

Sujet Felix HOPPE – SEYLER

Régulation du pH et fixation du dioxygène en milieu biologique (35 points)

Le contrôle du pH est très important dans un grand nombre de réactions chimiques en milieu aqueux, et en particulier en milieu biologique. Par exemple, le pH du sang est maintenu à 7,4 chez l'homme : un écart en dehors de la gamme 7 – 7,8 peut entraîner la mort. Il est donc nécessaire de faire intervenir des systèmes qui régulent le pH du milieu. De tels systèmes sont appelés systèmes tampons : le plus important est le tampon carbonate.

Tampon carbonate

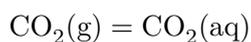
On s'intéresse au système faisant intervenir les espèces $\text{CO}_2(\text{aq})$, $\text{HCO}_3^-(\text{aq})$ et $\text{CO}_3^{2-}(\text{aq})$. Les $\text{p}K_A$ des couples associés sont $\text{p}K_{A1}(\text{CO}_2(\text{aq})/\text{HCO}_3^-(\text{aq})) = 6,1$ et $\text{p}K_{A2}(\text{HCO}_3^-(\text{aq})/\text{CO}_3^{2-}(\text{aq})) = 10,3$.

1. En considérant une concentration en ions hydrogénocarbonate $[\text{HCO}_3^-] = 24 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ et une concentration en dioxyde de carbone dissous $[\text{CO}_2] = 1,2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, calculer la valeur du pH sanguin.

Au cours d'un effort prolongé, il y a production d'acide lactique dans le sang, qui induit une augmentation de l'acidité et donc de la concentration en ions H_3O^+ . Considérons un apport d'ions H_3O^+ de $2,0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

2. En gardant le même état initial qu'à la question 1, calculer la nouvelle valeur du pH résultant de l'effort. Commenter.

Le dioxyde de carbone dissous dans le sang est en fait en équilibre avec le dioxyde de carbone gazeux présent dans les poumons :



Le tampon carbonate intervient donc en système ouvert.

3. En considérant une élimination par voie respiratoire du dioxyde de carbone formé au cours de ce même effort, calculer la valeur du pH. Commenter.

L'aptitude d'une solution tampon à maintenir le pH à peu près constant lors de l'apparition d'ions H_3O^+ ou HO^- est appelée pouvoir tampon τ . Il est inversement proportionnel à la variation ΔpH qui résulte de l'addition Δc d'ions H_3O^+ ou HO^- . Le pouvoir tampon est donné par l'expression :

$$\tau = \left| \frac{\Delta c}{\Delta\text{pH}} \right|$$

4. À l'aide des réponses aux questions précédentes, calculer le pouvoir tampon du système carbonate, fermé et ouvert.

Pouvoir tampon de l'hémoglobine

L'hémoglobine ($M_{\text{hémoglobine}} = 65493 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$) est une macromolécule biologique connue principalement pour sa capacité à stocker et transporter le dioxygène dans le sang et qui lui donne sa couleur rouge vif. Cette protéine joue en réalité un rôle multiple et notamment celui de contrôler le pH sanguin, malgré sa concentration relativement faible dans le sang ($150 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). Chaque hémoglobine possède 38 sites acido-basiques indépendants permettant d'échanger des protons en grand nombre avec le milieu. Ces sites sont constitués d'un acide aminé particulier appelé histidine, engagé dans un couple de $\text{p}K_{\text{A}} = 6,9$.

5. Calculer le pouvoir tampon de l'hémoglobine et le comparer à celui du tampon carbonate en système ouvert. On considèrera une solution initiale de $\text{pH} = 7,4$ et un apport en ions H_3O^+ de $2,0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$.

Hémoglobine : liaison du dioxygène et coopérativité

L'hémoglobine est une molécule tétramérique, c'est-à-dire qu'elle possède une structure quaternaire composée de quatre molécules de myoglobine, chacune pouvant fixer une molécule de dioxygène. Ainsi, l'hémoglobine est susceptible de fixer quatre molécules de dioxygène. On s'intéresse dans cette partie au mécanisme mis en jeu lors de la fixation du dioxygène.

Dans un premier temps, nous étudions la fixation réversible du dioxygène à une molécule de myoglobine (Mb), selon l'équilibre :



On notera $P(\text{O}_2)$ la pression partielle en dioxygène.

6. Exprimer le quotient de cette réaction Q_r .

On note Y le taux de saturation de la myoglobine, qui correspond à la proportion de molécules de myoglobine liées à une molécule de dioxygène à l'équilibre. On notera K° la constante de la réaction de fixation du dioxygène sur la myoglobine.

7. Montrer que Y peut s'écrire sous la forme :

$$Y = \frac{P_{\text{éq}}(\text{O}_2)}{P_{\text{éq}}(\text{O}_2) + P_{50}}$$

où P_{50} est une grandeur qu'on explicitera.

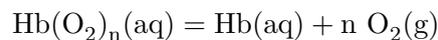
8. Exprimer $\frac{Y}{1-Y}$.

La courbe représentant $\log\left(\frac{Y}{1-Y}\right)$ en fonction de $\log\left(\frac{P_{\text{éq}}(\text{O}_2)}{P^\circ}\right)$ est appelée courbe de HILL, en référence à Archibald HILL qui est un pionnier de l'étude de la fixation de l'oxygène par l'hémoglobine. La pente de la courbe de HILL au point $\log\left(\frac{Y}{1-Y}\right) = 0$ est appelée de manière générale coefficient de HILL.

9. Montrer que la courbe de HILL dans le cas de la myoglobine est une droite. Que vaut le coefficient de HILL ?

10. Comment déterminer graphiquement P_{50} ?

Nous nous intéressons désormais au mécanisme de fixation du dioxygène à l'hémoglobine (Hb), constituée de quatre molécules de myoglobine. On se demande si le dioxygène peut se fixer sur les quatre molécules de myoglobine de manière indépendante ou si ces quatre molécules interagissent lors de la fixation du dioxygène. Pour ce faire, on considère la fixation de n molécules de dioxygène. L'équilibre de dissociation correspondant est le suivant :



Par analogie avec l'étude effectuée dans le cas de la myoglobine, on montre que :

$$\frac{Y}{1 - Y} = \left(\frac{P_{\text{éq}}(\text{O}_2)}{P_{50}} \right)^n$$

11. Quelle serait la valeur de n si la liaison du dioxygène à l'hémoglobine était un phénomène de « tout ou rien », c'est-à-dire si l'hémoglobine pouvait lier soit quatre molécules de O_2 , soit zéro ?

12. Quelle serait la valeur de n si l'hémoglobine fixait le dioxygène de manière indépendante sur chacun de ses sites ? On pourra faire une analogie avec le cas de la myoglobine.

Expérimentalement, on obtient la courbe de HILL représentée figure 1.

13. Mettre en évidence trois régions distinctes.

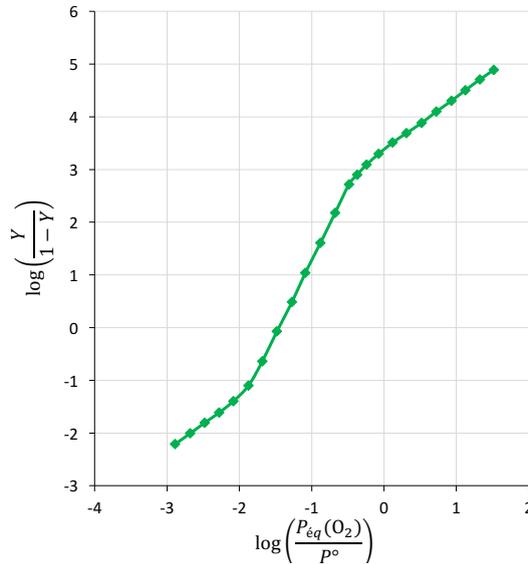


FIGURE 1 – Courbe de HILL pour l'hémoglobine

14. Estimer la pente de chaque portion de droite.

Le phénomène observé ici est l'allostérie de l'hémoglobine. Jacques MONOD, Jeffries WYMAN et Jean-Pierre CHANGEUX ont proposé en 1965 un modèle dans lequel l'hémoglobine présente deux formes : une forme relâchée (notée R, appelée oxyhémoglobine) de forte affinité pour le dioxygène et une forme tendue (notée T, appelée désoxyhémoglobine) de faible affinité pour le dioxygène.

15. À l'aide de la courbe de HILL de la figure 1, décrire l'évolution de l'équilibre entre l'hémoglobine et O_2 lorsque la pression en dioxygène augmente.

Hémoglobine et effet Bohr

La réaction liant le dioxygène à l'hémoglobine est un phénomène réversible qui dépend de nombreux paramètres comme la température ou le pH. On se propose d'étudier l'influence du pH sur l'affinité du dioxygène pour l'hémoglobine ainsi que le rôle de l'hémoglobine lors d'un effort physique.

La figure 2 représente l'absorbance de l'hémoglobine sous la forme oxyhémoglobine et désoxyhémoglobine en fonction de la longueur d'onde.

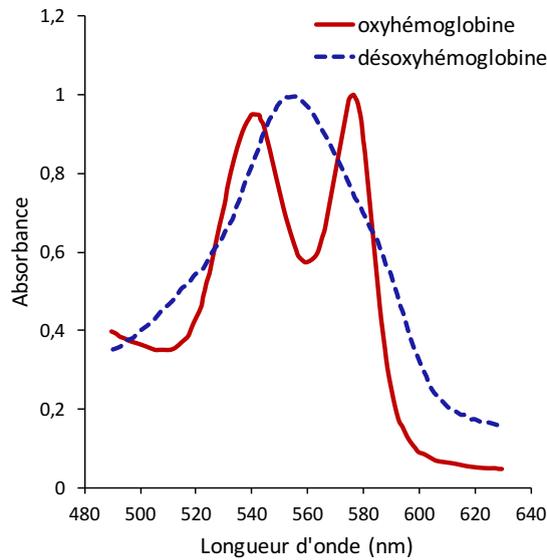


FIGURE 2 – Spectres d'absorption de l'oxy- et de la désoxyhémoglobine, pour une concentration de $2.10^{-5} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$

16. Au regard de la figure 2, comment évolue la quantité d'oxyhémoglobine au niveau des muscles, sachant que le sang change de couleur en passant du rouge vif au brun-violet dans ces zones de l'organisme? On s'intéressera tout particulièrement à l'absorption au-delà de 600 nm et on pourra s'aider du cercle chromatique donné figure 3.

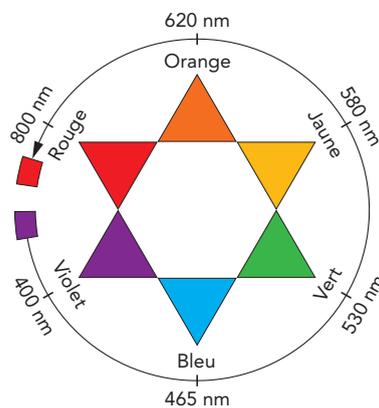


FIGURE 3 – Cercle chromatique

Lors d'un effort physique, la pression partielle en CO_2 augmente localement au niveau des muscles.

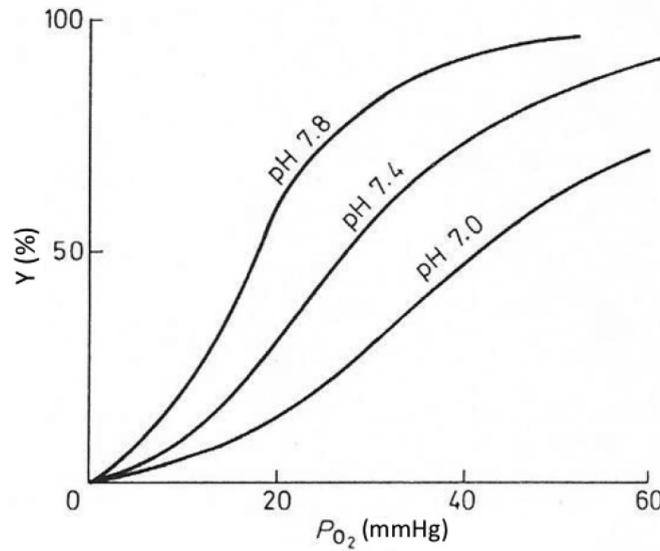


FIGURE 4 – Représentation de Y, taux de saturation de l'hémoglobine, en fonction de $P_{eq}(O_2)$ pour différentes valeurs du pH

17. Quelle est la conséquence sur le pH d'une augmentation de la concentration en CO_2 ?

18. En déduire, en vous appuyant sur le document figure 4, pourquoi le sang passe du rouge vif au brun violet au niveau des muscles. Ce phénomène est appelé effet BOHR.

Le tableau ci-dessous présente la pression partielle en O_2 ainsi que le pourcentage de saturation de l'hémoglobine dans différents organes.

Localisation	Patm	Alvéoles (Poumons)	Muscles (sans effet BOHR)	Muscles (avec effet BOHR : pH 7,2 et $P_{CO_2} = 40$ mmHg)
P_{O_2} (en mmHg)	159	100	20	20
Y (%)	/	90 %	32 %	8 %

19. À l'aide du tableau et des questions précédentes, conclure sur l'importance de l'effet BOHR, notamment dans le cadre d'une activité musculaire importante.

