

Devoir n°1 – SVT

Durée : 3h

I. Synthèse (durée conseillée : 1h30)

Sujet : le glucose chez les mammifères

Introduction

Le glucose est un glucide simple ou ose. Il est répandu chez tous les êtres vivants, donc *a fortiori* chez les animaux. Une carence comme un excès de glucose peuvent avoir des conséquences néfastes: l'hypoglycémie comme l'hyperglycémie peuvent causer la mort. L'approvisionnement contrôlé des cellules de l'organisme en glucose est donc essentiel à la survie des animaux. Après avoir montré que le glucose était une molécule énergétique essentielle, nous verrons quelles sont les modalités du prélèvement de glucose dans le milieu, tout en abordant les mécanismes permettant à l'organisme de maintenir sa concentration sanguine constante.

A) Le glucose, un glucide source d'énergie essentiel

1. Le glucose, un ose à 6 carbones

Formule du glucose ; forme linéaire inutile dans ce sujet. Donner du glucose α ou β , au choix.

2. Oxydation du glucose et libération d'énergie

Donner le bilan de la respiration cellulaire, et montrer que de l'ATP est produit en parallèle de cette réaction (il est aussi possible de ne donner que la glycolyse). Expliquer que l'ATP est une monnaie énergétique importante, sans pour autant dessiner la molécule d'ATP.

B) Approvisionnement de l'organisme animal en glucose

1. Des polymères glucidiques au glucose : la digestion enzymatique

Montrer que l'alimentation des animaux comporte souvent des polymères glucidiques. Donner la formule de la cellulose OU de l'amidon (inutile de faire les deux). Montrer que des enzymes peuvent hydrolyser l'amidon ou la cellulose en glucose. Il n'est pas utile de distinguer les enzymes endogènes (produites par l'animal) ou exogènes (produites par d'éventuels microorganismes symbiotiques). Dessiner une réaction d'hydrolyse, citer au moins une de ces hydrolases (glycosidase, amylase, cellulase).

2. L'absorption du glucose au niveau de l'épithélium

a) Les surfaces d'absorption sont optimisées

Montrer que l'intestin a une surface d'échange de grande surface, à plusieurs échelles. Montrer que la surface est fine.

b) Des transports actifs et passifs rendent l'absorption du glucose très efficace

Montrer que le glucose est absorbé par le tube digestif de façon active (transport actif I et II), et qu'il est sécrété dans le côté apical de l'entérocyte par des perméases (transport passif).

Schéma bilan de la digestion attendu.

C) La concentration en glucose sanguin est régulée

1. Le glucose, une molécule soluble transportée par le sang

Cette partie peut avoir été traité plutôt dans le I.

Montrer que le glucose comprend de nombreux groupements hydroxyles, et qu'ils peuvent interagir avec l'eau. Donner la définition et la caractérisation des liaisons H.

Justifier que le glucose soit soluble, et indiquer qu'il est transporté par le sang sous forme soluble. Mentionner que tous les tissus de l'organisme sont irrigués par le système sanguin, et peuvent donc être nourries en glucose par ce biais.

2. La glycémie, un paramètre régulé

Définir la glycémie (concentration en glucose sanguine).

a) Le système porte

Présentation de l'originalité du système porte hépatique.

b) Stockage et relargage du glucose par le foie

Prélèvement et stockage du glucose par le foie sous forme de glycogène si hyperglycémie ; hydrolyse du glycogène et sécrétion dans le sang si hypoglycémie. Importance du système porte : la position du foie fait qu'il peut stocker le glucose apporté par le tube digestif avant qu'il soit libéré dans la circulation générale.

c) La régulation de la glycémie

Insuline et absorption du glucose par le foie ; glucagon et relargage du glucose par le foie. Régulation = comparaison entre valeur mesurée et valeur de consigne ; action d'un effecteur, ce qui a pour conséquence de rapprocher la valeur de la valeur de consigne.

Conclusion

Le glucose est une molécule essentielle pour les animaux, puisqu'elle permet de fournir de l'énergie, par la respiration cellulaire, énergie nécessaire à la réalisation de nombreux processus cellulaires. Le glucose est prélevé dans l'environnement, ce qui est une caractéristique des hétérotrophes, grâce à une digestion enzymatique et une absorption intestinale efficaces. Le glucose est efficacement transporté par le sang grâce à sa grande solubilité aqueuse que lui confèrent ses nombreux groupements hydrophiles. Des processus physiologiques (libération d'hormones) et des particularités anatomiques (système porte) permettent à l'organisme d'une part de stocker le glucose, mais aussi d'en contrôler la concentration sanguine.

Ouverture 1 : le diabète, maladie provoquée par une mauvaise régulation de la concentration en glucose, et qui se traduit par une concentration trop importante en glucose

Ouverture 2 : le glucose existe chez les autres êtres vivants, et la majeure partie de ce qui a été dit peut être généralisé aux autres animaux. En revanche, l'approvisionnement en glucose des végétaux est différent (ce sont des autotrophes) : ils fabriquent leur glucose par réduction de CO_2 , via la photosynthèse. Autotrophie et hétérotrophie sont complémentaires et permettent aux autotrophes producteurs de glucose de fournir en glucose les hétérotrophes.

II. Etude de documents (durée conseillée : 1h30)

1. A l'aide des documents 1 à 2, discutez l'implication de IF dans l'absorption de la cobalamine.

Document 1

Principe expérimental : on commence par saturer tous les récepteurs à la Cbl par une injection intramusculaire. L'ingestion de Cbl radioactive, le lendemain, aura deux conséquences, selon que la cobalamine est bien ou mal absorbée :

- si l'absorption intestinale est normale, alors la cobalamine se retrouvera dans le sang en grande quantité, mais ne pourra pas être absorbée par les cellules, du fait de la saturation provoquée la veille. Elle sera donc excrétée en grandes quantités par l'urine.
- si l'absorption intestinale est anormale, alors la concentration en Cbl radioactive sera faible dans le sang, et donc faible dans l'urine.

NB : la saturation initiale est importante ; si on ne pratiquait pas cette saturation, la Cbl radioactive serait absorbée par les tissus (notamment le foie), et une absorption efficace pourrait passer pour une malabsorption.

Document 2

Objectif : on cherche à montrer quels sont les effets de la mutation du GIF sur l'absorption de Cbl. On étudie donc des cas de malades ayant une mutation perte de fonction de GIF, et l'on compare divers paramètres physiologiques aux valeurs de référence.

Observation et interprétation :

- Tous les patients chez qui on a pratiqué le test de Schilling montrent que moins de 10 % de Cbl est retrouvée dans l'urine. Chez certains patients, l'absorption est à 9 % de la valeur normale seulement. Il y a donc malabsorption de Cbl chez les patients ayant une mutation de GIF.
- Chez tous les cas, à l'exception de K2.7, la cobalaminémie est inférieure à la norme, avec des valeurs descendant pour certains à 10 % de la valeur normale.
- Tous les patients ont un taux d'hémoglobine plus faible que la norme, allant jusqu'à 4 g.dL^{-1} (moins d'un tiers de la valeur de référence). Ces patients sont donc anémiés.
- 7 patients sur 12 ont un volume érythrocytaire supérieur à la normale, et sur les 5 restants, 4 ont un volume érythrocytaire plus grand que la normale et proche de la valeur haute. Ces patients sont donc anémiés.

Conclusion : tous ces patients montrent des symptômes plus ou moins typiques d'une anémie, en lien dans la majeure partie des cas à une cobalaminémie faible et/ou à une malabsorption de Cbl. La mutation de GIF provoque donc une malabsorption de Cbl. On suppose, sans information contraire, que le régime alimentaire des patients n'est pas appauvri en Cbl.

2. A l'aide des documents 3 et 4, montrez que IF et Cbl interagissent par des liaisons faibles de façon à former un dimère (ou complexe, que l'on notera IF-Cbl).

Document 3

Principe expérimental : dans le document 3a, on construit une molécule, appelée CBC, constituée d'une portion quasiment identique à la Cbl, et d'une portion quasiment identique à la rhodamine, un fluorochrome. On construit donc une molécule ayant les propriétés de la Cbl, mais étant *a priori* fluorescente. C'est ce que l'on va vérifier grâce au document 3b.

Observation et interprétation :

3b : sous l'effet de l'excitation par un photon de longueur d'onde 532 nm, CBC seule émet un photon de longueur d'onde 553 nm. L'intensité de la fluorescence émise est faible, de l'ordre de 10 RU. En revanche, si on introduit IF, on constate que l'émission est bien plus intense (environ 4 fois plus). On déduit que l'augmentation de la fluorescence est due à une interaction entre IF et CBC.

3c : on introduit FI dans une solution de CBC, et on constate que la fluorescence relative augmente forcément, et d'autant plus rapidement que la concentration en IF est grande. Avec 2,5 μM de IF, la fluorescence finale est atteinte au bout de seulement 30 ms. On interprète ce temps comme étant le temps nécessaire à la formation de liaisons CBC-IF.

On nous précise que l'introduction de IF dans le milieu ne fait pas varier la fluorescence si le fluorochrome est la rhodamine. Cela signifie donc que IF n'interagit pas avec la portion rhodamine de CBC, mais bien avec la partie Cbl.

Document 4

On donne une image tridimensionnelle de IF obtenue en présence de Cbl. La technique utilisée (non exigée ici) est la cristallographie par diffraction de rayons X. On constate que de nombreuses liaisons faibles se forment entre Cbl et IF. Ce qui a été montré par des expériences basées sur la fluorescence est confirmé ici par une étude structurale.

Conclusion : IF et Cbl se lient par des liaisons faibles et forment un dimère.

On admettra par la suite que le complexe IF-Cbl, présent dans l'intestin grêle, se fixe sur une protéine membranaire, appelée **cubiline**, présente sur la **membrane des entérocytes** de l'intestin grêle distal (iléon). On cherche dans la suite de ce devoir à comprendre quelles sont les modalités de l'absorption du complexe IF-Cbl par les entérocytes.

3. A l'aide des documents 5 à 7, montrez que le complexe IF-Cbl subit une endocytose dans les entérocytes, selon des modalités que l'on précisera.

Document 5

Principe expérimental : par un immunomarquage, on cherche à localiser la cubiline, mais également une autre protéine dont on ne sait rien pour le moment (AMN). On observe les cellules au microscope confocal de façon à accéder à la localisation subcellulaire de ces protéines.

Observation : ces deux protéines (cubiline et AMN) sont localisées sur la membrane plasmique des entérocytes, mais en plus, elles colocalisent.

Interprétation : ce sont toutes les deux des protéines membranaires. Le fait qu'elles colocalisent suggère qu'elles interagissent entre elles, formant probablement un dimère.

Document 6

Principe expérimental : par un immunomarquage et observation au microscope confocal, on cherche une autre protéine, l'adaptine, impliquée dans l'endocytose clathrine dépendante.

Observation : ces deux protéines (AMN et adaptine) colocalisent.

Interprétation : AMN est impliquée dans l'endocytose d'une vésicule.

Relation avec le document 5 : la cubiline interagit avec AMN, et AMN interagit avec l'adaptine. On peut proposer l'hypothèse qu'un dimère cubiline-AMN constitue le récepteur à IF-Cbl, et que ce complexe est internalisé par endocytose grâce à l'adaptine.

Document 7

Principe expérimental : On détecte sur ce document deux protéines, la cubiline et AMN, par un immunomarquage dont les anticorps sont couplés à des billes d'or de tailles différentes (grand diamètre pour la cubiline, petit diamètre pour AMN). La détection est basée sur le fait que les métaux, dont l'or, sont opaques aux électrons, et l'observation peut donc se faire au microscope électronique à transmission.

Observation : on constate la présence de vésicules contenant, à proximité de la membrane, les protéines cubiline et AMN. Sans IF-Cbl, on n'a pas de vésicules contenant AMN et cubiline.

Interprétation : le complexe IF-Cbl permet la formation de vésicules d'endocytose.

4. A l'aide du document 8, montrez que le complexe IF-Cbl est digéré des lysosomes après son endocytose.

Document 8

Principe expérimental :

- Dans le document 8c, on cultive des cellules mutantes ou sauvages pour le gène codant AMN, de façon à préciser le rôle de AMN.
- Le document 8b montre qu'après endocytose, certaines vésicules fusionnent avec les lysosomes. On sait que c'est une possibilité pour les endosomes créés par endocytose via le récepteur cubiline-AMN. On cherche à savoir si les endosomes fusionnent avec les lysosomes, en cultivant chacune de ces deux souches de cellules dans différentes conditions : avec ou sans inhibiteur des lysosomes.
- Dans un cas comme dans l'autre, les cellules sont traitées avec le complexe IF-Cbl radioactif, que l'on peut donc détecter. On réalise un fractionnement subcellulaire, de façon à connaître le devenir de ce complexe. Plusieurs cas de figure :
 - S'il y a endocytose :
 - soit les endosomes fusionnent avec les lysosomes, et la radioactivité se retrouve alors dans le surnageant
 - soit les endosomes ne fusionnent pas avec les lysosomes, et les complexes IF-Cbl restent fixés à leur récepteur à l'intérieur des vésicules : la radioactivité se retrouve alors dans le culot.
 - S'il n'y a pas endocytose : les complexes IF-Cbl doivent se retrouver dans le culot, car fixés sur les récepteurs de la membrane plasmique (cubiline).

Observation et interprétation :

- Comparaison WT – WT+I :
 - Surnageant : la radioactivité augmente constamment pour WT, et passe de 0 UA à 20 UA en 8h. Elle n'augmente quasiment pas pour WT+I (augmentation plus tardive, à partir de 5h, pour atteindre 2 UA seulement)
 - Culot : après une augmentation rapide et identique dans les deux cas, la courbe atteint un pic à 2h pour WT, alors qu'elle continue à augmenter pour WT+I.
 - Conclusion : chez le WT, le complexe IF-Cbl se fixe sur le récepteur cubiline-AMN, puis est internalisé par endocytose, et est enfin dégradé par les lysosomes (d'où l'augmentation régulière de la radioactivité du surnageant). Le temps de latence avant la décroissance pour le culot s'explique par le délai nécessaire pour l'endocytose et la digestion dans les lysosomes.
- Comparaison WT – Mut :
 - Surnageant : pour Mut, la courbe ressemble à ce qu'on observe pour WT+I (avec une augmentation un peu plus importante de la radioactivité, mais bien plus faible que WT).
 - Culot : après une augmentation initiale de la radioactivité dans le culot (fixation de IF-Cbl sur son récepteur), on n'a pas de diminution, contrairement à ce qu'on avait observé pour WT.
 - On peut interpréter ces courbes comme traduisant une faible dégradation par les lysosomes : la radioactivité du culot reste élevée (IF-Cbl fixé aux récepteurs sur la membrane plasmique et/ou sur les vésicules) et celle du surnageant n'augmente que peu (pas de dégradation du complexe IF-Cbl). On peut l'expliquer par le fait que le complexe IF-Cbl se fixe convenablement sur la cubiline, membranaire, mais ne peut pas être endocytée à cause de l'absence d'AMN fonctionnel (on rappelle que l'AMN est un ligand de l'adaptine).
- Comparaison Mut+I – WT+I :
 - Surnageant : il n'y a pas de radioactivité dans le surnageant, ce qui signifie que IF-Cbl n'est pas dégradé.
 - Culot : la radioactivité augmente au cours de l'expérience, mais moins que WT+I. Interprétation : IF-Cbl est toujours fixée à ses récepteurs (de la membrane plasmique), mais l'endocytose étant *a priori* moins efficace, la capacité de IF-Cbl à se fixer aux récepteurs

membranaires est moindre, d'où une augmentation plus limitée que pour WT+I.

On déduit de ces documents que IF-Cbl est endocyté (grâce au récepteur dimère cubiline-AMN), puis que son contenu est hydrolysé par les enzymes lysosomiques par fusion de l'endosomes avec les lysosomes.

- 5. Dressez un schéma bilan de l'absorption de la cobalamine, à l'échelle du tube digestif, et à l'échelle de l'entérocyte.**