

Objectif : comprendre l'immunité innée au travers de l'exemple de la réaction inflammatoire - microscopie

Observation : Juliette en taillant ses rosiers s'est blessée, une épine a traversé son gant et a pénétré sa peau. Elle ressent alors une vive douleur. Quelques jours plus tard, sa plaie est gonflée et rouge, et elle ressent une sensation de chaleur. Juliette est inquiète, car elle sait que les épines sont porteuses de bactéries.

Ce que l'on recherche à comprendre : comment se manifeste la réaction inflammatoire ?

Matériel : livre p. 278 et suivante, microscope, caméra, frottis sanguins, photographie septicémie, logiciel Rastop + fichiers : reac infla-cox1_ac_arachi.pdb, reac infla-ibuprofene.pdb, reac infla-acide_arachi.pdb.

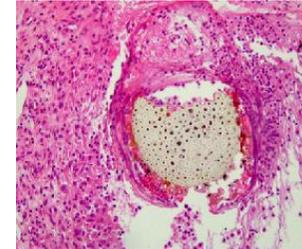
Capacités et attitudes	Activités	Compétences
Extraire et organiser des informations	1 - La réaction inflammatoire Tâche complexe : expliquer ce qu'est une réaction inflammatoire et comment elle se déroule, protocole p. 2.	Observer et comparer une coupe histologique ou des documents en microscopie avant et lors d'une réaction inflammatoire aiguë.
Utiliser le microscope Utiliser un logiciel d'imagerie	2 - Les cellules du sang Observer les frottis sanguins d'un sujet normal et d'un sujet présentant une septicémie, capturer des images, comparer et légender. Voir p. 4.	Recenser, extraire et exploiter des informations, sur les cellules et les molécules impliquées dans la réaction inflammatoire aiguë.
Extraire des informations	3 - Le système immunitaire Voir p. 5.	Recenser, extraire et exploiter des informations, y compris expérimentales, sur les effets de médicaments antalgiques et anti-inflammatoires.
Mettre en relation des données Utiliser un logiciel de données	4 - Les médicaments antidouleur Comment la prise d'ibuprofène (Advil, Nurofen...) aboutit-elle à une diminution des symptômes de l'inflammation ? Protocole p. 6.	
Réaliser un schéma	Bilan Réaliser un schéma de synthèse permettant de montrer les différentes composantes de la réaction inflammatoire.	

1 - La réaction inflammatoire

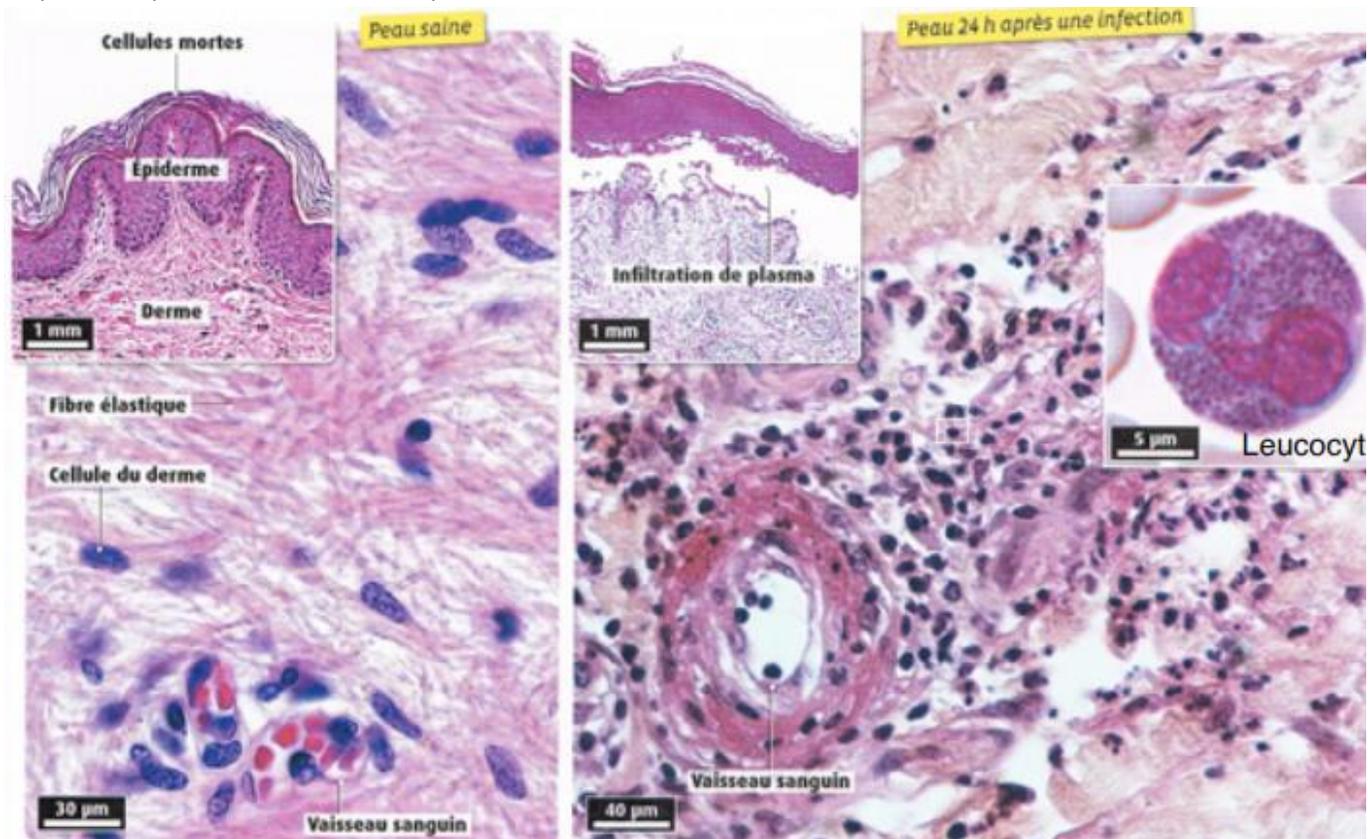
Comment se manifeste la réaction inflammatoire ?



DOC A : inflammation causée par une épine de rosier + doc 1a p.278.



Doc C : coupe histologique de l'inflammation



Doc B : coupe d'une peau saine et au niveau d'une inflammation + doc 2 p. 279

Utiliser aussi les docs 1 b et 1c p. 278.

La structure de la peau :

La peau est un organe qui protège notre corps contre les agents externes tels que les UV, les microorganismes, etc.

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. Il comprend plusieurs couches :

la plus externe contient des cellules mortes (= couche cornée)

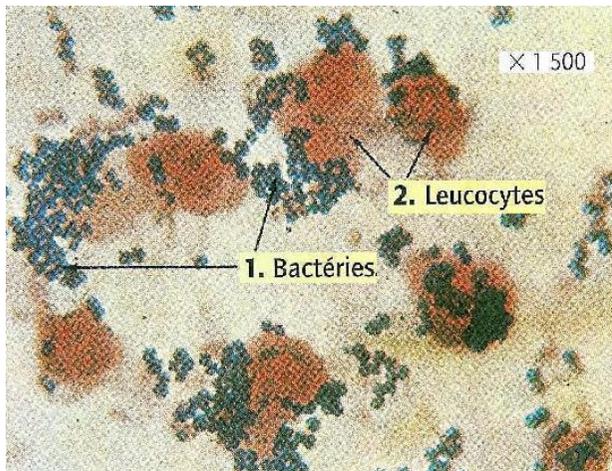
la plus interne est formée de cellules vivantes très visibles au microscope, car fortement colorables (= couche basale)

- 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).

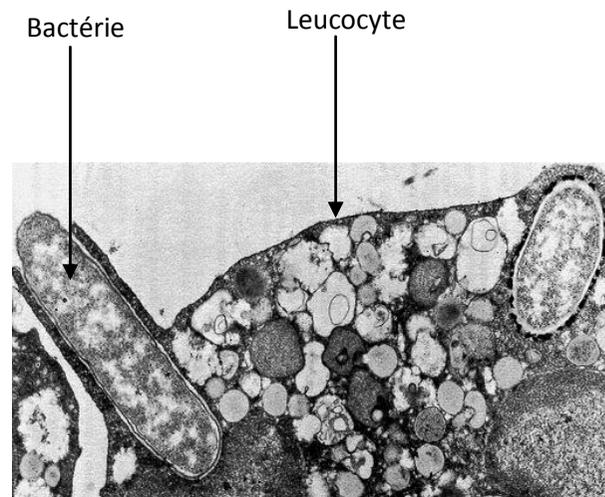
- L'hypoderme est la couche la plus profonde et la plus épaisse. Les adipocytes sont les principales cellules présentes, elles servent à stocker les graisses. Cette couche joue donc un rôle de réserve, mais aussi d'isolant thermique.

Quels sont les acteurs de la réaction inflammatoire ?

Doc 1 et 2 p.280 et 281 + Doc 1 et 2 p.282 et 283.



Doc D : derme lors d'une réaction inflammatoire



Doc E : phagocytose

2 - 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 polymucélaire basophile, le mastocytes 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.

3 - Le système immunitaire

1) 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.

a) 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).

b) 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.

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

a) 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

b) 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.

c) Les amygdales, organes en amande, important par leur proximité avec les voies respiratoires.

d) Les plaques de Peyer, au niveau de la paroi intestinale dans la partie terminale de l'intestin grêle.

3) Des molécules : les cytokines 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).

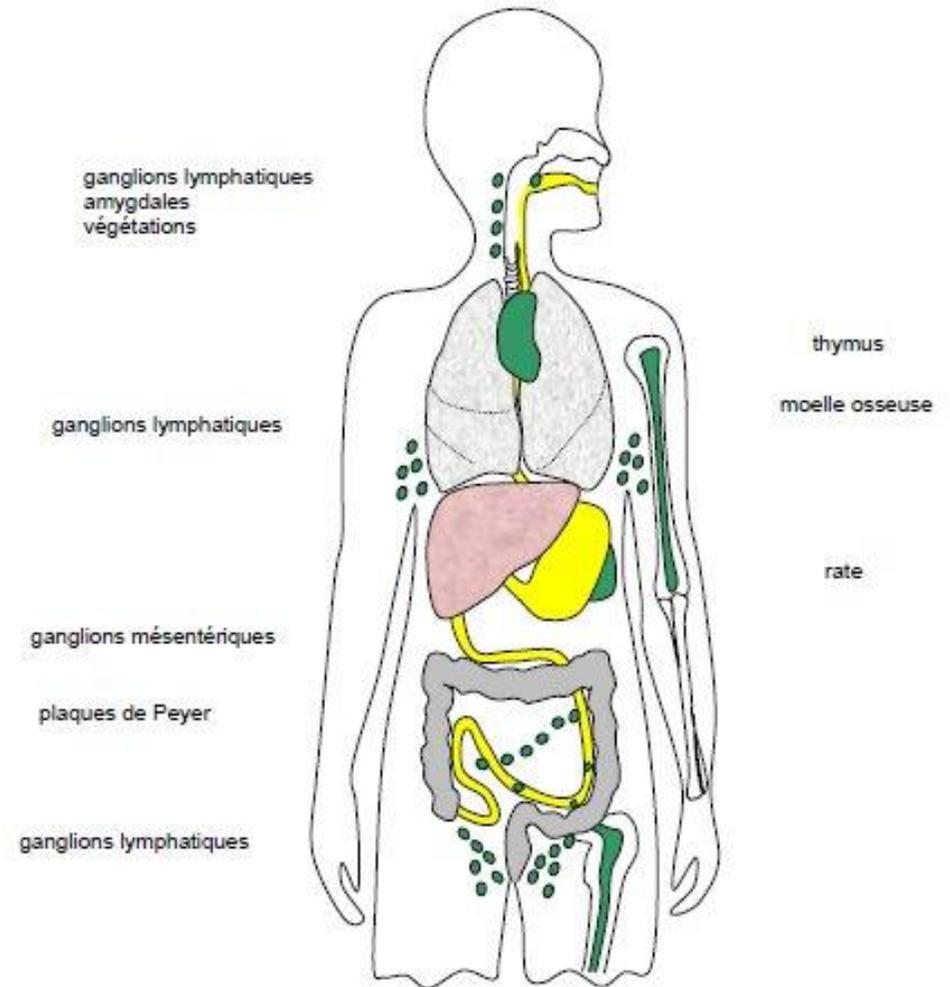
IL1 : sécrétée par les macrophages, elle induit la phase de réaction aiguë, ainsi qu'une stimulation des Lymphocytes T.

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).

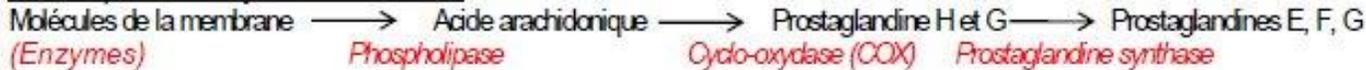


4 - Les médicaments antidouleur

Doc 1 : les prostaglandines (PG).

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

Les étapes de la synthèse des PG :



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 rentrer en contact avec la molécule de substrat qui lui est spécifique pour 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.

Ouvrir la molécule, complexe COX (enzyme) – acide arachidonique (substrat) : la COX est nommée **chaîne A** ; l'acide arachidonique est appelé **ACD700**.

Utiliser la fiche technique du logiciel pour mettre en évidence judicieusement certaines parties des molécules.

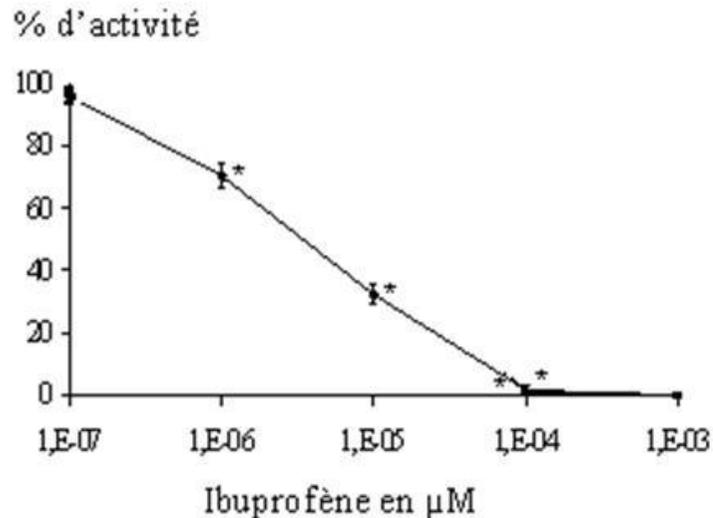
Des études de biologie moléculaire ont montré que la molécule d'ibuprofène se fixe sur l'**acide aminé 120 (Arginine)** de la COX et de ce fait interagit avec les **acides aminés 385 (tyrosine) et 530 (sérine)** de l'enzyme.

Fichiers joints : cyclo-oxydase COX1 ovine et son substrat l'acide arachidonique.pdb, ibuprofene.pdb, acide arachidonique.pdb.

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

Données expérimentales

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).