) (**fiche technique N° 6, annexe**).

3.4.4. Montage des coupes

Les lames doivent passer après coloration, dans des bains d'alcool de concentration croissante pour éliminer l'eau restante dans les coupes (70°, 90° et 100°) et enfin dans 2 bains de toluène. Le montage est l'opération qui consiste à fixer, à l'aide d'une substance appropriée au colorant utilisé, une lamelle de verre sur l'échantillon. Il s'agit de l'Eukit ou autre résine qui permet l'adhérence entre la lame et la lamelle, une légère pression sur la lame permettant de chasser les bulles d'air. Les lames sont ensuite séchées absorbant, nettoyées au toluène.

4. Observations à la loupe binoculaire et au Microscope et capture d'images

Les observations ont été faites sous microscope photonique (x10, x40, x100). Les photographies ont été prises à l'aide d'un appareil photo numérique fixé sur le microscope photonique OPTIKA. La prise d'image par une caméra adaptée, ISview.

5. Microscopie Electronique à Balayage

La MEB Est une technique permet d'observer la surface d'échantillons biologiques de grande taille à l'échelle nanométrique. Cette technique est fondée principalement sur la détection des électrons secondaires émergents de la surface sous l'impact d'un très fin pinceau d'électrons primaires qui balaye la surface observée. Les rayonnements réfléchis produisent un signal transcrit en image visualisable sur un écran.

5.1. Préparation de l'échantillon pour l'observation

L'échantillon biologique le poumon contient de l'eau ce qui le rend plus ou moins mou. Il nécessite une préparation qui vise à les déshydrater sans en détruire la paroi des cellules.

Un fragment du poumon coupé transversalement était déshydraté grâce à la plaque chauffante pendant 1h à 20°C. Une fois la déshydratation finalisée, l'échantillon est fixé sur un support spécifique au MEB (plot métallique) à l'aide d'une pastille carbone auto collante (ou Scotch carbone) comme interface afin d'assurer une bonne conduction des électrons. L'échantillon est placé dans la chambre d'observation. L'ordinateur branché au MEB permet la visualisation et l'acquisition d'images. L'image obtenue est en noir et blanc et présente des contrastes, permettant une vision en relief de la surface (**voir annexes**).

6. Mesure des dimensions des bactéries retrouvées dans les alvéoles de *Jaculus jaculus*

Grâce à l'observation tridimensionnelle du MEB, nous avons noté la présence d'un groupe de bactéries en forme de bâtonnets (*bacilles*) au niveau du poumon de *Jaculus jaculus*. Ces bactéries ont une taille variable. Nous avons utilisé un programme de traitement des images, le programme ImageJ qui nous a permis de mesurer les différentes tailles de ces bactéries.



Résultats



Les résultats rapportés dans cette étude ont été analysés à l'aide de la microscopie photonique et au microscope électronique à balayage, afin de ressortir les particularités micro-anatomique et histo-fonctionnelles de chaque élément composant le tissu pulmonaire. Le poumon a été exploré par la technique histologique classique, par la coloration de l'hématoxyline et éosine et la trichrome de Masson.

1. Anatomie de l'appareil respiratoire de *Jaculus jaculus*

Les poumons après la dissection de la cavité thoracique de la gerboise montre un aspect lisse, brillant, spongieux et de couleur rose claire (**Fig.26**). Le lobe pulmonaire fixé perd sa couleur, mesure environ 1.8 cm, dans le sens transversal et pèse 0.64 g et 0.98 g. De teinte rose habituellement due à la perfusion du tissu, est modifiée par la fixation de la pièce. De forme conique, le poumon présent, trois faces (costale, médiastinale et diaphragmatique), trois bords (antérieur, postérieur, inférieur) et un apex. Les scissures divisent les poumons en lobes inégaux, le poumon gauche comprend trois (03) lobes et le poumon droit est composé de 2 lobes, un (01) volumineux et un (01) petit (**Fig.26.3 et 26.4**).

2. La Microanatomie du poumon de la gerboise

La **figure 27** prise par le microscope électronique à balayage (MEB), montre l'aspect spongieux (**Fig.27.1**) représentant des sections et des trous de différentes tailles. Les plus grands de ces derniers s'ouvrent en donnant des sacs alvéolaires. Le poumon montre ramifications des voies aériennes essentiellement les bronchioles terminales et les alvéoles (**Fig.27.2**).

Fig 26

Fig 27

Des coupes histologiques du poumon de la petite gerboise, traités à la coloration de trichrome de Masson (préparée par vert lumière) (**Fig.28**), complètent ceux effectués en MEB, et démontre les ramifications des voies aériennes, les bronchioles entourées par les artérioles ainsi que les alvéoles (**Fig.28.1, 28.2, 28.3**) et(**Fig.28.1', 28.2', 28.3'**).

L'épithélium des bronchioles est de type prismatique pseudostratifié, les cellules possèdent de gros noyaux arrondis occupant une importante surface cytoplasmique (**Fig.28.3 et 28.3'**). L'observation du lobe pulmonaire à son l'extrémité montre un aspect irrégulier de sa paroi (**Fig.28.4 et 28.4'**)

2.1. Les types de cellules alvéolaires et autres

La composante cellulaire est démontrée par la coloration de trichrome de Masson (préparée par vert bleu) (**Fig.29**).

La paroi alvéolaire (**Fig.29.1**) du lobe pulmonaire est composée par pneumocyte I (PI) cellule aplaties(**Fig.29.2, 29.3**), les pneumocyte 2 (PII) grand cellules arrondies(**Fig.29.4, 29.6, 29.7**). Par ailleurs des cellules polynucléaires sont observées (**29.2, 29.4, 29.7**).

A proximité des alvéoles sont retrouvées des artérioles qui alimentent le parenchyme(**Fig.29.1, 29.4**).

2.2. Vascularisation du parenchyme pulmonaire

La vascularisation du lobe pulmonaire est très importante pour permettre les échanges gazeux comme le montre les micrographies colorées en Hématoxyline et éosine de **la figure 30**. La riche vascularisation semble suivre les trajets des voies aériennes jusqu'au composant unitaire (**Fig.30.1**).

Fig 28

Fig 29

Fig 30

2.3. Particularités retrouvées dans les microstructures pulmonaires de la gerboise déserticole

Au cours de notre exploration fine du parenchyme pulmonaire, nous avons remarqué la présence de zones infiltrées par des cellules, qui semble être des foyers inflammatoires (**Fig.31.1 et 31.2**).

Par ailleurs une substance noirâtre était observée au niveau de la périphérie des vaisseaux sanguins, des bronchioles (**Fig.31.3**) et des alvéoles (**Fig.31.4**).

Certaines régions, renfermes de large zones alvéolaires qui contiennent des cellules sombres (**Fig.32.1, 32.2**), et qui semblent être les cellules à poussières ayant internalisé la substance noirâtre. Ces cellules sont présentes en abondances à différentes tailles. Elles possèdent un noyau polylobé et se répartissent à proximité des vaisseaux sanguins et des alvéoles en même temps (**Fig.32.3, 32.4**).

Grace à l'observation tridimensionnelle du MEB, nous avons pu mettre en évidence la présence de structures bacillaire (**Fig.33.1**). Il semble que ces dernières sont des bactéries de type bacille (**Fig.33.2**). Le programme ImageJ nous a permis de mesurer les différentes tailles de ces bactéries. Nous avons trouvé que leur dimension est située entre **3 μm et 8 μm** (**Fig.34**).

Fig 31

Fig 32

Fig 33

Fig 34



Discussion



I. Microanatomie comparée et particularités des éléments pulmonaires chez *Jaculus jaculus*

Afin de démontrer les particularités microstructurale du parenchyme pulmonaire de notre modèle animale nous avons établi une anatomie comparée qui vise à étudier les différences anatomiques entre les espèces. Cette comparaison pourrait apporter une compréhension claire de l'adaptation des animaux à leur environnement. En effet, des études comparatives ont été réalisées par le microscope électronique à balayage (MEB) et ont démontré la structure tridimensionnelle des voies aériennes des poumons de plusieurs espèces.

Nos résultats de MEB, ont permis de démontrer qu'au niveau des zones respiratoires, les terminaisons des bronches (ou les bronchioles terminales) sont entourées par les alvéoles pulmonaires. L'étude complémentaire par l'examen histologique nous a révélé l'aspect histologique du poumon dont les bronchioles terminales aboutissent aux alvéoles.

En effet, les voies aériennes sont constituées de plusieurs générations de bronchioles non respiratoires, dont la dernière est appelée bronchiole terminale. Chez certaines espèces, les bronchioles terminales finissent par former des bronchioles respiratoires, qui à leur tour forment des canaux alvéolaires, tandis que chez d'autres espèces, les bronchioles terminales finissent par former directement des canaux alvéolaires (Tyler, 1983).

Il a été mis en évidence que les bronchioles terminales sont suivies de plusieurs générations de bronchioles respiratoires chez l'homme, le singe macaque, le chien et la gazelle (Peter et al., 1981; Tyler, 1983). Cependant, les poumons des bovins ont des bronchioles respiratoires courtes ou inexistantes, elles sont définies par la présence des alvéoles dans leurs parois (Mariassy et al., 1975).

Les bronchioles respiratoires sont peu développées également chez les hamsters, les lapins et les cobayes, qui peuvent avoir une seule dérivation courte ou aucune (Tyler, 1983).

Chez la souris, le rat et la gerbille, les bronchioles respiratoires sont absentes et les bronchioles terminales s'ouvrent directement dans les canaux alvéolaires. (Tyler, 1983).

Figure 35

II. Répartition des pores inter-alvéolaires

D'autres part, les observations effectuées par le MEB ont démontré des pores inter-alvéolaires chez les poumons de notre modèle animale. En effet, au niveau des alvéoles pulmonaires, ces petits trous sont appelés les pores de Kohn ou les pores alvéolaires, Ces pores ont été décrits pour la première fois par Adriani (1847) comme des structures pulmonaires normales. Ils étaient généralement considérés comme conduits de ventilation collatérale (Bastacky and Goerke, 1992), permettent la communication de deux alvéoles adjacentes et fournissent une voie collatérale pour l'aération (Rock et al., 1981).

La quantification des pores de Kohn chez différentes espèces montre de grandes variations selon la technique de fixation, l'âge des animaux et la localisation des alvéoles pulmonaires et lobulaires. La taille de ces ouvertures dépend aussi des espèces (Desplechain et al., 1983).

En effet, les pores inter-alvéolaires sont nombreux chez le coyote. Chez les bovins sont presque totalement absents, leur fréquence est d'environ une pour dix faces septales et lorsqu'elles sont présentes, elles apparaissent comme de petites ouvertures ellipsoïdales pénétrant les parois alvéolaires. Dans un seul des 12 poumons, il a été trouvé un nombre modéré de petits pores. (Mariassy et al., 1975)

Les effets du vieillissement sur le nombre de pores alvéolaires de Kohn ont été étudiés, **Loos (1937)** a noté que ces pores sont rares chez les animaux nouveau-nés mais fréquents chez les animaux plus âgés, suggérant que les pores résultent de l'usure des poumons ou sont, d'une autre manière, une conséquence du vieillissement. Des observations effectuées par le MEB sur les poumons du singe suggérant une augmentation significative avec l'âge (Shimur et al., 1984). Chez le chien et la souris, il est signalé qu'ils changent pas de manière significative avec l'âge, sauf pendant la première période de la vie (Shimur et al., 1984).

Figure 36

III. Signes d'adaptation à l'environnement

Notre modèle animale est un rongeur déserticole qui vit en milieu souterrain, ce qui pourrait probablement constituer un biomarqueur par sa réponse aux conditions de l'environnement, ces manifestations sont traduites par les réponses tissulaires et cellulaires.

Sur le plan anatomopathologique, nous avons réalisé une étude histologique des poumons de *Jaculus jaculus* qui a permis de montrer dans certaines régions du parenchyme pulmonaire, la présence de substance noirâtre, au niveau de la périphérie des vaisseaux sanguins, des bronchioles et à la périphérie des alvéoles. La mise en évidence de cellules appelées aussi les macrophages alvéolaires au niveau des alvéoles, qui semblent avoir phagocyté des poussières sombres.

De très nombreux travaux ont établi que la pollution exerçait des effets délétères particulièrement sur le système respiratoire, qui est la porte d'entrée, et pour la plupart des polluants, le principal site de dépôt et d'agression (**Chinet, 2007**).

En effet, les cellules sombres ressemblent celles retrouvées dans les petites voies respiratoires des poumons atteints de l'anthracose, causée par des dépôts de poussière de charbon dans les poumons (**Lara, 2020**). Il apparaît que les dépôts de poussière noirâtres retrouvés sont issues probablement de charbon qui produisent des macrophages chargés de particules de cette matière.

Certaines alvéoles semblent avoir des parois rompues et dilatées donnant un aspect de zones optiquement vides de tailles variables, ceci serait en faveur de la présence d'un emphysème pulmonaire. Ce dernier pourrait avoir diverses causes, les substances nocives inhalées (par ex. particules fines, poussières, gaz, vapeurs ou antigènes organiques) sont des causes connus de provoquer l'emphysème (**Frank, 2017**).

En effet, dans la région de l'oued des cas de maladies infectieuses entre autre la tuberculose sont enregistrés chaque année (**ABID, 2014**), de ce fait nous avons émet les hypothèses suivantes :

Hypothèse N°1 / Notre bactérie inconnue appartient à la famille des **Pseudomonas aeruginosa**

P. aeruginosa est une bactérie Gram négatif de 1 à 5 µm de longueur, bactérie aérobie stricte, a pour habitat naturel l'eau douce, le sol et les plantes. Elle est une cause majeure d'infections pulmonaires. Grâce à ses nombreux facteurs de virulence et à sa capacité d'adaptation, la bactérie est capable d'infecter un large spectre d'hôtes, allant des plantes aux mammifères en passant par certains insectes (**Biquand, 2017**).

1. Hypothèse N°2/ Notre bactérie inconnue appartient à la famille des **Legionella**

Est une bactérie bacille Gram négatif mesurant de 2 à 20 µm. Elle présente naturellement dans l'eau et le sol. Elle est résistante à la chaleur. La contamination se fait par voie respiratoire, transmise par inhalation d'aérosols et par aspiration d'eau contaminée. La légionellose ou maladie du légionnaire se caractérise par une grave infection des poumons due à l'inhalation de la bactérie *Legionella pneumophila* (**Washington, 1996**).

Hypothèse N°3 / Notre bactérie inconnue appartient à la famille des *Bacillus anthracis*

Bacillus anthracis est une bactérie Gram positif, sporulante, aérobie et anaérobie facultative de 6 à 8 micromètres de long sur 1,0 à 1,5 micromètre de large. Ses spores sont hautement résistantes. Leur destruction est très difficile car elles résistent à la sécheresse, à la chaleur et à de nombreuses substances désinfectantes. Si les spores sont inhalées, elles sont assez petites pour atteindre les poumons et causer le charbon pulmonaire. La maladie du charbon est une anthropozoonose. La contamination des animaux semble se faire surtout par l'alimentation ; elle aboutit à une septicémie rapidement mortelle : la rate hypertrophiée, le cœur et les gros vaisseaux contiennent un sang noirâtre fourmillant de bacilles (**Hervé, 2008**).

Hypothèse N°4 / Notre bactérie inconnue appartient à la famille des *Mycobacterium tuberculosis*

Est la bactérie responsable de la tuberculose. *M. tuberculosis* est un bacille aérobie strict, immobile, de 2 à 5 μm sur 0,3 à 0,5 μm . La transmission se fait essentiellement par voie aérienne (en respirant des aérosols contaminés (animaux "tousseurs"), ou des poussières infectées de l'environnement des animaux), occasionnellement par voie orale ou digestive. La bactérie provoque des lésions qui sont très riches en germes, ce qui permet une dissémination importante de l'agent infectieux par les voies respiratoires, lors des violentes quintes de toux qui accompagnent la maladie dans sa forme pulmonaire. La tuberculose pulmonaire résulte de l'inhalation de particules suffisamment petites pour atteindre les alvéoles. *M. tuberculosis* a la particularité d'être très résistant dans l'air et les poussières ce qui fait de la tuberculose une maladie très contagieuse (**Christian et al., 2007**).

Les résultats démontrent que ces bactéries peuvent provoquer des maladies infectieuses transmissibles à l'homme (**zoonoses**).

Figure 37



Conclusion



Notre étude microanatomique sur le parenchyme pulmonaire de *Jaculus jaculus* a permis de ressortir les observations suivantes :

L'analyse histologique a révélé que l'épithélium des bronchioles est de type prismatique pseudostratifié, les cellules possèdent de gros noyaux arrondis occupant une importante surface cytoplasmique. En outre, l'épithélium alvéolaire est de type pavimenteux simple, comporte deux types cellulaires, les plus nombreuses, pneumocytes 1 sont des cellules squameuses, et pneumocyte 2 cellules arrondies sont moins nombreuses. La structure de ces éléments pulmonaires est similaire avec celles de plusieurs mammifères rongeurs caractérisés par l'absence des bronchioles respiratoires. De plus, une caractéristique notable des alvéoles est la présence des pores inter-alvéolaires chez notre modèle.

Par ailleurs, *Jaculus jaculus* qui est un rongeur déserticole vit en milieu souterrain, pourrait constituer un biomarqueur de pollution environnementale, ainsi que la dilatation de certains parois alvéolaires qui pourraient être des signes de lésions pathologies pulmonaires résultent par l'adaptation de l'animal aux conditions souterraine ou aérienne. Ceci grâce à la substance noirâtre présente dans le parenchyme pulmonaire (zones péricapillaires, péri-alvéolaires et dans les macrophages), révélée par l'observation de microscopie optique.

Jaculus jaculus pourrait constituer un réservoir de bactéries pathogènes suite à la révélation par le MEB de bâtonnets où structures de 3 à 8 μm ressemblant à plusieurs classes de bactéries bacillaires responsable de maladie infectieuses dangereuses pour la santé.

En perspective, Il serait intéressant d'approfondir notre travail par :

- La Culture bactérienne dont le but de savoir le type de bactérie présente dans le poumon de notre modèle animale.
- Etude par le Microscope électronique de bifurcation des voies bronchiques.
- Etude par la spectrométrie de masse pour identifier les substances noirâtres.



Références Bibliographiques



[1].Biologie animale : fonctions de nutrition | Le site de la Fondation La main à la pâte. [Consulté le 31/07/2021]. Url : <https://www.fondation-lamap.org/fr/page/11565/respiration>

[2]. S. Hulo. Le condensat d'air exhalé : une nouvelle matrice pour évaluer l'exposition pulmonaire professionnelle. Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2014.p119

[3].D. Jean,. (2006). Mesurederésistances pulmonaires par interruption de débit : Intérêt, faisabilité et répétabilité chez le veau anesthésié. Thèse de doctorat. Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE. P 103

[4].B.Munteanu,.(2015). Actions de particules d'usure aéroportées sur les propriétés mécaniques et physicochimiques des "films" de surfactant pulmonaire : Conséquences sur la conception de particules tribo-bio-compatibles.Thèse de doctorat d'état enBiomécanique. L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. P 171

[5].La respiration. Organisation de l'appareil respiratoire.[Consulté le 31/07/2021]. URL: <http://www.lyceesaintececile.com/sites/resources/files/BiologiePhysiopathologie/diaporama%20respiration%20chapitre%201>.

[6].M.Hartenstein, F.Silva,.(2018). Modélisation de l'arbre bronchique. 14ème Congrès Français d'Acoustique, Le Havre, France. P 3-8

[7].S.Nataf. Enseignement d'Histologie Humaine. L'appareil respiratoire. Université de Lyon/Hospices Civils de Lyon

[8].O. Lacroix,.(2015). Appareil respiratoire - Bases histologiques et anatomopathologiques. CAUBIT Lucy D. P20

[9].A.Belarbi. Appareil respiratoire. Université d'Oran AHMED BENBELLA 1, Faculté de Médecine, Département de Médecine Service d'Histologie-Embryologie.Conférences des Résidents de la 2ème Année d'Histologie-Embryologie et Génétique Cliniques. (2019). P 25

[10].M.France,.(2007). Altération des protéines spécifiques du surfactant pulmonaire au cours de l'hypoxie et l'avitaminose : Rôle dans le développement de Pneumocystis carinii. Thèse de doctorat d'état en Biologie. Université de Toulouse III. P 205

[11].W.RAOUL,.(2005). Effets des facteurs angiogéniques et des cellules progénitrices dans la réparation de la barrière alvéolo-capillaire au cours des agressions pulmonaires aiguës. Thèse de Doctorat d'état en toxicologie. Université Paris XII – Val de Marne. P 194

[12].Lacroix,.(2013). Appareil respiratoire– Bases histologiques et anatomopathologiques. URL : <http://www.aem2.org/wp-content/uploads/2011/05/2-.Cours-du-25-Sept-Ap-Respi-Bases-histo-et-anapath-CORRIGE.pdf>

- [13]. R.Epaud. Pathologies génétiques du surfactant. Association française des pneumopathies interstitielles de l'enfant. URL : <https://docplayer.fr/14983965-Pathologies-genetiques-du-surfactant.html>
- [14]. M.Hamel-Auger,. (2017). Réponse des macrophages pulmonaires au surfactant pulmonaire oxydé. Mémoire de fin d'étude. Université Laval, Québec Canada. P 100
- [15].C. NAUDIN,. (2011). Régulation de l'activité de la protéine du surfactant SP-A par les cathepsines à cystéine pulmonaires : Conséquences sur les propriétés antibactériennes de SP-A. Thèse de doctorat d'état en Biochimie. UNIVERSITÉ FRANÇOIS – RABELAIS. P 242
- [16]. A.BOITELLE,. (1997).Mécanismes de recrutement et de régulation de l'activité des macrophages alvéolaires, dans un contexte de pathologie interstitielle pulmonaire. P 139
- [17]. B.MUNTEANU,. (2015).Actions de particules d'usure aéroportées sur les propriétés mécaniques et physicochimiques des «films» de surfactant pulmonaire. Conséquences sur la conception de particules tribo-bio-compatibles. Thèse de doctorat en d'état biomécanique.L'Institut National des Sciences Appliquées de Lyon. P 170
- [18].M. Weitten,. (2015) . Adaptations métaboliques et influence du régime alimentaire chez un hibernant food-storing. Biologie cellulaire. Université de Strasbourg.P 188
- [19].R.Talbi,. (2016). Régulation saisonnière et rôles des neuropeptides Kisspeptine et RFRP-3 dans l'homéostasie énergétique chez la gerboise (jaculus Orientalis). Thèse de doctorat en d'état neurosciences.Université de Strasbourg. P 225
- [20].J.Issartel,. (2007).Adaptation de la faune souterraine aux basses températures : mécanismes et enjeux écologiques. Thèse de doctorat en d'état Ecologie, Environnement. Université Claude Bernard - Lyon I. P 165
- [21]. La respiration. Les éléments de la respiration.[consulté le 28/07/2021].URL : <https://cm2dolomieu.fr/la-respiration/index.html>
- [22].Snyder, J. C et al,. (2009).Endogenous Lung stem cells and contribution to disease.Department of Pulmonary, Allergy and Critical Care Medicine, Duke University Medical Center, Durham.P 264
- [23].R. Porte,. (2015). Caractérisation des propriétés anti-infectieuses de la flagelline, agoniste du Toll-like receptor 5, Thèse de doctorat.Médecine humaine et pathologie. Université du Droit et de la Santé - Lille II. P 125
- [24]. Physiologie respiratoire. Les zones fonctionnelles. [consulté le 02/08/2021]. URL : <http://pneumocourlancy.fr/popup/physiologie-respiratoire.pdf>
- [25].Stades du développement pulmonaire. Structure du poumon adulte. [Consulté le 02/08/2021]. Url : <http://www.embryology.ch/francais/rrespiratory/phasen07.html>

[26].What does jerboa eat in the desert? Types of jerboas with a description and photo - nature 2021.[consulté le 02/08/2021]. Url : <https://eng.agromassidayu.com/chem-pitaetsya-tushkanchikov-pustine-vidi-tushkanchikov-s-opisaniem-i-foto-read-218100>

[27]. Airways Within Lungs Anatomy. [consulté le 2/8/2021]. url:
<https://www.anatomynote.com/human-anatomy/respiratory-system-anatomy/airways-within-lungs-anatomy/>



Annexes



Matériel non biologique

Appareillage	Matériel et Verreries	Réactifs
Balance de laboratoire	Les gants	PBS à 10%
Etuve	Cassettes	Formaldéhyde à 10%
Distributeur de paraffine	Moules métalliques	Alcool 50°, 75°, 90°, 100°
Plaque chauffante	Lames	Xylène
Bain marie	Lamelles	Toluène
Réfrigérateur	Papier absorbant	Paraffine
Microscope photonique	Papier filtre	Hématoxyline de Carazzi
Microtome	Parafilm	Hématoxyline de Groat
La loupe binoculaire	Trousse de dissection	Eosine
Microscope électronique à balayage	Boîtes de pétri	Eau distillée
	Support spécifique au MEB	Eau courante
	Scotch carbone	Eau acétifié
	Verre de montre	Eau ammoniacquée
		Eau acidulée
		Acide phosphomolybdique
		Fuschine Ponceau
		Vert lumière
		Bleu de méthylène
		Eukitt

Fiche Technique N° 1 : Fixation

1/ Préparation de tampon phosphate TP / 0.1 M pH 7.4

- ♪ NaH₂PO₄1.64 g
- ♪ NaH₂PO₂·2H₂O14 g
- ♪ H₂Ola quantité qui permet d'obtenir 100 ml

2/ Fixateur formaldéhyde à 10%

- ♪ Formaldéhyde pure10 ml
- ♪ TP100 ml

Fiche Technique N° 2 : Déshydratation et éclaircissement



1/ Préparation du tampon PBS (Phosphate buffered saline) à 10 % :

Combinez les éléments suivants:

80 g NaCl

2 g de KCl

14,4 g Na₂HPO₄ (dibasique anhydre) OU 18,1 g Na₂HPO₄ · 2H₂O (dibasique dihydraté) OU

27,2 g Na₂HPO₄ · 7H₂O (dibasique heptahydraté)

2,4 g KH₂PO₄ (monobasique anhydre)

800 ml d'eau distillée

Ajuster le pH à 7,4 avec HCl

Ajouter H₂O à 1L

Autoclave pendant 20 minutes sur cycle liquide

Note : pour préparer 200 ml de PBS dilué , ajouter 180 ml d'eau distillée au 20 ml de PBS

Table pour la dilution de l'alcool (Table de Gay-Lussac) appelée aussi Table de mouillage de l'alcool

		Concentration initiale													
		100	99	98	97	96	95	90	85	80	75	70	65	60	50
Concentration finale	95	6,5	5,15	3,83	2,53	1,25									
	90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41								
	85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	6,56							
	80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	13,79	6,83						
	75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	21,09	14,48	7,2					
	70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	31,05	23,14	15,35	7,64				
	65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	41,53	33,03	24,66	16,37	8,15			
	60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	53,65	44,48	35,44	26,47	17,58	8,76		
	55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	67,87	57,9	48,07	38,32	28,63	19,02	9,47	
	50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	84,71	73,90	63,04	52,43	41,73	31,25	20,47	
	45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	105,34	93,30	81,38	69,54	57,78	46,09	34,46	11,41
	40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	130,8	117,34	104,01	90,76	77,58	64,48	51,43	25,55
	35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	163,28	148,01	132,88	117,82	102,84	87,93	73,08	43,59
	30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	206,22	188,37	171,05	153,61	136,04	118,94	101,71	67,45
	25	308,9	304,32	300,18	295,86	291,56	287,28	266,12	245,15	224,3	203,61	182,83	162,21	141,65	100,73
	20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	355,8	329,84	304,01	278,26	252,58	226,98	201,43	150,55
15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	505,27	471	436,85	402,81	368,83	334,91	301,07	233,64	
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,15	804,5	753,65	702,09	652,21	601,6	551,06	500,50	399,85	

Les chiffres en noir indiquent la quantité d'em en ml. à ajouter à 100ml. d'alcool de concentration initiale x (en bleu) pour obtenir la concentration désirée.

Tableau qui montre la technique de dilution de l'alcool

2/ Principe

- ♪ **1^{er} Bain** : Tampon PBS 1 Heure
- ♪ **2^{em} Bain** : Alcool à 50 °1 Heure
- ♪ **3^{em} Bain** : Alcool à 75 °1 Heure
- ♪ **4^{em} Bain** : Alcool à 90 °1 Heure
- ♪ **5^{em} Bain** : Alcool à 100°1 Heure
- ♪ **6^{em} Bain** : Alcool à 100°1 Heure
- ♪ **7^{em} Bain** : Alcool à 100°1 Heure
- ♪ **8^{em} Bain** : xylène.....1 Heure
- ♪ **9^{em} Bain** : xylène1 Heure

Fiche Technique N° 3 : Imprégnation

- ♪ 1^{er} Bain de paraffine 1 Heure
- ♪ 2^{em} Bain de paraffine1 Heure à 24 h

Fiche Technique N° 4: Préparation des lames gélatinées

1/ composition

- ♪ Gélatine..... 1.25g
- ♪ Alun de chrome.....0.125g
- ♪ Eau distillée.....250 ml
- ♪ Alcool 95°200 ml
- ♪ Hcl.....1 ml

2/ préparation

- Plonger les lames dans un bain composé d'alcool à 95° et d'Hcl 1N pendant 24 h.
- Laver les lames par un détergent liquide.
- Rincer sous l'eau courante pendant 1h.
- Rincer à l'eau distillée.
- Chauffer le mélange (eau distillée + alun de chrome + gélatine) à 45° puis filtrer ce dernier et le laisser refroidir.
- Plonger les lames dans la solution préparée.
- Sécher les lames dans l'étuve à 60°C ou à l'air libre durant une nuit.

Fiche Technique N° 5: Coloration Hemalun Eosine (HE)

1/ Déparaffinage

- ♪ 1^{er} Bain : Toluène 10 min
- ♪ 2em Bain : Toluène.....10 min

2/ Réhydratation

- ♪ 1^{er} Bain : Alcool à 100°7 min
- ♪ 2em Bain : Alcool à 90°3 min
- ♪ 3em Bain : Alcool à 70 °3 min

3/ Réactifs

○ **Hématoxyline de Carazzi :**

- ♪ Hématoxyline..... 5g
- ♪ Glycérol.....100 ml
- ♪ Alun de potassium.....25g
- ♪ Potassium Iodate.....0.1g
- ♪ Eau distillée.....400 ml

Préparation :

- Mixer l'hématoxyline et le glycérol (1).
- Ajouter l'alun de potassium à une quantité d'eau distillée (2).
- Mélanger doucement la solution de l'alun avec la solution de l'hématoxyline (3).
- Ajouter le potassium iodate à la quantité restant d'eau distillée puis le mélanger avec la solution (3).

○ **L'eau Acidulée :**

♪ HCL 3 gouttes

♪ L'eau distillée.....100 ml

○ **L'eau Ammoniaquée :**

♪ NH₃ quelques gouttes

♪ L'eau distillée100 ml

○ **Eosine**

♪ Eau distillée750 ml

♪ Alcool à 95°250 ml

♪ Eosine (poudre)6 g

♪ Acide Acétique7 gouttes

4/ Déshydratation

♪ 1^{er} Bain : Alcool à 70 °.....3 min

♪ 2^{em} Bain : Alcool à 90°3 min

♪ 3^{em} Bain : Alcool à 100°.....5 min

5/ Mode opératoire

- Déparaffinage
- Réhydrater
- Laver à l'eau courante (5 min)
- Colorer par l'Héματοxyline (20sec)
- Laver à l'eau courante (5 min)
- Laver par l'eau acidulée (2 min)
- Laver à l'eau courante (5 min)
- Eau ammoniaquée (1 min)
- Colorer par l'Eosine (1min)
- Laver à l'eau courante (5 min)
- Déshydrater

- Passage dans deux bains de xylène pour le Montage : 1^{er} Bain (3 min) et 2em Bain (5 min)
- Monter l'Eukitt entre lame et lamelle

6/ Résultat

La coloration HE est une coloration de routine où l'hématoxyline colore les noyaux en bleu et l'Eosine colore le cytoplasme en rose. L'eau acidulée permet la différenciation rapide et l'eau ammoniacuée bleuie les noyaux.

Fiche Technique N° 6: Coloration Trichrome de Masson

1/ Déparaffinage

- ♪ 1^{er} Bain : Toluène 7 min
- ♪ 2em Bain : Toluène..... 7 min

2/ Réhydratation

- ♪ 1^{er} Bain : Alcool à 100°5 min
- ♪ 2em Bain : Alcool à 90°5 min
- ♪ 3em Bain : Alcool à 70 °5 min

3/ Réactifs

○ **Hématoxyline de Groat :**

- ♪ Acide sulfurique à 10 % 5 ml
 - ♪ Alun de chrome.....1 g
 - ♪ Eau distillée..... 250 ml
 - ♪ Hématoxyline..... 15 g
 - ♪ CaCo3..... 0.55 ml
- Mixer le mélange et laisser reposer une heure puis filtrer.

Le mélange donne une coloration Violet

○ **Fuschine –Ponceau :**

Pour le fuschine :

- ♪ Fuschine acide.....100 ml
- ♪ Acide acétique.....0.5 ml

Pour le ponceau :

- ♪ Ponceau.....1 g
- ♪ Eau distillée.....100ml
- ♪ Acide acétique0.5 ml

- Préparer les deux solutions (fuschine et ponceau).
- Mélanger un volume de la solution de fuschine avec deux volumes de la solution de ponceau.

Le mélange donne une coloration rouge

○ **Acide Phosphomolybdique**

- ♪ Acide Phosphomolybdique.....3g
- ♪ Orange G2g
- ♪ Eau distillée100 ml

Le mélange donne une coloration orange

○ **Vert lumière**

- ♪ Vert lumière.....1 g
- ♪ Eau distillé100 ml
- ♪ Acide acétique1 ml

Le mélange donne une coloration verte

○ **Bleu de méthylène :**

- ♪ Bleu de méthylène.....3g
- ♪ Eau distillée.....100ml
- ♪ Acide acétique.....1 ml

Le mélange donne une coloration bleue

- Eau acétifiée
- ♪ Acide acétique.....100 ml
- ♪ Eau distillée.....900 ml

4/ Déshydratation

- ♪ 1^{er} Bain : Alcool à 70 °.....Passage
- ♪ 2^{em} Bain : Alcool à 90° Passage
- ♪ 3^{em} Bain : Alcool à 100°..... Passage

5/ Mode opératoire

- Déparaffinage
- Réhydrater
- Colorer par l'Héματοxyline (3 min)
- Laver par l'eau distillée
- Colorer par le Fuschine Ponceau (5 min)
- Rincer par l'eau acétifiée
- Colorer par l'acide phosphomolybdique (5min)
- Rincer par l'eau acétifiée
- Colorer par le Vert lumière ou Bleu de méthylène (15 sec)
- Rincer par l'eau acétifiée
- Déshydrater
- Passage dans deux bains de xylène pour le Montage
- Monter l'Eukitt entre lame et lamelle

6/ Résultat

C'est une coloration trichromique, colore en bleu sombre des noyaux par l'héματοxyline et en rouge-rosé des cytoplasmes par le ponceau-fuschine, Colore en bleu / vert des fibres conjonctives par le bleu d'aniline / le vert lumière respectivement.



Figure 38: Trousse de dissection, Original 2021

Figure 39 : Les gants

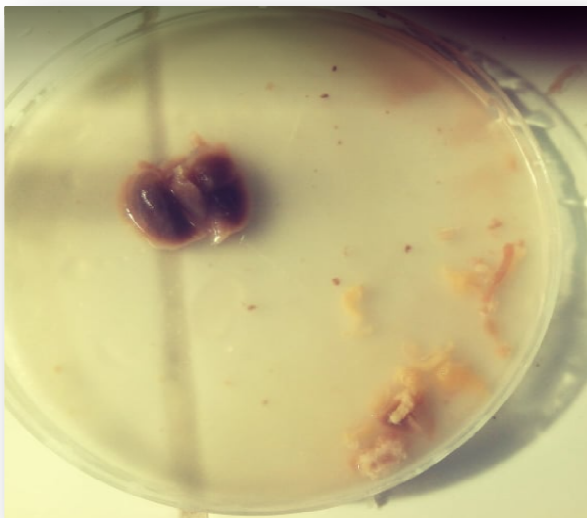


Figure 40: Poumon de *Jaculus Jaculus* après la fixation, original 2021



Figure 41: Boîtes de pétri



Figure 42 : Moules métalliques



Figure 43: Les cassettes à inclusion,
Original 2021



Figure 44: Balance de laboratoire, original 2021



Figure 45: Etuve, original 2021



Figure 46 : Distributeur de paraffine, original 2021



Figure 47:Fiole de banquise, original 2021



Figure 48:Les blocs de paraffine, original 2021

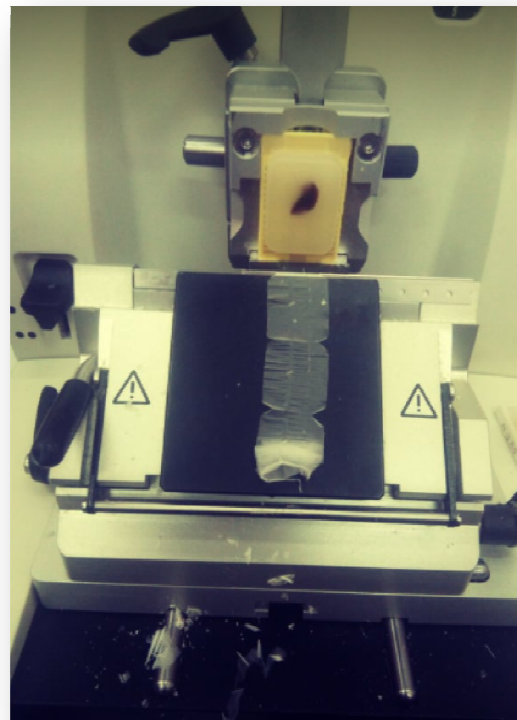


Figure 49 : Microtome, original 2021



Figure 50 :Bain marie, original 2021



Figure 51 :Ruban de paraffine, original 2021

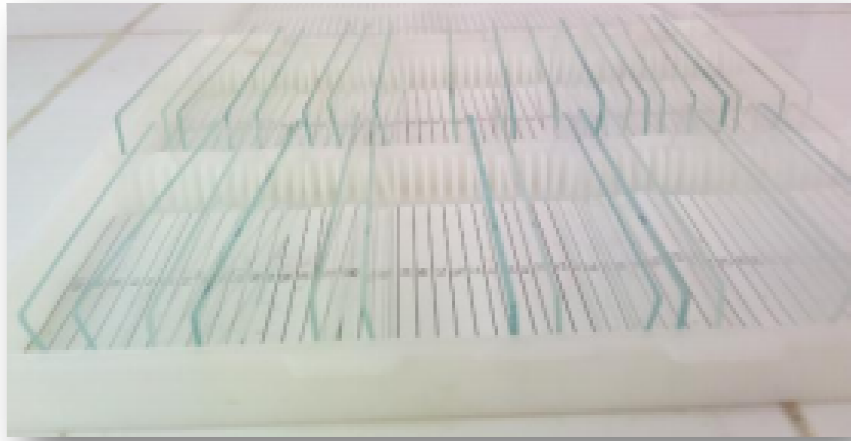


Figure 52: Lames gélatinées, original 2021

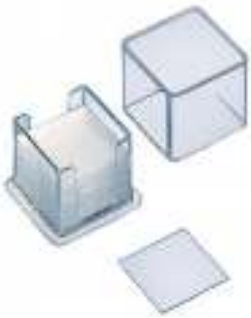


Figure 53: Lamelles

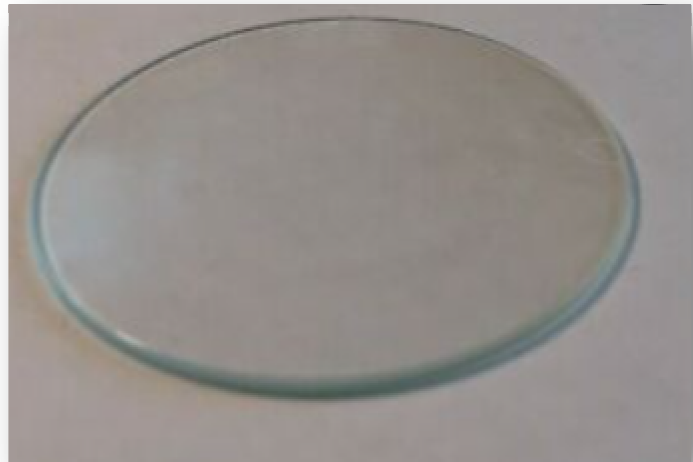


Figure 54: Verre de montre



Figure 55 :Papier absorbant



Figure 56 : Papier filtre



Figure 57 : Parafilm

Figure 58 :Plaque chauffante,
original 2021



Figure 59 :La loupe
binoculaire, original 2021



Figure 60 :Microscope photonique, original 2021



Figure 61 :Tampon PBS à 10% , original 2021



Figure 62 :Paraffine solide



Figure 63: Poumon séché de J .
Jaculus pour la technique de MEB,
original 2021



Figure 64:Ruban conducteur carbone Double face



Figure 65:Scotch carbone (en noir) pour la fixation des objets



Figure 66: Support spécifique au MEB (plot métallique)

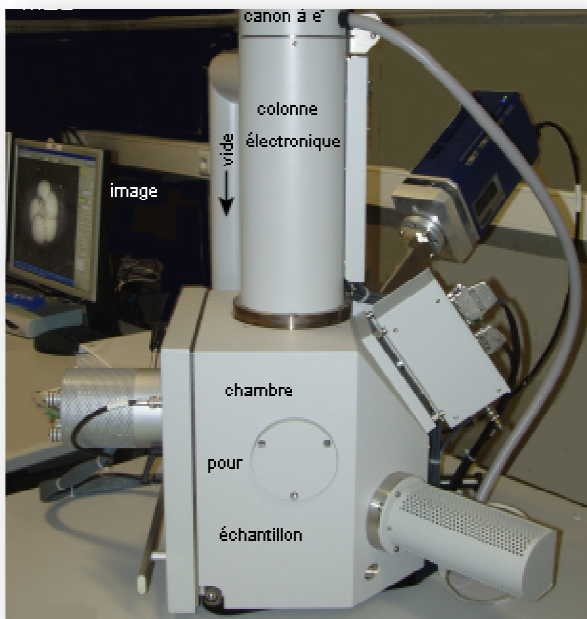


Figure 67 :Microscope électronique à Balayage

*Each Time We Conquer a Step There Will Always Be
Another Challenge Waiting. It's a
Long RoadIt Never Ends*

