

## CONCOURS BLANC PHBMR

13 OCTOBRE 2016

UE 93- ÉPREUVE D'EXERCICES-

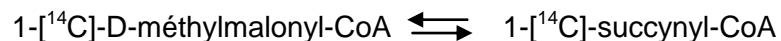
Cotation 200 points - Durée 2 h- 5 exercices

### EXERCICE N° 1 (40 points)

Afin de mesurer l'activité de la méthylmalonyl-CoA mutase (MCM) dans un lysat cellulaire purifié vous disposez de quatre réactifs, les volumes entre parenthèses correspondent aux volumes à utilisés pour faire la réaction :

- une solution de substrat marqué au  $^{14}\text{C}$  de D-méthylmalonyl-CoA de concentration égale à 2 mM (800  $\mu\text{L}$ )
- une solution contenant entre autre un tampon adapté à la mesure de la MCM (750  $\mu\text{L}$ )
- une solution du coenzyme de la MCM (200  $\mu\text{L}$ )
- un lysat cellulaire purifié dont la concentration en protéines totales est de 5 mg/L (250  $\mu\text{L}$ )

La MCM catalyse la réaction suivante :



Le  $K_m$  de la MCM pour le D-méthylmalonyl-CoA est de 0.2 mM.

Dans une première étape vous devez choisir les trois réactifs que vous allez mettre pendant 5 minutes dans un tube à essais à 37°C avant de déclencher la réaction avec le quatrième réactif. Votre choix doit garantir une plus grande spécificité de la réaction.

#### QUESTION 1 :

Quels sont les trois réactifs que vous choisirez pour cette première étape, quel nom porte t'elle et à quoi sert elle ?

Une fois la réaction déclenchée, vous prélevez 200  $\mu\text{L}$  de mélange réactionnel toutes les minutes que vous plongez immédiatement dans 800  $\mu\text{L}$  d'acide perchlorique froid

#### QUESTION 2 :

A quoi sert l'acide perchlorique froid ?

Le succinate radiomarké formé est séparé du substrat n'ayant pas réagi et l'on compte la radioactivité associée au produit de la réaction.

Voici les résultats obtenus :

Temps (minute)	cpm
1	3000
2	6000
3	9000
4	12000
5	14500
6	16900
7	17500
8	17600
9	17650
10	17650

**QUESTION 3 :**

Calculez l'activité enzymatique dans le lysat cellulaire que vous exprimerez en cpm/min/ $\mu$ g de protéine.

**QUESTION 4 :**

En déduire l'activité enzymatique que l'on aurait obtenue dans le lysat cellulaire dans les mêmes conditions si l'enzyme avait été saturée par son substrat.

**QUESTION 5 :**

La réaction est reproduite à l'identique (mêmes constituants, mêmes conditions opératoires) mais on ajoute une poudre en plus à la première étape (on considère le volume de la poudre P comme négligeable). En présence de la poudre contenant un composé P pur, il est déterminé, à partir d'une série de manipulations, une valeur du  $K_m$  de la MCM égale à  $50 \mu\text{M}$  et une  $V_{\text{max}}$  égale à  $7\,200 \text{ cpm/min}/\mu\text{g}$ . Que peut-on dire de P ? (justifier)

**QUESTION 6 :**

En déduire la concentration du composé constituant la poudre P en l'exprimant en fonction de la constante de dissociation P-MCM.

**QUESTION 7 :**

Comment évoluerait l'activité enzymatique si on doublait la quantité de substrat en présence de la même quantité de produit P. Expliquer

**EXERCICE N° 2 (40 points)**

Deux études sont réalisées pour étudier les paramètres pharmacocinétiques du principe actif Z.

**1<sup>ère</sup> étude :**

Après administration d'une dose de  $1000 \text{ mg}$  du principe actif Z, l'équation des concentrations en fonction du temps est la suivante :

$$C(t) = 120 \exp(-1.38 t) + 25 \exp(-0.087 t) \text{ avec } C \text{ en mg/L et } t \text{ en heures}$$

**QUESTION 1 :**

Par quelle voie a été administré le principe actif Z ? Quel est le nombre de compartiments ?

**QUESTION 2 :**

Identifiez les différentes phases et déterminez leurs demi-vies respectives

**QUESTION 3 :**

Déterminez le volume du compartiment central

**QUESTION 4 :**

Déterminez l'aire sous la courbe 0-infini

**QUESTION 5 :**

Déterminez la clairance d'élimination

**QUESTION 6 :**

Déterminez la constante de vitesse d'élimination  $k_e$  et la demi-vie d'élimination correspondante

**2<sup>ème</sup> étude :**

Le principe actif Z est administré par perfusion intraveineuse à un débit de 50 mg/h pendant 24h.

**QUESTION 7 :**

Déterminez la concentration attendue à l'équilibre. Cet équilibre est-il atteint ?

**QUESTION 8 :**

Déterminez la concentration de principe actif Z 4 h après le début de la perfusion

**QUESTION 9 :**

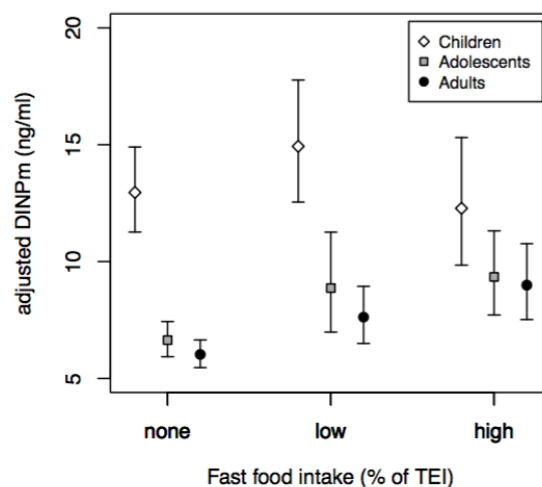
Proposez un schéma posologique permettant d'obtenir directement une concentration de principe actif Z à 30 mg/L

### EXERCICE N° 3 (40 points)

Les phtalates sont des composés chimiques largement utilisés dans l'industrie et dont on suspecte des effets sur la santé. L'exposition est ubiquitaire et peut survenir via l'alimentation, notamment par la consommation de plats préparés ou emballés.

Dans une très large étude américaine (N=8877 participants), représentative de la population générale de plus de 6 ans, l'association entre (1) la prise d'un repas de type « fastfood » dans les 24 heures précédant l'enquête (en % de l'apport énergétique total, TEI) et (2) les concentrations urinaires de métabolites de phtalates au moment de l'enquête, a été étudiée<sup>1</sup>.

La figure ci-dessous représente l'association entre la prise de « fastfood » et les concentrations d'un métabolite de phtalate (DINPm) selon l'âge (moyenne ajustée et intervalle de confiance à 95%). Ajustement sur le niveau de dilution des urines, le sexe, l'ethnie, l'indice de masse corporelle (IMC : indice de corpulence) et un indicateur de pauvreté.



<sup>1</sup>Zota AR, Phillips CA, Mitro SD. Recent Fast Food Consumption and Bisphenol A and Phthalates Exposures among the U.S. Population in NHANES, 2003-2010. Environ Health Perspect. 2016 Apr 13. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 27072648.

**QUESTION 1 :**

Quel est le type d'enquête ?

**QUESTION 2 :**

Décrire les avantages et limites de ce type d'enquête, en les justifiant par rapport aux autres enquêtes que vous connaissez. Pour les limites, préciser pour chacune si elles constituent un problème dans l'étude en question.

**QUESTION 3 :**

Qu'est-ce qui pourrait expliquer, selon vous, le fait que certains intervalles de confiance sont plus importants que d'autres ?

**QUESTION 4 :**

Décrire pour chaque catégorie d'âge la relation entre prise de « fastfood » et concentration en métabolite de phtalate. Donner votre interprétation (on précise que la différence d'association selon l'âge était statistiquement significative).

**QUESTION 5 :**

Qu'est-ce que permet l'ajustement ? Vous vous appuyerez sur l'exemple de l'indice de masse corporelle (IMC) pour expliquer cette notion.

**EXERCICE N° 4 (40 points)**

Dans cet exercice on considèrera que les constantes d'acidité s'expriment à partir des concentrations des espèces présentes en solution. Les parties A et B sont indépendantes.

**Partie A : Préparation d'une solution de concentration 1M**

L'étiquette d'une bouteille commerciale d'acide phosphorique concentré indique :  $\text{H}_3\text{PO}_4$  ;  $M=98,00\text{g/mol}$  ;  $d=1,871$  (densité de la solution de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  pur); concentration 85%(m/v).

On dispose du matériel suivant :

- éprouvette de 100 mL graduée de mL en mL ;
- éprouvette de 250 mL graduée de 2mL en 2 mL ;
- éprouvette de 1L graduée de 10 mL en 10 mL ;
- fiole jaugée de 1L ;
- erlenmeyer de contenance 1L ;
- eau distillée.

**QUESTION 1 :**

Calculer, en  $\text{mol.L}^{-1}$ , la concentration en acide de la solution commerciale.

**QUESTION 2 :**

Quel volume de cette solution, en mL, faut-il considérer pour préparer 1L d'une solution de concentration de  $1\text{mol.L}^{-1}$  ?

**QUESTION 3 :**

Décrire succinctement le protocole de préparation de cette solution.

**Partie B : Solution tampon**

En solution aqueuse, l'acide phosphorique présente 3 acidités dont les pKa sont respectivement de 2,12 ; 7,21 et 12,42.

**QUESTION 1 :**

Quel volume de soude  $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$  doit-on ajouter à 1 litre d'une solution d'acide phosphorique à la même concentration ( $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ ) pour obtenir une solution tampon de pH = 7,40 ?

**QUESTION 2 :**

Quelle est alors la molarité de la solution tampon ?

**QUESTION 3 :**

Une réaction enzymatique a lieu dans la solution tampon de pH égal à 7,40. La réaction enzymatique libère 0,05 moles d'ions  $\text{H}_3\text{O}^+$ . Calculer le pH de la solution à la fin de la réaction et conclure.

**EXERCICE N° 5 (40 points)**

Soit un couple, non affecté par une pathologie rare, en attente de leur premier enfant. La femme du couple a un frère et une sœur. Sa sœur est atteinte de cette pathologie rare. L'homme du couple a une sœur et deux frères. Seul un de ses frères est atteint.

**QUESTION 1 :**

Dessinez le pédigrée de ce couple, depuis leurs parents jusqu'à l'enfant attendu. Vous respecterez les conventions d'écriture.

**QUESTION 2 :**

Quel est le mode de transmission de cette pathologie?

**QUESTION 3 :**

Soit S l'allèle sauvage et m l'allèle muté, vous donnerez le génotype possible pour chacun des individus.

**QUESTION 4 :**

Quelle est la probabilité pour que leur premier enfant soit atteint de la pathologie?

**QUESTION 5 :**

Si l'on considère maintenant que ce couple a déjà eu un premier enfant et qu'il est atteint de la pathologie recherchée, quelle sera la probabilité pour qu'un second enfant soit atteint?