

## GÉOLOGIE

Remarque générale : comme pour l'exploitation de documents en biologie, il convient de quantifier lors de l'analyse des données.

## EXERCICE 1 – MÉTAMORPHISME DANS LES CHAINES DE MONTAGNES

**Document 1.1. Domaines pression température des différents faciès métamorphiques.**

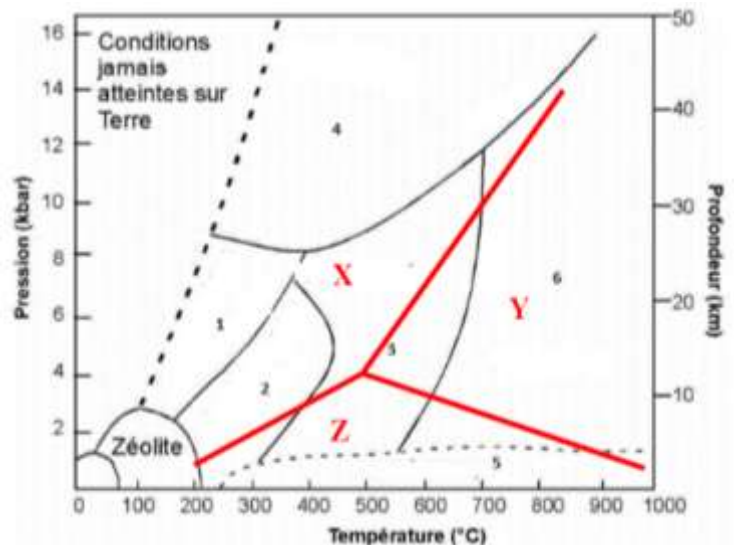
**Question 1.1.1** – Indiquez sur votre copie les différents faciès correspondant aux domaines du document 1.1 numérotés ci-dessous.

1 Faciès des schistes bleu ; 2 Faciès des schistes vert ; 3 Faciès des amphibolites ; 4 Faciès des Éclogites ; 5 Faciès des cornéennes ; 6 Faciès des granulites

**Question 1.1.2** – Nommez les trois composés X, Y et Z. A quelle famille appartiennent-ils ?

Composé X = Disthène ; Y = Sillimanite ; Z = Andalousite

Ce sont trois silicates d'alumine qui sont des minéraux index du métamorphisme



**Question 1.1.3** – Que se passe-t-il sur la droite séparant X et Y ? Quelle est la variance du système thermodynamique à ce niveau ?

La droite séparant le domaine X du domaine Y correspond aux conditions de la transformation du disthène en sillimanite et réciproquement. Les deux minéraux coexistent. La variance est à ce niveau égale à un, c'est à dire qu'il y a un degré de liberté d'un seul paramètre intensif pour décrire cette réaction.

On étudie par la suite des paragneiss échantillonnés dans la région de Lyon.

**Question 1.2** – Définissez la notion de gneiss. Quel peut être le protolithe de départ ?

Le gneiss est une roche métamorphique acide composée de quartz, micas et d'un peu de feldspaths en minéraux majeurs. Les feldspaths sont visibles à l'œil nu. Il peut y avoir aussi de nombreux minéraux index du métamorphisme. Cette roche développe une foliation

Le protolithe peut être une roche sédimentaire détritique de type pélite ou argilite. Ce peut aussi être une roche magmatique acide ou une roche métamorphique de type schiste, micaschiste ou gneiss.

Le document 1.2 en ANNEXE est un dessin réalisé à partir d'une lame mince faite dans un paragneiss de la Chaîne Hercynienne échantillonné dans les Monts du Lyonnais. Les deux flèches indiquent l'orientation de deux foliations S1 et S2 (S2 étant postérieure à S1).

**Question 1.3** – Identifiez sur l'ANNEXE les foliations S1 et S2 en justifiant votre raisonnement.

Les foliations sont repérables par l'arrangement des minéraux selon des plans parallèles : on distingue ici deux directions de plans différentes correspondant à deux foliations distinctes. Il faut utiliser le principe de recoupement pour identifier S1 et S2.

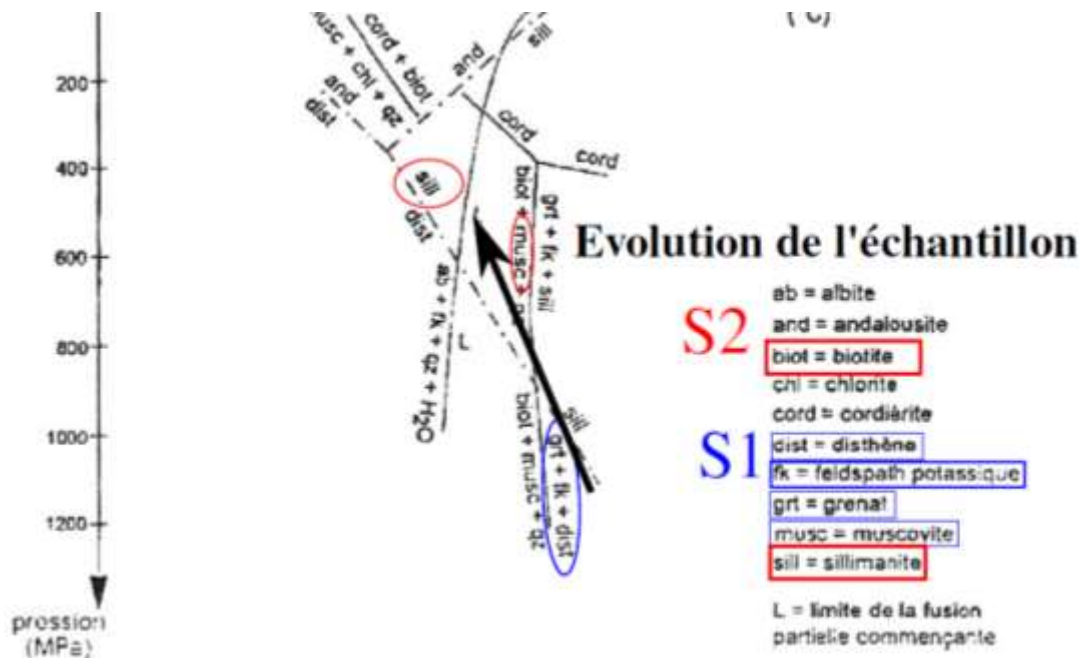
On voit que la foliation comprenant la biotite recoupe la foliation comprenant la muscovite : la foliation comprenant la biotite correspond à S2, celle comprenant la muscovite correspond à S1.



**Question 1.4** – À partir du document 1.3 en ANNEXE, reconstituez l'évolution métamorphique de l'échantillon représenté sur le document 1. Vous ajouterez les indications utiles sur le document et expliquerez votre raisonnement sur la copie.

On utilise les minéraux index formant la paragenèse affectée par la schistosité S1 que l'on place dans la grille pétrogénétique. On fait de même avec la paragenèse affectée par la schistosité S2

L'échantillon subit donc un rétro-métamorphisme. On trace le trajet rétrograde (flèche sur le diagramme).

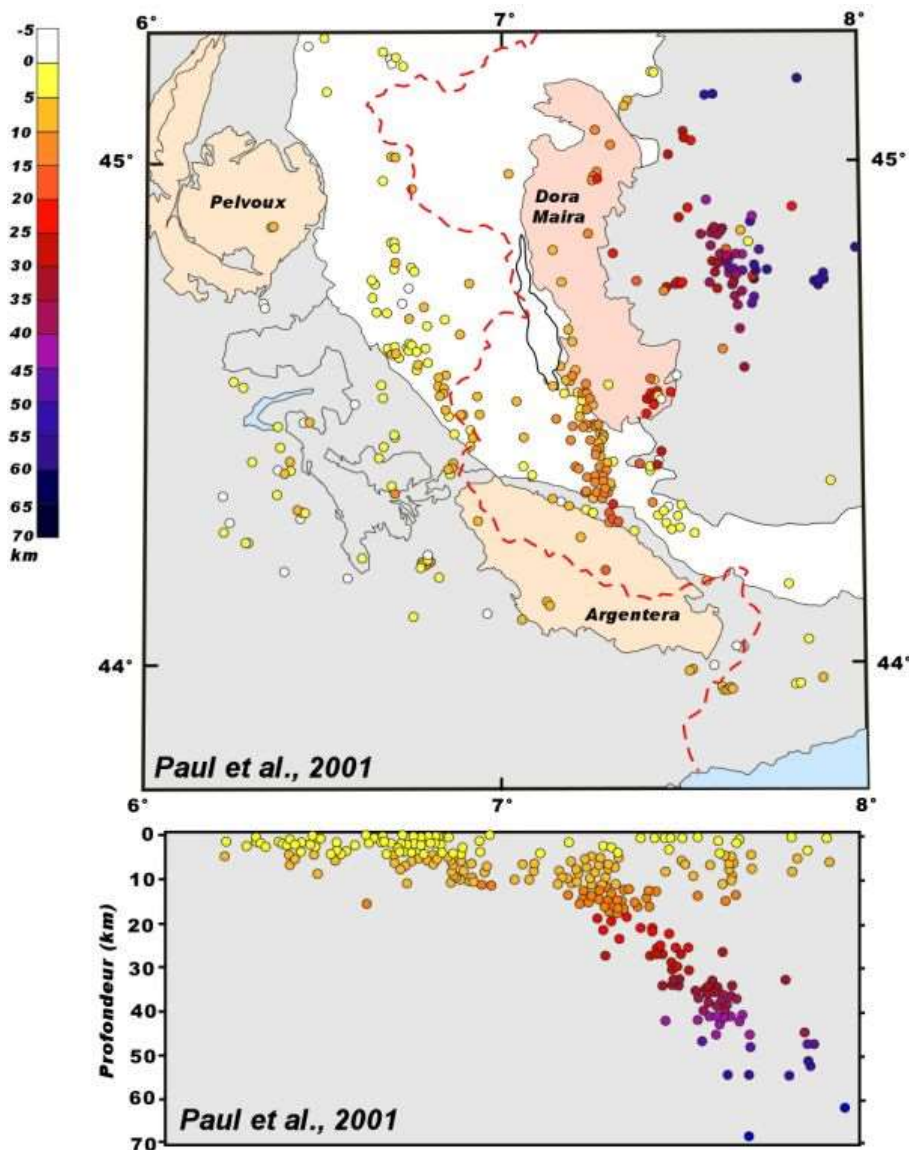


*Remarque* : repérer que la courbe solidus s'accompagne d'une réaction mettant en jeu de l'eau : en son absence, pas de fusion partielle ! Ce qui est le cas ici (pas de traces de FP sur l'échantillon étudié).

### EXERCICE 2 - DES DONNÉES GÉOPHYSIQUES SUR LES ALPES

Les documents suivants présentent des données compilées à partir des nombreux séismes naturels ainsi que des données obtenues suite à des campagnes d'exploration géophysique des Alpes franco-italo-suisse.

**Document 2.1.** Carte de localisation des séismes sur une carte structurale simplifiée et sur une coupe.



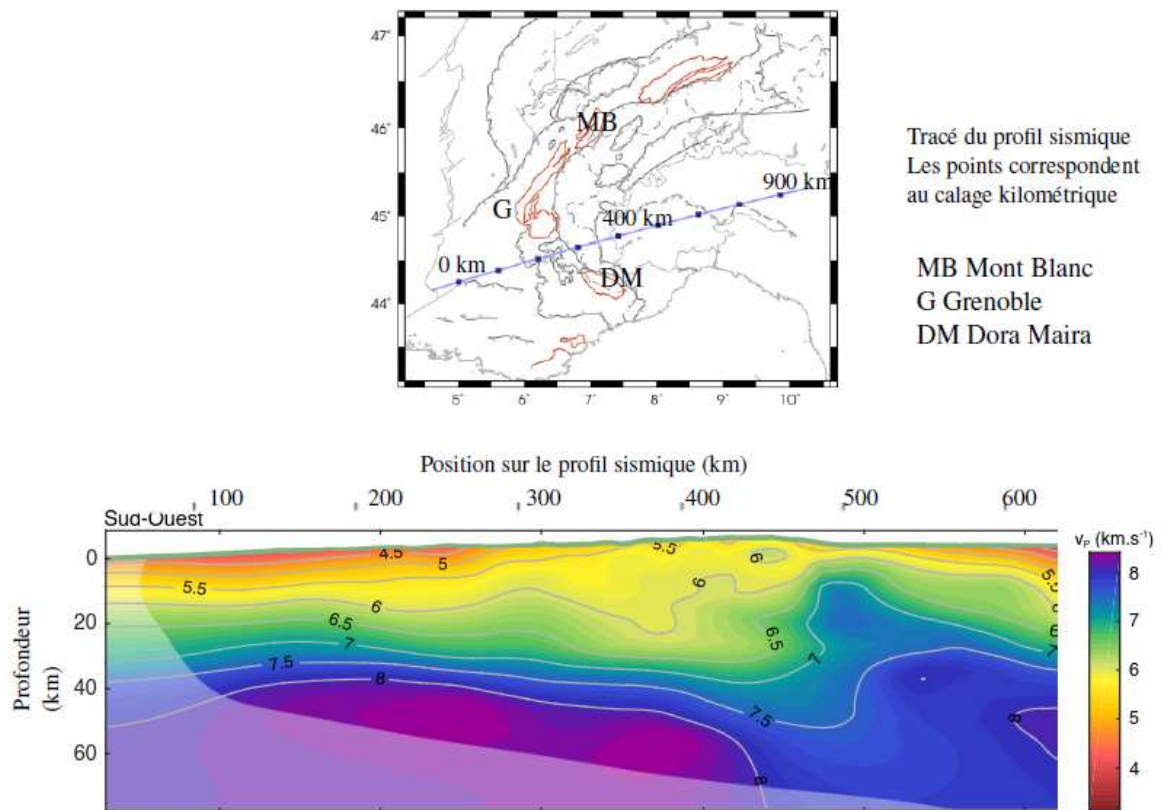
**Question 2.1** – A partir de l'étude de la répartition des séismes, précisez la nature du contexte géodynamique de la chaîne alpine.

La profondeur des foyers des séismes est de plus en plus élevée d'Ouest (foyers compris entre 0 et 10 km de profondeur) en Est (foyers situés à 50 - 60 km à l'est de Dora Maira).

Cette disposition met en évidence un plan de Wadati-Benioff.

Cette répartition est un argument en faveur d'une subduction préalable à la collision entre la plaque européenne à l'Ouest et la plaque apulienne à l'Est.

Un profil de sismique réflexion est réalisé au travers des Alpes.



**Document 2-2 : Tomographies latérales et vitesse des ondes P entre 0 et 80 km**

**Question 2.2.1** – Proposez une hypothèse sur la nature du matériau ayant des vitesses  $V_p$  inférieure à 6.5 km/s et sur le matériau ayant des vitesses  $V_p$  supérieures à 7.0 km/s.

*Attention : l'hétérogénéité des matériaux doit conduire à privilégier une interprétation prenant en compte la densité des matériaux plutôt que leur température. Rappel :  $V_p = \sqrt{[(K + 4/3\mu)/\rho]}$  avec  $K$  et  $\mu$  qui augmentent lorsque  $\rho$  augmente  $\rightarrow V_p$  est d'autant plus élevée que  $\rho$  est élevée*

Le matériau dans lequel les vitesses sont inférieures à 6.5 km/s se situe entre 0 et 20 km de profondeur au niveau de la zone Ouest (représentant une lithosphère type). Il correspond sans doute à la croûte (ici continentale).

Le matériau dans lequel les vitesses sont supérieures à 7.0 km/s se situe à plus de 30 km de profondeur. Il correspond au manteau lithosphérique, plus dense que la croûte, ce qui explique la différence de vitesse des ondes.

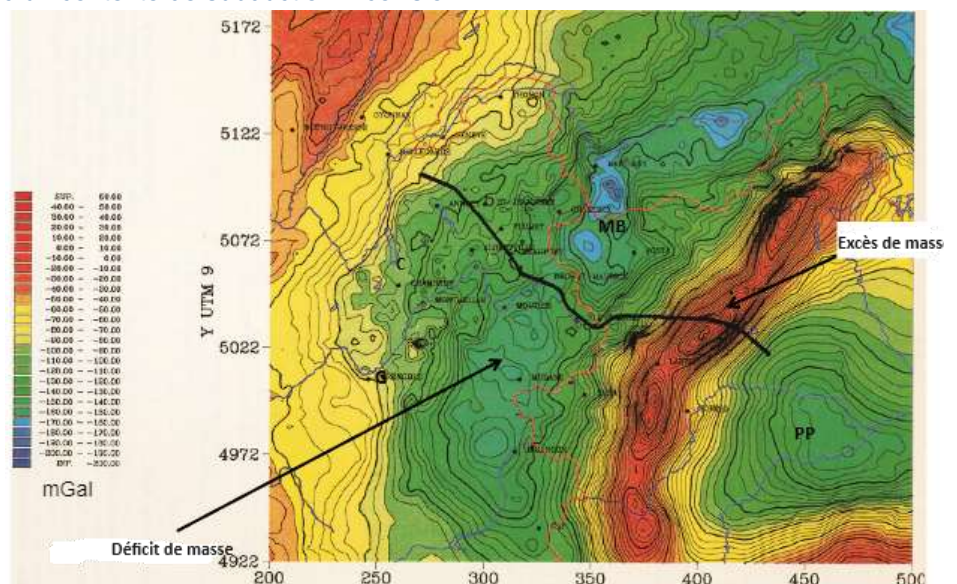
**Question 2.2.2** – Dégagez l'information essentielle de l'analyse du document 2.2. Cette information renforce-t-elle la nature probable du contexte évoqué dans la question 2-1 ? Pourquoi ?

La zone de faible vitesse inférieure à 6.5 km/s s'étend plus en profondeur quand on va d'Ouest en Est pour atteindre un maximum de 40 km au point 400 km du profil. On observe donc un épaississement de la croûte.

En revanche, la vitesse des ondes plus élevée à partir de 15 km de profondeur au point 500 km indique une croûte amincie. Il y a remontée du manteau lithosphérique, pincée entre deux unités crustales. Ceci correspond à la zone d'Ivrée.

Ces observations sont cohérentes avec un contexte de subduction – collision.

On dispose également de données gravimétriques : le [document 2.3](#) présente les anomalies de Bouguer dans les Alpes franco-italo-suisse (G Grenoble, C Chambéry, MB Mont Blanc 4810 m, PP plaine du Pô).



**Document 2.3. Carte des anomalies de Bouguer** (ne pas tenir compte du trait noir sur la carte).

**Question 2.3** – Expliquez brièvement ce qu'est l'anomalie de Bouguer. Quelle est la signification d'anomalies négatives et d'anomalies positives ? formulez une hypothèse pour expliquer les zones A et zone B désignées par les flèches sur le document 2.3.

L'anomalie de Bouguer est l'écart entre l'intensité du champ de pesanteur terrestre mesuré ( $g$ ) et corrigé avec les corrections d'altitude (prise en compte de l'altitude du point de mesure), correction de plateau (prise en compte des masses entre l'altitude zéro et l'altitude du point de mesure) et correction topographique (effet des masses des reliefs latéraux), et le champ de pesanteur théorique définit sur l'ellipsoïde de référence (ellipsoïde de Clairaut).

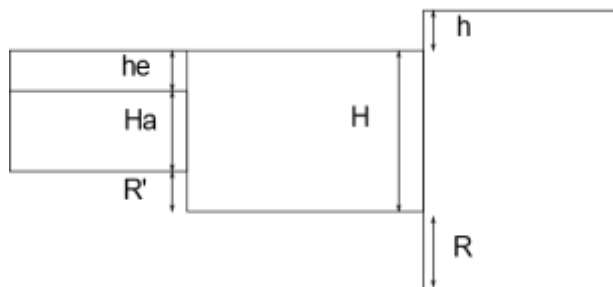
$$\Delta g_b = g_{\text{mesuré}} \pm \text{corrections} - g_{\text{théorique}}$$

Une anomalie positive met en évidence un excès de masse en profondeur ; une anomalie négative met en évidence un déficit de masse.

En conséquence la zone A peut être le résultat d'une racine crustale, créée par épaissement de croûte continentale en profondeur. C'est en accord avec les données de la question précédente.

La zone B pourrait correspondre à une remontée de manteau de forte densité. Cette remontée est visible sur le document 2.2 à la position 500 km du profil sismique.

Le schéma ci-dessous présente une croûte continentale épaissie, normale et amincie. Grâce à l'équilibre isostatique, la croûte épaissie a une altitude  $h$  et une racine d'épaisseur  $R$ . La croûte amincie présente une épaisseur  $H_a$ , plus faible que  $H$ , un déficit de relief comblé par de l'eau (profondeur  $h_e$ ) et présente une anti-racine d'épaisseur  $R'$ .



**Question 2.4** – Définissez en une phrase l'isostasie. Quel modèle isostatique est ici utilisé ?

L'isostasie est l'équilibre des reliefs de surface (lithosphère sur asthénosphère) par des compensations de masses en profondeur. Le modèle isostatique utilisé est celui de Airy.

**Question 2.5** – Exprimez la relation existant entre la racine  $R$  et l'altitude  $h$  dans le cas de la croûte épaissie à l'équilibre isostatique.

Application numérique : densité de la croûte continentale  $\rho_c = 2,8$  ; densité du manteau lithosphérique  $\rho_m = 3,3$   
 A l'équilibre, la pression lithostatique est la même pour les deux colonnes de matériaux considérées, au-dessus d'une surface de compensation que l'on place à la base de la croûte épaissie.

$$P_1 = \rho_c g H + \rho_m g R \quad P_2 = \rho_c g (h + H + R) \quad \text{et } P_1 = P_2 \quad \text{d'où : } \rho_c g H + \rho_m g R = \rho_c g (h + H + R)$$

$$\rho_m R = \rho_c (h + R)$$

$$R (\rho_m - \rho_c) = \rho_c h$$

$$R = \rho_c h / (\rho_m - \rho_c) \quad (1)$$

A.N.

$$R = (2,8/0,5).h \text{ soit } R = 5,6.h \quad (1)$$

**Question 2.6** – Quelle est l'altitude attendue d'une région où l'épaisseur de la croûte continentale ( $H = 30$  km) est doublée ?

Si on double l'épaisseur de croûte, on a  $R+h = H$ .

L'inconnue étant  $h$ , on peut remplacer dans l'équation (1)  $R$  par sa valeur en fonction de  $h$  et  $H$

$$\text{d'où : } H - h = 5,6.h \quad h = H/(5,6+1) \quad \text{soit } h = 30/6,6 \quad h = 4,5 \text{ km}$$

Les données GPS permanentes permettent de caractériser les mouvements verticaux dans les Alpes avec une précision de 0,2 mm/an.

Les résultats sont rassemblés dans le document 2.4 (les valeurs positives indiquent un mouvement vers le haut : surrection).

**Document 2.4. Vitesses verticales (mm/an) dans les Alpes basées sur la combinaison des mesures GPS.**

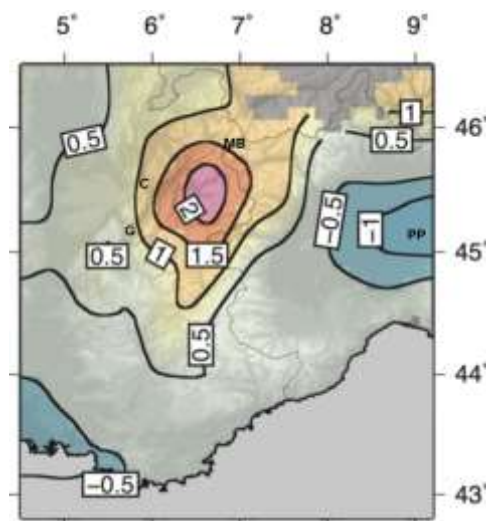
**Question 2.7** – Commentez brièvement la répartition des vitesses verticales mesurées et proposez une explication à ces mouvements verticaux en tenant compte des données également fournies par le document 2.3.

On observe un double mouvement vertical :

- une vitesse négative (-1 mm/an) au niveau de la plaine du Pô : il s'agit d'un enfoncement,
- des vitesses positives dont la répartition est concentrique autour du Mont Blanc où une vitesse maximale de \* 3 mm/an est observée, il s'agit d'une surrection.

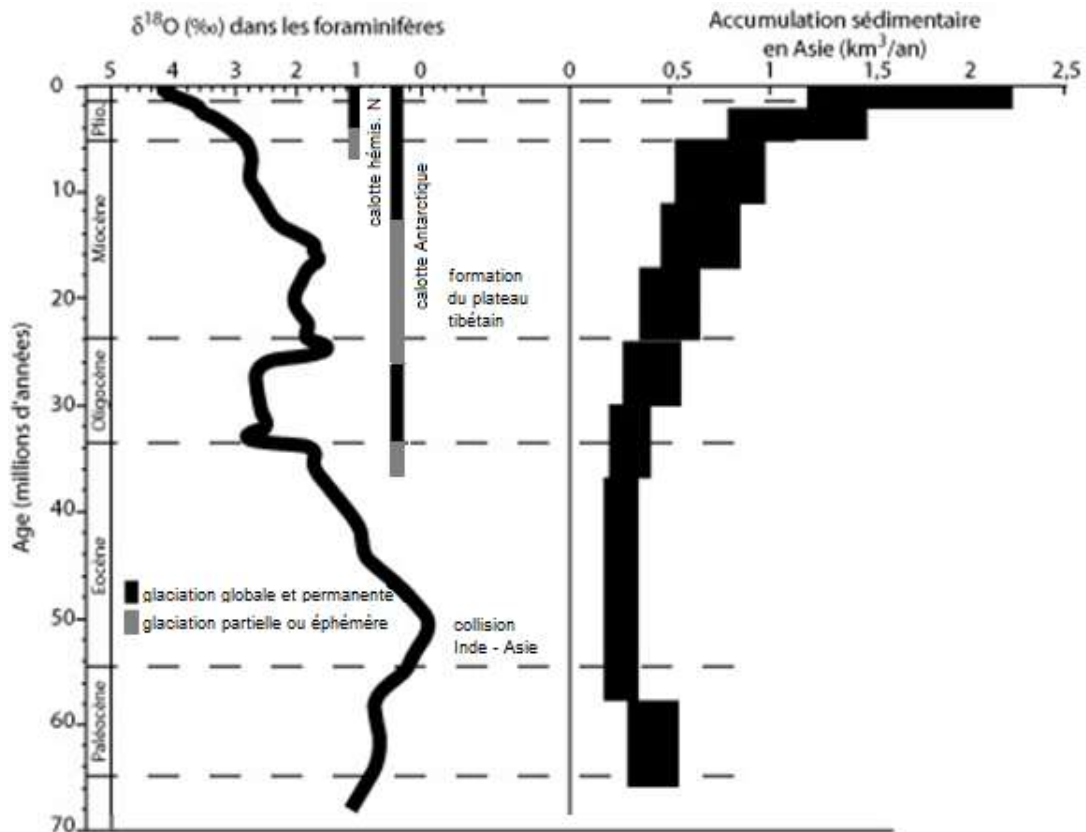
La zone n'est donc pas à l'équilibre isostatique. On attend une hypothèse raisonnable pour la surrection :

Réajustement isostatique : la zone en surrection coïncide avec les anomalies de Bouguer négatives de la zone A, qui reflètent un déficit de masse : ce déficit de masse peut expliquer les mouvements verticaux constatés, la convergence encore active continue par raccourcissement d'enfour de la lithosphère continentale en profondeur, ce qui permet une surrection à la verticale de la racine en cours de formation.



## EXERCICE 3 – FORMATION DES CHAÎNES DE MONTAGNES ET VARIABILITÉ CLIMATIQUE

Le document 3.1 montre l'évolution du rapport isotopique de l'oxygène des coquilles de Foraminifères benthiques depuis la limite Crétacé-Tertiaire. Quelques évènements climatiques et tectoniques majeurs sont indiqués. À droite, la courbe donnant la masse de sédiments accumulés dans les bassins sédimentaires asiatiques sur la même période.



**Document 3-1. Evolution climatique depuis le Crétacé et accumulation sédimentaire.**  
 La collision Inde-Asie est à l'origine de la formation de la chaîne Himalayenne.

**Question 3.1** – Rappelez la définition du  $\delta^{18}\text{O}$ . Précisez la nature des informations déduite de l'évolution du rapport isotopique de l'oxygène des coquilles de Foraminifères benthiques.

Définition du  $\delta^{18}\text{O}$  :

Attention : référence = PDB pour les carbonates (SMOW est la référence pour les glaces)  
 Ne pas oublier x 1000

$$\delta^{18}\text{O} = \left( \frac{\left( \frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}} \right)_{\text{échantillon}}}{\left( \frac{^{18}\text{O}}{^{16}\text{O}} \right)_{\text{référence}}} - 1 \right) \times 1000$$

En période froide, le  $^{18}\text{O}$  se concentre dans les océans, car il y a beaucoup de glaces polaires stockant l'isotope  $^{16}\text{O}$ . Donc en période glaciaire, le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'océan est haut.

A l'inverse le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'océan est bas en période chaude interglaciaire.

Les foraminifères benthiques enregistrent le  $\delta^{18}\text{O}$  de l'eau corrélée à la température atmosphérique : il renseigne sur des variations globales de température.

**Question 3.2.1** – Équilibrez la réaction d'altération d'un feldspath plagioclase de type anorthite ( $\text{CaAl}_2\text{Si}_2\text{O}_8$ ) en minéral argileux ( $\text{Si}_2\text{Al}_2\text{O}_5(\text{OH})_4$ )



**Question 3.2.2** – En utilisant les informations fournies par le document 3-1 et la réaction d'altération établie à la question précédente, expliquez comment la formation de chaînes de montagne peut influencer le climat à l'échelle des temps géologiques.

Sur le document 3-1, on observe que la glaciation, attestée par l'augmentation du  $\delta^{18}\text{O}$  depuis le début du Miocène, est corrélée à une forte accumulation de sédiments en Asie. Ces sédiments proviennent de l'érosion de la chaîne himalayenne.

Or lors de l'érosion, l'altération chimique des minéraux, en particulier des silicates, consomme du dioxyde de carbone atmosphérique. Dans le cas de l'anorthite, le  $\text{Ca}^{2+}$  et les  $2\text{HCO}_3^-$  peuvent précipiter sous forme de carbonate de calcium en libérant une mole de  $\text{CO}_2$ . Le bilan net de l'altération et de la précipitation de carbonate consomme une mole de  $\text{CO}_2$  atmosphérique.

Ceci diminue l'effet de serre et entraîne un refroidissement atmosphérique compatible avec une glaciation.

Le stockage de glace (calottes polaires) conduit à une régression des océans ce qui augmente les surfaces continentales altérables et augmente l'albédo, et renforce encore la glaciation.

**Question 3.3** – Quels autres facteurs non liés à la géodynamique interne sont susceptibles d'expliquer les variations climatiques à l'échelle des temps géologiques ?

Les variations d'insolation liées aux paramètres orbitaux terrestres (excentricité de l'orbite terrestre, précession des équinoxes et inclinaison de l'axe de rotation de la Terre), mais aussi liés aux cycles propres d'activité du soleil peuvent amener à des variations climatiques.

Le stockage de la glace, qui entraîne à une augmentation de l'albédo renforce la glaciation.

Un autre facteur est l'effet des organismes photosynthétiques terrestres ou planctoniques marins qui par photosynthèse fixent du CO<sub>2</sub>, ce qui diminue la teneur en CO<sub>2</sub> de l'atmosphère et renforce une glaciation.

La création de roches carbonées conduit au même phénomène.

#### EXERCICE 4 – DES DONNÉES STRUCTURALES DANS LES CHÂÎNES DE MONTAGNES

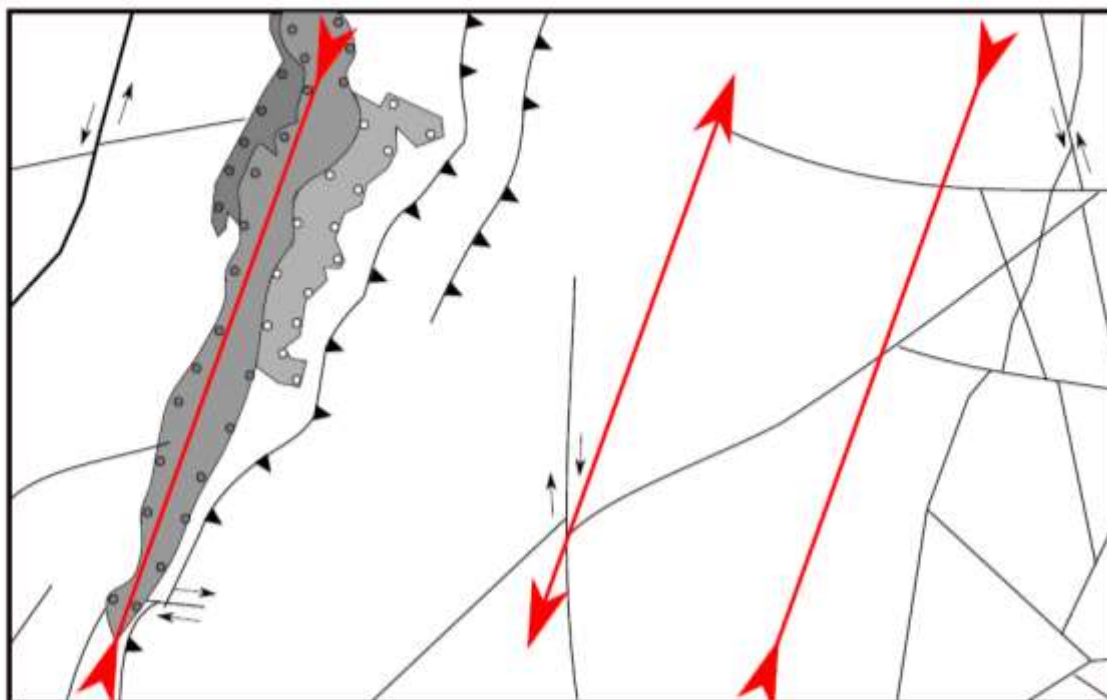
A partir de l'extrait de carte de Charpey au 1/50 000 : (voir carte couleur fournie)

**Question 4.1** – Identifiez la zone des Alpes concernée par cet extrait de carte en justifiant votre réponse.

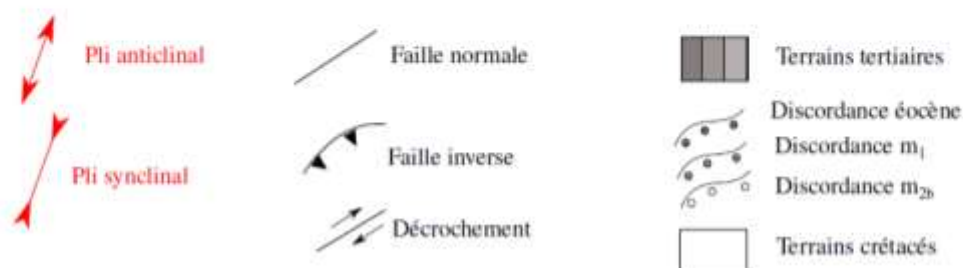
On observe une déformation de la couverture sédimentaire avec des plis et des failles. On relève de plus que cette couverture sédimentaire comprend du calcaire urgonien qui caractérise les massifs subalpins.

On se situe dans les massifs sédimentaires subalpins, c'est à dire dans la zone dauphinoise ou zone externe des Alpes.

**Question 4.2** – Réalisez un schéma structural du secteur encadré en mettant en évidence les structures associées à la convergence.



Légendes



#### Schéma structural d'un extrait de la carte au 1 / 50 000 de Charpey

**Attention :** pas de formations superficielles (éboulis, alluvions, formations glaciaires) sur les schémas structuraux.

Regrouper les formations sédimentaires concordantes (âges qui se suivent sans lacune et même géométrie).

Penser à caractériser les failles : identifier le pendage des plans de faille et raisonner sur l'âge relatif des compartiments de part et d'autre de la faille.

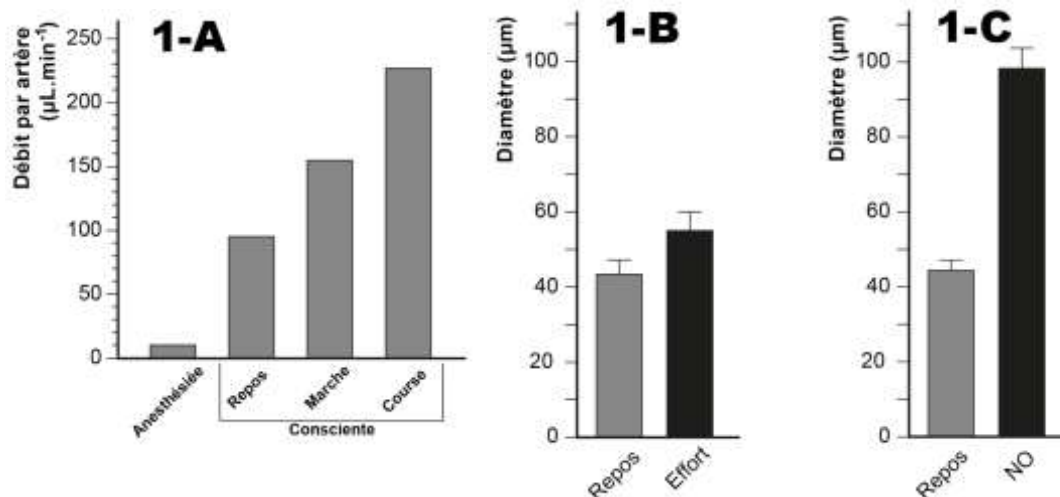
Rechercher les signes de pendage des formations sédimentaires, des axes de symétrie, repérer l'âge relatif des formations, pour identifier et caractériser les plis.

## QUELQUES ASPECTS DU FONCTIONNEMENT DES ARTÈRES

## Partie 1 : Modifications vasculaires lors d'un effort

## 1.1 Importance des artères musculaires

On étudie le flux sanguin au niveau du muscle squelettique postérieur (soléaire) du membre inférieur de Souris. Plusieurs paramètres sont mesurés dans le document 1.

**Document 1.1. Paramètres vasculaires mesurés dans diverses conditions.**

1-A : Variation du débit artériel dans le muscle soléaire selon l'activité de la Souris.

1-B : Variation du diamètre de l'artère musculaire irriguant le muscle soléaire selon un effort (durée : 10 secondes ; fréquence de stimulation : 40 Hz ; puissance produite : 70 % du maximum).

1-C : Effet du monoxyde d'azote (NO) sur le diamètre de l'artère musculaire irriguant le muscle soléaire au repos.

**Question 1a** – Analyser les différents graphiques du document 1.1.

Graph 1-A :

Lors de la marche, le débit par artère dans le muscle soléaire est augmenté de 50 % par rapport au repos (il passe de 100 à 150  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ). Il est plus que doublé lors de la course. Il est en revanche très réduit (10 %) lors d'une anesthésie, où il n'y a aucun mouvement (c'est le témoin).

Le débit est donc d'autant plus important que l'activité du muscle soléaire est importante.

Graph 1-B :

Lors d'un effort, le diamètre de l'artère musculaire irriguant le muscle soléaire est significativement (les barres d'erreurs ne se chevauchant pas) plus élevé qu'au repos : 55  $\mu\text{m}$  contre 42  $\mu\text{m}$  en moyenne. Une augmentation du diamètre de l'artère musculaire accompagne une activité plus importante du muscle.

Graph 1C :

En présence de NO, le diamètre de l'artère est plus que doublé : près de 100  $\mu\text{m}$  contre 42  $\mu\text{m}$  au repos. Le NO exerce donc un effet vasodilatateur sur les artères musculaires.

**Question 1b** – Proposer une mise en relation des phénomènes observés.

Lors d'un effort musculaire, une libération de NO permet une vasodilatation des artères musculaires, ce qui contribue à augmenter le débit dans ces artères.

## 1.2 Loi d'écoulement d'un fluide appliquée à la circulation sanguine

**Question 2a** – Rappeler la loi de Poiseuille qui régit le débit sanguin au niveau d'un vaisseau.

Préciser la signification et l'unité de chaque terme ainsi que celui ou ceux susceptible(s) de varier lors d'un effort.

$$\Delta P = R \cdot Q \text{ (ou } Q = \Delta P / R)$$

$\Delta P$  : pression différentielle aux extrémités du vaisseau  $\Delta P = P_e - P_s$  en mm Hg ou Pa ou  $\text{N}\cdot\text{m}^{-2}$

$P_e$  : pression à l'entrée du vaisseau /  $P_s$  : pression à la sortie du vaisseau

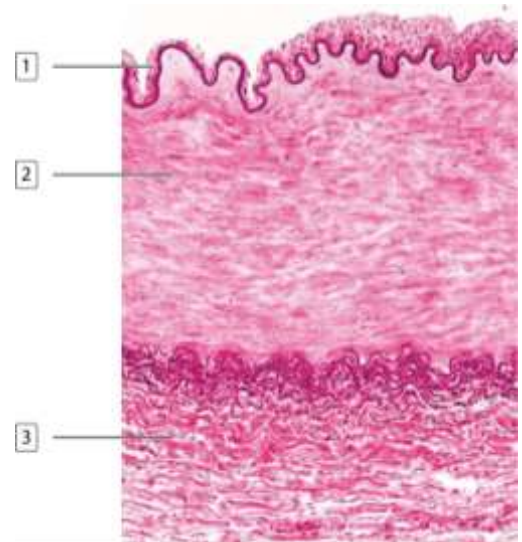
$R$  : résistance hydraulique du vaisseau  $R = 8\eta L / \pi r^4$

avec  $r$ =rayon du vaisseau en m,  $\eta$  viscosité du sang,  $L$  longueur du vaisseau

$Q$  : débit local en L/min

Lors d'un effort, le diamètre du vaisseau augmente (vasodilatation), donc la résistance hydraulique diminue et par conséquent le débit augmente.

**Document 2. Coupe transversale d'artère musculaire de Souris, observée au microscope optique (G : x 120).**



**Question 2b** – Nommer les zones 1, 2 et 3 du document 2 en précisant le(s) constituant(s) majoritaire(s) de chaque zone.

1 : intima : constituée d'un endothélium.

2 : media : cellules musculaires lisses nombreuses.

3 : adventice : tissu conjonctif avec fibres de collagène et fibres élastiques.

### Partie 2 – Effet du NO sur les cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux sanguins

On cherche à comprendre l'action du monoxyde d'azote (NO) sur les cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux sanguins. La contraction des cellules musculaires lisses nécessite la phosphorylation de la sérine en position 196 de la MRLC (Myosin Regulatory Light Chain).

Cette phosphorylation est contrôlée par les activités antagonistes de la MLCP (Myosin Light Chain Phosphatase) et de la MLCK (Myosin Light Chain Kinase).

MLCK est activée lorsque la calmoduline, une protéine de signalisation intracellulaire, se fixe à des ions  $Ca^{2+}$ .

Des anneaux de couches musculaires de carotide de porc sont cultivés *in vitro* et mis en présence de GSNO (S-nitrosoglutathion, une molécule qui spontanément se décompose dans le milieu de culture en générant de manière continue du NO). La force active de contraction, le pourcentage de MRLC sous la forme phosphorylée sur la sérine 196 et l'activité phosphatase MLCP sont mesurés (document 2.1 ci-contre).

#### Document 2.1. Effets du GSNO sur des cellules musculaires lisses de carotide de Porc.

Des anneaux de couches musculaires de carotide de Porc sont mis à incuber en présence de  $10^9$  mM de  $K^+$ , ce qui a pour effet de les faire contracter.

A  $t=0$ , on ajoute du GSNO dans le milieu.

On mesure aux différents temps de l'expérience la force active de contraction (exprimée en pourcentage par rapport à la force de contraction maximale), le pourcentage de MRLC sous la forme phosphorylée sur la sérine 196 et l'activité MLCP à partir d'extraits cellulaires.

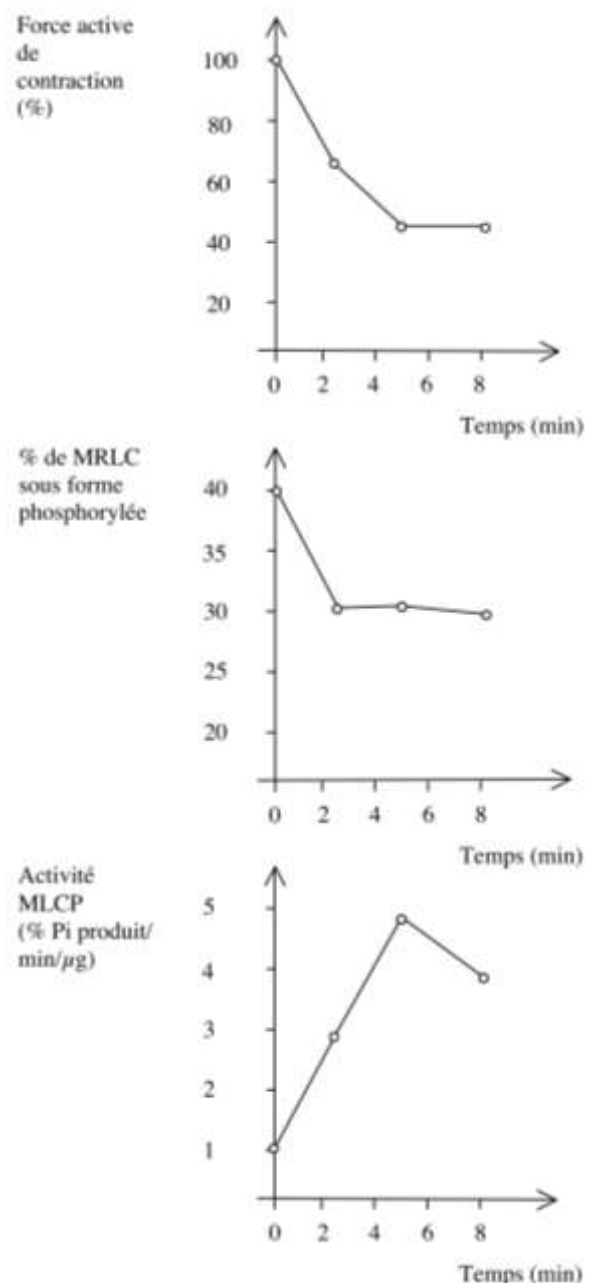
**Question 3** – Analysez et interprétez les résultats de cette expérience.

En présence de GSNO qui libère du NO :

- la force active de contraction des cellules musculaires lisses diminue et n'est plus que de 50 % au bout de 4 min environ,
- La % de MRLC phosphorylée, forme impliquée dans la contraction musculaire, a diminué de 25 % au bout de 2 min,
- l'activité de MLCP – qui est une phosphatase – augmente, elle est multipliée par 5 au bout de 4 min, avant de diminuer.

On peut proposer que NO stimule l'activité de la MLCP qui catalyse la déphosphorylation de MLRC sur la SER196 d'où une diminution de la force de contraction des cellules musculaires lisses et une vasodilatation des vaisseaux.

Critique : pas de barres d'erreur ; hypothèse possible pour diminution activité MLCP après 5 min : contrôle activité ?





La concentration de GMPc (GMP cyclique), une molécule de transduction intracellulaire, augmente transitoirement dans les cellules musculaires lisses dès le début de l'incubation avec GSNO. De plus, en absence de source de NO, des analogues du GMPc sont capables d'induire la déphosphorylation de la sérine 196 de la MLRC, d'augmenter l'activité MLCP et de faire diminuer la concentration de  $Ca^{2+}$  cytosolique.

**Question 4** – Comment le NO pourrait-il contrôler l'état de contraction des cellules musculaires lisses des parois des vaisseaux sanguins ?

Les observations précédentes montrent un lien entre la présence de NO et la concentration de GMPc, et un lien entre GMPc et la déphosphorylation de SER196 de la MLRC, l'activité de MLCP et la concentration cytosolique en  $Ca^{2+}$ . On peut proposer que le NO, via l'activation d'une enzyme, entraîne l'augmentation de la concentration de GMPc qui joue le rôle de second messager intracellulaire.

L'augmentation du GMPc aurait alors plusieurs effets :

- une augmentation de l'activité de la MLCP catalysant la déphosphorylation des SER196 des MLRC d'où une diminution de la force de contraction,
- une activation de pompes à  $Ca^{2+}$  expulsant les ions du cytosol d'où la diminution de sa concentration qui elle aussi est un facteur limitant la contraction (cycles d'interaction actine – myosine).

Il en résulte alors un relâchement des cellules musculaires lisses de la paroi des vaisseaux et une vasodilatation.

Les effets cellulaires du NO sont analysés sur des lignées de cellules rénales HEK exprimant constitutivement une forme soluble de la guanylyl cyclase qui est exprimée normalement dans les cellules musculaires lisses des vaisseaux sanguins.

Deux lignées sont disponibles : HEK-GCa où la guanylyl cyclase est fortement exprimée et HEK-GCb où la guanylyl cyclase est plus faiblement exprimée.

Une lignée-témoin de cellules HEK qui n'expriment pas la forme soluble de la guanylyl cyclase est également disponible.

Les lignées de cellules sont cultivées dans un milieu standard puis mis en présence de GSNO.

Après un temps donné, la quantité de GMPc dans les cellules est mesurée (document 2.2B). La quantité de GTP dans les différentes lignées cellulaires au bout de 5 minutes de présence de GSNO est mesurée (document 2.2C).

**Document 2.2. Effets du GSNO sur la quantité de GMPc et de GTP.**

B. Les lignées de cellules HEK-GCa (cercles), HEK-GCb (carrés) ou HEK (triangles) sont mises en présence de 100  $\mu$ M GSNO à  $t=0$ .

On mesure la quantité de GMPc produit au cours du temps par dosage radioimmunologique.

C. La quantité de GTP dans les lignées cellulaires est mesurée au bout de 5 minutes de présence de 100  $\mu$ M GSNO après séparation chromatographique des nucléotides. Cette quantité est exprimée en pourcentage de la quantité présente dans les cellules HEK.

**Question 5** – Quel est l'effet du NO sur la production de GMPc ?

Les cellules HEK qui ne produisent pas la guanylyl cyclase servent de témoin négatif.

A la suite de la mise en présence de GSNO qui libère du NO, le GMPc produit par les cellules augmente très rapidement : la valeur seuil de 3000  $pmol/10^6$  cellules est atteinte au bout de 2 min environ pour les cellules HEK-GCa qui expriment fortement la guanylyl cyclase, les cellules HEK-GCb qui l'expriment plus faiblement en ont produit 1000  $pmol/10^6$  cellules au bout de 5 min, la quantité continuant à augmenter.

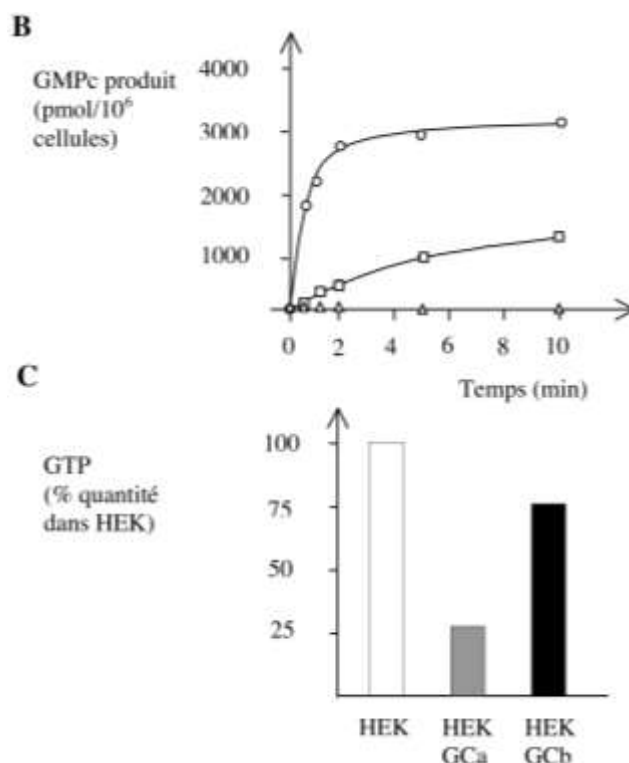
Le NO entraîne donc la production de GMPc par activation de la guanylyl cyclase.

**Question 6** – Que peut-on déduire des résultats du document 2.2C sur l'origine du GMPc ?

5 min après exposition au GSNO, les cellules HEK-GCa n'ont plus que 25 % de la quantité initiale de GTP, les cellules HEK-GCb 75 %, alors que la proportion est inchangée pour les cellules témoin HEK.

Les rapports entre HEK-GCa et HEK-GCb (25/75 soit 1/3) sont l'inverse des résultats concernant le GMPc produit (3000/1000 soit 3/1).

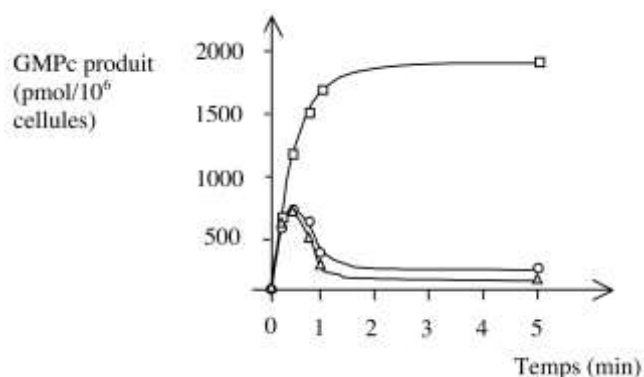
On peut donc en déduire que la production de GMPc s'effectue à partir du stock cellulaire de GTP, réaction catalysée par la guanylyl cyclase.



On dispose d'une autre lignée de cellules HEK exprimant à la fois la forme soluble de la guanylyl cyclase étudiée précédemment et PDE5, une phosphodiesterase (cellules HEK-GC/PDE5). PDE5 n'est pas exprimée dans les lignées HEK, HEK-GCa et HEK-GCb. Les cellules HEK-GC/PDE5 sont mises en présence de GSNO, de même qu'une lignée de cellules musculaires lisses extraites de l'aorte. Les cellules HEK-GC/PDE5 sont également mises en présence de GSNO et de sildénafile, un inhibiteur spécifique de PDE5 et la quantité de GMPc est mesurée (document 2.3).

**Document 2.3. Production de GMPc en présence de GSNO.**

La lignée de cellules HEK-GC/PDE5 est mise en présence de 100 µM GSNO à t=0 en absence (cercles) ou en présence (carrés) de 100 µM de sildénafile. Une lignée de cellules musculaires lisses aortiques est soumise au même traitement sans sildénafile (triangles). On mesure la quantité de GMPc produit au cours du temps par dosage radioimmunologique.



**Question 7** – D'après les résultats du document 2.3, quelle est la réaction catalysée par PDE5 ?

En présence de sildénafile qui inhibe PDE5, la quantité de GMPc produit à la suite de la mise en présence de GSNO par les cellules HEK-GCa/PDE5 augmente très rapidement et se stabilise à environ 1800 pmol/10<sup>6</sup> cellules au bout de 2 min. En revanche, en l'absence de sildénafile, la quantité de GMPc produit atteint un maximum de 700 pmol/10<sup>6</sup> cellules au bout 30 s avant de diminuer rapidement, pour les cellules HEK-GCa/PDE5.

Le début de la courbe est identique en présence ou en l'absence de sildénafile : l'inhibition de l'enzyme n'empêche pas la formation de GMPc.

On peut en déduire que la réaction catalysée par PDE5 diminue la quantité de GMPc.

**Question 8** – Que nous apprend la courbe concernant la lignée de cellules musculaires lisses aortiques ?

Les cellules musculaires lisses aortiques présentent les mêmes résultats que les cellules HEK-GCa/PDE5, ce qui suggère que ces cellules possèdent les enzymes guanylyl cyclase et PDE5 dont l'action combinée induit une augmentation transitoire de la quantité de GMPc.

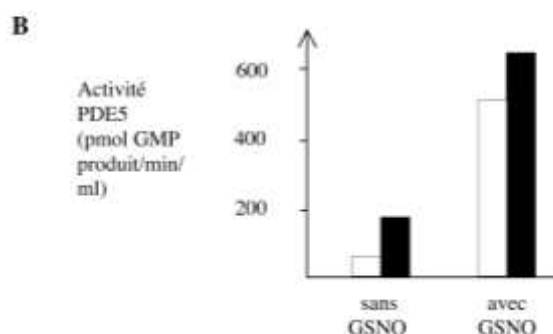
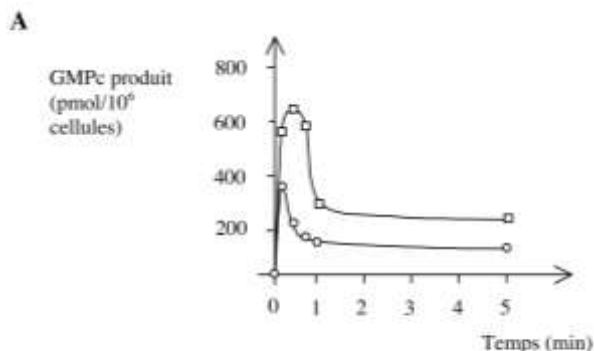
On étudie une nouvelle lignée de cellules HEK exprimant à la fois la forme soluble de la guanylyl cyclase et la forme mutée de PDE5 où la sérine en position 102 est remplacée par une alanine (lignée HEK-GC/PDE5(S102A)). La sérine 102 est un site potentiel de phosphorylation.

Les cellules sont mises en présence de GSNO et la quantité de GMPc est mesurée comme précédemment (document 2.4A), ainsi que l'activité PDE5 dans les extraits protéiques des cellules incubées en présence de GSNO (document 2.4B).

**Document 2.4. GSNO, quantité de GMPc et activité de PDE5.**

A. Des lignées de cellules HEK-GC/PDE5 (carrés) ou HEK-GC/PDE5(S102A) (cercles) sont mises en présence de 100 µM GSNO à t=0. On mesure la quantité de GMPc produit au cours du temps par dosage radio-immunologique.

B. L'activité PDE5 est mesurée dans des extraits protéiques issus de cellules HEK-GC/PDE5 (barres blanches) ou HEK-GC/PDE5(S102A) (barres noires) incubées ou pas avec 100 µM GSNO pendant 60 secondes.



**Question 9** – Analysez les résultats du document 2.4. Quelles hypothèses peut-on formuler sur le rôle de la sérine 102 dans l'activité de PDE5 et sur l'influence du NO sur cette activité ?

Graphique A :

Lorsque l'enzyme n'est pas phosphorylable (forme mutée de PDE5 sur S102), la quantité de GMPc augmente moins (valeur maximale environ 390 contre 650 pmol/10<sup>6</sup> cellules), et le maximum est atteint plus rapidement (10 s au lieu de 30 s), enfin la quantité finale est moitié moindre.

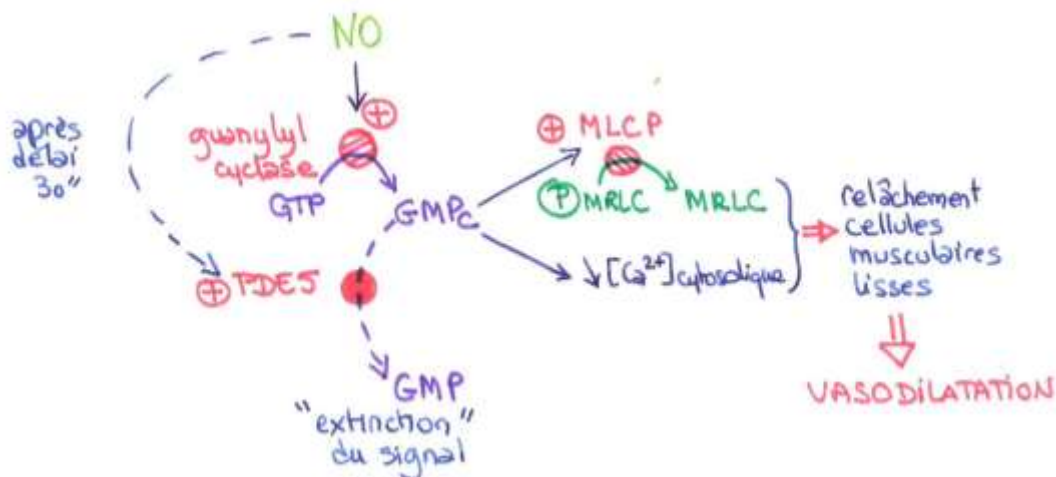
La phosphorylation de la sérine 102 semble limiter l'activation de l'enzyme.

Graphique B :

En présence de GSNO, l'activité de l'enzyme (quantifiée par le produit de sa réaction : GMP) est augmentée qu'elle soit phosphorylable ou non (la différence est du même ordre dans les deux cas).

L'activité de l'enzyme phosphorylable sur SER102 est plus faible que celle de l'enzyme non phosphorylable : la phosphorylation sur la SER102 est une modalité de contrôle de l'activité de l'enzyme.

**Question 10** – Présenter sous la forme d'un schéma un modèle de l'action de NO dans la cellule musculaire lisse des vaisseaux sanguins.



**Modèle de l'action de NO dans la cellule musculaire lisse des vaisseaux sanguins**

### Partie 3 – Mécanismes impliqués dans la réponse à l'acétylcholine

Dans cette dernière partie, on souhaite caractériser les mécanismes responsables des modifications observées en réponse à l'application d'acétylcholine et en réponse à un effort musculaire, chez la Souris.

On utilise le muscle testiculaire cremaster (muscle permettant de soulever ou d'abaisser le scrotum) et les artérioles de ce muscle comme support d'étude.

On construit une souche de Souris déficientes au niveau du gène *connexin40*. Ces Souris sont notées *Cx40<sup>-/-</sup>*.

En conséquence, les Souris n'expriment pas la protéine Connexin40, élément de constitution des jonctions GAP, appelées aussi jonctions communicantes.

#### 3.1 Réponses vasomotrices chez des Souris *Cx40<sup>-/-</sup>*

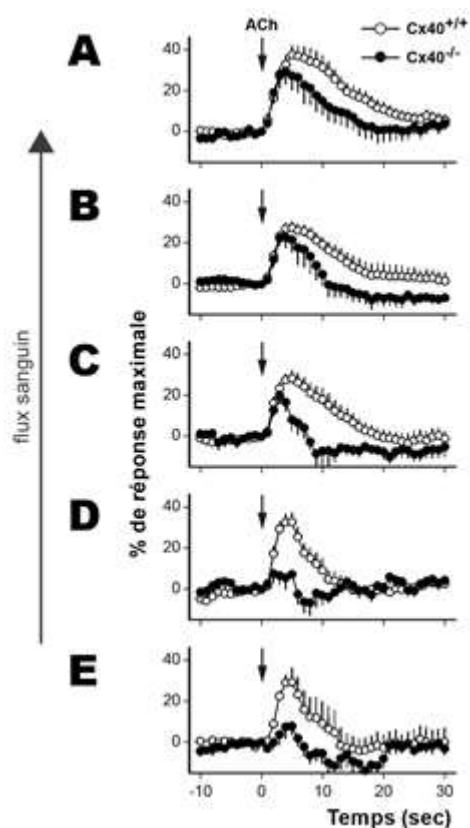
On applique de l'acétylcholine ( $[ACh] = 10 \mu\text{mol.L}^{-1}$ ) sur une artériole irriguant le muscle cremaster, en un point A (document 3.1).

Pour chaque application au point A, on mesure la variation de diamètre de cette artériole induite à des distances croissantes en amont du flux sanguin (B : 0,33 mm ; C : 0,66 mm ; D : 0,99 mm et E : 1,32 mm).

La flèche indique le moment d'application au point A.

Une courbe croissante s'interprète comme une augmentation de diamètre artériolaire.

**Document 3.1. Effets de l'application au point A d'acétylcholine sur l'artériole du muscle cremaster chez des Souris sauvages (8 artérioles testées) et chez *Cx40<sup>-/-</sup>* (10 artérioles testées).**



**Question 11** – Comparer les réponses obtenues après stimulation chez les Souris sauvages et les Souris transgéniques *Cx40<sup>-/-</sup>*.

Chez les Souris sauvages, l'application d'Ach en un point A est suivie d'une augmentation du diamètre artériolaire qui est maximale (40 %) environ 4 s après l'application avant de diminuer. Du point A au point E distant de 1,32 mm du point d'application vers l'amont, les réponses maximales sont synchrones, avec une faible atténuation (30 % au point E) ce qui suggère une transmission très rapide du message, dans le sens contraire au flux sanguin.

Chez les Souris transgéniques déficitaires en connexines, la réponse est synchrones par rapport à celle du témoin mais la réponse maximale est moindre : 30 % au point A d'application de l'Ach, 20 % en B (à 0,33 mm du point A) et C (à 0,66 mm), réponse faible en D (à 0,99 mm) et E (à 1,32 mm).

On en déduit que les jonctions gap permettent la propagation du signal aboutissant à la vasodilatation.

### 3.2 Étude des cellules endothéliales artériolaires

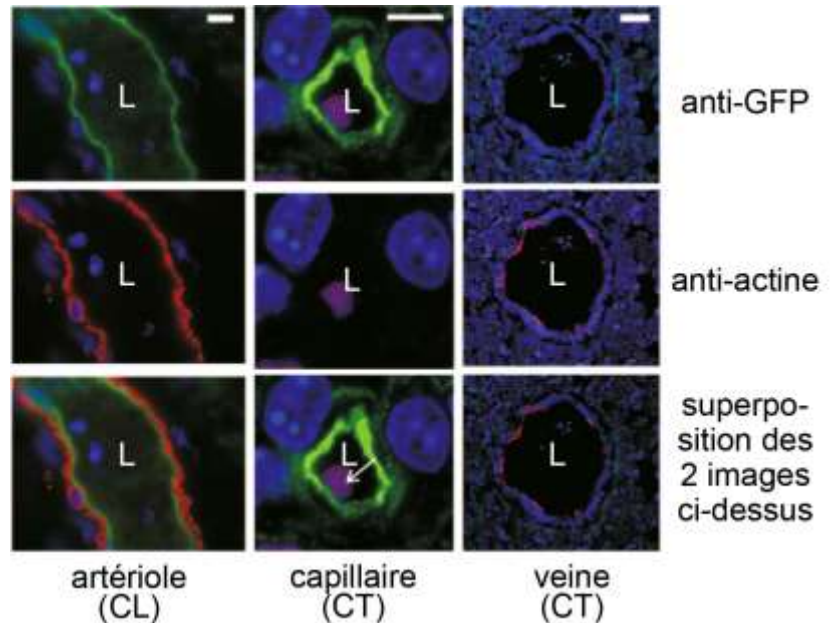
On cherche à localiser les cellules exprimant le gène *connexin40*.

On construit la lignée transgénique suivante : sous l'influence du promoteur du gène *connexin40*, on place la portion codante du fluorochrome GFP associée à la portion codante de la calmoduline (CaM). Après transcription-traduction, la protéine GCaMP2 est exprimée.

On précise que la protéine rapporteur GCaMP2 ainsi obtenue est cytosolique et qu'elle fluoresce en présence de calcium. Dans cette première étude, cette protéine n'est pas révélée par ajout de calcium, mais par immunolocalisation.

En effet, on effectue une immunolocalisation des protéines GCaMP2 (couleur verte) et actine (couleur rouge), cette dernière étant exprimée par les cellules musculaires lisses, sur différents segments vasculaires (artériole, capillaire et veine) du muscle cremaster.

On obtient le [document 3.2](#).



**Document 3.2.** Coupes longitudinale (CL) et transversales (CT) de segments vasculaires du muscle cremaster de la souche transgénique observées au microscope optique.

Barres d'échelle = 5  $\mu$ m ; L = lumière du vaisseau sanguin. La flèche blanche pointe un globule rouge.

**Question 12a** – Expliquer le principe de la technique d'immunolocalisation.

L'immunolocalisation utilise des anticorps spécifiques d'une molécule (antigène) que l'on cherche à localiser. Ces anticorps sont couplés avec un fluorochrome. L'excitation du fluorochrome avec les longueurs d'onde qui lui sont spécifiques l'amène à émettre de la lumière ce qui permet de repérer la localisation de la molécule recherchée.

**Question 12b** – Analyser le [document 3.2](#) afin de caractériser les cellules exprimant la Connexin40.

Les anticorps anti-GFP mettent en évidence la présence de GCaMP2, donc de connexine, dans la paroi des artérioles et en abondance dans celle des capillaires, pas ou très peu dans celles des veines.

Les anticorps anti-actine permettent de mettre en évidence la présence d'actine dans la paroi des artérioles, un peu dans celle des veines, pas dans celle des capillaires.

La superposition des images montre que dans la paroi de l'artériole, la GCaMP2 a une position interne par rapport à l'actine.

Or l'actine est une protéine impliquée dans la contraction des cellules musculaires : on la trouvera donc en abondance dans les myocytes lisses de la média.

La connexine semble alors plutôt localisée dans l'intima : dans les cellules endothéliales, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus pour les capillaires dont la paroi comprend seulement un endothélium.

Les jonctions gap sont donc localisées au niveau des cellules endothéliales.

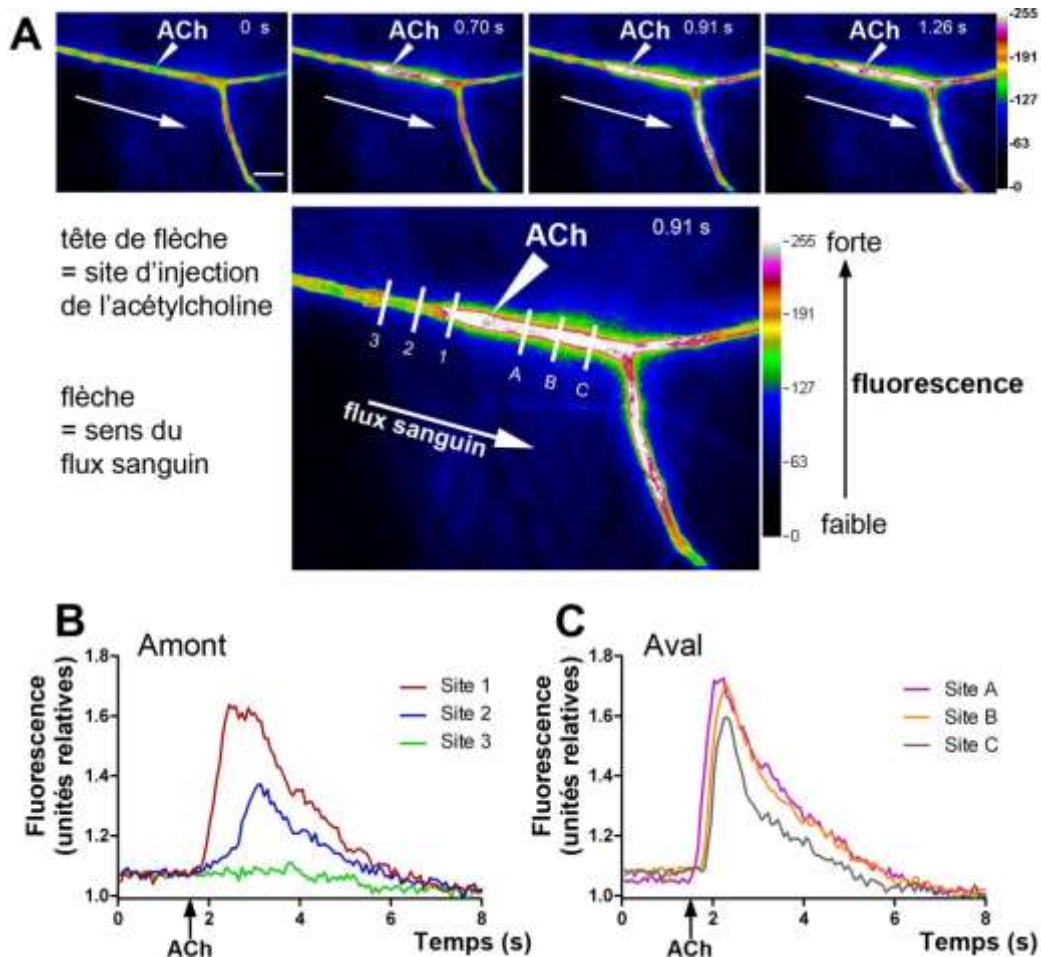
### 3.3 Réponses calciques des artérioles

On utilise de nouveau la souche construite précédemment, mais on utilise cette fois la propriété de la protéine GCaMP2 d'être fluorescente en présence de calcium. Cette fluorescence est quantifiée par des fausses couleurs en microphotographie.

Les photos en fausses couleurs du [document 3.3A](#) et les graphes des [documents 3.3B et C](#) décrivent les résultats obtenus après l'injection d'acétylcholine.

Les points A, B et C sont distants l'un de l'autre de 65  $\mu$ m et sont en aval du site d'injection.

Les points 1, 2 et 3 sont distants l'un de l'autre de 65  $\mu$ m et sont en amont du site d'injection.



**Document 4.3. Réponses calciques au voisinage du site d'injection de l'acétylcholine.**

Attention : bien repérer que pour la suite, la fluorescence résulte des propriétés de la protéine GCaMP2 dont on sait qu'elle est cytosolique et fluoresce en présence de calcium (cf le titre du document 4.3).

**Question 13a** – Analyser l'ensemble des microphotographies du document 3.3A.

A la suite de l'injection d'ACh, une forte fluorescence est repérable au niveau du point d'injection à 0.70 s qui se propage légèrement en amont mais surtout en aval à 0,91 puis 1,26 s.

A 0,91 s, le cliché en gros plan montre que la fluorescence est forte aux points 1 (juste en amont du point d'injection) et aux points A, B, C (en aval du point d'injection).

L'ACh a donc pour effet une fluorescence de GCaMP2 liée à une augmentation de la concentration cytosolique en  $Ca^{2+}$  dans les cellules endothéliales (où est localisée la connexine comme l'a montré le doc 3.2) qui se propage à partir du point d'injection.

**Question 13b** – Analyser l'ensemble des réponses des documents 3.3B et 3.3C.

L'augmentation de la fluorescence en aval de l'injection d'ACh est très légèrement décalée dans le temps selon la distance qui sépare les sites de mesure et le site d'injection, avec une amplitude légèrement atténuée en fonction de la distance au point d'injection.

En amont les effets sont davantage décalés dans le temps, avec une amplitude d'autant plus atténuée que la distance au point d'injection est plus grande, et pas d'effet au site 3 distant de  $3 \times 65 = 195 \mu m$ .

La propagation du signal s'effectue donc différemment vers l'aval et vers l'amont.

Vers l'aval, l'ACh peut être entraînée par le flux sanguin et déclencher à nouveau l'augmentation de la  $[Ca^{2+}]$  cytosolique. La dilution de l'ACh dans le sang peut expliquer l'amplitude légèrement plus faible de la réponse aux sites B et surtout C.

Vers l'amont, la propagation pourrait s'effectuer grâce aux jonctions gap.

**Question 13c** – A l'aide de l'ensemble des résultats obtenus dans cette quatrième partie, expliquer la propagation du signal induit par l'acétylcholine.

Nous avons vu que les jonctions gap sont impliquées dans la propagation du signal aboutissant à la vasodilatation (document 3.1).

Le document 3.2 a permis de localiser les jonctions gap dans l'endothélium des artéoles et capillaires.

Le document 3.3 montre que l'ACh entraîne une augmentation de la  $[Ca^{2+}]$  cytosolique,

- très rapide par action directe du messenger Ach sur la cellule endothéliale,

- un peu moins rapide, qui pourrait être la conséquence de la diffusion d'un second messenger intracellulaire ( $Ca^{2+}$  lui-même ? AMPc déclenchant une libération de calcium ?) par les jonctions gap reliant les cellules endothéliales, avec atténuation du signal.