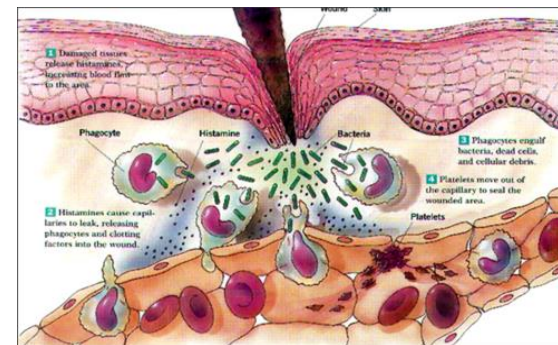





THEME 3B - Variation génétique et santé

TP1 - La réaction inflammatoire, manifestation de l'immunité innée

Votre ami se blesse au bras en chutant à VTT. La plaie a peu saigné mais, deux jours plus tard, sa plaie est gonflée, rouge et purulente. Il se rend chez le médecin qui lui diagnostique une réaction inflammatoire aiguë. Une épine est ôtée, sa plaie nettoyée et désinfectée. La pénétration d'une épine dans la peau provoque des **symptômes** déjà vécus par tous : **rougeur, chaleur, gonflement et douleur**. Ces signes témoignent de la mise en place d'une **réponse immunitaire innée** : la **réaction inflammatoire** qui contribue à éliminer les **éléments extérieurs à l'organisme (non soi)**.



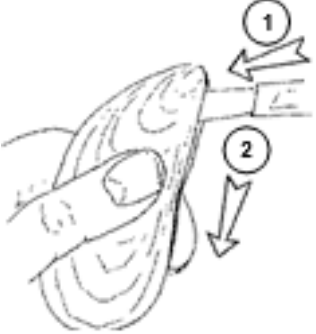
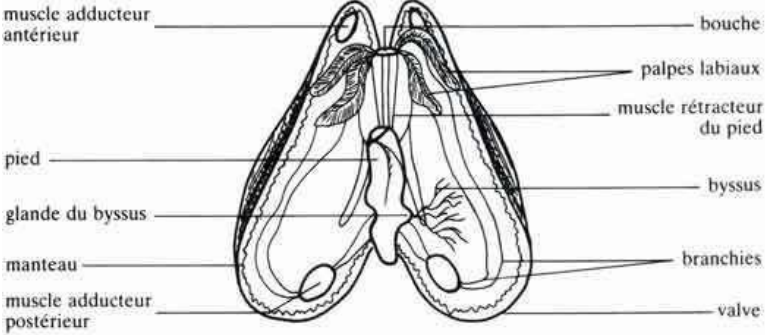
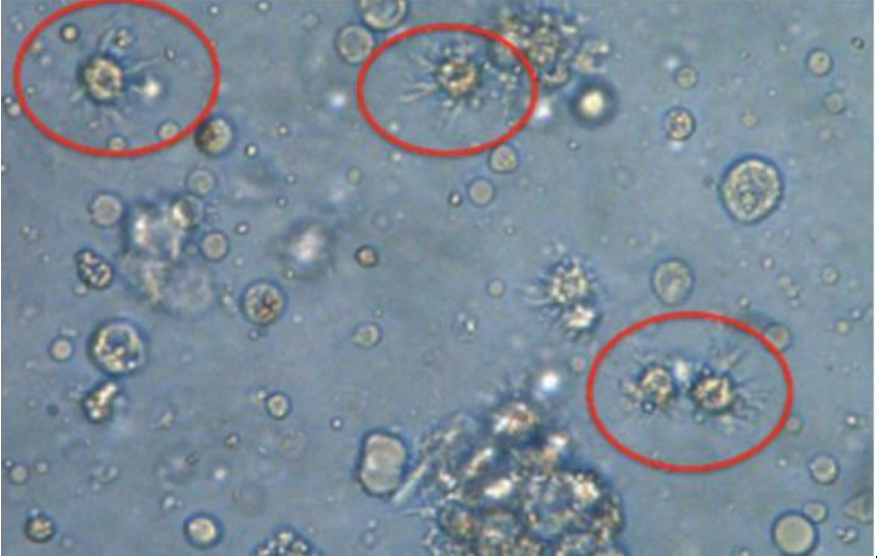
Problématique : Comment la réaction inflammatoire peut-elle reconnaître puis éliminer les éléments du non-soi ?

<p>Matériel :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Documents 1 à 7 et Manuel BELIN p292 à 295 ; p298 à 299 et p301 - Microscope optique, lames, lamelles, lames de peau infectée, bleu de méthylène - Moule et matériel à dissection (pince, scalpel peu coupant, pipette pasteur), solution de levure 5g/L - PC équipé des logiciels LibMol et GenieGen2 	<p>Aides :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Fiche protocole « Observation de la phagocytose » - Animation « Phagocytose.swf » (sur le réseau) - Animation Canopé « Réaction inflammatoire » (voir flash code) 
--	---

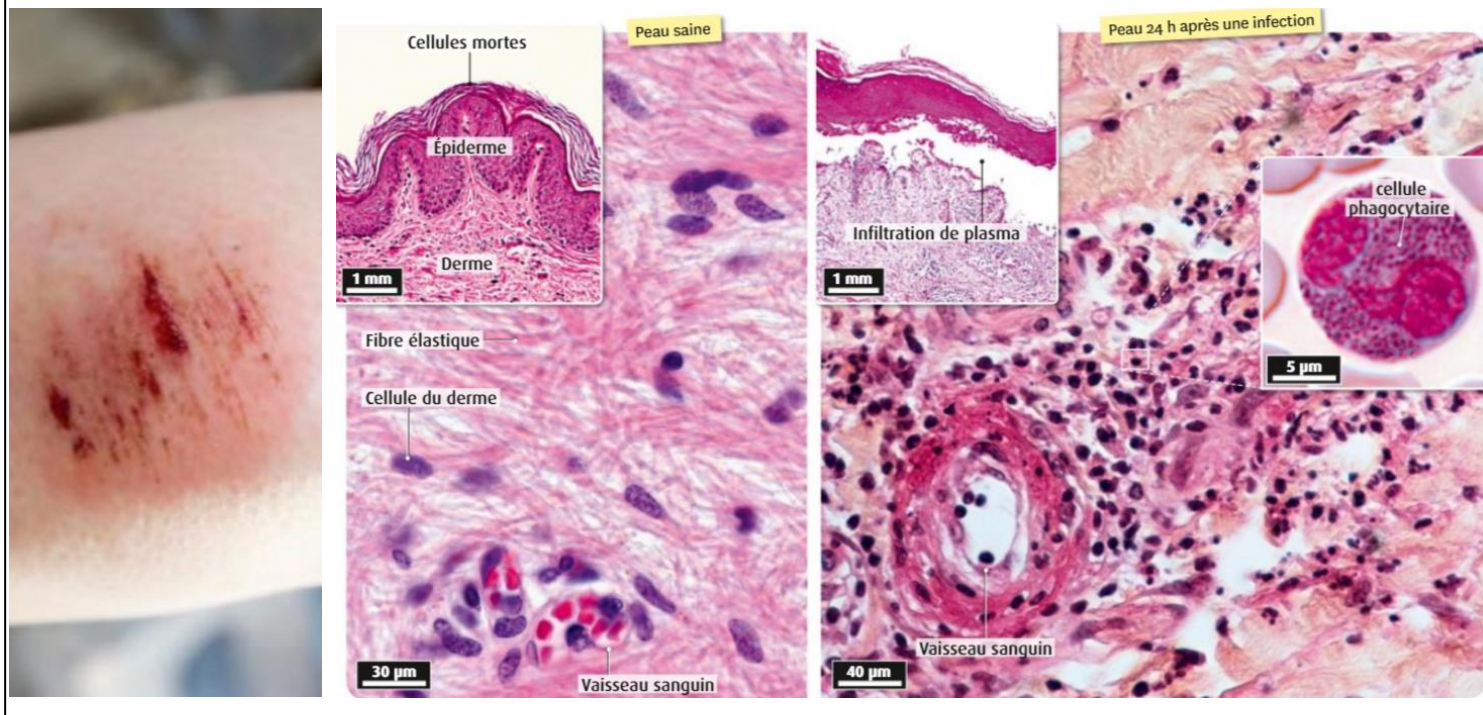
Activités et déroulement des activités	Capacités et Critères de réussite
<p>ETAPE 1 : Proposez une stratégie expérimentale</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Proposez une stratégie permettant d'identifier comment la réaction inflammatoire permet de reconnaître puis d'éliminer les éléments du non-soi. 📞 Appelez le professeur pour vérification <p>ETAPE 2 : Mettez en œuvre le(s) protocole(s) proposé(s)</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Utilisez le logiciel LibMol pour identifier l'interaction entre le récepteur TLR4 et des composés du non-soi. ➤ Utilisez le logiciel GenieGen2 pour comparer les séquences ADN des récepteurs TLR4 chez différents Vertébrés pour montrer que ces récepteurs sont conservés. ➤ Réalisez la manipulation proposée (Fiche Protocole) afin de visualiser le comportement des coelomocytes de moule en présence de levures 📞 Appelez le professeur pour vérification <p>ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats sous la forme la plus appropriée</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Votre production comprendra un schéma fonctionnel récapitulant les étapes de la réaction inflammatoire (s'aider du bilan p301). <p>ETAPE 4 : Répondez au problème initial</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Résumez vos observations dans un court texte qui détermine comment la réaction inflammatoire peut reconnaître puis éliminer les éléments du non-soi. <p>En fin de séance, rangez le matériel et fermez la session informatique</p>	<p>Recenser, extraire des informations <i>Qu'est-ce que je fais, Comment je le fais, A quoi je m'attends ?</i></p> <p>Réaliser une manipulation en suivant un protocole expérimental <i>Respecter les règles de sécurité (ne pas se couper), Travailler proprement et calmement, conserver du liquide coelomique (ne pas le perdre)</i></p> <p>Utiliser un logiciel de traitement de données (LibMol) <i>Rechercher dans la banque de données « TLR4 » et charger le fichier. Afficher les parties protéiques sous forme de rubans, colorés par chaînes. Afficher le LPS (« Autre ») sous forme de sphères, coloré en vert.</i></p> <p>Utiliser un logiciel de traitement de données (GenieGen2) <i>Ouvrir la banque de séquences, rechercher TLR4, aligner les séquences (AltGr+A, afficher la matrice (en pourcentage de différences) et l'arbre phylogénétique (phénogramme).</i></p> <p>Présenter les résultats à l'écrit (SCHEMA) <i>Techniquement correct, bien renseigné, organisé pour répondre à la question</i></p> <p>Rédiger un texte scientifique <i>On a vu que, Or on sait que, Donc</i></p> <p>Gérer et organiser le poste de travail</p>

PROTOCOLE

Visualisation de la phagocytose des cœlomocytes de Moule

Matériel disponible et protocole d'utilisation du matériel		
<p><u>Matériel :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - une moule vivante - cuvette à dissection - 1 pince fine, scalpel, gants - 1 microscope - lames et lamelles - papier absorbant - une pipette pasteur - solution de levure à 5g/L - Bleu de méthylène <p><u>Ressource :</u> https://vimeo.com/309070658</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réaliser le prélèvement de liquide cœlomique de moule (selon le protocole ci-dessous) - Observer au microscope l'interaction entre les cœlomocytes et les levures 	
	1- Prélèvement du liquide cœlomique	2- Préparation de la lame microscopique
	<ul style="list-style-type: none"> - Ouvrir la moule en insérant le scalpel au niveau de la « pointe » et sur la face « droite » de la moule (voir schéma ci-dessous) et couper les muscles adducteurs antérieurs.  <ul style="list-style-type: none"> - Progresser vers vous avec le scalpel pour couper les muscles adducteurs postérieurs (voir sur la figure ci-dessous).  <p style="text-align: center;">Face ventrale, ouverte</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Prélever du liquide cœlomique (cavité interne) de la moule avec la pipette pasteur - Déposer une goutte de liquide sur la lame - Ajouter une goutte de solution de levure - <i>Facultatif : colorer au bleu de méthylène</i> - Placer la lamelle - Observer au microscope optique (x400) <p>Chez l'huître, l'observation microscopique montre des cellules avec des prolongements (pseudopodes) qui forment des filaments qui entourent les corps étrangers.</p>  <p style="text-align: center;">Photographie de cœlomocytes d'huîtres (MO x400)</p>

Document 1 : Des observations de la zone lésée à l'œil nu et au microscope



Document 2 : L'analyse de sang du patient



Laboratoire de biologie médicale

Dossier n°2702 017 du 28/04/2012
 Patiente née le 01/08/1970

Prélèvement effectué par le laboratoire.

SANG

HÉMOGRAMME

VALEURS NORMALES

Globules blancs	12 000 par mm^3	1 000 – 10 000
Globules rouges	5 480 000 par mm^3	4 500 000 – 5 500 000
Hémoglobine	16,5 g / 100 mL	13 – 17
Hématocrite	46,6 %	40 – 54

VGM	85 μm^3	80 – 100
TCMH	30,1 pg	27 – 33
CCMH	35,4 g / 100 mL	32 – 37

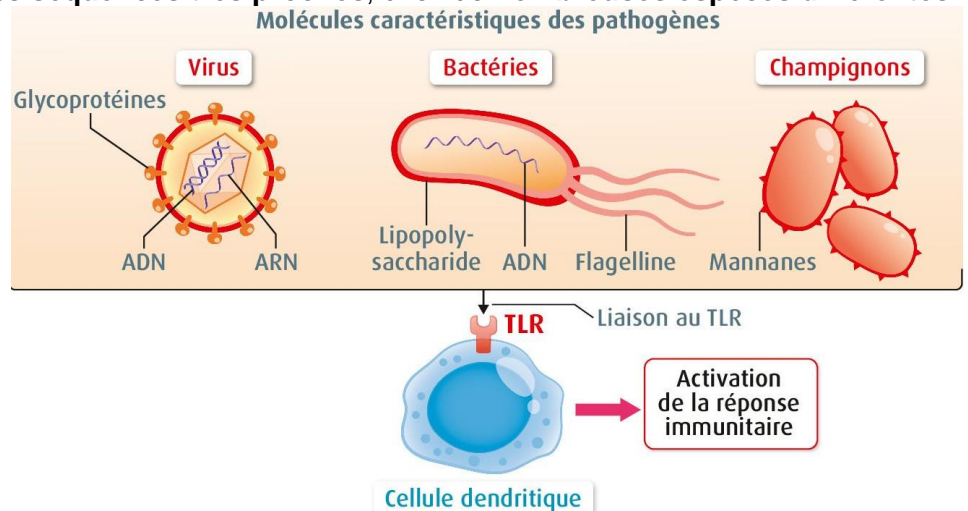
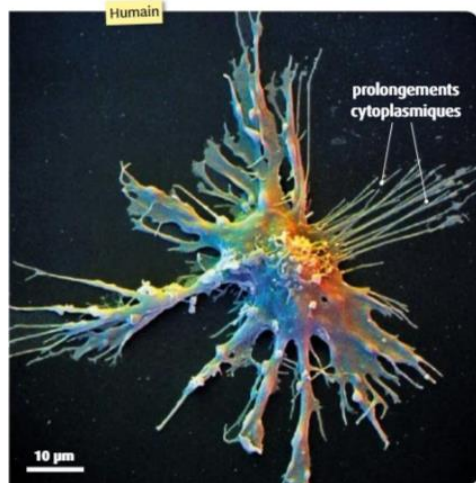
FORMULE LEUCOCYTAIRE

POLYNUCLÉAIRES			
NEUTROPHILES	8 000 / mm^3	1 000 – 7 000	
ÉOSINOPHILES	500 / mm^3	< 500	
BASOPHILES	450 / mm^3	< 200	
LYMPHOCYTES	3 500 / mm^3	1 000 – 4 000	
MONOCYTES	1 800 / mm^3	100 – 1 000	
PLAQUETTES	173 000 / mm^3	150 000 – 400 000	

Document 3 : Les cellules sentinelles et le déclenchement de la réaction inflammatoire

Les **cellules sentinelles** sont des cellules immunitaires présentes en permanence dans les tissus telles que les **cellules dendritiques**, les **mastocytes** et les **granulocytes**. Sur leurs membranes plasmiques, ces cellules expriment des **récepteurs** de l'immunité innée tels que les **récepteurs TLR (Toll Like Receptor)** ou plus généralement les **PRR (Pattern Recognition Receptor)** pour désigner ces récepteurs cellulaires capables de reconnaître des motifs moléculaires caractéristiques des pathogènes, motifs appelés **PAMP (Pathogen Associated Molecular Patterns)**.

Ces récepteurs reconnaissent des **composants universels** des bactéries, des champignons, des virus et même des cellules lésées de l'organisme ... Grâce à ces récepteurs, les cellules sentinelles sont capables de détecter la plupart des agents infectieux ou des situations potentiellement dangereuses pour l'organisme. Ces récepteurs sont **conservés** : ils ont des **séquences très proches**, chez de **nombreuses espèces différentes**.



Document 4 : La production de médiateurs chimiques de l'inflammation

Dès que les cellules sentinelles ont effectué la reconnaissance d'élément du non-soi, elles libèrent des **médiateurs chimiques de l'inflammation (MCI)**. On a identifié plusieurs dizaines de molécules jouant ce rôle, dont l'**histamine**, les **prostaglandines** et les **cytokines**. Ces molécules contribuent à la mise en place de la réaction inflammatoire aiguë.

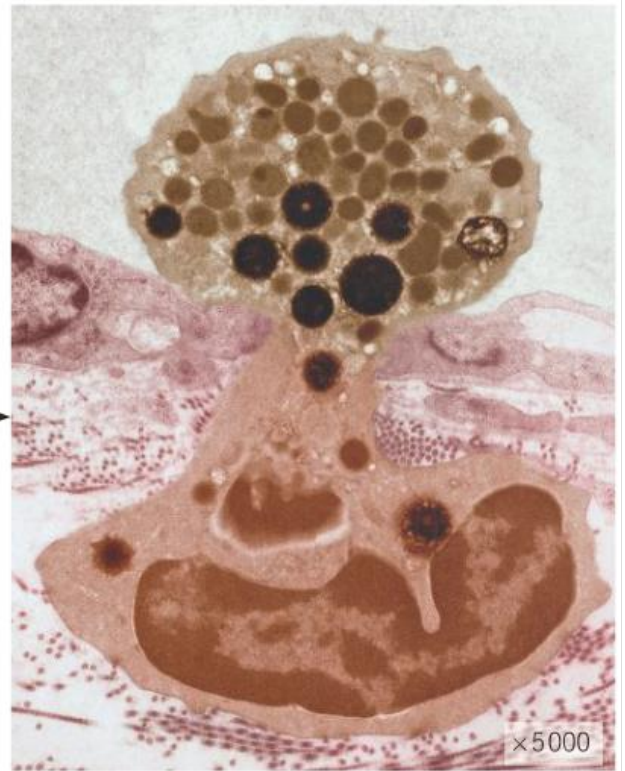
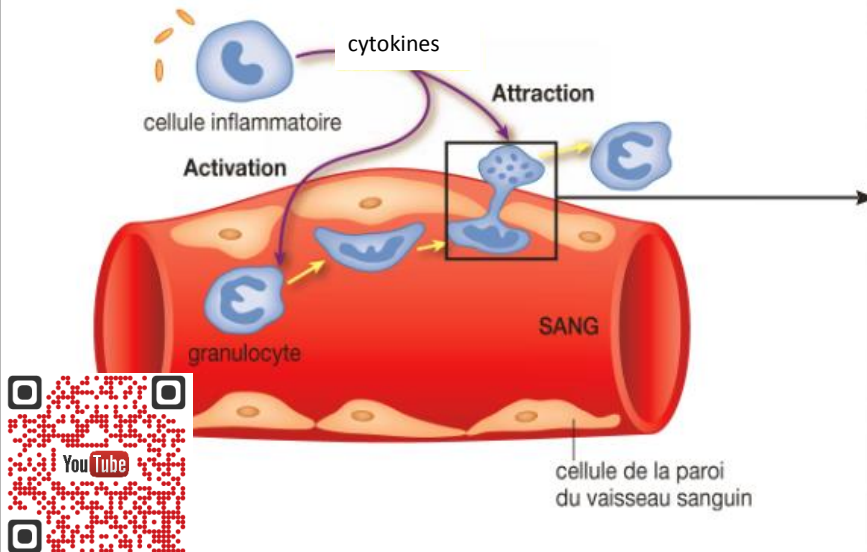


5 Des mastocytes en culture (au MET, fausses couleurs). Les granules cytoplasmiques des mastocytes, ainsi que ceux des macrophages et des cellules dendritiques, contiennent des molécules appelées médiateurs chimiques de l'inflammation tels que les interleukines, le TNF ou l'histamine. Lorsque les récepteurs TLR de ces cellules sont stimulés, ces médiateurs sont libérés au niveau du site infecté.

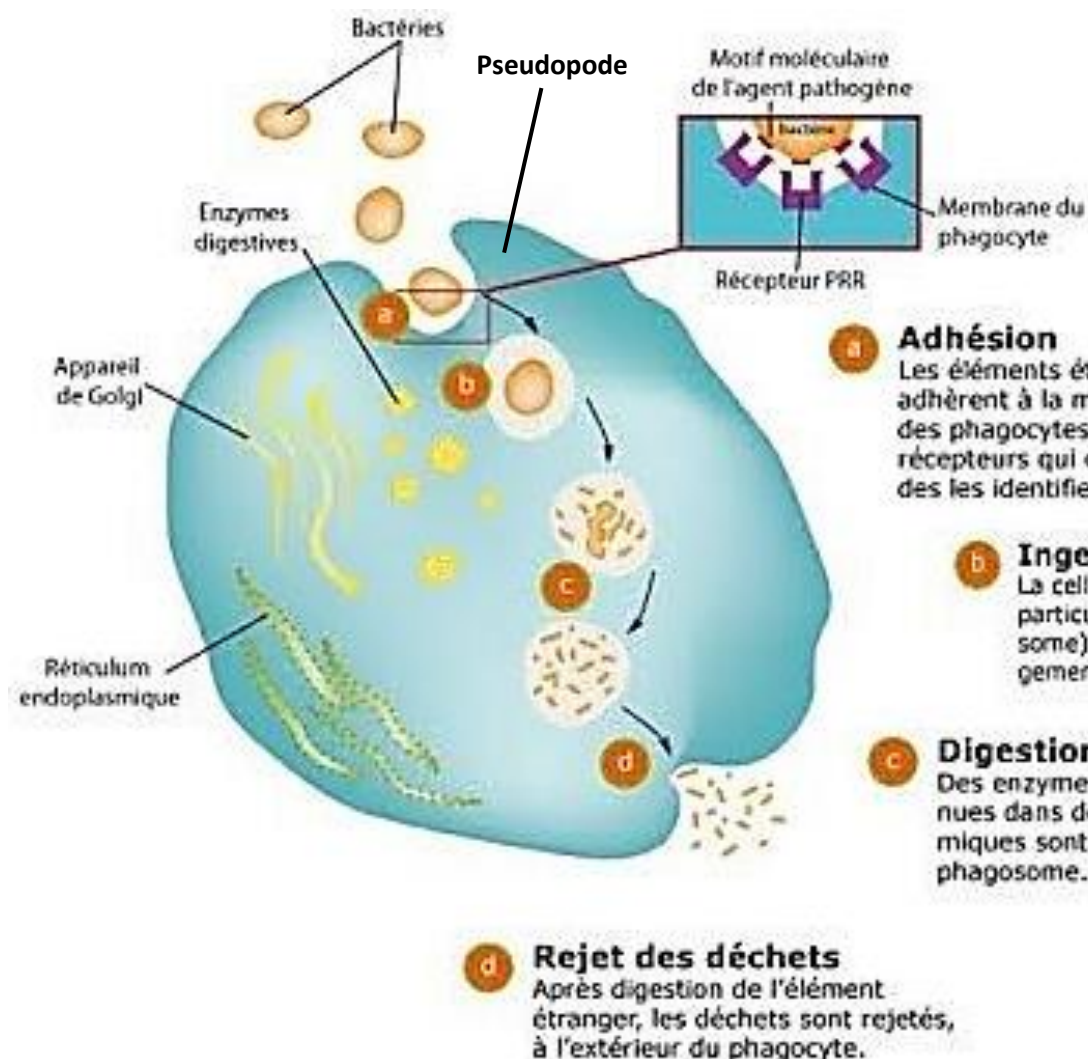
Molécule	Cellule sécrétrice	Effets physiologiques
Histamine	Mastocytes	Vasodilatation et augmentation de la perméabilité vasculaire
Prostaglandines	Cellules dendritiques mastocytes	- Vasodilatation - Douleur (fibres nerveuses sensibles aux prostaglandines) Fièvre (action de des neurones connectés à l'hypothalamus, présent dans le cerveau)
Cytokines	Cellules dendritiques Mastocytes Macrophages	Augmentation du recrutement des leucocytes (attraction par chimiotactisme) Facilitation du passage de la diapédèse (production de molécule d'adhésion sur la membrane des cellules des vaisseaux).

Document 5 : La diapédèse et le passage des globules blancs du sang vers les tissus

Les cellules immunitaires présentes dans les tissus altérés (mastocytes, macrophages) et les cellules de la paroi des vaisseaux libèrent des substances qui attirent d'autres cellules de l'inflammation. Certains leucocytes (en particulier des granulocytes) se déforment et s'insèrent entre les cellules de la paroi du vaisseau pour gagner l'espace tissulaire dans la zone œdémateuse. C'est la **diapédèse**.



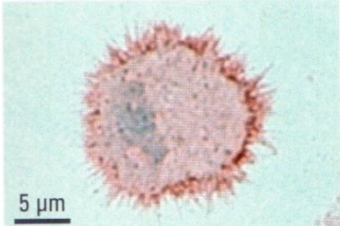
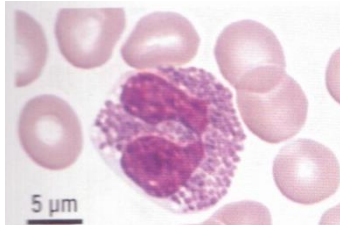
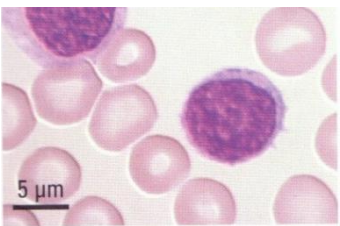
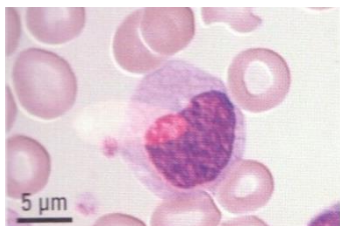
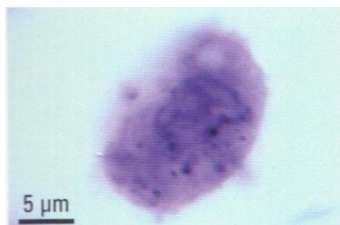
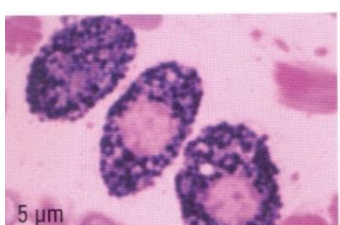

Document 6 : La phagocytose et l'élimination des composés du non-soi



Vidéo correspondant à l'animation « Phagocytose.swf »

Document 7 : Les différents leucocytes et leurs caractéristiques

Dans le sang, les principaux leucocytes visibles sont les granulocytes (70 % des leucocytes du sang), les lymphocytes (25 %) et les monocytes (5 %).

Leucocyte	Photographie	Diamètre moyen	Rôles principaux
Cellule dendritique	 5 µm	Variable	<ul style="list-style-type: none">- Phagocytose- Cellule présentatrice de l'antigène- Sécrétion de médiateurs chimiques de l'inflammation
Granulocyte	 5 µm	12 à 14 µm	<ul style="list-style-type: none">- Cellule au noyau à plusieurs lobes- Phagocytose- Sécrétion de médiateurs chimiques de l'inflammation
Lymphocyte	 5 µm	7 à 9 µm	<ul style="list-style-type: none">- Cellule avec un gros noyau- 2 types : Lymphocytes T et B- Réponse immunitaire adaptative (production d'anticorps & destruction des cellules infectées)
Monocyte	 5 µm	20 µm	<ul style="list-style-type: none">- Cellules au noyau à un seul lobe. Présents dans le sang- Peuvent traverser la paroi des vaisseaux et se transformer en macrophages- Phagocytose- Sécrétion de médiateurs chimiques de l'inflammation
Macrophage	 5 µm	30 à 60 µm	<ul style="list-style-type: none">- Proviennent des monocytes sanguins, noyau arrondi- Phagocytose- Sécrétion de médiateurs chimiques de l'inflammation
Mastocyte	 5 µm	8 à 20 µm	<ul style="list-style-type: none">- Cellule contenant de nombreux granules sombres- Sécrétion d'histamine et de prostaglandines
Plasmocyte	 5 µm	8 à 20 µm	<ul style="list-style-type: none">- Cellule sécrétrice d'anticorps (issu d'un lymphocyte B)