



## THEME 3C - Comportement et stress

### TP2 - La phase de résistance et la résilience

A l'approche des examens, Mathis est de plus en plus débordé dans ses révisions. Il lui semble que le **stress** est vraiment trop important et cela lui pose des problèmes : il est **fatigué**, **irritable**, il a souvent **mal à la tête**, il pense même avoir **perdu du poids**. De plus, il trouve que d'autres élèves de la classe ne sont pas aussi sensibles que lui au stress. Pauline, elle, gère plutôt bien son stress, avec une aisance qui désespère Mathis. Pauline lui explique que ce stress est appelé **phase de résistance** et que cela dépend d'une hormone, le **cortisol** qui permet de « tenir le coup » : c'est l'**adaptabilité** de l'organisme.



Les 3 phases du stress : l'alarme, la résistance et l'épuisement

**Problème :** Comment est régulée la production de cortisol pour permettre l'adaptabilité de l'organisme ?

#### Matériel et données :

- Manuel BELIN p482 à 487 et Documents 1 à 4
- Test ELISA : solutions de cortisol de concentrations connues, extrait salivaire de Pauline et Mathis, solution d'anticorps anti-cortisol, solution de révélation, eau distillée, solution de lavage
- PC équipé du logiciel Edu'Modèles

#### Aides et supports :

- Fiche Protocole « Doser le cortisol »
- Fiche Protocole « Réaliser un modèle du stress »
- Fiche Technique « Edu'Modèles »

Propositions d'activités	Capacités / Critères de réussite
<p><b><u>ACTIVITE : La phase de résistance et la résilience</u></b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <b>ETAPE 1 : Proposez une stratégie</b> pour comparer les effets du stress chez Mathis et Pauline et comprendre pourquoi Pauline gère mieux son stress. 📞 <b>Appelez le professeur pour vérification</b></li> <li>➤ <b>ETAPE 2 : Réalisez les manipulations proposées</b> afin de déterminer le taux de cortisol de Mathis et de Pauline puis de construire un modèle montrant les phénomènes mis en jeu dans la production de cortisol. 📞 <b>Appelez le professeur pour vérification</b></li> <li>➤ <b>ETAPE 3 : Récapitulez vos résultats</b> sous une forme judicieuse.</li> <li>➤ <b>ETAPE 4 : Rédigez un texte</b> permettant de répondre à la problématique.</li> </ul> <p><b>En fin de séance, rangez le matériel et nettoyez la paillasse.</b></p>	<p style="text-align: center;"><b>Recenser, extraire des informations</b> <i>Quoi ? Comment ? Attendu ?</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Réaliser une manipulation (test ELISA)</b> <i>Pipeter convenablement (bons volumes, pas de débordement, pas de mélange), vider les puits sans contaminations, témoin négatif correct (pas de coloration), résultats cohérents</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Utiliser un logiciel (Edu'Modèles)</b> <i>Créer des variables et les paramétrer, créer des liaisons entre paramètres, modifier le modèle pour l'adapter. Identifier le rétrocontrôle négatif causé par le cortisol.</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Présenter les résultats à l'écrit</b> <i>Techniquement correct renseigné correctement, organisé pour répondre à la question (annotation, ordre des éléments pour comprendre, mots clés ...).</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Adopter une démarche explicative</b> <i>On a vu que ... ; Or on sait que ... ; On conclut que ...</i> <i>Comprendre les rétroactions entre CRH, ACTH et cortisol. Faire le lien entre production de cortisol et effets sur l'organisme (glycémie, système immunitaire).</i></p> <p style="text-align: center;"><b>Gérer et organiser le poste de travail</b></p>

## Fiche protocole « Etudier les effets du stress » (1/2)

### Matériel et protocoles d'utilisation du matériel

#### Matériel

- **Barrettes de puits** au fond desquels sont fixés des anticorps anti-cortisol
- **Solutions de cortisol (C1 à C6)** de concentrations connues (C1 à C5 + C6 : solution témoin : eau distillée)
- **Solutions AgM** de salive de Mathis
- **Solution AgP** de salive de Pauline
- **Solution AC** d'anticorps de détection anti-cortisol, couplés à une enzyme
- **Solution TMB** de substrat de l'enzyme
- **Solution PBS Tween** de lavage
- Micropipette avec embouts
- Chronomètre, papier absorbant, marqueur
- Eau distillée
- Récipient poubelle

#### Remarques :

- Organiser votre plan de travail pour manipuler proprement et selon les consignes de sécurité
- L'encoche de la barrette du puits permet de repérer le puits A
- Les puits des barrettes ont un volume de l'ordre de 300  $\mu\text{L}$  (321  $\mu\text{L}$ ).

#### DOSER LE CORTISOL AU MOYEN D'UN TEST ELISA

- 1- **Déposer 80  $\mu\text{L}$**  de la solution à tester (*soit 4 dépôts à la pipette P20*)
  - a. De **solution C1** à déposer dans le **puits A**, **C2** dans le **puits B** ... **C5** dans le **puits E**.
  - b. De **témoin négatif (C6)** dans le **puits F**
  - c. De **solution salivaire de Mathis (AgM)** dans le **puits G**
  - d. De **solution salivaire de Pauline (AgP)** dans le **puits H**
- 2- **Laisser incuber** à température ambiante pendant **2 minutes**.
- 3- **Dans chaque puits, ajouter 80  $\mu\text{L}$**  de l'anticorps de détection (**Ac2**)
- 4- **Laisser incuber** à température ambiante pendant **2 minutes**
- 5- **Vider la barrette en la renversant d'un geste délicat mais efficace** (*voir démonstration*)
- 6- **Réaliser un rinçage en remplissant les cupules de solution de lavage (PBS Tween)**
- 7- **Vider la barrette en la renversant d'un geste délicat mais efficace** (*voir démonstration*)
- 8- **Révéler la concentration de cortisol en ajoutant 4 gouttes de substrat de l'enzyme (TMB)**

#### ATTENTION :

- **une seule solution par puits et ne pas mélanger les embouts !**
- **les niveaux doivent être identiques entre tous les puits**
- **ne pas déborder pour éviter de mélanger les différents échantillons**

#### Sécurité :

Les produits utilisés sont des produits de substitution permettant de modéliser les mécanismes mis en jeu.



Parmi les produits utilisés, la solution de lavage est toxique et le substrat de l'enzyme est corrosif.

#### Précautions de la manipulation :



Afin de ne pas mélanger le contenu des différents puits, veiller à renverser horizontalement la barrette de puits lors du vidage.

#### Dispositif d'acquisition et de traitement d'images (si disponible)

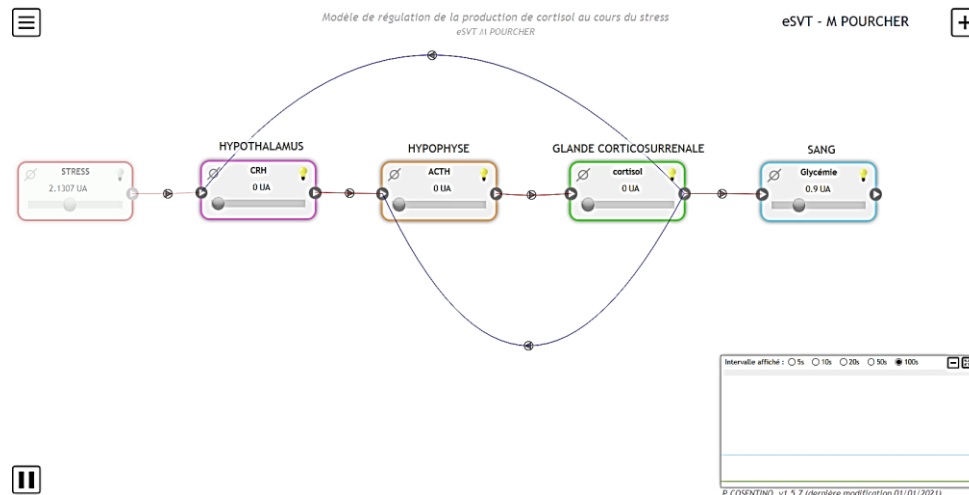


# Fiche protocole « Etudier les effets du stress » (2/2)

## Matériel et protocoles d'utilisation du matériel

### Matériel

- PC équipé du logiciel Edu'Modèles
- Fiche technique EduModèle
- <https://www.pedagogie.ac-nice.fr/svt/productions/edumodeles/ana/index.htm>



Exemple de boucle de régulation réalisé avec Edu'Modèles  
(Document secours)

### CONSTRUIRE UNE BOUCLE DE REGULATION DU STRESS

1. **Ajouter une variable** et choisir « variable dynamique »
2. **Double cliquer sur la variable** et envisager ses caractéristiques :
  - Son nom (ex : CRH)
  - Vocabulaire employé (substance)
  - Valeur au démarrage
  - Evolution au cours du temps : pour les hormones, envisager que la production diminue de 10% par seconde
3. **Créer les variables Stress, ACTH, cortisol et glycémie** en paramétrant leurs caractéristiques
4. **Créer des « relations » entre variable** en reliant les boites par les icônes
5. **Lancer le modèle** en cliquant sur le bouton situé en bas à gauche
6. **En cas de besoin, modifiez les paramètres de votre modèle** pour qu'il reflète au mieux la réalité (se référer au document 2 du TP).

### Appeler le professeur pour vérification

#### Remarques :

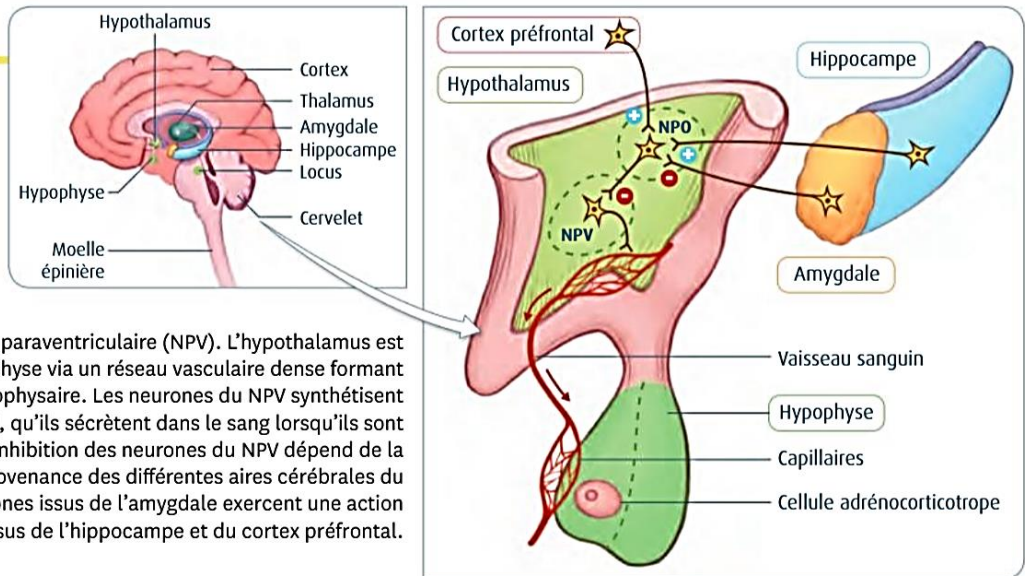
- le graphique sera plus lisible en **cochant « 100 s »**
- vous pouvez **activer/inactiver une variable** avec le bouton
- vous pouvez **redémarrer le modèle** au sein du menu (bouton en haut à gauche)
- l'ensemble des **unités doit être conservée en UA** pour permettre une meilleure lisibilité du graphique
- Vous pouvez également **annoter** vos variables en utilisant la fonction « Ajouter » > « Une ligne de texte »

## Document 1 : Les effets physiologiques du stress (doc 1 p482 BELIN)

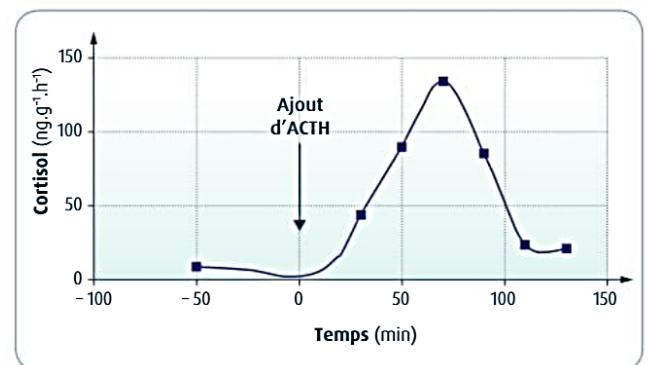
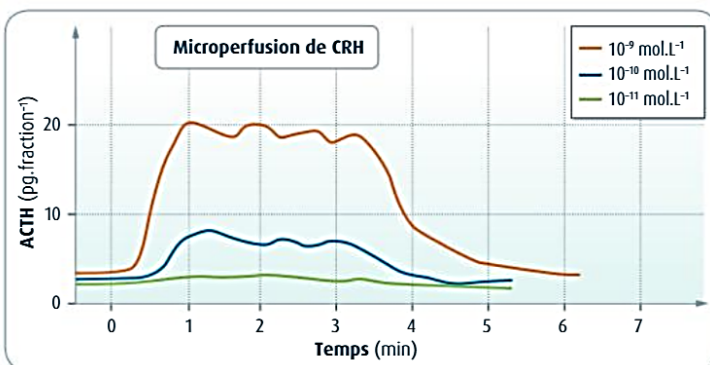
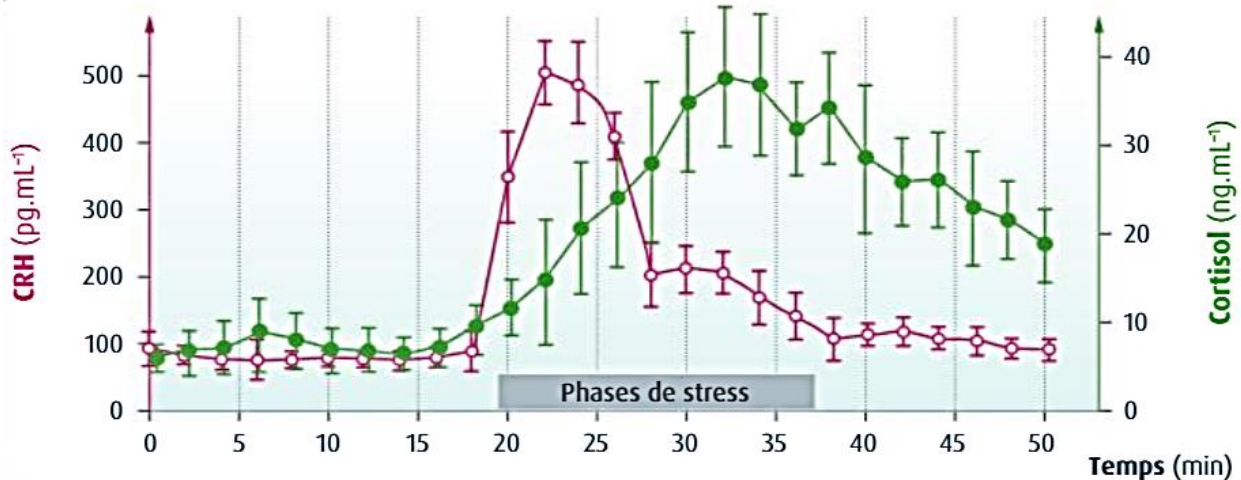
- Nous avons vu que le stress est déclenché au niveau du cerveau par l'activation de zones associées aux émotions : l'**amygdale** et l'**hippocampe**. Ces 2 zones vont activer le complexe hypothalamo-hypophysaire, comprenant l'hypothalamus (dans sa partie supérieure) et l'hypophyse (dans la partie inférieure).
- L'activation du **complexe hypothalamo-hypophysaire** contribue à former des **hormones** qui vont déclencher la production de **cortisol**, à l'origine de la phase de résistance.

### 1 Les structures cérébrales impliquées dans la phase de résistance du stress aigu.

Les différentes structures du système limbique projettent leurs neurones vers deux régions particulières de l'hypothalamus : le noyau pré-optique (NPO) et le noyau paraventriculaire (NPV). L'hypothalamus est également connecté à l'hypophyse via un réseau vasculaire dense formant le complexe hypothalamo-hypophysaire. Les neurones du NPV synthétisent une molécule appelée CRH, qu'ils sécrètent dans le sang lorsqu'ils sont activés. L'activation ou l'inhibition des neurones du NPV dépend de la somme des signaux en provenance des différentes aires cérébrales du système limbique. Les neurones issus de l'amygdale exercent une action plus forte que les neurones issus de l'hippocampe et du cortex préfrontal.



## Document 2 : Les hormones de la phase de résistance (doc 3 à 5 p482-483 BELIN)



### 4 Étude de l'action de la CRH sur l'hypophyse antérieure.

Sur des rats anesthésiés, les cellules adrénocorticotrope de l'hypophyse antérieure (voir doc. 1) sont microperfusées avec de la CRH pendant trois minutes à une concentration donnée. On analyse en même temps la libération dans le sang d'une molécule synthétisée par les cellules adrénocorticotrope : l'ACTH.

### 5 Étude de l'action de l'ACTH sur la glande corticosurrénale.

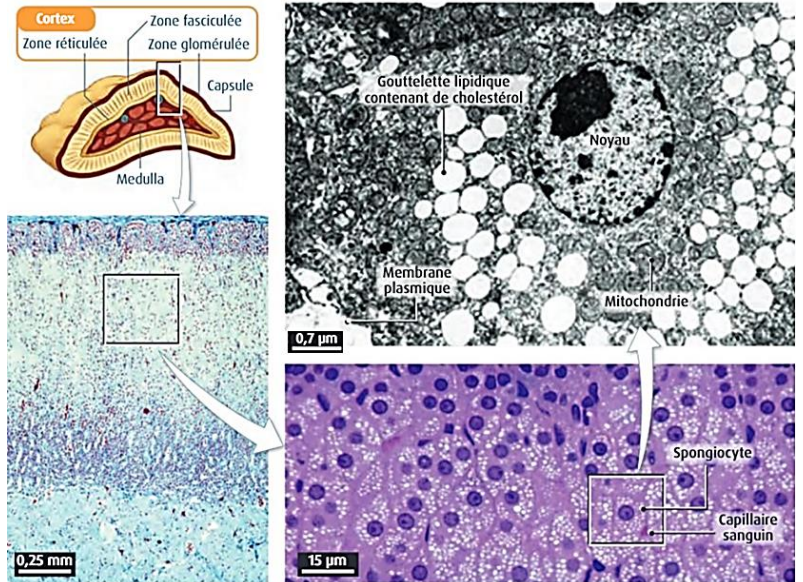
Des cellules de la glande cortico-surrénale sont prélevées chez des dorades royales et maintenues en vie dans un milieu de Ringer (liquide physiologique). Leur sécrétion de cortisol est suivie au cours du temps avant, pendant et après l'ajout d'ACTH.



### Document 3 : L'implication de la glande cortico-surrénale (doc 6 p483 BELIN)

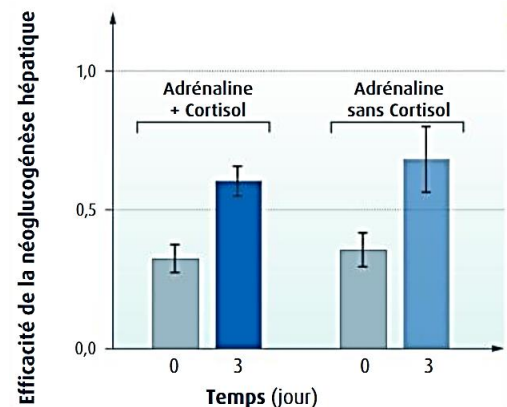
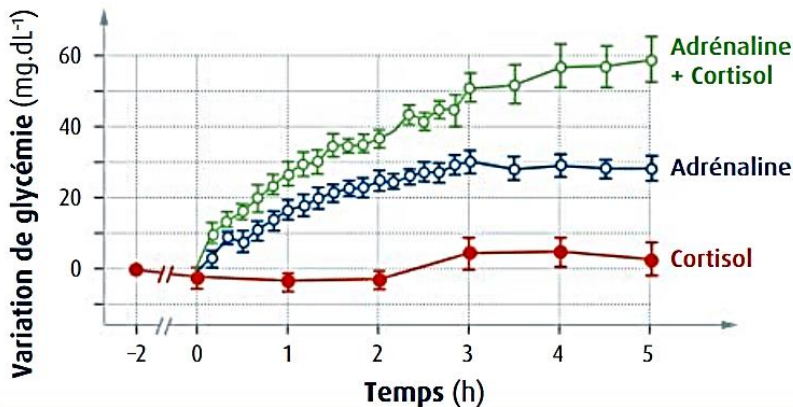
• La glande surrénale comprend 3 tissus concentriques :

- La **zone médullaire** (au centre) qui correspond à la **glande médullo-surrénale** qui produit l'adrénaline (voir TP1).
- La **zone corticale** qui correspond à la **glande cortico-surrénale**. Dans la **zone fasciculée**, cette glande possède des cellules gorgées de gouttelettes lipidiques et appelées **spongiocytes**. Les gouttelettes contiennent du cholestérol qui peut être transformé en **cortisol** par diverses enzymes.
- La **capsule** qui entoure et protège l'organe.



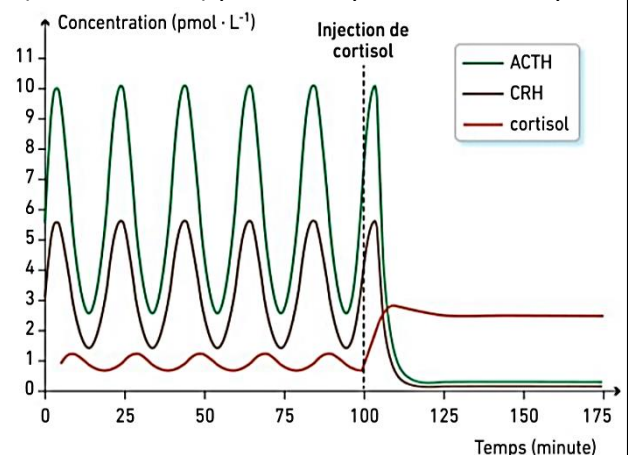
### Document 4 : L'effet du cortisol sur l'organisme (doc 3 et 4 p484 BELIN)

• Le cortisol possède une action sur la **glycémie**. En effet, cette hormone active la **glycogénolyse** : c'est la dégradation du glycogène du foie qui permet de produire du glucose. En parallèle, le cortisol active la **libération du glucose** par le foie (transporteurs GLUT) mais aussi la **néoglucogenèse** : c'est la formation de glucose à partir de précurseurs métaboliques (comme le pyruvate : dans ce cas, c'est une voie inverse à la glycolyse).



• Le cortisol présente aussi une action sur le **système immunitaire**. En particulier, il empêche la réaction inflammatoire (**action anti-inflammatoire**) en inhibant la production de médiateurs chimiques de l'inflammation. Il **inhibe également la production des cytokines** (Interleukines) produites par les LT4, ce qui **ralentit la prolifération des lymphocytes**.

• Le cortisol peut également participer au retour à la normale après l'événement stressant : c'est la **résilience**. En effet, les cellules de l'hypothalamus et de l'hypophyse possèdent des **récepteurs au cortisol**. Lorsque ces récepteurs sont activés par le cortisol, les cellules de l'hypothalamus et de l'hypophyse sont inhibées et ne produisent plus de CRH et d'ACTH. Ainsi, il y a un **retrocontrôle négatif** : l'augmentation de la concentration en cortisol active des mécanismes qui tendent à faire baisser sa concentration.



(doc 3c p471 BORDAS)

Ⓢ Influence d'une injection unique de cortisol chez un individu sain, à t = 100 minutes.