

Physiologie animale : les grandes fonctions

Compte rendu de TP : Mesure de la masse sanguine chez le Rat.

But : Dans ce TP, notre but sera de mesurer le volume de sang (déduit du volume plasmatique et de l'hématocrite) circulant chez le rat pour en déduire la masse sanguine par rapport à la masse corporelle.

I. Introduction : le compartiment sanguin

A. Composition

Le sang est un tissu conjonctif : il se compose d'éléments solides, appelés **éléments figurés**, qui sont dispersés dans un fluide, **le plasma**. Il est relativement visqueux (5 fois la viscosité de l'eau) et possède une densité de 1,05.

1. Le plasma

C'est de l'eau à 90%. La composition en **substances minérales** est la même que celle des milieux extracellulaires : on y trouve principalement du sodium (Na) et du chlore (Cl) (d'où l'utilisation de sérum physiologique (à 0,9% NaCl), qui préserve l'osmolarité du milieu sanguin) mais il y a également du fer, du cuivre, du zinc et des iodures. On y trouve des **substances organiques** telles que les protéines plasmatiques (albumine et globulines). Des **substances azotées** comme l'urée (produit de dégradation des protéines), des acides aminés, de l'acide urique (produit de dégradation des nucléotides), de la bilirubine (produit de dégradation de l'hémoglobine) ou encore de l'ammoniaque, sont présentes. Il se compose également de **glucose** (glycémie = 1g/L) et de **lipides variés** (triglycérides, phospholipides, cholestérol...).

2. Système tampon

Le **pH** de l'organisme oscille autour de **7,4**. Pour maintenir cet équilibre le sang possède différentes façon de rétablir l'équilibre acido-basique en cas de variations.

3. Les éléments figurés

On peut les regrouper en différentes famille de cellules : les **érythrocytes**, les **leucocytes** (polynucléaires, monocytes, lymphocytes) et les **thrombocytes**. Ils ont tous pour origine les cellules souches de la moelle osseuse. Ce sont les leucocytes qui sont impliqués dans les défenses immunitaires de l'organisme. La proportion des différents type de globules blancs (leucocytes) défini la formule sanguine : chez le rat, on parle de formule sanguine inversée, c'est à dire qu'il y a plus de lymphocytes que de polynucléaires. Les érythrocytes sont chargés du transport de l'oxygène dans tout l'organisme ; pour ce faire ils contiennent une protéine, l'hémoglobine, contenant un atome de fer qui donne sa couleur rouge au sang, qui fixe l'oxygène afin de la transporter. Les thrombocytes (plaquettes) sont chargés de débiter le phénomène de coagulation.

B. Rôle du sang et système vasculaire

Le sang est propulsé par le cœur à travers le système vasculaire. C'est un système de liquide en vase clos sans citerne. Cependant le système veineux joue indirectement ce rôle ; en effet celui-ci renferme 60 à 70% du volume sanguin. On retrouve 10 % de sang dans les artères, environ 5% dans les capillaires, 10% dans les poumons et moins de 10% dans le cœur. Le sang est maintenu sous pression dans ce système, ce qui permet son déplacement dans les vaisseaux. Ce système permet au sang d'accomplir son rôle qui est **d'apporter les nutriments et l'oxygène** à tous les tissus de l'organisme, et d'en **évacuer les déchets** (du métabolisme par exemple).

II. Principe des manipulations

On utilisera des techniques opératoires : le cathétérisme de la veine jugulaire et de l'artère carotide.

Après la pose des cathéters, on injecte une solution d'héparine à 1% (anticoagulant) par la jugulaire pour, d'une part éviter la formation de caillots, et d'autre part pour l'analyse du sang : en effet il est nécessaire que le sang ne coagule pas pour réaliser les mesures.

Sang hépariné : Si le sang n'est pas hépariné, il coagule : ce qui fait apparaître 2 phases, l'une étant le sérum et l'autre étant le « coagulum ». Lors de la coagulation, une protéine plasmatique est mise en jeu, le fibrinogène qui, une fois convertie en fibrine par la thrombine (une autre protéine), forme une maille qui emprisonne les éléments figurés (érythrocytes, thrombocyte et leucocytes). Le sérum est donc le plasma sans le fibrinogène. L'héparine bloque ce phénomène en empêchant la formation de thrombine. On peut séparer le plasma des éléments figurés d'un sang hépariné en le centrifugeant.

A. Cathétérisme de la jugulaire

Le Cathéter posé au niveau de la jugulaire nous permettra d'injecter un colorant, le Bleu Evans, qui va diffuser et être dilué dans le volume sanguin. On injecte une **quantité déterminée Q d'une solution du colorant à 2g/L**. L'injection dans la jugulaire permet un passage rapide par le cœur et donc une diffusion rapide dans tout le système vasculaire.

Avantages de l'utilisation du Bleu d'Evans : c'est un composé non toxique. Il demeure dans le sang du fait de sa liaison aux protéines plasmatiques (au moins le temps de notre expérience) : il sera alors mesurable dans le plasma après centrifugation. Il n'est pas métabolisé (pas durant l'expérience). Il est mesurable facilement en utilisant un spectrophotocolorimètre (à 580 nm)

B. Cathétérisme de la carotide

On pourra ensuite récupérer du sang, par le cathéter de la carotide (Le prélèvement se fait à partir de l'artère Carotide car on a un débit sanguin plus important, celle-ci arrivant directement de la crosse aortique, située à la sortie du ventricule gauche, qui propulse le sang oxygéné dans tout l'organisme), afin de déterminer la **concentration C en Bleu Evans** et alors déterminer la **dilution effective** et en déduire le **volume plasmatique Vp**. En fait, on centrifuge le sang : on aura 2 phases, le surnageant étant le plasma qui contient le colorant. On détermine alors la **concentration C** en bleu d'Evans dans le plasma grâce à une **gamme étalon** réalisée au préalable. On doit aussi réaliser un **Hématocrite Ht** (mesure du pourcentage des érythrocytes = **volume globulaire Vg**) pour pouvoir ensuite déterminer le **volume sanguin Vs**.

$$V_p = Q / C$$

$$V_p \text{ (en \%)} = 100\% - V \text{ globulaire(en\%)} : V_s = V_p \times (100/(100-Ht))$$

III. Expérience et résultats

On a injecté un volume de Bleu d'Evans, à 2 g/l, en fonction du poids de l'animal : **0,5 ml / kg**

Notre Rat pesait **340 grammes** : $0,5 \times 0,340 = 0,17 \text{ ml}$; on injecte alors 170 μl du colorant au niveau de la veine jugulaire, ce qui représente 340 μg .

On récupère, au bout de **5 minutes** après la fin de l'injection, du sang par le Cathéter de la carotide et, après centrifugation, on récupère le surnageant pour lire l'absorbance à 580 nm.

A. Problème : lecture directe impossible

On est en présence d'une solution trop concentrée pour une lecture fiable du spectrophotomètre : en effet la mesure d'absorbance doit être comprise entre 0,05 et 1,2. Or la concentration est telle que la mesure d'absorbance est plus grande que 1,2. On réalise alors une dilution de la solution pour que sa concentration soit telle que la valeur d'absorbance soit comprise entre 0,05 et 1,2. **On dilue la solution au 1/6^{ème} : on trouve une valeur d'absorbance A égale à 0,612.**

B. Courbe d'étalonnage

Pour faire une courbe étalon, on réalise des dilutions à partir de la solution de départ pour obtenir des valeurs d'absorbances comprises dans l'intervalle fiable (entre 0,05 et 1,2). La solution de départ est à **2g/L**.

Dilution par rapport à la solution mère	Concentration (en g/L)	Absorption
1/160	1,25E-02	1,176
1/320	6,25E-03	0,622
1/640	3,13E-03	0,330
1/960	2,08E-03	0,221
1/1280	1,56E-03	0,193
1/1720	1,16E-03	0,130
1/2560	7,81E-04	0,095

On peut alors positionner les points sur le graphique ci-dessous.

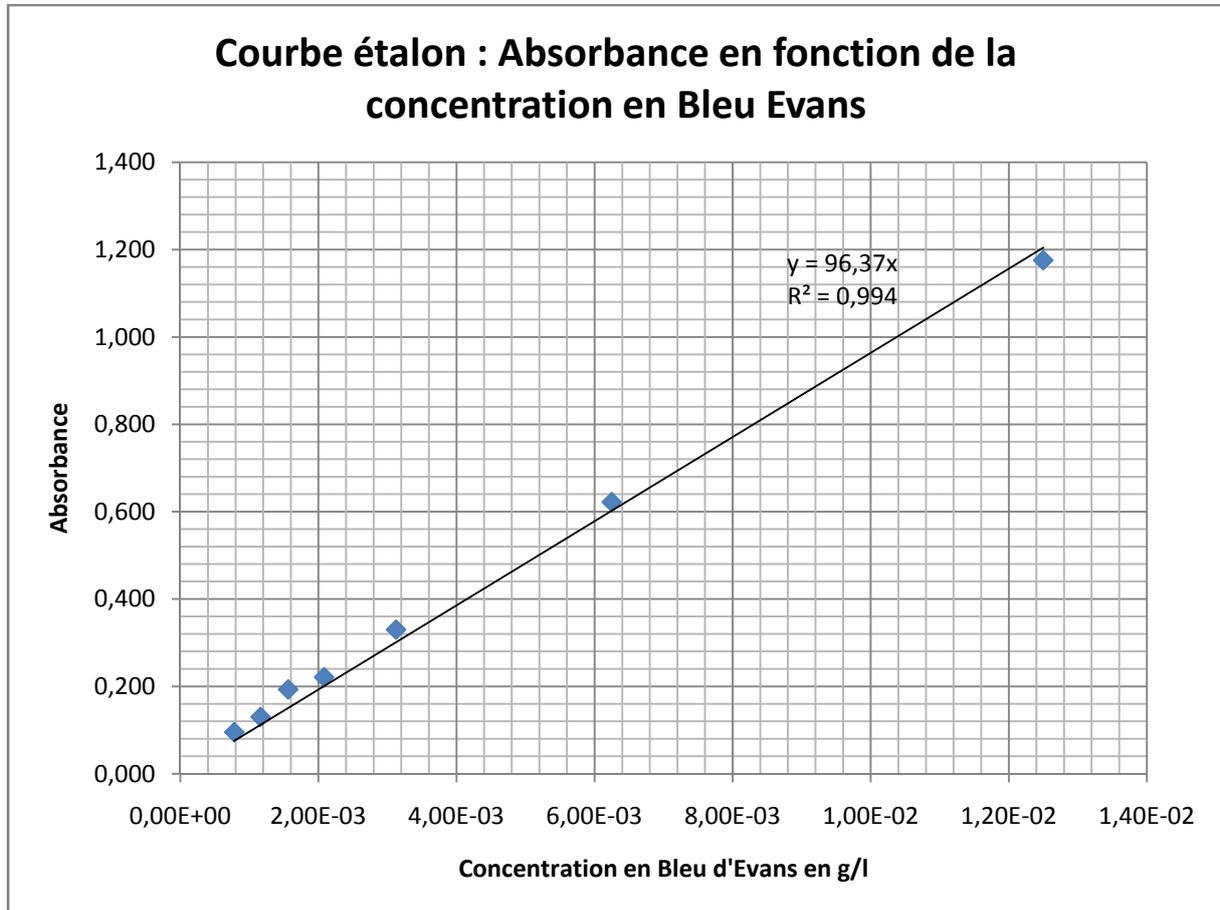
On trace une droite de régression linéaire : on constate qu'elle passe par 0 et que le coefficient de détermination R^2 est très proche de 1. La droite est donc relativement fidèle aux points expérimentaux.

On utilise ensuite l'équation de la droite, $y = 96,37x$, pour déterminer la concentration en Bleu Evans. (y correspond à l'absorbance et x à la concentration)

$$\text{Concentration plasmatique} = C_p = (A / 96,37) \times 6 \text{ (dilution au 6ème)} = \underline{\underline{3,81 \cdot 10^{-2} \text{ g.L}^{-1}}}$$

On doit calculer le volume total de notre produit, comme vu précédemment : $V_p = Q/C$. On doit déterminer Q. Notre solution est à 0,2 %, on a donc $Q = 170 \times 0,2 = 0,34 \mu\text{g}$ de produit injecté.

$$V_p = 0,34 (\mu\text{g}) / 3,81 \cdot 10^{-2} (\mu\text{g/ml}) = 8,92 \text{ ml}$$



L'hématocrite nous a permis de mesurer la proportion en éléments figurés : Il y en a environ 47% dans le sang. On en déduit alors le volume sanguin total.

C. Volume et masse sanguine

$$V_s = V_p \times (100 / (100 - Ht))$$

Ici, $V_p = 8,92 \text{ mL}$
 $Ht = 47\%$

Donc $V_s = 8,92 \times (100 / (100 - 47)) = 16,21 \text{ mL}$

On en déduit la masse sanguine : en supposant une masse spécifique du sang à 1g/mL, on obtient une masse sanguine de **16,21 g**.

On peut en déduire en pourcentage, le rapport masse sanguine/ masse corporelle :
 $(16,21 / 340) \times 100 = 4,8 \%$

On remarque que ce rapport est assez bas. Ceci est dû à quelques problèmes rencontrés lors des manipulations.

IV. Interprétation des résultats et analyse des erreurs cumulées

Comme nous l'avons signalé précédemment, nous avons rencontré un certain nombre de mésaventures pendant nos manipulations.

En effet, nous avons provoqué des pertes de sang, au cours de la pose des cathéters. En dégageant les couches de muscles pour accéder à la carotide, nous avons provoqué une hémorragie, possiblement due à la lésion de la jugulaire.

De plus, Une carotide a été sectionnée, à cause d'une erreur lors de l'introduction du cathéter, provoquant de ce fait une forte hémorragie, limitée tant bien que mal par la pose d'une pince clamp.

Une dernière hémorragie, d'origine plus profonde et inconnue, est survenue lors de la 2^{ème} tentative de pose de cathéter carotidien (qui fut au final un succès).

Toutes ces maladresses ont fait perdre à notre rat une forte quantité de sang, le volume sanguin mesuré par l'expérience est donc faussé, nos résultats étant inférieurs à ceux attendus. On aurait théoriquement du trouver un volume de sang d'environ 30 mL. Il aurait fallu évaluer la quantité de sang perdu lors des hémorragies pour s'approcher de la valeur réelle.

Nos résultats nous conduisent à un volume sanguin restreint (16,21 mL), on suppose donc que l'on a perdu entre 10 mL et 20 mL de sang, au cours de notre expérience.

Des erreurs peuvent également survenir lors de l'injection du colorant. En effet, on injecte un volume très faible, ce qui augmente le pourcentage d'erreurs possible, en relation avec la précision du matériel utilisé. Cependant, en manipulant avec précision, on peut rendre ce quasiment nul.

On peut également imputer des erreurs à l'établissement de la gamme étalon, les dilutions ayant été faites en cascade, si la première était faussée (erreur de pipetage par exemple), toutes les autres l'étaient aussi. Le matériel utilisé (micropipette) étant précis, il permet, à conditions de manipuler correctement, d'être confiant par rapport à la précision des dilutions effectuées. On constate une bonne qualité de la gamme étalon, le coefficient de détermination R^2 (mise en évidence du taux d'erreur) étant quasiment égal à 1 (voir courbe étalon).

V. Conclusion

Ce TP nous a permis de déterminer le volume sanguin restant après les hémorragies. On a donc pu déterminer la masse sanguine correspondante, malheureusement, on ne peut pas déterminer la masse réelle, à cause des différents problèmes rencontrés.

Pour conclure sur la méthode employée, on peut dire qu'elle peut s'avérer très intéressante et précise, dans le cas d'une manipulation parfaite (sans hémorragies). On ne pourrait pas obtenir de si bons résultats en « saignant » l'animal, car une partie du sang resterait dans les vaisseaux sanguins. En effet, le produit diffusant dans tout le système vasculaire, on peut en déduire avec précision le volume total de sang, grâce à la dilution effective. Le temps de diffusion étant assez court, on **limite également l'élimination rénale**, qui pourrait **fausser les résultats dans le cas d'une diffusion plus longue**.

Certains aspects sont peu clairs. Tout graphique (courbes) doit porter des titres pour l'abscisse et l'ordonnée.

Etude de la Diurèse osmotique

VI. Introduction

L'objectif de ce TP est d'étudier les effets de l'adjonction de liquide physiologique (NaCl 0.9%) d'une part, et une solution de mannitol (10%) d'autre part, dans le liquide plasmatique via la veine jugulaire, sur la diurèse.

Ces effets seront comparés à la diurèse du rat dans les conditions basales à travers la première expérience qui nous servira de témoin.

L'injection doit être pratiquée dans une veine où la solution inoculée se mélangera rapidement avec le sang circulant.

De plus, il existe un lien fonctionnel entre la circulation sanguine et le rein.

Au niveau du glomérule, un très grand volume de liquide est filtré à partir du sang (taux de filtration glomérulaire = TGF) dans le tubule (urine primitive) et contient, outre l'eau, les petites molécules du plasma. Par la suite, au niveau du tubule et du tube collecteur, les constituants de l'urine primitive retournent dans le sang à travers la paroi du tubule (réabsorption), et ce, dans des proportions différentes selon la substance (par exemple urée << glucose) et en quantité variable pour la même substance selon les besoins (régulation). Le reste du filtrat est éliminé avec l'urine (excrétion).

L'influence du taux d'hormone antidiurétique (ADH) ou vasopressine dans le plasma ne sera pas abordée au cours de ce T.P. Il faut tout de même préciser que cette hormone a un rôle de régulation très important dans la diurèse en agissant sur la perméabilité du tube collecteur. Cependant, les effets intervenant après un temps assez long, nous ne les avons pas vus au cours de ce T.P..

VII. Expériences et interprétations

A. Conditions basales

Après avoir ligaturé les voies naturelles afin d'éviter les pertes d'urine par le canal excréteur (l'uretère), on recueille l'urine dans une pipette de 2 mL grâce à un cathéter introduit dans la vessie et relié à cette pipette.

On mesure ainsi le volume d'excrétion d'urine en fonction du temps.

Les interprétations des expériences suivantes seront établies à partir des résultats obtenus dans ces conditions basales (expérience témoin).

1. Observations

On constate que l'urine monte lentement dans la pipette avec un débit relativement faible qui est d'environ 0.002 mL par minute en moyenne. Ceci correspond aux conditions basales du fonctionnement du rein.

2. Interprétation

L'urine est élaborée en deux temps : le plasma sanguin est tout d'abord filtré au niveau du glomérule, ceci aboutit à la formation d'un gros volume que l'on appelle urine primaire, et dont la composition est très différente de l'urine définitive.

Lors d'une seconde étape, l'urine primitive est récupérée par le tubule qui fait suite au glomérule et en réduit considérablement le volume, tout en modifiant la composition chimique. Le tubule rénal réalise un énorme effort de concentration via différents segments cellulaires, du tube contourné proximal au tube collecteur.

Au final, près de 99% de l'eau ainsi que des électrolytes contenus dans l'urine sont réabsorbés : cela aboutit à l'excrétion de l'urine définitive.

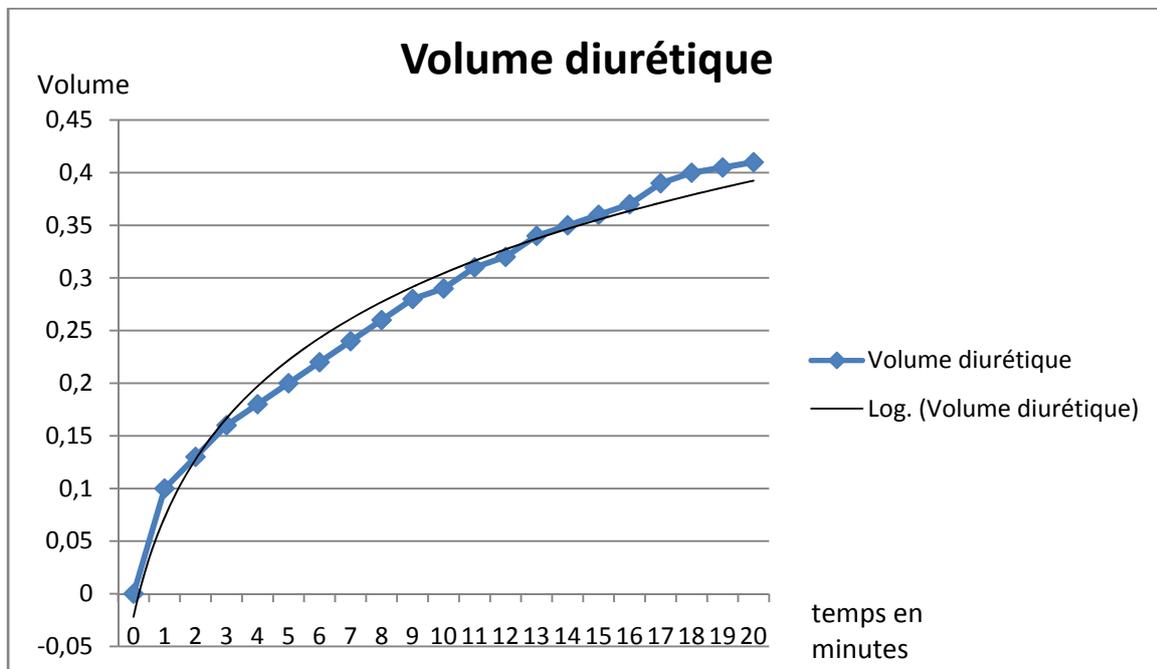
Tout ceci pour expliquer l'efficacité du rein dans les conditions basales qui produit un volume très faible d'urine ; justifiant l'injection d'un liquide physiologique qui a pour effet d'augmenter la diurèse.

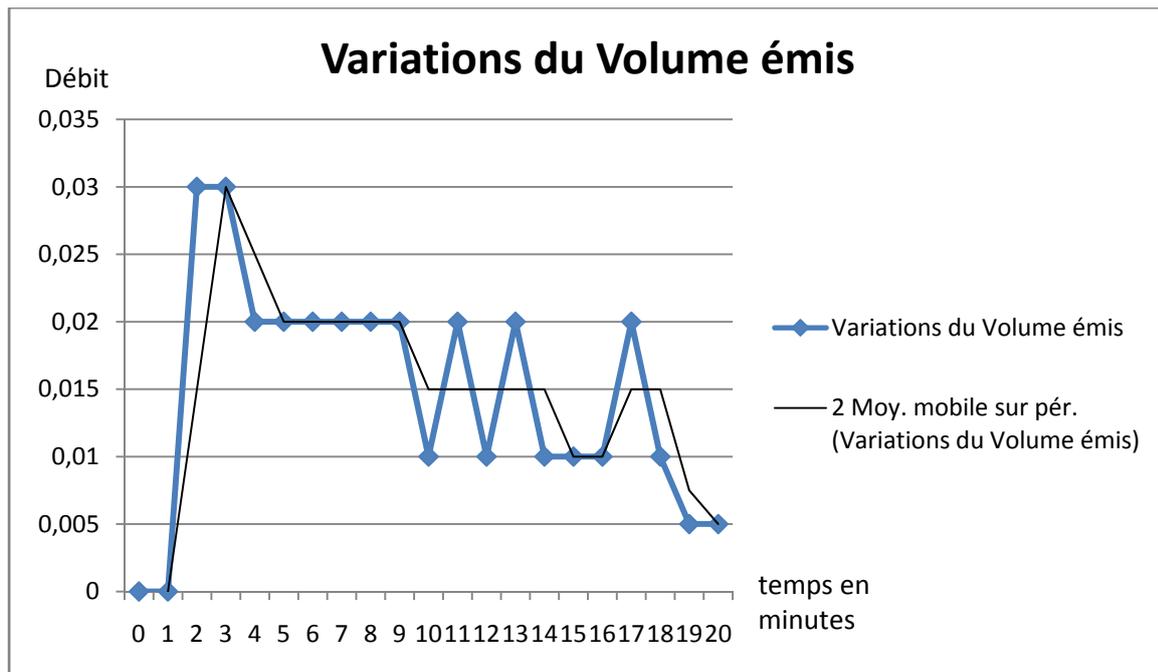
B. Injection du liquide physiologique

On injecte une solution de liquide physiologique contenant du chlorure de sodium à 0.9% dans la veine jugulaire et on recueille à nouveau l'urine dans une pipette de la même manière que précédemment.

1. Observations

En comparaison avec les résultats obtenus dans les conditions basales, on constate après injection d'un sérum physiologique, une augmentation de la production d'urine avec un débit plus élevé qui est d'environ 0.015mL par minute.





Interprétation :

L'adjonction de 3 mL de ce liquide physiologique qui est un liquide *iso-osmotique*, au plasma (partie liquide du sang dans lequel baignent les cellules sanguines) va avoir pour conséquence une *augmentation de la volémie* (volume plasmatique) qui va se traduire par un effet quasi immédiat : augmentation de la diurèse. On passe d'un débit de 0.002 mL par minute dans les conditions basales à un débit de 0.015 mL par minute en moyenne après injection du liquide physiologique. En effet, l'augmentation de la volémie entraîne le passage de l'eau du secteur plasmatique vers le secteur intracellulaire (tube collecteur). L'état final se caractérise par un nouvel équilibre réalisé par ce transfert d'eau entre les deux compartiments : l'excès d'eau est facilement éliminé sous forme d'urine diluée par le rein.

Expliquez que la filtration glomérulaire est augmentée, dû à l'augmentation de la pression artérielle

A noter que l'augmentation du volume plasmatique, c'est-à-dire la volémie, est détectée par des volorécepteurs aboutissant à une élévation de la diurèse. On parle alors de *diurèse volumique*.

Toutefois, si le système rénal est défaillant, on peut observer une véritable « intoxication » par l'eau avec des veines qui sont engorgées et la formation d'œdèmes.

C. Effet du mannitol

Pour cette dernière expérience, l'influence du mannitol sur la diurèse du rat sera étudiée.

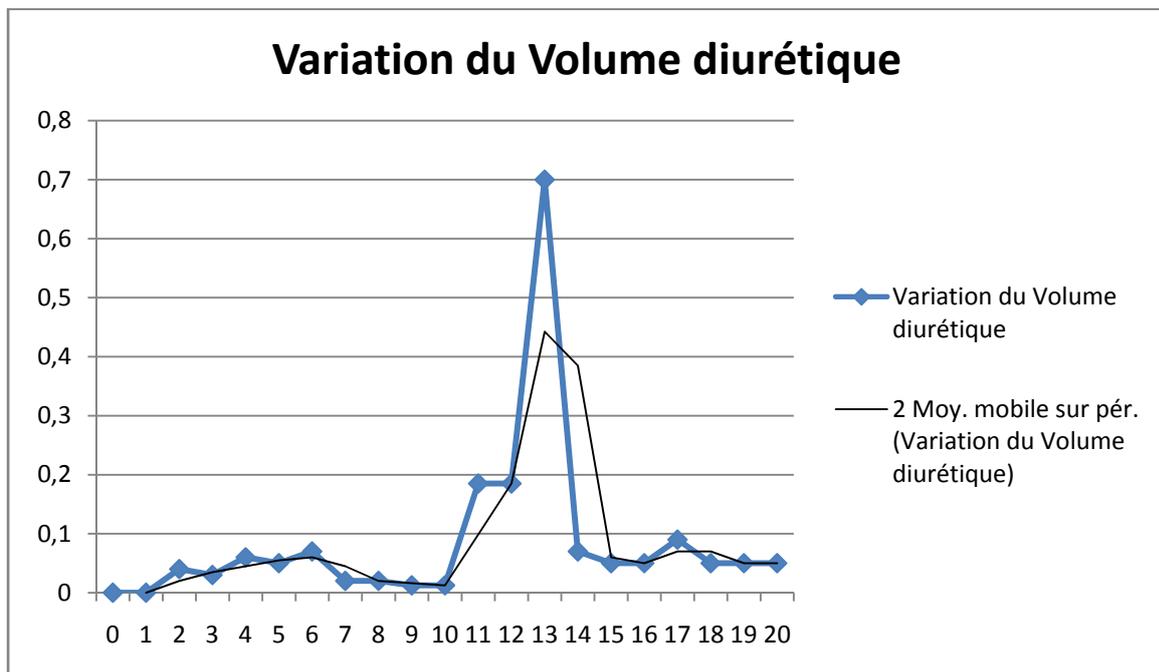
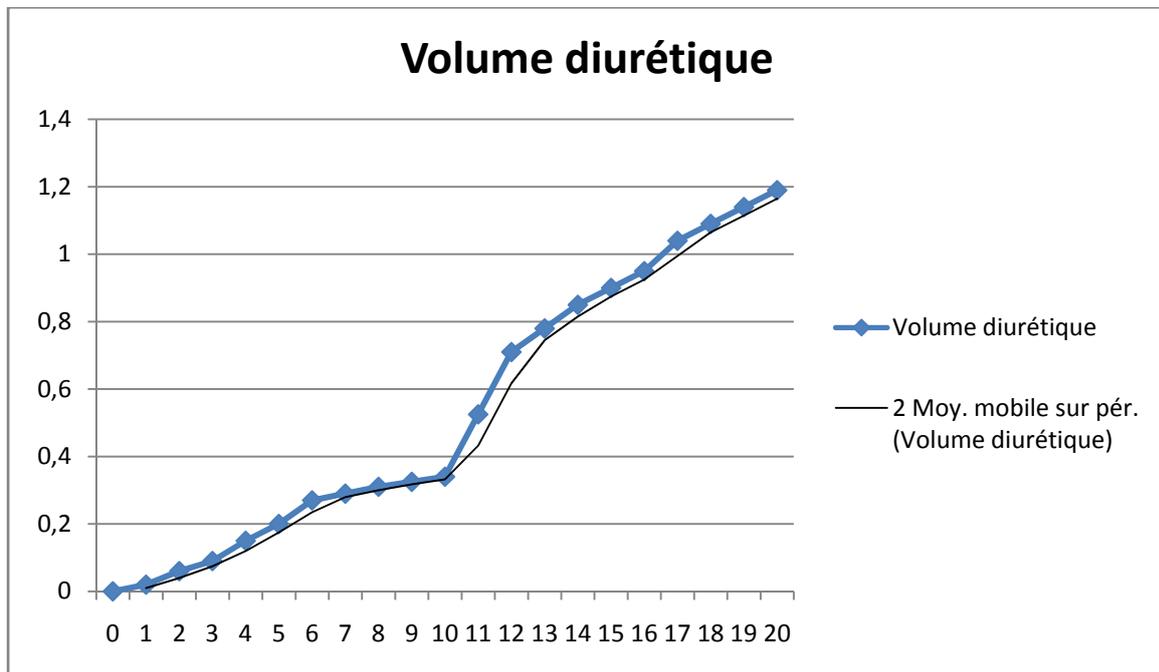
On procède de la même manière, en injectant toujours dans la veine jugulaire, mais cette fois-ci, il s'agit d'une solution de mannitol à 10% et d'un volume de 3 mL.

1. Observations

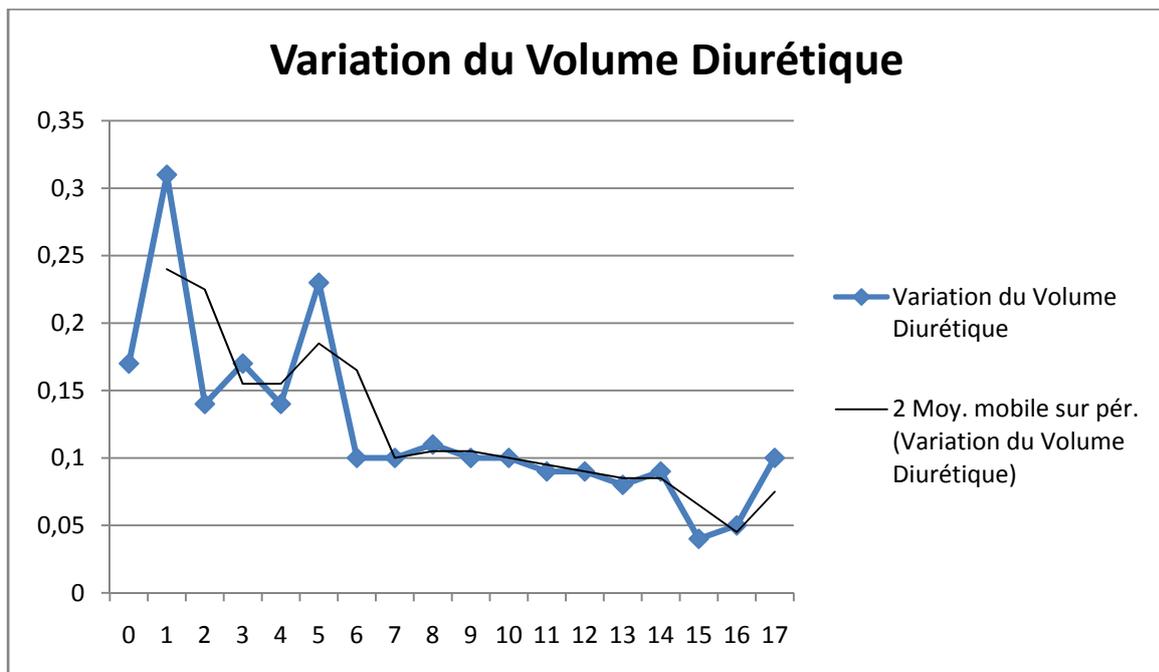
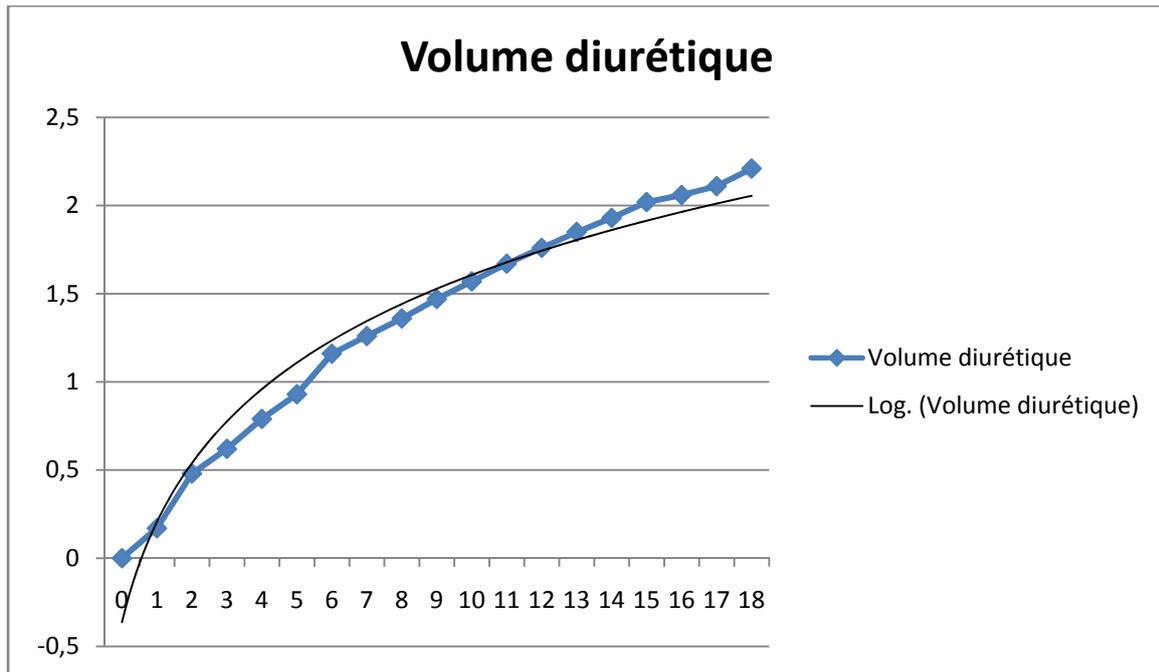
Il apparaît clairement que la solution de mannitol est un puissant diurétique étant donné que la production d'urine a considérablement augmenté au regard des conditions basales.

On observe une élévation du débit de la production d'urine jusqu'à un pic qui a lieu environ 11 minutes après injection. Le débit maximum est alors d'environ 0.7 mL par minute, ce qui correspond

à un facteur 350 entre la diurèse dans les conditions basales et celle observée après injection de mannitol. Après ce pic, on constate une diminution du débit urinaire mais ce débit reste toutefois supérieur à celui obtenu dans les conditions basales.



Notre 2^{ème} injection nous a permis de confirmer les résultats de notre première, en apportant toutefois quelques bémols.



Les résultats obtenus suite à cette 2^{ème} injection, identique à la première, nous montre quelques différences avec la première. En effet, alors que la première nous montrait un facteur 350 entre la diurèse normale et celle après injection du mannitol, nous ne rencontrons plus qu'un facteur 150 (environ 0,3 contre 0,002 de base). De plus, la diurèse maximale est vite atteinte, dès la 2^{ème} minute. Ces différences peuvent être dues à l'accumulation de mannitol dans le sang et la déshydratation du sujet.

2. Interprétation

Le mannitol est une molécule filtrée mais non réabsorbée car il ne possède pas de transporteurs nécessaires à sa recapture. Le mannitol va être filtré, il va entrer dans le tube rénal ; l'urine primaire est alors osmotiquement très forte, ce qui limite la réabsorption d'eau hors du néphron. Il s'agit par

conséquent d'une **diurèse osmotique** (avec toujours une diurèse volumique puisque l'on a introduit de l'eau).

La diminution du débit urinaire que l'on observe après le pic est due à l'élimination du mannitol par le rein au cours du temps, étant donné que celui-ci n'est pas réabsorbé ; par conséquent l'urine primaire va voir son osmolarité chuter progressivement.

En outre, des osmorécepteurs vont être excités par la solution de mannitol qui est osmotiquement chargée ; ils vont entraîner la libération d'une hormone produite par l'hypothalamus : l'ADH ou vasopressine qui joue un rôle dans la modulation de la diurèse.

Cependant, l'effet de ces osmorécepteurs sur l'ADH n'est pas visible car la durée de l'expérience est trop courte pour que l'on puisse observer la « mise en place » de cette hormone.

VIII. Conclusion et discussions

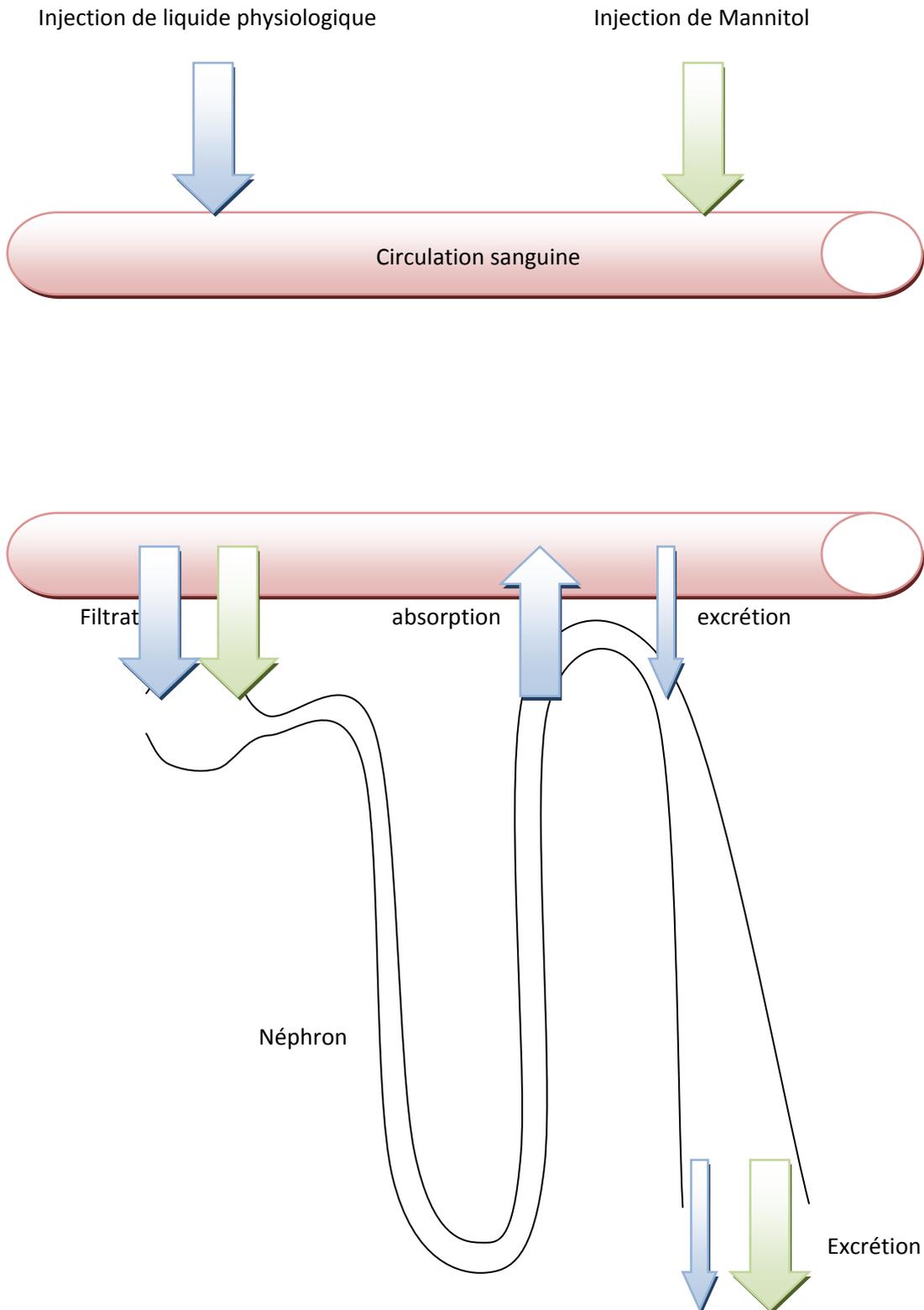
Nous avons donc pu, au cours de ce TP, mettre en évidence les effets de l'injection de liquide physiologique et de mannitol dans le corps d'un rat, sur la diurèse osmotique. L'augmentation nette des taux d'excrétion entraîne la conclusion que le mannitol est un diurétique osmotique, que l'on peut différencier de l'excrétion due à l'injection de liquide physiologique, seulement due au changement de volume de liquide dans le corps du sujet, et donc appelée diurèse volumique.

De plus, les débits moyens sont très différents suivant l'injection. Quand le débit normal est de $0,002 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, la diurèse volumique l'augmente ici à une valeur moyenne de $0,015 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, alors que la diurèse osmotique pousse cette valeur moyenne jusqu'à $0,085 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. La différence entre ces valeurs est due au fait que dans le cas de la diurèse volumique, seul le volume injecté est sensé ressortir rapidement, et donc les 3 mL injectés seulement. Dans le cas de la diurèse osmotique, c'est tout le liquide intracorporel qui entre en jeu, étant donné que c'est l'osmolarité de toutes les cellules réceptrices qui change. Le volume excrété doit donc être supérieur.

On aurait pu pousser l'expérience à des volumes de liquide physiologique injectés plus grands, pour voir si l'on pouvait atteindre les débits de la diurèse osmotique. On aurait aussi pu faire durer l'expérience plus longtemps, pour atteindre l'effet de l'ADH, et étudier les corrections hormonales.

Enfin, il est possible que nos résultats ne soient pas optimaux, étant donné les erreurs de manipulations rencontrées, comme des pertes de sang, des mauvais placements de cathéters dans les veines ou dans la vessie, les différentes fuites et autres pertes quelconques.

Pour finir, voici un schéma de synthèse expliquant les résultats obtenus :



Etude de la pression artérielle chez le rat

Introduction

La pression sanguine représente une force physique exercée par le sang sur la paroi des vaisseaux. En effet, le sang propulsé par le cœur suite à une contraction du ventricule gauche, circule sous pression dans l'organisme comme dans un circuit fermé.

Pour son écoulement, le sang circule toujours des zones de haute pression (système artériel) vers les zones de basse pression (système veineux). Pour notre manipulation, nous considérerons la pression artérielle au niveau de la carotide.

Le sang doit circuler uniformément de la tête aux pieds pour assurer un bon fonctionnement des organes. Pour éviter l'évanouissement de la personne qui bondit hors du lit le matin, le cœur, les vaisseaux sanguins et les reins doivent interagir de façon précise, sous la surveillance étroite de l'encéphale. Parmi les mécanismes homéostatiques qui régissent la dynamique cardiovasculaire, ceux qui maintiennent la pression sanguine, et en particulier ceux qui concernent le débit cardiaque, la résistance périphérique et le volume sanguin, sont d'une grande importance.

Le dispositif expérimental est constitué d'un capteur que l'on disposera au niveau de l'artère carotide et d'un logiciel informatique permettant la transcription graphique des informations recueillies.

Dans un premier temps, nous nous efforcerons de définir le phénomène de pression artérielle par l'intermédiaire d'observations en conditions normales. Puis, en influant sur le système nerveux, nous tendrons à mettre en évidence la voie nerveuse de régulation de cette constante.

Nous avons donc ouvert un rat, auquel nous avons cathétérisé la carotide, de façon à ce que, avec un capteur approprié et un système Exao, nous puissions mesurer la pression artérielle. Nous avons de plus mis en place un cathéter dans une veine jugulaire, de façon à pouvoir facilement injecter différentes substances au rat. Enfin, nous avons isolé les nerfs pneumogastriques, pour pouvoir leur appliquer différents types de stimulations.

Expériences

Etude de la pression artérielle normale

Résultats

Voir les graphiques : « Enregistrement de la pression artérielle basale, sans stimulation » et « Aggrandissement du premier enregistrement »

Oscillation de premier ordre

Fréquence : 333 battements par minute ; Amplitude : 0,5 mV (unité arbitraire)

Chez le rat, on sait que la fréquence cardiaque est d'environ 300 battements par minute, on peut donc associer ces 2 phénomènes et dire que ces oscillations sont d'origine cardiaque.

Oscillation de 2^{ème} ordre

Fréquence : 50 respirations par minute ; Amplitude : 1,04 mV

De la même manière que précédemment, on associe ces oscillations au mouvement respiratoire, sachant que la valeur théorique est d'environ 80 respirations par minutes.

Oscillation de 3^{ème} ordre

Fréquence : 2,7 contractions par minutes

Interprétations

Oscillations respiratoires

Le processus de respiration induit des changements de pression artérielle. Il s'agit d'augmentation lors de l'inspiration et d'une diminution lors de l'expiration.

Facteurs mécaniques

Au niveau thoracique

Pour comprendre le lien entre respiration et pression artérielle nous devons considérer la notion de retour veineux dont les fluctuations sont dépendantes des variations de pression intra thoraciques.

A l'inspiration, sous l'activité des muscles intercostaux, la cage thoracique s'élargit entraînant ainsi le gonflement des poumons par aspiration d'air. Dans ce cas la pression intra thoracique diminue et le sang, tout comme l'air dans les poumons, est aspiré par le cœur. L'augmentation du retour veineux induit donc une augmentation du volume d'éjection systolique et par une augmentation du débit cardiaque, une augmentation de pression artérielle.

A l'expiration, la pression intra thoracique augmente. On observera alors une baisse du retour veineux, et donc par le même procédé que précédemment une baisse de la pression artérielle.

Facteurs nerveux

Lien centre inspiratoire et centre cardiomodérateur

Le mouvement d'inspiration est un mouvement réflexe induit par une voie nerveuse (induction des mécanismes mis en évidence précédemment). Comme le mécanisme d'inspiration provoque une augmentation de la pression artérielle, on peut penser que la stimulation du centre inspiratoire induit une inhibition du centre cardiomodérateur.

Lien centre respiratoire et centre vasomoteur

On peut influencer sur la pression artérielle en modifiant le diamètre des vaisseaux sanguins. Une vasoconstriction permettant une augmentation de la pression artérielle, une vasodilatation, une diminution. Le centre vasomoteur régit ces changements de conformation vasculaire. Sa stimulation réduit le diamètre vasculaire et inversement. A l'inspiration par exemple, on peut donc supposer que le centre vasomoteur se trouve stimulé par celui dit centre inspiratoire et donc créé une augmentation de pression.

Cependant, l'influence de ces 2 centres est relativement faible.

Oscillations cardiaques

Le cœur est un organe contractile. Son activité est faite d'alternance de phases de systole et de phases de diastole. Les variations de pression artérielle observées sont directement liées à ces deux phases.

La systole

La contraction du muscle cardiaque induit l'éjection brutale du sang du cœur vers le système artériel. Cette éjection crée une tension sur la paroi des artères soit par définition, une augmentation de la pression artérielle. Plus précisément il s'agit d'une distension de la paroi artérielle locale pendant l'éjection ventriculaire. A cet instant, le sang est entré plus vite qu'il ne peut en ressortir et ce à cause de la résistance à l'écoulement.

La diastole

Il s'agit de la phase de relâchement du muscle cardiaque. Le cœur se remplit du sang venant des veines sans éjection. Les artères se rétractent en opposition à la phase de systole, pour permettent l'écoulement sanguin. En résumé, pendant la phase de diastole, les artères ne reçoivent plus de sang mais poursuivent son écoulement. La perte du volume sanguin occasionnée dans les artères sous l'effet élastique des parois artérielles induit une diminution de la pression artérielle.

Oscillations d'origine vasculaire

Les vaisseaux sont dotés d'une propriété contractile. Le tonus vasculaire basal est régi par le système nerveux sympathique, qui l'influe par une activité vasoconstrictrice. La contraction des parois vasculaires crée une tension par pression sur le sang.

Notion de régulation

La pression artérielle comme nous l'avons précédemment démontré est une résultante mécanique directe des fonctions cardiaque, vasculaire et respiratoire. Ces trois paramètres sont soumis à des variations significatives lors de l'effort physique par exemple. Cependant, il est essentiel que les valeurs de pression artérielle soient maintenues autour d'une constante. Par ces considérations, il est alors possible de penser que la régulation de la pression artérielle dépend de ces composantes.

La dépendance du maintien de la pression artérielle aux composantes vasculaire et cardiaque (fréquence cardiaque) se manifeste tel que ;

$$PA = Dc \times Rp$$

$$Dc = Vs \times Fc$$

(PA : pression artérielle, Dc : débit cardiaque, Rp : résistance périphérique, Vs : volume systolique, Fc : fréquence cardiaque)

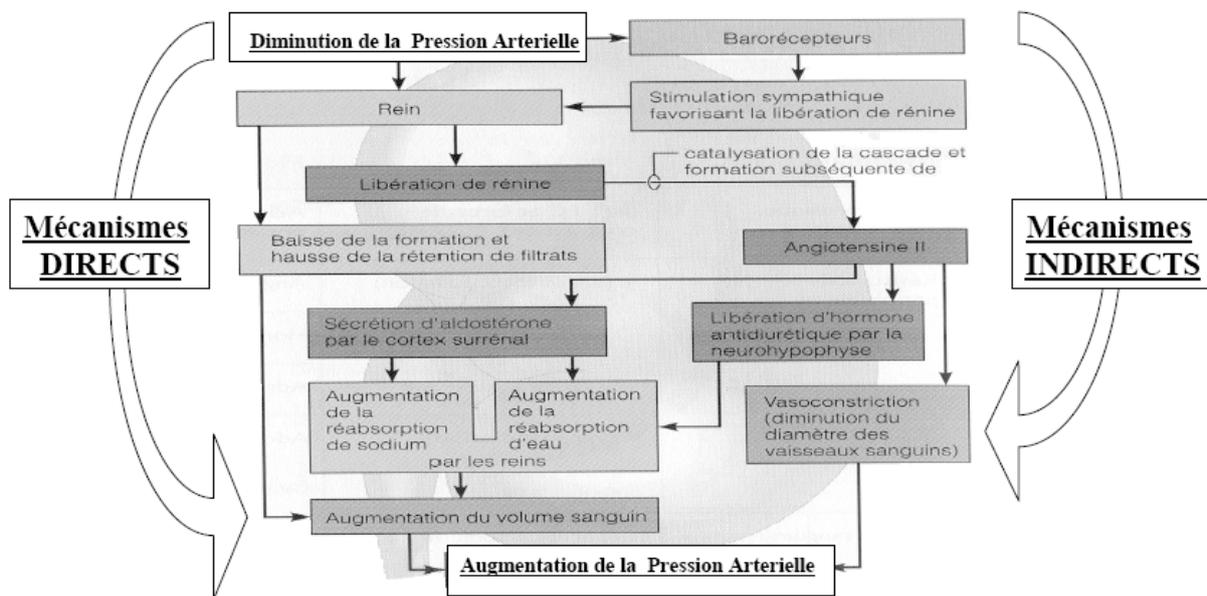
Phénomène mécanique

La composante respiratoire intervient dans l'homéostasie de la pression artérielle en raison de son implication directe avec les concentrations en O₂ et CO₂ sanguine. (La fonction respiratoire (apport)

comme la fonction cardiaque (distribution) assure le maintien de ces concentrations sur l'ensemble de l'organisme).

Phénomène chimique

- La pression artérielle est un stimulus du rythme cardiaque et est physiquement ressentie par des barorécepteurs. La stimulation de tels récepteurs crée un influx nerveux sensoriel, véhiculé par le nerf de Cyon (fibres de la crosse aortique) et le nerf de Hering (fibres du sinus carotidien).
- La pression artérielle est un stimulus de la vasomotricité. Les fluctuations de pression sanguine sont transmises au centre vasomoteur par l'intermédiaire de barorécepteurs pour induire une vasoconstriction ou une dilatation (vasomotricité et cardiomotricité sont en lien étroit)
- La respiration est un stimulus de la pression artérielle. La respiration (hyper et hypoventilation) impose des fluctuations de concentration sanguine en O₂ et CO₂, captées par des chémorécepteurs. En effet, l'air inspiré est un apport en dioxygène, transmis à la circulation sanguine par diffusion alvéole/capillaires. Situés à proximité des barorécepteurs, ces récepteurs chimiques communiquent par l'intermédiaire des mêmes branches nerveuse à savoir nerf de Cyon et Hering.



Le mécanisme de maintien de la pression sanguine est dicté par l'activité de baro et chimiorécepteurs présents au niveau de la crosse aortique et du sinus carotidien.

Stimulations nerveuses du nerf pneumogastrique :

Stimulation du bout central

Voir le graphique : « Enregistrement de la stimulation du bout central du nerf X »

Résultats

Sur le graphique, on distingue une différence entre avant et après la stimulation :

- Avant la stimulation : fréquence cardiaque = 288 battements/min
- Après la stimulation : fréquence cardiaque = 264 battements/min

Interprétation

La stimulation du bout central provoque une excitation des fibres sensibles afférentes du nerf vague ; cela se traduit par la propagation d'un influx nerveux excitateur qui se dirige vers le centre bulbaire cardiomodérateur et d'un influx inhibiteur vers le centre cardio-vasculaire. Il y a donc activation du système qui permet la diminution de la fréquence cardiaque et désactivation du système effectuant la fonction opposée. On aura donc finalement un ralentissement de la fréquence cardiaque comme cela nous apparaît sur le graphique.

De plus, la fréquence respiratoire chute, et on a noté une désorganisation de ces respirations. Il y a donc une diminution de l'activité de la pompe respiratoire, ce qui entraîne une diminution du retour veineux, et donc une diminution du volume systolique, ce qui entraîne la diminution du débit cardiaque. On a donc inhibé les centres respiratoires, par la même façon.

Stimulation du bout périphérique

Voir le graphique : « Enregistrement de la stimulation du bout périphérique du nerf X ».

Résultats

Avant la stimulation : fréquence cardiaque = 276 battements par minutes

A de faibles intensités de stimulation (inférieures à 7 V) la réponse attendue (chute de tension) est peu significative.

A partir de 7 V de tension de stimulation, on observe une importante chute de fréquence cardiaque et donc de la pression artérielle.

Après stimulation (7 V pendant 2 s) : on note l'effondrement de la pression artérielle, ainsi que du volume respiratoire. C'est l'arrêt cardiaque. Il mène à la mort de l'animal. On peut revenir à la normale grâce à un massage cardiaque en cas d'arrêt, mais il revient de lui-même à la normale à l'arrêt de la stimulation.

Interprétations

Dans ce cas, il n'y a plus de contrôle des centres nerveux sur la réponse apportée par le nerf pneumogastrique à la pompe cardiaque. Nous pouvons penser de part les résultats précédents, que la réponse à la stimulation du bout central entraîne un influx efférent moteur plus modéré qu'il ne devrait. En effet, les centres nerveux bulbaires et cérébraux n'induisent pas la mort de l'animal mais régule l'activité pour qu'elle demeure à une activité basale. La stimulation de ces centres modifie donc la fréquence cardiaque mais de façon plus modérée.

Dans ce cas de la stimulation périphérique, ce contrôle n'existe plus, et l'activité du cœur dépend donc directement de l'influx porté par la branche motrice du nerf vague.

La stimulation entraîne donc comme précédemment une diminution de la fréquence cardiaque mais très brutale et très rapide : cela se traduit donc par une importante chute de la tension artérielle traduisant la chute de la pression artérielle.

En revanche, contrairement à ce que nous pouvions penser quant à l'effet de la stimulation prolongée, cela n'en est rien, cette surexcitation du nerf vague ne peut entraîner la mort du rat. En effet, si la stimulation aboutit à un arrêt cardiaque, le système nerveux est rapidement « bloqué » et la pompe cardiaque recouvre progressivement sa rythmicité de base. Ce phénomène n'est pas sous contrôle nerveux mais est dû un épuisement physique de neurotransmetteur : le nerf vague est un nerf parasympathique, transmettant son activité par l'intermédiaire d'un neurotransmetteur : l'acétylcholine ; à chaque stimulation (physiologique ou électrique) une quantité de vésicules pré-synaptiques sont exocytées et libèrent de l'acétylcholine qui transmet l'influx nerveux à la cellule post-synaptique (dans notre cas, ce sont des cellules cardiaques). Si la stimulation se prolonge, le stock d'acétylcholine, lui, ne peut pas se renouveler et s'épuise, les cellules cardiaques ne reçoivent plus l'influx inhibiteur et reprennent donc leur activité contractile, d'où notre observation d'un retour à une fréquence cardiaque basale et non pas un arrêt cardiaque.

Section des 2 nerfs

Voir le graphique : « Enregistrement de la pression artérielle après bivagotomie de l'animal ».

Résultats

Après la section du second nerf de la dixième paire de nerfs crâniens, on observe une augmentation progressive et continue de la pression artérielle

Interprétations

On peut donc proposer l'hypothèse que, de par le fait que le nerf moteur (effecteur) de la fonction transmise par le système parasympathique soit sectionné, la pression artérielle n'est alors plus régulée par les centres nerveux vasomoteur et bulbaire. La pression artérielle a donc majoritairement tendance à augmenter lorsqu'elle n'est pas régulée. L'effet principal de la régulation de la pression par les centres nerveux est globalement un rétrocontrôle négatif, cette hypothèse est vérifiée par l'observation du graphique où l'on note que sans l'existence de ce contrôle la pression artérielle augmente.

Occlusion de la carotide

Résultats

Nous n'avons pas de graphique illustrant cette expérience, puisque, suite à notre installation du cathéter, la carotide canulée a été clampée durant toutes les expériences, néanmoins nous sommes capables d'interpréter l'observation attendue.

Interprétation

La mise en place du clamp va stopper la circulation dans le sinus carotidien ; les barorécepteurs présents à ce niveau vont percevoir ce changement de pression et vont transmettre un influx nerveux portant l'information « diminution de la pression artérielle ». Le centre cardiovasculaire va être excité tandis que le centre cardiomodérateur bulbaire sera lui inhibé : cela va conduire à un message nerveux effecteur permettant de rehausser la pression artérielle. Comme l'animal est bivagotomisé, l'influx ne passe plus dans le nerf vague, seul l'influx du système orthosympathique sera transmis : on aura donc une augmentation de la fréquence cardiaque ainsi qu'une vasoconstriction.

La pression étant en réalité « normale » dans tout l'organisme, nous pourrions alors voir s'établir une hypertension vasculaire significative.

Analyse globale

Le cœur est comme la plupart des viscères, contrôlé par le système nerveux végétatif :

- Le système parasympathique agit sur le cœur par le nerf pneumogastrique qui se détache du bulbe rachidien
- Le système sympathique agit sur le cœur et se détache de la moelle épinière dorsale.

Les nerfs de Hering et de Cyon transportent les informations des récepteurs sensibles à la variation de la pression artérielle (barorécepteurs) vers le centre bulbaire.

Ce centre nerveux cardio-vasculaire perçoit les variations de la pression artérielle grâce aux barorécepteurs et induit un retour à la normale, ce qui réadapte l'état d'excitation des barorécepteurs.

Ce centre nerveux gère 2 types de réflexe : un réflexe cardiomodérateur, activé en cas d'hypertension artérielle ; et un réflexe cardio-accélérateur en cas de diminution de la pression artérielle.

Le réflexe cardiomodérateur agit pour corriger l'état d'hypertension. En effet, étant supérieur à la normale, la valeur de la pression artérielle sera traduite par une augmentation de la fréquence de potentiels d'action qui parcourent les nerfs de Cyon et de Hering. Au niveau du centre bulbaire, il y aura alors activation du pneumogastrique et inhibition de la branche sympathique. Le résultat sera une diminution de la fréquence du rythme cardiaque et par conséquent de la pression artérielle.

Dans le cas du réflexe cardio-accélérateur, l'organisme cherche à lutter contre un état d'hypotension. En effet, cet état se traduit par une fréquence faible de potentiels d'action qui parcourent les nerfs de Cyon et de Hering. Au niveau du bulbe rachidien, il y aura inhibition du pneumogastrique et activation de la branche sympathique. Le résultat sera une accélération du rythme cardiaque et une vasoconstriction et par conséquent une augmentation de la pression artérielle.

Conclusion

Durant ce TP, nous avons étudié la définition de la pression artérielle (selon 3 types d'oscillations) et sa régulation quasi exclusive par voie nerveuse.

Le cœur tient le rôle majeur dans l'exécution directe des changements de pression puisqu'il est la pompe mécanique qui permet au sang de circuler dans les vaisseaux. Mais il n'en reste pas moins qu'un acteur puisque les décisions concernant les changements de pression sont prises en amont, dans les centres nerveux. La régulation est réalisée à partir d'un circuit fermé en perpétuel fonctionnement ; celui-ci permettant au sang de circuler en parfaite harmonie dans les vaisseaux. Il existe également une régulation hormonale (rapide ou retardée) mais nous ne la traitons pas dans ce TP.

La connaissance approfondie des différents systèmes de régulation chez le rat est importante puisque, étant un mammifère, certains résultats pourront être transposés chez l'Homme et peuvent alors nous permettre d'avoir une meilleure compréhension de notre propre régulation. Cela peut aboutir à l'étude de molécules pharmacologiques efficaces chez le rat et qui pourraient suivre les étapes nécessaires au développement d'un médicament efficace chez l'Homme pour lutter contre de nombreuses pathologies cardiaques comme les insuffisances cardiaques, les hypertensions etc.

15 : Bon travail. Revoyez une partie méthodes pour justifier les techniques employées

TP 5 : Etude de la respiration chez le rat

Introduction

L'objectif de ce TP est d'étudier 3 influences, qui ont un effet sur la rythmicité et l'amplitude de la respiration. La première est le rôle du nerf pneumogastrique. La 2ème est l'action des ions hydrogène. La 3ème est l'action du dioxyde de carbone.

Théoriquement, si l'on coupe le pneumogastrique, la personne respire, mais par l'activité autonome, la régulation ne se fait plus, et elle ne sera donc plus régulée, la respiration sera lente et profonde, car ces centres ont leur propre activité. Cette respiration est appelée respiration de double vagotomie, qui met en évidence le fonctionnement des centres respiratoires. On va donc mettre en évidence l'action de ce nerf en comparant les respirations avant et après section de ce nerfs, ou de ces nerfs, étant donné qu'ils sont au nombre de 2. De par le fait que l'on doit léser les nerfs pour mettre en évidence leur action, nous commencerons par l'action des ions hydrogène et du dioxyde de carbone. Nous allons de plus enregistrer l'action de la stimulation de ces nerfs des deux côtés, central et périphérique, et ainsi déterminer leur action propre.

En ce qui concerne les ions hydrogènes et le dioxyde de carbone, ils ne forment en fait qu'une seule action. En effet, dans le sang, l'oxygène est transporté de 2 façons. Une petite partie est dissoute dans le plasma, la plus grande partie étant transportée par liaison à l'hémoglobine. Le gaz carbonique, quand à lui, est transporté dans le plasma sous forme d'ions bicarbonate dans sa plus grande partie, alors qu'une petite partie est transportée dans les érythrocytes fixés à l'hémoglobine. Le transport du dioxygène et celui du dioxyde de carbone ne sont pas en concurrence, les deux molécules ne se fixant pas sur les mêmes sites de la molécule d'hémoglobine. Sous la forme d'ions bicarbonates, le gaz carbonique ne peut pas diffuser du sang jusqu'aux alvéoles, et il doit donc changer de forme. Pour cela, il doit se fixer à des ions hydrogène (H^+), pour former l'acide carbonique, qui se dissociera rapidement en eau et en gaz carbonique, ce dernier pouvant entrer dans les alvéoles.

Donc les ions hydrogène et le dioxyde de carbone font partie d'une même action.

Un air enrichi en gaz carbonique est appelé hypercapnique, alors qu'un air appauvri en oxygène est appelé hypoxique. Bien souvent, on rencontre ces deux termes dans les mêmes cas, si l'air qui arrive vient d'un espace confiné, enrichi en gaz carbonique et appauvri en oxygène par la respiration. C'est la respiration de cet air qui provoque le phénomène d'asphyxie. Il faut donc faire attention dans le cas de manipulations dans ce genre d'air.

N.B. : Sur les feuilles annexes, le volume de la cage thoracique est mesuré en tension, mais on fera le parallèle entre cette tension et le volume de la cage thoracique. En effet, les 2 unités étant ici directement liées. On n'a cependant pas fait de calibrage, et donc on considèrera que 1 unité de volume = 1 unité de tension.

Expériences et interprétations

Etude de la respiration normale

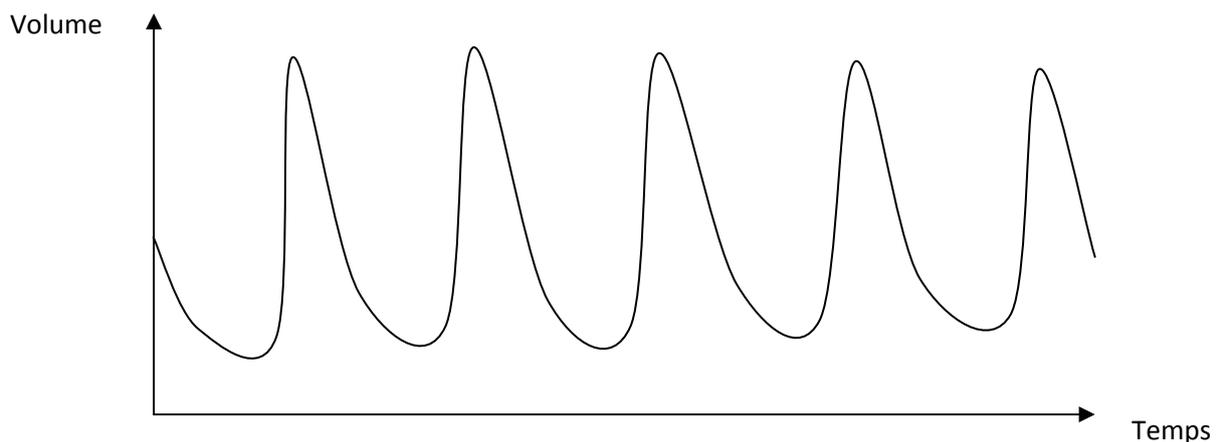
Observations

Voir les feuilles annexes nommées :

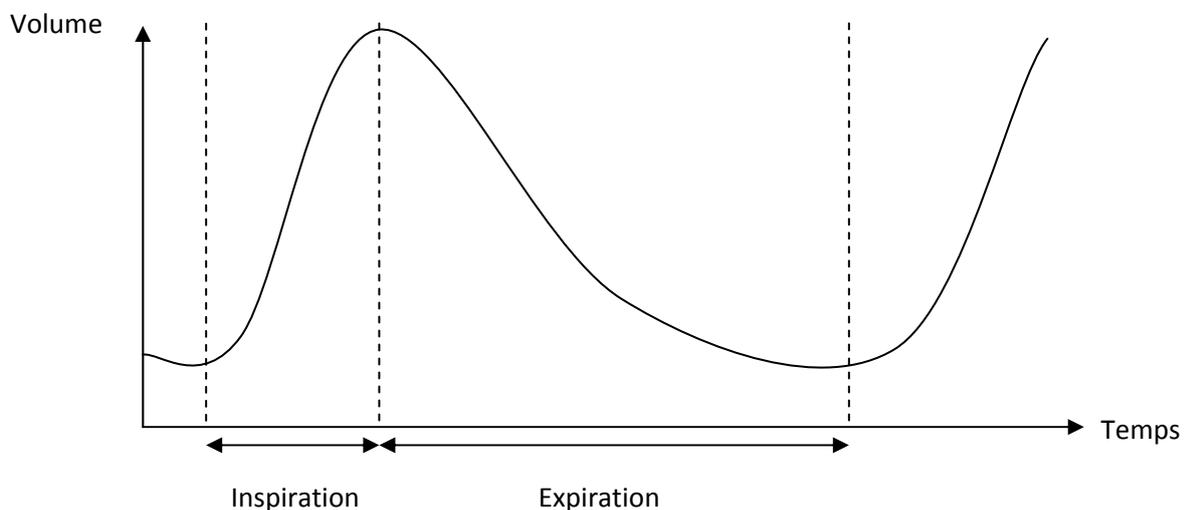
- « Etude de la respiration normale – Mise en évidence de la fréquence respiratoire et de la durée des phases inspiratoire et expiratoire »
- « Etude de la respiration normale – Mise en évidence de la fréquence respiratoire et de la durée des phases inspiratoire et expiratoire – Zoom sur quelques phases respiratoires »

Pour mesurer la respiration normale de notre rat, nous avons placé une ceinture de pâte à modeler sur la cage thoracique de l'animal, ceinture reliée à un capteur et une interface ExAO. Ce montage nous a permis de mesurer les variations du volume de la cage thoracique, et en remettant ses variations dans un graphique en fonction du temps, nous pouvons déterminer 2 choses : l'amplitude et la fréquence des inspirations et des expirations.

Nous avons obtenu un graphique du même type que le suivant :

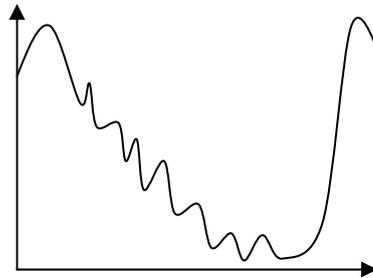


On peut à partir de ce genre de graphiques déterminer 2 phases dans la respiration, qui sont bien distinctes, et complémentaires.



La phase d'inspiration est la phase au cours de laquelle la chambre respiratoire augmente de volume. C'est à ce moment que l'air entre dans les poumons, et que l'oxygène pénètre dans le corps. La phase d'expiration est celle de diminution du volume de la chambre respiratoire, c'est au cours de celle-ci que l'air est expulsé, que le dioxyde de carbone sort du corps.

On peut cependant, sur notre graphique de mesure, distinguer de petites variations, la plupart étant visibles durant l'expiration.



Ces petites variations sont dues aux battements du cœur, le cœur étant enfermé dans la cage thoracique, frappe en dessous de notre ceinture de mesure, et entraînant des variations parasites.

On a ici mesuré les amplitudes et fréquences (en inversant la période) de ces variations naturelles. On obtient les mesures suivantes :

	Inspiration	Expiration	Cycle total
Amplitude (mV)	50,4	59,32	59,32
Fréquence (s ⁻¹)	4,1	0,9	0,76

Convertissez en respirations par minutes

Interprétations

On note alors plusieurs différences. En effet, contrairement à ce qu'on attendait, l'amplitude de l'inspiration et de l'expiration diffèrent. Cette différence est cependant une variation due à la mesure expérimentale, sur sujet vivant, et donc de petites variations entre 2 cycles respiratoires peuvent apparaître.

On remarque cependant que la fréquence des inspirations est beaucoup plus grande que celle des expirations, ce qui veut dire que les inspirations sont beaucoup plus rapides que les expirations.

Cette différence de fréquence est due aux mécanismes de l'inspiration et de l'expiration. En effet, l'inspiration normale est un phénomène actif, alors que l'expiration normale est un phénomène passif. En effet, pour inspirer, le sujet contracte ses muscles inspiratoires, qui sont le diaphragme et les muscles intercostaux externes. En les contractant, il augmente la hauteur de la cavité thoracique (diaphragme) et le diamètre du thorax (muscles intercostaux externes). Les poumons étant solidement fixés à la cage thoracique, grâce à la tension superficielle du liquide pleural, les poumons s'étirent, en même temps que la cage thoracique. L'augmentation du volume de ces poumons entraîne une dépression intérieure, et la différence de pression avec l'extérieur fait entrer l'air dans les poumons.

Contrairement à l'inspiration, l'expiration normale ne se fait que par relâchement des muscles, et donc c'est un phénomène élastique. Le relâchement étant automatique, il se fait plus lentement que

la contraction, ce qui induit la lenteur de l'expiration. Cependant, ce phénomène peut être forcé par la volonté de l'individu, et dans ce cas, le temps d'expiration peut être réduit.

Injection d'acide chlorhydrique

Observations

Voir la feuille annexe nommée : « Injection d'acide chlorhydrique – Mise en évidence de l'effet de l'acide chlorhydrique sur la respiration »

Nous avons injecté rapidement dans la jugulaire un volume de 0,2 mL d'une solution de HCl à 0,1N. Après l'injection (marqueur sur la feuille annexe), nous pouvons remarquer 2 effets : l'augmentation de l'amplitude et l'augmentation de la fréquence (la période diminue). En effet, on a obtenu les résultats présentés dans le tableau suivant :

	Avant injection	Après injection
Amplitude (mV)	44,61	55,18
Fréquence (s⁻¹)	0,79	0,84

Interprétations

La solution d'HCl permet d'apporter des ions H⁺ (hydrogène) dans le sang. Comme nous l'avons vu précédemment, ces ions servent à complexer les ions bicarbonate, pour en faire de l'acide carbonique, et au final le dissocier en eau et en gaz carbonique. L'adjonction d'ions H⁺ dans le sang permet donc d'augmenter la concentration en gaz carbonique dans le sang. Ce fort taux de gaz carbonique entraîne un besoin d'expulsion de ce gaz en dehors du corps.

Pour cela, le système respiratoire met en place une hyperventilation, pour réduire l'hypercapnie, et ainsi rétablir le taux normal de CO₂ dans le sang. Ces variations du taux de CO₂ sanguin, et donc la diminution du pH stimulent les chimiorécepteurs centraux du tronc cérébral, l'amplitude et la fréquence de la respiration augmentent.

En plus de cela, les ions Cl⁻ participent au phénomène de Hamburger, ce qui permet un échange facilité d'ions HCO₃⁻ (bicarbonate) entre les érythrocytes et le plasma.

N.B. : la diminution globale de la tension minimale de notre feuille annexe est certainement due à notre système de ceinture en pâte à modeler, qui a dû glisser au cours des manipulations.

Augmentation de l'espace mort respiratoire

Observations

Voir feuille annexe nommée : « Augmentation de l'espace mort respiratoire – Mise en évidence de l'effet de l'augmentation de l'espace mort respiratoire ».

L'espace mort respiratoire est un espace dans lequel l'air est appauvri en oxygène, et enrichi en dioxyde de carbone. Cet espace permet de diminuer le renouvellement de l'air au niveau des alvéoles pulmonaires, provoquant ainsi une hypercapnie et une hypoxie.

Pour simuler l'augmentation de l'espace mort respiratoire, nous avons utilisé un tuyau d'une longueur supérieure à la longueur normale des conduits supérieurs de la respiration, que nous avons branché directement à la trachée, par un système de canulation après trachéotomie.

En branchant ce tuyau, nous observons une augmentation nette de l'amplitude et de la fréquence des respirations, qui reviendront à la normale après retrait de cet espace mort respiratoire. On note de plus la présence de pics respiratoires, d'amplitude largement supérieure à la normale.

	Avant augmentation de l'espace mort	Après augmentation de l'espace mort
Amplitude (mV)	52,99	109,02
Fréquence (s ⁻¹)	0,83	1,12

Interprétations

L'augmentation de l'amplitude et de la fréquence des respirations est due, comme précédemment, à l'augmentation du taux de CO₂ dans le sang, et donc à sa baisse de pH. Les conclusions sont donc les mêmes que précédemment.

Cependant, ici, le phénomène est plus fort, puisque le manque d'oxygène se fait lui aussi sentir, et donc les chimiorécepteurs sont doublement alertés, la réponse est supérieure. On peut alors faire l'hypothèse que si l'on avait laissé de sujet plus longtemps dans cet état, il aurait pu, après un certain temps, réussir à contenir cet effet d'espace mort augmenté, en augmentant fréquence et amplitude. Cependant, on peut aussi alors se poser la question des effets de ces hyperventilations sur la durée de vie du système respiratoire. Cependant ici, nous avons retiré le tuyau au bout de quelques dizaines de minutes, pour ne pas risquer l'asphyxie.

Une autre hypothèse peut être présentée à la vue de nos résultats : Les pics respiratoires enregistrés peuvent être assimilés à des phénomènes de détresse respiratoire, des éléments de secours, dans le cas de manque d'oxygène. On aurait pu les assimiler à l'hypothèse des bâillements, qui étaient autrefois attribués au besoin d'augmenter le taux sanguin d'oxygène, et à la ventilation de toutes les alvéoles pulmonaires.

Action de l'air confiné

Observations

Voir la feuille annexe nommée : « Action de l'air confiné – Mise en évidence de l'action de l'air confiné sur la respiration »

Pour simuler l'action de l'air confiné, nous avons utilisé un ballon bien vidé de son air à la canule trachéale. Nous observons alors une augmentation de la fréquence et de l'amplitude de la respiration, entre le moment où l'on fixe le ballon, et celui où on l'enlève. Une fois que le ballon a été enlevé, ces valeurs reviennent à leur valeur normale.

Encore une fois, nous remarquons des pics au cours de la respiration.

Nous regroupons les valeurs obtenues dans le tableau suivant :

	Avant mise en place du ballon	Après mise en place du ballon
Amplitude (mV)	38,46	128,7
Fréquence (s ⁻¹)	0,78	0,99

Interprétations

Encore une fois, tous ces phénomènes s'expliquent de la même façon que précédemment. En effet, en plaçant le ballon comme unique point de sortie de la respiration, et donc comme unique zone d'échanges avec l'extérieur, le système respiratoire tourne en cycle fermé. Il n'y a alors plus de renouvellement de l'air, et donc encore une fois, augmentation du taux de dioxyde de carbone et diminution du taux d'oxygène dans le sang. Le pH diminue encore une fois.

Les chimiorécepteurs réagissent alors encore une fois, il y a de nouveau phénomène d'asphyxie. Ici, on remarque que l'amplitude a presque été multipliée par quatre. La fréquence augmente aussi. Encore une fois, on retrouve les pics de respiration, qui peuvent ici aussi être assimilés à des phénomènes de détresse.

Ici cependant, même au bout d'un certain temps, il n'y aurait pas eu possibilité d'adaptation de la respiration au ballon, contrairement à l'augmentation de l'espace mort. En effet, au bout d'un certain temps, l'air aurait été intégralement rempli de dioxyde de carbone et vidé d'oxygène. Nous avons donc retiré le ballon encore une fois pour éviter l'asphyxie. Les effets ont été ici plus rapides et plus forts, en tout cas au niveau de l'amplitude. Nous étions encore une fois en hypercapnie et en hypoxie.

Etude de la respiration après vagotomie bilatérale

Respiration normale

Observations

La vagotomie bilatérale consiste en une section des nerfs pneumogastriques des deux côtés. Nous avons alors enregistré la respiration, après vagotomie bilatérale.

Voir feuille annexe nommée : « Etude de la respiration normale après vagotomie bilatérale – mis en évidence des différences de la respiration normale, avant et après vagotomie »

Les résultats que nous obtenons ne sont cependant pas bons, en effet, nous aurions dû obtenir une augmentation de l'amplitude et de la fréquence. Cependant ici, en comparaison aux résultats d'avant vagotomie, notre amplitude et notre fréquence diminuent. Cette erreur est due au positionnement du capteur, et à la faible fiabilité de la ceinture en pâte à modeler, qui s'est décrochée du capteur et a dû être remplacée.

Interprétations

Nos interprétations seront donc faites à partir des résultats que l'on aurait dû obtenir. En effet, les nerfs pneumogastriques servent à ralentir la respiration. Lorsqu'ils sont sectionnés, ils ne ralentissent plus la respiration, qui est alors plus ample et plus rapide.

Nous allons maintenant recommencer les expériences précédentes, alors que le nerf est coupé, et ainsi déterminer si les mécanismes précédents dépendent de ce nerf ou pas.

Injection d'acide chlorhydrique

Observations

Voir la feuille annexe nommée : « Injection d'acide chlorhydrique après vagotomie bilatérale – Mise en évidence de l'effet de l'acide chlorhydrique sur la respiration après vagotomie bilatérale »

Encore une fois, nous pouvons noter l'effet de l'acide chlorhydrique, identique à celui présenté précédemment, avant vagotomie bilatérale. En effet, nous obtenons les variations suivantes :

	Avant injection	Après injection
Amplitude (mV)	38,6	57,28
Fréquence (s⁻¹)	0,61	0,64

Nous avons donc de nouveau eu une augmentation de l'amplitude et de la fréquence, avec l'injection d'acide chlorhydrique.

Interprétations

On peut en faire les mêmes interprétations que précédemment, et ajouter que si les effets sont les mêmes avec ou sans nerf vague, c'est qu'il n'influence pas le trajet de l'acide chlorhydrique dans le corps, et donc que ce serait plus un transport de l'information par la voie humorale.

Ou des informations nerveuses transitant par d'autres voies. Mais effectivement les chémorécepteurs centraux sont ici en cause.

Augmentation de l'espace mort respiratoire

Observations

Voir feuille annexe nommée : « Augmentation de l'espace mort respiratoire après vagotomie bilatérale – Mise en évidence de l'effet de l'augmentation de l'espace mort respiratoire après vagotomie bilatérale »

Une fois encore, les résultats sont quasiment les mêmes que précédemment, l'augmentation de l'espace mort respiratoire entraîne une augmentation de l'amplitude et de la fréquence des respirations.

En effet, on obtient les résultats suivants :

	Avant augmentation de l'espace mort	Après augmentation de l'espace mort
Amplitude (mV)	46,9	136,93
Fréquence (s⁻¹)	0,59	0,61

Encore une fois, on remarque que l'amplitude a fortement augmenté, triplant presque, et que de plus, ici, nous obtenons un résultat plus dans les normes à obtenir, étant donné que notre effet met quelques secondes à survenir.

Interprétations

Les interprétations sont les mêmes que précédemment, et encore une fois, l'augmentation de l'espace mort, et ses effets sur le corps n'influent pas par voie nerveuse, le nerf étant coupé, et l'action toujours présente. On favorisera alors la voie humorale. Cependant, on ne remarque plus les pics dans la respiration, et donc ce système de secours dont on a fait l'hypothèse précédemment dépend peut-être de la voie nerveuse.

Action de l'air confiné

Observations

Voir la feuille annexe nommée : « Action de l'air confiné après vagotomie bilatérale – Mise en évidence de l'action de l'air confiné sur la respiration après vagotomie bilatérale »

Ici encore, nos résultats ne diffèrent presque pas de ceux obtenus précédemment. En effet, l'action de l'air confiné se fait rapidement sentir, et l'amplitude et la fréquence des respirations augmentent encore cette fois. On atteint les valeurs suivantes :

	Avant mise en place du ballon	Après mise en place du ballon
Amplitude (mV)	38,61	99,1
Fréquence (s ⁻¹)	0,52	0,68

On a encore une belle augmentation de l'amplitude, qui est multiplié par presque 3, et une petite augmentation de la fréquence, de l'ordre des 24%.

Interprétations

Nos interprétations sont encore les mêmes qu'avant la section des nerfs, et donc encore une fois que l'air confiné, comme l'augmentation de l'espace mort, utilisent la voie humorale et non nerveuse. Encore ici, les pics de respiration ont disparu, et donc encore une fois, on pense qu'ils étaient dus à la voie nerveuse.

Stimulation du nerf vague

Côté périphérique

Observations

Voir la feuille annexe nommée : « Stimulation du nerf vague du côté périphérique – Mise en évidence des perturbations de l'activité respiratoire provoquées par les modifications de l'activité cardiaque »

On peut observer, à partir de nos graphiques, que si l'on stimule le nerf du côté périphérique (en le plaçant sur des électrodes à crochets), on obtient une déstructuration du signal, les respirations se font n'importe comment, on ne peut plus déterminer de phase d'inspiration, ou de phase d'expiration, les 2 étant mélangées.

Interprétations

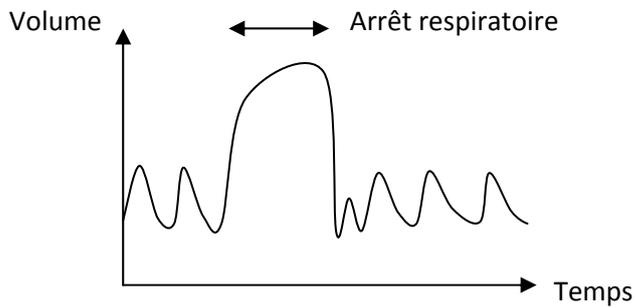
On peut donc en conclure que la partie périphérique du nerf pneumogastrique déstabilise la respiration. Cette déstabilisation est due au contrôle de ce nerf sur la pression artérielle. En effet, le nerf vague diminue la pression artérielle, et cette baisse de la pression artérielle est la cause des perturbations, le sang n'arrivant plus en flux continu et stable, il arrive par à-coups, et donc déstabilise totalement l'action respiratoire, le sang entrant dans les poumons irrégulièrement.

Côté central

Observations

Voir feuille annexe nommée : « Stimulation du nerf vague du côté central – Mise en évidence de l'arrêt respiratoire en réponse à la stimulation des tensio-récepteurs pulmonaires »

Ici, la stimulation entraîne tout simplement un arrêt respiratoire, en inspiration, durant le temps où on stimule le nerf du côté central, c'est-à-dire en direction du cerveau.



Interprétations

En stimulant le nerf X du côté central, on stimule le cerveau, dont une partie, le groupe respiratoire dorsal semble être le centre générateur du rythme respiratoire, et donc on l'a appelé centre inspiratoire.

Ce centre, par l'intermédiaire de neurones, émet à fréquence progressive des influx aux nerfs phrénique et intercostaux, qui stimulent les nerfs de l'inspiration. En cas de forte stimulation de ce centre, comme c'est notre cas, les influx sont lancés en continu, les muscles inspiratoires restent alors contractés, la respiration est bloquée en phase d'inspiration, et il y a arrêt respiratoire.

Conclusions et discussions

En conclusion, on a étudié les effets de l'acide chlorhydrique, d'une augmentation de l'espace mort, et de l'air confiné sur la respiration dans 2 cas, en cas normal et en cas de vagotomie bilatérale. Ces expériences nous ont permis d'étudier les 2 systèmes de régulation de la respiration, le système humoral et le système nerveux.

On a étudié l'action du nerf pneumogastrique, et son rôle dans la respiration. On s'est aperçu qu'il avait 2 actions, l'une étant de déstabiliser la respiration indirectement, et l'autre étant de provoquer indirectement un arrêt respiratoire. On a de plus vu qu'il servait à ralentir la respiration en général, en la rendant plus ample et plus lente.

Enfin, on a pu approcher le phénomène d'asphyxie, et on a obtenu quelques pistes sur les voies utilisées par le corps pour éviter cette asphyxie.

Cependant, les résultats de notre TP ne sont pas absolus, notre système de mesure étant soumis aux possibles erreurs obtenues à cause d'un décrochement de la pâte à modeler, ou son glissement, ou des artefacts de manipulation.

Votre conclusion doit aller plus loin si possible. Ici, vous résumez le travail et indiquez les limites de vos résultats, ou vous pouvez proposer des moyens pour améliorer les résultats expérimentaux.

TP 6 : Action de substances pharmacodynamiques sur le cœur isolé de grenouille

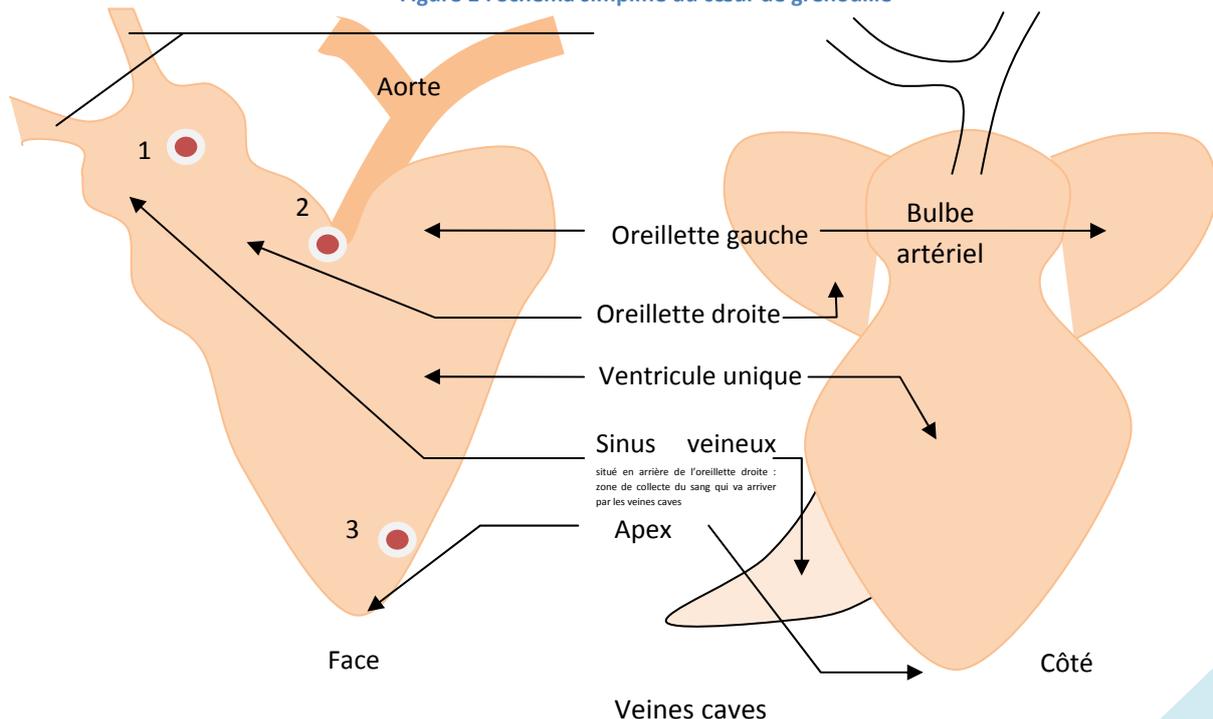
Généralités

Anatomie du cœur

Le rythme cardiaque est géré par son système de conduction intrinsèque. Cependant, les neurofibres du système nerveux autonome peuvent influencer sur le cœur, et donc modifier le rythme. Le système nerveux sympathique est accélérateur, et augmente à la fois le rythme et la force du battement cardiaque. A l'inverse, le système nerveux parasympathique sert à ralentir ces deux points. Le cœur isolé de grenouille présente de faibles exigences quant aux conditions de température, d'oxygénation et de perfusion. Il est facile d'obtenir sa survie pendant de nombreuses heures par perfusion à l'aide du liquide de Ringer. Ceci vient du fait que la grenouille est poikilotherme.

Sa base est plate et sur la face supérieure, alors que son apex en pointe se tourne vers le bas. Il est enveloppé dans un sac à double paroi appelée péricarde. Il est composé de trois parties, deux oreillettes et un seul ventricule dans lequel les 2 sangs se mélangent. Les deux oreillettes sont la droite et la gauche. Si l'on regarde le cœur sur le côté, on peut trouver au-dessus du ventricule et entre les deux oreillettes le bulbe artériel : il sert à la collecte du sang quand il est éjecté. Le cœur est irrigué par deux conduits veineux qui forment le tronc aortique. On trouve aussi du côté dorsal le sinus veineux, derrière l'oreillette droite, c'est la zone de collecte du sang veineux. On trouve plusieurs feuillets d'automatisme, que sont le nœud de Remak (1), le nœud de Ludwig (2) (entre les deux oreillettes), et le nœud de Bidder (3) (dans le ventricule).

Figure 1 : Schéma simplifié du cœur de grenouille



La régulation nerveuse

La régulation nerveuse se fait par le système nerveux autonome. Il existe des mécanismes extrinsèques de régulation de la fréquence cardiaque, dont le système nerveux autonome fait partie, et il en est le facteur le plus important. Le système nerveux sympathique peut être activé par des facteurs émotionnels ou physiques. Par son activation, les neurofibres sympathiques libèrent de la noradrénaline à leurs synapses cardiaques, qui se lie aux récepteurs adrénergiques β_1 . Le temps d'atteinte du seuil d'excitation du nœud sinusal diminue alors, le nœud sinusal augmente la fréquence de ses potentiels d'action et le cœur bat plus vite. Il y a aussi augmentation de la contractilité en favorisant la pénétration de calcium dans les cellules contractiles, ce qui entraîne une diminution du volume téléstolique. Cependant, le volume systolique ne diminue pas, alors qu'on aurait pu le prévoir ainsi s'il ne se produisait qu'une augmentation de la fréquence cardiaque.

À l'inverse, l'antagoniste du système nerveux sympathique est le système nerveux parasympathique. Il permet de réduire la fréquence cardiaque, une fois que les facteurs émotionnels et physiques sont éliminés. En réponse à cette stimulation, ou plutôt cette fin de stimulation, de l'acétylcholine est libérée dans le cœur, les membranes plasmiques sont alors hyperpolarisées, et ouvrent les canaux à K^+ . L'activité parasympathique prédomine sur le cœur, grâce au frein vagal.

Nous pouvons alors nous demander que font d'autres substances telles que l'adrénaline, l'acétylcholine ou l'atropine sur le cœur, quels sont leurs effets.

Expériences

Enregistrement normal : activité pace maker du cœur isolé.

Résultats expérimentaux

Voir les feuilles annexes nommées « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille dans des conditions normales, en perfusion de liquide de Ringer » et « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille dans des conditions normales, en perfusion de liquide de Ringer – Zoom ».

Grâce à des mesures sur les graphiques, on obtient les valeurs suivantes :

	Fréquence (battements par minutes)	Amplitude (mV)	Durée
Phase de Systole	57,5	273,3	
Phase de Diastole	23,4	269,52	

Analyse et interprétations

Pour obtenir ces résultats, nous avons fait un cardiogramme ventriculaire. Pour cela, nous avons fixé le cœur à l'aide d'un tube en plastique, tenu par un élastique sur un support. Par ce tube, nous avons pu injecter les substances à tester. A l'apex, nous avons placé une pince, reliée à un capteur, et au système Exao. Nous mesurons ainsi les contractions du ventricule. C'est ce qu'on appelle un cardiogramme ventriculaire.

On observe une alternance de phase de contraction (systole ventriculaire) et de relâchement (diastole ventriculaire) suivies de rebonds que l'on considérera comme des artéfacts ; ceci constitue une révolution cardiaque : à la fin de la diastole ventriculaire, la dépolarisation du nœud sinusal

provoque la contraction des oreillettes, puis l'excitation atteint les ventricules. La pression ventriculaire augmente et dépasse celle des oreillettes. Quand la pression est trop élevée, la valve du ventricule s'ouvre et le sang est violemment éjecté dans les crosses aortiques pour circuler dans tout l'organisme ; à ce moment il y a raccourcissement des fibres musculaires, ce qui favorise l'expulsion de la masse sanguine : c'est la systole. Le ventricule vient de se contracter et commence à se relâcher, les valves aortiques se ferment : le sang ne peut plus entrer dans le ventricule ; c'est la relaxation iso-volumétrique. Quand les oreillettes sont remplies, les valves auriculaires s'ouvrent et le sang se déverse dans le ventricule, celui-ci se remplit donc à son tour progressivement ; lorsque tout le sang a quitté les oreillettes, les valves auriculaires se ferment et on repasse à la systole ; l'enchaînement de ces 2 événements constitue la révolution cardiaque.

Le cœur est un **muscle strié** possédant une **activité rythmique autonome**. Cette contraction rythmique et spontanée est assurée par la présence de **tissu nodal** (cellules autorythmiques qui déchargent des potentiels d'action de manière cyclique) au sein de cet organe : le nœud de Remak, de Bidder, de Ludwig. Le cœur assure ainsi sa propre **activité rythmique** permettant la circulation sanguine dans l'ensemble de l'organisme.

Cette première expérience nous servira de témoin pour voir les effets de substances pharmacodynamiques. Elle met en évidence l'activité **pace maker** du cœur isolé.

Effet de l'adrénaline

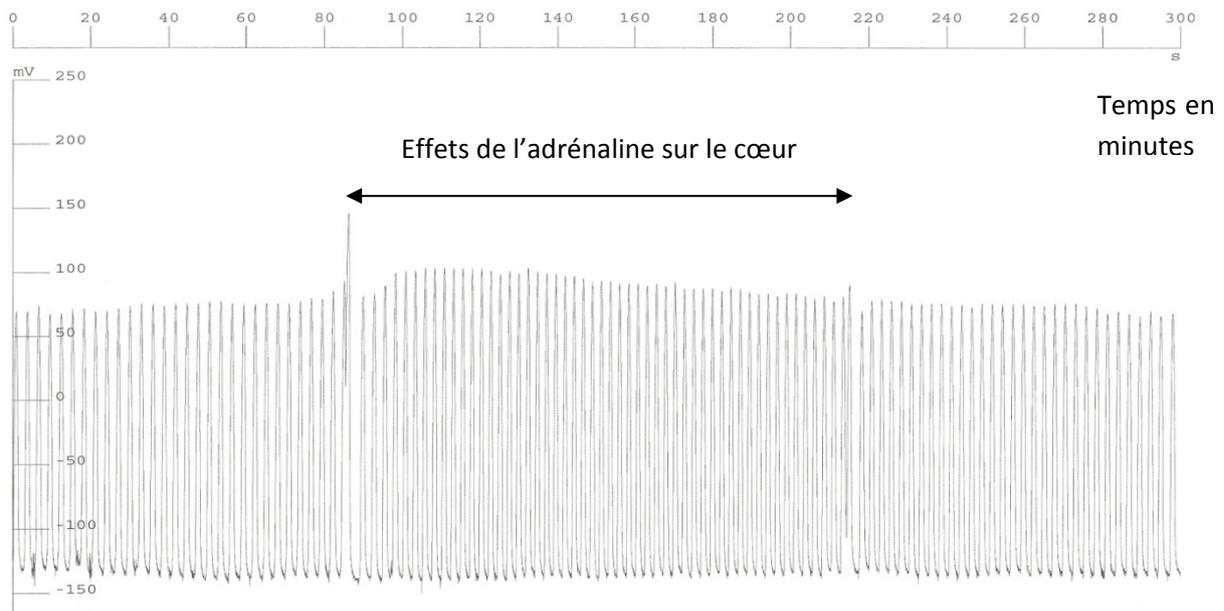
Tout d'abord, l'**adrénaline** appartient au groupe des **catécholamines**, c'est-à-dire qu'elle possède un cycle catéchol. L'adrénaline est sécrétée par les glandes médullosurrénales, à partir de résidu de tyrosine, et elle affluera par l'intermédiaire de la circulation sanguine jusqu'aux récepteurs **β -1** présents à la surface des **cellules myocardiques**. L'adrénaline est un **neurotransmetteur** du système nerveux **sympathique**, il s'agit d'un agent **neuro-hormonal**.

Résultats expérimentaux :

Voir la courbe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'adrénaline à 10^{-6} », « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'adrénaline à $5 \cdot 10^{-6}$ » et « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'adrénaline à 10^{-5} ». Voir figure 1.

La première courbe ne présente pas de variation significative. Ces résultats signifient qu'une dose trop minime a été injectée. La deuxième montre un léger effet, mais encore, il n'est pas significatif, pour la même raison. La troisième présente quand à elle un léger effet chronotrope positif. Nous utilisons cependant les résultats plus probants d'un autre groupe, de façon à illustrer tous les effets de l'adrénaline. Ce graphique nous permet donc d'observer les effets de l'adrénaline, l'amplitude et la fréquence augmentent après l'injection, enfin de façon significative. Les valeurs suivantes ont été mesurées :

Injection	Amplitude (mV)	Période (ms)	Fréquence en s^{-1}	Fréquence en min^{-1}
avant	211,09	2926,63	0,34	20,50
pendant	250,93	2594,2	0,39	23,13
après	209,99	2641,82	0,38	22,71

Figure 2 : Tracé montrant les effets de la perfusion d'une solution d'adrénaline à 10^{-6} M, sur l'activité cardiaque

Amplitude

Analyse et interprétations :

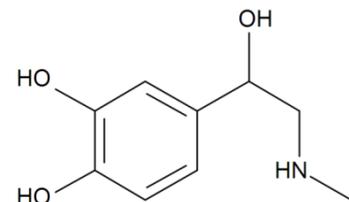
L'adrénaline provoque une augmentation de fréquence et de force de contraction du cœur isolé quelques secondes après l'injection de la solution dans le ventricule. Par conséquent, l'adrénaline est un agent inotrope positif.

L'effet de l'adrénaline augmente d'autant plus que sa concentration est élevée, il s'agit de l'effet dose. Dans notre expérience, la valeur seuil déclenchant l'effet est de 10^{-6} M.

L'adrénaline agit sur le cœur par l'intermédiaire des récepteurs β -1-adrénergiques présents à la surface cellulaire. Ces récepteurs sont couplés à une protéine G trimérique stimulatrice qui agit via sa sous-unité alpha sur l'activité de l'adénylate cyclase. La stimulation de l'adénylate cyclase, dont l'activité est de transformer l'ATP en AMPc, revient à augmenter la concentration en AMPc intracellulaire. S'en suit l'augmentation de l'activité de la protéine kinase A AMPc dépendante, qui permettra la phosphorylation de canaux calciques, présents dans les membranes des cellules. Après phosphorylation, ces canaux autorisent l'entrée de calcium (la fréquence d'ouverture est augmentée, le temps d'ouverture diminué). De ce fait, la contraction musculaire calcium-dépendante se voit facilitée et augmentée. Ceci explique l'effet inotrope positif. L'augmentation de la contractilité est due à l'augmentation de l'entrée de calcium induite par les récepteurs β -1-adrénergiques, ce qui fait monter la concentration du calcium dans le cytosol des cellules myocardiques.

De plus, l'adrénaline augmente la fréquence des impulsions du nœud sinusal : effet chronotrope positif. L'augmentation de la pente du prépotentiel sous l'influence du système sympathique (et de l'adrénaline) provient d'une augmentation de la conductance du calcium, g_{Ca} , et d'une diminution de la conductance du potassium, g_K . Il y a de plus activation d'un courant I_H , directement par l'AMPc, responsable de la pente de dépolarisation diastolique.

Figure 3 : molécule d'adrénaline



Ce canal (canal hyperpolarisant, appelé aussi canal HCN ou If) est responsable de l'activité automatique des cellules pacemaker. Activé en hyperpolarisation (c'est à dire à la fin de la repolarisation induite par le courant potassique), il laisse passer un courant entrant de nature mixte (Na et K). Il a donc un effet dépolarisant. Il contrôle donc la variation de potentiel au niveau de la valeur de potentiel la plus négative des cellules pacemaker (- 60 mV) en provoquant, dès la fin d'un premier PA, la génération d'un autre (par l'initiation du début de la phase de dépolarisation diastolique).

Au point de vue de sa régulation, il est contrôlé directement par l'AMPc (pas d'intervention de la kinase A). En fait l'AMPc se fixe directement sur le canal. Quand le taux d'AMPc s'élève (sous l'action de l'adrénaline), le courant IH est activé, aussi l'automatisme est stimulé (effet chronotrope positif). Inversement, quand le taux d'AMPc diminue (sous l'action de l'Acétylcholine), le courant IH est inhibé, aussi l'automatisme est réduit (effet chronotrope négatif, par diminution de la pente de dépolarisation diastolique).

Cependant, pour expliquer les effets chronotropes de l'adrénaline et de l'acétylcholine, il faut bien voir que le canal IH n'est pas le seul affecté, il y a aussi le canal calcique et le canal potassique.

Effet de l'acétylcholine

L'acétylcholine est un neurotransmetteur majeur du **système nerveux périphérique**. Dans la jonction neuromusculaire, les fibres qui libèrent l'acétylcholine sont dites **cholinergiques** ; en effet le cœur est innervé par le nerf vague qui appartient au système nerveux **parasymphatique** et dont le dernier neurotransmetteur est l'**acétylcholine**.

Ce neurotransmetteur est synthétisé à partir de la **choline** et de l'**acétylcoenzyme A** dans le cytoplasme des terminaisons pré-synaptiques, puis stockés dans des vésicules. Lors du TP, le cœur est isolé de l'organisme et donc du système nerveux, la circulation de l'acétylcholine ne se fait donc pas à travers des fentes synaptiques mais atteint le cœur par voie sanguine : l'acétylcholine n'a donc plus le rôle de neurotransmetteur mais agit alors comme une hormone.

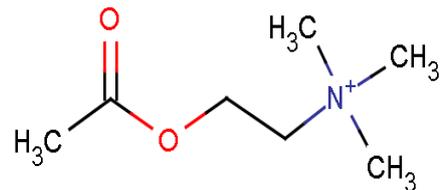
Suite à une stimulation, l'acétylcholine est libérée et va se fixer à son récepteur. On distingue 2 types de récepteurs capables de l'accueillir :

- les récepteurs nicotiniques : présents dans les cellules des muscles striés, dans le système nerveux central.
- Les récepteurs muscariniques présents dans les cellules des muscles lisses comme le cœur et également dans le système nerveux central.

Résultats :

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion d'une solution d'acétylcholine à 5.10^{-7} ».

Figure 4 : Molécule d'acétylcholine



Les résultats n'étant pas quantifiables, on se contentera d'une description du tracé : après l'injection de la solution d'acétylcholine à $5 \cdot 10^{-7}$, on note que le cœur s'arrête. Ensuite, on note la présence d'artefacts de manipulation, dus au massage cardiaque qui a été entrepris pour ramener le cœur en activité. Ensuite, les contractions reprennent progressivement.

Analyse et interprétations :

On observe quelques secondes après le passage de la solution dans le ventricule, une chute importante de l'amplitude de la contraction associée normalement à une diminution non négligeable de la fréquence cardiaque, entraînant l'arrêt.

L'acétylcholine libérée par les fibres parasympathiques du nerf vague agit sur les récepteurs muscarino-cholinergiques M2 (seule l'expérience avec l'adrénaline permettra de prouver l'implication de ces récepteurs), et a un effet chronotrope négatif. La diminution de la pente du prépotentiel (PP) et le potentiel diastolique maximal (PDM) négatif sous l'influence de l'acétylcholine proviennent d'une augmentation de la conductance du potassium, gK.

De quelle façon s'effectue l'activation de I_K ; transduction du signal non précisée.

Lorsque la fréquence cardiaque est réduite, l'entrée de calcium par unité de temps est faible (peu de potentiels d'action), ce qui offre relativement plus de temps pour la sortie de calcium. De ce fait, la concentration cytosolique moyenne en calcium se trouve réduite, donc la contractilité reste relativement diminuée. Par ce mécanisme, l'acétylcholine exerce une action inotrope négative.

Vous n'expliquez pas l'effet chronotrope négatif de l'acétylcholine

Effet de l'atropine :

Résultats :

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion de liquide de Ringer additionné d'atropine » : On observe une activité de type normal, peu de variation, que ce soit au niveau de l'amplitude que de la fréquence.

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion de liquide de Ringer contenant de l'acétylcholine à $5 \cdot 10^{-7}$ » : On ne note pas de variation, même avec une valeur seuil d'acétylcholine.

Voir la feuille annexe nommée « Mécanogramme ventriculaire du cœur isolé de grenouille en perfusion de liquide de Ringer contenant de l'adrénaline 10^{-5} »

Injection	Amplitude (mV)	Fréquence (Hz)
Avant	696,97	3,63
Après	1393,94	2,63

On note une fréquence qui diminue plutôt que d'augmenter. Cette erreur est due aux imprécisions de mesure.

Analyse et interprétations :

La perfusion d'atropine pendant 5 minutes n'a aucun effet visible sur l'activité du cœur. En effet, l'action de l'atropine est révélée seulement au moment de la perfusion de l'acétylcholine, puisque la rythmicité cardiaque reste basale même après passage de l'acétylcholine. On ne constate donc aucune inhibition de l'activité cardiaque ; l'atropine s'oppose aux actions de l'acétylcholine sur les récepteurs muscariniques. L'atropine n'empêche pas la libération de l'acétylcholine mais agit en se

combinant aux récepteurs cholinergiques : cette substance pharmacologique présente donc un pouvoir antagoniste envers l'acétylcholine.

En outre, nous pouvons affirmer que l'atropine agit spécifiquement sur les récepteurs cholinergiques. En effet, quelques minutes après le passage de l'acétylcholine, nous avons perfusé le cœur avec la solution d'adrénaline dont la concentration est celle de la valeur seuil déclenchant un effet ; le résultat est immédiat : l'amplitude et la fréquence augmentent de la même manière que l'expérience sans atropine. Par conséquent, on peut en déduire que l'atropine est un antagoniste spécifique des récepteurs cholinergiques muscariniques.

Enfin, même si cela n'apparaît pas sur notre graphique, nous savons que l'effet de l'adrénaline en présence d'atropine est supérieur à ce qui était observé préalablement en adrénaline seule. Ce phénomène peut être expliqué par la rupture de « l'équilibre » entre les effets du système parasympathique et ceux du système sympathique ; ces derniers étant favorisés lorsque l'atropine est présente, puisque l'on sait désormais qu'il s'agit d'une substance qui présente un pouvoir antagoniste envers l'acétylcholine.

Conclusion

C'est donc à travers ces quelques expériences que nous avons pu mettre en évidence certains mécanismes de régulation du rythme cardiaque. Nous n'allons pas ici faire un résumé des conclusions de chaque expérience, mais projeter nos expériences et voir plus loin, déterminer l'utilité de ces connaissances dans le cas de pathologies.

Dans le cas de maladies de type Arythmiques, c'est-à-dire des troubles du rythme cardiaque, on peut utiliser deux types de médicaments, en fonction de la modification du rythme. Dans le cas d'un rythme trop rapide (Tachycardie), on utilise des β -bloquants, des sédatifs ou des tranquillisants. Les β -bloquants empêchent la fixation de l'adrénaline, et donc son effet inotrope et chronotrope positif, le rythme cardiaque diminue. Dans le cas de bradycardie (rythme trop rapide), on utilise des dérivés atropiniques, antagonistes de l'acétylcholine, et donc répresseurs de l'activité inotrope et chronotrope négative, le rythme peut alors remonter.

En cas d'insuffisance cardiaque, on utilise principalement des tonicardiaques (digitaline, ouabaïne) et de diurétiques, mais on peut aussi utiliser des dérivés nitrés ou des inhibiteurs de l'enzyme de conversion.

En cas d'hypertension artérielle, on utilise encore une fois les diurétiques, mais aussi les β -bloquants, des inhibiteurs calciques. Dans tous ces cas, ils s'opposent à l'action de l'adrénaline, et permettent de réduire le rythme cardiaque, d'éviter que le problème ne s'aggrave.

Enfin, dans le cas des angines de poitrine, les dérivés nitrés, les inhibiteurs calciques et les digitaliques sont les médicaments les plus répandus.

On voit alors l'utilité de tests tels que les nôtres sur un cœur, de grenouille ou humain.

Il aurait été judicieux de fournir un schéma de synthèse