

## EPREUVE D'EXERCICES D'APPLICATION – Mai 2014

### EXERCICE N° 2

#### PROPOSITIONS DE REPONSES \*

*\*Important : Les propositions de réponses sont données à titre indicatif. Elles n'ont rien d'impératif pour les jurys des concours d'internat en pharmacie qui restent souverains et libres d'établir les grilles de correction et de cotation comme ils le souhaitent. Les éléments de réponses doivent être considérés pour l'année du concours auxquels ils se rapportent.*

1 - Les iso-enzymes sont des enzymes qui catalysent la même réaction mais diffèrent par leurs propriétés physico-chimiques (notamment constantes cinétiques, pHi...), leurs séquences primaires. Elles sont codées par des gènes présents sur des loci différents. (Les LDH 1 à 5 correspondent aux tétramères : H4 ; H3M ; H2M2 ; HM3 et M4).

2 – Le principe est de déterminer pour les 2 iso-enzymes, le  $K_m$  pour le lactate et la  $V_{max}$ . Pour ce faire  $v_o$  doit être mesurée en fonction de concentrations croissantes de lactate et d'une seule concentration en  $NAD^+$  (en pratique saturante, pour que la réaction soit d'ordre 0 par rapport au  $NAD^+$ ).  $v_o$  est mesurée par la vitesse de production du NADH qui absorbe spécifiquement à 340 nm.

$v_o$  en  $mM \cdot min^{-1} = \Delta(NADH) \cdot min^{-1} = (\Delta A \cdot min^{-1}) \times 10^{+3} / \epsilon \cdot l = K \cdot \Delta A \cdot min^{-1}$  ;  $K = 1000 / \epsilon \cdot l = 0,159 \text{ mM}$

3 – LDH 1 :  $-1/K_{M1} = -10,158$  et  $K_{M1} = 0,098 \text{ mM}$ .  $V_{max1} = (1/0,449) \times 0,159 = 0,354 \text{ mM} \cdot min^{-1}$

LDH 2 :  $K_{M2} = 0,653 \text{ mM}$  et  $V_{max2} = 0,305 \text{ mM} \cdot min^{-1}$ .

L'iso-enzyme 1 possède la plus forte affinité.

Les concentrations catalytiques dans la cuve réactionnelle correspondent à 10/11<sup>ème</sup> de  $V_{max}$ , soit 322 U/L pour la LDH 1 et 277 U/L pour la LDH 2.

4 – Dilution au 31<sup>ème</sup> de l'éluat, 300  $\mu L$  d'éluat correspondant à 10  $\mu L$  de sérum: les concentrations catalytiques dans le sérum correspondent à celles de la cuve multipliées par  $(31 \times 30) = 930$  soit 299460 U/L pour la LDH 1 et 257610 U/L pour la LDH 2.