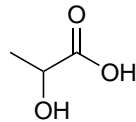


Sujet Otto Fritz MEYERHOF

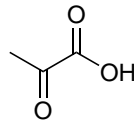
L'acide lactique (acide 2-hydroxypropanoïque) est un acide généré dans les muscles lors d'un effort physique intense et prolongé, et peut entraîner des crampes douloureuses.

Lors d'un effort physique, l'énergie est fournie aux muscles sous la forme de molécules d'ATP. Elles peuvent être produites par l'organisme par la réaction de glycolyse. En l'absence de dioxygène, une molécule de glucose est convertie par voie métabolique pour fournir deux molécules d'ATP et deux molécules d'acide pyruvique, lui-même converti en acide lactique par une réaction d'oxydo-réduction. Ainsi, lors d'un effort musculaire intense, l'organisme produit beaucoup d'acide lactique à l'origine des crampes parfois ressenties.

Les structures de l'acide lactique et de l'acide pyruvique sont présentées ci-après. Les bases conjuguées de ces espèces sont respectivement appelées ion lactate et ion pyruvate.



Acide lactique



Acide pyruvique

Données

- Le potentiel pris par une électrode au contact d'un couple redox est défini par la formule de NERNST. Par convention on considère que pour une demi équation redox on a :

$$E(\text{Ox/Red}) = E^\circ(\text{Ox/Red}) + \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln Qr = E^\circ(\text{Ox/Red}) + \frac{\alpha}{n} \log Qr$$

où Qr est le quotient réactionnel relatif à la demi-équation redox écrite dans le sens de l'oxydation. Dans cette expression α vaut à 298 K :

$$\alpha = \frac{RT \ln 10}{\mathcal{F}} = 0,060 \text{ V}$$

- Constante des gaz parfaits : $R = 8,314 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$
- Constante de Faraday : $\mathcal{F} = 96,5 \cdot 10^3 \text{ C} \cdot \text{mol}^{-1}$
- $\text{p}K_A$ (acide lactique / ion lactate) = 3,86
- pH sanguin : 7,4 (variations de pH tolérées pour la vie de l'individu : 7,0 à 7,8)
- Potentiels standard à pH = 0 et 25 °C :

Couple	NAD ⁺ / NADH	ion pyruvate / ion lactate
E° / V	-0,11	0,23

- Masses molaires en $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$:

Élément	C	O	H
$M / \text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$	12	16	1

- Justifier sous quelle forme se trouve l'acide lactique dans les muscles (dont le pH est celui du pH sanguin). Représenter en formule topologique cette espèce.

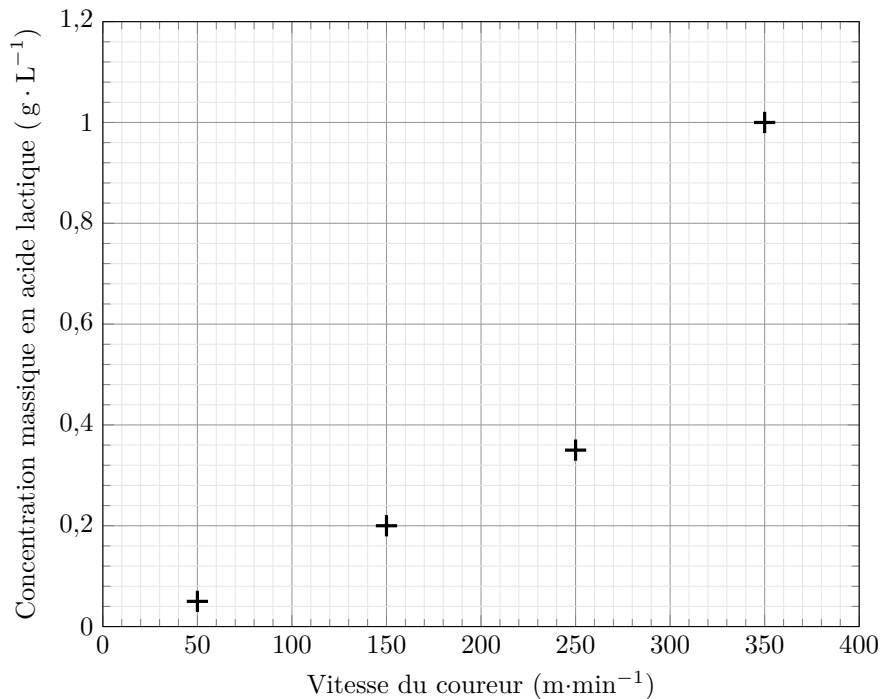
1 Évaluation des performances d'un coureur : test à l'effort

On souhaite évaluer la production d'acide lactique d'un sportif au cours d'un effort physique et évaluer ses performances (**Document 3**).

Le coureur réalise deux courses à pied (à une semaine d'intervalle). La concentration en acide lactique présent dans l'organisme après la course est alors déterminée après titrage d'un prélèvement sanguin (**Document 1**).

Document 1 – Concentration massique d'acide lactique dans le sang du coureur en fonction de la vitesse de course.

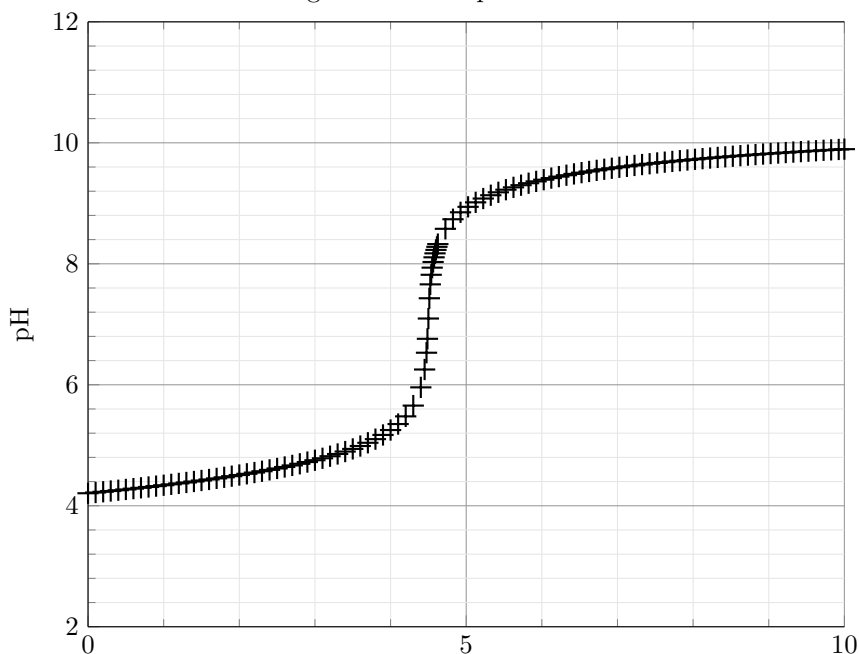
Au cours de la semaine 1, le coureur effectue 4 courses de 1 km à des vitesses différentes, supposées constantes sur la distance parcourue. Le graphique ci-dessous reporte la concentration massique en acide lactique dans le sang du coureur après chaque course. On suppose que le temps de repos entre les courses est suffisamment important pour que les courses soient considérées indépendantes.



Document 2 – Titrage du prélèvement sanguin de la semaine 2

Lors de la semaine 2, le coureur effectue une course à pied de 1 km à la vitesse constante de $15 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$, à la suite de laquelle du sang lui est prélevé (le volume de l'échantillon est de 1,00 mL). L'échantillon est placé dans une fiole jaugée de 50,0 mL et le volume est complété jusqu'au trait de jauge avec de l'eau. On prélève pour analyse un volume de 25,0 mL de cette solution.

On titre l'échantillon correspondant au sang par de la soude (Na^+, HO^- , $C_0 = 5,0 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$). Le titrage est suivi par pH-métrie et la courbe de titrage simulée est présentée ci-dessous.



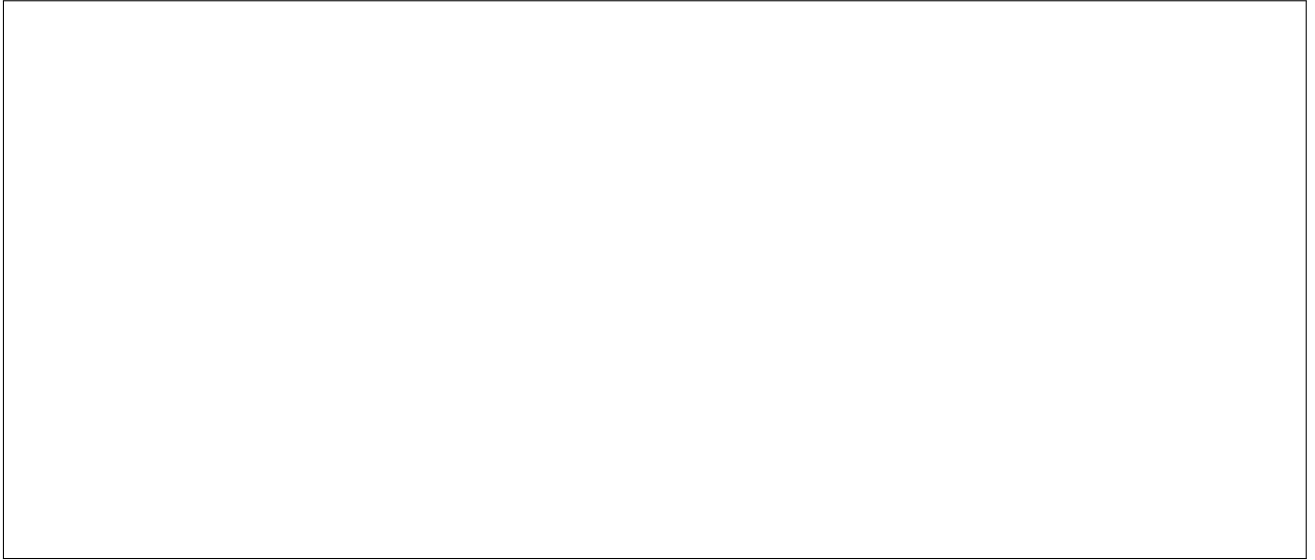
Document 3 – Évaluation des performances d'un coureur

La quantité d'acide lactique dans le sang est proportionnelle à l'intensité de l'effort fourni et témoigne de la production d'énergie pour les muscles. Après un effort intense, plus la quantité d'acide lactique est importante, plus le sportif a été capable de fournir une grande quantité d'énergie à son corps, meilleures sont donc ses performances.

Plusieurs seuils d'endurance existent en fonction de la concentration d'acide lactique dans le sang :

- L'allure de course nommée « endurance » correspond à une concentration sanguine en acide lactique comprise entre $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ et $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.
- L'allure de course nommée « endurance active » correspond à une concentration sanguine en acide lactique supérieure à $4 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

2. La course effectuée en semaine 2 (**Document 2**) peut-elle être qualifiée d'endurance ou d'endurance active ?



3. Comparer les performances du coureur entre les deux semaines d'entraînement.

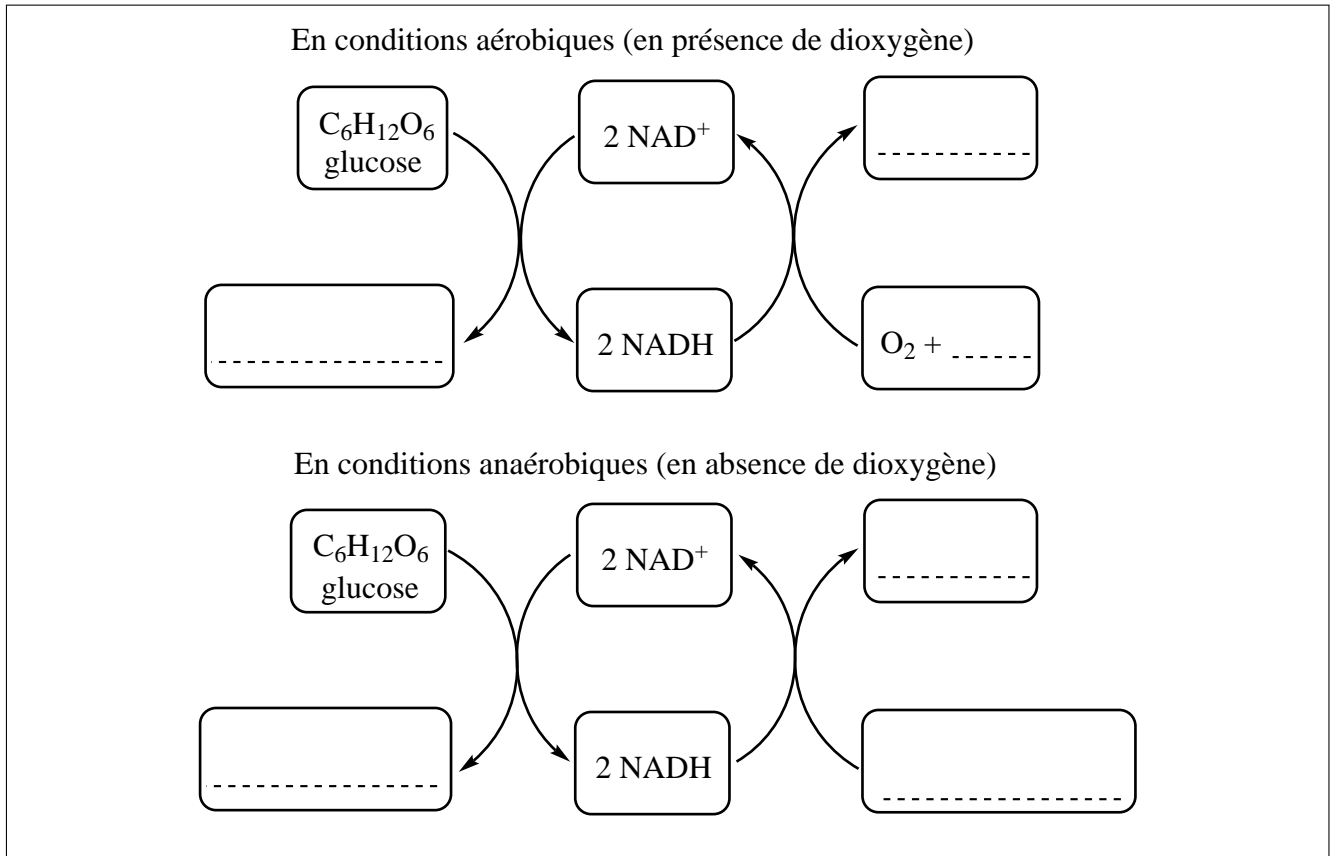


2 Production d'ions lactate en condition anaérobie

L'énergie nécessaire au fonctionnement des muscles est fournie par le glucose lors de la glycolyse. Cette étape nécessite des ions NAD^+ , qui sont alors réduits, et produit des ions pyruvate (notés Pyr). À l'issue de la glycolyse, NAD^+ est régénéré lors de l'oxydation de NADH par le dioxygène.

Lors d'un effort physique intense, les muscles manquent d'oxygène. Pour régénérer l'ion NAD^+ nécessaire à la glycolyse, les ions pyruvate réagissent alors par réaction d'oxydoréduction avec le NADH formé, pour former des ions lactate (notés Lac), base conjuguée de l'acide lactique.

4. À partir des informations fournies dans le texte introductif de la partie 2, compléter les pointillés des diagrammes suivants. On fera apparaître toutes les espèces intervenant dans chaque cycle avec les nombres stœchiométriques permettant d'équilibrer toutes les réactions mises en jeu.



5. Écrire l'équation de la réaction permettant de régénérer NAD⁺ en présence de pyruvate.

Le potentiel standard apparent d'un couple redox est défini comme le potentiel de NERNST dans lequel les activités de toutes les espèces autres que celles des ions hydrogène sont prises égales à un.

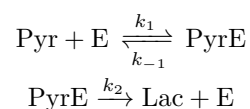
6. Déterminer les expressions des potentiels standard apparents notés E_{app}° des couples NAD^+/NADH et pyruvate/lactate dans les conditions biologiques (c'est-à-dire calculés à $\text{pH} = 7$ et $T = 310\text{ K}$). Calculer numériquement les potentiels standard apparents de chaque couple.

7. Cette réaction se produit-elle spontanément à $\text{pH} = 7$ et $T = 310\text{ K}$? Justifier par le calcul de la constante d'équilibre apparente K_{app}° de la réaction proposée à la question 5. La constante d'équilibre apparente K_{app}° est définie comme la constante d'équilibre de la réaction calculée en remplaçant les valeurs des potentiels standard par les potentiels standard apparents des couples considérés.

3 Étude cinétique de la catalyse de la réaction de réduction du pyruvate par la lactate déshydrogénase

La réaction d'oxydation de la NADH par le pyruvate est en réalité très lente d'où la nécessité d'une catalyse en milieu biologique. Elle est assurée par une enzyme spécifique notée E et appelée la lactate déshydrogénase. Le modèle de MICHAELIS – MENTEN est couramment utilisé pour modéliser la transformation d'un substrat (ici le pyruvate noté Pyr) en un produit (ici le lactate noté Lac) catalysée par une enzyme E. Dans une première étape, l'enzyme E s'associe au substrat Pyr pour former un intermédiaire PyrE appelé complexe. Dans une seconde étape, le complexe se dissocie de sorte à générer le produit nouvellement formé (ici le lactate Lac) et régénérer l'enzyme E.

On s'intéresse donc à l'étude du mécanisme suivant :



On note v_i la vitesse associée à la réaction de constante de vitesse k_i .

8. En appliquant l'approximation de l'état quasi stationnaire à l'espèce PyrE, exprimer la concentration en complexe (entre le pyruvate et l'enzyme) PyrE notée [PyrE] en fonction des constantes de vitesses et des concentrations en enzyme [E] et en pyruvate [Pyr].

9. Exprimer la vitesse v de formation de lactate en fonction des constantes de vitesse k_1 , k_{-1} et k_2 et des concentrations en pyruvate [Pyr] et en enzyme [E]. On définit la constante de MICHAELIS notée K_M par la relation :

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

10. En appliquant la relation de conservation de la matière appliquée à l'enzyme E, montrer la relation suivante :

$$[E]_0 = [\text{PyrE}] \left(1 + \frac{K_M}{[\text{Pyr}]} \right)$$

11. En déduire que la vitesse v de formation de lactate s'exprime sous la forme :

$$v = \frac{k_2 [E]_0 [\text{Pyr}]}{K_M + [\text{Pyr}]}$$

avec [Pyr] la concentration en pyruvate, $[E]_0$ la concentration initiale en enzyme, k_2 la constante de vitesse associée à la réaction 2 et K_M la constante de MICHAELIS.

12. Simplifier l'écriture de la vitesse v en fonction de la concentration en pyruvate $[\text{Pyr}]$, de la constante de MICHAELIS MENTEN K_M et d'une vitesse maximale notée v_{max} , vitesse à laquelle il n'y a plus d'enzyme libre dont on précisera l'expression.

On s'intéresse dans cette partie à déterminer les paramètres cinétiques v_{max} et K_M . Pour ce faire, deux méthodes vont être étudiées : l'exploitation de l'évolution des vitesses initiales (notées v_{ini}) ou la linéarisation de LINEWEAVER et BURK.

3.1 Détermination des paramètres en fonction du tracé de $v_{ini} = f([\text{Pyr}]_0)$

13. Exprimer la vitesse initiale v_{ini} en fonction de v_{max} , K_M et $[\text{Pyr}]_0$.

14. Étudier le comportement (ou les valeurs) de la fonction $v_{ini} = f([Pyr]_0)$ dans les cas suivants :

- a. $[Pyr]_0 = 0$
- b. $[Pyr]_0 \ll K_M$
- c. $[Pyr]_0 = K_M$
- d. $[Pyr]_0 \gg K_M$

15. Tracer l'allure de $v_{ini} = f([Pyr]_0)$. Proposer une démarche pour déduire les valeurs de v_{max} et de K_M .

16. À partir de vos réponses aux questions précédentes, préciser la signification que l'on peut donner à la constante de MICHAELIS K_M .

Cependant, cette méthode de détermination des paramètres cinétiques s'avère parfois trop imprécise car elle est basée sur une représentation graphique qui n'est pas de type fonction affine. On préférera donc employer l'ajustement linéaire de LINEWEAVER et BURK.

3.2 Linéarisation de LINEWEAVER et BURK

17. Proposer une expression de $1/v_{ini}$ sous forme de fonction affine et en déduire comment peuvent être déterminés les paramètres cinétiques v_{max} et K_M .

18. À partir des résultats expérimentaux suivants, déterminer v_{max} et K_M .

$[\text{Pyr}]_0 / 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$	0	1,0	1,25	2,5	5,0	10
$v_{ini} / 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$	0	2,5	2,8	3,55	4,15	4,55