

EPREUVES EN TEMPS LIMITE – PHBMR

2 septembre 2021

Cotation 200 points – durée 2 h – 6 exercices

EXERCICE N °1 /40 points

Papier semi-log fourni à la fin du document

Un antibiotique est administré par voie intraveineuse bolus à la dose de 2g. Les concentrations mesurées en fonction du temps sont les suivantes :

Temps (heures)	Concentrations (mg/L)
0,2	114,6
0,5	82,0
1	49,0
2	25,3
4	16,0
6	13,0
8	11,0
12	7,4

- ✓ **Question 1** : Déterminer les paramètres de l'équation mathématique décrivant l'évolution des concentrations en fonction du temps.
- ✓ **Question 2** : Calculer l' $AUC_{0-\infty}$ et la clairance totale d'élimination.
- ✓ **Question 3** : Calculer le volume central de distribution. En déduire la constante de vitesse d'élimination à partir du compartiment central.
- ✓ **Question 4** : Prédire la concentration de cet antibiotique à 24h. En déduire l' AUC_{0-24h}
- ✓ **Question 5** : La CMI pour le germe d'intérêt est de 2 mg/L. Le facteur prédictif d'efficacité de cet antibiotique : l'aire sous la courbe inhibitrice ($AUC = AUC_{0-24h}/CMI$) doit être supérieur à 125. La posologie de l'antibiotique est – elle correctement choisie pour la 1^{ère} dose ?

EXERCICE N °2 /40 points

Papier millimétré fourni à la fin du document

L'étude cinétique d'une enzyme michaelienne E, de masse moléculaire 30 000 Da, est réalisée pour différentes concentrations en substrats [S] en présence de concentrations fixes ($2 \cdot 10^{-6}$ mol/L) d'un inhibiteur compétitif (I_1) ou d'un inhibiteur non compétitif (I_2). Les mesures d'activité enzymatique spécifique sont rapportées dans le tableau suivant :

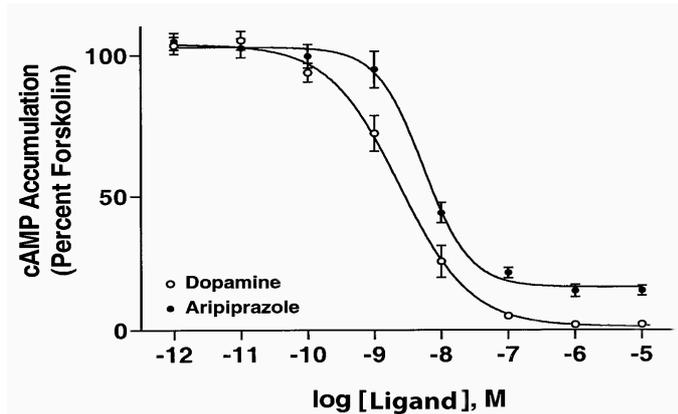
[S] $\times 10^{-6}$ M	$V_o (I_1)$ $\times 10^{-6}$ mol/min/mg	$V_o (I_2)$ $\times 10^{-6}$ mol/min/mg
2	6,67	5,00
4	10,00	6,67
5	11,11	7,14
10	14,29	8,33
20	16,67	9,09

- ✓ **Question 1** : Déterminer graphiquement les valeurs des K_m et V_{max} apparentes en présence de l'inhibiteur I_1 et de l'inhibiteur I_2 . (vous exprimerez les V_m apparentes dans la même unité que les vitesses initiales du tableau).
- ✓ **Question 2** : Donner les valeurs de K_m et V_m en l'absence d'inhibiteur (justifier votre réponse).
- ✓ **Question 3** : Calculer les constantes de dissociation des complexes EI pour chacun des deux inhibiteurs.
- ✓ **Question 4** : Calculer la constante catalytique en l'absence d'inhibiteur.
- ✓ **Question 5** : Comment évolue cette valeur en présence de l'inhibiteur compétitif (I_1).

EXERCICE N °3 /40 points

Des cellules d'ovaires de hamster de chine (CHO) qui expriment la forme humaine du sous type de récepteur D2 de la dopamine sont mises en culture. Sur ces cultures, les concentrations intracellulaires d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) sont mesurées après un traitement soit avec de la dopamine soit avec une nouvelle molécule, l'aripiprazole. Les résultats sont exprimés en pourcentage (%) des concentrations en AMPC obtenu lorsque ces cellules sont stimulées avec de la forskoline (figure 1).

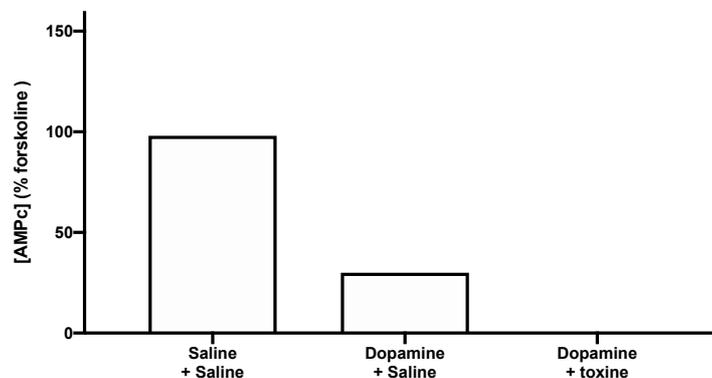
Figure 1 :



- ✓ **Question 1 :** Donner les valeurs des paramètres pharmacologiques qui permettent de caractériser ces ligands. Comparer les ligands. Préciser la nature des ligands dopamine et aripiprazole vis-à-vis du sous type de récepteur D2 de la dopamine.
- ✓ **Question 2 :** Que pouvez-vous en déduire quant au couplage du récepteur D2 de la dopamine et de la voie de signalisation recrutée ?

Afin de confirmer le couplage du récepteur D2 de la dopamine, une expérience reprenant des conditions expérimentales similaires à celles ayant permis d'obtenir la Figure 1 a été réalisée. La variation de la concentration intracellulaire d'AMPC dans les cellule CHO a été mesurée après l'application de différentes conditions dont notamment l'utilisation d'une toxine en présence de dopamine (Figure 2).

Figure 2 :



- ✓ **Question 3 :** Quelle toxine utiliseriez-vous pour confirmer l'hypothèse que vous avez émise quant au couplage du récepteur D2 de la dopamine ?
- ✓ **Question 4 :** Détailler son mécanisme d'action et représenter sur la figure 2 la conséquence de sa co-administration avec de la dopamine.

Dans la même étude, une nouvelle expérience est réalisée permettant de déterminer le K_i de la dopamine, de l'halopéridol, de l'aripiprazole pour le récepteur D2 de la dopamine en utilisant du $[^{125}I]$ -7-OH-PIPAT. Les données sont présentées dans le tableau 1.

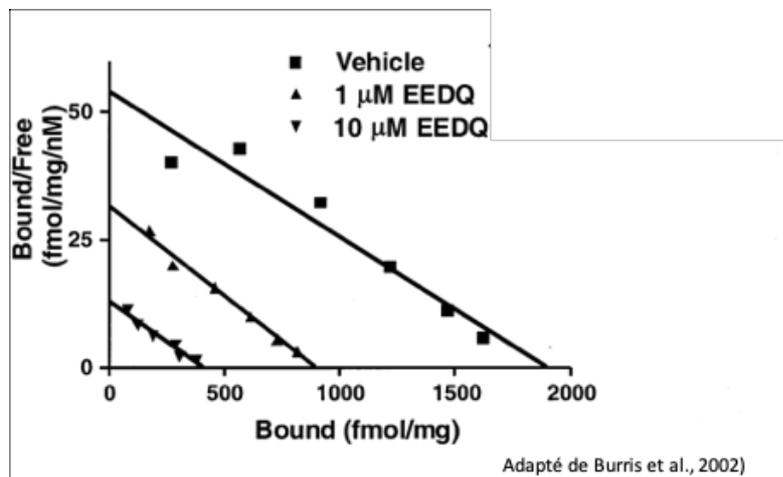
Tableau 1 :

	K_i (nM)
dopamine	$17 \pm 1,0$
haloperidol	$0,3 \pm 0,06$
aripiprazole	$0,34 \pm 0,02$

- ✓ **Question 5 :** A partir du tableau 1, que pouvez-vous conclure de la comparaison des K_i des 3 molécules, qu'en concluez-vous ?

La figure 3 représente « Bound/Free » en fonction de « Bound » pour l'aripiprazole dans le même modèle de culture cellulaire. Dans ces cultures cellulaires, à l'aripiprazole, du véhicule ou un traitement avec du N-ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydroquinoline (EEDQ, 1 μ M ou 10 μ M) est appliqué.

Figure 3 :

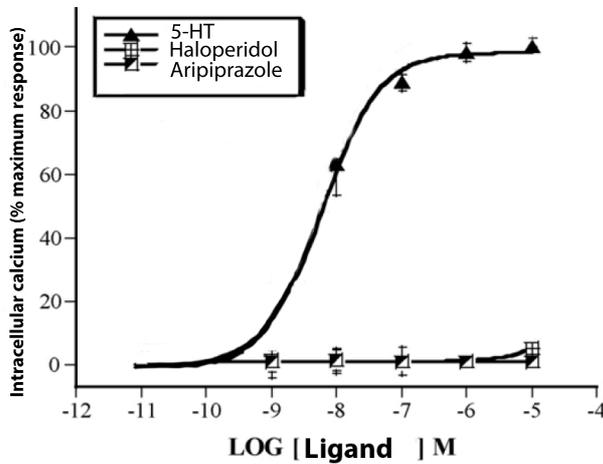


- ✓ **Question 6 :** Quelle est le nom de cette représentation ? A partir de quel type d'expérience obtient a-t-elle été obtenue ? Décrivez les grandes étapes du protocole qui ont permis d'établir cette représentation.
- ✓ **Question 7 :** Définissez puis déterminez les différents paramètres pharmacologiques issus de la figure 3 pour chacun des 3 groupes.
- ✓ **Question 8 :** Quelle est la conséquence de l'EEDQ sur ces cellules ?

Dans une nouvelle étude (Zhang et al., 2006) des cellules CHO qui expriment le récepteur 5-HT_{2A} sont utilisées. La concentration intracellulaire de calcium (en % de réponse) est alors représentée en

fonction de traitements de ces cellules avec des concentrations croissantes de sérotonine (5-HT), d'haloperidol ou d'aripiprazole. (Figure 4).

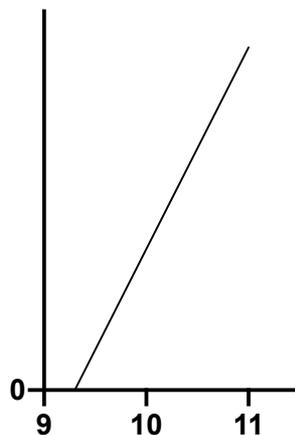
Figure 4 (Adapté de Zhang et al., 2006):



- ✓ **Question 9 :** Donner les valeurs des paramètres pharmacologiques qui permettent de caractériser les 3 ligands. Comparer les ligands.
- ✓ **Question 10 :** Le récepteur 5-HT_{2A} est un récepteur couplé à une protéine G : représenter sur un schéma la structure et le couplage du récepteur 5-HT_{2A}.

Suite à cette expérience une nouvelle expérience est réalisée pour l'aripiprazole où la droite de la figure 4 est tracée.

Figure 4 :



- ✓ **Question 11 :** Préciser le type de représentation qui a permis d'obtenir la figure 4. Définissez chacun des axes.
- ✓ **Question 12 :** A partir de la figure 4, quel paramètre pharmacologique peut être déterminé ? Définissez-le et donnez en un valeur.

EXERCICE N °4 /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, tous deux affectés de cette pathologie rare. L'homme du couple a une sœur et deux frères. Seule sa sœur est atteinte. La mère de l'homme du couple est également affectée.

- ✓ **Question 1** : Dessinez le pédigrée de ce couple, depuis leurs parents jusqu'à l'enfant attendu. Le respect des conventions d'écriture prendra une part importante dans la notation.
- ✓ **Question 2** : Quel est le mode de transmission de cette pathologie ? Justifier
- ✓ **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?

EXERCICE N °5 /40 points

Pour déterminer la concentration en sodium et en potassium dans le sang, le sérum et les urines de 24 heures, une technique par photométrie de flamme est utilisée, le lithium est utilisé comme étalon interne. Le tableau suivant répertorie les concentrations de chaque flacon et les signaux d'émission correspondant à chaque élément.

Échantillon	Concentration (mg/L)			Intensité du signal d'émission (UA)		
	Na	K	Li	Na	K	Li
1	0,5	0,5	500	0,43	0,57	31,2
2	1,0	1,0	500	1,11	1,48	40,2
3	5,0	5,0	500	6,01	7,98	43,2
4	10,0	10,0	500	7,93	10,55	28,5

- ✓ **Question 1** : Montrer que la réponse obtenue est proportionnelle à la concentration pour le sodium et le potassium.

Un premier aliquot de 10 μ L d'un échantillon urinaire et 1,0 mL d'une solution étalon à 5000 mg/L de Li sont introduits dans une fiole jaugée de 10 mL et complétés au volume final avec de l'eau distillée. Les intensités des signaux d'émission obtenus étaient de 2,9 pour Na, inférieur à la limite de détection pour K et 32,5 pour Li.

Un deuxième aliquot de 50 μ L d'urine est prélevé, 1,0 mL d'une solution étalon à 5000 mg/L de Li est ajouté, et il est complété au trait dans une fiole jaugée de 10 mL. Dans ce cas, les signaux d'émission obtenus étaient : Na = 13,6 ; K = 1,34 et Li = 30,4.

- ✓ **Question 2** : Parmi les 2 aliquots et en justifiant votre réponse, lequel allez-vous utiliser pour déterminer la concentration en Na ?
- ✓ **Question 3** : En déduire la concentration en Na dans l'échantillon urinaire.
- ✓ **Question 4** : Parmi les 2 aliquots et en justifiant votre réponse, lequel allez-vous utiliser pour déterminer la concentration en K ?
- ✓ **Question 5** : En déduire la concentration en K dans l'échantillon urinaire.
- ✓ **Question 6** : En sachant que les masses atomiques de Na et K sont respectivement de 23 et 39, en déduire les concentrations en Na et K, exprimé en mmol/L dans l'échantillon urinaire.

