

La chimie et la vie

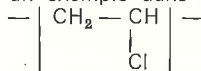
Le collagène, la matière plastique de la nature *

par R. C. G. Arridge
(Université de Bristol)

Le collagène est l'élément porteur de charges dans les tissus animaux, leur conférant la résistance structurelle dont ils ont besoin selon leurs fonctions corporelles. Le tendon d'Achille de l'homme, par exemple, est constitué par quelque 86 % de collagène, tandis que la peau, qui doit pouvoir se tendre, en contient relativement peu. Une image qui émerge d'études de ce polymère naturel peut nous aider à comprendre notre processus de vieillissement et quelques-unes des maladies qui affectent les tissus conjonctifs.

Bien que les matières plastiques comme le polyéthylène, le chlorure de polyvinyle ou le nylon soient des nouveaux venus dans le monde des matières, ayant eu leur origine, en général, depuis les années 1930, les structures chimiques que nous appelons les polymères ont existé depuis que la vie est apparue sur la Terre.

Les polymères sont des molécules géantes qui consistent en milliers ou en centaines de milliers d'unités répétitives (unités monomériques) accrochées les unes aux autres, généralement dans une dimension seulement, pour constituer une longue chaîne d'atomes. On en trouve un exemple dans le chlorure de polyvinyle, où l'unité est :



Ces chaînes, cependant, ne sont pas habituellement pleinement tendues, mais s'enroulent sur elles-mêmes ou, si les atomes liés à la chaîne principale sous la forme de groupes latéraux le permettent, peuvent se plier le long en large pour s'aligner parallèlement les unes aux autres en un cristal à chaînes repliées.

Les propriétés des polymères sont largement déterminées par la manière selon laquelle les chaînes peuvent tourner, s'enrouler ou se replier et par les formations de cristaux résultantes qui, avec la matière non cristallisée, constituent la masse. Si les chaînes sont très souples et si la cristallisation n'est pas possible, la matière est collante ou comparable à un gel. Si les chaînes sont alors entrecroisées et liées en des points sur leur longueur, il est formé un caoutchouc. Si elles sont toutes alignées et peuvent se cristalliser, on obtient une matière résistante et rigide comme le nylon ou le térylène.

Les polymères naturels

La structure des polymères et son rapport avec les propriétés physiques ont fait l'objet d'études approfondies depuis que ces matières sont entrées dans le domaine commercial et avec une vigueur croissante depuis la découverte des polymères synthétiques. Toutefois, bien avant que les chimistes aient réussi la synthèse des polymères ou aient même compris qu'ils étaient constitués par des molécules à longues chaînes, les polymères naturels étaient essentiels à la vie sur la Terre. Ils se divisent en plusieurs groupes, dont les plus importants sont les hydrates de carbone (cellulose, amidon, alginates, pectine et

* De *Spectrum* 131.

autres substances principalement végétales); les protéines (soie, corne, plumes, collagène dans les tissus animaux musculaires et conjonctifs); les polynucléotides ou acides nucléiques, étroitement associés aux protéines, et le groupe des polyisoprènes (le caoutchouc naturel et la gutta percha).

Le collagène est le constituant porteur de charges principal des tissus animaux et il joue un rôle analogue à celui de la cellulose dans les plantes. Sous un fort agrandissement, les tissus animaux ont l'apparence d'une masse de fibres connectées par des fibres plus fines d'une manière généralement désordonnée et complexe. Lorsque le collagène est soumis à l'hydrolyse, la matière fibreuse se convertit en gélatine, que l'on utilise dans les produits alimentaires, les émulsions photographiques et la colle. Lorsque du cuir est produit à partir de tissu, c'est par l'emploi d'agents de tannage qui provoquent la liaison entrecroisée des chaînes de protéines et le blocage des groupes hydrophylques comme les groupes aminiques ou carboxyliques. Le cuir non tanné est sujet à des attaques par les micro-organismes; les agents de tannage en améliorant la résistance à la chaleur et à l'eau.

Ce sont là des exemples des emplois du collagène dans les tissus morts. Sa fonction dans les tissus vivants est de conférer de la robustesse à la structure du tissu qui peut exiger différentes propriétés dans différentes parties du corps. A cette fin, les fibres de collagène se combinent à d'autres protéines non collagéniques comme l'élastine aussi bien qu'aux polysaccharides et à l'eau en des proportions variables. Dans la peau, qui a besoin d'être extensible, la proportion de collagène est faible, tandis que dans les tendons, ces parties de l'animal rigides virtuellement comparables à des tiges qui relient les muscles aux os, il y a le maximum de collagène. Dans le tendon d'Achille de l'homme, par exemple, il y a quelque 86 % de collagène.

Les tendons offrent donc au chercheur spécialisé dans les collagènes une source de matière presque dure et c'est pour cette raison qu'ils ont été étudiés de manière approfondie depuis un certain nombre d'années. Les tendons les plus communs que l'on utilise proviennent des queues de rats ou de kangourous et une hiérarchie d'ordre structurel est progressivement devenue apparente grâce aux travaux de nombreux laboratoires.

Vu à l'œil nu ou sous faible agrandissement ($\times 5$), le tendon est une fibre mince d'environ 0,5 mm de diamètre et de plusieurs centimètres de longueur. Avec un instrument de dissection, on peut l'effiler sans trop de difficultés en fibres secondaires plus fines ou fibrilles (Photo 1), ce qui indique une absence ou un faible pourcentage de liaisons entrecroisées dans le faisceau. Au-dessous de quelques millimètres de millimètre, les méthodes optiques deviennent inadéquates et le microscope électronique doit être utilisé. Ceci révèle une structure nouvelle. Non seulement trouve-t-on des fibres de plus en plus fines, mais encore il apparaît clairement une formation en bandes qui a une périodicité d'environ 64 nanomètres * (Photo 2). Nous atteignons alors la limite de l'observation par cette méthode et, à plus petite échelle, la structure est étudiée par les techniques de la diffraction aux rayons X. La radiocristallographie par diffraction à grand angle donne des informations sur les structures cristallines ou les réseaux ordonnés dans lesquels la séparation atomique est de l'ordre de 0,1 nm. Elle a été utilisée puissamment dans tous les domaines de

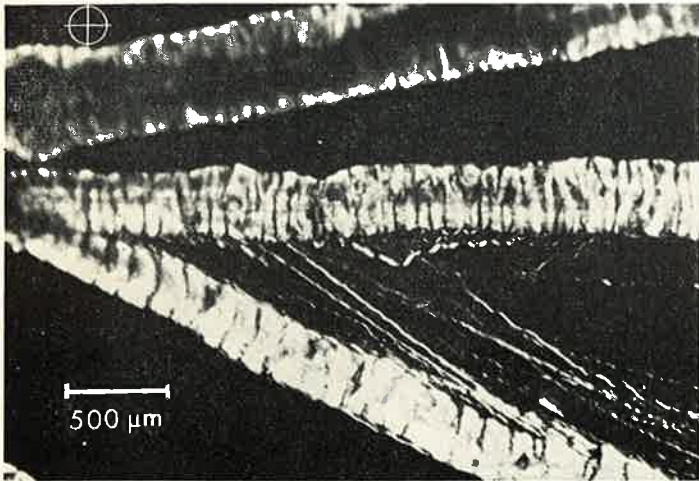


Photo 1.
Tendon de queue de rat divisé en fibrilles.

* 1 nm = 10^{-9} mètre.

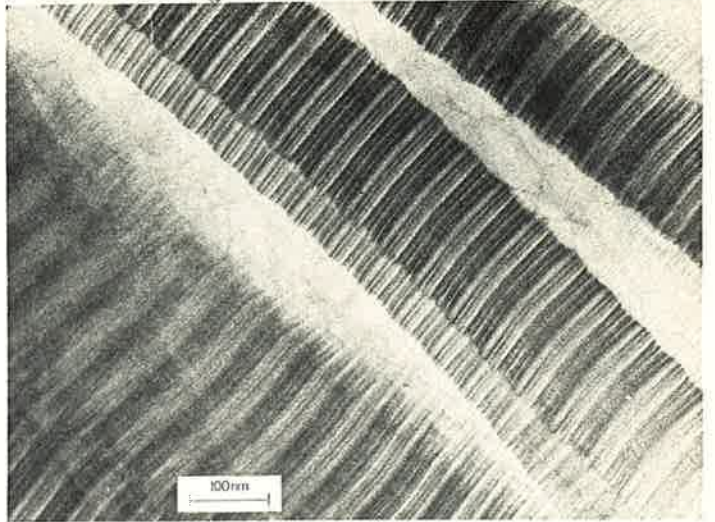


Photo 2.
Tendon de queue de rat sous le microscope électronique. La coloration révèle la formation en bandes de 64 nm.

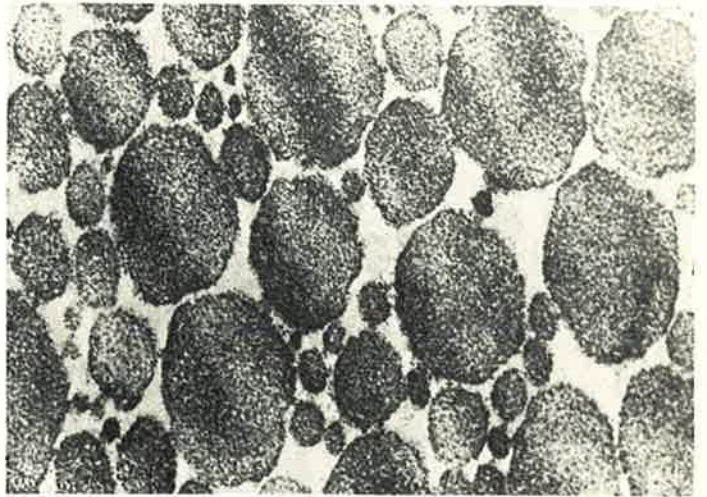


Photo 3.
Fibres de collagène en coupe transversale sous le microscope électronique.

la recherche sur les polymères et a révélé le bloc de construction fondamental du collagène. La radiocristallographie par diffraction à petit angle donne des informations sur les structures ordonnées qui sont plus grandes en termes d'ordres de grandeur, comme les distances de répétition de 64 nm mentionnées ci-dessus.

Les méthodes aux rayons X ont montré que la molécule de base du collagène, le tropocollagène, était composée de trois chaînes de polypeptides hélicoïdales en orientation à gauche entrelacées pour former une super-hélice en orientation à droite stabilisée par des ponts hydrogène entre les polypeptides. Cette molécule à triple hélice est de forme comparable à une tige, de quelque 280 nm de longueur et de 1,5 nm de diamètre (figure 1).

La formation en bandes à 64 nm observée au microscope électronique et que l'on peut déduire de la radiocristallographie par diffraction à petit angle est en corrélation avec la séquence des résidus aminocides sur la chaîne de collagène. Pour expliquer la présence de cette formation en bandes à une échelle plus grande que 1,5 nm, on pense que cinq molécules de tropocollagène se groupent en chicane autour d'un noyau creux pour former une tige, ou microfibrille, d'environ 3,5 nm de diamètre avec l'extrémité de chaque molécule à 64 nm de sa voisine. Des travaux récents effectués à Oxford par Miller et Parry suggèrent que ces tiges de 3,5 nm sont à leur tour groupées en un treillis tétraogonal qui préserve la période de 64 nm. Lorsque le collagène est chauffé dans l'eau pour former de la gélatine, la triple hélice se décompose en molécules individuelles enroulées de manière aléatoire. Ceci explique les propriétés physiques très différentes du collagène et de la gélatine.

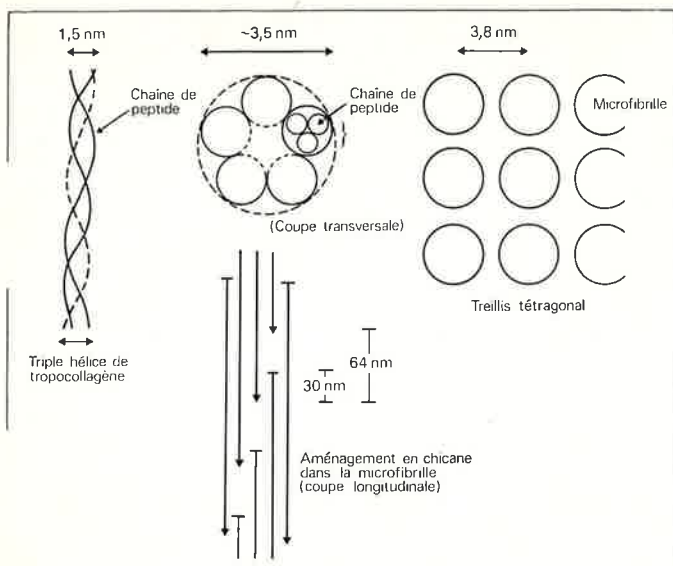


Figure 1.
La triple hélice du tropocollagène.

On ne sait pas encore clairement précisément comment les microfibrilles mentionnées ci-dessus se groupent en faisceaux de plus forte grandeur, mais on postule qu'elles sont retenues les unes aux autres par des mucopolysaccharides acides (hydrates de carbone) en une structure composée impliquant également la présence d'eau (figure 2).

C'est cette structure composée que l'on voit au microscope sous la forme d'une fibre si bien que nous pouvons considérer le tendon comme un composé multiple macromoléculaire de fibrilles de collagène dans une matrice quasi-gélatineuse de mucopolysaccharide acide et d'eau. La molécule de collagène est hydrophile à cause de la prédominance sur sa chaîne de résidus amino-acides hydroxylatés et acides de base. Dans les tissus, la quantité d'eau présente

Configuration des chaînes

La structure composée provient naturellement de la présence de polymères à chaînes longues. Lorsque les caractéristiques de robustesse et de rigidité sont nécessaires, les chaînes doivent être parallèles les unes aux autres en réseaux cristallins donnant des structures comme les structures hautement orientées des matières synthétiques comme le nylon ou des matières naturelles comme la soie ou le collagène. Lorsque des matières plus élastiques sont demandées, les chaînes de polymères se replient, s'enroulent ou se disposent de manière aléatoire pour donner une structure très souple comme celle du caoutchouc naturel. Le caoutchouc, en fait, peut se cristalliser quand les chaînes sont tendues au maximum et devient alors très rigide. Lorsque la charge est relâchée, les cristaux fondent et les chaînes reprennent leurs configurations aléatoires. Les cristaux de collagène ne fondent pas tant que l'on n'a pas atteint des températures élevées, bien au-dessus de la température normale du corps de 37°, si bien qu'une matière comme le tendon avec des cristaux hautement

Comportement sous l'effet d'une charge

On a depuis longtemps observé au microscope les structures ondulées dans les fibres de collagène du tendon de la queue de rat et d'autres sources et, dès 1948, on a obtenu des courbes de contraintes-efforts montrant la région en « bout de pied » comme sur la figure 3. Toutefois, on ne savait pas alors clairement si ce comportement était lié au décrêpage des ondulations ou au déroulement d'une hélice. En effet, les bandes à extinction périodique vues à la lumière polarisée peuvent exister même lorsqu'aucune ondulation générale du tendon n'est visible. Récemment, au cours de travaux effectués conjointement par l'Université de Case Western Reserve à Cleveland, aux États-Unis, et par l'Université de Bristol, en Angleterre, cette question a été résolue. Travaillant dans le cadre d'une équipe avec mes collègues Diamant, Keller, Baer et Litt, j'ai analysé les bandes à extinction par des rotations appropriées autour de l'axe du tendon et autour d'un axe perpendiculaire au tendon.

Ces études ont montré que la forme fondamentale dans le tendon était planaire plutôt que de type hélicoïdal, s'approchant étroitement d'une structure en zig-zag ou « crêpée » qui s'étire en déformation. Il a été également possible de montrer, d'après l'analyse d'un modèle crêpé, considéré comme possédant des « charnières » rigides, que

peut être de 60 à 65 %, tandis que, dans le tendon, elle est nettement moindre. Dans la structure composée du tendon, nous voyons que, comme dans le bois, la nature a devancé les matières produites par l'homme comme les matières composites renforcées par des fibres auxquelles nous avons consacré tant d'efforts de recherche et de développement.

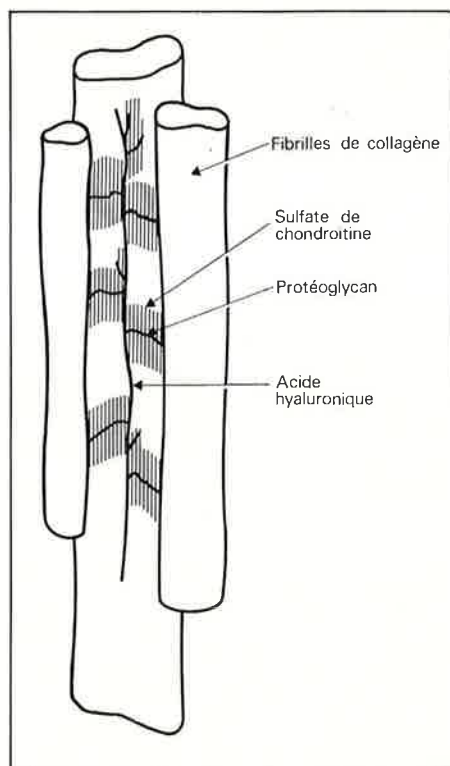


Figure 2.
Une structure postulée pour le composé de mucopolysaccharides acide collagénique.

alignés de collagène sera très rigide sous toutes les charges à moins que les cristaux soient petits ou clairsemés en une matrice souple. Dans le tendon, cependant, ceci ne semble pas être le cas et l'on pense qu'un mécanisme différent intervient.

Pour que le collagène joue son rôle physiologique, ses fibrilles sont crêpées avec des angles situés entre 10 et 20° de sorte que la première partie de tout effort de traction redresse le crêpage, tandis qu'un complément de traction étire les fibrilles elles-mêmes. De cette manière, le problème qui se poserait à un ingénieur pour construire les dispositifs de transfert des charges utilisés dans le corps, à savoir le problème des effets de la concentration des contraintes, est évité par l'emploi d'une matière à module variable, le tendon crêpé. Dans la peau et les autres tissus, où les fibres de collagène ne sont pas alignées comme elles le sont dans le tendon, l'orientation des fibres à l'extension est une autre cause de raidissement.

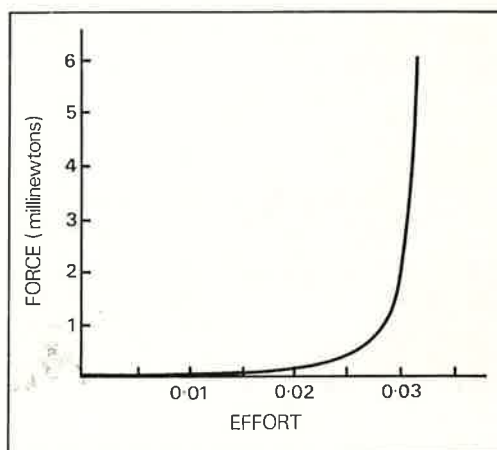


Figure 3.
Une courbe contraintes-efforts typique pour le tendon.

l'unité porteuse de charge avait de 100 à 500 nm de diamètre, les dimensions plus grandes étant associées aux matières plus vieilles. Les unités de ces diamètres sont en fait visibles au microscope électronique.

La forme d'onde plane n'est pas limitée au tendon de la queue de rat. Gathercole et Keller à l'Université de Bristol ont trouvé la même formation tant chez les vertébrés que chez les invertébrés, dans une grande variété de tissus collagèneux doux comme les ligaments, la peau, les adventices et les cordes des tendons. Toutefois,

Vieillesse et maladies

Diamant et ses collègues ont constaté que la dimension croissante des fibrilles avec l'âge expliquait la rigidité accrue des tendons provenant d'animaux plus vieux. Il y a donc un autre effet à considérer, à savoir la liaison entrecroisée entre les fibres de collagène. Des travaux effectués à ce sujet, à l'Institut de recherche sur la viande, à Langford, près de Bristol, par le Dr A. J. Bailey, ont montré que la teneur en liaisons entrecroisées augmentait avec l'âge. Des résidus spécifiques de lysine et d'hydroxylysine dans la région terminale non hélicoïdale de la molécule de collagène forment ces liaisons entrecroisées et un mauvais fonctionnement, génétique ou autre, peut conduire à une maladie reconnue des tissus conjonctifs.

On trouve un autre facteur dans le comportement des tissus conjonctifs sous l'influence d'une charge dans la nature de la substance de base, c'est-à-dire la matrice amorphe dans laquelle les fibres protéiniques de collagène et d'élastine sont encastrées. A l'U.M.I.S.T. et à l'Université de Manchester, Minns, Soden et Jackson ont étudié l'effet des enzymes ou agents de chélation et ont montré que se produisaient des changements dans les efforts, la rigidité, le repos et dans d'autres effets dépendant du temps, changements probablement explicables en termes de changements induits dans la viscosité effective de la matrice interfibrilles.

Un tournant dans la fixation de l'azote ? *

par Eleanor Lawrence

Avec la hausse du coût de l'énergie, il se pourrait que l'ère des engrais azotés artificiels, abondants et relativement peu onéreux, soit révolue, au moment même où l'on aurait désespérément besoin d'en produire davantage. La fixation de l'azote, c'est-à-dire la combinaison de l'azote moléculaire et de l'hydrogène pour former de l'ammoniac, est l'une des réactions biologiques naturelles les plus indispensables, que l'homme ne parvient à reproduire que d'une manière très grossière. La plupart des ingénieurs agronomes ont rêvé de pouvoir transférer la capacité de fixation biologique de l'azote, qui est l'apanage d'un groupe de bactéries limité mais néanmoins important, à de vastes cultures de denrées alimentaires.

La matière vivante renferme 8 à 10 % d'azote, contenus dans les protéines essentielles et les acides nucléiques. Mais bien que l'azote élémentaire abonde dans l'atmosphère, il est impossible aux plantes et aux animaux de l'utiliser sous cette forme. Avant de pouvoir être assimilé par les végétaux et entrer ainsi dans la chaîne alimentaire, il doit être transformé en ammoniac. Compte tenu du nombre réduit de bactéries du sol et d'algues bleues capables de le faire, la plupart des cultures ont besoin d'engrais azotés naturels ou artificiels.

Le groupe le plus important de bactéries fixatrices d'azote du point de vue des engrais est celui des rhizobiums, qui vivent en rapport symbiotique avec les racines de différentes légumineuses, telles que les

les structures collagèneuses reposant sur la rigidité à la compression pour leur fonction, par exemple, les os, les cartilages, l'humeur vitrée et le noyau pulpeux, ne présentaient pas l'effet crêpe. Il semble donc qu'il s'agit là d'un phénomène à grande échelle et qui permet indubitablement à la matière vivante d'absorber des chocs qui pourraient autrement provoquer des détériorations. Shah, à l'Université de Bristol a montré que la région de la courbe contraintes-efforts qui est susceptible de correspondre aux charges normalement rencontrées est celle qui est située au-dessous de la région du « bout de pied » et qui comprend juste cette région.

Les effets visco-élastiques impliqués dans la déformation des tissus conjonctifs ont été également étudiés à l'Université de Strathclyde où, dans le service d'engineering biomédical, Barbenel, Evans et Finlay se sont penchés sur le comportement mécanique de la peau, des cartilages et des tendons et l'ont analysé en utilisant des concepts dérivés du domaine des polymères comme, par exemple, un spectre des temps de repos.

Il n'est pas possible, bien entendu, dans un bref article comme celui-ci de présenter le compte-rendu complet de nos connaissances actuelles sur le collagène. Il n'est pas possible non plus de mentionner plus que quelques-unes des nombreuses études qui ont été effectuées sur le collagène dans tous les pays du monde au cours des 20 ou 30 dernières années. Toutefois, une image consistante semble apparaître et, grâce à cette compréhension, il nous devient possible d'acquiescer un peu plus de connaissances sur le vieillissement et sur certaines des maladies des tissus conjonctifs. Une part de cette compréhension est dérivée de la présence au Royaume-Uni d'équipes interdisciplinaires de spécialistes de la recherche soutenues par le Conseil de la recherche scientifique. J'appartiens à l'une de ces équipes au Laboratoire de physique H. H. Wills à Bristol, où les méthodes mises au point pour la science des matières et pour les polymères sont appliquées à l'étude des biopolymères.

importantes cultures de fourrage, trèfle, luzerne, ainsi que les cultures de rapport telles que le soja. Longtemps avant l'ère des engrais azotés artificiels, on faisait pousser assez fréquemment du trèfle pour réazoter la terre entre des cultures telles que le blé et le maïs qui appauvrissent le sol en azote. Le trèfle peut fixer jusqu'à 300 kg d'azote par an à l'hectare ce qui dépasse ses propres besoins.

Dans ce rapport symbiotique mutuellement bénéfique, la plante fournit les sources d'énergie sous la forme de produits de photosynthèse, tandis que les bactéries fournissent les composés azotés dont la plante a besoin pour former ses protéines et ses acides nucléiques.

Les organismes fixateurs d'azote, qu'ils soient symbiotiques ou à l'état libre, canalisent l'énergie métabolique par l'intermédiaire d'une enzyme complexe, la nitrogénase, qui utilise l'azote pour produire de l'ammoniac. La meilleure chose que puisse faire l'homme pour favoriser cette remarquable réaction est de faire réagir l'azote et l'hydrogène à haute température et sous une forte pression (300 °C et 200-1 000 atmosphères), alors que l'enzyme nitrogénase donne d'excellents résultats à l'état naturel. Il faut une grande quantité d'énergie pour maintenir les conditions de température et de pression élevées indispensables à la réaction artificielle, aussi serait-il intéressant pour tout le monde qu'il devienne possible de transférer la fixation de l'azote à d'autres plantes cultivables utiles, ce qui permettrait de réduire la consommation d'engrais artificiels.

A l'heure actuelle, les équipes de recherche britanniques attaquent ce problème sous

différents angles. Des botanistes, au nombre desquels se trouve une équipe de l'Université de Nottingham, appliquent des techniques nouvelles de culture de cellules végétales. On peut obtenir des cellules isolées aux points de croissance des racines et des pousses de certaines plantes et, dans certains cas, il a été possible de faire pousser des plantes saines à partir de ces cellules. Si l'on fait dissoudre délicatement la paroi cellulaire rigide qui entoure la matière vivante par des enzymes appropriées, ne laissant que le protoplaste isolé, on peut même faire fusionner des cellules d'espèces différentes pour produire de nouvelles combinaisons génétiques impossibles à obtenir par les moyens de culture classiques. Il est également possible de faire absorber aux protoplastes isolés des matières et des molécules, et notamment des bactéries complètes et de l'acide déoxyribonucléique (ADN), en provenance de l'extérieur.

On espère parvenir un jour à transférer les rhizobiums, ou tout au moins les gènes régissant la fixation de l'azote, à d'autres plantes par ce moyen. Il y a encore beaucoup à faire, car si les bactéries ou l'ADN peuvent facilement être absorbés, il y a eu peu de cas où ils aient continué à fonctionner, et même ces cas sont contestés. Mais les travaux se poursuivent dans cette direction passionnante.

Le Groupe Fixation de l'Azote du Conseil de la recherche agricole (Agricultural Research Council's Unit of Nitrogen Fixation), à l'Université du Sussex, a choisi une autre approche qui consiste à isoler le système de fixation de l'azote pour étudier son fonctionnement. De grands

* De *Spectrum* 131