

This article was downloaded by:

On: 26 January 2011

Access details: *Access Details: Free Access*

Publisher *Taylor & Francis*

Informa Ltd Registered in England and Wales Registered Number: 1072954 Registered office: Mortimer House, 37-41 Mortimer Street, London W1T 3JH, UK



Liquid Crystals

Publication details, including instructions for authors and subscription information:

<http://www.informaworld.com/smpp/title~content=t713926090>

Interprétation physique par modélisation de la cinétique de polymérisation de la déoxyhémoglobine S Une nouvelle approche théorique

J. L. Dejardin^a

^a Laboratoire de Physique Appliquée, Université de Perpignan, Perpignan Cedex, France

To cite this Article Dejardin, J. L.(1988) 'Interprétation physique par modélisation de la cinétique de polymérisation de la déoxyhémoglobine S Une nouvelle approche théorique', *Liquid Crystals*, 3: 9, 1191 – 1201

To link to this Article: DOI: 10.1080/02678298808086577

URL: <http://dx.doi.org/10.1080/02678298808086577>

PLEASE SCROLL DOWN FOR ARTICLE

Full terms and conditions of use: <http://www.informaworld.com/terms-and-conditions-of-access.pdf>

This article may be used for research, teaching and private study purposes. Any substantial or systematic reproduction, re-distribution, re-selling, loan or sub-licensing, systematic supply or distribution in any form to anyone is expressly forbidden.

The publisher does not give any warranty express or implied or make any representation that the contents will be complete or accurate or up to date. The accuracy of any instructions, formulae and drug doses should be independently verified with primary sources. The publisher shall not be liable for any loss, actions, claims, proceedings, demand or costs or damages whatsoever or howsoever caused arising directly or indirectly in connection with or arising out of the use of this material.

Interprétation physique par modélisation de la cinétique de polymérisation de la déoxyhémoglobine S

Une nouvelle approche théorique

par J. L. DEJARDIN

Laboratoire de Physique Appliquée, Université de Perpignan,
50 Avenue de Villeneuve, 66025 Perpignan Cedex, France

(Received 5 January 1987; accepted 2 May 1988)

Par analogie avec les lois de la mécanique classique, nous décrivons la cinétique de polymérisation de la déoxyhémoglobine S (déoxy HbS) au moyen d'une équation différentielle du deuxième ordre non linéaire qui se réduit à une équation du type Riccati par un simple changement de variable: il est ainsi mis en évidence la notion de fréquence d'agrégation. De plus, la croissance des polymères est largement affectée par un ensemble de forces de frottement variable dans le temps selon une loi de type logistique (sigmoïde). Cette étude précise le caractère viscoélastique du milieu et débouche sur une loi, également de type logistique pour l'évolution dans le temps du coefficient de viscosité dynamique. Enfin, nous avons tracé en fonction du temps les variations de la vitesse d'agrégation en estimant les valeurs à partir des données expérimentales des courbes d'absorbance obtenues dans la littérature pour des solutions diluées de déoxyhémoglobine S en tampon phosphate concentré. Notre modèle fournit des données intéressantes pour toutes les phases de polymérisation de l'HbS. En particulier, dans le domaine de nucléation correspondant à une durée inférieure ou égale à t_d , il conduit à des résultats qui recourent ceux obtenus par ailleurs à partir du mécanisme de la double nucléation.

By analogy with the laws of classical mechanics, a non-linear second order differential equation for the evolution of aggregation of deoxyhemoglobin S (deoxy HbS) tetramers, is obtained. By means of a simple transformation, a Riccati equation is found which exhibits the notion of aggregation frequency. Moreover, the growth of polymers is strongly affected by a set of frictional forces whose time-evolution is given by a logistic law. All of these aspects are convenient to assign a viscoelastic nature of the medium and the time-dependent behaviour of the non-newtonian viscosity is shown to be analogous to the time-dependent behaviour of frictional forces. Graphs of the aggregation rate against time are given representing estimated data resulting from experimental values of progress curves for dilute solutions of deoxy HbS in concentrated phosphate buffer. Our model provides interesting data for all the phases of HbS polymerization, especially in the nucleation field corresponding to a period inferior or equal to the delay-time t_d , where our results are in good agreement with those obtained elsewhere from the dual nucleation mechanism.

1. Introduction

L'hémoglobine S (HbS) est une hémoglobine anormale qui se distingue des autres hémoglobines humaines par la substitution en position 6 sur chaque chaîne β d'un résidu d'acide glutamique par une valine, entraînant une perte de deux électrons par molécule. Cette anomalie génétique conduit à une déformation en faucille des érythrocytes dès que l'HbS est déoxygénée, d'où le nom d'anémie falciforme (ou drépanocytose).

donné à la maladie qui en résulte. Ainsi, tant que la pression d'oxygène reste faible, les molécules de déoxyhémoglobine S s'assemblent entre elles pour former de longs polymères dont l'arrangement hautement ordonné est comparable à la phase nématique des gels paracrystallins (structure tubulaire d'environ 200 Å de diamètre) [2]. Cette gélification met en jeu des interactions de type hydrophobe car elle est caractérisée par un coefficient de température négatif, donc favorisée par toute élévation de température. Ce phénomène est généralement totalement réversible dès le rétablissement d'une pression normale en oxygène (oxyhémoglobine S). Dans un article récent [3] s'appuyant sur des travaux expérimentaux de spectrophotométrie [1], un modèle mathématique de la cinétique d'agrégation de la déoxy HbS a été proposé à partir des courbes d'évolution dans le temps de l'absorbance A , pour des solutions diluées en tampon phosphate concentré. Ce modèle fait apparaître dans l'expression de $A(t)$ une constante de temps τ reliée d'une part, à la taille n du noyau critique, nombre minimal de molécules de déoxy HbS préalable à toute polymérisation et d'autre part, à la vitesse d'agrégation. Nous poursuivons ici cette recherche en établissant une équation différentielle du deuxième ordre, non linéaire, dont la solution analytique s'identifie à $A(t)$ et dont nous interprétons chacun des termes en pure analogie avec les lois de la mécanique. Il s'introduit ainsi, et c'est un aspect fondamental et nouveau, une force d'inertie qui vient se superposer au mouvement libre des molécules de déoxy HbS. Les mesures d'absorbance font partie d'un grand nombre de techniques physico-chimiques qui ont été mises au point pour suivre la formation du gel, en utilisant un même principe de base: le réchauffement brusque vers 30°C d'une solution de déoxy HbS initialement refroidie à 0°C [4, 5, 6, 7]. Si les résultats expérimentaux découlant de ces techniques montrent que cette formation s'effectue essentiellement en trois étapes, nucléation-croissance-alignement du polymère, aucune d'elles, cependant, ne permet d'accéder directement à la vitesse instantanée $\dot{A}(t)$. A la fin de ce travail, nous montrons comment représenter graphiquement cette vitesse à partir des courbes expérimentales d'absorbance.

2. Notion de force d'agrégation

En considérant que la variation de l'absorbance A avec le temps rend compte, à travers le processus de polymérisation, du mouvement des molécules de déoxy HbS, nous pouvons la décrire en appliquant le principe fondamental de la dynamique, soit

$$\ddot{A}(t) = -\Lambda(t)\dot{A}(t). \quad (1)$$

Le terme de droite dans l'équation (1) représente la résultante F des forces appliquées au système en mouvement. La proportionnalité à la vitesse \dot{A} suppose un écoulement fluide lent. La fonction Λ dépend nécessairement du temps; elle peut se décomposer comme suit

$$\begin{aligned} \Lambda(t) &= \Lambda_1 - \Lambda_2 f(t) \\ &= -d\dot{A}/dA, \end{aligned} \quad (2)$$

où Λ_1 et Λ_2 sont des constantes réelles positives et f une fonction du temps que nous explicitons un peu plus bas. En substituant l'équation (2) dans l'équation (1), il apparaît que F peut s'exprimer comme la somme de deux forces F_1 et F_2 telles que

$$F_1 = -\Lambda_1 \dot{A}; \quad F_2 = \Lambda_2 f \dot{A}. \quad (3)$$

F_1 a le sens d'une force de frottement pour un fluide visqueux en régime non turbulent, donnant lieu à une dissipation d'énergie sous forme d'effet Joule. Λ_1 est homogène à l'inverse d'une constante de temps et proportionnel à un coefficient de friction de translation. F_2 est une force d'inertie, non dissipative d'énergie, engendrée au cours de la polymérisation. Pour respecter les dimensions de F_2 , nous adoptons pour la fonction f la forme la plus simple qui réponde à cette condition, soit: \dot{A}/A . Nous donnons à F_2 le nom de force d'agrégation; elle régit la dynamique moléculaire, l'accélérant ou la retardant suivant que $\Lambda_2 f$ est plus petit ou plus grand que Λ_1 (Λ négatif ou positif). Par suite, la relation (1) prend la forme d'une équation différentielle du deuxième ordre, non linéaire

$$\ddot{A} = -\Lambda_1 \dot{A} + \Lambda_2 \dot{A}^2/A. \tag{4}$$

Il convient de noter que F_2 qui est en \dot{A}^2/A présente les caractéristiques d'une force centrifuge, ce qui impliquerait l'existence d'une énergie potentielle de type rotationnel. La solution de l'équation (4) est en accord avec l'expression que nous avons proposée dans un travail précédent [3]

$$A = A_\infty / (1 + m \exp(-kt))^{1/p}, \quad m = (A_\infty/A_0)^p - 1; \tag{5}$$

A_∞ et A_0 sont les valeurs de A quand t tend vers l'infini et vers zéro respectivement. En effet, en dérivant l'équation (5) deux fois par rapport au temps, il vient

$$\ddot{A} = -k\dot{A} + (p + 1)\dot{A}^2/A. \tag{6}$$

L'identification entre coefficients des relations équations (4) et (6) conduit à poser

$$\Lambda_1 = k = 1/\tau; \quad \Lambda_2 = p + 1. \tag{7}$$

Revenons sur le rôle joué par la fonction f ; c'est une fonction génératrice qui caractérise la croissance du polymère et qui, pour ce type de processus, satisfait à l'équation différentielle classique suivante (cf. remarque suivante)

$$\dot{f} = -kf(1 - f/K); \quad K = k/p. \tag{8}$$

En tenant compte des constantes qui interviennent dans l'équation (5), l'intégration de l'équation (8) donne

$$\begin{aligned} f(t) &= (k/p)(1 - 1/(1 + m \exp(-kt))) \\ &= (k/p)(1 - (A/A_\infty)^p). \end{aligned} \tag{9}$$

Ce résultat est conforme à l'hypothèse en \dot{A}/A suggérée plus haut pour la fonction f .

Remarque

Si l'on considère que l'absorbance et les paramètres qui s'y rattachent suivent des lois de type logarithmique, on peut poser $X = \text{Log } A$. L'équation (1) devient donc

$$\ddot{X} + k\dot{X} - p\dot{X}^2 = 0. \tag{10}$$

Il suffit alors d'introduire dans l'équation (10) la fonction f égale à \dot{X} (\dot{A}/A) pour retrouver l'équation (8) du type Riccati et attribuer à cette fonction le sens statistique d'une fréquence ou probabilité d'agrégation correspondant à la variation par unité de temps du logarithme de l'absorbance. Il en résulte une équivalence complète entre les équations (4) et (8).

Downloaded At: 15:58 26 January 2011

3. Mise en évidence de la viscoélasticité du milieu

L'équation (8) peut être réécrite sous la forme simplifiée suivante

$$\dot{f}(t) + K(t)f(t) = 0, \quad (11)$$

où

$$K(t) = k - pf(t). \quad (12)$$

A l'instant $t = 0$, lorsque les conditions physico-chimiques sont remplies—en particulier, pour une faible pression d'oxygène—aucun polymère ne s'est encore formé, leur probabilité de formation f est donc maximale et égale à f_M tandis que la fonction K caractérisant les forces de frottement est minimale et égale à k_m , ces deux grandeurs évoluant de façon antagoniste comme le montre la figure 1. Ce résultat peut s'interpréter qualitativement de la manière suivante: au fur et à mesure que les molécules d'HbS s'agglutinent entre elles, l'espace intermoléculaire se réduit, donnant lieu à une gêne stérique croissante. La fin de la polymérisation se traduit par $f(\infty) = 0$ et $K(\infty) = k$ (frottement constant).

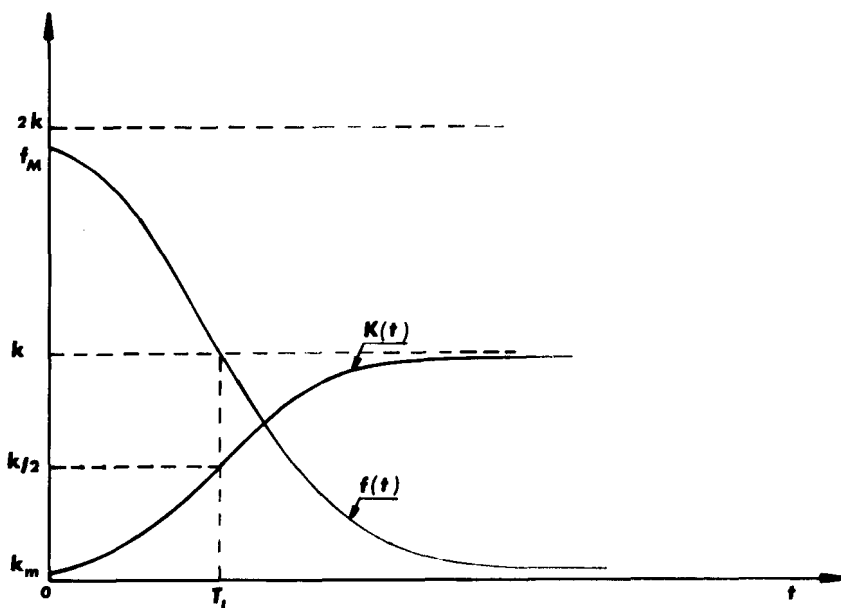


Figure 1. Courbes d'évolution théoriques de la probabilité d'agrégation $f(t)$ et de la fonction forces de frottement $K(t)$. (T_i : abscisse du point d'inflexion des deux courbes).

En remplaçant f par l'expression (9) dans l'équation (12), on obtient la loi d'évolution de la fonction de frottement $K(t)$, soit

$$K(t) = k/(1 + m \exp(-kt)). \quad (13)$$

Par suite, la proportionnalité de K avec le coefficient de viscosité dynamique η conduit pour cette grandeur à une expression du même type, à savoir

$$\eta(t) = \eta/(1 + m \exp(-kt)). \quad (14)$$

Cette dernière relation vient confirmer le caractère non newtonien du fluide étudié (fluide viscoélastique de Boltzmann) [8]. Enfin, par analogie avec les systèmes rencontrés

en mécanique ou en électricité, nous pouvons caractériser globalement le phénomène d'agrégation en introduisant la fonction constante de temps T égale à $1/K$, soit

$$T(t) = \tau(1 + m \exp(-t/\tau)); \tag{15}$$

τ représentant la valeur asymptotique (minimum) de T .

4. Résultats expérimentaux

Sur la figure 2, nous avons tracé les variations de f avec le temps t déduites des résultats expérimentaux obtenus par Poyart *et al.* [1] sur l'absorbance $A(t)$, pour trois concentrations en déoxy HbS, la relation (9) permettant le calcul des valeurs de f à partir de celles de A . Sur le même graphique, nous donnons à titre comparatif les courbes d'absorbance dont l'inflexion a été calculée par ailleurs et vaut [3]

$$t_1 = \tau \log m/p. \tag{16}$$

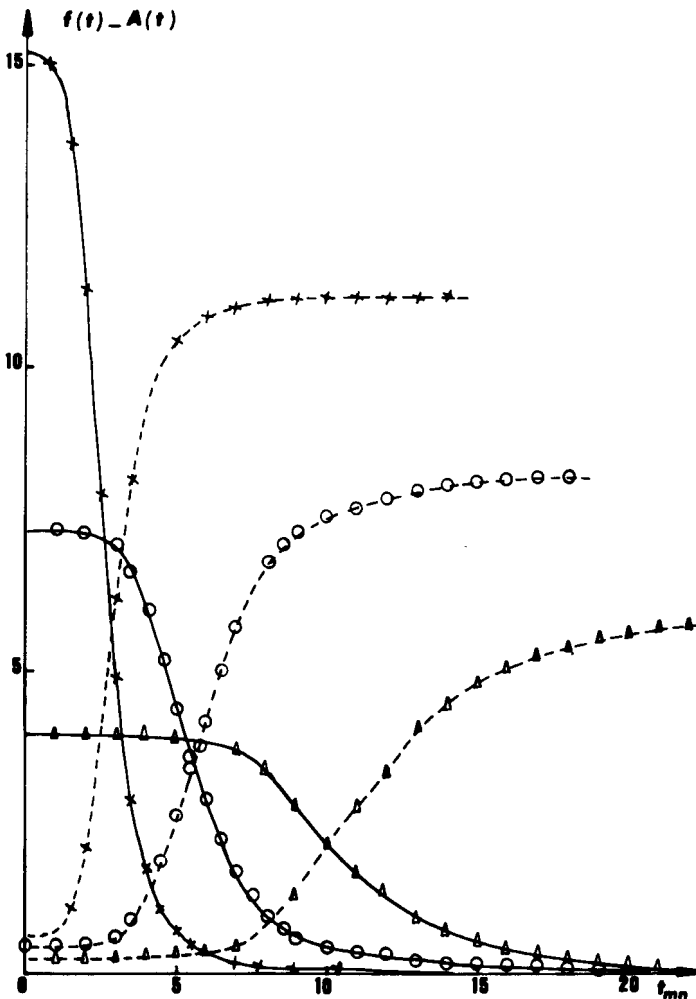


Figure 2. Distribution expérimentale des courbes de probabilité d'agrégation $f(t)$ déduites des courbes d'absorbance $A(t)$. Δ , $c = 1.35$ g/l; \circ , $c = 1.64$ g/l; $+$, $c = 2.06$ g/l. (traits pleins; $f(t)$; pointillés: $A(t)$). (Les échelles de A et f sont relatives).

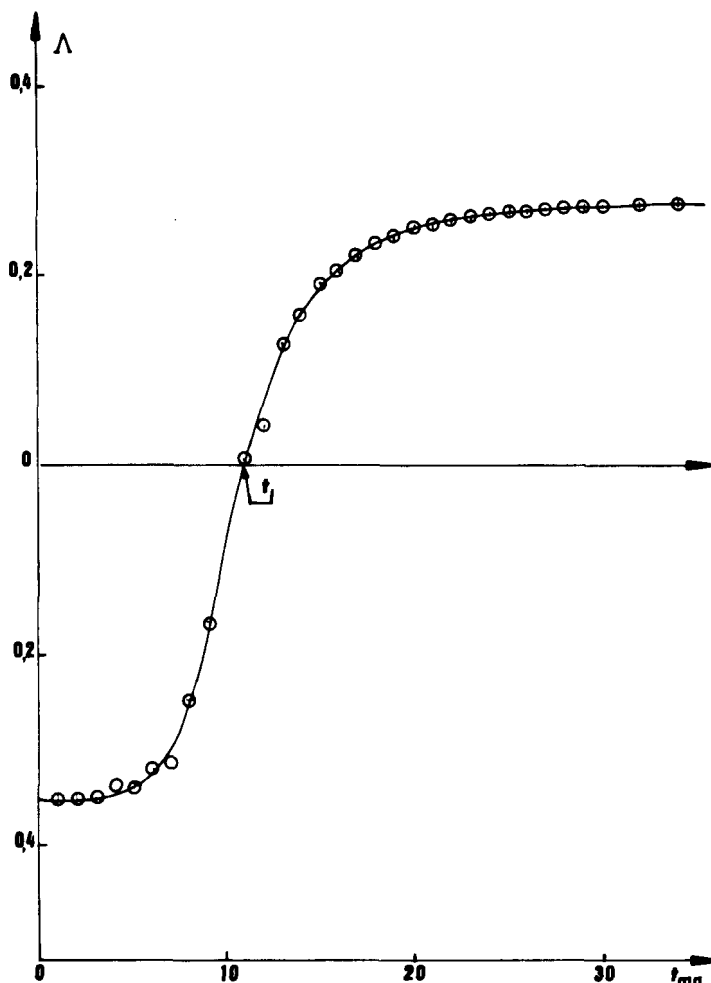


Figure 3. Détermination expérimentale du point d'inflexion t_i sur la courbe $\Lambda(t)$. Concentration en déoxy HbS: 1.35 g/l. (L'échelle de $\Lambda(t)$ est relative).

Si l'on remarque que la dérivée seconde de $f(t)$ s'annule à l'instant $t = T_1$ défini par

$$T_1 = \tau \log m; \quad f(T_1) = 1/2\tau p, \quad (17)$$

on voit qu'il existe une relation très simple entre t_i et T_1 qui s'écrit

$$t_i - T_1 = \Delta t_i = \tau \log 1/p. \quad (18)$$

La détermination expérimentale de l'instant où se situe le point d'inflexion t_i permet d'obtenir la pente maximale de variation de l'absorbance. Il est facile de l'obtenir à partir des valeurs estimées de $\Lambda(t)$ par intersection de la courbe avec l'axe des temps; par exemple, pour une concentration égale à 1.35 g/l (figure 3), t_i est voisin de 11 minutes et vaut moins de 3 minutes pour $c = 2.06$ g/l. En $t = t_i$, l'accélération \dot{A} est nulle, la vitesse d'agrégation devient constante: état stationnaire dans la formation des polymères. Le deuxième membre de l'égalité (2) montre que $\Lambda(t)$ représente la variation de la vitesse d'agrégation par rapport à l'absorbance, dans le sens d'une augmentation quand Λ est négative et d'une diminution dans le cas contraire. Cet

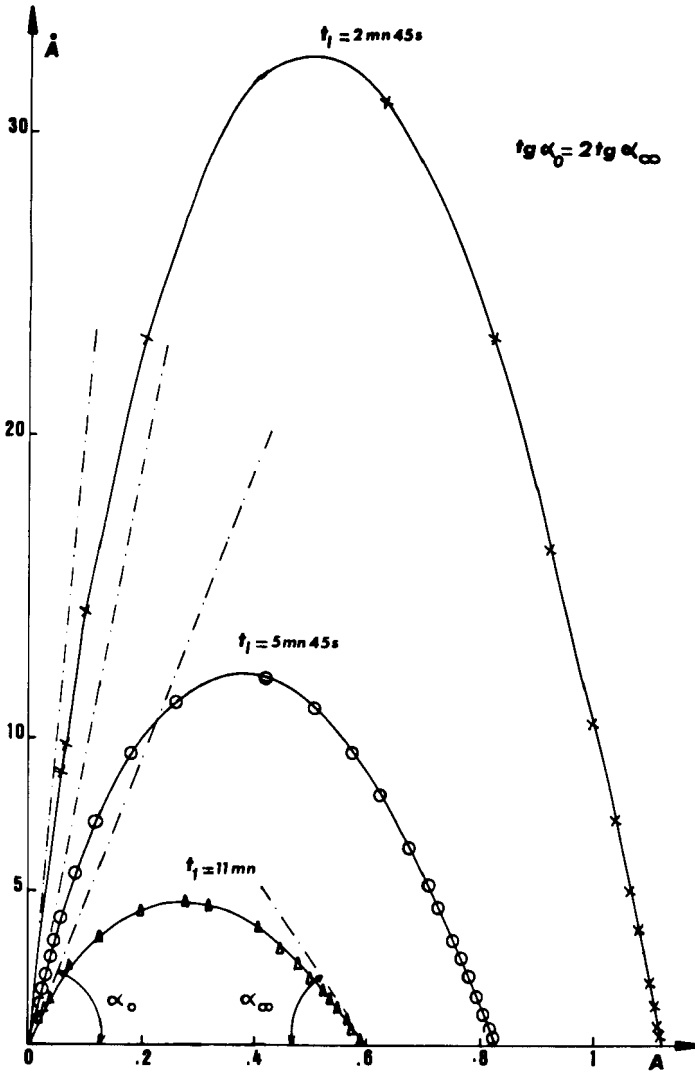


Figure 4. Influence de la vitesse d'agrégation sur l'absorbance, Δ , $c = 1.35$ g/l; \circ , $c = 1.64$ g/l; $+$, $c = 2.06$ g/l. (Les échelles de A et \dot{A} sont relatives).

aspect est illustré par les courbes de la figure 4 qui présentent toutes un maximum en $A = A_1$ correspondant à $t = t_1$. Un autre point mérite d'être souligné à savoir la non nullité de la vitesse à l'instant $t = 0$: vitesse initiale de nucléation. Afin de préciser cette dernière remarque, nous résolvons l'équation différentielle homogène déduite de l'équation (2)

$$d\dot{A}/dA = -k + (p + 1)\dot{A}/A. \tag{19}$$

En prenant $f(t) = \dot{A}/A$, les courbes intégrales générales sont de la forme

$$\begin{aligned} A &= C(1 - fp/k)^{1/p} \\ \dot{A} &= Cf(1 - fp/k)^{1/p}; \end{aligned} \tag{20}$$

C est une constante d'intégration.

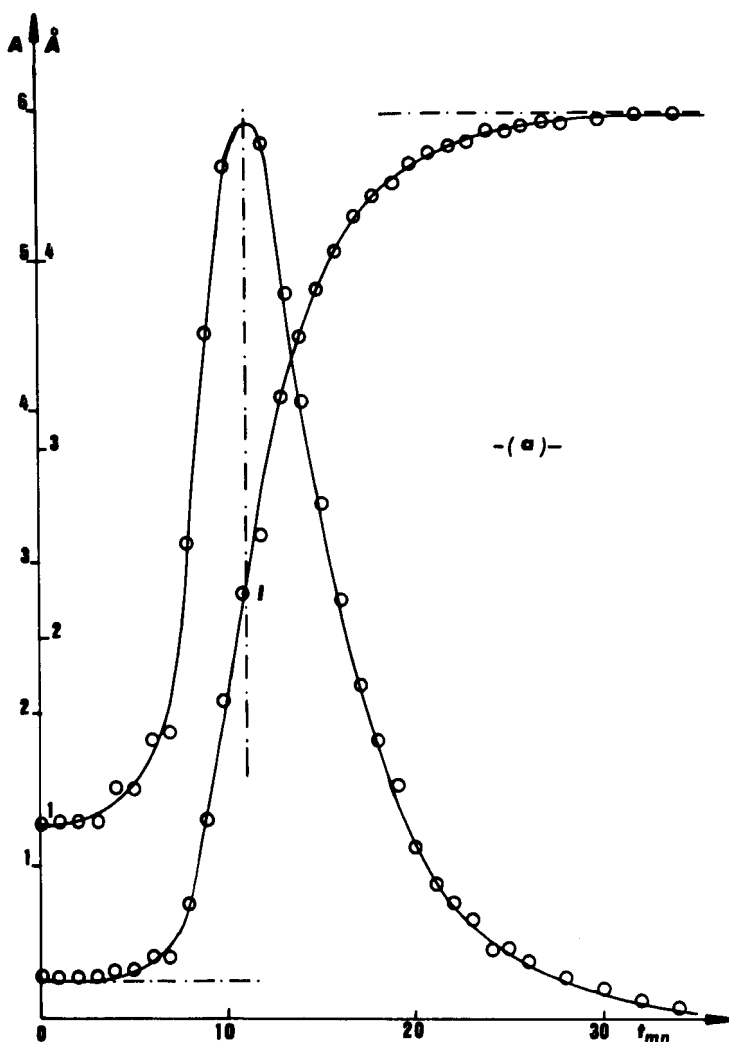


Figure 5. Courbes expérimentales de l'évolution de la vitesse d'agrégation déduites des courbes d'absorbance. (a), $c = 1.35$ g/l; (b), $c = 1.64$ g/l; (c), $c = 2.06$ g/l (Les échelles de A et \dot{A} sont relatives).

L'intégrale singulière est donnée par $\dot{A} = (k/p)A$ qui n'est rien d'autre que l'équation de la tangente à l'origine des courbes $\dot{A}(A)$. La pente en $A = A_\infty$ est égale à k (ou $1/\tau$). Pour les concentrations en déoxy HbS étudiées, la valeur de $1/p$ est de l'ordre de 2, ce qui implique un coefficient directeur (en module) deux fois plus grand en $t = 0$ où $A = A_0$ qu'en $t = \infty$ où $A = A_\infty$. Par suite, la vitesse d'agrégation qui croît jusqu'en $t = t_1$ correspond à cet instant à un taux maximum de polymères formés, ce taux diminuant jusqu'à zéro pour $t > t_1$. Les courbes de la figure 5 donnent la représentation graphique de $\dot{A}(t)$ pour trois concentrations différentes en déoxy HbS (1.35 g/l; 1.64 g/l; 2.06 g/l). Ces tracés se déduisent facilement des valeurs expérimentales des courbes d'absorbance à partir de la relation

$$\dot{A} = (k/p)A(1 - (A/A_\infty)^p). \quad (21)$$

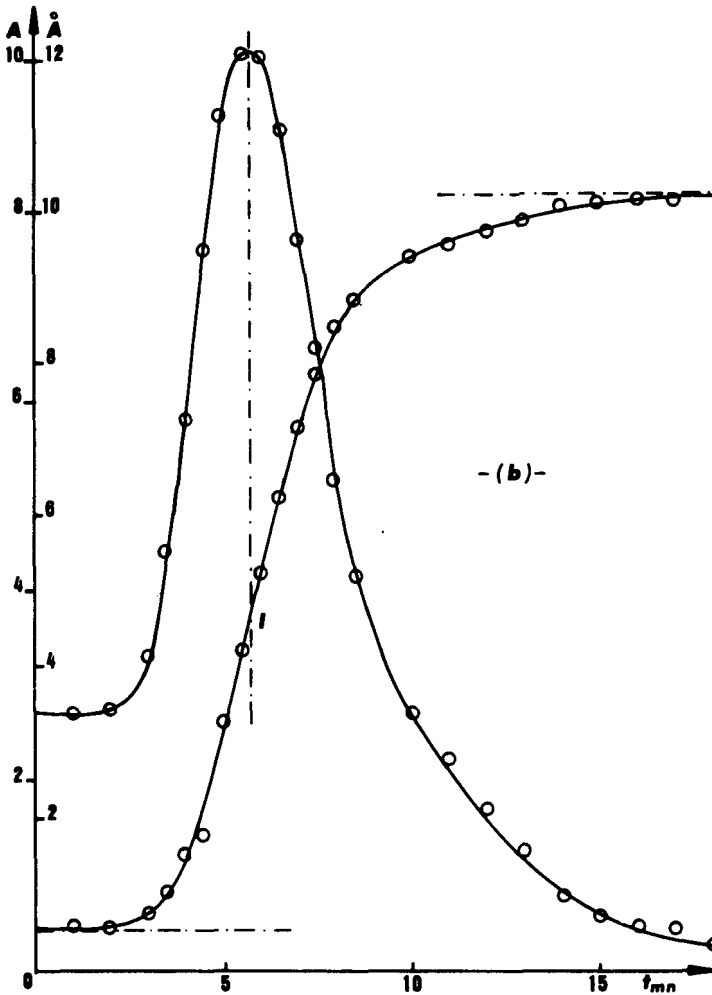


Figure 5 (continued).

On remarquera que l'inflexion de $A(t)$ correspond au maximum de $\dot{A}(t)$. En convenant de définir la pente maximale de variation de l'absorbance par l'équation de la tangente au point d'inflexion I, l'intersection de cette droite avec $A = A_0$ et $A = A_\infty$ se fait respectivement aux temps $t = t_d$ (temps de retard à l'agrégation) et $t = t_f$. La zone de durée t_d est la zone de nucléation préalable à la polymérisation. L'intervalle $t_f - t_d$ rend compte de la zone de croissance des polymères. Au-delà de t_f , on peut supposer qu'il s'agit d'une zone de fin d'alignement des polymères (zone nématique stable).

La zone de nucléation mérite une attention toute particulière dans la mesure où des travaux très récents tentent d'expliquer la croissance brutale et rapide des polymères en introduisant le mécanisme d'une double nucléation, l'une homogène qui assure le démarrage de l'agrégation de l'HbS et l'autre hétérogène qui est responsable de la poursuite de la polymérisation [9, 10]. Nous avons ainsi recherché l'équation simulée des courbes $\dot{A}(t)$ dans leur première partie ($0 \leq t \leq t_d$) et trouvé une loi d'évolution exponentielle qui rejoint les résultats obtenus par une autre méthode due à Hofrichter [11] sur la base de fluctuations stochastiques des courbes de croissance.

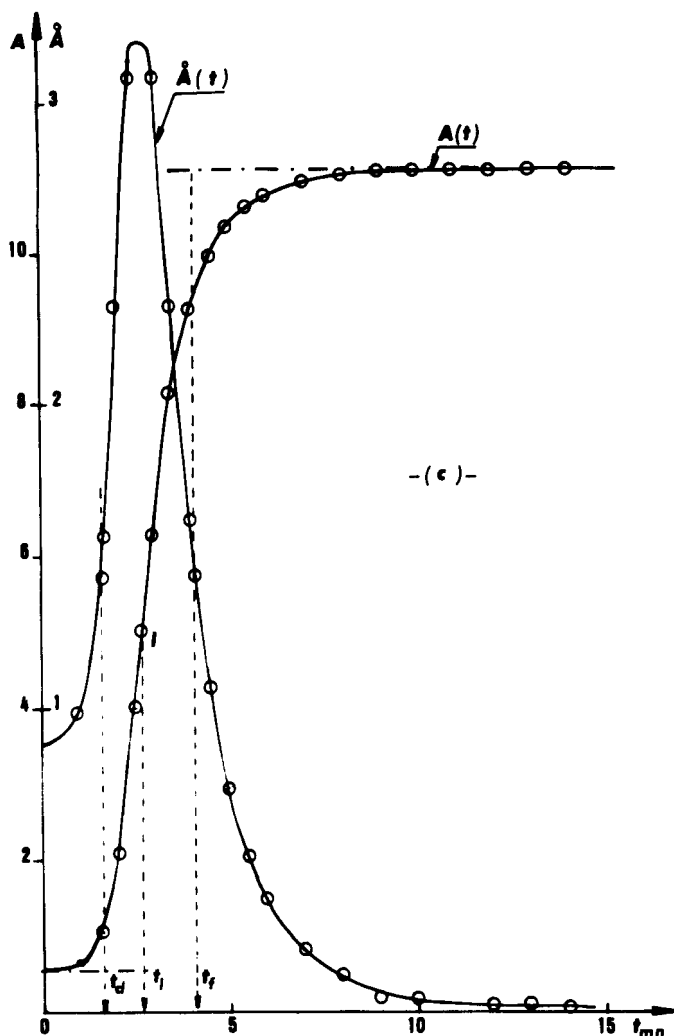


Figure 5 (continued).

Valeurs estimées des paramètres de la vitesse de nucléation

Concentration déoxy HbS/g l ⁻¹	s/mn ⁻¹	Log v ₀
1.35	1.06	9.5 × 10 ⁻³
1.64	1.13	3.09 × 10 ⁻²
2.06	1.33	8.46 × 10 ⁻²

pH: 7.23; [PO₄] = 1.75 M; variation thermique 0°C → 30°C.

Le tableau résume les valeurs obtenues en utilisant la relation: $v_N(t) = v_0 e^{st}$ où $v_N(t)$ est la vitesse instantanée de nucléation dans le domaine $0 \leq t \leq t_d$ et $1/s$ une constante de temps de nucléation. Notre modèle fournit également des renseignements sur l'évolution de la vitesse dans la zone de polymérisation (loi en puissance) et dans la zone d'alignement (loi exponentielle décroissante). Nous nous proposons de développer ces questions dans un prochain travail.

References

- [1] POYART, C., BOHN, E., BURSAUX, E., et GUESNON, P., 1981, *Nouv. Rev. Fr. Hematol*, **23**, 17.
- [2] JURRIEN DEAN, M. D., and ALAN N., SCHECHTER, M. D., 1978, *New England J. Medicine.*, **299**, 752.
- [3] DEJARDIN, J-L., and OLATUNJI, L., 1985, *J. biophys. Biomécan.*, **9**, 75.
- [4] ROSS, P. D., HOFRICHTER, J., and EATON, W. A., 1975, *J. molec Biol.*, **96**, 239.
- [5] EATON, W. A., HOFRICHTER, J., and ROSS, P. D., 1976, *Biochem. biophys. Res. Commun.*, **69**, 538.
- [6] HOFRICHTER, J., ROSS, R. D. and EATON, W. A., 1974, *Proc. natn. Acad. Sci. U.S.A.*, **71**, 4864.
- [7] KOWALCZYKOWSKI, S., and STEINHARDT, J., 1977, *J. molec. Biol.*, **115**, 201.
- [8] FERRY, J. D., 1980, *Viscoelastic Properties of Polymers* (Wiley), Chap. 2.
- [9] FERRONE, F. A., HOFRICHTER, J., and EATON, W. A., 1980, *Biophys. J.*, **32**, 361.
- [10] FERRONE, F. A., HOFRICHTER, J., and EATON, W. A., 1985, *J. molec Biol.*, **183**, 611.
- [11] HOFRICHTER, J., 1986, *J. molec. Biol.*, **189**, 553.