

Stage de formation
17 & 18 mars 2014

Conférences

Institut français de l'Éducation

Ateliers

École normale supérieure de Lyon (site Monod)

**NetBioDyn
et la modélisation
des réactions immunitaires**

Anne Florimond

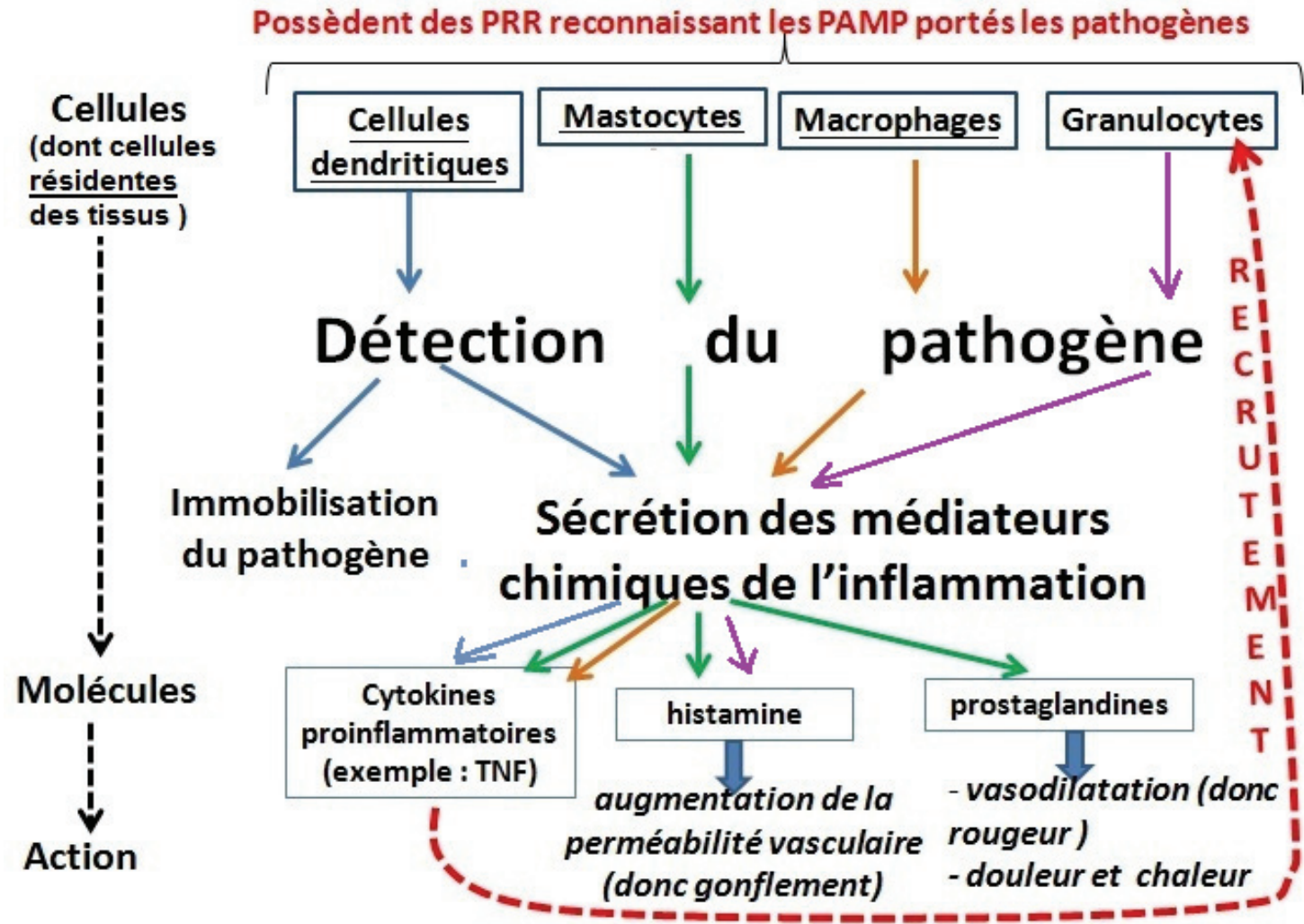
Nathalie Noris

Informations et ressources & **<http://acces.ens-lyon.fr/acces/ressources/immunité-et-vaccination>**

immunité

DOCUMENT RÉFÉRENT : LES DIVERSES CELLULES ET MOLÉCULES IMPLIQUÉES DANS LE DÉCLENCHEMENT DE LA RÉACTION INFLAMMATOIRE AIGÛE

- Les scientifiques ont établi la chronologie suivante :
 - 1 / Détection de l'agent infectieux par les cellules « sentinelles » résidentes des tissus (macrophages, cellules dendritiques, mastocytes) et les granulocytes. Toutes ces cellules sont pourvues de récepteurs (PRR¹) capables d'identifier les motifs moléculaires possédés par un pathogène (PAMP²).
 - 2 / À la suite de la reconnaissance des PAMP par les PRR, les cellules « sentinelles » résidentes des tissus sécrètent des médiateurs chimiques de l'inflammation. Il y a implication de ces molécules dans les manifestations macroscopiques de l'inflammation (gonflement, fièvre, douleur, chaleur).
 - 3 / Sous l'influence des médiateurs chimiques, il y a migration des granulocytes depuis le sang vers le lieu de l'infection où ils effectueront la phagocytose.
- Les scientifiques « modélisent » l'intervention des différents acteurs de la manière suivante :



Modèle de déclenchement de la réaction inflammatoire aiguë

1. PRR = *Pattern Recognition Receptor*. Il s'agit des récepteurs cellulaires capables de reconnaître des motifs moléculaires caractéristiques des pathogènes, motifs appelés PAMP.
2. PAMP = *Pathogen Associated Molecular Pattern*. Il s'agit des motifs moléculaires caractéristiques des micro-organismes, reconnus par les PRR que possèdent les cellules de l'immunité innée.

Les expériences de référence utilisées pour la construction des modèles

1. Pour l'étude de la réaction inflammatoire

Expériences de référence	Modèles numériques permettant de reproduire les conditions expérimentales	Entités du modèle numérique										
Mesure de la proportion de cellules dendritiques mobiles dans un derme avant et après injection de billes en plastique ou d'un ver parasite. <i>Référence : un derme sain contient environ 80% de cellules dendritiques mobiles.</i>	dendritic_cell.nbd	<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;"><i>Entités déclarées dans le panel</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 30%;">dendritic_cell_mobile</td> <td>cellule dendritique mobile</td> </tr> <tr> <td>parasitic_worm</td> <td>ver parasite</td> </tr> <tr> <td>plastic_ball</td> <td>bille en plastique</td> </tr> <tr> <td>dendritic_cell_unmoved</td> <td>cellule dendritique immobile</td> </tr> </tbody> </table>	<i>Entités déclarées dans le panel</i>		dendritic_cell_mobile	cellule dendritique mobile	parasitic_worm	ver parasite	plastic_ball	bille en plastique	dendritic_cell_unmoved	cellule dendritique immobile
<i>Entités déclarées dans le panel</i>												
dendritic_cell_mobile	cellule dendritique mobile											
parasitic_worm	ver parasite											
plastic_ball	bille en plastique											
dendritic_cell_unmoved	cellule dendritique immobile											
Mesure de la concentration en TNF dans le milieu de culture de macrophages isolés à partir de souris infectées par le virus de l'herpès. On utilise deux groupes de souris infectées : des souris sauvages (témoin) et des souris mutantes qui ne possèdent pas de récepteur PRR fonctionnel.	macrophages_in_vitro.nbd	<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;"><i>Entités déclarées dans le panel</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 30%;">virus-herpes</td> <td>virus de l'herpès</td> </tr> <tr> <td>Macrosouris-témoin</td> <td>macrophages « sentinelles » prélevés chez une souris témoin.</td> </tr> <tr> <td>Macrosouris-mut-PRR-</td> <td>macrophages « sentinelles » prélevés chez une souris mutante dont un récepteur PRR est inactivé</td> </tr> <tr> <td>TNF</td> <td>TNF (pour Tumor Necrosis factor) est un médiateur chimique de l'inflammation</td> </tr> </tbody> </table>	<i>Entités déclarées dans le panel</i>		virus-herpes	virus de l'herpès	Macrosouris-témoin	macrophages « sentinelles » prélevés chez une souris témoin.	Macrosouris-mut-PRR-	macrophages « sentinelles » prélevés chez une souris mutante dont un récepteur PRR est inactivé	TNF	TNF (pour Tumor Necrosis factor) est un médiateur chimique de l'inflammation
<i>Entités déclarées dans le panel</i>												
virus-herpes	virus de l'herpès											
Macrosouris-témoin	macrophages « sentinelles » prélevés chez une souris témoin.											
Macrosouris-mut-PRR-	macrophages « sentinelles » prélevés chez une souris mutante dont un récepteur PRR est inactivé											
TNF	TNF (pour Tumor Necrosis factor) est un médiateur chimique de l'inflammation											
Mesure de la quantité d'histamine et de prostaglandines libérées dans le milieu de culture de mastocytes au repos et de mastocytes après contact avec des bactéries.	mastocytes.nbd	<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;"><i>Entités déclarées dans le panel</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 30%;">mastocyte</td> <td>Exemple de cellule « sentinelle », résidente des tissus</td> </tr> <tr> <td>Bactérie</td> <td>bactérie représentant un pathogène</td> </tr> <tr> <td>Histamine</td> <td>l'histamine est un des médiateurs chimique de l'inflammation</td> </tr> <tr> <td>Prostaglandine</td> <td>les prostaglandines sont des médiateurs chimiques de l'inflammation</td> </tr> </tbody> </table>	<i>Entités déclarées dans le panel</i>		mastocyte	Exemple de cellule « sentinelle », résidente des tissus	Bactérie	bactérie représentant un pathogène	Histamine	l'histamine est un des médiateurs chimique de l'inflammation	Prostaglandine	les prostaglandines sont des médiateurs chimiques de l'inflammation
<i>Entités déclarées dans le panel</i>												
mastocyte	Exemple de cellule « sentinelle », résidente des tissus											
Bactérie	bactérie représentant un pathogène											
Histamine	l'histamine est un des médiateurs chimique de l'inflammation											
Prostaglandine	les prostaglandines sont des médiateurs chimiques de l'inflammation											
Mesure de la fluorescence dans les tissus proches des vaisseaux sanguins irriguant le muscle d'une souris, après injection (à t=0) d'un colorant fluorescent dans la circulation sanguine puis application (à t=30 minutes) d'histamine dans le muscle.	action-histamine.nbd	<table border="1" style="width: 100%;"> <thead> <tr> <th colspan="2" style="text-align: center;"><i>Entités déclarées dans le panel</i></th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="width: 30%;">fluorescence_musculaire</td> <td>fluorescence mesurée dans les tissus proches des vaisseaux sanguins irriguant le muscle traité</td> </tr> <tr> <td>histamine</td> <td>histamine pour application dans le muscle de la souris à t=30 minutes</td> </tr> <tr> <td>colorant_fluorescent</td> <td>colorant à injecter dans la circulation sanguine de la souris à t=0</td> </tr> </tbody> </table>	<i>Entités déclarées dans le panel</i>		fluorescence_musculaire	fluorescence mesurée dans les tissus proches des vaisseaux sanguins irriguant le muscle traité	histamine	histamine pour application dans le muscle de la souris à t=30 minutes	colorant_fluorescent	colorant à injecter dans la circulation sanguine de la souris à t=0		
<i>Entités déclarées dans le panel</i>												
fluorescence_musculaire	fluorescence mesurée dans les tissus proches des vaisseaux sanguins irriguant le muscle traité											
histamine	histamine pour application dans le muscle de la souris à t=30 minutes											
colorant_fluorescent	colorant à injecter dans la circulation sanguine de la souris à t=0											

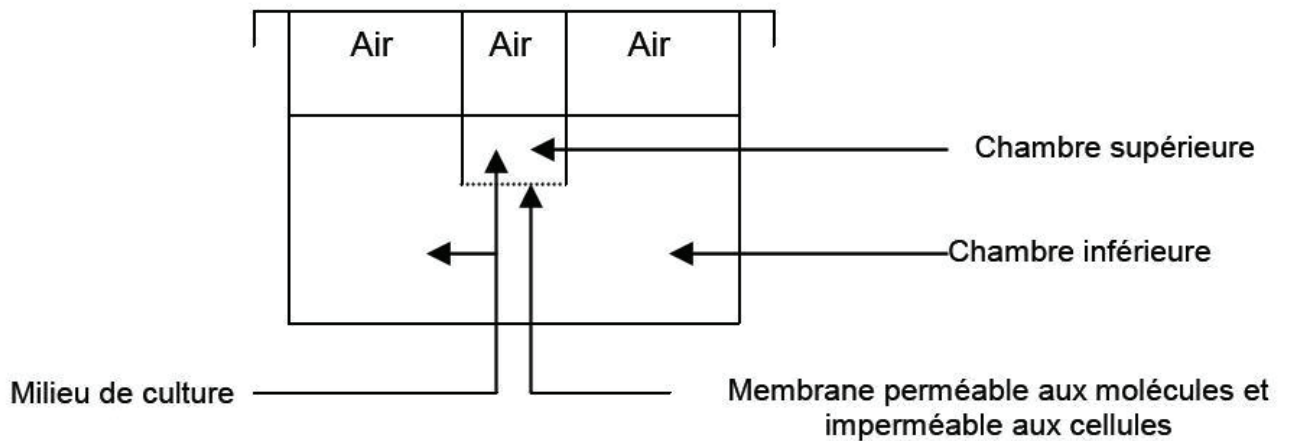
Les expériences de référence utilisées pour la construction des modèles

2. Pour l'étude de l'implication des LT CD4 dans l'immunité adaptative

Expérience de référence: utilisation du dispositif de Marbrook

On extrait des lymphocytes B et T de la rate d'une souris préalablement mise en contact avec un antigène Z soluble. Ces lymphocytes sont placés dans une chambre de Marbrook selon les conditions rapportées dans la figure et le tableau ci-après.

Schéma d'une cellule de Marbrook



Il s'agit alors de quantifier, au bout de quelques jours, le **nombre de plasmocytes** sécrétant d'anticorps anti-Z. On peut faire varier la place et la nature des lymphocytes – préalablement activés par l'antigène Z – dans les chambres de l'appareil :

Variable : Nature des lymphocytes préalablement activés par l'antigène Z placés dans les chambres de l'appareil		Phénomène mesurable : production ou non de plasmocytes sécrétant d'anticorps anti-Z
supérieure	inférieure	
-	LT CD4 + LB	?
-	LB	?
LT CD4	LB	?

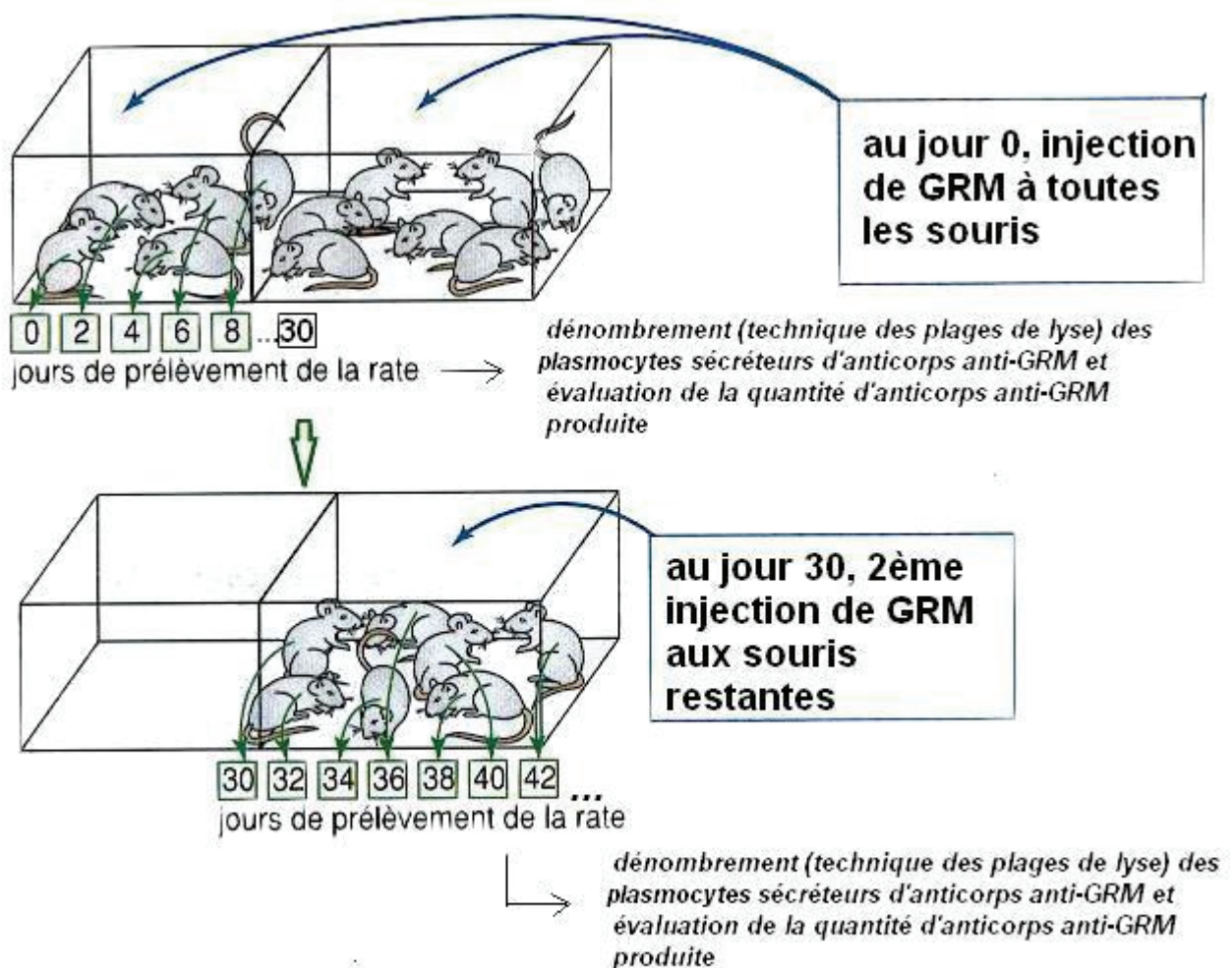
Les expériences de référence utilisées pour la construction des modèles

3. Pour la mise en évidence d'une mémoire immunitaire construite lors de la réponse adaptative

Expérience référente : évaluation du nombre de plasmocytes sécréteurs d'anticorps anti-GRM en réponse à deux injections de GRM (d'après manuel Bordas TS édition 2002, modifié et simplifié)

- Des souris reçoivent une première injection de globules rouges de mouton (GRM) au jour zéro.
- Parmi toutes les souris, la moitié subit des prélèvements de rate : une première souris le jour de l'injection, une seconde deux jours après l'injection, une troisième quatre jours après, etc.
- Les souris restantes reçoivent une seconde injection de GRM, le 30^e jour après la première injection. Des prélèvements de rate sont ensuite réalisés successivement tous les deux jours chez les différentes souris de ce deuxième lot.
- Les lymphocytes provenant de chaque prélèvement sont mis en culture en présence de GRM et le nombre de plasmocytes sécréteurs d'anticorps anti-GRM est apprécié à l'aide de la technique des plages de lyse.

Représentation simplifiée du protocole



Modifié d'après manuel BORDAS Terminale S, 2002, p.414

Logiciel NetBioDyn – Fonctionnalités utiles pour faire tourner un modèle

Interface de NetBioDyn

Outils pour lancer la simulation

Outils pour disposer les acteurs de la simulation

"Panel" = liste et effectifs des différentes entités participant à la simulation
(seules les entités "déclarées" apparaissent dans le panel)

"Environnement" = espace dans lequel vont interagir les entités

Fenêtre d'affichage des résultats de la simulation, sous la forme de tracés de type nombre d'exemplaire de l'entité $x = f(\text{temps})$.
Touche "Ctrl" en cliquant dans le panel pour faire afficher simultanément les variations de plusieurs entités

Ouvrir un modèle		Le modèle à ouvrir est un fichier de type « .nbd »
Disposer les acteurs de la simulation (=placer les entités souhaitées dans l'environnement)		Disposer les acteurs de manière unitaire avec le crayon
		Disposer les acteurs par groupe avec le spray
		Gommer une entité précise
	Vider	Vider l'environnement
Lancer la simulation		Appuyer sur le bouton « play » Faire si nécessaire une pause pendant la simulation L'arrêt ramène à la situation initiale + et – accélère ou ralentit la simulation

Initiation à la construction d'un modèle

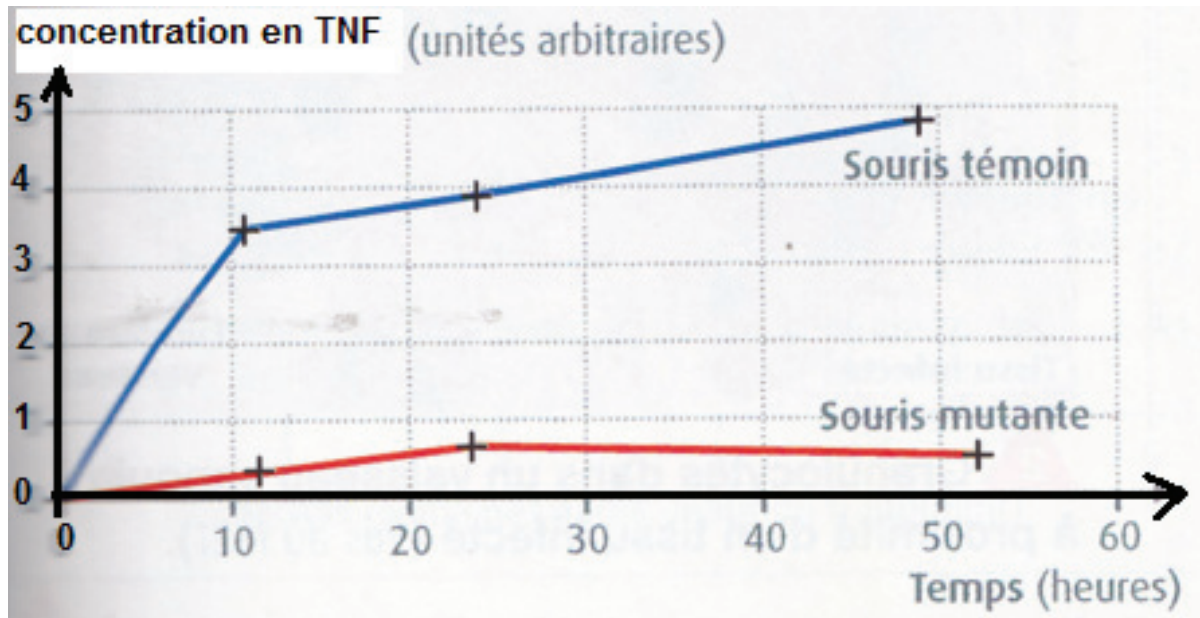
Création d'un modèle à partir d'une expérience de référence et de son résultat

L'expérience de référence

- Protocole

Il s'agit de mesurer la concentration en TNF dans le milieu de culture de macrophages isolés à partir de souris infectées par le virus de l'herpès. On utilise deux groupes de souris infectées : des souris sauvages (témoin) et des souris mutantes qui ne possèdent pas de récepteur PRR fonctionnel.

- Résultat



Résultat de la culture in vitro de macrophages des deux catégories en présence du virus de l'herpès

Source : Belin TS édition 2012

Préparation « sur papier » des étapes de la création du modèle

⇒ Entités à déclarer ?

⇒ Mise en équation du comportement des entités ?

Logiciel NetBioDyn - Fonctionnalités utiles pour construire un modèle

The image illustrates the workflow in NetBioDyn for defining entities and their behaviors. It is divided into two main stages:

Etape 1 - Déclarer les entités

This stage involves the 'Tout les entités' (All entities) window. The 'Ajouter une entité' (Add entity) button is highlighted with a red circle and labeled '1'. The 'Ajouter un lien' (Add link) button is also visible. Below the main window, there are buttons for 'Supprimer' (Delete), 'Editer' (Edit), and 'Fermer' (Close).

Etape 2 - Mettre en équation le comportement des entités

This stage involves the 'Entite' (Entity) configuration window. The 'Entite' title is highlighted with a red circle and labeled '2'. The window contains various fields for defining the entity's characteristics:

- Nom de l'entite**: Input field with the placeholder 'donner un nom'.
- Description de l'entite**: Text area with the placeholder 'décrire l'entité biologique (facultatif)'.
- Taille**: Dropdown menu set to 'Grande'.
- Probabilité de déplacement**: Input field set to '1.0'.
- Demi-vie (0=infinitie)**: Input field set to '0.0'.
- Apparen...**: Includes a 'Couleur' dropdown set to 'Carre' and an 'Image' section with 'Image' and 'Sans image' buttons. A red arrow points to the 'Image' button with the text 'insérer une image comme représentation de l'entité (facultatif)'. A red box around the 'Image' and 'Sans image' buttons is labeled 'Définir les caractéristiques'.
- Visible dans panel**: Checked checkbox.
- Vidable**: Checked checkbox with a red arrow pointing to it and the text 'décider si l'entité peut disparaître lors de la remise à zéro'.
- Insertion dans le lien**: Dropdown menu.
- Formes**: Three dropdown menus, each set to '0'.
- Charges**: Three dropdown menus, each set to '0'.
- Pos. angulaires initiales**: Input field set to '1'.

At the bottom of the 'Entite' window are 'Annuler' (Cancel) and 'OK' buttons.

Etape 3 - Paramétrer (si nécessaire)
l'environnement

Taille X: 100 Taille Y: 100

Image decoration Enlever image

Régler la taille de l'environnement (= nombre de pixels)

insérer une image dans l'environnement

Annuler OK

Tous les comportements

1

Ajouter un comportement

Type de comportement

2 : réaction entre entités

A + B + etc => C + D + etc

Migration

Fermer

Editer Suppri... Fer...

Reaction

Nom réaction: donner un nom

Type: Situee en absolue probabilité = 1.0 Visible dans panel

préférez le type "situé en absolu"

pour faire varier la probabilité de la réaction en cas de rencontre des entités pendant la simulation

Réactifs: Entités

Produits: Entités

les entités de départ les entités obtenues après le contact

vide

Description de la réaction: ...

décrire la réaction (facultatif)

Ok Ann...