

1 Spé-Thème3B-Chapitre 17 : L'immunité innée TP10 : Réaction inflammatoire

Objectif : la mise en place et le fonctionnement de la réaction inflammatoire - microscopie

Observation : à faire [1spe-remo-T3-chap 17](#).

Problème : comment notre organisme réagit-il à une infection ?

Matériel : livre p. 374, blouse, microscope, frottis sanguin, lame septicémie, huîtres plus levures, Geniegen2 + fichier, Rastop + fichiers de molécules.

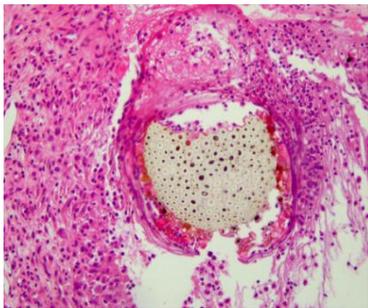
Compétences	Activités expérimentales	Capacités
Recenser, extraire, organiser et exploiter des informations Observer et comparer en microscopie	1 - La réaction inflammatoire - Identifier et expliquer les caractéristiques de la réaction inflammatoire p. 376 et p. 2. - Identifier les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire p. 377 et p. 3. Observer et comparer les frottis sanguins d'un sujet normal et d'un sujet présentant une septicémie, dessiner et légender.	- Recenser, extraire et exploiter des informations, sur les cellules et les molécules impliquées dans la réaction inflammatoire aiguë
Raisonnement avec rigueur Utiliser un logiciel de traitement de données	2 - Le déclenchement de la réaction Expliquer l'origine de la réaction inflammatoire p. 378 et p. 4. Comparer avec Geniegen2, les récepteurs TLR4 (p.4) de l'espèce humaine et d'autres vertébrés.	- Observer et comparer une coupe histologique ou des documents en microscopie avant et lors d'une réaction inflammatoire aiguë
Mettre un protocole en œuvre	3 - La phagocytose Réaliser l'ECE p. 4 et 5 ; expliquer le mécanisme de la phagocytose.	- Observer la phagocytose par des cellules immunitaires (macrophages)
Formuler une hypothèse	4 - Les suites de la réaction - Formuler une hypothèse sur le devenir de la réaction inflammatoire, p. 382 et p. 6.	- Recenser, extraire et exploiter des informations, y compris expérimentales, sur les effets de médicaments antalgiques et anti-inflammatoires.
Utiliser un logiciel de traitement de données	- Les médicaments anti-inflammatoires, expliquer comment l'aspirine ou l'ibuprofène aboutissent à une diminution des symptômes de l'inflammation, protocole p. 7 et 8.	
Communiquer dans un langage scientifique	Bilan Réaliser un schéma de synthèse permettant de montrer les différentes composantes de la réaction inflammatoire.	

Rédaction d'un compte-rendu sur feuille double faisant apparaître la démarche expérimentale.

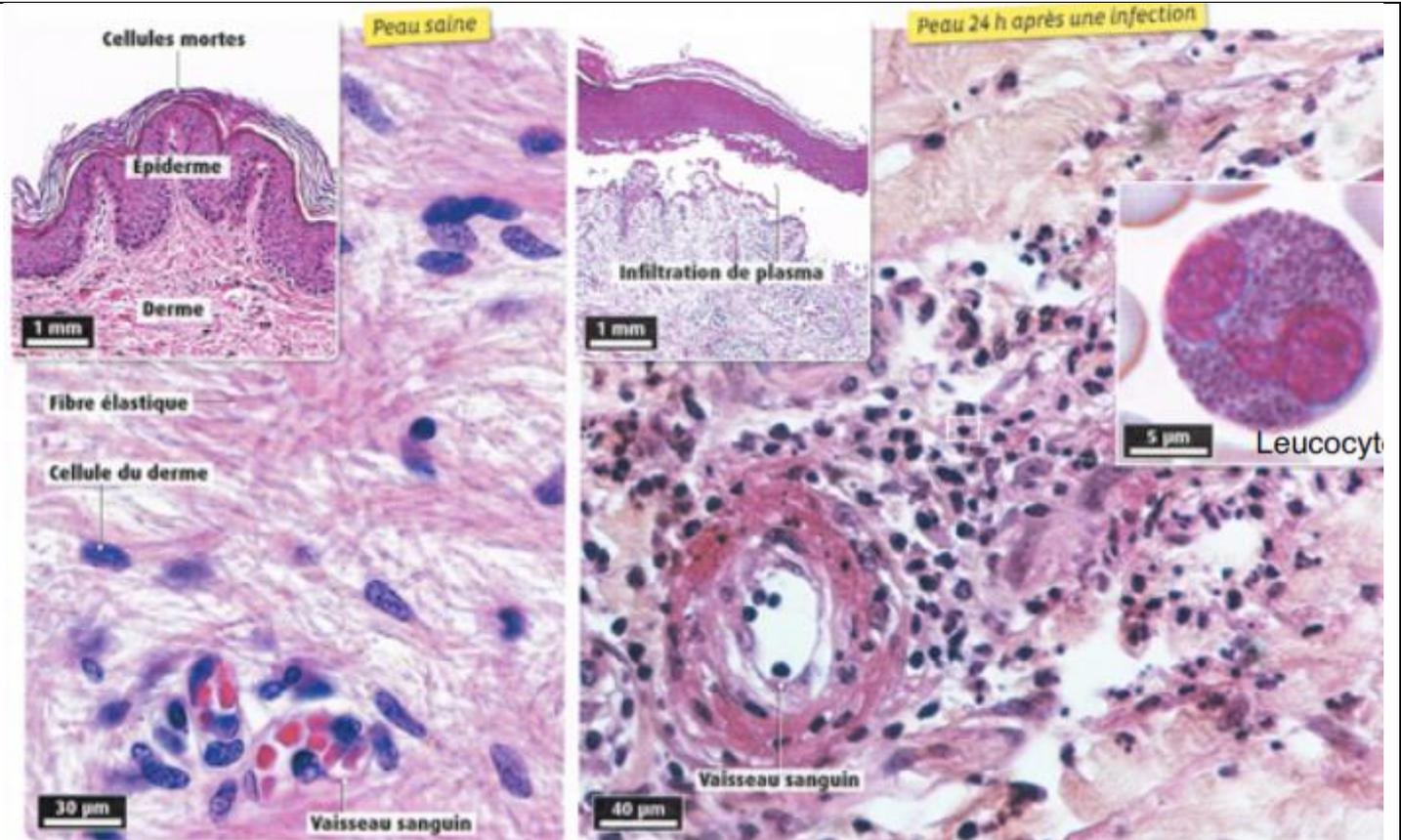
1 - La réaction inflammatoire



Inflammation causée par une épine de rosier



Coupe histologique de l'inflammation



coupe d'une peau saine et au niveau d'une inflammation

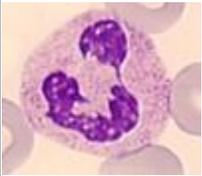
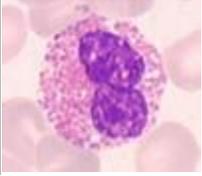
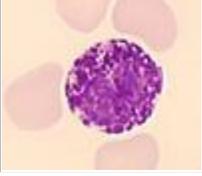
Pour info : La structure de la peau : la peau est un organe qui protège notre corps contre les agents externes tels que les UV, les microorganismes... Elle est formée de trois parties :

- l'épiderme est la couche la plus superficielle de la peau. Il est formé de kératinocytes (cellules de la peau) et de nombreuses terminaisons nerveuses. La couche externe contient des cellules mortes (= couche cornée), la couche interne est formée de cellules vivantes
- le derme est situé sous l'épiderme, il est 10 à 40 fois plus épais que celui-ci. Il est constitué principalement de fibres protéiques telles que l'élastine et le collagène qui assurent sa résistance, son extensibilité et son élasticité. Contrairement au derme, il est vascularisé, contient les bulbes des poils, et des glandes (sébacées et sudoripares)
- l'hypoderme est la couche la plus profonde et la plus épaisse. Les adipocytes sont les principales cellules présentes, elles servent à stocker les graisses. Cette couche joue donc un rôle de réserve et d'isolant thermique.

1 Spé-Thème3B-Chapitre 17 : L'immunité innée TP10 : Réaction inflammatoire

Les cellules du sang

Tableau de classification des différents leucocytes (globules blancs).

	Nom	% des leucocytes totaux	Fonction principale
	<u>Granulocytes neutrophiles</u>	40 - 70 %	<u>Phagocytose</u> des bactéries (attirés par les chimiokines des macrophages)
	Granulocytes éosinophiles	1 - 4 %	Destruction des vers parasites
	Granulocytes basophiles et mastocytes	0,5 - 1 %	Libération de médiateurs chimiques - héparine, anticoagulant dans la réaction inflammatoire - histidine dans l'allergie
	<u>Monocytes</u>	4 - 8 %	<u>Phagocytose</u> Les monocytes immatures se transforment dans les tissus en <u>macrophages</u> (partout) ou en <u>cellules dendritiques</u> (épiderme, thymus)
	Lymphocytes B	20 - 45 %	Production d'anticorps (réponse humorale)
	Lymphocytes T		Attaque des cellules infectées (réponse cellulaire)
Aspect LB ou LT	Cellules NK Natural killer		La cellule NK est spontanément une cellule tueuse envers toutes les cellules malades (cancer)

Les macrophages résidents portent chacun une appellation caractéristique suivant le tissu dans lequel il se trouve : les cellules de Kupffer dans le foie, les cellules microgliales dans les tissus nerveux, les macrophages alvéolaires dans les poumons...

Le mastocyte est une variété de leucocytes jouant un rôle dans les allergies. Il est habituellement situé au niveau des tissus conjonctifs (poumons, ganglions lymphatiques, rate). Il contient (histamine, héparine, sérotonine et des enzymes diverses). Tout comme le polynucléaire basophile, le mastocyte a donc plusieurs effets : activation et amplification de la réaction inflammatoire, diminution de la coagulation sanguine, augmentation de la perméabilité des capillaires facilitant la diapédèse.

1 Spé-Thème3B-Chapitre 17 : L'immunité innée TP10 : Réaction inflammatoire

2 - Le déclenchement de la réaction

Les pathogènes (bactérie, virus, parasite) ont à la surface de leurs cellules des motifs moléculaires caractéristiques appelés PAMP (Pathogen Associated Molecular Pattern). Ces motifs moléculaires sont d'origines très diverses et de natures variées (protéine, glucide, acide nucléique). Les globules blancs ont à leur surface des récepteurs cellulaires, les PRR (Pattern Recognition Receptor) capables de reconnaître les PAMP. Les TLR (Toll-like receptors) sont une catégorie de PRR (ils interviennent au cours des mécanismes de l'immunité innée).

Les récepteurs TLR sont présents chez les mammifères et de nombreux vertébrés (poissons, amphibiens, reptiles et oiseaux), mais également chez les invertébrés et chez certaines plantes sous des formes structurales légèrement différentes. D'un point de vue évolutif, les TLR constituent un des plus anciens composants du système immunitaire et seraient apparus avant même la séparation entre les animaux et les végétaux.

3 - La phagocytose

Fiche sujet – candidat (1/2)

Mise en situation et recherche à mener

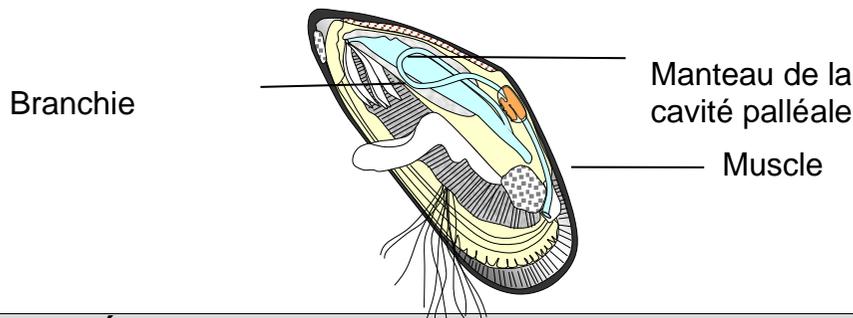
Un mytilculteur (éleveur de moules) fait face à une mortalité anormale de ses moules. Les services vétérinaires détectent la présence d'un pathogène. Certains mécanismes de l'immunité innée sont capables d'éliminer les pathogènes. Un ostréiculteur rencontre le même problème.

On cherche à vérifier que l'huître dispose des mêmes mécanismes de l'immunité innée.

Ressources

Les moules ont un système circulatoire semi-ouvert : le fluide circulant ou hémolymphe passe par le cœur, les vaisseaux sanguins et la cavité palléale.

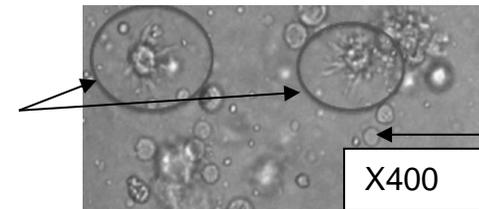
Plan d'organisation d'une moule



L'immunité innée est caractérisée entre autres par la présence de systèmes de reconnaissance de signaux de danger, de cellules phagocytaires et par la production de molécules inflammatoires.

Les moules possèdent des cellules, les hémocytes, présents dans la cavité palléale et capables de phagocytose.

Hémocytes avec prolongements cytoplasmiques en forme d'étoile (pseudopodes)



Agent pathogène

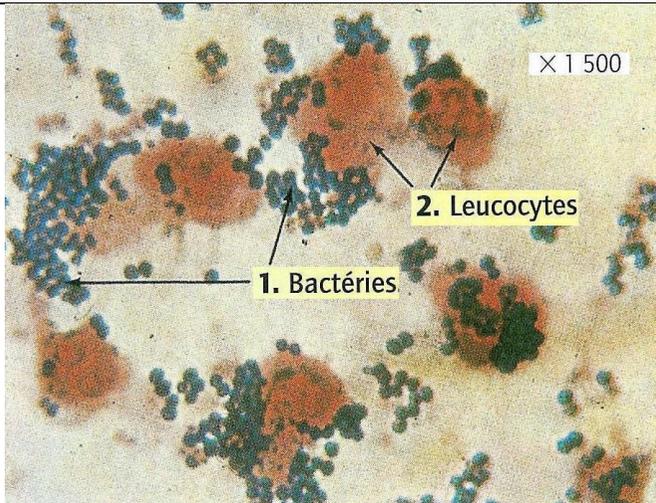
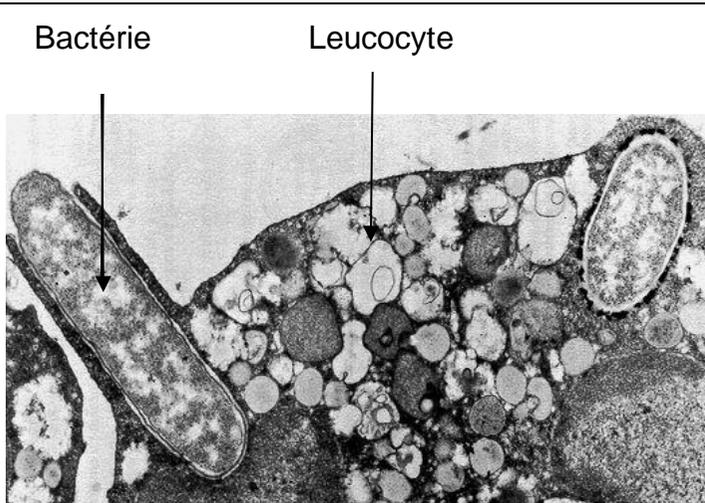
Étape 1 : Concevoir une stratégie pour résoudre une situation problème (durée recommandée : 10 minutes)

Proposer une stratégie de résolution réaliste, permettant de vérifier que l'huître dispose des mêmes mécanismes de l'immunité innée en observant.

Appeler l'examineur pour présenter oralement votre proposition et obtenir la suite du sujet.

Étape 2 : Mettre en œuvre un protocole de résolution pour obtenir des résultats exploitables
Mettre en œuvre le protocole d'observation microscopique du liquide de la cavité palléale afin de vérifier que l'huître dispose des mêmes mécanismes de l'immunité innée. Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.
Étape 3 : Présenter les résultats pour les communiquer
Sous la forme de votre choix, présenter et traiter les données brutes pour qu'elles apportent les informations nécessaires à la résolution du problème. Répondre sur la fiche-réponse candidat, appeler l'examineur pour vérification de votre production.
Étape 4 : Exploiter les résultats obtenus pour répondre au problème
Exploiter les résultats pour vérifier que l'huître dispose des mêmes mécanismes de l'immunité innée. Répondre sur la fiche-réponse candidat.

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel	
<p>Matériel :</p> <ul style="list-style-type: none"> - levures (5mL à 10 g/L + bleu de méthylène 6 gouttes à 6 g/L) - introduire les levures dans la cavité palléale de l'huître 30 minutes avant l'observation - seringue de 1 ml, microscope + lame + lamelle 	<p>Afin de vérifier que l'huître dispose des mêmes mécanismes de l'immunité innée :</p> <ul style="list-style-type: none"> - prélever le liquide de la cavité palléale et l'observer au microscope. <p>Appeler l'examineur pour vérifier le résultat et éventuellement obtenir une aide.</p>

 <p style="text-align: right;">× 1 500</p> <p>1. Bactéries</p> <p>2. Leucocytes</p> <p>Derme lors d'une réaction inflammatoire</p>	 <p>Bactérie</p> <p>Leucocyte</p> <p>Phagocytose</p>
--	--

1 Spé-Thème3B-Chapitre 17 : L'immunité innée TP10 : Réaction inflammatoire

4 - Les suites de la réaction : le système immunitaire

A) Les organes lymphoïdes primaires ont la capacité de produire, et/ou de provoquer la prolifération et la maturation des lymphocytes. Ils correspondent à la moelle osseuse et au thymus.

- La moelle osseuse, c'est la partie centrale des os, seuls les os courts et plats (sternum, côtes, vertèbres...) ont une activité hématopoïétique (production des cellules).
- Le thymus, situé sous le sternum, il joue un rôle primordial dans la différenciation des lymphocytes T ; il renferme des cellules dendritiques, des LT immatures, des macrophages.

B) Les organes lymphoïdes secondaires sont des lieux de concentration des lymphocytes, au niveau desquels s'effectue l'activation de la réponse immunitaire adaptative

- Les ganglions lymphatiques, ils sont répartis dans tout l'organisme. Ils sont traversés par les vaisseaux lymphatiques qui transportent la lymphe. Les ganglions jouent un rôle principal dans la maturation des cellules immunitaires, et la rencontre des cellules
- La rate est un organe abdominal à gauche. Elle est branchée sur la circulation sanguine. Elle régule la formation et de la destruction des hématies (stockage du fer), est un lieu de rencontre avec l'AG.
- Les amygdales, organes en amande, important par leur proximité avec les voies respiratoires.
- Les plaques de Peyer, au niveau de la paroi intestinale dans la partie terminale de l'intestin grêle.

C) Des cellules (voir p. 3.)

D) Les molécules

- Les cytokines (protéines et glycoprotéines) sont de petites molécules synthétisées par les cellules du système immunitaire qui se fixent sur des récepteurs cellulaires et provoquent des actions.

Interférons (ils sont produits en réponse à la présence d'une double hélice d'ADN étranger dans l'organisme)

Interleukines (IL-1 à 35).

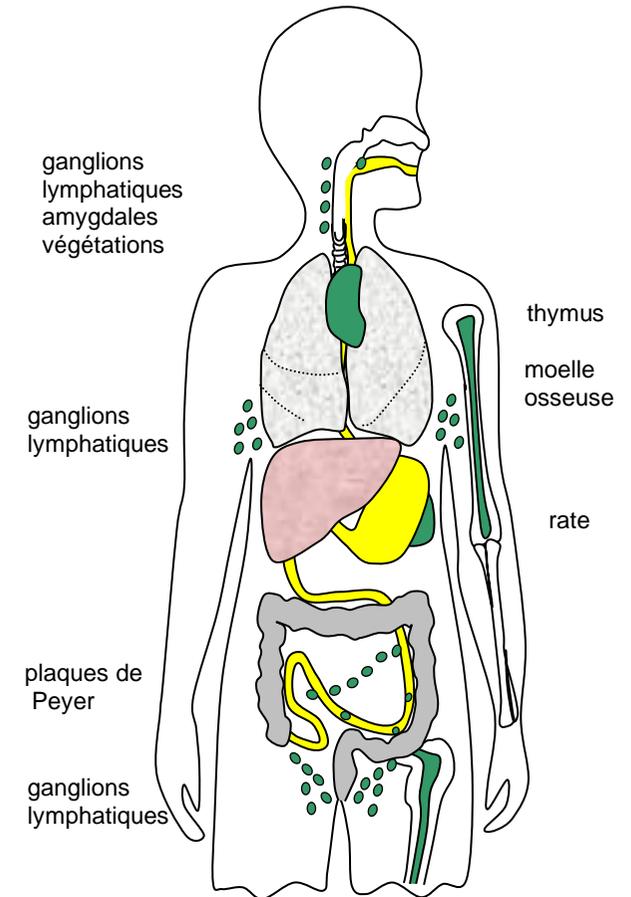
IL1 : sécrétée par les macrophages, elle induit la phase de réaction aiguë, ainsi qu'une stimulation des Lymphocytes T.

IL2 : sécrétée par les lymphocytes T4, stimule la prolifération lymphocytaire et la différenciation de la réponse Th.

Chimiokines (chimiotactique au moins 40). La famille du facteur de nécrose tumorale (TNF).

Les facteurs de croissance de transformation (TGF) (cicatrisation et le contrôle négatif de l'inflammation).

- Les Prostaglandines (PG) (lipides) ex acide arachidonique.



1 Spé-Thème3B-Chapitre 17 : L'immunité innée TP10 : Réaction inflammatoire

4 - Les suites de la réaction : les médicaments antidouleur

Doc 1 : les prostaglandines (PG) (lipides).

Parmi les molécules synthétisées lors de la réaction inflammatoire, certaines PG provoquent une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité vasculaire et la douleur.

Les étapes de la synthèse des PG :

Molécules de la membrane $\xrightarrow{\text{Phospholipase}}$ Acide arachidonique $\xrightarrow{\text{Cyclo-oxydase (COX)}}$ Prostaglandine H et G $\xrightarrow{\text{Prostaglandine synthase}}$ Prostaglandines E, F, G

INFLAMMATION

Doc 2 : les conditions de synthèse de la cyclo-oxygénase (COX) dans les monocytes ou granulocytes.

On fait incuber un nombre défini de monocytes et de granulocytes en présence d'une concentration de 10 µg/mL de LPS (molécule de la paroi de nombreuses bactéries) pendant différents temps : 0,1 ; 2,5 et 4,5 heures. On traite ensuite la culture de manière à récupérer le cytoplasme des cellules, et on effectue une électrophorèse qui sépare les molécules de COX des autres protéines.

La coloration des protéines COX donne les résultats suivants :

	Temps en heures			
	0	1	2,5	4,5
COX isolée : sa quantité est proportionnelle à la dimension et à l'intensité des taches colorées .				

Doc 3 : mode d'action moléculaire des enzymes et de l'ibuprofène.

Les enzymes sont des protéines constituées d'acides aminés. Pour agir, l'enzyme doit former un complexe enzyme-substrat. Cette liaison avec la molécule de substrat est suivie de la libération des produits de la réaction. Ce contact s'établit au niveau d'une zone particulière de l'enzyme, zone en creux et complémentaire de forme d'une partie de la molécule de substrat que l'on nomme le site actif. Le site actif est constitué de quelques acides aminés qui assurent une liaison temporaire avec le substrat spécifique ce qui permet le déroulement de la réaction.

1 Spé-Thème3B-Chapitre 17 : L'immunité innée TP10 : Réaction inflammatoire

À l'aide de Rastop : Utiliser la fiche technique du logiciel pour mettre en évidence judicieusement certaines parties des molécules. Afficher en boules et bâtonnets, et atome colorer par chaîne.

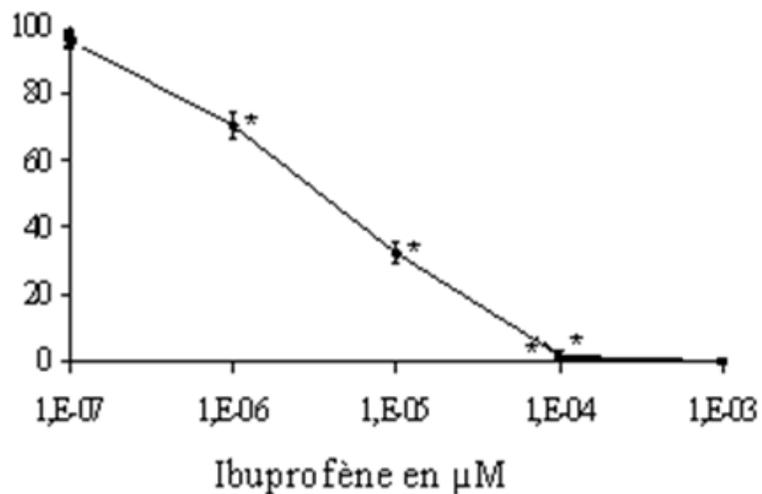
- Ouvrir la molécule d'acide arachidonique (nom de la chaîne : **ACD700**).
 - Ouvrir le complexe COX (enzyme) + acide arachidonique (substrat) : la COX est nommée **chaîne A** ; l'acide arachidonique est appelé **ACD700**.
 - Ouvrir le complexe COX (enzyme) + aspirine (acide acétylsalicylique nommée SAL).
- Des études de biologie moléculaire ont montré que la molécule d'aspirine (SAL) se fixe sur l'**acide aminé 120 (Arginine)** de la COX et de ce fait interagit avec les **acides aminés 385 (tyrosine) et 530 (sérine)** de l'enzyme.
- ouvrir le complexe (enzyme) + ibuprofène (nommé IBP 701).

Proposer une hypothèse sur le mode d'action des médicaments.

Doc 4 : influence de l'ibuprofène sur l'activité de la COX.

Données expérimentales

% d'activité



Mesure de l'activité de l'enzyme COX en présence de concentrations croissantes d'ibuprofène (10^{-7} à 10^{-3} μM).

Remarque : en absence d'ibuprofène, on mesure l'activité d'une quantité "Q" de COX et on lui attribue la valeur 100 % d'activité. On ajoute ensuite à la même quantité "Q" de COX une quantité "q" d'ibuprofène, puis on mesure l'activité de l'enzyme (c'est-à-dire la synthèse de prostaglandine à partir de l'acide arachidonique).