

ULC 131

SESSION 2001

Filière BCPST

BIOLOGIE

(Épreuve commune aux ENS : Ulm, Lyon et Cachan)

Durée : 6 heures

L'usage de calculatrices électroniques de poche à alimentation autonome, non imprimantes et sans document d'accompagnement, est autorisé. Cependant, une seule calculatrice à la fois est admise sur la table ou le poste travail, et aucun échange n'est autorisé entre les candidats.

Tournez la page S.V.P.

Épreuve de biologie

L'épreuve de biologie est divisée **en deux parties totalement indépendantes** que vous pouvez aborder dans l'ordre de votre choix **mais que vous devez rédiger sur deux jeux de copies séparés** :

- 1) un sujet de synthèse qui sera noté sur **un tiers des points de l'épreuve** (durée conseillée deux heures),
- 2) un sujet avec documents qui sera noté sur les **deux tiers des points de l'épreuve** (durée conseillée quatre heures). Ce sujet est constitué de cinq parties notées A, B, C, D et E. Les questions d'une partie sont largement indépendantes des réponses fournies dans les parties précédentes. Toutefois il est conseillé aux candidats d'aborder les parties A, B, C et D dans l'ordre proposé. À l'intérieur de chaque partie, de nombreuses questions sont indépendantes. Les réponses seront jugées sur leur justesse mais aussi sur la pertinence, la précision et la concision des justifications qui les accompagnent.

Les figures, annexe, glossaire et abréviations sont relatifs au sujet avec documents.

Matériel fourni : papier millimétré.

Tournez la page S.V.P.

1 - Sujet de synthèse

(durée conseillée : 2 heures)

Les mitochondries.

*(La clarté et la qualité du plan, de la rédaction et de la présentation
seront prises en compte dans la notation).*

**ATTENTION : TRAITER LE SUJET DE SYNTHÈSE SUR DES COPIES INDÉPENDANTES
DE CELLES DU SUJET AVEC DOCUMENTS.**

2 - Sujet avec documents

(durée conseillée : 4 heures)

ATTENTION : TRAITER LE SUJET AVEC DOCUMENTS SUR DES COPIES
INDÉPENDANTES DE CELLES DU SUJET DE SYNTHÈSE.

Tournez la page S.V.P.

Partie A

Monsieur X, 28 ans, d'origine finlandaise, consulte pour une faiblesse musculaire au niveau des jambes, survenant après des efforts. Il souffre aussi de diplopie (vision double). L'examen montre la présence d'une ophtalmoplégie externe (cf. glossaire), et le bilan biologique révèle une acidose lactique (concentration anormalement élevée d'acide lactique dans le sang). Suspectant une maladie mitochondriale, le médecin fait pratiquer une biopsie du tissu musculaire squelettique, qui montre une désorganisation très importante des fibres musculaires. On observe une hyperprolifération des mitochondries, qui ont en grande partie remplacé les myofilaments. Sept membres de la famille de Monsieur X ont été atteints des mêmes symptômes. L'arbre généalogique de cette famille vous est donné à la figure 1, Monsieur X correspond à l'individu III-4. Dans cette famille les symptômes sont toujours apparus à l'âge adulte.

Question A1 : Des biopsies musculaires sont réalisées sur trois autres sujets atteints (III-7, III-8 et II-6) et deux sujets sains (II-4 et I-2) de la même famille. L'ADN cellulaire total est purifié à partir des fragments biopsiques de Monsieur X et de ses cinq parents, il est digéré par l'endonucléase de restriction *PvuII*, soumis à une électrophorèse en gel d'agarose, transféré sur membrane de nitrocellulose et hybridé avec une sonde radioactive correspondant à l'ADN mitochondrial (ADNmt) total, selon la technique de Southern. La membrane a été autoradiographiée. Les résultats de l'autoradiographie sont présentés figure 2. Des résultats identiques ont été obtenus en remplaçant *PvuII* par l'enzyme *NheI*. La structure de l'ADNmt humain et les positions des sites de restriction pour cinq endonucléases sont données en annexe.

A1-1 : *Si vous ne le saviez pas, quels arguments vous permettraient de déduire de cette expérience que l'ADNmt est circulaire ?*

A1-2 : *Comparez les résultats obtenus d'une part entre sujets sains et sujets atteints et d'autre part entre les sujets atteints. Qu'observez-vous ? Comment interprétez-vous ces observations ? En quoi certaines d'entre elles sont-elles étonnantes ?*

Question A2 : La même expérience de Southern, utilisant l'enzyme *PvuII*, est réalisée en utilisant une sonde (sonde XK, cf. annexe) correspondant au fragment d'ADNmt digéré par *XhoI* et *KpnI* de 1097 paires de bases (pb).

A2-1 : *Pour tous les échantillons, on observe uniquement une bande d'environ 16500 pb. Comment interprétez-vous ce résultat ?*

Question A3 : Des expériences de Southern sont, cette fois, réalisées après digestion de l'ADN cellulaire par les enzymes *KpnI* et *XbaI*.

A3-1 : *Quand l'hybridation est réalisée en utilisant une sonde correspondant au fragment d'ADNmt digéré par KpnI de 3013 pb (sonde KK, cf. annexe), on observe uniquement deux bandes d'environ 1400 et 1600 pb, pour tous les échantillons. Comment interprétez-vous ces résultats ?*

A3-2 : *Quand l'hybridation est répétée en utilisant une sonde correspondant au fragment d'ADNmt digéré par KpnI et NheI de 2003 pb (sonde KN, cf. annexe), on observe uniquement deux bandes d'environ 350 et 4500 pb, pour tous les échantillons. Comment interprétez-vous ces résultats ?*

A3-3 : *Résumez à l'aide d'un schéma représentant l'ADNmt les informations que vous avez obtenues sur les anomalies observables chez les sujets atteints.*

Question A4 : L'ADNmt des sujets atteints est digéré par NheI et KpnI, les fragments obtenus dont la taille est comprise entre 3200 et 5000 pb sont purifiés et insérés dans des plasmides. Chacun de ces fragments est séquencé par la méthode de Sanger en utilisant un oligonucléotide correspondant à une séquence plasmidique située 50 pb en amont du site KpnI. Les séquences obtenues sont alignées avec la séquence de l'ADNmt humain normal. Des exemples représentatifs des résultats de cet alignement sont présentés dans la figure 3.

A4-1 : *Décrivez globalement ces résultats. Quelles conclusions générales en tirez-vous ?*

A4-2 : *Pour chaque clone, comparez précisément les séquences nucléotidiques entourant les deux bornes des régions s'alignant avec les ADNmt anormaux. Quelle caractéristique commune à tous ces clones remarquez-vous ?*

A4-3 : *Quel mécanisme moléculaire de formation des séquences anormales cette observation vous suggère-t-elle ?*

Question A5 : Afin de mieux comprendre les différences observées à la question A1 entre les différents sujets atteints de la même famille, une analyse de l'ADNmt par la technique de Southern utilisant PvuII et la sonde d'ADNmt total a été faite de façon identique sur deux prélèvements biopsiques musculaires réalisés à 6 ans d'intervalle chez Monsieur X (III-4). Les résultats sont donnés dans la figure 4.

A5-1 : *Qu'observez-vous ? Quelle interprétation faites-vous de cette observation ?*

A5-2 : *A votre avis, quel(s) rôle(s) les anomalies du génome mitochondrial peuvent-elles jouer dans la pathologie de cette famille ?*

Tournez la page S.V.P.

Partie B

Après une étude complète du cas de Monsieur X (cf. partie A), le médecin diagnostique une « ophtalmoplégie externe progressive » (PEO), maladie génétique apparaissant à l'âge adulte et décrite comme atteignant la population finlandaise avec une fréquence de 1 malade pour 100 000 individus. La proportion des cas sporadiques, résultant d'une néomutation, est estimée à 25 %. A la suite de ce diagnostic, plusieurs membres de la famille de Monsieur X consultent un médecin généticien, inquiets des risques encourus par leur descendance et par eux-mêmes.

Question B1 : Une cousine (III-6) de Monsieur X, âgée de 15 ans, attend un enfant (IV-5) et s'inquiète du risque qu'il soit porteur de la maladie.

B1-1 : *Sur quels arguments pouvez-vous dire, d'après l'arbre généalogique de cette famille présenté dans la figure 1, que la PEO est une maladie autosomique dominante ?*

B1-2 : *D'après les informations dont vous disposez, quelle est la probabilité que l'enfant à naître IV-5 soit porteur de la mutation ?*

Question B2 : De même, un cousin (III-1) de Monsieur X, s'enquiert du risque encouru par son enfant à naître. On a étudié l'âge d'apparition des premiers symptômes chez les patients finlandais atteints de PEO : la proportion d'individus ayant développé la maladie avant un âge donné est représentée dans la figure 5.

B2-1 : *En tenant compte de ces nouvelles informations, quelle est la probabilité que l'enfant à naître IV-1 ait reçu la mutation de son père ?*

Question B3 : La tante II-5 de Monsieur X s'inquiète du risque que ses enfants et son petit-enfant développent la maladie. On rappelle le théorème de Bayès (ou théorème des causes) pour deux événements A et B :

$$P(A/B) = \frac{P(B/A) \times P(A)}{P(B/A) \times P(A) + P(B/\bar{A}) \times P(\bar{A})}$$

où $P(A/B)$ est la probabilité que l'événement A soit réalisé sachant que l'événement B est réalisé.

B3-1 : *Quelle est la probabilité que II-5 porte la mutation, compte tenu du fait qu'elle n'est pas malade ?*

B3-2 : *Quelle est la probabilité que sa fille III-12 soit porteuse de la mutation ?*

B3-3 : *Quelle est la probabilité que son autre fille III-11 soit porteuse de la mutation ?*

B3-4 : *Quelle est la probabilité que sa petite fille IV-6 développe la maladie avant 40 ans ?*

Partie C

L'analyse génétique de la famille de Monsieur X (cf. parties A et B), a permis d'identifier le gène responsable de la forme finlandaise de PEO. Il s'agit du gène *ant1*, qui code l'isoforme musculaire du transporteur ADP/ATP localisé dans la membrane interne de la mitochondrie. Ce transporteur permet l'entrée d'une molécule d'ADP contre la sortie d'une molécule d'ATP de la mitochondrie, par diffusion facilitée.

Pour l'étudier, on isole à partir de cellules musculaires, par des techniques de fractionnement cellulaire, des vésicules de membranes internes mitochondriales. La mesure de la vitesse de translocation de l'ADP permet de suivre l'activité de translocation du transporteur ANT1. On a pu montrer que la vitesse de translocation observée ne relève que de ANT1.

On rappelle la loi d'Arrhénius : $k(T) = A \cdot e^{\frac{-E_a}{R \cdot T}}$, avec : A : constante ; k(T) : constante de vitesse qui est fonction de la température ; E_a : énergie d'activation ($\text{J} \cdot \text{mol}^{-1}$) ; R : constante molaire des gaz parfaits, $R = 8,31 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$; T : température (K), $0^\circ\text{C} = 273 \text{ K}$.

Par ailleurs, on note Ln le logarithme népérien et Log le logarithme décimal.

Question C1 :

C1-1 : *Rappelez brièvement les caractéristiques de la diffusion facilitée par transporteur.*

C1-2 : *D'après les rôles métaboliques de ces nucléotides, justifiez brièvement le sens du transport d'ADP et d'ATP.*

Question C2 : L'étude du transporteur ANT1 a été facilitée par la découverte de trois inhibiteurs, tout d'abord l'atractyloside (ATR), un oside extrait du chardon à glu (*Atractylis gummifera L.*) et son dérivé le carboxyatractyloside (CATR), ensuite l'acide bongkréique (BKA), une toxine produite par la bactérie *Burkholderia cocovenenans*.

Les vitesses initiales de transport de l'ADP (v_T) sont mesurées en fonction de la concentration initiale d'ADP, en présence ou non d'ATR ou de CATR. Les résultats obtenus sont reportés dans le tableau 1 (cf. page suivante).

C2-1 : *Vérifiez que la cinétique de transport suit une loi de type michaélien. Par analogie avec une réaction enzymatique estimez le K_m pour l'ADP.*

C2-2 : *ATR et CATR sont-ils des inhibiteurs compétitifs ? Justifiez votre réponse.*

C2-3 : *BKA est un inhibiteur compétitif. Rappelez brièvement, à l'aide d'un schéma, le mécanisme d'action d'un inhibiteur compétitif.*

Tournez la page S.V.P.

[ADP] ($\mu\text{mol.L}^{-1}$)	Vitesse initiale de translocation v_T ($\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{minute}^{-1}$)				
	1	2	5	10	50
Sans inhibiteur	1,03	1,55	2,29	2,54	3,16
CATR : $0,5 \mu\text{mol.L}^{-1}$	0,32	0,58	1,13	1,67	2,70
ATR : $0,3 \mu\text{mol.L}^{-1}$	0,17	0,29	0,49	0,65	1,13

Tableau 1 : Vitesses initiales de transport de l'ADP obtenues avec des vésicules de membranes internes mitochondriales. Les vitesses de transport de l'ADP sont mesurées à différentes concentrations initiales en ADP, en l'absence (sans inhibiteur) ou en présence de carboxyatractyloside (CATR) ou d'atractyloside (ATR).

Les vésicules dérivées de la membrane interne des mitochondries (qui sépare la matrice de l'espace intermembranaire) peuvent être retournées par un traitement aux ultrasons. La face externe des vésicules ainsi obtenues correspond alors à la face interne (matricielle) de cette membrane mitochondriale. Inversement, la face interne de la membrane de ces vésicules correspond à la face externe (intermembranaire) de cette membrane mitochondriale.

Le traitement aux ultrasons est effectué dans une solution S1. Les vésicules obtenues sont récoltées puis lavées et incubées dans une solution S2. Les vitesses de translocation de l'ADP sont mesurées en présence ou en l'absence d'inhibiteurs. Les résultats sont présentés dans le tableau 2.

Expérience	Solution S1		Solution S2		v_T ($\mu\text{mol.L}^{-1}.\text{minute}^{-1}$)
	pH	inhibiteur	pH	inhibiteur	
1	6,5		6,5		2,29
2	6,5	CATR	6,5		0,49
3	6,5		6,5	CATR	2,32
4	6,5	BKA	6,5		1,59
5	6,5		6,5	BKA	0,51
6	7,5	BKA	6,5		2,25
7	6,5		7,5	BKA	0,48
8	7,5		6,5		2,27
9	6,5		7,5		2,27

Tableau 2 : Transport de l'ADP par des vésicules retournées de membrane interne mitochondriale. Des vésicules de membrane interne de mitochondries sont traitées aux ultrasons dans une solution S1. Les vésicules ainsi préparées sont récoltées et transférées dans une solution S2. Selon les expériences, le pH des solutions S1 et S2 est de 6,5 ou 7,5. Ces solutions peuvent aussi être additionnées ou non de carboxyatractyloside (CATR) ou d'acide bongkréique (BKA). Chaque inhibiteur est utilisé à la même concentration d'une expérience à l'autre. Les vitesses de translocation de l'ADP (v_T) sont mesurées avec les mêmes concentrations initiales en nucléotides.

Question C3 : Analysez les résultats des expériences 1 à 5 du tableau 2 :

C3-1 : Comparez les résultats des trois premières expériences. Que cela vous suggère-t-il ?

C3-2 : Comparez les résultats des expériences 1, 4 et 5. Qu'en pensez-vous ?

Question C4 : Les expériences 6 à 9 ont été réalisées afin de préciser les expériences 4 et 5. La formule du BKA est donnée dans la figure 6. Les pKa des trois fonctions acides carboxyliques sont considérés voisins de 5,5 à la température de l'expérience.

C4-1 : Comparez, sans rentrer dans des calculs précis, les proportions de la forme non ionisée de BKA à pH 6,5 et à pH 7,5.

C4-2 : Comparez les résultats des expériences 4 et 6 : quelle hypothèse pouvez-vous faire pour expliquer les différences observées ?

C4-3 : Pourquoi les auteurs ont-ils réalisé l'expérience 7 ? Comment l'interprétez-vous ?

C4-4 : Pourquoi les auteurs ont-ils réalisé les expériences 8 et 9 ? Comment les interprétez-vous ?

C4-5 : Compte tenu des réponses faites aux questions C2, que concluez-vous de cette série d'expériences quant au(x) site(s) de liaison de l'ADP au transporteur ANTI ? Faites un schéma.

La vitesse initiale de translocation a été mesurée à différentes températures dans des vésicules de membrane interne de mitochondries, toutes les autres conditions étant égales par ailleurs. Les résultats sont présentés dans la figure 7. Il a été montré que cette vitesse est d'ordre 1 par rapport aux nucléotides transportés.

Question C5 : Analysez la figure 7 :

C5-1 : Calculez l'énergie d'activation du transport de l'ADP par ANTI. Quelle remarque pouvez-vous faire ?

Question C6 : Les propriétés de la membrane interne des mitochondries peuvent être étudiées sur des vésicules géantes reconstituées. On incube ces vésicules avec des phospholipides couplés à un fluorochrome (molécule fluorescente). Ces phospholipides s'incorporent et se répartissent uniformément dans la membrane et la fluorescence est uniforme sur toute la surface de la vésicule. On peut ensuite irradier une petite zone de la membrane avec un flash de faisceau laser qui détruit localement et irréversiblement le fluorochrome. On mesure alors au cours du temps l'intensité de fluorescence dans la zone irradiée au laser. La courbe obtenue est du type de celle présentée dans la figure 8. La fluorescence retourne progressivement vers une intensité d'équilibre proche de son niveau initial. La réapparition de la fluorescence suit une loi, pour laquelle on définit un temps caractéristique τ , qui est le temps nécessaire pour obtenir une fluorescence d'intensité égale à la moitié de la fluorescence initiale. Les valeurs de τ peuvent être mesurées à différentes températures pour donner un graphe $\text{Log}(\tau) = f(\text{température})$ du type de celui présenté dans la figure 9.

C6-1 : Comment expliquez-vous que la fluorescence réapparaît progressivement dans la zone irradiée ? De quelle propriété membranaire τ est-il le reflet ?

C6-2 : Rapprochez les résultats de la figure 7 de ceux de la figure 9. Comment l'état de la membrane influence-t-il la vitesse de translocation par ANTI ? Quelles hypothèses pouvez-vous formuler pour expliquer cela ?

Tournez la page S.V.P.

Partie D

La PEO fait partie d'un groupe hétérogène de maladies génétiques associant ophtalmoplégie externe, faiblesse musculaire, acidose lactique, et le type d'altération du génome mitochondrial que vous avez observé dans la partie A. Dans une de ces pathologies, l'encéphalomyopathie neuro-gastrointestinale mitochondriale (MNGIE), le gène muté a été identifié. Il s'agit du gène de la thymidine phosphorylase, enzyme cytosolique dégradant la thymidine pour donner de la thymine et du 2'-désoxyribose phosphate.

Dans une autre de ces pathologies, le syndrome de Kearns-Sayre, l'ADNmt présente parfois, en plus de ces altérations, des duplications partielles produisant des molécules d'ADNmt de taille anormalement élevée. Des clones cellulaires contenant chacun un seul type d'ADNmt, et par ailleurs parfaitement identiques, ont été obtenus à partir de deux malades (A et B) atteints du syndrome de Kearns-Sayre. Pour cela, les mitochondries sont totalement éliminées de la lignée fibroblastique humaine 143B par traitement au bromure d'éthidium (BET), un inhibiteur de l'ADN polymérase mitochondriale. Les mitochondries purifiées des malades sont micro-injectées dans ces cellules, qui sont alors traitées à nouveau par le BET jusqu'à réduction du nombre moyen d'ADNmt par cellule en dessous de 0,5. Des clones cellulaires sont alors isolés et cultivés plusieurs jours en l'absence de BET de façon que celles ayant conservé un génome mitochondrial rétablissent un pool normal de mitochondries. Un clone contenant l'ADNmt normal a été obtenu pour chacun des malades (clones A1 et B1), ainsi que trois clones contenant des ADNmt anormaux (A2, B2, B3).

Question D1 : Le nombre de copies de l'ADNmt par cellule a été déterminé pour les clones A1, A2, B1, B2 et B3. Les résultats, ainsi que les tailles de ces ADNmt, sont donnés dans le tableau 3.

Clone	A1	A2	B1	B2	B3
Taille de l'ADNmt (en pb)	16569	9100	16569	25400	17600
Nb de copies d'ADNmt par cellule	12900	23700	13050	8470	12300

Tableau 3 : Nombre de copies d'ADNmt par cellule dans les clones A1, A2, B1, B2 et B3. Ce nombre a été déterminé par hybridation de l'ADN cellulaire total avec une sonde reconnaissant une région de l'ADNmt conservée dans tous ces clones. Le signal autoradiographique a été comparé avec ceux obtenus pour une gamme de quantités connues d'ADNmt normal purifié.

D1-1 : *Donnez dans un tableau, pour chaque clone, le nombre de copies d'ADNmt par cellule, le nombre d'origine(s) de répllication d'ADNmt par cellule, et la masse totale d'ADNmt par cellule. La masse molaire d'un nucléoside monophosphate, le nombre d'Avogadro et la position de l'origine de répllication (O_H) de l'ADNmt sont donnés en annexe.*

D1-2 : *Qu'en concluez-vous ?*

Question D2 : Il n'existe pas de système de transport mitochondrial pour les désoxyribonucléotides. Par contre on a pu montrer que la matrice mitochondriale contient des ribonucléoside 5'-monophosphate 2'-réductases et des 2'-désoxyribonucléotide 5'-kinases.

D2-1 : *Quel(s) peu(ven)t être le(s) rôle(s) de ces enzymes ?*

D2-2 : *Pouvez-vous, compte tenu des résultats obtenus à la question D1, imaginer un mécanisme qui pourrait expliquer les altérations du génome mitochondrial observées dans la PEO et la MNGIE ?*

D2-3 : *En conclusion, dans le cas de la PEO, pouvez-vous proposer un modèle récapitulatif des mécanismes permettant de relier la mutation du gène ant1 aux symptômes présentés par les malades ?*

Tournez la page S.V.P.

Partie E

Monsieur Y, un patient de 17 ans originaire d'Arabie Saoudite, consulte un médecin pour la survenue récente de plusieurs malaises, dont l'un accompagné de perte de connaissance. L'interrogatoire révèle que ce patient souffre depuis quelques temps de faiblesse musculaire au niveau des jambes, survenant après des efforts, et de diplopie. L'examen montre la présence d'une ophtalmoplégie externe. De plus, il présente une acidose lactique. Trois membres de sa famille ont présenté des troubles similaires. Tous sont morts avant l'âge de 25 ans.

Question E1 : Le médecin prescrit un examen électrocardiographique en continu sur 24 heures. Le tracé correspondant à un malaise survenu au cours de l'enregistrement est donné dans la figure 10.

E1-1 : *Nommez les différentes ondes observables sur ce tracé. A quoi correspondent-elles ?*

E1-2 : *Quelle(s) anomalie(s) observez-vous ? Quel est le mécanisme sous-jacent ?*

E1-3 : *Si vous aviez pris le pouls du malade au moment de l'enregistrement de ce tracé, quelle fréquence cardiaque auriez-vous trouvée ?*

Le médecin prescrit le traitement approprié, qui règle le problème. Trois ans plus tard, le patient consulte à nouveau. Son état s'est considérablement dégradé. Les troubles moteurs se sont aggravés et il présente un essoufflement majeur qui l'empêche de marcher plus de 50 mètres ou de monter un étage. Au repos, il présente une tachycardie (augmentation de la fréquence cardiaque). Le médecin décide de pratiquer une échocardiographie (échographie cardiaque).

L'échographie est une technique utilisée en imagerie médicale et reposant sur les propriétés de réflexion des ultrasons, qui dépendent des caractéristiques acoustiques des milieux traversés. Cette réflexion est particulièrement intense à l'interface entre deux milieux différents. La sonde d'échographie émet à intervalles réguliers des impulsions d'ondes ultrasonores et sert aussi de récepteur des ondes réfléchies. La mesure du délai entre l'émission de l'impulsion et la réception des ondes réfléchies permet d'évaluer précisément la profondeur des structures échogènes rencontrées.

En cardiologie, l'échographie en mode TM (temps-mouvement) permet d'explorer la dynamique de la contraction cardiaque. Un faisceau ponctuel d'ultrasons est émis par la sonde et les déplacements au cours du temps des signaux échogènes qui se trouvent sur le trajet de ce faisceau sont enregistrés (figure 11). Ainsi, l'exploration se fait dans une seule dimension qui est celle de l'axe du faisceau incident. Sur l'enregistrement, les signaux obtenus sont représentés en ordonnée selon leur profondeur, et défilent sur une échelle de temps, donnée en abscisse. Les structures immobiles sont donc représentées par des droites parallèles à l'axe du temps (horizontales) et les structures mobiles par des courbes.

Question E2 : Le tableau 4 présente, pour trois interfaces, le pourcentage de l'énergie ultrasonore réfléchi par rapport à l'énergie des ondes incidentes.

Interface	R (%)
Air – Tissus mous	99,9
Os – Tissus mous	30,0
Sang – Tissus mous	0,1

Tableau 4 : Valeurs du pourcentage de réflexion des ultrasons au niveau d'interfaces rencontrées dans l'organisme. R est le rapport de l'intensité acoustique réfléchi à l'intensité acoustique incidente, en pourcentage.

E2-1 : Pourquoi le praticien étale-t-il une couche de gel entre la sonde et la peau avant de réaliser une échographie ? Est-il possible d'observer le cœur à travers les poumons ?

E2-2 : Et à travers les côtes ?

Question E3 : La profondeur de la cage thoracique n'excède généralement pas 25 cm. Vous souhaitez avoir la meilleure résolution possible dans le temps, de l'activité cardiaque. La célérité des ondes ultrasonores dans les tissus mous est de 1500 m.s^{-1} .

E3-1 : A quelle fréquence d'impulsions réglerez-vous votre sonde d'ultrasons ?

E3-2 : Dans ces conditions, combien d'enregistrements effectuerez-vous au cours d'une révolution cardiaque, pour un patient dont la fréquence cardiaque est de 120 minute^{-1} ?

L'échocardiographie en mode TM de Monsieur Y est présentée figure 13. L'enregistrement d'un sujet sain de même corpulence vous est donné à titre de comparaison (figure 12). Chaque examen est réalisé successivement selon les trois incidences représentées dans la figure 11. Des enregistrements électrocardiographiques sont réalisés en parallèle de façon à repérer les différents temps du cycle cardiaque. On ne cherchera pas à interpréter d'éventuelles anomalies électrocardiographiques.

Dans un premier temps, on s'intéresse au tracé réalisé sur le sujet sain (figure 12).

Question E4 : En utilisant vos connaissances de la structure cardiaque et le schéma de la figure 11, identifiez, pour chaque incidence (V, M et A), les structures rencontrées par le faisceau d'ultrasons :

E4-1 : A quelles structures correspondent les tracés notés V1, V2 et V3 (figure 12a) ?

E4-2 : A quelles structures correspondent les tracés notés M1, M2, M3 et M4 (figure 12b) ?

E4-3 : A quelles structures correspondent les tracés notés A1, A2, A3, A4 et A5 (figure 12c) ?

Question E5 : Considérez l'incidence V (figure 12a) :

E5-1 : Que représentent les distances d_1 , d_2 et d_3 ?

Tournez la page S.V.P.

E5-2 : Lors de l'interprétation des échographies, le cardiologue calcule l'indice $I = \frac{d2 - d3}{d2}$.

De quelle caractéristique fonctionnelle cet indice est-il le reflet ?

Question E6 : En vous aidant de l'enregistrement électrocardiographique, et en justifiant vos réponses à l'aide de vos connaissances sur la mécanique de la contraction cardiaque, interprétez le tracé M3 de la figure 12b :

E6-1 : *A quoi correspond le segment EA ?*

E6-2 : *A quoi correspondent les segments ABCDE et AB'C'D'E ? Plus précisément, comment expliquez-vous la présence du ressaut matérialisé par les segments CD et C'D' ?*

Question E7 : En vous aidant de l'enregistrement électrocardiographique, et en justifiant vos réponses à l'aide de vos connaissances sur la mécanique de la contraction cardiaque, interprétez le tracé A3 de la figure 12c :

E7-1 : *A quoi correspond le segment IF ?*

E7-2 : *A quoi correspondent les segments FGHI et FG'H'I ?*

E7-3 : *A quoi correspond l'intervalle de temps RF ?*

On analyse maintenant les anomalies échographiques présentées par Monsieur Y (figure 13).

Question E8 : Comparez les résultats obtenus pour l'incidence V entre le patient et le sujet sain.

E8-1 : *Quelles différences structurale(s) et dynamique(s) importantes observez-vous ? Quels paramètres permettent d'effectuer ces comparaisons de façon objective ?*

Question E9 : Comparez les résultats obtenus pour les incidences M et A entre le patient et le sujet sain :

E9-1 : *Retrouvez-vous les différences structurale(s) et dynamique(s) que vous aviez observées sur l'incidence V ?*

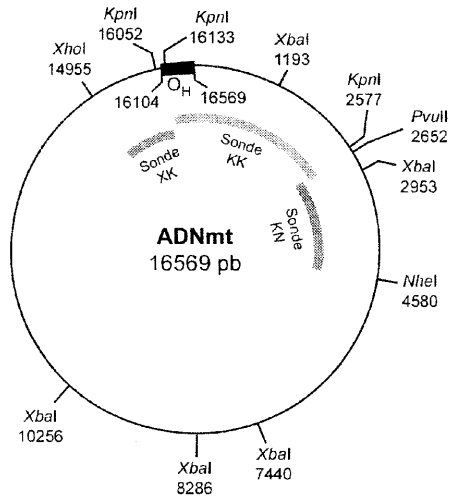
E9-2 : *Comparez les aires délimitées par les tracés M3 et A3 entre le patient et le sujet sain. Que cela vous suggère-t-il ?*

Question E10 : On assimile le ventricule gauche à un ellipsoïde de révolution ($V = \frac{2 \cdot \pi \cdot L \cdot r^2}{3}$) de rayon maximal r et de grande longueur $L = 3r$.

E10-1 : *Calculez les volumes du ventricule gauche en fin de systole et en fin de diastole ainsi que le débit cardiaque, chez le sujet sain et chez Monsieur Y. On utilisera l'incidence V pour ces calculs.*

E10-2 : *A votre avis, pourquoi Monsieur Y présente-t-il une tachycardie ? Pourquoi est-il gêné même pour des efforts minimes ?*

Annexe



KpnI : 2577, 16052, 16133

NheI : 4580

PvuII : 2652

XbaI : 1193, 2953, 7440, 8286, 10256

XhoI : 14955

Sonde XK : 14955 à 16052

Sonde KK : 16133 à 2577

Sonde KN : 2577 à 4580

- **Structure de l'ADN mitochondrial** : L'ADNmt est une molécule d'ADN double brin circulaire qui, dans l'espèce humaine, a une taille de 16569 pb (paires de bases). La réplication de l'ADNmt débute au niveau d'une origine de réplication (O_H) située entre les positions 16104 et 16569. Les sites de clivage de cinq endonucléases de restriction sont indiqués à droite de la carte. Les positions des différentes sondes utilisées (XK, KK et KN) sont aussi indiquées.
- **Masse molaire d'un désoxyribonucléoside monophosphate** : au sein d'une chaîne d'ADN, un nucléoside monophosphate a une masse molaire moyenne de $330 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$.
- **Nombre d'Avogadro**: $N_A = 6,02 \cdot 10^{23} \text{ mol}^{-1}$.

Glossaire et abréviations

- **Acide bongkréique (BKA)** : inhibiteur du transport des nucléotides par ANT1.
- **Acidose lactique** : concentration anormalement élevée d'acide lactique dans le sang.
- **ADNmt** : ADN mitochondrial.
- **ANT1** : isoforme musculaire et cardiaque du transporteur ADP/ATP localisé dans la membrane interne des mitochondries.
- **Atractyloside (ATR)** : inhibiteur du transport des nucléotides par ANT1.
- **BET** : bromure d'éthidium.
- **Carboxyatractyloside (CATR)** : inhibiteur du transport des nucléotides par ANT1.
- **Diplopie** : vision double.
- **MNGIE** : encéphalomyopathie neurogastrointestinale mitochondriale.
- **Ophthalmoplégie externe** : paralysie partielle des muscles oculo-moteurs qui permettent d'orienter les globes oculaires vers l'extérieur.
- **Ophthalmoplégie externe progressive (PEO)** : maladie génétique affectant les muscles, atteignant la population finlandaise avec une fréquence de 1 malade pour 100 000 individus.
- **pb** : paire de bases.
- **Tachycardie** : augmentation de la fréquence cardiaque.

Figures (sujet avec documents)

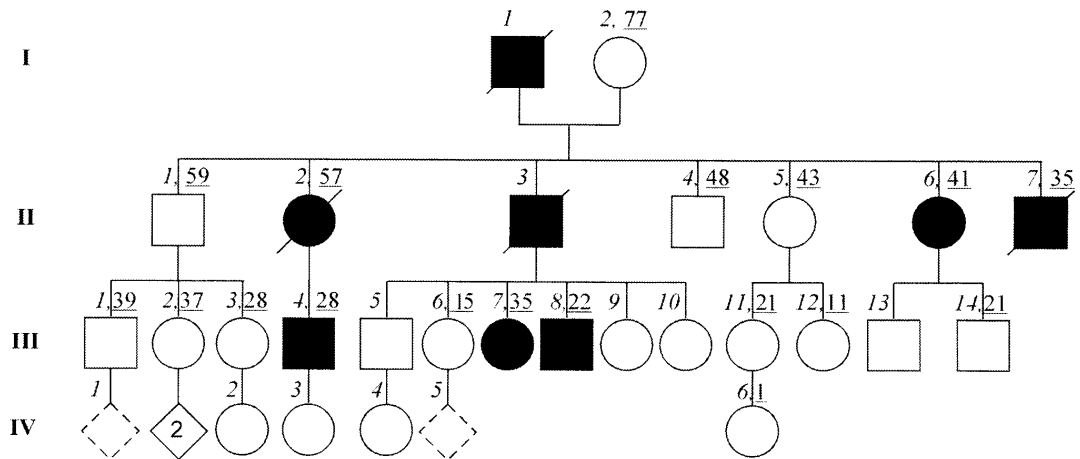


Figure 1 : Arbre généalogique de la famille de Monsieur X (famille finlandaise). Les cercles représentent les individus de sexe féminin et les carrés ceux de sexe masculin. Les losanges en pointillés représentent les enfants à naître et le chiffre 2 dans un losange en traits pleins représente un nombre d'enfants de sexe non précisé. Les individus atteints par la maladie sont représentés par des symboles noirs pleins et les individus sains par des symboles vides. Les individus décédés sont barrés. Les chiffres romains à gauche de l'arbre indiquent la génération. Pour chaque individu, le premier nombre (en italique) est le numéro d'identification au sein de sa génération et le second nombre (souligné) est l'âge en années. Ainsi, l'individu III-4 (Monsieur X) a 28 ans, est de sexe masculin et atteint de la maladie.

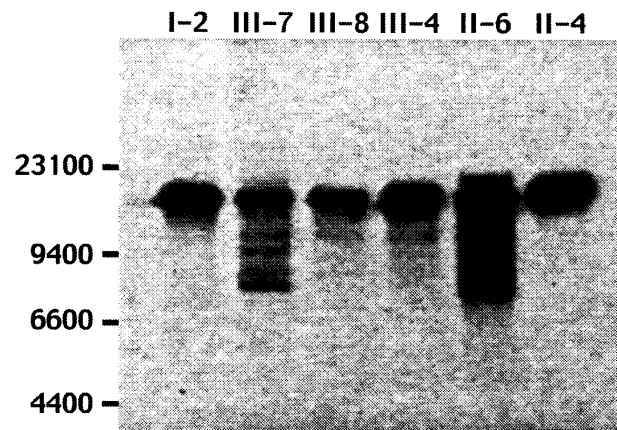


Figure 2 : Analyse par technique de Southern de l'ADNmt de plusieurs membres de la famille dont l'arbre généalogique est représenté dans la figure 1. I-2 et II-4 sont des sujets sains, III-7, III-8, III-4 et II-6 sont des sujets atteints. La technique d'analyse est décrite dans le texte. Les positions de migration et les tailles (en paires de bases) de fragments d'ADN linéaires témoins sont indiquées à gauche de la figure.

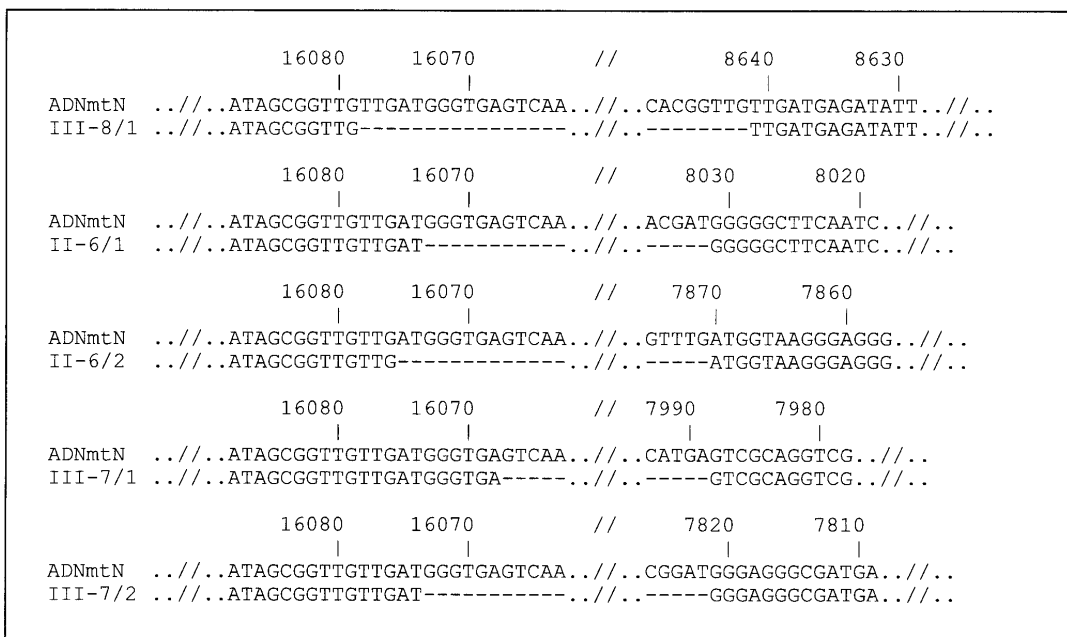


Figure 3 : Alignement des séquences d'ADN mitochondrial isolé de patients avec la séquence de l'ADN mitochondrial normal. Afin de permettre l'alignement des séquences, des espaces (indiqués par des tirets) ont été introduits. Seules certaines régions de l'ADNmt sont représentées. Les positions de ces régions sont indiquées au dessus des alignements, en utilisant la même numérotation que dans la carte de l'ADNmt normal donnée en annexe. Pour chaque ADN de patient, les séquences non représentées (symbolisées par : ..///..) sont totalement remplacées par des espaces. Plusieurs séquences peuvent provenir du même malade. Chaque séquence est identifiée par le code du malade, tel qu'indiqué dans l'arbre généalogique (figure 1), suivi d'un numéro de clone. ADNmtN: ADN mitochondrial normal.

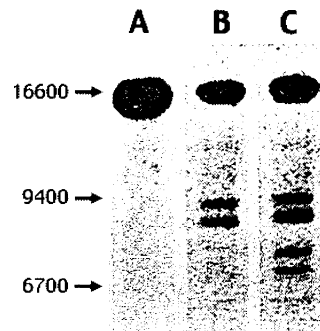


Figure 4 : Analyse par technique de Southern de l'ADNmt de monsieur X sur deux prélèvements biopsiques musculaires réalisés à six ans d'intervalle. A : ADNmt d'un sujet sain (II-4). B : ADNmt de monsieur X (premier prélèvement). C : ADNmt de monsieur X (deuxième prélèvement, six ans plus tard). La quantité d'ADN dans l'échantillon A est plus importante que dans les autres. Les positions de migration et les tailles (en pb) de fragments d'ADN linéaires témoins sont indiquées à gauche de la figure.

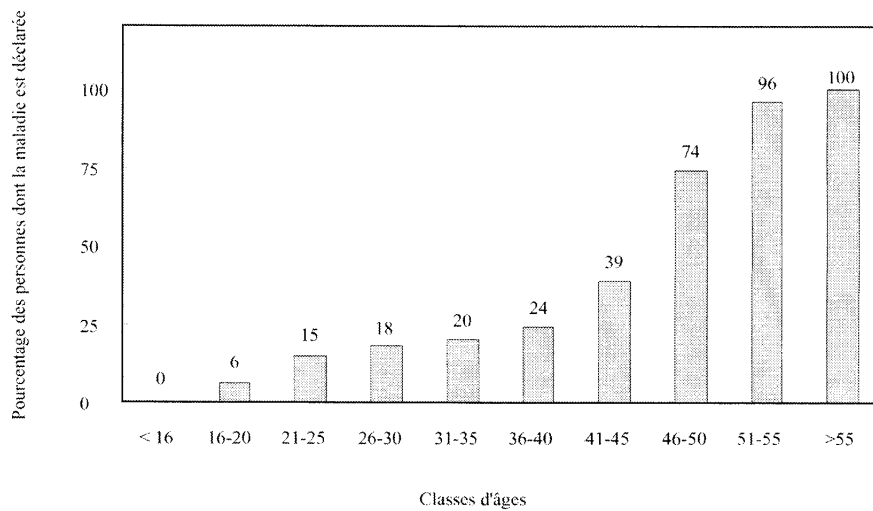


Figure 5 : Âge d'apparition des premiers symptômes de l'ophtalmoplégie externe progressive (PEO) chez les patients. L'histogramme représente, pour chaque classe d'âges (en années), le pourcentage des individus ayant déclaré la maladie. La PEO apparaît au plus tôt à 16 ans et au plus tard à 55 ans.

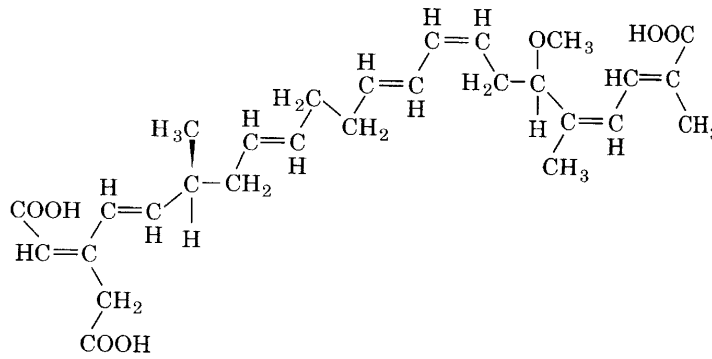


Figure 6 : L'acide bongkréique (BKA)

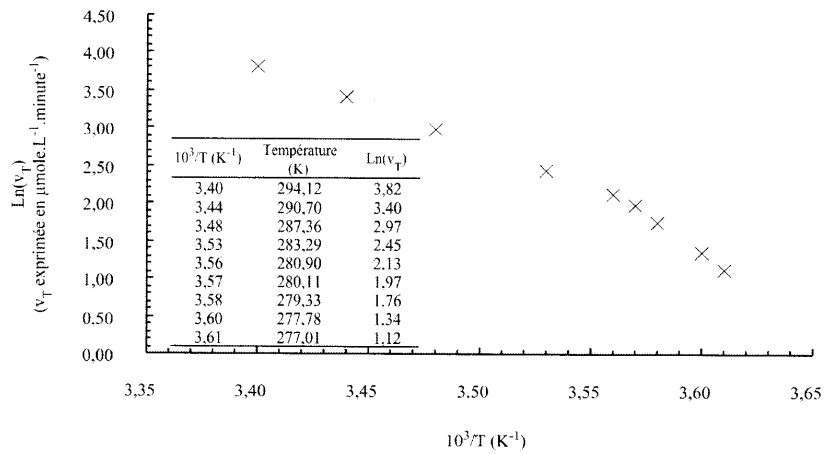


Figure 7 : Évolution de la vitesse de translocation de l'ADP par ANT1 en fonction de la température. Des vésicules de membrane interne de mitochondries, préparées dans des conditions identiques sont placées à différentes températures et la vitesse de translocation de l'ADP est mesurée. En abscisse : les valeurs de $1/T$ exprimées en K^{-1} sont multipliées par 10^3 . En ordonnée : $\ln(v_T)$. Le tableau reprend les coordonnées des points figurant sur le graphe.

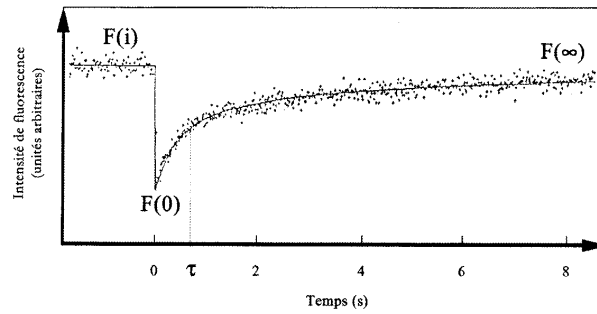


Figure 8 : Réapparition de la fluorescence après photoblanchiment. Des vésicules géantes préparées à partir de membranes internes de mitochondries sont marquées par un fluorochrome couplé à un phospholipide puis fixées sur une lame de microscope. À l'aide d'un faisceau laser d'intensité atténuée on excite les fluorochromes localisés dans une région bien définie de la membrane et on mesure la fluorescence émise $F(i)$. Au temps zéro et pendant un très court instant, on enlève les filtres atténuant le faisceau laser. Les fluorochromes localisés dans la région d'excitation sont détruits irréversiblement (blanchiment). On éclaire alors à nouveau cette région avec le faisceau laser d'intensité atténuée et l'on suit, en fonction du temps, la réapparition de la fluorescence. τ est défini comme le temps nécessaire pour obtenir une fluorescence d'intensité égale à la moitié de la fluorescence initiale.

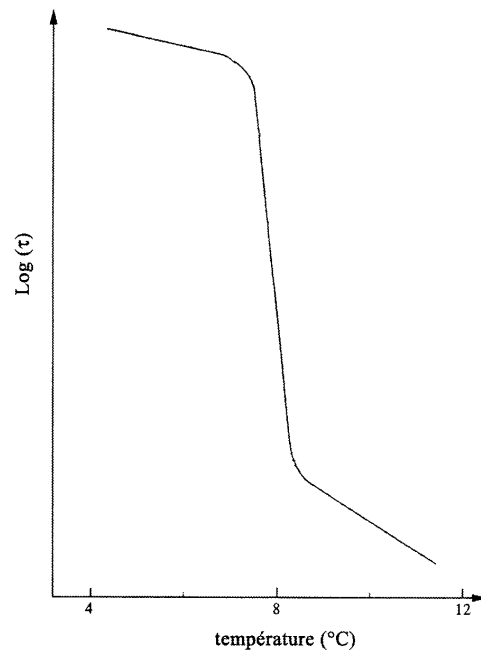


Figure 9 : Évolution de τ , temps caractéristique de réapparition de la fluorescence en fonction de la température. L'expérience de la figure 8 est répétée à différentes températures. Les valeurs de τ reportées en fonction de la température donnent un graphe du type de celui présenté ci-dessus.

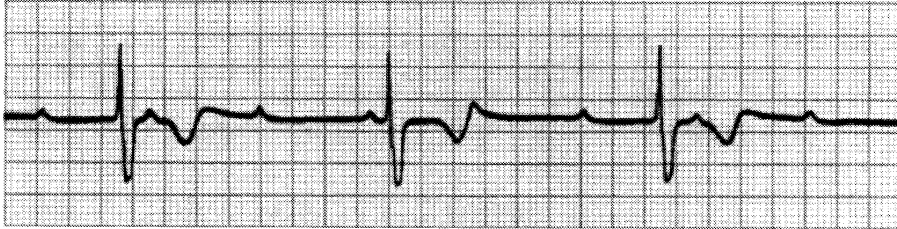


Figure 10 : Enregistrement électrocardiographique sur 24 heures de Monsieur Y. Seule une partie du tracé, correspondant à la survenue d'un malaise, a été représentée. Sur l'échelle de temps, un grand carreau de 0,5 cm représente 0,2 seconde.

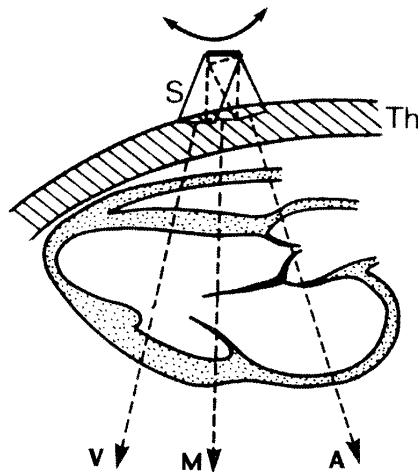


Figure 11 : Schéma du balayage des structures cardiaques par échographie en mode TM. La sonde (S) est appliquée sur le thorax (Th) selon trois incidences différentes notées V, M et A. Le schéma d'une coupe longitudinale du cœur montre les structures rencontrées par le faisceau d'ultrasons en fonction de l'incidence choisie.

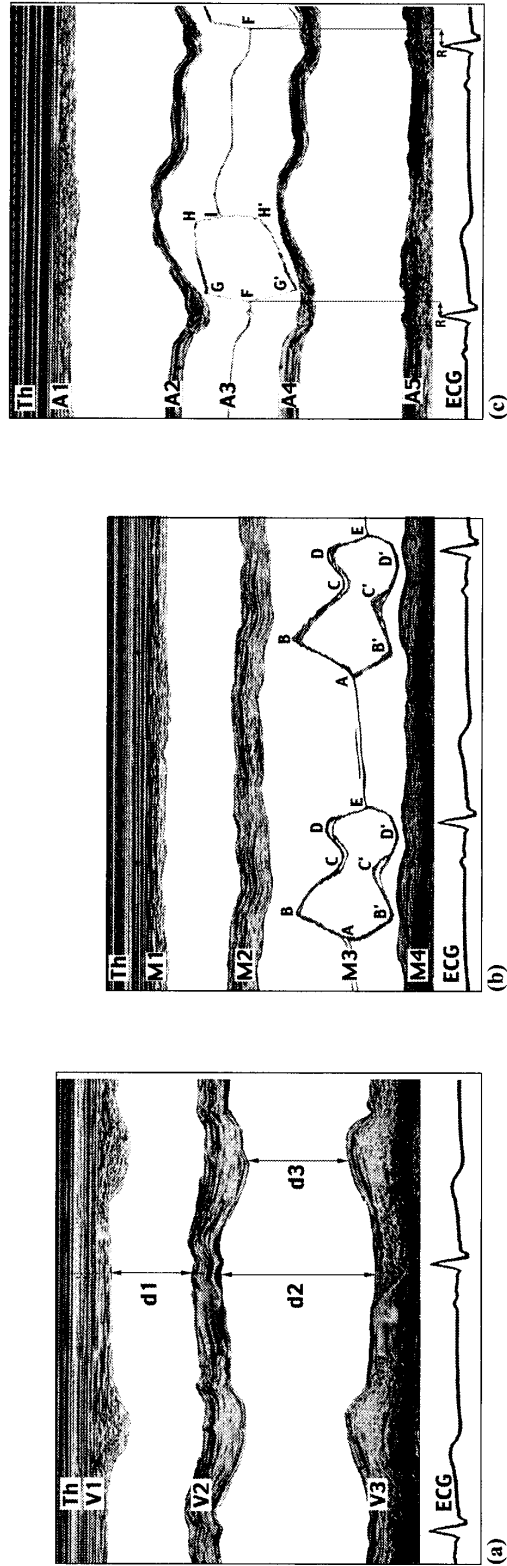


Figure 12 : Enregistrements échocardiographiques en mode TM d'un sujet sain. (a) : incidence V; (b) : incidence M; (c) : incidence A. Échelle verticale : une profondeur de 1 cm est représentée par 0,5 cm sur les tracés échocardiographiques. Échelle horizontale : 50 mm représentent 1 seconde. ECG : électrocardiogramme. Th : thorax.

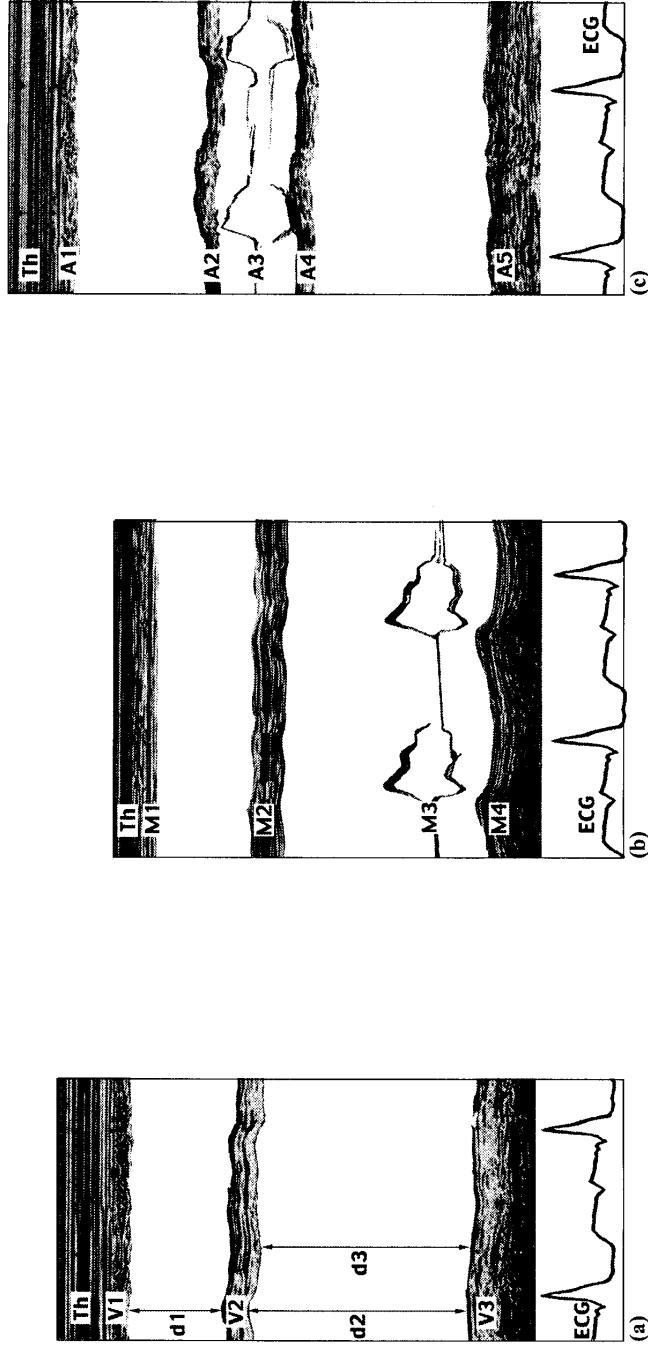


Figure 13 : Enregistrements échocardiographiques en mode TM du patient. (a) : incidence V ; (b) : incidence M ; (c) : incidence A. Échelle verticale : une profondeur de 1 cm est représentée par 0,5 cm sur les tracés échocardiographiques. Échelle horizontale : 50 mm représentent 1 seconde. ECG : électrocardiogramme. Th : thorax.