

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP)

Discipline ou spécialité :

Dynamique des fluides

Présentée et soutenue par :

M. ADLAN MERLO

le mardi 13 novembre 2018

Titre :

Ecoulements de suspensions de globules rouges dans des réseaux de micro-canaux: hétérogénéités et effets de réseau

---

Ecole doctorale :

Mécanique, Energétique, Génie civil, Procédés (MEGeP)

Unité de recherche :

Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse (I.M.F.T.)

Directeur(s) de Thèse :

MME SYLVIE LORTHOIS

M. PAUL DURU

Rapporteurs :

M. GWENNOU COUPIER, CNRS SAINT MARTIN D'HERES

M. SIMON MENDEZ, CNRS

Membre(s) du jury :

Mme ANNE VIRGINIE SALSAC, CNRS, Président

M. DOMINIK OBRIST, UNIVERSITE DE BERNE, Membre

M. FREDERIC RISSO, CNRS TOULOUSE, Membre

Mme SYLVIE LORTHOIS, CNRS TOULOUSE, Membre

M. PAUL DURU, INP TOULOUSE, Membre

Résumé

Depuis les observations sous microscope par Jean-Marie Poiseuille au XVIIIe de réseaux microvasculaires de petits vertébrés, la microcirculation sanguine a fait l'objet d'abondantes études. Une spécificité mise en avant par le médecin français est la forte hétérogénéité de la distribution des globules rouges dans ces réseaux. En dépit du lien étroit qui lie la fraction volumique locale des globules rouges (hématocrite) à l'oxygénation des tissus environnants, le couplage entre l'architecture microvasculaire et la microhémodynamique est encore mal compris.

Le sang est un fluide complexe composé de globules rouges, cellules très déformables, suspendus dans du plasma. Dans les vaisseaux de petits diamètres, *i.e.* du même ordre de grandeur voire plus petits que la taille caractéristique d'un globule rouge ($\sim 10\,\mu$m), le sang possède des propriétés rhéologiques atypiques induites par la structuration locale de l'écoulement et les hétérogénéités d'hématocrite qui en résultent dans la section droite. Ces hétérogénéités se traduisent, aux bifurcations divergentes, par une répartition non proportionnelle des débits de globules rouges et de plasma entre les deux branches filles. L'hématocrite de l'une d'elles est alors plus élevé que celui de la branche d'entrée, alors qu'il est plus faible dans l'autre branche. Cet effet, connu sous le nom d'effet de séparation de phase, induit une très grande hétérogénéité de l'hématocrite à l'échelle du réseau.

L'objectif de cette thèse est d'étudier l'apparition de ces hétérogénéités, de l'échelle du vaisseau à l'échelle du réseau, dans des conditions expérimentales contrôlées et pour des régimes de confinement et d'hématocrite représentatifs des écoulement sanguins de la partie terminale du lit microvasculaire (artérioles, capillaires et veinules de diamètres inférieurs à $\sim 20\,\mu$m). De nombreuses données expérimentales ont été acquises *in vivo*, mais elles sont sujettes à de fortes incertitudes quant à la forme et aux dimensions de la section droite des vaisseaux, mais aussi soumises aux effets de régulations physiologiques des débits (*e.g.* par vasoconstriction ou vasodilatation). A notre connaissance, du fait des contraintes expérimentales inhérentes aux régimes de confinement et d'hématocrite des plus petits vaisseaux de la microcirculation, très peu d'études in vitro dans ces conditions ont été menées.

Tout d'abord, nous présentons les profils de vitesse des globules rouges et les profils d'hématocrite obtenus grâce à une nouvelle méthode de mesure de concentration développée pendant ce travail, dans des canaux uniques de taille comprise entre 5 et 20 microns, et dans une large gamme d'hématocrite. Nous proposons une paramétrisation générale semi-empirique de ces profils, qui prend en compte la présence d'une couche d'exclusion plasmatique, observée quelle que soit la taille du canal aux faibles hématocrites.

Ensuite, nous présentons une étude paramétrique de l'effet de séparation de phase. Nous montrons que les résultats obtenus sont indépendants, dans les régimes étudiés, de l'angle de la bifurcation et du débit de la branche

d'entrée. Ces résultats sont en général en bon accord avec un modèle simple qui s'appuie sur la paramétrisation précédente des profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges et suppose l'existence d'une ligne séparatrice de fluides dans la section droite de la branche mère. Ces résultats suggèrent que, malgré leur nature corpusculaire, les globules rouges peuvent être décrits par un fluide équivalent, y compris dans les conditions de très fort confinement.

Enfin, nous reportons pour la première fois des résultats quantitatifs liés à la distribution de l'hématocrite dans des réseaux modèles. Nous montrons notamment que l'asymétrie des profils d'hématocrite dans les branches amonts distribue les globules rouges en enrichissant le cœur du réseau au détriment des bords. Nous comparons nos résultats à ceux d'un modèle non-linéaire de type réseau classique proposant des corrections prenant en compte cette asymétrie.

Mots clés : microcirculation, microfluidique, effet de séparation de phase, effet d'histoire, réseau.

Abstract

Since the very first observations of microvascular networks in small animals by Jean-Marie Poiseuille in the XVIIIth century, the blood microcirculation has been extensively studied. One of the most striking feature highlighted by the French physicist is the highly heterogeneous distri- bution of the red blood cells throughout microvessel networks. Despite the intimate link between local red blood cell volume fraction (hematocrit) and surrounding tissue oxygenation, the coupling between microvascular architecture and micro-hemodynamics is still poorly understood.

Blood is a complex fluid, mainly composed of highly deformable red blood cells suspended in plasma. Thus in vessels with small diameter, *i.e.* of same order or smaller than the characteristic size of a single red blood cell ($\sim 10\,\mu$m), blood exhibits non-standard rheological properties induced by the structuration of the flow and the heterogeneous distribution of the hematocrit within the cross section. This heterogeneity triggers a non propotionnal distribution of red blood cell and plasma flow rates between the daughter branches of a diverging bifurcation. One of the daughter branch has a higher hematocrit than the feeding branch, while the other has a lower hematocrit. This effect, known as the phase separation effect, leads to hematocrit heterogeneities at network scale.

The goal of this thesis is to study the emergence of these heterogeneities, from the scale of a single vessel to the scale of a network, in controlled experimental conditions and regimes of confinement and hematocrit representative of blood flow in the terminal parts of the microvascular bed (arterioles, capillaries and venules with diameters below $20\,\mu$m). Many experimental data have been obtained *in vivo*, but these are subject not only to strong uncertainties regarding the shape and the dimensions of the vessel cross section, but also to physiological flow rate regulation (*e.g.* through vasoconstriction or vasolidation). To our knowledge, due to the highly challenging experimental constraints, only very few *in vitro* studies have been performed.

First, we present red blood cell velocity and hematocrit profiles, obtained thanks to a new measure of red blood cell concentration developped during this work in single channels of size ranging from 5 to 20 microns and for a broad range of hematocrit values. We derive a semi- empirical parameterization of these profiles that takes into account the presence of a cell-free layer observed at low hematocrit values, for the whole range of channel sizes studied.

We then present a parametric study of phase separation. Our results show that in the studied regimes, this effect depends neither on the bifurcation angle nor on the entry branch flow rate. These results are in general in good agreement with a simple model that assumes the existence of a fluid separating streamline in the entry branch cross section and relies on the above parameterization of the red blood cell velocity and hematocrit profiles.

In spite of its cellular nature, these results suggest that the red blood cells can be treated as an equivalent fluid even in very high confinement regimes.

Finally, we report for the first time quantitative results related to the hematocrit distribution in model networks. We notably show that asymmetry of the hematocrit profile in the upstream branches leads the red blood cells into the center of the network while its edges are depleted. Our results are compared with a classical non-linear network type model corrected to take this asymmetry into account.

Keywords : microcirculation, microfluidics, phase separation effect, history effect, network.

Table des matières

Table des matières **1**

1 Contexte général **1**

2 Micro-écoulements sanguins **6**
1. La circulation sanguine 6
1.1 Le sang 6
1.2 La macrocirculation sanguine 7
1.3 La microcirculation sanguine 8
1.3.1 Description 8
1.3.2 Hétérogénéités 9
2. Le globule rouge humain 11
2.1 Production 11
2.2 Déformabilité et élimination 11
2.3 Composition de la membrane érythrocytaire 13
2.3.1 La bicouche lipidique 13
2.3.2 Le cytosquelette 14
2.4 Interactions entre globules rouges : agrégation 14
2.5 Conclusion 14
3. Vitesse des globules rouges et hématocrite 16
3.1 Mesure du profil de vitesse des globules rouges 16
3.1.1 μ-Particule Image Velocimetry 17
3.1.2 Dual-slit 18
3.1.3 Mesure *in vivo* de profils de vitesse de globules rouges par microscopie bi-photonique 21
3.2 Hématocrite 22
3.2.1 Hématocrite de tube et densité optique . . . 22
3.2.2 Profil de densité optique et profil d'hématocrite 24
4. Écoulement de globules rouges dans un vaisseau 25
4.1 L'effet Fåhraeus 26
4.2 L'effet Fåhraeus-Lindqvist 29
5. L'effet de séparation de phase 33

6. Canaux de petites dimensions 37
6.1 Canaux droits uniques et bifurcations 37
6.2 Réseaux 39
7. Conclusion 41

3 Matériels et Méthodes **42**
1. Du design à la puce PDMS/verre 42
1.1 Design des bifurcations et réseaux 42
1.2 Fabrication des puces microfluidiques : obtention des moules par photolithographie douce 45
1.2.1 Fabrication des moules à épaisseur unique de résine 46
1.2.2 Fabrication des moules à deux épaisseurs de résine 46
1.3 Fabrication des puces microfluidiques : du moule silicium/SU8 à la puce PDMS/verre 48
2. Suspensions de globules rouges et écoulement 48
2.1 Fluide suspendant 49
2.2 Suspension de globules rouges 49
2.3 Mise en écoulement 50
2.4 Acquisition des séquences d'écoulements 50
3. Mesure du profil de vitesse des globules rouges 52
4. Mesure du profil d'hématocrite : $R \leqslant 1$ 53
4.1 Calibration DO vs $\bar{H}_t$ par utilisation des lames Leja : principe et difficultés 54
4.2 Protocole de la calibration dans les lames 10 et 20 microns 63
4.2.1 Mesure de I_0 63
4.2.2 Mesure de I 64
4.2.3 Courbe de calibration 64
4.3 Profils d'hématocrite dans les dispositifs microfluidiques : $R \leqslant 1$ 65
4.3.1 Canaux simples et bifurcations 65
4.3.2 Réseaux 72
5. Hématocrite : dispositifs microfluidiques R=2. 74
5.1 Canaux droits et bifurcations 74
5.2 Réseaux 75

4 Canaux droits **78**
1. Profil d'hématocrite 79
1.1 Description des profils d'hématocrite 79
1.2 Paramétrisation des profils d'hématocrite : $R \leqslant 1$ et $\delta > 0$ 82

1.3 Paramétrisation des profils d'hématocrite : R = 0.5 et $\delta = 0$ . . . 86
1.4 Paramétrisation des profils d'hématocrite : R = 2 . . . 88
1.5 Aplatissement des profils d'hématocrite . . . 92
2. Profil de vitesse des globules rouges . . . 97
3. Débits . . . 100
3.1 Expression des débits . . . 100
3.2 Validation : paramétrisation de l'effet Fåhraeus . . . 100
3.3 Inversion de l'effet Fåhraeus due au confinement géométrique . . . 102
4. Conclusion . . . 105

5 Bifurcations **107**
1. Séparation de phase : résultats expérimentaux . . . 107
1.1 Méthode d'obtention des données . . . 108
1.2 Bifurcations asymétriques . . . 111
1.2.1 Influence de l'angle entre les branches filles . 111
1.2.2 Influence du confinement . . . 111
1.2.3 Séparation de phase dans les bifurcations asymétriques : conclusion . . . 112
1.3 Bifurcations symétriques . . . 114
1.3.1 Influence de l'angle . . . 114
1.3.2 Influence du confinement . . . 114
1.3.3 Influence de la vitesse des globules rouges dans la branche mère . . . 116
1.3.4 Influence de l'hématocrite . . . 116
1.3.5 Séparation de phase dans les bifurcations symétriques : conclusion . . . 116
2. Modèle semi-empirique . . . 120
2.1 Formulation du modèle : approche continue et notion de ligne séparatrice de fluide . . . 120
2.2 Application du modèle semi-empirique de séparation de phase : le cas des bifurcations symétriques . . . 122
2.3 Application du modèle semi-empirique de séparation de phase : le cas des bifurcations asymétriques . . . 129
2.4 Application du modèle semi-empirique de séparation de phase à des données de la littérature . . . 130
2.4.1 Le modèle semi-empirique appliqué aux travaux de Shen *et al.* (2016) . . . 131
2.4.2 Le modèle semi-empirique appliqué aux travaux de Sherwood *et al.* (2014a) . . . 132
3. Conclusion . . . 137

6 Réseaux **140**
1. Modèle numérique . . . 141
2. Résultats expérimentaux et numériques : R=2 . . . 143
2.1 Comparaison des vitesses des globules rouges expérimentales et simulées . . . 143
2.2 Comparaison des hématocrites expérimentaux et simulés avec la loi de Pries . . . 144
2.3 Comparaison des hématocrites expérimentaux et simulés avec la loi de Pries modifiée . . . 145
3. Résultats expérimentaux et numériques : R=1 . . . 147
3.1 Vitesse des globules rouges . . . 147
3.1.1 Mesure de la vitesse des globules rouges par μ-PIV . . . 147
3.1.2 Comparaison des vitesses des globules rouges expérimentales et simulées . . . 150
3.2 Hématocrite : résultats expérimentaux et comparaison avec les simulations basées sur la loi de Pries . . . 150
3.2.1 Résultats expérimentaux . . . 150
3.2.2 Comparaison avec les simulations basées sur la loi de Pries . . . 152
3.3 Hématocrite : comparaison avec les simulations basée sur une loi de Pries corrigée . . . 155
3.3.1 Analyse de sensibilité . . . 155
3.3.2 Méthode de correction de la loi de Pries . . . 157
3.3.3 Influence de la correction sur les résultats numériques . . . 159
4. Relaxation des profils d'hématocrite . . . 164
5. Conclusion : importance de l'effet d'histoire... . . . 168
5.1 *...in vitro* . . . 168
5.2 *...in vivo* . . . 169

7 Conclusion **171**

A Protocole de fabrication d'un moule silicium **I**

B Compilation de résultats expérimentaux **II**

C Trifurcation **IV**

D Coefficients A, B et X_0 obtenus dans des réseaux **VII**

Chapitre 1

Contexte général

Les travaux de thèse que nous présentons dans ce manuscrit s'inscrivent dans le cadre du projet *BrainMicroFlow*, porté par Sylvie Lorthois, et financé par une bourse *Consolidator* de l'*European Research Council*. Le projet BrainMicroFlow porte sur les écoulements et les transferts dans la microcirculation sanguine du cerveau. Il associe des approches théoriques, numériques et expérimentales qui permettent d'étudier les liens entre architecture et transport, de l'échelle des plus petits vaisseaux sanguins, les vaisseaux capillaires, à l'échelle du cerveau entier. La compréhension fine de ces liens fait appel à des disciplines variées : de l'anatomie et de la physiologie aux mathématiques et à la physique en passant par l'imagerie. Elle permet de développer des modèles de complexité adaptée à l'échelle étudiée, afin de pouvoir atteindre l'échelle du cerveau entier, qui sera à terme l'échelle pertinente pour les problématiques cliniques. Parmi ces problématiques, le projet BrainMicroFlow s'intéresse plus particulièrement à la Maladie d'Alzheimer.

Décrite pour la première fois en 1906 par le médecin allemand Alois Alzheimer, cette maladie affecte principalement des patients de plus de 60 ans [1]. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), elle est la principale cause de démence dans les sociétés occidentales. Suite au vieillissement de la population, le nombre de personnes atteintes pourrait doubler d'ici 2030 (Duthey, 2013).

La personne atteinte par la maladie d'Alzheimer est, dans un premier temps sujette à des troubles de la mémoire à court terme, sans que la mémoire à long terme ne soit affectée. S'ensuivent alors, à mesure que la maladie évolue, des troubles de l'humeur et du langage. Au stade avancé, la maladie prive le patient de toute autonomie.

Pendant de nombreuses années, le diagnostic définitif de la maladie d'Alzheimer a reposé sur l'autopsie de patients atteints, entre autres, des symptômes évoqués. Ces études post-mortem ont montré la présence dans leur

1. Des cas précoces, chez des patients de moins de quarante ans, sont à signaler, mais ceux-ci demeurent rares.

cerveau d'une accumulation de molécules neurotoxiques caractéristiques de la maladie : les protéines dites "Tau" et les péptides amyloïde-β qui s'agrègent et s'accumulent en plaques dans le cerveau. Ces plaques neurotoxiques détruisent progressivement les neurones des zones en question et aggravent les symptômes éprouvés par le patient (Nelson *et al.*, 2012). Une stratégie de thérapie consiste donc à détruire ces plaques. Toutefois, cette stratégie s'est avérée inefficace, car postérieure à la destruction neuronale.

Aussi, la recherche de marqueurs spécifiques et précoces témoignant du déclenchement de la maladie est une piste potentielle probante, dont l'exploration est aujourd'hui active. Par exemple, une étude multifactorielle réalisée sur des données recueillies auprès de 1 171 patients a permis d'établir la dynamique de l'évolution des facteurs biologiques conduisant à une détérioration des performances cognitives et de l'état de santé du patient atteint de la maladie d'Alzheimer (Iturria-Medina *et al.*, 2016). Il a ainsi été mis en évidence que le facteur évoluant anormalement le plus rapidement, et le plus tôt, est lié à la vascularisation cérébrale (voir Figure 1). D'autre part, une diminution du débit sanguin cortical de près de 25% est observée chez des souris modèles de la maladie d'Alzheimer. Ces résultats pourraient être expliqués par une adhésion anormale de globules blancs à la paroi des vaisseaux capillaires cérébraux, siège des échanges gazeux entre le sang et les tissus, ce qui conduit à leur occlusion (Hernandez *et al.*, 2017).

Ainsi, parce que les stratégies thérapeutiques actuellement déployées dans le traitement de la maladie d'Alzheimer n'ont jamais prouvé leur efficacité chez l'Homme, la recherche de marqueurs antérieurs aux premiers symptômes semble être la condition *sine qua non* d'une meilleure prise en charge des patients, en vue d'une potentielle guérison. Une piste prometteuse est la recherche des causes des dérèglements des écoulements sanguins dans les réseaux micro-vasculaires cérébraux. Comprendre comment s'articule l'évolution de la réduction du débit sanguin cérébral avec celle des autres marqueurs connus à ce jour de la maladie passe nécessairement, dans un premier temps tout au moins, par une compréhension fine de la physique régissant le couplage entre les écoulements sanguins et l'architecture des réseaux micro-vasculaires.

A cette fin, il est nécessaire d'acquérir des données expérimentales directement dans ces vaisseaux *via* des études réalisées *in vivo* sur des animaux (*e.g* Desjardins *et* Duling, 1987 ; Pries *et al.*, 1989 ; Desjardins *et al.*, 2014) ou dans des systèmes modèles *in vitro*, mimant ou non une architecture physiologique (*e.g* Shevkoplyas *et al.*, 2003 ; Sherwood *et al.*, 2014 ; Clavica *et al.*, 2016 ; Roman *et al.*, 2016 ; Stauber *et al.*, 2017), et utilisant du sang animal ou humain.

Par ailleurs, les progrès récents en imagerie fournissent la résolution nécessaire pour résoudre l'architecture vasculaire, allant des arbres artérioveineux jusqu'à l'échelle capillaire (Nishimura *et al.*, 2006 ; Boas *et al.*, 2008 ; Tsai *et al.*, 2009 ; Hirsch *et al.*, 2012 ; Shih *et al.*, 2012). A terme, grâce à

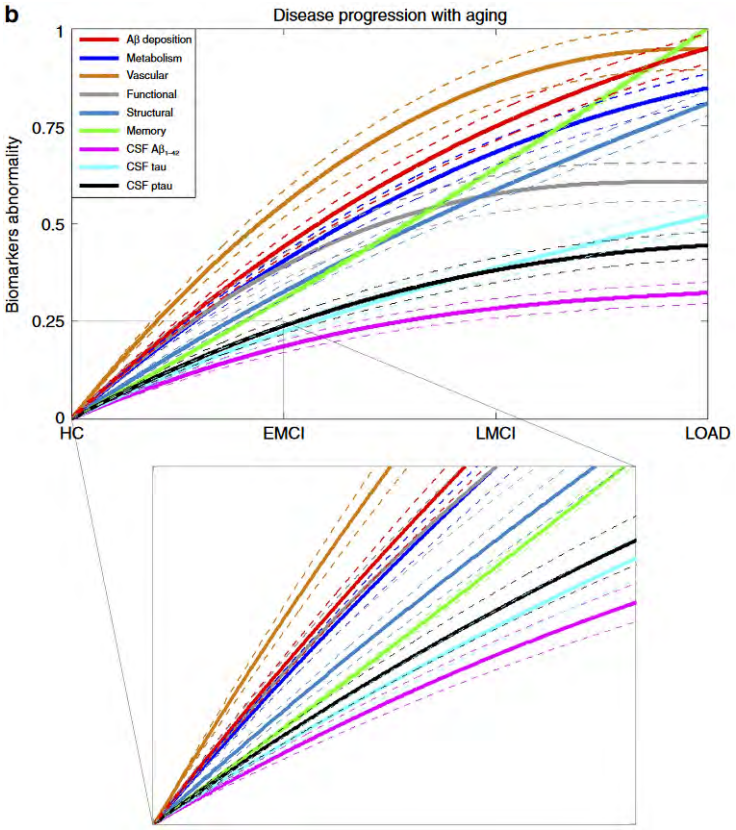

FIGURE 1.1 – Évolution temporelle de divers biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer. Parmi tous ceux connus, le premier à évoluer anormalement et le plus rapidement est la perfusion sanguine. HC : Healthy Control, EMCI : Early Mild Cognitive Impairment, LMCI : Late Mild Cognitive Impairment, LOAD : Late-Onset Alzheimer's Disease. D'après (Iturria-Medina *et al.*, 2016).

cette performance technique, en supposant que la physique qui régit les écoulements sanguins et celle des transferts de masse entre le sang et les tissus environnants soit maîtrisée, les dysfonctionnements d'organes liés à d'éventuelles perturbations circulatoires pourraient être adressés en couplant les données d'imageries à des simulations se basant sur la physique de ces deux phénomènes.

Les travaux que nous présentons dans ce manuscrit sont expérimentaux, réalisés dans des conditions *in vitro* et constituent une étape importante visant à une meilleure compréhension des facteurs micro-hémodynamiques liés au déclenchement de la maladie d'Alzheimer (Hernandez *et al.*, 2017). Ainsi, nous souhaitons acquérir des données dans des canaux dont les dimensions sont très proches de celles des vaisseaux capillaires, dans la continuité des travaux amorcés par Sophie Roman lors de sa thèse. Par ailleurs, nous nous appuierons sur des simulations que réalise Maxime Berg

dans le cadre de sa thèse pour interpréter nos résultats expérimentaux obtenus dans des réseaux bidimensionnels.

Le manuscrit s'organise comme suit :

Le premier chapitre sera consacré à la présentation du sang et ses constituants. Nous consacrerons une large partie de ce chapitre aux globules rouges, cellules aux propriétés mécaniques remarquables et principaux constituants de la phase solide du sang. Puis nous détaillerons les propriétés rhéologiques atypiques du sang, propriétés induites par les globules rouges.

Le deuxième chapitre sera consacré aux matériels et méthodes déployés dans notre étude des suspensions de globules rouges dans des géométries de complexité croissante. Dans ce chapitre, nous détaillons les étapes de fabrication de nos puces micro-fluidiques, de leur conception à leur fabrication. Ensuite, nous détaillons le protocole de préparation des suspensions de globules rouges. Enfin, nous présentons les techniques employées pour extraire des séquences d'écoulement acquises les profils de vitesse des globules rouges et de densité optique. Ces derniers sont convertis en profils d'hématocrite au moyen d'une calibration que nous avons effectuée dans un dispositif externe, les lames Leja.

Le troisième chapitre sera consacré à l'étude de la structuration de l'écoulement, à savoir forme des profils de vitesse des globules rouges et d'hématocrite, en régime établi dans des canaux droits uniques à section carrée. Nous proposons une forme générale de ces profils qui est fonction du confinement et de l'hématocrite de tube moyen dans le canal.

Le quatrième chapitre sera consacré à l'étude de séparation de phase dans des bifurcations symétriques et asymétriques. Nous présenterons les résultats de notre étude paramétrique de cet effet, et, en particulier, nous présentons des résultats obtenus dans des canaux dont le côté de la section est deux fois plus petite que le diamètre du globule rouge. Nous comparerons nos résultats à des modèles de séparation de phase existant dans la littérature, mais aussi à un modèle développé sur la base de considérations physiques liées aux écoulements de Stokes dans lesquels nous nous trouvons. Nous montrerons que la connaissance de 1) la structuration de l'écoulement dans la branche mère et 2) la forme des lignes séparatrices de fluide au sortir de cette dernière sont suffisantes pour capturer l'intensité du phénomène de séparation de phase dans de nombreux cas ; nous proposons une explication permettant de comprendre pourquoi certains cas sont adaptés à une description par ce modèle et d'autres non.

Le cinquième et dernier chapitre sera consacré à l'étude de la distribution

de l'hématocrite dans les canaux constituant un réseau 2D modèle. Nous montrerons en particulier que la relaxation du profil d'hématocrite dans les branches les plus amont du réseau influe grandement le motif de perfusion du réseau en question. Nous comparerons nos résultats expérimentaux avec les simulations 1D réalisées par Maxime Berg. Nous terminerons ce chapitre en présentant des résultats préliminaires concernant la dynamique de relaxation des profils d'hématocrite après une bifurcation.

Nous conclurons ce manuscrit en présentant les perspectives qu'offrent notre étude.

Chapitre 2

Introduction aux micro-écoulements sanguins

1. La circulation sanguine

1.1 Le sang

Le sang est un fluide complexe composé d'un liquide, le plasma, et de cellules en suspension, dites "éléments figurés" : érythrocytes (encore appelés hématies ou globules rouges), leucocytes (ou globules blancs) et thrombocytes (ou plaquettes). Parce que les globules rouges occupent 99.7% du volume formé par les cellules sanguines, ils jouent un rôle prépondérant dans les propriétés rhéologiques remarquables du sang. De plus, ces cellules sont responsables à la fois du transport, dans le système vasculaire, mais aussi des échanges, avec les tissus, du dioxygène et d'une partie du dioxyde de carbone. On appelle hématocrite la fraction volumique d'un échantillon de sang complet occupé par les globules rouges. Chez un individu sain cette grandeur est comprise entre 37 et 52% (on parle d'hématocrite systémique) (Abkarian *et* Viallat, 2015). Dans des conditions pathologiques, l'hématocrite systémique peut être plus élevé comme dans le cas, par exemple, de la polycythémie, ou plus faible comme dans l'anémie. Chez l'individu sain, le plasma est un fluide généralement considéré comme Newtonien dont la viscosité est d'environ 1.2cP. Il s'agit d'une solution aqueuse composée d'ions Na^+, K^+, Ca^{2+}, Cl^- (Pries *et al.*, 1989). En plus de ces ions, se trouvent des macromolécules telles que le fibrinogène, l'albumine et la globuline (Fåhraeus, 1929). Les valeurs de pH, conductivité ionique et osmolarité du plasma sont respectivement de 7.4, $1.3\,\mathrm{S.m^{-1}}$, et $290\,\mathrm{mOsm.kgH2O^{-1}}$ (Roman, 2012). La présence de ces ions et macromolécules contribuent à l'équilibre osmotique entre le plasma et les cellules sanguines. Les globules blancs et les plaquettes n'occupent que, respectivement, 1/600 et 1/800 du volume total des cellules sanguines (Pries *et al.*, 1989). Les globules blancs sont des cellules nucléées

qui jouent un rôle actif dans le système immunitaire. Notons que, bien que leur nombre soit négligeable par rapport à celui des hématies, les leucocytes, beaucoup plus gros que les premiers, peuvent adhérer à la paroi endothéliale et boucher des petits vaisseaux, modifiant de fait la répartition des globules rouges dans un réseau, ainsi que nous l'avons évoqué dans le Chapitre Contexte général avec le cas des souris "Alzheimer". Les plaquettes sont des fragments de cellules intervenant dans le processus de coagulation. En particulier : elles participent à la transformation du fibrinogène soluble en fibrine insoluble, cette dernière formant une "nasse" solide empêchant le sang de couler (Fåhraeus, 1929).

1.2 La macrocirculation sanguine

Dans le circuit fermé que représente la circulation sanguine (voir Figure 2.1), le muscle cardiaque joue le rôle central d'actuateur du mouvement du sang, lequel se fait dans des vaisseaux organisés en structures arborescentes, en réalisant des cycles réguliers de contractions et relâchements. Dans la circulation dite pulmonaire, des poumons, la partie gauche du cœur reçoit *via* la veine pulmonaire, un sang riche en dioxygène qu'elle expulse dans l'organisme, dans la circulation dite systémique. La partie droite du cœur reçoit puis expulse vers les poumons un sang pauvre en dioxygène et riche en dioxyde de carbone.

Au départ des intestins, le sang est riche en nutriments. Les déchets, tels que l'urée, issus de l'utilisation de ces nutriments par les organes sont acheminés jusqu'aux reins ou au foie. Enfin, l'hématocrite du sang circulant dans les vaisseaux de la macrocirculation est égal à l'hématocrite systémique, approximé à $\sim 45\%$. Ainsi, le rôle de la macrocirculation est d'assurer au moyen du réseau artériel le transport à la fois des solutés nécessaires au bon fonctionnement des organes, mais aussi des déchets que ceux-ci produisent, au moyen du réseau veineux (circulation systémique). Les diamètres des artères et des veines sont d'autant plus importants que ces vaisseaux sont proches du cœur. Les vitesses moyennes du sang associées à ces vaisseaux varient entre quelques dizaines de millimètres par seconde jusqu'à quelques centaines, et, là encore, diminuent à mesure que l'on s'éloigne du cœur. En conséquence, les valeurs prises par le nombre de Reynolds dans ces vaisseaux varient entre plusieurs dizaines et jusqu'à quelques milliers, aussi les écoulements s'y produisant sont caractérisés par une prépondérance des effets inertiels par rapport aux effets visqueux. De plus, la fréquence des battements cardiaques influe sur les écoulements sanguins à cette échelle. Le nombre de Womersley qui quantifie l'influence relative des effets pulsatiles par rapport aux effets visqueux est compris entre ~ 2 et ~ 12.

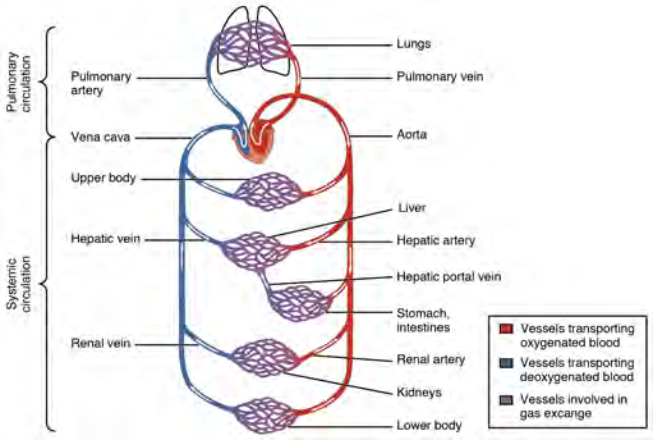

FIGURE 2.1 – Schéma du système circulatoire.
Source : http ://commons.wikimedia.org

1.3 La microcirculation sanguine

1.3.1 Description

Le prolongement aval du réseau artériel dans les organes s'appelle le réseau artériolaire, dont les vaisseaux ont un diamètre compris entre ~ 150 et ~ 10 microns. De la même manière, le prolongement amont du réseau veineux s'appelle réseau veinulaire avec des vaisseaux de diamètre compris entre ~ 10 et ~ 100 microns. Entre les deux, se structure un réseau tridimensionnel dense de vaisseaux dits *capillaires* dont les diamètres sont inférieurs à dix microns et de longueur proche de cinquante microns (Lorthois *et al.*, 2011). Les artérioles alimentent les réseaux capillaires, qui sont, en retour, drainés par les veinules. L'ensemble artérioles, capillaires, veinules constitue la microcirculation.

Du fait de leurs vitesses moyennes, variant de plusieurs dizaines à quelques millimètres par seconde pour les artérioles et de quelques millimètres par seconde à quelques fractions de millimètres par seconde pour les veinules et les capillaires, les écoulements dans la microcirculation sont caractérisés, à l'inverse de ceux dans la macrocirculation, par une domination des effets visqueux par rapport aux effets inertiels, soit un nombre de Reynolds compris entre quelques millièmes et quelques dixièmes. De la même manière, le nombre de Womersley est compris entre quelques millièmes et quelques centièmes, témoignant de la quasi-stationnarité des écoulements à cette échelle. Les diamètres des vaisseaux, ainsi que les nombres de Reynolds et de Womersley sont d'autant plus importants qu'ils sont éloignés du réseau capillaire. Alimenté par un sang riche en dioxygène et nutriments, le réseau capillaire renvoie dans les veinules un sang riche en dioxyde de carbone et déchets métaboliques. Ainsi les échanges de soluté

entre le sang et les organes ont lieu, principalement, dans le réseau formé par les capillaires sanguins.

Trois raisons font des réseaux capillaires un lieu idéal pour l'échange de soluté entre le sang et les tissus :

1. Les transferts de masse entre le sang et les tissus se font par diffusion à travers la paroi des vaisseaux impliqués. Cela est rendu possible par le fait que l'endothélium, constitué d'une mono-couche de cellules, est en contact avec une membrane basale suffisamment fine pour justement permettre la diffusion de ces solutés. De plus, leur structuration tridimensionnelle dense offre une importante surface d'échange avec le tissu environnant, permettant l'oxygénation de l'intégralité du volume de tissu contenant un réseau de capillaires (Lorthois *et al.*, 2011).
2. Leur diamètre est suffisamment petit pour que les globules rouges, afin d'y circuler, se déforment et exposent presque 80% de leur surface totale à la surface endothéliale.
3. Du fait du confinement géométrique, conséquence du deuxième point, les vitesses d'écoulement y sont les plus faibles de l'ensemble du système circulatoire, offrant ainsi aux globules un temps de résidence très long dans ces réseaux.

1.3.2 Hétérogénéités

Il est important de noter que l'hématocrite des vaisseaux des réseaux capillaires est inférieur à l'hématocrite systémique et présente de fortes hétérogénéités spatiales, d'un vaisseau à l'autre, et temporelles au sein d'un même vaisseau. Cette spécificité est connue depuis le XVIIIe siècle, lorsque Jean-Marie Poiseuille a pour la première fois reporté la répartition des globules rouges et du plasma dans le mésentère de la grenouille, ainsi qu'illustré sur la Figure 2.2. Du fait du rôle vital tenu par la microcirculation sanguine, depuis les observations de Poiseuille, l'origine physique de ces hétérogénéités de distribution de globules a fait l'objet de nombreux travaux (*e.g.* Desjardins *et* Duling, 1987 ; Pries *et al.*, 1986 ; Pries *et al.*, 1989 ; Pries *et al.*, 1997 ; Pries *et al.*, 2003 ; Desjardins *et al.*, 2014). Comme nous l'avons évoqué au travers du cas de la maladie d'Alzheimer, pouvoir expliquer les mécanismes conduisant à cette propriété est un enjeu crucial. Cependant, les données expérimentales *in vivo* relatives à la distribution des globules rouges dans des réseaux de vaisseaux capillaires sont rares. Les données *in vitro* sont plus rares encore, du fait des difficultés liées à la fabrication de systèmes microfluidiques opérationnels et de mise en œuvre des expérimentations à de telles dimensions.

Nous l'avons mentionné, les globules rouges sont transportés dans l'organisme en parcourant une gamme de nombre de Reynolds s'étendant

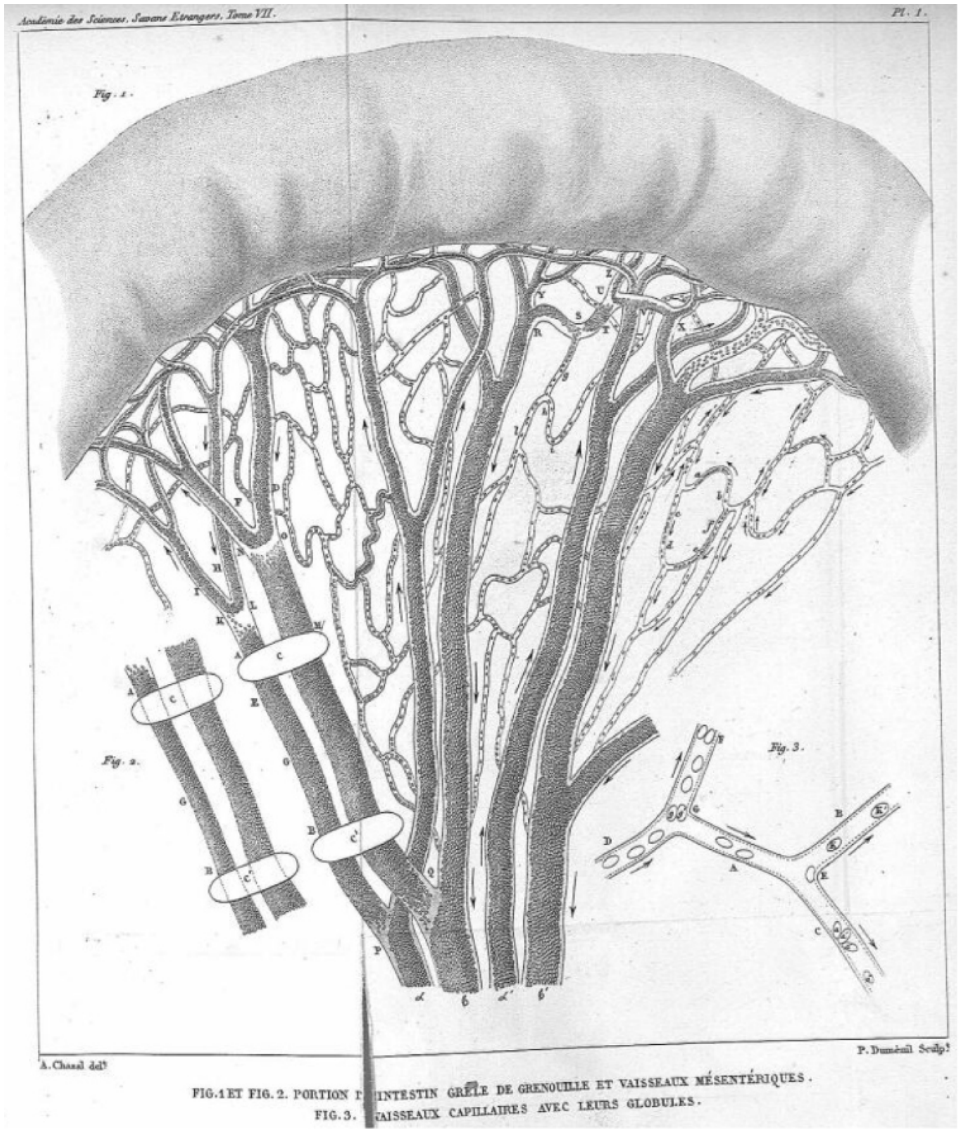

FIGURE 2.2 – Représentation de la micro-circulation du mésentère de la grenouille, par Poiseuille (1839). Noter les inhomogénéités de distribution des globules rouges, en particulier la différence de concentration entre les gros vaisseaux et les plus fins.

sur six ordres de grandeur. La diminution du nombre de Reynolds va de pair avec une augmentation du confinement, qui, à son maximum, nécessite une importante déformation de la cellule qui se réalise simultanément avec les échanges gazeux avec les tissus. Durant sa vie, un globule rouge voit ce cycle se répéter environ 170 000 fois !

La suite de ce chapitre est consacrée, dans un premier temps, spécifiquement au globule rouge, de sa production par la moelle osseuse à son élimi-

nation par la rate. Nous nous intéresserons ensuite aux constituants de sa membrane, desquels découlent sa déformabilité et sa remarquable résistance face aux contraintes mécaniques rencontrées dans l'ensemble du système vasculaire. Enfin, avant de voir les conséquences inhérentes aux propriétés mécaniques intrinsèques des globules rouges sur les propriétés rhéologiques atypiques qu'exhibe le sang, nous présenterons des méthodes utilisées *in vivo* et *in vitro* pour la mesure *in situ* de leur vitesse et de l'hématocrite.

2. Le globule rouge humain

2.1 Production

La "naissance" d'un globule rouge, appelée érythropoïèse, consiste en la succession de huit étapes sur une période d'environ cinq jours (Binet, 2011) jusqu'à l'apparition dans le système circulatoire d'une nouvelle cellule apte à assurer sa fonction vitale (Bessis, 1958). Ces étapes se déroulent pour la plupart dans la moelle osseuse. Le stade premier est une cellule souche. Celle-ci se différencie en une cellule quasiment sphérique d'une trentaine de micromètres de diamètre appelée proérythroblaste. Cette cellule possède un noyau et le liquide cytoplasmique est riche en acide ribonucléique (ARN). A ce stade, il n'y a pas encore de trace d'hémoglobine. Cette dernière commence à être synthétisée lorsque le proérythroblaste devient érythroblaste. L'évolution de ce dernier se subdivise en cinq étapes. Au cours de celles-ci, le diamètre de la cellule diminue jusqu'à une dizaine de microns. La concentration en hémoglobine du liquide cytoplasmique, quant à elle, se met à croître. Ensuite, l'érythroblaste expulse son noyau pour devenir un réticulocyte. Ce dernier acquiert en peu de temps la forme biconcave typique des globules rouges au repos, illustrée sur la Figure 2.3. De la moelle osseuse, après l'élimination des derniers organites qui peuvent se retrouver à l'état de traces dans le liquide cytoplasmique final, il migre vers le système circulatoire, où, après deux à trois jours de maturation, il devient érythrocyte (Abkarian *et* Viallat, 2015). Le fluide encapsulé dans un érythrocyte est une solution d'hémoglobine, dont la concentration vaut environ 33 g/dl. Parmi les cellules sanguines du système circulatoire, seules les érythrocytes (et réticulocytes) encapsulent de l'hémoglobine. Or, cette molécule possède une forte affinité pour l'oxygène, d'où l'important rôle physiologique tenu exclusivement par les globules rouges. Deux millions de réticulocytes sont ainsi produits chaque seconde dans le corps humain.

2.2 Déformabilité et élimination

Avant d'aller plus avant dans la description des globules rouges, il convient d'apporter une précision sur ce que nous entendons par l'emploi du terme "déformabilité". Nous allons le voir dans la suite, à mesure qu'un

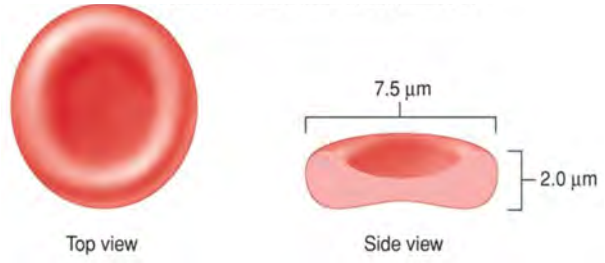

FIGURE 2.3 – Schéma d'un globule rouge humain au repos et tailles caractéristiques associées. Copyright : The McGraw-Hill Companies, Inc.

globule vieillit, il est de moins en moins capable de circuler dans les plus petits capillaires du corps humain. La déformabilité, au sens où nous l'entendons dans ce travail, est une mesure de la capacité d'un érythrocyte à circuler jusque dans ce type de vaisseaux. Ainsi, le plus petit diamètre de capillaire dans lequel un globule peut circuler est d'environ $3\,\mu$m (Secomb *et al.*, 1986). Un globule est donc à son maximum de déformabilité s'il peut circuler dans un tel capillaire.

Chez l'Homme, dans des conditions physiologiques normales, les érythrocytes ont un diamètre, D_{GR} compris entre 6.8 et $7.5\,\mu$m et une épaisseur d'environ $2\,\mu$m. Ils possèdent un volume, $\mathcal{V}_{GR}$, avoisinant $92\,\mu m^3$ pour une surface, S_{GR} de $140\ \mu m^2$ (Mohandas *et* Gallagher, 2008 ; Memmolo *et al.*, 2014). Considérons la quantité $\nu = \dfrac{\mathcal{V}_{GR}}{\frac{4\pi}{3}(\frac{S_{GR}}{4\pi})^{\frac{3}{2}}}$ (Coupier, 2017) qui représente le volume réduit du globule rouge et vaudrait 1 si le globule était une sphère. Pour un globule rouge, nous avons $\nu = 0.59$. Ainsi, le globule est dégonflé. Ce dégonflement est la conséquence de l'expulsion du noyau par le réticulocyte, et joue un rôle essentiel dans la déformabilité du globule rouge.

En vieillissant, celui-ci voit son volume et sa surface diminuer. De même, son contenu cytoplasmique diminue de 20%. Il est intéressant de noter qu'en même temps que le volume de la solution d'hémoglobine diminue, celle-ci passe d'une concentration moyenne d'environ $33\,g/dl$ à environ $37.6\,g/dl$. En fin de vie, le volume réduit du globule rouge est $\nu = 0.64$ (Abkarian *et* Viallat, 2015). Cette augmentation de ν va de pair avec une moindre déformabilité, ce qui, d'après notre définition, altère sa capacité à circuler dans les plus petits capillaires et par conséquent sa capacité à assurer sa fonction vitale. La durée de vie d'un érythrocyte est en moyenne de 120 jours. Lorsqu'est atteint cette durée, il est éliminé dans la pulpe rouge de la rate (Viallat, 2017).

Bien que, sur l'ensemble de sa vie, le globule rouge perde en déformabi-

lité, cette dernière, sur des périodes de plusieurs milliers de cycles cardiaques, demeure inchangée. Cette remarquable stabilité trouve son origine dans la structure moléculaire de sa membrane, à laquelle nous nous intéressons dans le paragraphe suivant.

2.3 Composition de la membrane érythrocytaire

Cette membrane est composée de trois couches (Yazdanbakhsh *et al.*, 2000) dont la composition est riche et complexe. Par exemple, sont répertoriées plus de 300 protéines dans la membrane globulaire (Mohandas *et* Gallagher, 2008). Ses composantes et leurs principales caractéristiques sont, de l'extérieur vers le cytosol : le glycocalyx (représenté par les chaînes saccharidiques sur la Figure 2.4), riche en glycoprotéines et glycolipides, vient ensuite une bicouche lipidique. Enfin, ancrée à la bicouche lipidique par différentes protéines, la dernière couche consiste en un réseau de protéines, jouant le rôle de squelette membranaire du globule rouge. Voir Figure 2.4. Nous décrivons succinctement dans la suite la composition et le rôle de la

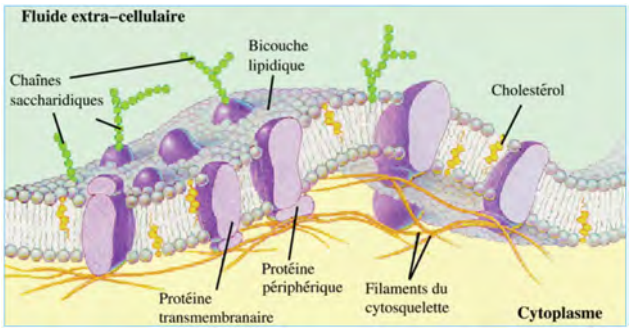

FIGURE 2.4 – Composition de la membrane érythrocytaire.
D'après http ://bertrand.fourcade.free.fr/cours4.pdf

bicouche lipidique et du squelette membranaire.

2.3.1 La bicouche lipidique

Celle-ci se compose principalement de cholestérol et phospholipides en proportions massiques de 1 pour 1. Cette bicouche comporte aussi des protéines dédiées au transport de solutés (gaz et ions) entre le globule et son environnement, et des protéines rentrant en jeu dans l'interaction du globule avec les autres cellules sanguines et les cellules des parois endothéliales. Cet ensemble de protéines peut être appréhendé comme un fluide incompressible bi-dimensionnel, dont les déformations se font à surface constante. La bicouche lipidique est reliée au cytosquellette par des ankyrines, glycophorines et aquaporines (Abkarian *et* Viallat, 2015).

2.3.2 Le cytosquelette

Il consiste en un maillage principalement composé d'actines. Il est le garant des propriétés mécaniques et de l'intégrité de la membrane du globule rouge. A cette fin, deux molécules jouent un rôle crucial. Premièrement, l'ankyrine, en plus de servir de lien entre la bicouche lipidique et le cytosquelette, confère à ce dernier la flexibilité nécessaire pour circuler dans les plus petits capillaires. Deuxièmement, l'intégrité de l'ensemble de la membrane est assurée par la protéine 4.1. En l'absence de cette dernière, la forme discoïde du globule au repos n'est plus assurée, et les globules rouges peuvent alors devenir des globules de type ellipsoïde ou sphéroïde (Abkarian *et* Viallat, 2015).

2.4 Interactions entre globules rouges : agrégation

En plus de son interaction avec les plaquettes, le fibrinogène déclenche le phénomène d'agrégation érythrocytaire. Ce phénomène voit les globules rouges s'organiser en structures tridimensionnelles appelées rouleaux (voir Figure 2.5). Ce phénomène est particulièrement présent chez des patients atteints de pneumonie (voir Figure 2.5 droite). De même, une femme enceinte voit son niveau d'agrégation accru (Fåhraeus, 1929). Enfin, ce phénomène se retrouve chez des espèces animales athlétiques, telles que le cheval. Il n'y a aujourd'hui pas de consensus quant à un éventuel effet délétère ou non lié à l'agrégation. De même, son mécanisme n'est pas clairement expliqué. Deux hypothèses sont avancées pour expliquer son origine, toutes deux articulées autour du fibrinogène (Wagner *et al.*, 2013). La première suggère une adsorption de molécules de fibrinogène sur la surface du globule rouge, qui créerait un phénomène de pontage entre deux globules suffisamment proches. La deuxième suggère qu'une déplétion de cette molécule entre deux globules rouges suffisamment proches serait à l'origine de l'apparition de forces liées aux gradients de concentrations de fibrinogène de plus en plus intenses à mesure que les deux globules se rapprochent. L'agrégation est réversible. Par exemple, lorsque les contraintes de cisaillement sont suffisamment fortes, ces derniers se disloquent.

2.5 Conclusion

Parce que la fraction volumique des globules rouges domine largement celle des autres cellules sanguines, le sang peut être considéré, dans de nombreux cas, comme une suspension composée uniquement de globules rouges. Comprendre comment lier les propriétés mécaniques de leur membrane aux hétérogénéités spatio-temporelles observées *in vivo* dans les réseaux microvasculaires représente l'enjeu de travaux scientifiques ayant débuté il y a près de deux cents ans. Cette question a attiré de nombreux physiciens du fait de la richesse de la dynamique à l'échelle d'une cellule unique qui exhibe des

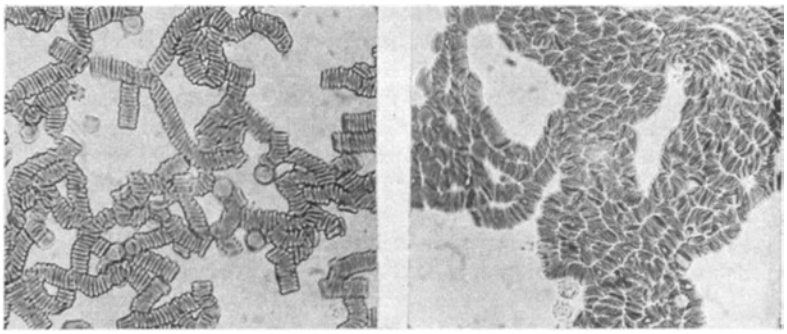

FIGURE 2.5 – Comparaison entre agrégation érythrocytaire chez un individu sain (à gauche), et un individu atteint de pneumonie (à droite). D'après Fåhraeus (1929).

comportements tels que le *tank-treading* (Fischer *et al.*, 1978), qui consiste en une rotation de la membrane du globule, à angle entre la direction de l'écoulement et le grand axe du globule constant, ou le *tumbling* (Vitkova *et al.*, 2009), qui lui, consiste en un mouvement solide de rotation du globule, donc à angle entre la direction de l'écoulement et le grand axe du globule variant dans le temps. En plus de ces comportements dynamiques, il existe toute une zoologie de formes variées de globules rouges liées à l'intensité du cisaillement (Lanotte *et al.*, 2016). Nous n'aborderons pas ces aspects à proprement parler dans ce travail. Nous nous concentrerons sur la rhéologie particulière qu'exhibent les écoulement sanguins justement du fait de la déformabilité des globules rouges.

Une autre facette de l'attrait relatif à la question des écoulements sanguins se nourrit aussi de la mise en parallèle de la physique d'une cellule en suspension *a priori* très "simple", qui peut être modélisée comme une membrane encapsulant un fluide (Fung, 2013 ; Longeville *et* Stingaciu, 2017), avec des enjeux sociétaux importants, inhérents à leur rôle crucial dans le maintien des fonctions vitales, tels que celui que nous avons abordé dans le cas de la maladie d'Alzheimer.

La compréhension de la phénoménologie riche qu'exhibent les écoulements sanguins dans les réseaux de capillaires, que nous détaillerons plus loin, s'appuie sur des mesures telles celles de l'hématocrite et la vitesse/débit de sang de globules rouges obtenues *in situ*, qu'il s'agisse du cas *in vitro* ou *in vivo*. Aussi, nous présentons quelques exemples de métrologies développées dans ce sens dans la prochaine section.

3. Mesure des profils de vitesse des globules rouges et d'hématocrite

Comme nous l'avons évoqué dans le chapitre précédent, une des approches pour la compréhension du couplage entre l'architecture microvasculaire et la micro-hémodynamique, est d'acquérir des données en réalisant des expérimentations directement dans ces vaisseaux *via* des études réalisées *in vivo* sur des animaux (*e.g.* Desjardins *et* Duling, 1987 ; Pries *et al.*, 1989 ; Desjardins *et al.* 2014) ou dans des systèmes modèles *in vitro*, mimant ou non une architecture physiologique (*e.g.* Shevkoplyas *et al.*, 2003 ; Sherwood *et al.*, 2014 ; Clavica *et al.*, 2016 ; Roman *et al.*, 2016, Stauber *et al.*, 2017), en utilisant du sang animal ou humain.
Les résultats typiques issus de ce genre d'expérimentations sont variés, ils peuvent être liés :

— à l'effet qu'aurait une altération des mécaniques des globules rouges sur la rhéologie (Kaul *et al.*, 1996 ; Shevkoplyas *et al.*, 2006),

— à l'effet de l'agrégation sur la rhéologie (Sherwood *et al.*, 2016),

— aux profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges, et les éventuelles dynamiques de relaxation auxquels ils peuvent être associés (Carr, 1989 ; Ong *et* Kim, 2013).

Dans cette partie, nous présenterons, dans un premier temps, quelques métrologies développées dans le but d'acquérir des données relatives aux profils de vitesse des globules rouges, puis, dans un deuxième temps, des métrologies développées dans l'objectif d'obtenir des données relatives aux profils d'hématocrite. Dans la suite du manuscrit, nous nous concentrerons alors exclusivement sur ces deux quantités.

3.1 Mesure du profil de vitesse des globules rouges

Nous présentons dans cette section quelques méthodes de mesure de profil de vitesse des globules rouges. Il est remarquable que, à notre connaissance, seule la *dual-slit*, dont nous détaillons le principe dans cette partie, puisse s'appliquer des régimes dilués aux régime concentrés et à des dimensions caractéristiques des vaisseaux capillaires jusqu'à celles des artérioles et veinules. Toutefois, cette méthode n'est efficiente qu'en régime établi. Une autre méthode bien connue, la *Particule Image Velocimetry* (PIV), adaptée aux conditions d'écoulement de la micro-circulation, permet l'extraction de profils de vitesse issus du suivi de particules dans des régimes transitoires, mais dans des conditions d'écoulement où la concentration en globules rouges est faible (de l'ordre de 20%). Ces deux méthodes ont été appliquées aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*.

Un facteur limitant l'emploi de ces deux méthodes *in vivo* est l'épaisseur de l'échantillon à étudier. En effet, au-delà d'une épaisseur de tissu supé-

rieure à quelques centaines de microns, le rapport signal-sur-bruit ne permet plus d'extraire d'information au moyen ni de la *dual-slit* ni de la PIV. Aussi, nous présentons également une technique exploitant les propriétés de la microscopie bi-photonique, qui n'a pour le moment été appliquée qu'*in vivo*, permettant l'acquisition de données relatives aux profils de vitesses des globules rouges pour des échantillons biologiques "épais". La microscopie bi-photonique (et multi-photonique en général) représente une avancée majeure dans l'étude de la micro-circulation cérébrale et représente la clé de voûte de nombreuses expérimentations *in vivo* récentes (Shih *et al.*, 2015 ; Erdener *et al.*, 2017 ; Ouzonov *et al.*, 2017 ; Bollu *et al.*, 2018).

3.1.1 μ-Particule Image Velocimetry

Le principe de la micro-PIV (μ-PIV) est d'acquérir des paires d'images espacées par un intervalle de temps connu Δt. On sélectionne alors sur ces images des zones d'interrogation et est alors déterminé le déplacement Δl correspondant au maximum de corrélation spatiale entre les paires d'images. La vitesse mesurée par cette méthode est donnée par : $\frac{\Delta \mathrm{l}}{\Delta \mathrm{t}}$. La μ-PIV permet la mesure simultanée de la norme et de la direction de vecteurs vitesses instantanés d'un grand nombre de particules. Contrairement à la PIV classique, qui est mise en œuvre au moyen d'une feuille de lumière d'épaisseur négligeable qui illumine un échantillon ensemencé par des billes de très petit diamètre (par rapport aux dimensions caractéristique du volume dans lequel l'écoulement est étudié), la mesure de la vitesse par μ-PIV prend en compte l'influence des traceurs distribuées dans la profondeur du canal. Dit autrement, le canal est illuminé sur une épaisseur qui ne peut être considérée comme négligeable.

Considérons un dispositif micro-fluidique, observé sous microscope, ensemencé par des particules émettrices. Olsen *et* Adrian (2000) montrent que, en supposant que les particules émettrices (par exemple des microbilles fluorescentes) ont toutes la même taille, qu'elles émettent la lumière de manière isotrope et avec une distribution gaussienne de l'intensité, et que l'intégralité de la zone à imager est illuminée avec la même intensité, alors les particules situées dans une tranche d'épaisseur $\mathrm{z_{corr}}$ autour de la zone de focus, participent au signal μ-PIV. L'épaisseur totale de la tranche, est appelée profondeur de corrélation (PDC) et vaut $2\mathrm{z_{corr}}$. Les auteurs montrent, que :

$$\mathrm{PDC} = 2\sqrt{\frac{1-\sqrt{\epsilon}}{\sqrt{\epsilon}} 4\mathrm{NA}^2 \mathrm{d_p^2} + \frac{5.95(\mathrm{M}+1)^2(2\mathrm{NA})^4\lambda^2}{\mathrm{M}^2}} \tag{2.1}$$

où $\epsilon \approx 0,01$, NA est l'ouverture numérique de l'objectif, $\mathrm{d_p}$ le diamètre de la particule, M le grossissement et λ est la longueur d'onde de la lumière émise par la particule. Poelma *et al.* (2012) ont montré, *in vivo*, qu'il était

possible de s'affranchir de l'ajout de traceurs exogènes et de se servir des globules directement comme traceurs, en tenant compte de la profondeur de corrélation. Dans leur étude, ils montrent que la vitesse mesurée par μ-PIV est la moyenne de la vitesse dans une tranche de canal d'épaisseur PDC, pourvu que les gradients de vitesse soient suffisamment faibles. Dans notre étude, nous avons employé la μ-PIV dans des canaux de section carrée, de dix microns de côté (voir Chapitre 6). Dans la section suivante, dédiée à la *dual-slit*, nous mettons en avant le fait que, pour de telles sections, les profils de vitesse des globules rouges sont plats. De plus, comme l'ont fait Poelma *et al.* (2012), nous déterminons PDC avec nos optiques, et obtenons PDC $\approx 27\,\mu$m. Nos conditions d'écoulements dans nos réseaux sont donc adaptées à l'emploi de la μ-PIV, et les profils de vitesse obtenus sont donc ceux des globules rouges, moyennés dans la profondeur.

Sugii *et al.* (2005) mesurent simultanément *in vitro* la vitesse du plasma et des globules rouges au moyen de la micro-PIV dans un tube à section circulaire de 100 μm de diamètre. Aux globules rouges d'une suspension dont la concentration dans le réservoir externe est de 21%, rendus fluorescents au moyen d'un colorant n'altérant pas leurs propriétés mécaniques, sont ajoutées des particules fluorescentes de 1 μm de diamètre, dont la longueur d'onde d'émission est différente de celle choisie pour le colorant des globules rouges. Le fluide suspendant est une solution saline. Leurs résultats sont les suivants :

1. le profil de vitesse des particules fluorescentes est très bien décrit par le profil de Poiseuille attendu pour un fluide Newtonien,
2. le profil de vitesse des globules rouges est lui aussi très bien décrit par le profil de Poiseuille.

Bien que l'hématocrite de tube ne soit pas mesuré directement dans le tube, ces résultats montrent que, lorsque la concentration en globules rouges d'une suspension n'excède pas $\sim 21\%$ [1], ceux-ci n'influent que peu sur le profil de vitesse du fluide suspendant, ainsi que nous le présentons sur la Figure 2.6, extraite de leur étude.
Nous présentons ci-après une méthode pour laquelle ni la concentration ni le confinement ne sont des facteurs intrinsèquement limitant et qui de plus ne nécessite pas l'ajout de traceurs autres que les globules eux-mêmes.

3.1.2 Dual-slit

Développée par Wayland *et* Johnson (1967), le principe de la *dual-slit* (DS) est le suivant : deux *slits*, qui peuvent consister en des photodiodes ou en des *Regions Of Interest* sélectionnées sur les images acquises, placées le long de l'axe d'un tube ou d'un micro-vaisseau espacées par une certaine

1. Cette valeur correspond à l'hématocrite dans le réservoir qui contient la suspension de globule rouge qui alimente leur tube.

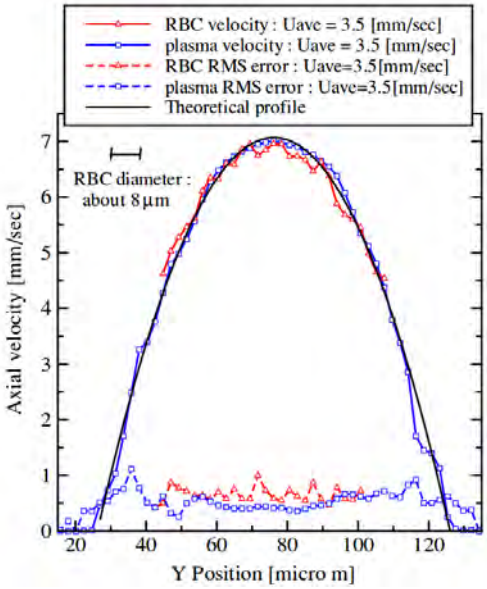

FIGURE 2.6 – Profil de vitesse des globules rouges (rouge) et du plasma (bleu). D'après Sugii *et al.* (2005).

distance L_S, enregistrent les modulations temporelles du signal lumineux induites par le passage des globules rouges à leur niveau. La vitesse mesurée par *dual-slit*, V_{DS} est donnée par $V_{DS} = \frac{L_S}{T}$, où T est l'écart temporel correspondant au maximum d'inter-corrélation des signaux mesurés au niveau de chaque *slit*. Il a été montré que l'interprétation physique des résultats obtenus par *dual-slit* dans des capillaires est évidente puisque dans ce cas, le confinement est tel que les globules circulent selon une seule file, ayant de fait une vitesse constante dans la section (Wayland *et* Johnson, 1967). Toutefois, lorsque l'on considère des écoulements plus désordonnés qui apparaissent lorsque le diamètre de la section augmente, l'interprétation des résultats obtenus par *dual-slit* est plus délicate. En effet, dans ces conditions la contribution de chaque globule à la modulation du signal n'est pas identique du fait de l'existence de gradients de vitesse dans la direction radiale.

Roman *et al.* (2012) se sont attachés à clarifier l'interprétation physique de la vitesse mesurée par *dual-slit*. La Figure 2.7 schématise les conditions d'observations et les notations associées à la géométrie utilisée par les auteurs. Dans toute la suite du manuscrit, nous adopterons leur convention.
Tout d'abord, au moyen d'images synthétiques, qui leur permettent d'avoir accès au plan parallèle au faisceau lumineux, le plus souvent inaccessible à l'expérimentateur, ils étudient l'influence de la vitesse d'acquisition des images, du nombre d'images, de la largeur des *slits* (w) et de l'espacement

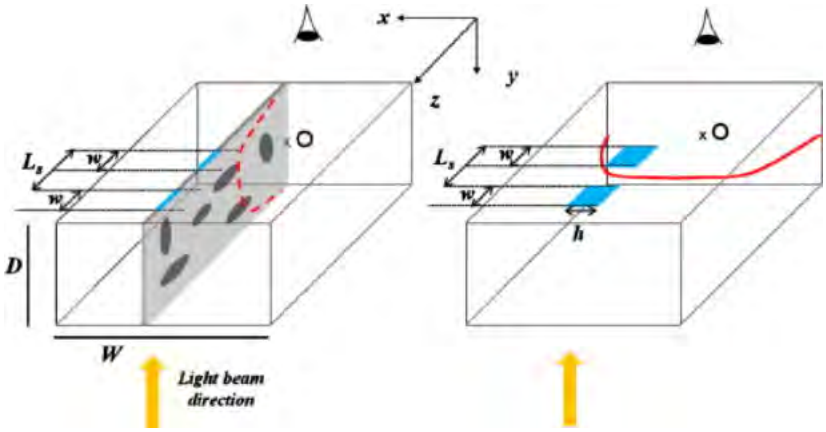

FIGURE 2.7 – Dans la suite du manuscrit, la direction (Ox) représente la largeur du canal, (Oy) sa profondeur et (Oz) est parallèle à la direction de l'écoulement. D'après Roman *et al.* (2012).

de ces dernières sur la mesure. Ils obtiennent une gamme de valeurs optimales de chacun de ces paramètres pour l'implémentation de la technique, et ce, indépendamment des conditions de l'écoulement. Ces simulations montrent de plus que, implémentée de manière optimale, la *dual-slit* permet la mesure, en régime permanent, du profil de vitesse maximale des globules rouges, (*i.e.* dans le plan de symétrie du canal orthogonal à l'axe optique). En effet, l'espacement optimal entre les *slits* est tel que seuls les globules les plus rapides contribuent à l'inter-corrélation des signaux mesurés. La Figure 2.8, montre le résultat de la méthode employée sur des séquences d'écoulement de suspension de globules rouges obtenues *in vitro*. Les profils montrés sont des profils de vitesse maximale des globules rouges obtenus dans des canaux droits à section carrée $20 \times 20\,\mu\mathrm{m}^2$: courbe (a), et $10 \times 10\,\mu\mathrm{m}^2$, courbe (b). Dans le deuxième cas, la dimension du canal est telle qu'un globule occupe une grande partie de la section du canal et qu'il ne se déforme pas, d'où le profil plat. Pour la courbe (a), les deux directions de la section sont relativement grandes devant la taille caractéristique d'un globule rouge, d'où l'émergence d'un écoulement plus désordonné dans la section, dont le profil de vitesse est courbé par les gradients de vitesse latéraux du fluide suspendant. L'équation ci-dessous est ajustée aux données afin d'en fournir une description adéquate :

$$\mathrm{V}_{\mathrm{GR}}^{\mathrm{max}}(\mathrm{x}) = \mathrm{V}_{\mathrm{GR}}(\mathrm{x},0) = \mathrm{V}_0\Big(1 - \frac{\mathrm{Bx}^2}{(\mathrm{W}/2)^2}\Big) \tag{2.2}$$

Le paramètre B, compris entre 0 et 1, quantifie l'aplatissement du profil de vitesse : $\mathrm{B} = 0$ correspond à un profil totalement plat, alors que $\mathrm{B} = 1$ correspond à un profil de Poiseuille. Le paramètre V_0 est la vitesse maximale, obtenue au centre de la section. Pour déterminer complètement le profil de

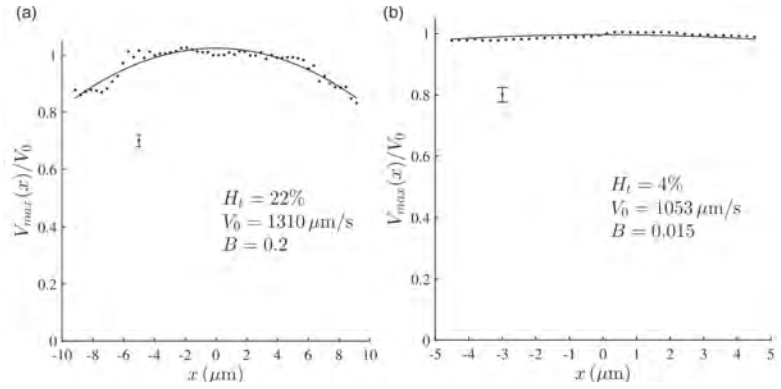

FIGURE 2.8 – Profils typiques de vitesse maximale des globules rouges obtenus par *dual-slit* pour, (a) W = 20 μm, et (b) W = 10 μm. Les autres conditions expérimentales sont reportées sur la figure. D'après Roman *et al.* (2016).

vitesse dans l'ensemble d'une section carrée, hypothèse est faite que la forme du profil se conserve dans les plans parallèles et orthogonaux à l'axe optique (Roman, 2012). Sous cette hypothèse, le profil de vitesse des globules rouges s'écrit (Roman *et al.*, 2016) :

$$\mathrm{V_{GR}(x,y) = V_0\Big(1 - \frac{Bx^2}{(W/2)^2}\Big)\Big(1 - \frac{By^2}{(W/2)^2}\Big)} \tag{2.3}$$

3.1.3 Mesure *in vivo* de profils de vitesse de globules rouges par microscopie bi-photonique

Une stratégie usuelle pour l'observation d'échantillons biologiques consiste à les ensemencer par des traceurs, particules ou molécules, fluorescents, d'exciter ces derniers par un laser, de récupérer le signal de fluorescence et d'en extraire directement ou après traitement de ce signal, l'information recherchée. Cependant, les échantillons biologiques diffusent aisément la lumière, rendant l'excitation des corps fluorescents d'autant plus ardue que la zone à imager est enfouie sous une épaisseur importante de tissus (quelques centaines de microns). La microscopie bi-photonique, de par son principe, apporte une solution à cette problématique. La lumière d'excitation est émise par un laser femtoseconde, émettant dans l'infrarouge, une gamme d'énergie pour laquelle les tissus biologiques sont relativement transparents. L'énergie d'un photon émis est choisie de sorte qu'elle corresponde à la moitié de l'énergie nécessaire à apporter à une molécule composant le corps fluorescent pour la faire passer dans un état excité. Aussi, pour passer dans l'état excité, la molécule cible doit absorber deux photons. En se désexcitant, la molécule émet un photon, caractéristique de la quantité à mesurer.

Ainsi, en utilisant la microscopie bi-photonique, Santisakultarm *et al.* (2012) ont imagé une zone du cerveau située jusqu'à 350 μm sous le

cortex cérébral chez la souris. Du dextran 70 kDA fluorescent est injecté dans le plasma de sorte que, après désexcitation, du signal lumineux est émis "par le plasma", laissant ainsi sombres les globules rouges. Scanner longitudinalement puis latéralement les vaisseaux sanguins les plus larges, ici artérioles et veinules, avec le laser leur permet d'extraire un profil de vitesse de globules rouges. Aux points expérimentaux, ils ajustent l'expression suivante :

$$V_{RBC}(r) = V_0\Big(1 - \Big(\frac{r}{R}\Big)^k\Big) \tag{2.4}$$

où R est le rayon du vaisseau et k, est un paramètre scalaire qui gouverne l'aplatissement du profil de vitesse, ainsi que le paramètre B des Équations (2.2) et (2.3). Nous justifierons dans le chapitre consacré aux résultats obtenus en canaux droits uniques (Chapitre 4) notre choix quant à l'expression retenue, entre l'Équation (2.3) et l'Équation (2.4), pour décrire aux mieux nos données expérimentales liées au profil de vitesse des globules rouges obtenus dans nos géométries.

Outre une paramétrisation du profil de vitesse des globules rouges, Santisakultarm *et al.* (2012) mettent en avant une pulsatilité des écoulements sanguins en rythme avec les battements cardiaques et les cycles respiratoires de l'animal et ce même à l'échelle des capillaires, bien que ces oscillations s'amortissent à mesure que l'on s'éloigne des artérioles vers les veinules, pour parfois n'être pas différentiables du bruit.

3.2 Hématocrite

3.2.1 Hématocrite de tube et densité optique

L'hématocrite de tube moyen correspond à la fraction volumique de globules rouges d'un échantillon de sang. Historiquement, la détermination de cette quantité l'a été pour de "larges" quantités de sang (au moins plusieurs millilitres). L'observation de ces échantillons de sang a permis de constater que les globules rouges sédimentent. Ainsi, il est possible de déterminer la fraction volumique de globules rouges d'un échantillon sanguin en mesurant la hauteur relative des colonnes de sang et total et de globules rouges, dans une géométrie adaptée. Cette quantité est appelée hématocrite de tube ("synonyme" de fraction volumique) moyen (car *une seule* valeur est extraite pour caractériser tout l'échantillon). Notons que si l'échantillon est mélangé de telle sorte que la distribution des globules rouges soit identique partout dans le contenant, alors l'hématocrite de tube moyen sera le même quel que soit le volume prélevé dans ce réservoir. Le terme "moyen" sera donc dans la suite considéré comme implicite, et nous ne parlerons que d'hématocrite

de tube. Par définition, cette quantité, notée $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$, vaut :

$$\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} = \frac{\mathrm{N}\mathcal{V}_\mathrm{GR}}{\mathcal{V}_\mathrm{tube}} \tag{2.5}$$

où N est le nombre de globules, $\mathcal{V}_\mathrm{GR}$ le volume d'un globule rouge, et $\mathcal{V}_\mathrm{tube}$ le $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ volume total du contenant dans lequel on veut estimer l'hématocrite de tube moyen. Un moyen très simple, au moins sur le principe, de déterminer $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ est par centrifugation d'un échantillon de sang dans un tube micro-capillaire.

Toutefois, lorsque le volume de l'échantillon de sang à étudier est trop faible, une méthode par sédimentation est difficile à mettre en œuvre.

Pour circonvenir ce problème, une méthode photométrique (Wintrobe, 1967) a été développée. Son principe est le suivant : lorsqu'est liée aux atomes de fer de l'hémoglobine, préalablement ionisés à l'état ferreux, une molécule contenant un atome de cyanure, on obtient une nouvelle molécule, appelée la cyanmethémoglobine. Cette molécule présente l'avantage de n'avoir qu'un seul pic d'absorption, alors que l'hémoglobine classique en possède deux, l'un correspondant à l'oxyhemoglobine et l'autre à la deoxyhemoglobine. La détermination de l'hématocrite de tube repose sur la relation qui lie la mesure de la réduction de l'intensité lumineuse par absorption de photons due à la cyanmethémoglobine à la concentration de cette dernière.

A cette fin, on définit la quantité suivante, appelée densité optique (DO), ou absorbance, que l'on cherche à relier à la concentration en cyanmethémoglobine de la suspension, et donc à l'hématocrite de tube :

$$\mathrm{DO} = \log_{10}\Big(\frac{\mathrm{I}_0}{\mathrm{I}}\Big) \tag{2.6}$$

où I_0 est l'intensité de la lumière transmise en l'absence de globules rouges, et I est l'intensité de la lumière transmise en présence des globules rouges. L'emploi d'une méthode optique, comme celle que nous décrivons ci-dessus par exemple, requiert une étape de calibration, afin de pouvoir faire correspondre une valeur de concentration à une valeur de DO.

Les deux méthodes décrites ci-dessus permettent certes de déterminer l'hématocrite de tube moyen d'une suspension de globules rouges, mais ne permettent pas d'extraire d'information sur le profil d'hématocrite dans un tube. Le volume très petit des canaux micro-fluidique nous contraint *de facto* à écarter une méthode type centrifugation. Aussi, pour déterminer $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ nous emploierons une méthode optique, basée sur la mesure de la densité optique.

3.2.2 Profil de densité optique et profil d'hématocrite

La mesure d'un profil d'hématocrite dans la largeur d'un canal, requiert, comme pour la méthode photométrique de Wintrobe (1967), deux étapes : la mesure d'un profil de DO, et la conversion de ce dernier en profil d'hématocrite. Le profil d'hématocrite fournit deux informations complémentaires. Premièrement, il renseigne sur la répartition des globules rouges dans la section d'un canal. Deuxièmement, à partir du profil d'hématocrite il est possible d'extraire $\bar{H}_t$. Le deuxième point se comprend en faisant l'analogie avec la notion d'hématocrite de tube moyen pour un échantillon macroscopique. En supposant que, dans le canal d'intérêt, l'hématocrite de tube soit le même quelle que soit la tranche de canal considérée, alors en réduisant l'épaisseur de cette tranche à une valeur dz tendant vers 0, alors $\bar{H}_t$ est la valeur moyenne du profil d'hématocrite. Cette mesure de $\bar{H}_t$ sera généralisée, dans notre travail, à tout profil d'hématocrite.

Nous décrivons dans la suite de cette section une méthode de mesure de profil d'hématocrite de laquelle nous nous sommes inspirés pour mesurer de tels profils dans nos canaux micro-fluidiques. Nous décrivons d'abord le principe de la calibration DO vs $\bar{H}_t$, puis la mise en œuvre de la mesure d'un profil d'hématocrite.

Ainsi que le mentionnent Lipowsky *et al.* (1982), deux effets sont en compétition, liés à la présence des globules, et rentrent en jeu dans la mesure de la densité optique. Le premier effet est une diminution due à l'absorption de la lumière par les globules DO_{abs}, le deuxième une diminution due à la diffusion de la lumière induite par la membrane des globule, DO_{diff}. Ainsi, on a $DO = DO_{abs} + DO_{diff}$. Résumant les travaux antérieurs de Jendrucko *et* Lee (1973), Lipowsky *et al.* (1982) énoncent les propriétés suivantes : la densité optique ne varie pas linéairement avec l'hématocrite, et elle ne dépend ni de la vitesse des globules rouges, ni de la pression partielle en oxygène. Enfin, Lipowsky *et al.* (1982) déterminent une courbe empirique liant la mesure de DO à l'hématocrite de tube qui présente deux inconvénients majeurs. Premièrement, cette courbe n'est pas bijective. Deuxièmement, ainsi que l'ont démontré Pries *et al.* (1983), cette calibration dépend du dispositif expérimental utilisé, notamment de la longueur d'onde de l'éclairage et des optiques choisis.

Se basant sur ces travaux, Roman *et al.* (2016) se servent de séquences d'écoulement acquise en micro-canaux pour mesurer I_0 et I. Parce que l'objectif est d'obtenir un profil de densité optique dans la largeur du canal, I_0 et I deviennent $I_0(x)$ et I(x). Ces derniers sont mesurés dans un canal à section carré de côté $W = 20$ μm. Tout d'abord, $I_0(x)$ est déterminé dans un canal ne contenant que du fluide suspendant. Ensuite, I(x) est déterminé en moyennant temporellement 1000 images de la séquence de l'écoulement de globules. Ces images sont décorrélées, *i.e.* suffisamment espacées dans le

temps pour ne pas compter deux fois le même globule. Dans leur cas, les intensités sont obtenues grâce au niveaux de gris des pixels de l'image. On a :

$$\mathrm{DO(x)} = \log_{10}\left(\frac{\mathrm{NG_0(x)}}{\frac{1}{1000}\sum_{\mathrm{k}=1}^{1000}\mathrm{NG_k(x)}}\right) \tag{2.7}$$

où $\mathrm{NG_i(x)}$ est la valeur de niveaux de gris associée soit à $\mathrm{I_0(x)}$ si $\mathrm{i} = 0$, soit à $\mathrm{I(x)}$ si $\mathrm{i} > 0$. $\mathrm{DO(x)}$ est convertie en profil d'hématocrite, $\mathrm{H_t(x)}$ au moyen d'une calibration réalisée par comptage dans des canaux carrés ($\mathrm{W} = 20\ \mu\mathrm{m}$) pour $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} < 10\%$. Il est à noter qu'une technique très similaire a aussi été utilisée dans les études *in vitro* réalisées par Sherwood *et al.* (2014a) et Shen *et al.* (2016). En particulier, dans l'étude de Sherwood *et al.* (2014a), le profil $\mathrm{I_0(x)}$ est supposé constant, et égal à une valeur mesurée hors du canal, dans le polymère qui compose la matrice solide qui contient ce dernier. Nous reviendrons sur ce point dans le Chapitre Matériels et Méthodes.

4. Phénoménologie associée aux micro-écoulements de suspensions de globules à l'échelle d'un vaisseau

Dans cette partie, nous ferons état de phénomènes spécifiques à la micro-circulation qui sont en partie des conséquences de la déformabilité des globules rouges. Poiseuille (1839) observe que dans le système micro-circulatoire du mésentère de la grenouille, les corpuscules ont une tendance à circuler au centre des vaisseaux, laissant une zone appauvrie en cellules près de la paroi endothéliale. De nos jours, la compréhension de ce phénomène a été guidée par des études menées sur des systèmes modèles répliquant, au moins qualitativement, les propriétés mécaniques des globules rouges. Ces systèmes modèles s'appuient sur la "simplicité" des globules rouges, qui consistent en une membrane encapsulant un fluide, et sont connus sous le nom de vésicules. Il a été montré que, soumise à un écoulement de Poiseuille, une vésicule tend à migrer vers les zones de faibles taux de cisaillement. Sa vitesse de migration latérale (*i.e.* la vitesse selon une direction orthogonale à l'écoulement) $\mathrm{V_y}$ vérifie : $\mathrm{V_y} \propto \dot{\gamma}(\mathrm{y})$, où $\dot{\gamma}(\mathrm{y})$ est le taux de cisaillement (Coupier *et al.*, 2008).

Par analogie avec le taux de cisaillement, nous définissons une quantité macroscopique qu'il nous est plus facile de mesurer, que nous appelons pseudo-taux de cisaillement, et que, par simplification, nous notons $\dot{\gamma}$:

$$\dot{\gamma} = \frac{\bar{\mathrm{V}}_{\mathrm{sang}}}{\mathrm{D}} \tag{2.8}$$

où $\bar{\mathrm{V}}_{\mathrm{sang}}$ est la vitesse moyenne du sang et D le diamètre du tube. La vésicule migre d'autant plus vite que le (pseudo-)taux de cisaillement est important.

Les études sur les vésicules montrent que des facteurs tels que son diamètre, son dégonflement et le rapport de viscosité entre le fluide interne et le fluide suspendant sont des paramètres qui influent sur V_y. Les phénomènes auxquels nous allons nous intéresser ci-après sont des conséquences de la capacité des globules à migrer au centre du tube dans lequel ils se meuvent, et, en particulier, cette capacité à migrer laisse, près des parois d'un canal ou d'un vaisseau, une couche dépourvue, ou du moins contenant peu, de corpuscules. Cette couche est appelée couche d'exclusion plasmatique.

4.1 L'effet Fåhraeus

Dans sa célèbre étude *The suspension stability of the blood*, Robin Fåhraeus compare la fraction volumique des globule rouges d'un échantillon de sang prélevé chez un volontaire sain, donc initialement à hématocrite systémique d'environ $\sim 45\%$, avec celui mesuré dans des tubes en verre de différents diamètres dans lesquels s'écoule ce même échantillon. Pour des tubes de diamètres supérieurs à $\sim 450\,\mu$m, l'hématocrite de tube est égal ou très proche de la valeur de l'hématocrite systémique (voir Figure 2.9). Pour des tubes dont le diamètre est inférieur à $\sim 250\,\mu$m, l'hématocrite de tube est d'autant plus faible que le diamètre de ce dernier est petit. Cette observation s'étend jusqu'au plus petit diamètre de tube considéré par Fåhraeus, à savoir $50\,\mu$m.

Le résultat observé par Robin Fåhraeus s'explique par la migration subie

DIAMETER OF THE TUBES	VOLUME OF THE BLOOD		AVERAGE VELOCITY OF THE ERYTHROCYTES; THAT OF THE PLASMA = 100
	Erythrocytes	Plasma	
mm.	*per cent*	*per cent*	
1,100	40.5	59.5	100
0,750	40.1	59.9	101
0,450	39.8	60.2	103
0,250	39.2	60.8	106
0,095	33.6	66.4	135
0,050	28.0	72.0	175

FIGURE 2.9 – Tableau compilant les résultats des expériences de Fåhraeus sur l'hémodilution observée par réduction du diamètre du tube dans lequel s'écoule du sang. $\bar{H}_t$ (colonne "Erythrocytes") décroît avec le diamètre du tube, et est très inférieur à la valeur systémique pour les deux plus petits diamètres étudiés. La vitesse moyenne relative des globules rouges par rapport à celle du plasma croit en même temps que le diamètre du tube décroit. Cette vitesse est significativement supérieure à celle du plasma pour les deux plus petits diamètres. D'après Fåhraeus (1929).

par les globules rouges du fait du gradient de vitesse radiale du fluide suspendant. En conséquence, les cellules occupent principalement le centre de la section, où, depuis les travaux de Poiseuille, on sait que la vitesse du fluide suspendant est la plus élevée. Plus le diamètre du tube est petit, plus un globule occupe, en proportion, une surface de la section importante.

Puisqu'il s'agit ici du centre de la section, plus le diamètre du tube se réduit, plus les globules rouges s'écoulent, en moyenne, plus rapidement que le sang (voir dernière colonne de la Figure 2.9) :

$$\frac{\bar{V}_{GR}}{\bar{V}_{sang}} > 1 \tag{2.9}$$

où $\bar{V}_{GR}$ et $\bar{V}_{sang}$ sont les vitesses moyennes des globules rouges et du sang respectivement. Or, les débits de globules rouges et de sang, Q_{GR} et Q_{sang}, peuvent s'écrire : $Q_{GR} \approx \bar{V}_{GR}\bar{H}_t S$ et $Q_{sang} = \bar{V}_{sang} S$, où $\bar{H}_t$ est l'hématocrite de tube moyen de la suspension en écoulement et S est la surface de la section droite du tube.

On peut donc écrire : $\dfrac{\bar{V}_{GR}}{\bar{V}_{sang}} = \dfrac{\bar{V}_{GR}\bar{H}_t S}{\bar{V}_{sang}\bar{H}_t S} = \dfrac{Q_{GR}}{Q_{sang}\bar{H}_t} > 1$. La quantité $\dfrac{Q_{GR}}{Q_{sang}}$ est appelée hématocrite de débit et est notée H_D. On obtient donc la formulation usuelle de ce qui est appelé de nos jours l'effet Fåhraeus :

$$\frac{\bar{H}_t}{H_D} < 1 \tag{2.10}$$

Près de quarante ans après sa découverte, Barbee *et* Cokelet (1971) étendent les travaux de Robin Fåhraeus sur l'effet éponyme et étudient l'influence du diamètre, jusqu'à des valeurs de 29 microns, de l'hématocrite de débit et du pseudo-taux de cisaillement. Ce dernier paramètre, pour des valeurs comprises entre 0.296 et 212 s^{-1} ne présente pas d'influence remarquable. La Figure 2.10 montre que, à hématocrite de réservoir (*i.e.* l'hématocrite du réservoir servant à alimenter le tube d'intérêt), appelé H_F fixé, la tendance observée par Fåhraeus se prolonge jusqu'au tube de plus petit diamètre étudié (29 μm). Ils montrent aussi que l'hématocrite de réservoir est égal à l'hématocrite de débit, donc que $H_D = H_F$. Plus important encore, Barbee *et* Cokelet (1971) mettent en évidence que cet effet est d'autant plus marqué que l'hématocrite de réservoir est faible, ce qui se traduit par $H_R = \dfrac{\bar{H}_t}{H_D}$ est d'autant plus petit que H_F est faible.

En résumé, dans leur étude, Barbee *et* Cokelet (1971) montrent que l'effet Fåhraeus est d'autant plus prononcé que le diamètre du tube est petit et que l'hématocrite de débit de la suspension dans ce tube d'intérêt est faible. Ils généralisent ainsi l'observation faite par Fåhraeus avec un hématocrite de réservoir initialement égal à l'hématocrite systémique à une plus large gamme de valeurs.

Yen *et* Fung (1977) montrent une inversion de l'effet Fåhraeus, c'est-à-dire, une valeur $H_R = \dfrac{\bar{H}_t}{H_D}$ se rapprochant de l'unité lorsque le diamètre diminue, au lieu de s'en éloigner, dès lors que le rapport entre le diamètre de la particule et celui de la section du tube avoisine ou dépasse l'unité. Pour ce

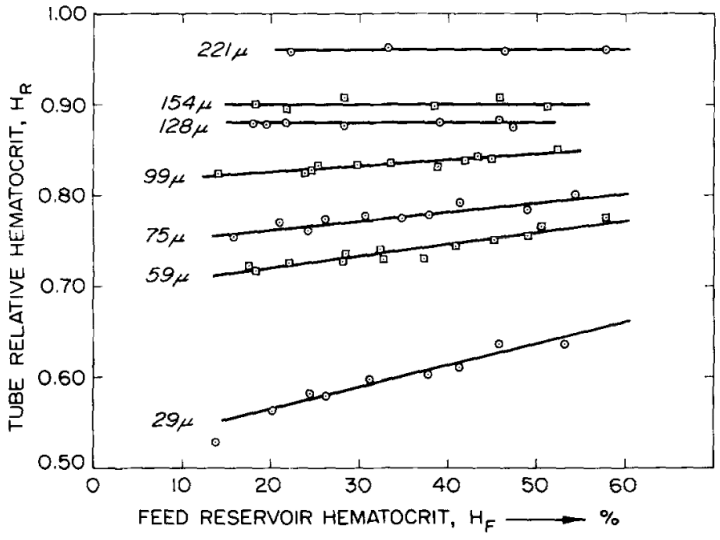

FIGURE 2.10 – Évolution du ratio $H_R = \dfrac{\bar{H}_t}{H_D}$ en fonction de $H_F = H_D$. D'après Barbee *et* Cokelet (1971).

faire, pour simuler le sang, ils utilisent des particules modèles, consistant en des "plaquettes" de gélatine suspendues dans du silicone. Cependant, comme le soulignent Albrecht *et al.* (1979), il est difficile d'extrapoler leurs résultats à des écoulements sanguins, compte tenu du fait que les effets de la différence de déformabilité entre les particules modèles et les globules rouges ne sont pas connus. C'est pourquoi, les derniers se sont intéressés à l'effet Fåhraeus dans des capillaires en verre de diamètre inférieur à 11 μm, descendant jusqu'à 3.3 μm, en faisant s'y écouler une suspension de globules rouges. Ils montrent que l'inversion de l'effet Fåhraeus s'enclenche pour des diamètres de tube compris entre 10 et 20 μm, et est d'autant plus prononcée que le diamètre se réduit. En résumé, l'intensité de l'effet Fåhraeus est d'autant plus élevée que le diamètre du capillaire est petit mais tout en restant supérieur à une certaine valeur.

Plus tard, Pries *et al.* (1990) ont proposé une expression de l'effet Fåhraeus, incluant aussi l'inversion, au moyen de données répertoriées dans la littérature, et relient le rapport entre hématocrite de tube et hématocrite de débit au moyen de la relation paramétrique :

$$\frac{\bar{H}_t}{H_D} = H_D + (1 - H_D)(1 + 1.7\exp(-0.451D) - 0.6\exp(-0.011D)) \quad (2.11)$$

où D est le diamètre du tube en microns.

Nous l'avons vu, l'effet Fåhraeus a pour origine la migration axiale des

globules rouges vers le centre des petits vaisseaux sanguins influençant la largeur de la couche d'exclusion plasmatique. Cette dernière joue aussi un rôle sur la viscosité des suspensions de globules rouges en écoulement.

4.2 L'effet Fåhraeus-Lindqvist

Avant d'aller plus avant dans l'étude de ce phénomène, il convient de définir une viscosité pertinente pour les écoulements sanguins : la viscosité apparente relative. La viscosité apparente d'une suspension de globule rouge (μ_{app}) est la viscosité qu'aurait un fluide newtonien s'écoulant dans un tube de même diamètre (D) et de même longueur (L) que la suspension, sous une même différence de pression (ΔP), avec un même débit (Q). La viscosité apparente est dite relative, lorsqu'elle est normalisée par la viscosité du fluide suspendant, le plus souvent considéré comme Newtonien.

Ces définitions impliquent que la relation entre perte de charge et débit dans le tube peut s'écrire :

$$\Delta \mathrm{P} = \frac{128 \mu_{\text{app}} \mathrm{L}}{\pi \mathrm{D}^4} \mathrm{Q} \tag{2.12}$$

Cette relation est formellement identique à la relation de Poiseuille, dans laquelle l'ensemble des comportements rhéologiques induits par la présence des globules rouges, y compris l'émergence d'un profil de vitesse non parabolique, sont décrits par la viscosité apparente.

Fåhraeus *et* Lindqvist (1931) étudient l'effet de la réduction du diamètre du tube sur la viscosité apparente du sang. Ils montrent ainsi que la viscosité diminue lorsque le diamètre du tube dans lequel il s'écoule diminue aussi. Nous l'avons vu avec l'effet Fåhraeus, plus le diamètre est petit, plus les globules rouges vont vite, relativement au plasma, et donc plus l'hématocrite de tube du tube d'intérêt est faible. Ils attribuent cette réduction de viscosité apparente à la l'hémodilution de la suspension s'écoulant dans le tube, puisque, pour chaque cas des trois premières "Series" de la Figure 2.11, les expériences ont été réalisées à $\mathrm{H_F} \approx 0.45$. Ainsi, seules les dimensions (longueur et diamètre) du tube d'intérêt ont été variées. De plus, les résultats reportés par les auteurs sont normalisés par la viscosité de l'eau dans chacune des géométries de tubes étudiée (voir Figure 2.11).

Finalement leur étude montre de plus que la viscosité apparente est d'autant plus importante que l'hématocrite dans le tube d'intérêt est élevé (voir dernière "Serie" de la Figure 2.11).

Pries *et al.* (1992) compilent de nombreuses données *in vitro* obtenues dans la littérature, pour de larges gammes d'hématocrite et de diamètres de tubes, pour des valeurs de taux de cisaillement supérieures à $50\mathrm{s}^{-1}$. Cette valeur minimale est pertinente, puisque les valeurs du pseudo taux de cisaillement mesurées *in vivo*, notamment dans le lit capillaire du mésentère du chat (Lipowsky *et al.*, 1978) sont en général supérieures à cette valeur. Ils

LENGTH OF THE TUBE	DIAMETER	RELATIVE VISCOSITY
Series 1. Blood from T. L. Relative viscosity of the plasma 1.63		
mm.	*mm.*	
126.5	0.505	4.60
121.0	0.311	4.54
45.6	0.175	4.22
50.0	0.120	3.98
32.6	0.081	3.65
11.8	0.065	3.38
11.8	0.047	2.95
12.6	0.040	2.79
Series 2. Blood from T. L. Relative viscosity of the plasma 1.65		
122.5	0.277	4.96
45.6	0.175	4.72
50.0	0.120	4.30
11.8	0.047	3.15
Series 3. Blood from R. F. Relative viscosity of the plasma 1.60		
—	0.460	5.21
100.0	0.277	5.10
85.0	0.105	4.28
—	0.052	3.52
Series 4. Blood from T. L. Relative viscosity of the plasma 1.72 In order to investigate a blood specimen of higher viscosity, the blood was centrifuged and a part of the plasma taken away.		
122.5	0.277	6.80
45.6	0.175	6.28
50.0	0.120	5.59
27.9	0.081	5.08
7.0	0.065	4.71
11.8	0.047	4.28

FIGURE 2.11 – Tableau compilant les résultats des expériences de Fåhraeus et Lindqvist sur la diminution de la viscosité apparente relative observée par réduction du diamètre du tube dans lequel s'écoule du sang. Les trois premières "Series" montrent l'influence de l'hémodilution sur la viscosité apparente, quand la dernière montre l'influence de l'hémoconcentration sur cette quantité. D'après Fåhraeus *et* Lindqvist (1931).

obtiennent la relation suivante entre la viscosité apparente du sang, le diamètre D (en μm, les autres grandeurs sont adimensionnées), et l'hématocrite de tube :

$$\mu_{\text{vitro}} = 1 + (\mu_{0.45} - 1)\frac{(1 - \mathrm{H_D})^{\mathrm{C}} - 1}{(1 - 0.45)^{\mathrm{C}} - 1} \tag{2.13}$$

avec $\mu_{0.45} = 220\exp(-1.3\mathrm{D}) + 3.2 - 2.44\exp(-0.06\mathrm{D}^{0.645})$ et

$$\mathrm{C} = \big(0.8 + \exp(-0.075\mathrm{D})\big)\Big(\frac{1}{1 + 10^{-11}\mathrm{D}^{12}} - 1\Big) + \frac{1}{1 + 10^{-11}\mathrm{D}^{12}}.$$

De la même manière qu'est observée une inversion de l'effet Fåhraeus, pour des tubes dont le diamètre est inférieur à $7\,\mu$m une inversion de l'effet

Fåhraeus-Lindqvist se produit. En effet, à $\bar{H}_t$ fixé, réduire le diamètre endeçà d'une certaine valeur doit nécessairement conduire à une réduction de la taille de la couche d'exclusion plasmatique, ce qui va de pair avec des interactions accrues des globules avec la paroi, et donc plus de dissipation d'énergie, d'où au final une viscosité plus importante. La Figure 2.12 illustre cette rhéologie atypique pour des diamètres de tubes variant de 3 à 1000 μm, pour un hématocrie de débit de 0.45.

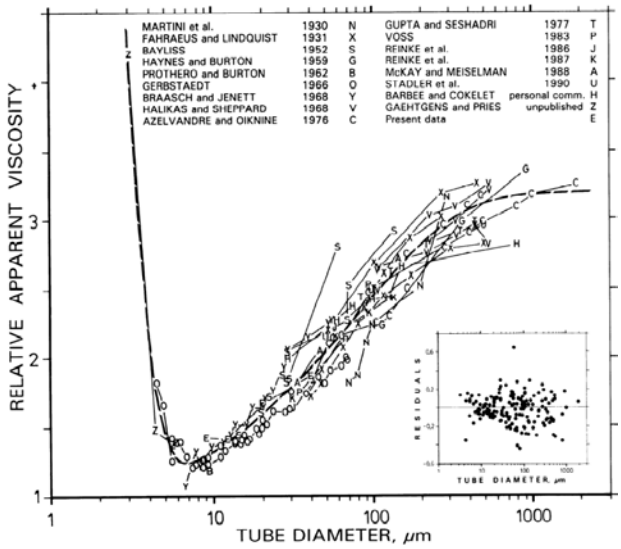

FIGURE 2.12 – Évolution de la viscosité apparente relative en fonction du diamètre, pour un hématocrite de débit de 0.45, d'après Pries *et al.* (1992). Les symboles représentent les résultats expérimentaux sur lesquels ils se sont appuyés pour obtenir l'Équation (2.13), représentée par les traits pointillés.

Il est important de noter que la viscosité observée *in vivo* est toujours plus grande que celle observée *in vitro* pour des mêmes diamètres de vaisseaux et de tubes, et pour des valeurs identiques d'hématocrite. Une hypothèse permettant d'expliquer une telle observation est la présence, sur la surface endothéliale des micro-vaisseaux d'un tapis de polymères appelés glycocalyx que nous l'illustrons sur la Figure 2.13. Ces polymères, dont la longueur varie entre quelques centaines de nanomètres à un micron empêchent les molécules les plus grosses et les globules rouges de s'approcher trop près de la paroi endothéliale (Henry *et al.*, 1999). De plus, la présence de ce tapis de polymère contribue à très fortement réduire les épanchements de fluides par la paroi endothéliale, évitant ainsi la formation d'œdèmes (Vink *et al.*, 1996). De l'hémoconcentration est observée suite à une dégradation du glycocalyx (Constantinescu *et al.*, 2001). Enfin, suite à une dégradation de ce tapis de polymère, la proportion de vaisseaux capillaires dépourvus de globules rouges augmente (Zuurbier *et al.*, 2005). Il est intéressant de noter que l'ensemble des études s'attachant à comprendre les fonctions du glycoca-

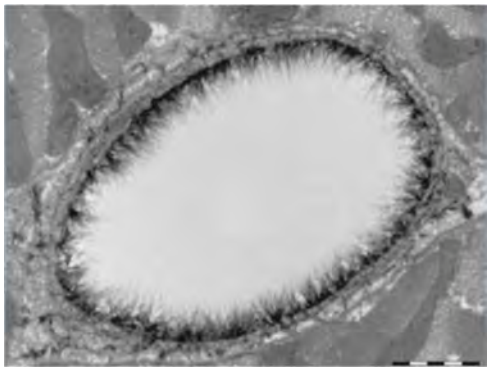

FIGURE 2.13 – Coupe d'un capillaire du muscle cardiaque chez le rat. La barre d'échelle représente 1 μm. D'après Reitsma *et al.* (2007).

lyx, dont nous avons présenté une liste non exhaustive, se font en comparant l'état de vaisseaux avant et après dégradation des polymères. Dans cet esprit, Lanotte *et al.* (2014) comparent le comportement de suspensions de globules rouges avec et sans "glycocalyx" dans des tubes en verre. Dans le but de montrer l'influence de l'interaction entre les globules rouges et le glycocalyx, dans les différences de résistance observées *in vivo* et *in vitro*, Lanotte *et al.* (2014) ont couvert l'intérieur de tubes d'oxyde de silicium de 10 μm de diamètre interne par des brosses, formées de chaînes de polymères PHEMA de longueurs comprises entre 25 et 190 nm dont le but est de mimer le glycocalyx. Ils font s'écouler dans ces tubes, des suspensions de globules rouges dont l'hématocrite de réservoir est de 0.1%, en imposant le gradient de pression. Ils constatent une réduction dans la vitesse des globules rouges, pour des longueurs de polymère supérieures à 60 nm, et une plus forte élongation dans le sens de l'écoulement pour les tubes recouverts du polymère que les tubes nus. Pries *et al.* (1997), dans l'article *Microvascular blood flow resistance : role of endothelial surface layer*, cité par Lanotte *et al.* (2014), montrent une réduction de la résistance à l'écoulement de 14 à 21% en dégradant chimiquement le glycocalyx dans des microvaisseaux du mésentère du rat.

Ainsi, la résistance à l'écoulement dépend du diamètre effectif des vaisseaux, lequel dépend de la longueur des polymères (distance entre deux points diamétralement opposés, à laquelle est retranchée deux fois la longueur des chaînes de polymères du glycocalyx), du taux de cisaillement pariétal, et de la viscosité du sang qui dépend de l'hématocrite et de la tendance des globules à former ou non des agrégats.

Nous allons dans la suite nous intéresser aux propriétés exhibées par les suspensions de globules rouges dans des bifurcations. Comme il est suggéré d'après la Figure 2.14, seul, l'effet Fåhraeus n'est pas suffisant pour expliquer les hétérogénéités de distribution de l'hématocrite dans un réseau vasculaire.

Il faut donc lui ajouter la contribution d'un autre effet. L'effet en question s'appelle la séparation de phase.

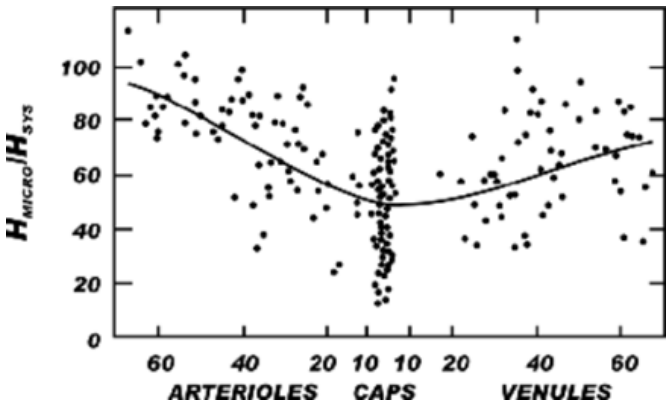

FIGURE 2.14 – Mesure de l'hématocrite dans un réseau microvasculaire, normalisée par l'hématocrite systémique. Si l'effet Fåhraeus est suffisant pour expliquer l'hémodilution (des artérioles aux capillaires), puis l'hémoconcentration (des capillaires aux veinules), ce seul effet n'est pas suffisant pour expliquer la dispersion des points expérimentaux, en particulier celle observée au niveau des capillaires. Pour ce faire, il faut introduire un autre effet : l'effet de séparation de phase. D'après House *et* Lipowsky (1987).

5. L'effet de séparation de phase

Dans son ouvrage, Krogh (1929) note l'observation suivante, *in vivo* : un capillaire émergeant sur le côté d'une artériole reçoit peu, voire pas, de globules rouges. Il attribue ceci à la présence de la zone de faible concentration en globules près de la paroi du vaisseau. Il appelle ce phénomène "*plasma skimming*" : le plus petit vaisseau est principalement alimenté par cette zone de faible hématocrite près de la paroi. De plus, il observe que la branche fille ayant le débit le plus faible reçoit un hématocrite d'autant moins important que la différence avec le débit de la branche mère est important. Cette inhomogénéité de distribution de l'hématocrite entre les branches filles de la bifurcation caractérise ce que l'on appelle l'effet de séparation de phase. Cet effet est illustré sur la Figure 2.15. S'ensuivent alors de nombreux travaux, aussi bien *in vivo* que *in vitro*, visant à étudier plus en détails ce phénomène, et à en exhiber les paramètres physiques qui l'influencent. Fenton *et al.* (1985) ont montré que, pour des bifurcations dont les branches sont toutes de sections circulaires et de mêmes diamètres (valant 20, 50 et 100 μm) l'hématocrite dans la branche mère, le diamètre des tubes et la distribution des débits entre les branches influent le plus la séparation de phase. Plus l'hématocrite dans la branche mère est faible, plus la séparation de phase est prononcée. De même la séparation de phase est d'autant plus

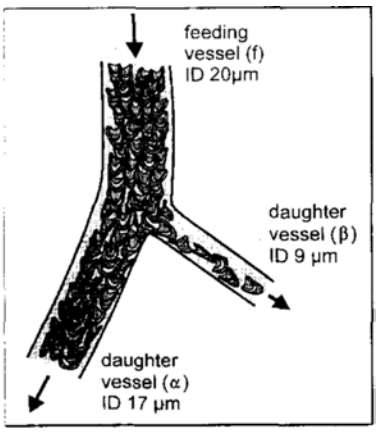

FIGURE 2.15 – Illustration de l'effet de séparation de phase. La branche de plus petit diamètre reçoit peu de globules rouges, en comparaison avec la branche fille de plus gros diamètre. D'après Pries *et al.* (1996).

marquée que le diamètre des tubes est petit.

Svanes *et* Zweifach (1968) rapportent une chute d'hématocrite dans une branche fille dont le débit sanguin est fortement réduit, pourvu que la vitesse de l'écoulement dans la branche mère soit suffisamment élevée. Leurs observations sont faites *in vivo* chez le rat. La réduction du débit dans une branche est effectuée au moyen d'une pression exercée par une très petite aiguille sur un microvaisseau. La pression a pour conséquence de diminuer localement le diamètre du vaisseau en question, d'augmenter considérablement sa résistance et donc de réduire le débit de sang s'y écoulant. En revanche, lorsque le débit dans la branche mère est 'faible', la réduction d'hématocrite dans la branche fille de plus bas débit n'est plus aussi importante. Cette attraction des globules rouges vers la branche de plus fort débit est parfois appelé effet Zweifach-Fung, et est un cas particulier de séparation de phase. Cet effet peut se traduire comme suit. Soient 1 et 2 les branches filles d'une bifurcation divergente, et e la branche d'entrée. Soit ensuite $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}} = \dfrac{\mathrm{Q}^1_{\mathrm{sang}}}{\mathrm{Q}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{sang}}}$ la fraction de débit sanguin rentrant dans la branche fille 1 (valable aussi pour 2 en adaptant les notations), où $\mathrm{Q}^1_{\mathrm{sang}}$ est le débit de sang dans la branche fille 1, et $\mathrm{Q}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{sang}}$ le débit de sang dans la branche mère. Soit, enfin, $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{GR}} = \dfrac{\mathrm{Q}^1_{\mathrm{GR}}}{\mathrm{Q}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{GR}}}$ la fraction de débit de globules rouges entrant dans la branche fille, où $\mathrm{Q}^1_{\mathrm{GR}}$ est le débit de globules rouges dans la branche fille 1, et $\mathrm{Q}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{GR}}$ le débit de globules rouges dans la branche mère. On a : si $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}} > 0.5$ alors $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{GR}} > \mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}}$. Ce qui peut se lire comme : la branche fille recevant le plus de sang, recevra proportionnellement encore plus de globules.

Des simulations de trajectoires, au niveau d'une bifurcation avec un angle droit entre les deux branches filles, de suspensions diluées de particules mo-

dèles rigides effectuées par Audet *et* Olbricht (1987) dans un écoulement à faible nombre de Reynolds, montrent que la taille et la distribution des particules dans la branche mère influent la répartition dans les branches filles. Ils adimensionnent le rayon des particules par la demi-largeur du canal de la branche mère, qui est égale à celle des branches filles, appelant ce paramètre λ. Tout d'abord, un plus gros écart à la droite identité est obtenu lorsque $\lambda = 0.8$, que lorsque $\lambda = 0.2$, en accord avec les résultats de Fenton *et al.* (1985). Un écart marqué de la courbe de séparation de phase (voir Figure 2.16 pour une représentation typique) à cette droite dénote d'une séparation de phase importante. Une telle différence est expliquée par les auteurs comme une conséquence de la taille non négligeables des particules devant la section du tube qui tend à les faire dévier de la ligne de courant sur laquelle est située leur centre de masse. Ce phénomène est appelé *cell screening*. Balogh *et* Bagchi (2018), au travers d'une simulation numérique, qui résout jusqu'à la déformation des globules rouges, réalisée dans un réseau inspiré d'une géométrie réaliste, montrent que le *cell screening* est d'autant plus important que le diamètre du vaisseau considéré est petit. Leur étude montre de plus que, plus ce phénomène est important, plus la séparation de phase est prononcée. Enfin, ils montrent que moins le profil d'hématocrite est plat, plus la séparation de phase est prononcée et plus le *cell screening* est important. Cette tendance a été établie pour des vaisseaux dont le diamètre est compris entre 6 et 20 microns.

Ensuite, Audet *et* Olbricht (1987), introduisent $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}_{\mathrm{min}}}$, qui est la fraction de débit sanguin de la branche d'entrée en-deçà de laquelle aucune particule n'entre dans la branche fille 1. De la même manière, ils mettent en évidence l'existence de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}_{\mathrm{max}}}$, valeur au-delà de laquelle la branche fille 1 reçoit tous les globules de la branche mère. Cette valeur dépend de la taille des particules et de la manière dont elles sont réparties dans la branche mère. Cette répartition est caractérisée par un paramètre s, compris entre 0 et 1 qui gouverne la largeur de la couche d'exclusion aux parois. Lorsque s vaut 1, il n'y a pas de couche d'exclusion aux parois, et les particules sont réparties uniformément dans tout le canal. Lorsque s<1, en dehors de la couche d'exclusion aux parois, les particules sont uniformément réparties dans le canal. Plus s est faible, plus $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}_{\mathrm{min}}}$ est grand (ou $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}_{\mathrm{max}}}$ est petit). L'agrégation des globules favorise la migration axiale de ces derniers (Sherwood *et al.*, 2012). Ainsi, pour deux suspensions de globules rouges de même hématocrite, l'une permettant l'agrégation érythrocytaire l'autre non, la première aura une valeur de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}_{\mathrm{min}}}$ supérieure à la première, ou de manière analogue, une valeur de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}_{\mathrm{max}}}$ inférieure à la deuxième.

Une étude systématique *in vivo* réalisée par Pries *et al.* (1989) compilent les résultats de séparation de phase obtenus dans 65 bifurcations artériolaires dans le mésentère du rat. De cette étude, une relation empirique quantifiant la magnitude de la séparation de phase (*i.e* la distance à la

droite identité) est obtenue en ajustant aux données expérimentales une fonction sigmoïde à trois paramètres. Comme nous venons de le voir, il existe une valeur critique de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}}$ en-deçà de laquelle aucun globule rouge n'entre dans la branche fille, que retrouvent Pries *et al.* (1989). Cette particularité est exprimée par le coefficient qu'ils nomment X_0. L'influence de la différence de diamètre entre les branches filles entre elles et avec la branche mère, ainsi que l'influence de l'hématocrite et du confinement sur l'intensité de la séparation de phase sont encapsulées respectivement dans les deux autres paramètres de leur loi, appelés A et B. Adaptée aux globules rouges humains, en multipliant chaque coefficient par la racine cubique du rapport entre les volumes du globule rouge humain et celui du rat, leur loi s'énonce de la manière suivante (Roman *et al.*, 2016) :

$$\mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{GR}} = \begin{cases} 0 & \text{si } \mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{sang}} < \mathrm{X}_0 \\ 1 & \text{si } \mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{sang}} > 1 - \mathrm{X}_0 \\ \dfrac{1}{1 + \exp(-(\mathrm{A} + \mathrm{B}\,\mathrm{logit}(\dfrac{\mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{blood}} - \mathrm{X}_0}{1 - 2\mathrm{X}_0})))} & \text{sinon} \end{cases} \tag{2.14}$$

avec :

$$\begin{cases} \mathrm{X}_0 = \underline{\mathrm{X}}_0 \times (1 - \mathrm{H_D})/\mathrm{D}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{h}} & \text{où } \underline{\mathrm{X}}_0 = 1.12\ \mu\mathrm{m} \\ \mathrm{A} = -\underline{\mathrm{A}} \times \dfrac{\mathrm{D}^1_{\mathrm{h}} - \mathrm{D}^2_{\mathrm{h}}}{\mathrm{D}^1_{\mathrm{h}} + \mathrm{D}^2_{\mathrm{h}}} \times (1 - \mathrm{H_D})/\mathrm{D}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{h}} & \text{où } \underline{\mathrm{A}} = 15.47\ \mu\mathrm{m} \\ \mathrm{B} = 1 + \underline{\mathrm{B}} \times (1 - \mathrm{H_D})/\mathrm{D}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{h}} & \text{où } \underline{\mathrm{B}} = 8.13\ \mu\mathrm{m} \end{cases} \tag{2.15}$$

De plus, $\mathrm{logit}(x) = \ln\Big(\dfrac{\mathrm{x}}{1 - \mathrm{x}}\Big)$ et $\mathrm{D}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{h}}$ est le diamètre hydraulique [2] de la branche qui vaut W pour une section carrée W × W.

La loi de Pries *et al.* est la seule loi établie empiriquement *in vivo*. De plus, elle est formulée de telle sorte de pouvoir proposer une quantification de l'effet de séparation de phase sur l'ensemble du continuum de diamètres et d'hématocrites rencontré dans la microcirculation. Bien qu'utilisées dans de nombreuses études, de nouvelles formulations de lois ou modèles de séparation de phase ont été proposées depuis (Enden *et* Popel, 1994 ; Guibert *et al.*, 2010 ; Obrist *et al.*, 2010 ; Gould *et* Linninger, 2015 ; Lee *et al.*, 2017).

La dernière section de ce chapitre consiste à présenter des travaux récents, réalisés dans des géométries similaires à celles que nous allons considérer, à savoir des canaux à sections carrées. Peu d'études expérimentales

2. Pour une section de surface A et de périmètre P, le diamètre hydraulique $\mathrm{D_h}$ est égal à $\dfrac{4\mathrm{A}}{\mathrm{P}}$

proposent des résultats visant à une meilleure compréhension de la rhéologie des écoulements sanguins dans des sections rectangulaires ou carrées, avec au moins une des deux dimensions latérale de la section est inférieure à 20 μm. Nous les présentons ci-après, et articulons l'étude que nous avons conduite autour de celles-ci.

6. Études expérimentales dans des canaux de section rectangulaire ou carrée de petites dimensions

Nous débutons cette section par les canaux droits uniques et bifurcations, puis nous intéressons à la distribution des globules rouges dans des réseaux 2D modèles.

6.1 Canaux droits uniques et bifurcations

Notre étude se place dans la continuité de celle effectuée par Sophie Roman pendant sa thèse, de 2009 à 2012 (Roman, 2012). Durant ces années, un dispositif expérimental a été développé dans le but de pouvoir étudier les écoulements sanguins en micro-canaux. L'utilisation de dispositifs microfluidiques présente l'avantage, par rapport aux expérimentations *in vivo*, de permettre, outre un meilleur contrôle des conditions expérimentales, de s'affranchir d'effets physiologiques, tels que vasoconstriction/vasodilatation pouvant modifier les écoulements, et de ne sonder ainsi que la physique de la micro-hémodynamique, c'est-à-dire l'effet de la déformabilité des globules rouges sur la rhéologie sanguine. Le dispositif expérimental mis en place à l'époque a permis, grâce à un contrôle de l'injection et un système d'acquisition de séquences d'écoulements de suspensions de globules rouges humains, un développement métrologique important et nécessaire pour aller plus avant dans l'étude, notamment, de l'effet de séparation de phase. Ainsi, l'optimisation de la technique de la *dual-slit* a permis une paramétrisation du profil de vitesse des globules dans des canaux droits à section carrée dont le côté est du même ordre de grandeur que le globule rouge (voir Équations (2.2) et (2.3)). Ses travaux mettent en exergue l'influence du confinement sur l'aplatissement du profil de vitesse des globules rouges. Ce dernier est d'autant plus plat que le confinement est important.

Est associée à la mesure du profil de vitesse, une mesure de l'hématocrite de tube moyen. La connaissance de ces deux quantités est suffisante pour évaluer la mesure des débits de globules rouges et de sang (Roman *et al.*, 2016). Aussi une étude paramétrique de l'effet de séparation de phase s'en est suivie et a montré que la loi de Pries *et al.* (1989) est adéquate pour décrire l'intensité de la séparation de phase dans des bifurcations symétriques, *i.e.* à trois vaisseaux de dimensions identiques (10 ou 20 microns), et dans

des bifurcations asymétriques, où une branche a une dimension inférieure aux deux autres (10 *vs* 20 microns) en régime dilué (hématocrite dans la branche d'entrée inférieur à 5%). En revanche, en régime plus concentré dans les bifurcations symétriques dont les branches font 20 microns de diamètre, la loi de Pries *et al.* (1989) surestime l'intensité de la séparation de phase, en comparaison avec les points expérimentaux obtenus (voir Figure 2.16). Toutefois, les données obtenues présentent une forte dispersion, attribuée à la difficulté à stabiliser l'écoulement dans la branche d'entrée sur une durée suffisante pour acquérir les points expérimentaux. De même, la qualité des images n'offraient pas la possibilité de résoudre le profil d'hématocrite près des parois. Une première étape nécessaire à notre étude a donc été de concevoir de nouvelles géométries de puces microfluidiques permettant d'optimiser l'injection et donc stabiliser l'écoulement dans la branche d'entrée pour des durées suffisamment longues. Ensuite, le nouveau dispositif a été conçu pour offrir une meilleure qualité optique (voir Chapitre 3, Matériels et Méthodes). Notre objectif est de prolonger l'étude de Sophie Roman à une plus large gamme d'hématocrite, mais aussi pour des confinements plus importants. Nous comparerons nos résultats à la loi de Pries *et al.* (1989) afin de vérifier son domaine de validité. Les travaux expérimentaux de Sophie Roman ne sont pas les seuls à montrer les limitations de cette loi, ainsi que nous le rapportons ci-dessous.

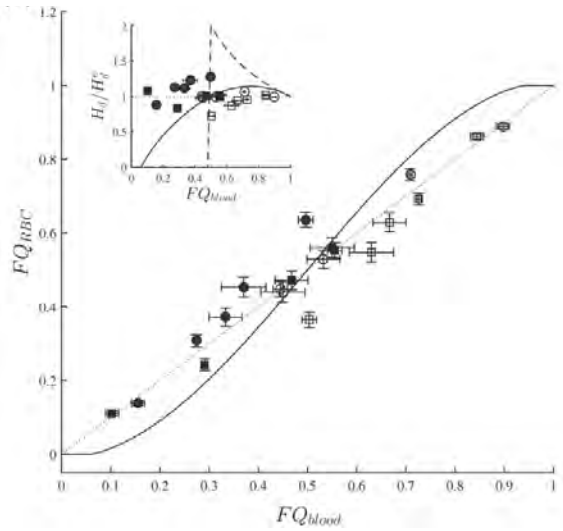

FIGURE 2.16 – Résultats expérimentaux de séparation de phase obtenus par Roman *et al.* (2016) pour un hématocrite fort dans la branche mère, dans une bifurcation où les trois branches ont la même section $\mathrm{W} \times \mathrm{W} = 20 \times 20\,\mu\mathrm{m}^2$. Courbe continue : loi de Pries *et al.* (1989) (Équations (2.14) et (2.15)) qui, par rapport aux points expérimentaux, surestime l'intensité de la séparation de phase.

Une étude numérique appuyée par des expérimentations réalisées en uti-

lisant des globule rouges humains, par Shen *et al.* (2016), dans la géométrie illustrée en Figure 2.17, dans laquelle tous les canaux ont la même section droite rectangulaire de 20 μm de largeur pour 8 μm de profondeur, montre que, pour un hématocrite de tube moyen dans la branche mère de l'ordre de 5%, l'effet Zweifach-Fung n'est pas retrouvé. Ceci est illustré par le fait que pour une valeur de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}} = 0.55 > 0.5$, on a $\dfrac{\mathrm{H}^1_{\mathrm{t}}}{\mathrm{H}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{t}}} \approx 0.75$ (voir Figure 6 de Shen *et al.* (2016), ou la Figure 5.13, du Chapitre dédié à la séparation de phase). Or, la loi de Pries *et al.* corrobore l'effet Zweifach-Fung dans le cas d'une bifurcation symétrique, comme c'est le cas ici, et ne peut donc prédire un tel résultat. Ainsi, cette loi empirique est mise à défaut du fait de la structuration à deux files de l'écoulement. Cette observation a été confirmée expérimentalement par Clavica *et al.* (2016). Notons tout de même qu'à plus fort hématocrite où à plus fort confinement latéral, cette structuration à deux files disparaît, confirmant alors la validité de l'effet Zweifach-Fung.

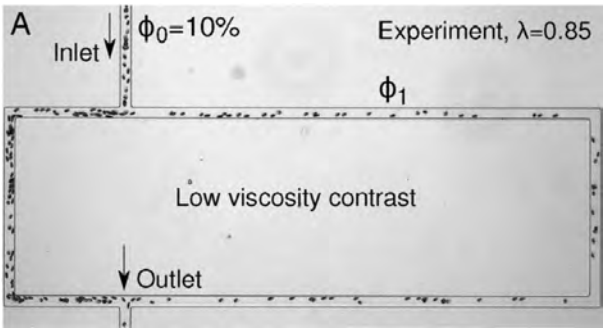

FIGURE 2.17 – Géométrie utilisée dans l'étude de Shen et *et al.* (2016).

6.2 Réseaux

Une conséquence directe de l'effet de séparation de phase au niveau d'une bifurcation est la distribution hétérogène de l'hématocrite dans des réseaux microvasculaire (Pries *et al.*, 1989). Aussi, nous souhaitons complexifier la géométrie dans laquelle s'écoulent les globules rouges et considérer des réseaux 2D modèles afin d'étudier en particulier les paramètres géométriques du réseau qui influent la distribution des globules rouges en leur sein. De même, nous souhaitons évaluer l'influence de paramètres dynamiques de l'écoulement, tels que l'hématocrite dans la branche mère du réseau, ou la vitesse des globules dans cette même branche. Peu d'études expérimentales *in vitro* dans de telles géométries, que nous considérons comme complexes, existent. Citons toutefois les travaux de l'équipe de Sergey Shevkoplyas (*e.g.* Shevkoplyas *et al.*, 2003 ; Shevkoplyas *et al.*, 2006 ; Burns *et al.*, 2012 ; Forouzan *et al.*, 2012 ; Sosa *et al.*, 2014 ; Reinhart *et al.*, 2015 ; Piety *et al.*,

2016) réalisés dans le réseau représenté sur la Figure 2.18. Un des résultats majeurs a été de montrer *in vitro* l'influence des globules blancs sur l'hémodynamique (Forouzan *et al.*, 2012). Bien que ceux-ci représentent moins de 1% du contenu cellulaire du sang, ils jouent un rôle important sur l'hémodynamique, ainsi que nous l'avons déjà souligné avec l'étude de (Hernandez *et al.*, 2017). La présence de ces derniers, du fait de leur taille et de leur moindre déformabilité que les les globules rouges, perturbe spatialement et temporellement la distribution des globules rouges en modifiant l'écoulement non seulement dans la branche dans laquelle ils circulent, mais aussi dans celles avoisinantes.

Une étude proposée par Stauber *et al.* (2017) a été conduite dans un réseau

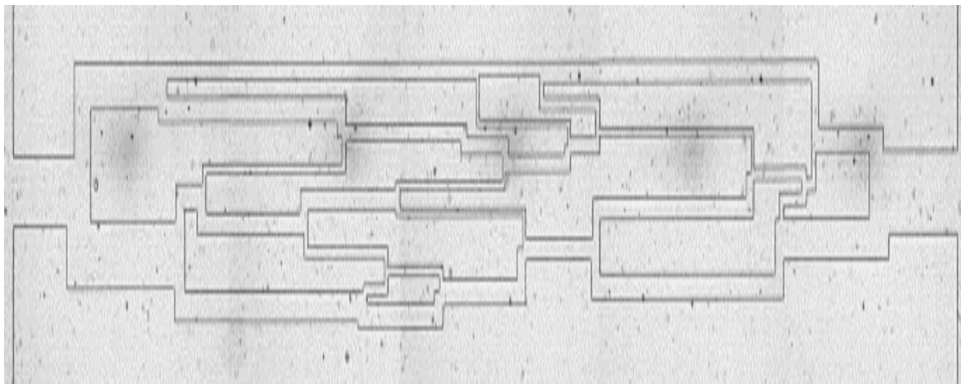

FIGURE 2.18 – Géométrie utilisée par Shevkoplyas *et al.* (2003). La largeur des canaux varie de 6 à 63 μm.

micro-vasculaire répliquant la géométrie que l'on retrouve *in vivo* dans le poumon. La géométrie du réseau capillaire que l'on y rencontre peut se modéliser par une succession de piliers de diamètre constant d_p et de hauteur d_h égale à la distance entre ses premiers voisins (voir Figure 2.19). Trois valeurs de d_h ont été considérées : 5, 7 et 10 μm. A notre connaissance, il s'agit de la première étude *in vitro* réalisée dans une géométrie aussi complexe avec un aussi fort confinement dans les deux directions de la section. De leur étude, il ressort une riche et diversifiée collection de trajectoires possibles empruntées par les globules rouges entre les piliers. De plus, ils montrent que, pour un même différentiel de pression imposé entre l'entrée et la sortie de leur dispositif, la vitesse moyenne des globules rouges est d'autant plus faible que le confinement est fort et aussi que celle-ci évolue linéairement avec le gradient de pression imposé.

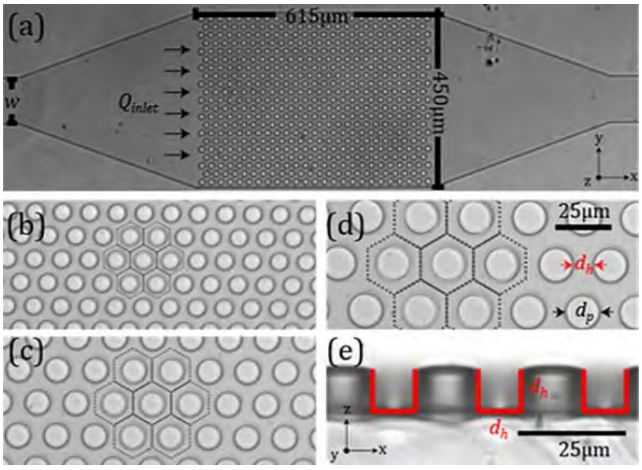

FIGURE 2.19 – Géométrie utilisée par Stauber *et al.* (2017).

7. Conclusion

Du fait des propriétés mécaniques de la membrane des globules rouges, la rhéologie sanguine exhibe des propriétés riches et atypiques qui font de l'étude de ce fluide complexe le sujet de nombreux travaux. Notre étude s'inscrit dans cette lignée de travaux. En particulier, nous souhaitons explorer expérimentalement un champ de la micro-circulation encore peu étudié, celui des écoulements très confinés géométriquement, caractéristiques des écoulements dans les capillaires sanguins, mais aussi celui des écoulements très concentrés (Coupier, 2017). Aussi, les interprétations des résultats que nous proposons dans ce manuscrit nécessitent d'être confirmées ou infirmées au moyen d'autres études réalisées dans ces conditions. Le chapitre suivant détaille l'ensemble des méthodes que nous avons déployées dans cette étude.

Chapitre 3

Matériels et Méthodes

Dans ce chapitre, nous décrivons les différents outils et protocoles expérimentaux utilisés dans notre travail. Nous commençons par le design des puces microfluidiques et leur fabrication par la technique dite de photolithographie douce, puis décrivons la préparation des suspensions de globules rouges. Enfin, après avoir décrit la chaîne d'acquisition permettant l'obtention des séquences d'écoulement de ces suspensions, nous détaillons les métrologies que nous avons choisi d'employer pour la mesure du profil de vitesse des globules rouges ainsi que pour le profil d'hématocrite (ou, lorsque ce n'est pas possible, pour la valeur de l'hématocrite de tube moyen).

1. Dispositif microfluidique : du design à la puce PDMS/verre

1.1 Design des bifurcations et réseaux

Nous utilisons dans notre étude deux types de bifurcations, dites symétrique et asymétrique, et une géométrie de réseaux à mailles élémentaires hexagonales, comprenant des microcanaux à section carrée de côté compris entre 5 et 20 μm.

Les bifurcations sont identifiées selon la nomenclature suivante : $W^1 - W^e - W^2 - \theta$, où les exposants 1, e et 2 font respectivement référence à la branche fille 1, à la branche d'entrée, et à la branche fille 2. W^i représente le côté de la branche i et θ est l'angle en degrés entre les deux branches filles. Une bifurcation est dite symétrique si ses branches filles ont la même section, et donc asymétrique si les sections de ses branches filles sont différentes.

Les types de bifurcations utilisées sont ainsi notées :

— $5 - 5 - 5 - 90$

— $5 - 5 - 5 - 180$

— $10 - 10 - 10 - 90$

— $10 - 10 - 10 - 180$
— $20 - 20 - 20 - 90$
— $20 - 20 - 20 - 180$
— $10 - 10 - 5 - 180$
— $20 - 20 - 10 - 90$
— $20 - 20 - 10 - 180$

Ces géométries de bifurcation peuvent bien sûr permettre d'étudier l'écoulement dans des canaux droits uniques : dans ce cas, seule la branche mère est utilisée.

Le design des géométries des bifurcations utilisées dans cette étude est inspiré de celui des bifurcations utilisées par Sophie Roman. Il existe toutefois deux différences majeures :

— L'étude conduite par Sophie Roman a mis en relief les difficultés techniques liées aux écoulements de suspensions de globules rouges dans des régimes de concentration élevée et de fort confinement. Parmi ces difficultés, citons celle qui consiste à maintenir un écoulement sanguin concentré stable suffisamment longtemps pour acquérir les données souhaitées, ce qui peut conduire à une importante dispersion des résultats expérimentaux, par exemple sur la séparation de phase. En particulier, la difficulté d'obtenir un écoulement dont l'hématocrite dans la branche mère est stable dans le temps rend difficile l'interprétation des résultats. Nous avons constaté qu'augmenter la largeur des canaux d'entrée permet de stabiliser l'écoulement. C'est pourquoi nos canaux d'alimentation, font $660\,\mu$m contre $100\,\mu$m pour "l'ancien" dispositif, et nos canaux de drainage $500\,\mu$m.
— Cette stabilisation des écoulements nous a permis d'étudier des régimes de concentration très élevée. De plus, grâce à une amélioration du protocole de la technique de photolithographie (voir Section 1.2) dont nous avons pu bénéficier, nous avons pu étudier des régimes de confinement plus importants avec notamment des canaux dont les dimensions latérales sont inférieures à la taille caractéristique d'un globule rouge ($W = 5\,\mu$m).

Outre les différences de design, contrairement à Sophie Roman qui a mené ses travaux dans des puces microfluidiques PDMS/PDMS (voir Section 1.3 pour plus de détails sur l'obtention du PDMS), nous avons choisi d'utiliser des puces PDMS/verre. Ce dernir dispositif fournit des séquences d'images dont la qualité est meilleure que celui en PDMS/PDMS, ce qui peut être apprécié sur la Figure 3.1.

Premièrement, l'image est plus nette, et, les globules, par rapport au fluide suspendant, ont un meilleur contraste ; deuxièmement, les oscillations d'intensité lumineuse que l'on distingue à l'œil nu au centre du canal dans le cas PDMS/PDMS sont très fortement atténuées. Seules des bandes de diffraction aux parois subsistent. Nous attribuons cette meilleure qualité optique à deux effets. Tout d'abord, l'épaisseur de la lame de verre est considérablement plus fine que l'épaisseur de PDMS. Ensuite, parce que moins rugueux que le PDMS, le verre perturbe moins le trajet optique des rayons lumineux.

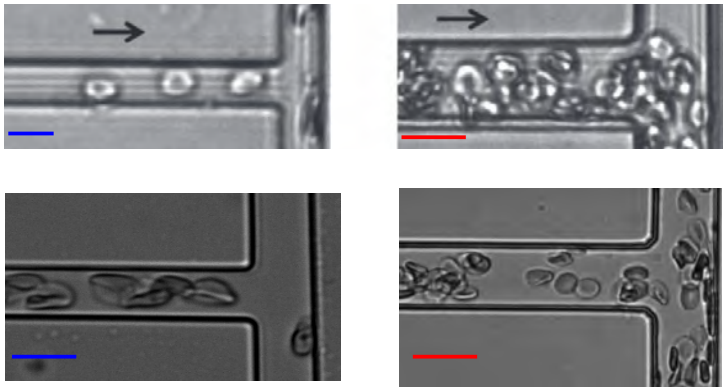

FIGURE 3.1 – Images typiques obtenues avec les puces PDMS/PDMS (haut) et PDMS/verre (bas). Gauche : bifurcation $10-10-10-180$; Droite : bifurcation $20-20-20-180$. Les barres bleues correspondent à $10\,\mu$m, les barres rouges à $20\,\mu$m. Les flèches noires indiquent le sens de l'écoulement, qui se fait le long de (Oz), dans la branche mère de la bifurcation. Les directions (Oy) et (Ox) sont respectivement orthogonale au plan de l'image (alignée avec les rayons lumineux) et orthogonale au canal d'entrée, mais appartenant au plan de l'image.

Enfin, nos réseaux sont de connectivité trois (un nœud du réseau a au plus trois premiers voisins). La maille élémentaire consiste en un hexagone régulier. Les branches qui constituent nos réseaux sont au nombre de 88 et ont toutes la même longueur : $50\,\mu$m. De même, les sections des branches sont toutes identiques : $10 \times 10\,\mu\text{m}^2$ ou $5 \times 5\,\mu\text{m}^2$. Un exemple de bifurcation, de réseau et quelques cotations relatives aux canaux d'alimentation et de drainage sont présentés sur la Figure 3.2.

Nombre de confinement géométrique

Nous avons choisi les dimensions des sections des canaux pour que le confinement géométrique, que nous appelons R, soit du même ordre de grandeur que celui que l'on trouve dans la micro-circulation (Desjardins *et al.*, 2014). R est défini comme :

$$\mathrm{R} = \frac{10}{\mathrm{W}} \tag{3.1}$$

Ici, par souci de simplicité, la valeur numérique 10 (microns) est assimilée à la taille caractéristique du globule rouge au repos (au lieu de ~ 8 microns). Ainsi, les valeurs de confinement que nous étudions sont égales à 0.5 ($W = 20\,\mu m$), 1 ($W = 10\,\mu m$) et 2 ($W = 5\,\mu m$) : plus R est grand, plus le confinement géométrique est important.

1.2 Fabrication des puces microfluidiques : obtention des moules par photolithographie douce

Le choix de la photolithographie douce repose sur trois raisons. Premièrement, cette méthode est rapide, peu coûteuse, et son efficience a été démontrée dans de nombreuses études (*e.g.* Shevkoplyas *et al.*, 2003 ; Roman *et al.*, 2012 ; Srivastav *et al.*, 2012). Deuxièmement, elle permet la gestion de multi-niveaux pour la fabrication de dispositifs comprenant des canaux de différentes épaisseurs. Toutefois, seules des sections avec des angles droits sont obtenues, car l'insolation se fait avec des rayons ultra-violets dont l'incidence est orthogonale au moule. Troisièmement, le rapport d'aspect de la section peut être égal à 1, identique au rapport d'aspect d'une section circulaire. De plus, une section carrée de coté W possède un diamètre hydraulique égal à W, tout comme une section circulaire de diamètre W. Cette similitude entre les deux sections autorise une comparaison naturelle entre nos résultats expérimentaux et ceux, expérimentaux ou numériques, obtenus dans les canaux à section circulaire (*e.g.* Fenton *et al.*, 1985 ; Lei *et al.*, 2013). La nécessité d'obtenir une section carrée porte uniquement sur nos canaux d'intérêts, c'est-à-dire tous les canaux à l'exception de ceux d'alimentation et de drainage.

Le principe de la photolithographie douce est le suivant. Une fois les géométries dessinées au moyen du logiciel CleWin4, elles sont reportées sur des masques verre-chrome par photolithographie laser. Une couche de résine est étalée au moyen d'une tournette sur un disque en silicium. L'épaisseur obtenue est fonction de la viscosité de la résine employée, de la vitesse et du temps de rotation de la tournette. La résine est dite photo-sensible, car, lorsqu'exposée à un rayonnement UV elle se réticule et durcit, ce qui lui permettra de rester intacte après l'étape de développement (on parle de résine photosensible négative). Nous superposons donc au disque de silicium couvert de résine le masque verre-chrome contenant les dessins de nos géométries. Le masque est opaque aux ultra-violets, à l'exception seulement des zones gravées par photolithographie laser. Ainsi, après l'étape d'insolation, les dessins des géométries contenus sur le masque verre-chrome sont projetés sur la résine. L'étape suivante est le développement. Identique à un développement photographique classique, celui-ci consiste à débarrasser le disque de silicium, au moyen d'un développeur, le 1-Methoxy-2-propyl acetate, de toute la résine encore soluble qui n'a pas été insolée. En annexe A,

nous présentons un document fourni par le LAAS détaillant chaque étape de la photolithographie douce réalisée en salle blanche. Notons que depuis la thèse de S. Roman, ce protocole a été amélioré, et une "recette" a été développée par le LAAS pour réaliser des canaux carrés de section $5 \times 5\,\mu m^2$, de manière reproductible. Finalement, afin de faciliter le décollement du polymère utilisé dans les étapes suivantes, le moule a subi un traitement de silanisation, qui consiste à déposer, sous phase liquide, une couche d'octadecyltrichlorosilane (OTS) à sa surface. A l'exception de la photolithographie laser, qui a été mise en œuvre par les spécialistes du Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Système (LAAS-CNRS, Toulouse) dans le cadre du réseau Renatech, nous avons effectué nous-même toutes les étapes que nous décrivons dans cette section, dans la salle blanche du LAAS.

1.2.1 Fabrication des moules à épaisseur unique de résine

Pour obtenir des canaux de section carrée, l'épaisseur désirée de résine négative SU-8 doit être égale à la largeur, W, des canaux d'intérêts. Nous adaptons donc le choix de la viscosité de la résine, de la vitesse et du temps de rotation de la tournette en fonction de l'épaisseur à atteindre. Après développement, ne reste plus que le relief positif de nos micro-canaux. L'épaisseur des canaux obtenus est unique sur tout le moule de silicium. Nous vérifions que celle-ci est bien égale à W, au moyen d'un profilomètre de contact. Pour vérifier que la largeur des canaux est elle aussi celle souhaitée, nous nous en remettons à la calibration réalisée par le personnel de la plate-forme de caractérisation du LAAS. Chaque processus de photo-lithographie donne la valeur souhaitée à 10% près. La largeur et l'épaisseur sont donc dans cette gamme d'incertitude.

1.2.2 Fabrication des moules à deux épaisseurs de résine

La photolithographie permet aussi la micro-fabrication de moules comportant deux épaisseurs (ou plus) de résine. Pour cela, CleWin 4 intègre la gestion de multi-niveaux, qui s'utilise comme suit. Supposons que nous souhaitions dessiner une bifurcation $20 - 20 - 10$. En pratique, un masque, que nous appelons A, contient toute la géométrie, lorsque le deuxième, appelé B, n'a que la partie de la géométrie à 20 microns d'épaisseur.

En salle blanche, pour obtenir plusieurs niveaux, nous commençons par étaler la couche de 10 microns et effectuons le processus dédié à l'obtention de moule à épaisseur unique de résine, en utilisant le masque A, jusqu'au développement. A la fin de cette première étape, nous obtenons des canaux d'intérêts de sections (largeur $\times$ hauteur) $10 \times 10\,\mu m^2$ et $20 \times 10\,\mu m^2$. Dans un deuxième temps, nous recouvrons le moule d'une couche de résine de $20\,\mu m$ d'épaisseur, mais choisissons l'insolation adaptée à une couche de résine d'épaisseur 10 microns, effectuée à travers le masque B. L'étape d'inso-

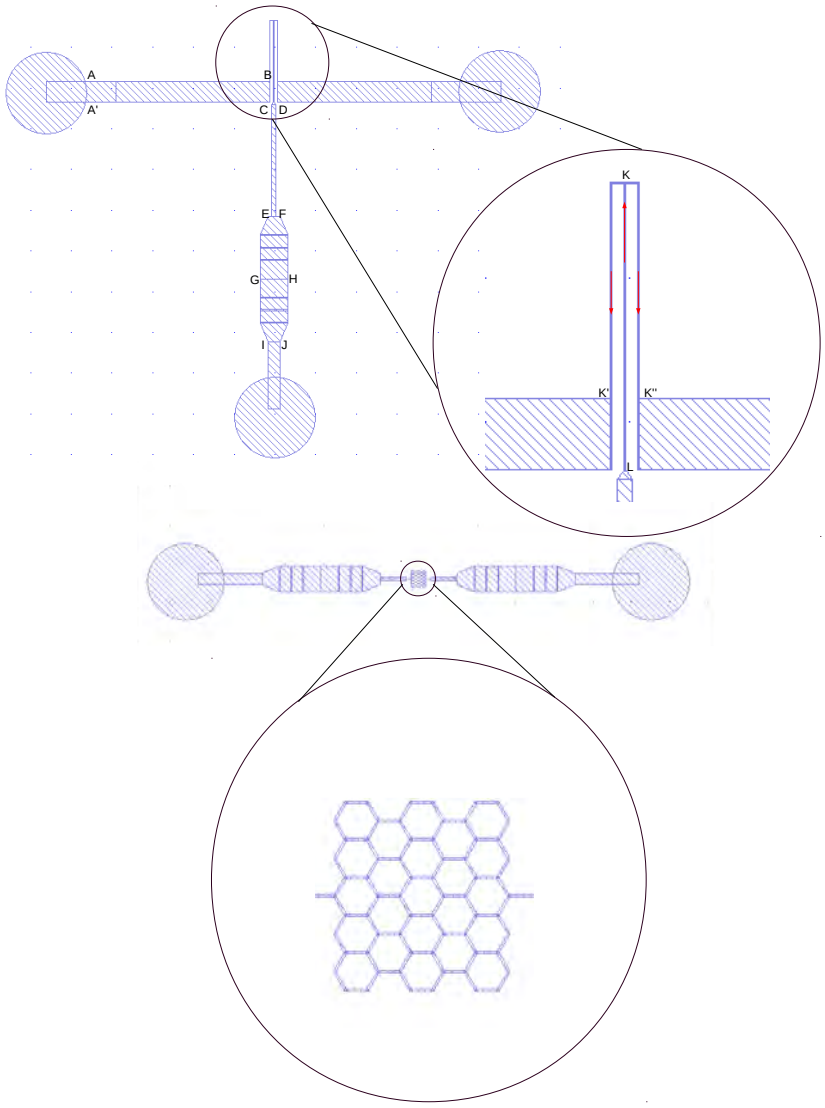

FIGURE 3.2 – Bifurcation $10 - 10 - 10 - 180$ en haut, et réseau W = 5, en bas. Les canaux d'alimentation et de drainage sont aussi montrés et sont les canaux hachurés. Cotations (en microns) : AB=4460, AA'=BC=500, CD=100, EF=IJ=300, GH=660, KL=2000, IE=3000, EC=2740. La structure K'KK"L est la bifurcation à proprement parler. KL est la branche mère, quand KK' et KK" sont les branches filles. La zone EFHJIG est la zone du canal d'alimentation dont les dimensions ont été agrandies par rapport au dispositif de S. Roman.

lation est ici critique, car elle requiert d'aligner le mieux possible le deuxième masque avec les structures déjà insolées, mais noyées sous la nouvelle couche de résine. Des mires d'alignements sont prévues à cet effet. Un mauvais alignement résulte en une déviation à la section carrée désirée plus ou moins

importante. Il convient donc d'être attentif à ce point lors du contrôle du résultat final par visualisation du moule par un microscope à réflexion possédant des objectifs à fort grossissement.

1.3 Fabrication des puces microfluidiques : du moule silicium/SU8 à la puce PDMS/verre

Nos puces sont réalisées en polydiméthylsiloxane (PDMS) et verre. Le PDMS est un polymère constitué d'un élastomère silicone (SYLGARD 184 Silicone elastomer) et d'un agent réticulant (SYLGARD 184 Curing agent). Le mélange entre les deux constituants est de 1g d'agent réticulant pour 10g d'élastomère silicone. A température ambiante, le mélange se présente sous une forme liquide. Lorsque chauffé suffisamment longtemps (au moins une heure à 60°C), le mélange se solidifie et est transparent aux longueurs d'ondes du spectre visible.

Ainsi, pour réaliser nos puces, nous préparons le mélange d'élastomère et de réticulant que nous versons sur nos moules de silicium à une ou deux épaisseurs de résine. Nous dégazons alors le PDMS dans une cloche à vide afin que la présence de bulles d'air, qui resteraient piégées dans le PDMS solide, ne perturbe pas le trajet des rayons lumineux lors de l'acquisition des séquences d'écoulement et ne détériore pas la qualité des images obtenues. Le moule est ensuite laissé dans un four à 60°C pendant une nuit. Le démoulage se fait après découpage d'un pavé autour de la structure qui nous intéresse. Le PDMS est ensuite perforé dans toute son épaisseur au moyen d'un embout métallique de seringue. Ces trous accueilleront les tubes qui relient la puce au réservoir externe de sang et au contenant à effluents. Le pavé de PDMS est déposé sur une lame de verre de 0.1mm. Cette manipulation simple a pour effet de chasser l'air contenu entre le PDMS et la lamelle, à l'exception de celui contenu dans les canaux, et ainsi solidariser les deux parties. Afin d'assurer l'étanchéité de la puce et de renforcer l'adhésion du PDMS solide au verre, du PDMS liquide est répandu sur l'ensemble du pourtour PDMS/verre, puis la puce est remise au four à 60°C pour au moins une heure. Trois parois des canaux sur quatre sont donc en PDMS et la dernière en verre.

2. Préparation des suspensions de globules rouges et mise en écoulement

Les échantillons de sang dont nous nous servons sont fournis par l'Etablissement Français du Sang (EFS) de Toulouse. Recueillis dans des tubes de 5 ml contenant un anticoagulant, l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), les échantillons proviennent de donneurs sains, donneurs réguliers de plaquettes. Prélevés le matin, les tubes nous sont remis l'après-midi, pour une

utilisation immédiate, ou ultérieure après stockage à +4°C pour une période n'excédant pas 5 jours.

2.1 Fluide suspendant

Nous utilisons pour suspendre les globules rouges une solution dite "*isodense*" (Roman *et al.*, 2012 ; Roman *et al.*, 2016) car sa densité est de 1.1 quand celle des globules rouges varie entre 1.09 et 1.11. La solution isodense est un mélange de Glucose Albumin Sodium Phosphate (GASP) et d'Optiprep (Sigma Aldrich), qui est une solution d'iodixanol, milieu utilisé pour la séparation de cellules par gradients de densité.

Plus spécifiquement, le GASP est une solution tampon phosphate salin (*phosphate buffered saline*, PBS, Sigma Aldrich) qui contient 2.5 mg/ml d'albumine sérique bovine (*bovine serum albumin*, BSA, Eurobio) et 1 mg/ml de glucose. Au GASP est mélangé une solution stock dont 90% du volume est de l'Optiprep et les 10% restant correspondent à du GASP concentré dix fois, préparé à partir de PBS concentré dix fois (Fischer Bioreagents). 35% du volume de la solution isodense est composé par la solution stock, et les 65% restant sont du GASP. L'emploi de cette solution isodense facilite considérablement les expérimentations, en empêchant la sédimentation des globules rouges dans la tubulure d'alimentation.

Outre la correspondance des densités, il est important de s'assurer que le pH, la conductivité ionique et l'osmolarité correspondent à celle du plasma, cette dernière étant par ailleurs égale à celle de la solution cytoplasmique du globule rouge. En effet, les globules rouges sont très sensible à leur environnement : une solution hypertonique a pour effet de les rendre echinocytes, c'est-à-dire avec une forme caractéristique qui évoque celle de l'oursin (du grec *echinos*, épine), alors qu'une solution hypotonique peut conduire à un gonflement du globule, voire une hémolyse (déchirement de la membrane du globule). Nous avons effectué une seule mesure de pH, conductivité ionique et osmolarité. Les valeurs alors mesurées de ces trois grandeurs étaient respectivement 7.5 ± 0.4, $1.5 \pm 0.4\,\mathrm{S.m^{-1}}$ et $285 \pm 15\,\mathrm{mOsm.kg}H_2O^{-1}$. Bien que, par la suite, nous n'ayons pas effectué d'autres mesures, avant toute acquisition de séquences d'écoulement, grâce à une observation sous microscope entre lame et lamelle ou directement dans nos puces microfluidiques, nous nous assurons que la forme biconcave typique du globule rouge au repos est maintenue lorsque celui-ci est suspendu dans notre solution.

2.2 Suspension de globules rouges

Afin de séparer les globules rouges des autres constituants du sang, 500 μl de sang total sont suspendus dans un aliquote d'une capacité de 2 ml contenant 1 ml de PBS, puis centrifugés à 1400 rpm pendant 3 min. Les globules rouges étant les cellules les plus denses du sang, ils se retrouvent "compac-

tés" dans le culot de l'aliquote, ce qui permet de prélever le surnageant, de le remplacer par du PBS puis d'effectuer un mélange doux à l'aide d'une micro-pipette pour resuspendre les globules rouges. Cette opération est répétée encore deux fois. A chaque étape, la couleur du surnageant évolue du jaune au translucide, indiquant que l'aliquote ne contient plus de plasma. La dernière étape consiste donc à prélever le volume souhaité de globules rouges dans le culot et de le suspendre dans la solution isodense contenue dans un tube Falcon de 15 ml, afin d'obtenir la suspension de globules rouges à concentration souhaitée. Nous prenons en compte le fait que la concentration en globules rouges dans le culot n'est pas de 100%, du fait du piégeage d'un faible volume de fluide. Ceci est connu sous le nom de *plasma trapping*. Il a été montré que celui-ci n'excède généralement pas 3% (Chaplin *et* Mollison, 1952). La concentration de la suspension ainsi obtenue est appelée hématocrite de réservoir.

2.3 Mise en écoulement

Avant toute mise en écoulement de la suspension dans une puce microfluidique, nous laissons s'y écouler du GASP pendant 12 à 24 heures, afin d'effectuer un dépôt de BSA par adsorption de la molécule sur le PDMS et surtout le verre. Les globules rouges réagissent mal au contact avec ce dernier et prennent une forme echinocyte. Le dépôt de BSA a pour but de limiter voire empêcher une telle modification des globules.

Le tube Falcon de 15 ml qui contient la suspension à hématocrite de réservoir est relié à un contrôleur de pression disposant de huit voies (MFCS-8C, Fluigent) et à la puce microfluidique, grâce au trou prévu pour l'injection. Le ou les tubes de silicone (Tygon Silicone Tubing, diamètre interne 1/32") qui recueillent les effluents sont reliés à la puce et au contrôleur de pression. Le contrôleur est conçu de telle sorte qu'il est possible d'imposer indépendamment la pression d'entrée et la ou les pressions de sortie. Pour nos expériences, nous avons utilisé des pressions imposées par le contrôleur variant entre 10 et 250 mbar, indépendamment en entrée et pour chaque sortie.

2.4 Acquisition des séquences d'écoulements

Selon les géométries et les régimes étudiés, le temps caractéristique convectif mis par chaque globule pour traverser le champ de vue du microscope est compris entre la milliseconde et la seconde. C'est pourquoi l'acquisition de séquences à très haute cadence est nécessaire pour l'extraction d'informations concernant le profil de vitesse des globules rouges par *dual-slit* (Roman *et al.*, 2012). La caméra pco.dimax S que nous utilisons répond à ce critère, du fait de sa très haute fréquence d'acquisition qui peut varier entre 1279 Hz en pleine résolution (2016 pixels $\times$ 2016 pixels) et 152 811 Hz, pour une résolution de 240 pixels $\times$ 16 pixels. La caméra est

montée sur un microscope (DMRXA2, Leica), disposant d'objectifs ×2.5, ×5, ×10, ×20, ×50. Nous présentons sur la Figure 3.3 une image extraite d'une séquence d'écoulement dans un canal droit, dans une bifurcation et dans un réseau. La taille de chaque géométrie contraint la résolution des images, ce dernier critère allant de pair avec une fréquence d'acquisition maximale. Ainsi, il est nécessaire de trouver un compromis entre la taille de la zone que nous souhaitons imager, le choix de l'objectif et la fréquence d'acquisition.

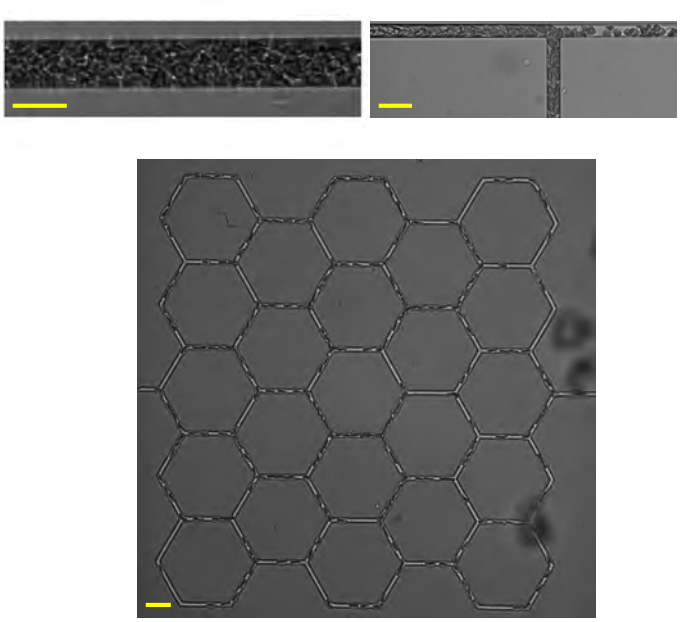

FIGURE 3.3 – Images typiques d'écoulements obtenues dans les géométries considérées dans cette étude : canal droit simple ($R = 0.5$, $W = 20\,\mu$m) pour lequel l'hématocrite de tube vaut environ 0.18, bifurcation $10 - 10 - 10 - 90$ pour laquelle l'hématocrite d'entrée vaut environ 0.15, et réseau modèle 2D ($R = 2$ $W = 5\,\mu$m) avec un hématocrite d'entrée valant environ 0.20. Dans les trois cas, la barre jaune représente $20\,\mu$m.

Dans la suite, les méthodes utilisées au cours de cette thèse pour la mesure des profils de vitesse des globules rouges et d'hématocrite sont détaillées. Les informations extraites de ces profils permettent le calcul des débits de sang et de globules rouges. Dans un premier temps, nous nous intéressons à la mesure du profil de vitesse de globules rouges.

3. Mesure du profil de vitesse des globules rouges

Nous avons souligné dans le chapitre précédent (voir Section 3.1.2) le principe de la *dual-slit*, adapté à nos conditions expérimentales. Celui-ci repose sur la mesure du temps mis par les globules à parcourir la distance L_S qui sépare les *slits* (qui sont des régions d'intérêt de largeur w choisies sur l'image), directement à partir d'une séquence d'écoulement. La mesure de cette durée est donnée par le calcul du maximum de corrélation temporelle entre les profils de niveaux de gris induits dans la largeur du canal par la présence des globules rouges qui "partent" de la première *slit* et "arrivent" à la deuxième.

En pratique, le calcul du maximum est réalisé dans la largeur du canal sur des groupes de trois pixels.

La fréquence d'acquisition, F, doit être suffisamment élevée pour que le déplacement D_{im} des globules rouges entre deux images consécutives, soit inférieur à 0.6 pixels (Roman *et al.*, 2012).

De même, un nombre minimal d'images, M, qui est fonction de la vitesse maximale des globules rouges, de la fréquence d'acquisition et de L_s, est requis pour permettre la convergence de l'algorithme de corrélation. Finalement l'optimisation de la technique de *dual-slit* repose sur un choix judicieux de la distance inter-*slit*. En effet, dans certains régimes de confinement ($R \leqslant 0.5$) un gradient significatif de vitesse des globules rouges apparaît dans les directions Ox et Oy. L'idée derrière cette optimisation est de tirer partie de ces gradients de vitesse en choisissant la distance inter-*slits* de manière à ce que l'information résultante de la corrélation des profils de niveaux de gris soit principalement celle issue des globules les plus rapides, en limitant la contribution des globules les plus lents. Cette technique permet donc l'extraction du profil de vitesse maximale des globules rouges $V_{max}^{GR}(x)$.

Les grandeurs pertinentes et les relations qui les lient, nécessaires pour une implémentation optimale de la *dual-slit* sont résumées dans la Table 1 ci-dessous. Pour nos travaux impliquant l'usage de la *dual-slit*, nous avons nous aussi utilisé ces relations.

F (images par seconde)	M (images)	w (pixels)	$L_S(pixels)$
$D_{im} = V_{max}\delta/F$	$D_{acq} = MD_{im} \geqslant 9000$	$w = 1$	5 à 10 D_{GR}

TABLEAU 3.1 – Paramètres optimaux pour l'implémentation de la *dual-slit*, d'après Roman *et al.* (2012). V_{max} est la vitesse maximale des globules rouges. δ, exprimé en px/μm représente le facteur de proportionnalité entre une distance mesurée en pixel sur l'image et sa correspondance en μm. w est la largeur des slits. D_{GR} est le diamètre d'un globule rouge.

Outre les contraintes techniques imposées ci-dessus par l'implémenta-

tion optimale de la *dual-slit*, la convergence de l'algorithme de corrélation est aussi soumise à des contraintes liées à la physique de l'écoulement de suspensions de globules rouges. En particulier, se placer dans un écoulement en régime établi pour en extraire le profil de vitesse maximale est idéal. Ainsi, les géométries adaptées à cette métrologie sont les canaux droits longs (dont la longueur est supérieure ou de l'ordre du millimètre), et par extension les bifurcations. Les réseaux, du fait de la longueur des canaux qui est considérablement plus courte, ne sont pas adaptées à la *dual-slit*. De plus, comme nous l'avons vu, afin de pouvoir imager l'intégralité du réseau, il est nécessaire d'acquérir des images en pleine résolution, ce qui ne permet pas de satisfaire la condition de nombre minimal d'images pour l'implémentation optimale de la *dual-slit*. Ainsi, les mesures de vitesses dans ces géométries seront réalisées par micro-PIV (μ-PIV). Cette mesure par μ-PIV se fait sur toutes les images de la séquence, en utilisant les globules rouges comme traceurs. Le calcul est effectué avec le logiciel Davis, avec la méthode dite de somme de corrélations, dans laquelle les maxima de corrélations entre chaque paire d'images de la séquence sont sommés sur l'ensemble de la séquence, de sorte d'obtenir un rapport signal sur bruit significatif (Antoine *et al.*, 2013). Une telle méthode est particulièrement adaptée aux écoulements stationnaires observés dans nos réseaux (Antoine *et al.*, 2013).

Les profils de vitesse des globules rouges sont extraits des séquences d'images acquises. A partir de ces mêmes séquences, nous pouvons extraire des informations sur le profil d'hématocrite. Nous présentons immédiatement ci-après la méthode employée à cette fin pour les confinements les plus faibles, R $\leqslant$ 1. Une méthode spécifique au cas R = 2 sera donnée en Section 5 de ce chapitre.

4. Mesure du profil d'hématocrite : R $\leqslant$ 1

Ainsi que nous l'avons vu dans le chapitre précédent (Section 3.2), il existe plusieurs méthodes de mesure de l'hématocrite de tube local moyen, $\bar{H}_t$. Nous souhaitons obtenir, en plus de cette valeur moyenne, une information concernant la distribution des globules rouges dans la section droite d'un canal, en particulier lorsque l'hématocrite devient trop important. Autrement dit, nous voulons déterminer la forme du profil d'hématocrite. D'emblée, une méthode manuelle d'hématocrite par comptage est à exclure, puisqu'elle ne peut nous renseigner sur la forme de ce profil. Nous avons choisi d'allier la méthode photométrique proposée par Roman *et al.* (2016) qui s'appuie sur la mesure d'un profil de densité optique (DO), à une calibration DO en fonction de $\bar{H}_t$, réalisée dans un dispositif commercial initialement destiné au comptage de spermatozoïdes : les lames Leja.

Calibration DO vs $\bar{H}_t$: pourquoi utiliser un dispositif externe ?
Avant de choisir un dispositif externe, nous avons tenté de calibrer cette relation directement à partir des puces microfluidiques. La méthode par comptage est par nature limitée aux cas suffisamment dilués pour permettre de discerner les globules rouges. Nous avons donc cherché à établir, dans un premier temps, une relation entre l'hématocrite de réservoir, qui est celui de la suspension du tube Falcon et qui est toujours connu, et la densité optique dans un canal de notre puce. Toutefois, nous nous sommes aperçu que, pour un hématocrite de réservoir donné et pour deux expériences distinctes réalisées avec une même géométrie, la valeur de densité optique mesurée dans le canal d'intérêt peut varier de 50%, ne permettant pas une calibration suffisamment fine et satisfaisante. Une recherche des causes possibles expliquant de telles variations n'ayant pas fourni de réponses satisfaisantes, nous avons opté pour l'emploi d'un dispositif externe nous permettant un contrôle rigoureux de l'injection.

4.1 Calibration DO vs $\bar{H}_t$ par utilisation des lames Leja : principe et difficultés

Les lames Leja (Leja Products B.V., voir Figure 3.4) consistent en deux lames de verres parallèles, distantes d'une hauteur h et solidarisées au moyen d'un ciment (voir Figure 3.4, parties grisées entre les deux extrémités bleues). Ce ciment fait aussi office de paroi séparant les différentes *chambres* contenues dans *une* lame Leja. Ce dispositif est utilisé, chez l'Homme comme chez l'animal, pour le comptage de spermatozoïdes. Ce comptage est effectué en cas, par exemple, de problème de fertilité.



FIGURE 3.4 – Exemple de lame Leja utilisée dans notre étude. Ici une lame d'épaisseur 20 microns, avec quatre chambres A, B, C et D. La longueur d'une chambre, de l'entrée à la sortie, correspond à 2 cm. L'encoche à côté de chaque lettre correspond à la zone de dépôt de la goutte qui va remplir par capillarité la chambre.
Source : http ://www.leja.nl

Il existe 4 types de lames, chaque type correspondant à une valeur de h : 10, 12, 20 ou 100 microns. Dans une étude précédente, des mesures par interférométrie ont montré que pour les lames 20 microns la déviation à l'épaisseur h annoncée par le fabricant est de ± 0.5 microns (Douglas-Hamilton

et al., 2005a). Par ailleurs, l'épaisseur de l'entrefer est très petite devant la longueur de la chambre (de l'entrée à la sortie) qui est d'environ 2 cm. Ainsi une lame Leja est une cellule de Hele-Shaw commerciale, dont l'entrée et la sortie sont les parties les plus étroites (environ 1 mm). Selon le type de lame, le volume d'une chambre varie entre ~ 2 et $\sim 30\,\mu$l. Enfin, le verre des lames a subi un traitement le rendant bio-compatible ; ce traitement, tenu secret, empêche, selon le fabricant, à la fois l'adhésion des cellules et la formation de bulles d'air lors du remplissage.

Du fait de leur conception, le principe d'utilisation des lames est simple : une goutte de l'échantillon à étudier est déposée en "entrée" de la chambre (encoche qui se trouve à côté des lettres, voir Figure 3.4). Celle-ci se remplit alors très rapidement par capillarité. Les raisons ayant motivé l'emploi de ce dispositif de comptage pour la calibration DO vs $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ sont les suivantes : premièrement, parmi les confinements des micro-canaux que nous considérons, deux sont présents dans la gamme proposée par Leja, à savoir $\mathrm{R} = 0.5$ et $\mathrm{R} = 1$. Ensuite, la configuration optique en la lame Leja, avec présence de dioptres plans uniquement entre la source lumineuse et l'optique collectrice du microscope (en l'absence des cellules sanguines) est similaire à celle de nos dispositifs microfluidiques. Enfin, le principe d'utilisation des lames assure *a priori* la possibilité d'associer une valeur de densité optique à la concentration de la suspension injectée dans la lame.

Toutefois, nous nous sommes trouvés confrontés à une difficulté technique dans l'emploi des lames, qu'il nous a fallu résoudre : des inhomogénéités de concentration apparaissent dans la lame pendant et après son remplissage, rendant de fait caduque l'emploi tel quel de ce dispositif pour une calibration.

4.1.0.1 Inhomogénéités de concentration après injection

Nous illustrons avec la Figure 3.5 gauche, les inhomogénéités qui sont visibles à l'œil nu après remplissage de la lame par une suspension de globules rouges. Du site d'injection au ménisque, la couleur de la suspension est rose clair, sur l'ensemble de cette zone. Au niveau du ménisque, par contre, la couleur est beaucoup plus foncée, ce qui témoigne d'une concentration en globules rouges plus importante à ce niveau par rapport au reste de la lame remplie par la suspension. Nous ne connaissons donc la concentration en globules rouges ni au niveau du ménisque, ni en amont de celui-ci.

Sur la Figure 3.5 droite, nous imageons la région proche du ménisque au microscope. Dans la direction entrée/sortie, que nous appelons (Oz) par analogie avec la notation adoptée pour les micro-canaux, apparaît très nettement un gradient de concentration. A l'interface fluide suspendant/air (donc au niveau du ménisque) on observe une concentration plus importante qu'en amont de cette zone. La Figure 3.6 met en relief cette sur-concentration au

niveau du ménisque, au moyen de la mesure du profil d'intensité. Sur la Figure 3.6 droite, l'intensité au niveau du ménisque est nettement plus faible que sur la partie située en amont. Cette répartition particulière n'est pas spé-

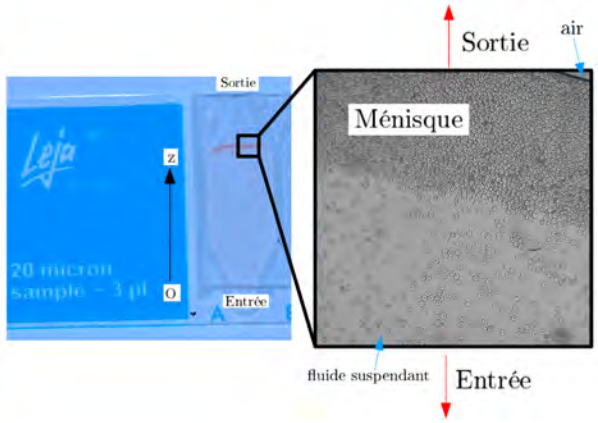

FIGURE 3.5 – Échantillon de sang injecté dans une lame Leja. Gauche : Photographie. L'excès de globules rouges au niveau du ménisque est clairement visible dans la chambre A : la coloration presque rouge est bien plus foncée dans la partie avale que dans la partie amont, qui est rose pâle, illustrant l'inhomogénéité de la concentration dans la lame. Droite : grossissement au microscope d'une portion du ménisque, mettant en évidence l'accumulation des globules rouges au niveau de ce dernier. Le fluide suspendant est du PBS.

cifique aux globules rouges, des gradients de concentration ayant aussi été observés pour des suspensions de spermatozoïdes, même ceux pour lesquels la motilité est thermiquement inactivée (Douglas-Hamilton *et al.*, 2005a ; Douglas-Hamilton *et al.*, 2005b). Cette observation suggère donc que cette répartition est le fruit d'un effet hydrodynamique.

4.1.0.2 Origine physique des inhomogénéités

Pour expliquer l'apparition du gradient de densité le long de l'axe Oz, Douglas-Hamilton *et al.* (2005b) invoquent un effet de migration inertielle dans la direction orthogonale à l'écoulement, observé pour la première fois par Segré (1961) dans des canaux droits à section circulaire de rayon R (de l'ordre de plusieurs centimètres) pour des billes de poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA). Cet effet prendra plus tard le nom d'effet Segré-Silberberg. Nous expliquons brièvement ci-dessous en quoi consiste cet effet.

Initialement uniformément réparties en entrée, la distribution des billes dans la section droite du cylindre évolue le long de l'écoulement. Les billes sont soumises à une force centripète si elles sont positionnées à une distance r du centre de la section telle que $\frac{r}{R} \gtrsim 0.6$, ou bien soumises à une force centrifuge si $\frac{r}{R} \lesssim 0.6$. Leur position finale r_∞, si le tube est suffisamment

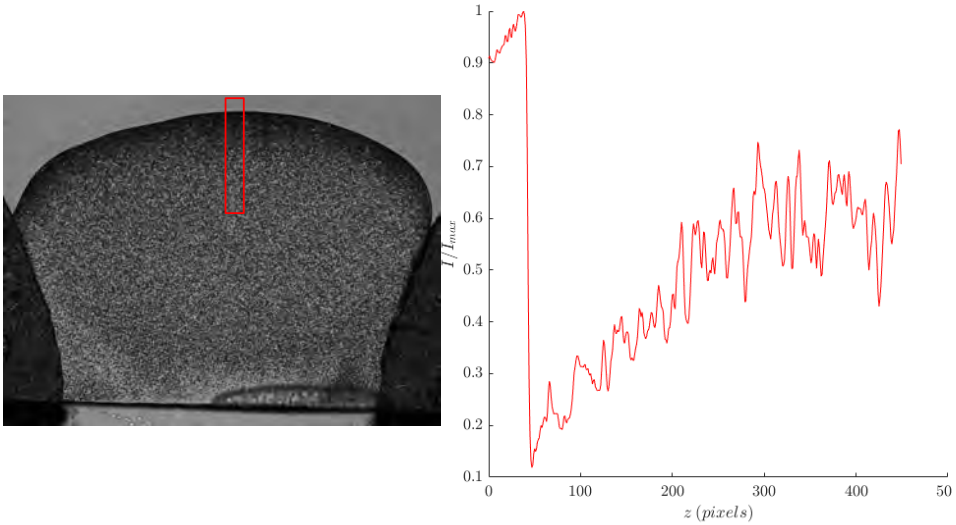

FIGURE 3.6 – Gauche : observation au microscope d'une goutte de faible volume ayant été injectée dans une lame Leja (hématocrite injecté : 7%, injection par le bas). Droite : le profil d'intensité lumineuse (niveau de gris) au niveau de la zone de mesure représentée par un rectangle sur la figure de gauche est d'abord moyennée selon la largeur du rectangle puis normalisée par l'intensité mesurée sur la partie vide de la chambre, qui est la valeur maximale. $z < 50$ px représente l'air, $z \approx 50$ px le ménisque et $z > 50$ px le sang. Au niveau du ménisque, dans la goutte, l'intensité est visiblement plus faible qu'en amont (valeur de 0.15 contre 0.6 environ). Notons aussi le fort gradient que présente le profil d'intensité.

long, sera telle que $\frac{r_\infty}{R} \approx 0.6$ (Segré *et* Silberberg, 1962), voir Figure 3.7.

Les forces auxquelles sont soumises les billes proviennent de la courbure du profil de vitesse du fluide dans lequel elles sont suspendues. La distribution des billes autour de cette position d'équilibre est d'autant plus étroite que la fraction volumique des billes est faible et que le nombre de Reynolds de tube, Re_t est petit avec $30 \leq Re_t \leq 100$. Tant que Re_t reste compris entre ces deux valeurs et que la fraction volumique est suffisamment faible, le diamètre des billes, compris entre 0.8 et 1.71 mm, n'a que peu d'influence sur la dispersion autour de la position d'équilibre (Segré *et* Silberberg, 1962). Cependant il s'agit là d'un effet inertiel incompatible avec le nombre de Reynolds inférieur à 1 qui caractérise le remplissage d'une lame Leja, à la fois par du sperme ou du sang.

C'est pourquoi, Douglas-Hamilton *et al.* (2005b), pour expliquer quantitativement leur résultats, ne s'appuient pas directement sur la théorie qui découle de l'effet Segré-Silberberg, mais s'appuient sur celle développée par Vasseur *et* Cox (1976). La théorie développée par ces derniers s'inscrit dans la lignée d'études faisant suite à la découverte de l'effet Segré-Silberberg. Aussi, Douglas-Hamilton *et al.* (2005b) semblent-ils se référer à l'effet Segré-

Silberberg pour des raisons historiques, cet effet étant, *a priori*, la première occurrence reportée dans la littérature de migration latérale subie par des billes dans un écoulement de Poiseuille.

Vasseur *et* Cox (1976) ont montré analytiquement que, pour un nombre de Reynolds de tube inférieur à 1 et pour une section rectangulaire dont l'une des direction est très grande devant l'autre, une particule considérée comme ponctuelle, sans aucune interaction avec d'autres particules, plongée dans un écoulement de Poiseuille va se stabiliser, exactement comme dans l'effet Segré-Silberberg, sur un plan y_∞ (ou son symétrique $-y_\infty$) qui, du fait de sa position, vérifie $V_{y_\infty} > \bar{U}$, où $\bar{U}$ est la vitesse moyenne débitante, et donc la vitesse du ménisque.

La théorie développée par Vasseur *et* Cox (1976) est valable pour des particules sphériques rigides, dont le diamètre est petit devant h. En négligeant la présence du flagelle, la tête des spermatozoïdes de porcs utilisés dans les deux études de Douglas-Hamilton *et al.* (2005ab) peut être approchée par une sphère de rayon $\sim 2\mu$m. La fraction volumique en spermatozoïdes des échantillons utilisés (40 millions par millilitre) est de 0.1% (régime très dilué). Ainsi, en supposant que le profil de vitesse de fluide suspendant est un profil de Poiseuille, Douglas-Hamilton *et al.* (2005b) déterminent, à partir de la théorie de Vasseur *et* Cox (1976), que la vitesse de migration latérale des spermatozoïdes suit la relation :

$$V_y = \frac{a\rho U_m^2}{\mu}\left(\frac{a}{h}\right)^2 F \tag{3.2}$$

où a est le rayon de la particule, ρ la masse volumique du fluide suspendant et μ sa viscosité dynamique, U_m la vitesse maximale du profil de Poiseuille et F est un scalaire, compris entre 0 et ~ 5, dépendant de la position y de la particule : la valeur $F = 0$ n'est obtenue que pour $y = y_\infty$. Dans ce cas, $V_y = 0$, il n'y a donc plus de migration latérale.

Par ailleurs, l'Équation (3.2) suggère qu'augmenter suffisamment la valeur de h, peut réduire l'intensité de la vitesse de migration. Cette prédiction est confirmée, *a minima* qualitativement, par les résultats expérimentaux obtenus dans les lames 100 microns par ces auteurs.

De même toujours d'après l'Équation (3.2), réduire la vitesse de remplissage devrait aussi conduire à une réduction de la vitesse de migration. A cette fin, Douglas-Hamilton *et al.* (2005a), avant d'injecter l'échantillon de sperme, obstruent la sortie de la chambre avec du correcteur liquide blanc. Ce fluide complexe se compose de particules suspendues dans un liquide volatile. Après séchage, le liquide s'est totalement évaporé laissant alors place à un milieu poreux composé par les particules. Le bouchon formé a pour effet de réduire la vitesse de remplissage de la lame. Le temps de remplissage passe donc d'environ une à deux secondes à plus d'une minute, ce qui conduit à une distribution homogène dans la longueur, ainsi que le montre la Figure 3.8. La Figure 3.8 gauche représente la distribution de la

concentration en spermatozoïdes le long de la chambre pour un remplissage à vitesse normale, lorsque la Figure 3.8 droite représente la concentration pour un remplissage à vitesse lente.

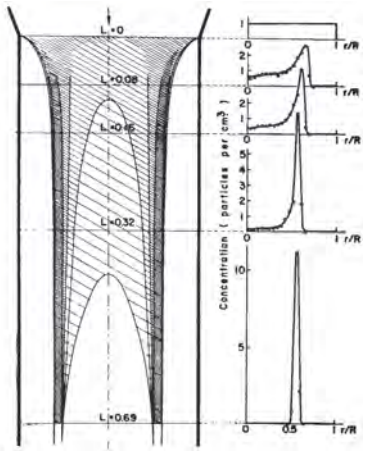

FIGURE 3.7 – Évolution du profil de concentration des billes de PMMA utilisées dans l'expérience de Segré et Silberberg (1961) le long de l'écoulement (de haut en bas) dans un cylindre. A gauche : la densité de hachures est proportionnelle à la concentration locale des billes. A droite : profil de concentration des billes. D'après Segré *et* Silberberg (1961).

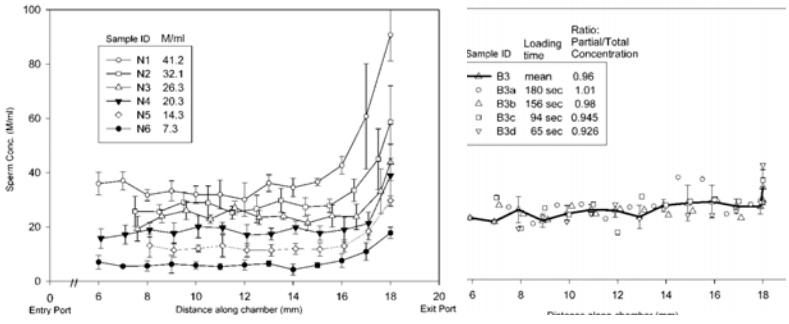

FIGURE 3.8 – Concentration en spermatozoïdes le long de la chambre. A gauche : remplissage normal, avec présence d'une sur-concentration près du ménisque. A droite : remplissage ralenti, la distribution est uniforme dans la longueur de la chambre. Dans les deux cas le ménisque se situe à 2 mm de la sortie. D'après Douglas-Hamilton *et al.* (2005a).

Une manière pour nous de comprendre, grâce à l'Équation (3.2), comment un ralentissement de vitesse de migration latérale suite à un ralentissement de la vitesse de remplissage peut conduire à un remplissage moins

hétérogène de la lame passe par l'évaluation des temps caractéristiques de migration et de remplissage.

4.1.0.3 Évaluation des temps caractéristiques de migration et de remplissage de la lame

Pour le cas des spermatozoïdes de porc, pour lesquels nous rappelons que $a = 2\,\mu m$, les plans y_∞ se trouvent à $5.3\,\mu m$ des parois composées par les lames de verre, pour $h = 20\,\mu m$ (Douglas-Hamilton *et al.*, 2005b). On suppose que la viscosité et la masse volumique du fluide suspendant valent celle de l'eau, et que F est de l'ordre de 1, pour une lame 20 microns. Sachant que dans un écoulement de Poiseuille 2D, la vitesse moyenne de l'écoulement est égale à $\frac{2}{3}$ de la vitesse maximale, on a, sans ralentissement, $\bar{U} = \frac{2}{3}U_m \approx 1\,cm/s$, on peut évaluer τ :

$$\tau = \frac{T_y}{T_z} \propto \frac{1}{U_m} \tag{3.3}$$

comme le rapport entre $T_y = \frac{h}{2V_y}$ qui est le temps qu'il faut à un spermatozoïde pour migrer d'une paroi vers une position stable y_∞, c'est-à-dire le temps maximal qu'il faut à une cellule pour atteindre le plan d'équilibre, et T_z le temps qu'il faut pour remplir la chambre qui fait deux centimètres de long, il vient $\tau \approx \frac{5}{9} < 1$. Ce résultat indique que le temps qu'il faut à un spermatozoïde pour atteindre l'un ou l'autre plan d'équilibre est presque deux fois plus court que le temps nécessaire au remplissage de la lame. La différence entre $\bar{U}_m$ et la vitesse $V_{y_\infty} > \bar{U}_m$ permet *in fine* de proposer une explication quant à la sur-concentration observée au niveau du ménisque. Aussi, ce résultat montre qu'il est possible, en ralentissant suffisamment l'écoulement, de faire tendre τ vers 1, et même d'avoir $\tau > 1$ si U_m est de l'ordre ou inférieure au $mm.s^{-1}$.

Étant donné que le volume moyen d'un globule rouge humain est $\sim 92\,\mu m^3$, le rayon de la sphère qui possède le même volume est $a = 2.8\,\mu m$, soit donc un rayon plus important que celui de la tête des spermatozoïdes de porc. L'Équation (3.2) montre que plus le rayon de la cellule est important, plus l'intensité de la vitesse de migration latérale est importante. L'hypothèse d'une sur-accumulation au niveau du ménisque due à l'effet Vasseur-Cox est donc *a priori* plausible. Même si nous ne pouvons affirmer que cet effet est à l'oeuvre dans le cas des globules rouges, nous nous inspirons de la démarche de Douglas-Hamilton *et al.* (2005ab) pour nous affranchir des inhomogénéités de concentration.

4.1.0.4 Protocole permettant de s'affranchir des hétérogénéités de concentrations dans le cas des globules rouges

De la même manière que l'ont observé Douglas-Hamilton *et al.* (2005ab), nous nous sommes assurés que la concentration est homogène dans les lames 100 microns. Tout d'abord, une inspection visuelle suite à l'injection laisse apparaître un gradient de concentration dans la direction d'injection bien moins marqué que pour les lames 10 et 20 microns, à concentration égale. Cette observation est confirmée en mesurant des profils de niveaux de gris dans la chambre, voir Figure 3.9.

Confortés par l'idée que les effets de migration latérale dans la profondeur de la chambre semblent bien être à l'origine de nos observations concernant la répartition des globules rouges après injection, nous avons ralenti l'écoulement en pré-remplissant à hauteur d'environ 25% les chambres 10 et 20 microns par la sortie avec de l'huile végétale, l'injection de la suspension se faisant après cette étape. La vitesse de remplissage est alors réduite de plus de deux ordres de grandeurs par rapport à l'utilisation standard des lames : la vitesse passe de l'ordre du cm.s^{-1} à la centaine de μm.s^{-1}. Encore une fois, une inspection visuelle et une comparaison des profils de niveaux de gris avec ou sans pré-remplissage montrent que la distribution des globules rouges est beaucoup plus uniforme, voir Figure 3.10. Ces résultats sont un premier élément nous indiquant que nous avons *a priori* un moyen de relier avec certitude l'hématocrite local (*i.e.* dans la lame) avec l'hématocrite de réservoir. Nous souhaitons maintenant nous assurer que la concentration dans la chambre (ou au moins dans la zone imagée), correspond bien à la concentration injectée.

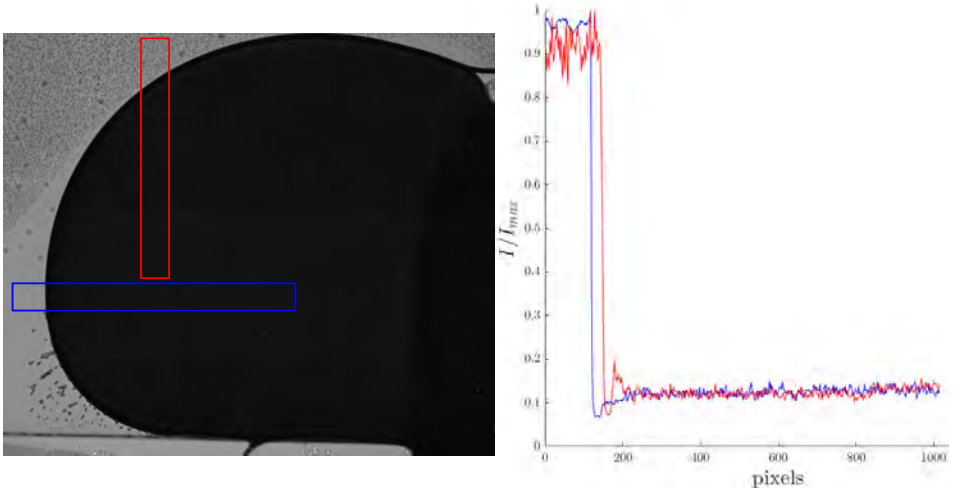

FIGURE 3.9 – Goutte ayant rempli partiellement la chambre d'une lame 100 microns. L'intensité mesurée le long des deux régions d'intérêt montre que le remplissage de la chambre s'est fait quasiment uniformément (hématocrite injecté : 7%, injection par le bas).

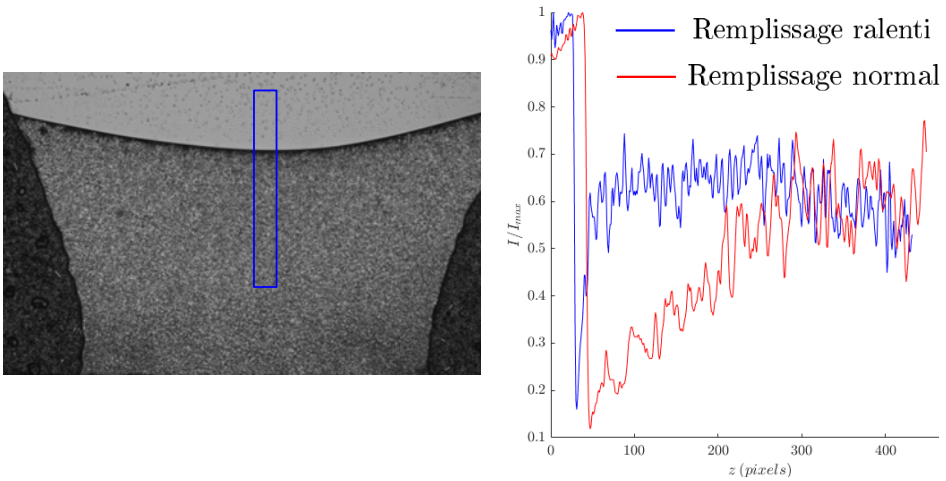

FIGURE 3.10 – Gauche : observation au microscope de la goutte ayant été injectée dans une lame Leja (hématocrite injecté : 7%, injection par le bas), suite au pré-remplissage de la lame en sortie avec de l'huile. Droite : en bleu, le profil d'intensité lumineuse (niveau de gris) au niveau de la zone de mesure représentée par un rectangle sur la figure est d'abord moyennée selon la largeur du rectangle puis normalisée par l'intensité mesurée sur la partie vide de la chambre, qui est la valeur maximale. Nous avons reproduit en rouge l'évolution de l'intensité lumineuse du cas sans pré-remplissage (Figure 3.6).

Cet objectif requiert de valider plusieurs étapes. La première est de connaître l'écart entre l'hématocrite de réservoir désiré, et celui effectivement obtenu suite à la prépartion des suspensions de globules rouges (Section 2.2). Pour ce faire, nous ne suspendons pas les globules rouges dans la solution isodense, mais dans du PBS, dans lequel les globules sédimentent, ce qui nous permet de contrôler l'hématocrite de réservoir *via* l'utilisation de tubes capillaires à hématocrite (Hirschmann, diamètre interne de 100 microns). De plus, spécifiquement pour l'étape de calibration, nous avons doublé les volumes de sang utilisés afin de faciliter l'étape de prélèvement des globules rouges. L'écart entre l'hématocrite désiré et l'hématocrite mesuré est toujours inférieur à 5% et est d'autant plus faible que l'hématocrite est élevé.

Ensuite, pour nous assurer que l'hématocrite local dans la lame correspond bien à l'hématocrite injecté (*i.e.* hématocrite de réservoir), nous remplissons la lame très lentement (donc après pré-remplissage avec de l'huile) avec une suspension diluée (hématocrite inférieur à 10%), afin de pouvoir compter les globules rouges dans la lame. Là encore, le fluide suspendant est du PBS. Après l'injection, les globules rouges sédimentent, sans déplacement notable dans le plan (Oxz). Ceux-ci vont alors former une mono-couche sur la paroi inférieure de la chambre, voir Figure 3.11 gauche. Leur forme presque circulaire est alors détectable par la fonction Matlab *imfindcircles*, sans qu'aucun traitement d'image ne soit nécessaire,

voir Figure 3.11 droite. Cette fonction permet à la fois la détection et le comptage des formes circulaires présentes sur l'image. Une comparaison entre le résultat obtenu par *imfindcircles* et un comptage manuel réalisé sur quelques images, montre, pour les deux types de lames utilisés, un écart compris entre 1 et 10%. L'écart est d'autant plus important que le nombre de globules rouges l'est aussi. En effet, plus l'hématocrite est élevé, plus les globules ont la possibilité de se chevaucher, rendant de fait l'individualisation des globules impossible et conduisant alors à des erreurs. L'hématocrite du volume contenu sous la fenêtre d'observation est obtenu en multipliant le nombre de globules rouges par le volume moyen du globule rouge et en divisant par le volume imagé de la chambre. En prenant en compte les erreurs mentionnées, l'hématocrite mesuré dans la fenêtre d'observation est toujours égal à celui injecté. Le comptage manuel, bien que fastidieux, permet de confirmer l'égalité. Ce comptage, réalisé après sédimentation peut se faire jusqu'à un hématocrite d'environ 7% et 14%, respectivement dans les lames 20 et 10 microns respectivement. Nous devons faire l'hypothèse, pour les suspensions plus concentrées, que l'égalité observée aux faibles hématocrites est préservée.
Forts de ces résultats, nous avons établi un protocole, que nous décrivons ci-dessous, pour obtenir une courbe de calibration DO vs $\bar{H}_t$ dans les lames 10 et 20 microns.

4.2 Protocole de la calibration dans les lames 10 et 20 microns

Nous décrivons dans cette section la procédure de calibration. Il nous faut mesurer la densité optique dans la zone imagée, qui nous le rappelons est définie comme $DO = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$. Cette mesure se divise donc en deux étapes : la mesure de I_0, intensité de référence en l'absence de globules rouges, puis celle de I, qui correspond à l'intensité I_0 atténuée par la présence des cellules.

4.2.1 Mesure de I_0

Après avoir pré-rempli la chambre en sortie par l'huile, un volume de PBS correspondant à environ 10% de celui de la chambre est injecté en entrée. Une zone à imager, située à $\sim$ 400 microns de l'entrée est sélectionnée et la mise au point est alors effectuée sur le plan médian. Une fois les réglages effectués, ceux-ci ne sont plus modifiés, et ce, jusqu'à après l'acquisition des images nécessaires au calcul de I. Une centaine d'images de cette zone sont acquises à faible cadence (de 1 à $\sim$ 10 Hz). Les niveaux de gris contenus dans l'image moyennée de la séquence sont à leur tour moyennés. La valeur finale est I_0.

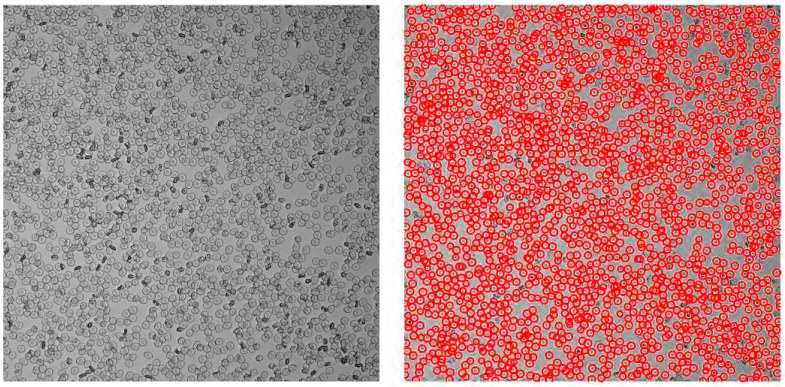

FIGURE 3.11 – Globules sédimentés dans une lame 10 microns (à gauche). Même image après comptage des globules par la fonction *imfindcircles* (a droite). Les cercles rouges correspondent à un cercle détecté par l'algorithme.

4.2.2 Mesure de I

Une fois la séquence destinée au calcul de I_0 acquise, la suspension de globules rouges est injectée par l'entrée de la chambre. A faible cadence (de 10 à $\sim 100\,\mathrm{Hz}$), des images du remplissage contenant les globules sont enregistrées. Les images enregistrées sont similaires à celle de la Figure 3.11 (*i.e.*, nous n'imageons jamais les parois). En revanche, les images sont acquises avant sédimentation, lorsque la suspension est en train de remplir la lame. Comme pour le calcul de I_0, ces images sont alors moyennées temporellement et spatialement pour déterminer I et enfin la valeur de DO associée.

4.2.3 Courbe de calibration

L'association d'une valeur de DO à une valeur d'hématocrite nous permet d'obtenir une courbe de calibration pour les deux types de lames que nous avons utilisées. Le fluide suspendant, PBS ou solution isodense, n'influe pas sur la valeur de la densité optique, à hématocrite et épaisseur de lame fixés. Les courbes sont présentées en Figure 3.12. Il est intéressant de noter que les mesures réalisées par Sophie Roman dans les canaux microfluidiques R = 0.5 (W = 20μm) pour des régimes dilués se superposent à celles effectuées dans les lames 20 microns ; ceci est du au fait que nous avons utilisé le même objectif qu'elle pour effectuer notre calibration. Ceci montre *a posteriori* que le choix des lames Leja était pertinent pour réaliser cette calibration. Nous montrons donc que le régime linéaire de pente 1 ($\mathrm{DO} = \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$), mis en évidence par S. Roman pour des hématocrites jusqu'à 18%, peut être étendu à des valeurs d'hématocrite plus élevées, jusqu'à un hématocrite de saturation $\bar{\mathrm{H}}_{\mathrm{t}_{20_{\mathrm{sat}}}}$ de l'ordre de 30%. Notons, qu'un régime

linéaire, de pente $\frac{1}{2}$ [1] ($DO = \frac{1}{2}\bar{H}_t$) fournit une très bonne description des points expérimentaux obtenus dans les lames 10 microns jusqu'à un hématocrite de saturation $\bar{H}_{t_{10_{sat}}}$ d'environ 65%, soit à peu près deux fois plus élevé que les lames deux fois plus épaisses. Ce résultat indique que nous sommes en régime d'absorption Beer-Lambert : quitte à devoir envisager une notion d'absorption équivalente, la densité optique est proportionnelle à l'épaisseur d'échantillon à traverser et à la concentration et aux propriétés d'absorption (absorbtivité molaire) de l'hémoglobine.

L'origine de ce que nous considérons comme un plateau est prédite théoriquement par Twersky (1970), et provient de la capacité qu'ont les globules rouges d'à la fois absorber et diffuser la lumière. Pries *et al.* (1983) présentent eux aussi des résultats expérimentaux qualitativement en accord avec la théorie de Twersky (1970). Outre les phénomènes complexes d'absorption et diffusion de la lumière liés à la présence de la membrane des globules rouges, nous nous sommes assurés que ce plateau ne provenait pas d'un biais expérimental. Comme nous l'avons mentionné plus haut, nous faisons l'hypothèse pour les forts hématocrites que la concentration en globules rouges dans lame est identique à celle injectée. Or, il est arrivé que, du fait de la lenteur du remplissage, une partie du sang encore à l'extérieur de la lame sèche, ne permettant pas son injection totale, ce qui pourrait invalider alors de fait notre hypothèse. Réduire le volume à injecter est un moyen simple d'éviter cette situation et le résultat obtenu était alors identique à celui obtenu pour le cas où la dessiccation a lieu. Nous pouvons donc affirmer que le plateau observé ici n'est pas dû à un mauvais contrôle de l'hématocrite mais bien une conséquence des propriétés optiques de la suspension concentrée.

Pour conclure, nous avons présenté la méthode de calibration densité optique-hématocrite obtenue dans les lames Leja, qui aboutit aux relations suivantes que nous utiliserons dans les micro-canaux (voir Figure 3.12) :

$$\begin{cases} \bar{H}_t = OD & \text{si } R = 2 \\ \bar{H}_t = 2 \times OD & \text{si } R = 1 \end{cases} \tag{3.4}$$

4.3 Profils d'hématocrite dans les dispositifs microfluidiques : R $\leqslant$ 1

4.3.1 Canaux simples et bifurcations

La méthode est sensiblement identique à celle décrite dans le chapitre précédent (Section 3.2.2) et repose sur la mesure d'un profil de densité op-

1. Nous considérons cette valeur de pente afin de mettre en évidence un régime d'absorption de type Beer-Lambert. Dans l'idéal, il faudrait ajuster à l'ensemble des points de la calibration un polynôme d'ordre plus élevé, ce qui complexifierait toutefois l'interprétation physique de cette calibration.

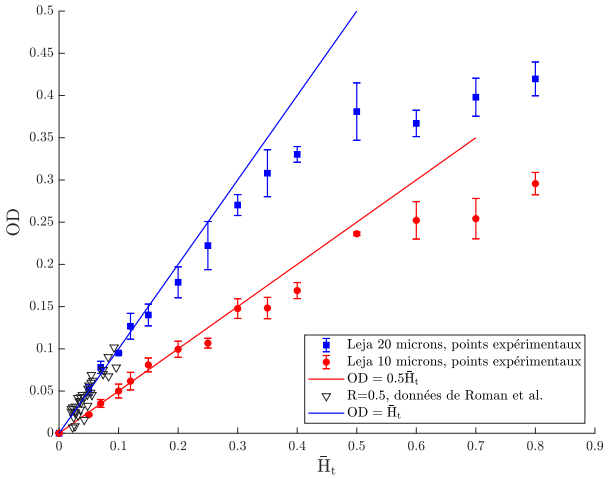

FIGURE 3.12 – Résultat de la calibration effectuée dans les lames Leja 10 (cercles pleins rouges) et 20 microns (carrés pleins bleus). Les triangles noirs sont les points de calibration obtenus par S. Roman dans les canaux microfluidiques carrés de côté égal à 20 μm. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard calculée sur les trois mesures effectuées pour chaque point.

tique. La différence majeure est la manière employée pour mesurer le profil $I_0(x)$.

Tout d'abord, on extrait de la séquence d'images acquise une sous-séquence d'images uniformément réparties, comportant entre 30 et 50% des images de la séquence complète, en fonction de la vitesse des globules rouges : plus celle-ci est faible, plus le pourcentage est faible afin de supprimer toute corrélation entre deux images consécutives. Typiquement, lorsque la vitesse moyenne est inférieure au mm.s^{-1}, seule 30% de la séquence est "conservée" pour effectuer le calcul du profil d'hématocrite. La sous-séquence est ensuite moyennée temporellement. Sur cette image moyenne, dans la largeur du canal d'intérêt et dans la zone de celui-ci qui nous intéresse, nous choisissons une ligne de pixels plus longue que la largeur du canal. La mesure de I(x) est ainsi obtenue le long de cette ligne. La mesure de $I_0(x)$ est elle aussi effectuée le long de cette même ligne, et moyennée sur l'ensemble des images ne contenant aucun globule rouge. Ne pas changer de ligne de mesure nous assure non seulement que les réglages optiques sont strictement identiques pour la mesure des deux profils, mais aussi que les oscillations présentes aux bords du canal sont capturées dans les deux profils et atténuées, après divisions des deux profils. Deux profils typiques $I_0(x)$ et I(x) sont présentés sur la Figure 3.13.

Nous discutons à présent de la forme générique de ces profils, en prenant l'exemple de $I_0(x)$. De $x \approx 70$ à $x \approx 95$ pixels, l'intensité lumineuse est constante avec une valeur d'environ 9000 (U.A.) et il s'agit de l'intensité mesurée dans le PDMS (voir l'image extraite de la séquence d'écoulement

sur la Figure 3.13). Notons que l'intensité du PDMS est proche de celle du fluide suspendant mesurée au centre du canal, pour une position transverse x entre ~ 110 et ~ 130 pixels. Toujours en parcourant le profil $I_0(x)$, une augmentation abrupte de l'intensité survient alors, suivie par une diminution tout aussi abrupte puis d'une nouvelle augmentation de l'intensité. Cela s'explique par la présence, sur l'image extraite, d'une bande brillante suivie par une bande sombre puis d'une seconde bande brillante. Ces bandes de surbrillance sont probablement due à la diffraction de la lumière, du fait de la différence d'indice de réfraction entre le PDMS et le fluide suspendant. Quant à la bande sombre, nous l'assimilons à la paroi du canal, sans pour autant pouvoir déterminer précisément, pour le moment, la position exacte de cette paroi. Pour ce faire, parce que nous retrouvons, symétrisés, les mêmes motifs d'intensité sur la paroi opposée, nous supposons que les deux pics caractéristiques des bandes brillantes sont situés de manière exactement symétrique de part et d'autre de (Oz). Ainsi, le centre du canal est le milieu du segment qui relie la position des deux extrema de surbrillance. Le centre peut aussi se déterminer en considérant les deux minima sombres : la différence de positionnement du centre du canal entre les deux méthodes nous fournit une incertitude sur la position de ce dernier qui est toujours inférieure à 5% de la largeur du canal. Nous pouvons donc positionner le profil dans le canal, en supposant que celui-ci vaut exactement W microns de large, sans tenir compte de la possible déviation à cette valeur inhérente au processus de fabrication des moules de silicium par photolithographie douce. Dans la suite, sur les Figures 3.13 et 3.16, nous positionnerons les parois d'après la méthode que nous venons de décrire. Il s'agira donc d'une position théorique, repérée par une ligne rouge.

Le profil de densité optique obtenu à partir des mesures des profils $I_0(x)$ et $I(x)$ est également présenté sur la Figure 3.13. Comme attendu, on observe que les oscillations d'intensité lumineuse ont été corrigées par l'opération de division entre ces deux profils ($DO = \log_{10}(I_0(x)/I(x))$. On note de plus, au voisinage des parois du canal, la présence de deux régions où la densité optique est *négative*, que nous attribuons à la présence de la couche d'exclusion plasmatique. En effet, autour des globules, nous remarquons la présence d'un halo lumineux, lui aussi du à la diffraction de la lumière : l'interaction entre ce halo lumineux et la frange de surbrillance présente près de la paroi interne du canal induit une zone sur l'image dont l'intensité I' est plus importante que celle du fluide suspendant et que celle de la frange de surbrillance elle-même, voir Figure 3.14 haut. Or, si $I' > I_0$, alors $\log_{10}(\frac{I_0}{I'}) < 0$.

Ces arguments suggèrent donc que la zone de densité optique négative observée sur la Figure 3.13 correspond à une zone dépourvue de globules rouges pour laquelle nous avons $H_{t_{local}} = 0$.

A partir du profil de densité optique, nous proposons le calcul suivant

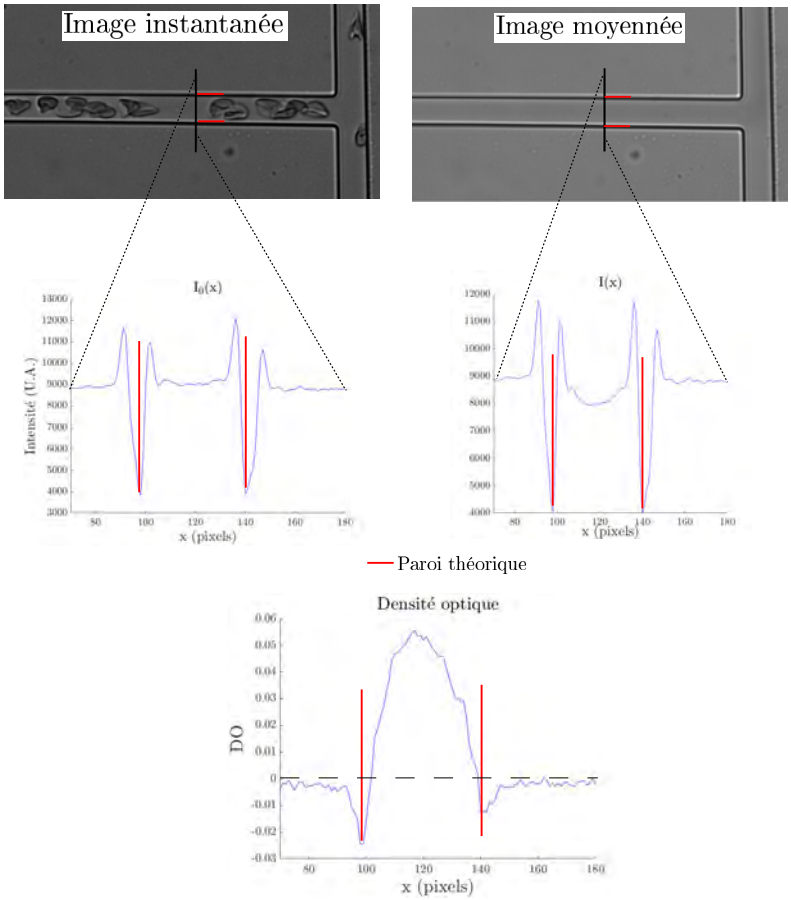

FIGURE 3.13 – Schéma de principe de mesure du profil de densité optique. En haut à gauche : mesure du profil $I_0(x)$ dans une région dépourvue de globules rouges. En haut à droite, mesure du profil I(x) exactement au même endroit où $I_0(x)$ a été déterminé. De ces deux profils, est obtenu le profil de densité optique, en bas. Il est à noter que l'origine de l'abscisse démarre à x = 70 px, ce qui n'a aucune incidence sur le résultat. La ligne pointillée sur la figure du bas marque la position de la droite DO = 0.

pour déterminer l'incertitude de mesure, ΔOD :

$$|\Delta \mathrm{OD}| = |\Delta \log_{10}(\frac{I_0}{I})| = \frac{I}{I_0}\ln(10)|\frac{\Delta I_0 - \frac{I_0}{I}\Delta I}{I}|.$$

De nos mesures, nous avons déterminé : $\frac{\Delta I_0}{I} \approx \frac{\Delta I}{I} \approx 0.2$, d'où $|\Delta OD| \approx 0.0868|1 - \frac{1}{10^{OD}}|$.

ΔOD est alors aisément converti en ΔH, au moyen de l'une ou l'autre relation linéaire qui lie les deux quantité.

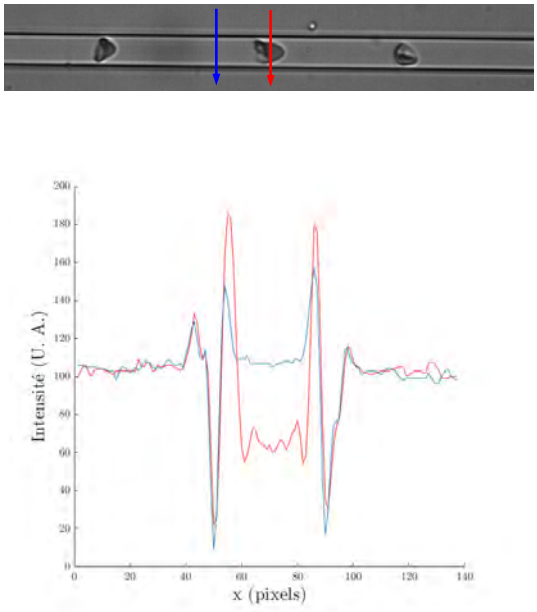

FIGURE 3.14 – Illustration de la présence d'un halo autour des globules et de l'effet de son interaction avec les bandes de sur brillance (R = 1). Les profils d'intensité ont été mesurés le long des flèches bleue et rouge. Le profil rouge (mesure instantanée de I) présente deux pics nettement plus prononcés que le profil bleu (mesure instantanée de I_0), du fait de l'interaction bande/halo.

Toujours à partir du profil de densité optique, nous déterminons la largeur de la couche d'exclusion plasmatique : une valeur négative de densité optique est convertie en valeur nulle d'hématocrite. L'épaisseur δ de la couche d'exclusion plasmatique est déterminée de la manière suivante :

$$\delta = \frac{W - l_H}{2} \tag{3.5}$$

où l_H est la distance séparant les deux valeurs nulles du profil d'hématocrite. Nous rattachons l'incertitude sur la mesure de δ à celle sur la largeur de nos canaux. Ainsi, l'erreur commise sur la mesure de la couche d'exclusion plasmatique est supposée être de 10% de la largeur du canal considéré.

Sur la Figure 3.15, nous avons converti le profil de densité optique de la Figure 3.13. Pour ce profil, nous avons $\delta \approx 0.6\,\mu$m. Notons que, de part et d'autre de ce profil, la couche d'exclusion plasmatique présente une légère asymétrie : à gauche du profil, δ vaut $0.8\,\mu$m et à droite $0.3\,\mu$m. L'origine de cette asymétrie n'est pas physique puisque nous sommes en régime établi et que donc le profil d'hématocrite doit en théorie être parfaitement symétrique. La méthode employée ici pour obtenir les profils d'hématocrite revient à mesurer la position latérale d'un nombre de globules rouges de l'ordre de quelques milliers et ne peut donc pas générer de profil d'hématocrite asymétrique par rapport à (Oz), en régime établi. L'origine de cette

asymétrie est donc très certainement inhérente à la méthode utilisée pour centrer le profil.

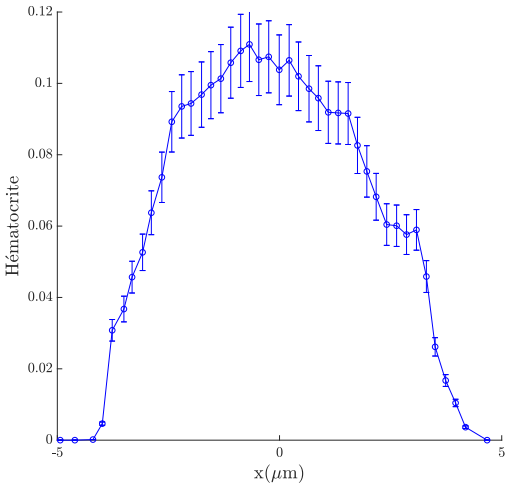

FIGURE 3.15 – Profil de densité optique converti en profil d'hématocrite et positionné dans le canal.

Lorsque l'hématocrite augmente, typiquement pour des hématocrites supérieurs à $\approx 10\%$ pour $R = 0.5$ et $\approx 15\%$ pour $R = 1$, il n'est plus possible d'observer de zones dépourvues de globules dans la séquence d'images, ce qui empêche l'obtention d'un profil de référence $I_0(x)$. Pour calculer un profil de densité optique, nous divisons alors le profil $I(x)$ par une valeur $I_{0_{PDMS}}$ constante et égale à celle du PDMS environnant (Sherwood *et al.*, 2014a). Dans ce cas, une résolution fine du profil d'hématocrite près des parois du canal est rendue impossible par la présence des oscillations d'intensité près des parois , ce qui empêche la mesure de la couche d'exclusion plasmatique. Ces oscillations, non corrigées après division par $I_{0_{PDMS}}$, comme vu sur la Figure 3.16, empêchent non seulement de mesurer l'épaisseur de la couche d'exclusion plasmatique, mais aussi de mesurer une valeur d'hématocrite locale dans une zone d'épaisseur comprise entre 1 et 3 microns, pour les "pires" cas. Cette épaisseur est indépendante de la largeur du canal. Aussi, plus le canal est étroit, plus, en proportion, l'impact de ces oscillations est important.

A partir du profil de DO présenté sur la Figure 3.16, nous déterminons cependant une valeur de $\bar{H}_t$, en procédant en en deux temps. D'abord nous intégrons le profil de densité optique, converti en profil d'hématocrite et centré, entre $-W/2$ et $+W/2$. Nous conservons donc tous les points, *en incluant les oscillations*, ce qui nous donne une borne supérieure pour $\bar{H}_t$, car la contribution des oscillations à l'aire sous la courbe est toujours supérieure à celle qu'aurait une courbe lissée (*i.e.* "nettoyée" de ces oscillations). Ensuite, nous faisons la même chose avec tous les points du profils non impactés

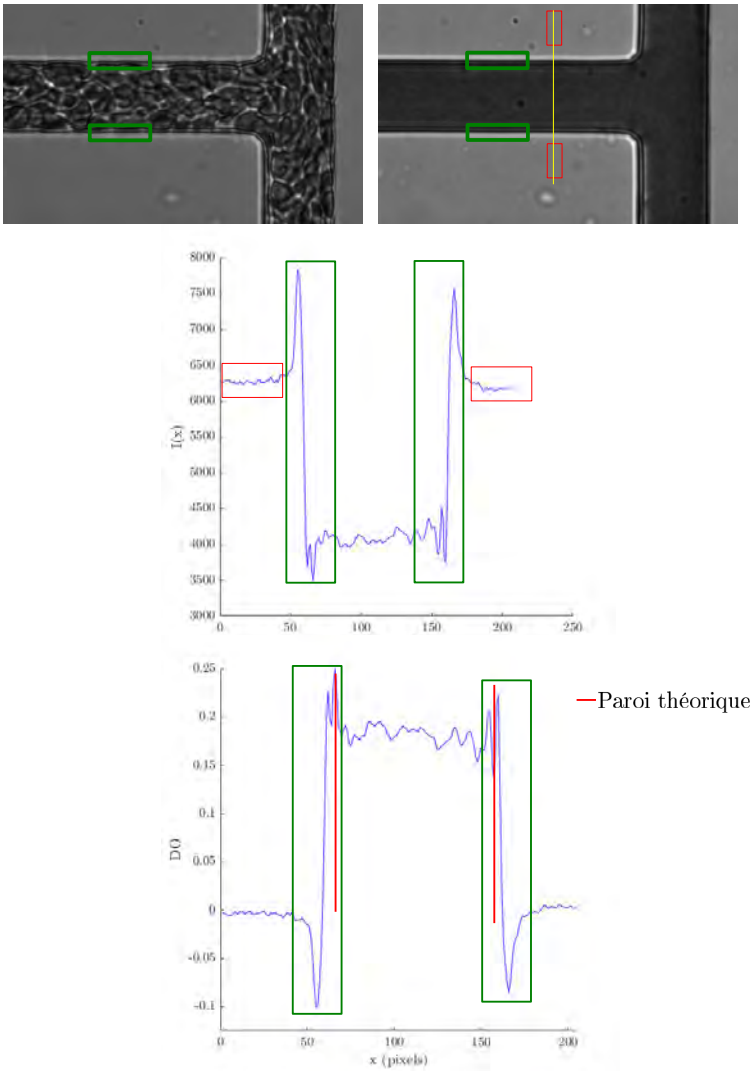

FIGURE 3.16 – Mesure d'un "profil" de densité optique à fort hématocrite, avec $I_0(x) = I_{0_{PDMS}}$. La valeur $I_{0_{PDMS}}$ est la valeur moyenne des zones contenues dans les rectangles rouges. En haut à gauche : image instantanée de la séquence (ici, $R = 0.5$). Les rectangles verts incluent les oscillations aux parois, que l'on retrouve sur l'image moyennée (en haut à droite), mais aussi sur le profil d'intensité (milieu), et enfin sur le profil de densité optique (en bas). Les deux lignes rouges indiquent la position théorique des parois. Ici les parois sont positionnées à partir des pics issus des bandes surbrillantes.

par les oscillations. Pour le cas nous servant d'illustration, il s'agit des points entre les deux rectangles verts sur la Figure 3.16 (bas). Le choix des zones à supprimer repose sur une observation précise des images des séquences en question et des profils de densité optique résultants. Cela nous fournit une borne inférieure pour la valeur de $\bar{H}_t$. Nous supposons que la "vraie" valeur

de $\bar{H}_t$ est la moyenne entre les bornes supérieure et inférieure.

Dans le prochain chapitre, nous verrons qu'il est possible de fournir une description des profils d'hématocrite au moyen de polynômes de degrés 2. Cette description nécessitera de ne considérer que les points non impactés par les oscillations. Aussi, lorsque nous chercherons à extrapoler la forme du profil d'hématocrite aux parois, nous le ferons en supprimant les zones présentant les oscillations. Enfin, notons qu'une telle extrapolation n'est possible que dans le cas $R = 0.5$, car seul ce cas nous fournit assez de points au centre du canal qui ne sont pas impactés par les oscillations. Les profils d'hématocrite issus des canaux $R = 1$ sont, aux hématocrites supérieurs à $\sim 12\%$, en général trop impactés par la diffraction aux parois, ce qui ne nous permet pas d'obtenir des valeurs extrapolées fiables.

4.3.2 Réseaux

Dans le cas des réseaux, pour quasiment tous nos points de mesures, nous avons eu à considérer $I_0(x) = I_{0_{PDMS}}$, du fait de l'absence quasi systématique de lignes de pixels vierge de tout globule dans les canaux. Par ailleurs, une seconde difficulté est que les profils d'hématocrite ne sont pas "établis" : suite à une bifurcation, ceux-ci sont fortement dissymétriques et n'ont pas le temps de relaxer vers un profil d'équilibre symétrique, du fait de la faible longueur des branches du réseau. Ce point sera abordé plus en détails dans le chapitre Réseaux. Une dernière difficulté, d'origine purement optique, est que l'orientation des canaux dans le plan de l'image influe sur les oscillations présentes aux parois, comme l'illustre la Figure 3.17. Nous voyons, sur cette figure, que, du fait de l'orientation du canal la paroi de gauche (repérée par le label B sur la Figure 3.17 droite) présente une bande très brillante à l'intérieur du canal (label C), quand celle située à l'extérieur a une intensité plus faible (label A), alors que la paroi de droite (label D) a une bande sombre, présente dans le canal, qui lui est accolée (même pic que pour la paroi, label D). Accolée à cette même paroi, cette fois-ci à l'extérieur du canal, nous trouvons une bande très brillante (label E). Cette situation est différente de celle présentée sur la Figure 3.13. Sur cette figure, le motif présenté par les bandes brillantes était symétrique de part et d'autre (Oz). Parce que nous utilisons un profil I_0 constant, nous obtenons, sur le profil de densité optique, des pics qui ne sont pas représentatifs de la distribution des globules rouges (voir Figure 3.18 gauche).

Inspiré par Sherwood *et al.* (2014b) nous supprimons ces pics en extrapolant linéairement la forme des profils. Pour cela, nous positionnons tout d'abord le profil dans le canal en nous servant des bandes sur-brillantes situées à l'extérieur du canal. Ensuite, nous déterminons manuellement les points du profil à partir desquels l'extrapolation s'effectue. Ces points sont en général le maximum de densité optique du canal, et le point qui est à la base d'un pic (voir la position des labels sur la Figure 3.18 gauche). Deux cas

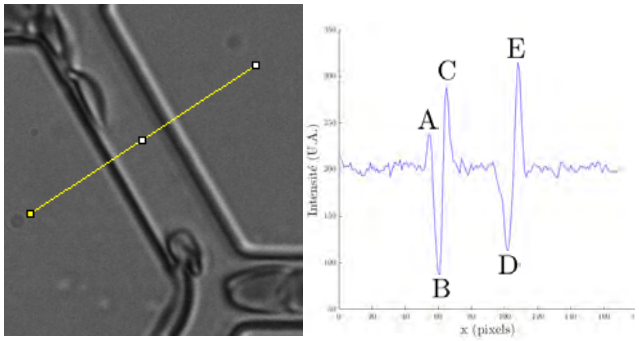

FIGURE 3.17 – Profil d'intensité dans un canal de réseau R = 1. Noter que, du fait de son orientation dans le plan de l'image, seule une paroi est adjacente à une bande brillante qui se trouve dans le canal. L'origine de l'axe x est prise sur l'extrémité gauche de la ligne de mesure jaune.

de figures se présentent alors : ou bien l'extrapolation conduit à une valeur d'hématocrite nulle avant d'atteindre les parois, auquel cas nous affectons la valeur de 0 au profil d'hématocrite à partir de ce point jusqu'à la paroi, ou bien l'extrapolation ne conduit pas à une valeur nulle dans la limite imposée par la présence des parois, auquel cas nous supposons une valeur d'hématocrite non nulle à la paroi, déterminée par cette extrapolation linéaire. Nous avons choisi d'illustrer le premier cas, sur la Figure 3.18 droite. L'hématocrite de tube est alors déterminé en intégrant ce profil et en divisant par la largeur du canal, qui est ici de dix microns.

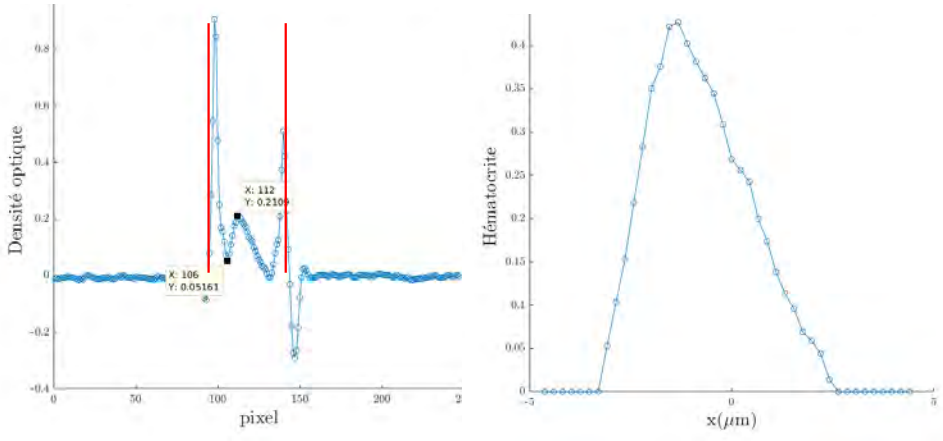

FIGURE 3.18 – A gauche, profil de densité optique observé dans des canaux de réseaux. A droite, profil d'hématocrite issu de ce profil de densité optique. L'extrapolation linéaire de la forme du profil à la paroi se fait à partir des points compris entre les deux marqueurs.

S'il nous est possible de mesurer des profils d'hématocrite pour les deux confinements les plus faibles, le cas du confinement le plus fort, $R = 2$ nécessite un traitement particulier. Nous ne sommes pas en mesure d'appliquer la méthode décrite ci-dessus du fait de l'absence de lame Leja 5 microns et de la proportion significative des bandes de diffraction à la paroi. Aussi, nous procédons à une méthode de comptage pour déterminer l'hématocrite de tube moyen dans les canaux les plus petits, méthode détaillée dans la section suivante.

5. Hématocrite dans les dispositifs microfluidiques : $R = 2$

5.1 Canaux droits et bifurcations

Pour un tel confinement, nous n'avons pas été en mesure d'effectuer de calibration densité optique/hématocrite de tube, du fait de l'absence de dispositif adéquat et de l'effet des bandes de surbrillance aux parois, qui nous empêchent d'obtenir une forme de profil de densité optique exploitable. Cela nous oblige donc à mesurer la largeur de la couche d'exclusion plasmatique différemment : dans ce cas, la méthode de mesure de l_H repose sur la mesure manuelle, à partir de nos séquences d'écoulement, de la largeur de globules rouges. Cette largeur nous donne directement l_H. Répétée sur plusieurs globules (une trentaine environ), cette méthode nous fournit une valeur moyenne de l_H, ainsi qu'une déviation standard autour de cette moyenne.

Ensuite, nous devons déterminer $\bar{H}_t$ via la mesure du débit de globule rouge. Ce dernier est déterminé en comptant le nombre de globules rouges qui sortent (ou entrent) de la branche dans une fenêtre temporelle donnée.

Ainsi, Q_{GR} est donné par :

$$Q_{GR} = \frac{N_{GR}\mathcal{V}_{GR}}{\Delta t} \tag{3.6}$$

où N_{GR} le nombre de globules dénombrés dans la fenêtre temporelle Δt, et $\mathcal{V}_{GR}$ le volume d'un globule rouge. L'hématocrite $\bar{H}_t$ est alors déterminé comme suit, après avoir mesuré manuellement V_{GR} :

$$\bar{H}_t = \frac{Q_{GR}}{V_{GR}W^2} \tag{3.7}$$

avec ici, $W = 5$ et V_{GR} la vitesse des globules rouges.

Pour justifier l'Équation (3.7), nous nous basons sur l'étude des profils de vitesse des globules rouges effectuée dans Roman *et al.* (2016). Dans cette étude, il a été montré que ces profils sont plats à partir d'un nombre de confinement géométrique plus grand que un. Dans ce cas, nous pouvons écrire, pour une section S vérifiant $R \geqslant 1$:

$$Q_{GR} = \bar{V}_{GR} \int H_t dS \tag{3.8}$$

or,

$$\bar{H}_t = \frac{1}{S} \int H_t dS \tag{3.9}$$

où H_t est le profil d'hématocrite. D'où :

$$Q_{GR} = \bar{V}_{GR} \bar{H}_t S \tag{3.10}$$

5.2 Réseaux

Lorsque nous observons les globules rouges s'écoulant en "file indienne" dans les canaux les plus étroits dont nous disposons, nous remarquons généralement la présence, à l'avant et à l'arrière des cellules, de bandes de sur-brillance par rapport au fluide suspendant. La présence de ces bandes se traduit par des pics très prononcés sur un profil d'intensité lumineuse mesuré le long de l'axe de symétrie longitudinal du canal, voir par exemple les régions indiquées par les lettres A, B, C et E sur la Figure 3.19. A partir de l'existence de ces pics, nous avons développé une méthode semi-automatique de comptage des globules rouges. Très largement perfectible, cette méthode permet seulement un gain de temps, par rapport à la méthode de comptage manuelle "classique".

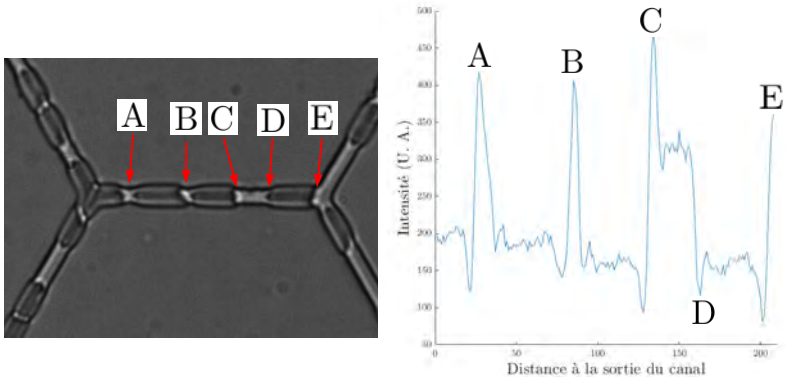

FIGURE 3.19 – Illustration du principe de détermination de l'hématocrite de tube dans les réseaux R = 2.

Nous nous servons du nombre de pics présents dans la longueur du canal pour déterminer le nombre de globules présents dans ce canal et en déduire l'hématocrite de tube.

La première étape de la procédure consiste à détecter et sélectionner les pics résultants de la présence d'un ou plusieurs globules dans le canal. L'objectif est de déterminer le nombre $N_{extrema}$ de ces points. Premièrement, ne

sont retenus que les points dont l'intensité est au moins une fois et demi plus grande ou petite que l'intensité moyenne. En pratique, la séquence totale est divisée en sous-séquences. L'un ou l'autre critère est retenu qualitativement après examination visuelle de la sous-séquence à analyser. Cette méthode de sélection du critère a été validée *a posteriori* en comparant les résultats de la méthode systématique à un comptage manuel effectué sur une centaine d'images. Deuxièmement, l'extremum de ce pic est déterminé à partir de la dérivée du profil d'intensité. L'extremum est le point pour lequel les dérivées à gauche et à droite changent de signe. Cette méthode permet de positionner les pics dans la longueur du canal. La longueur moyenne d'un globule rouge, L_{GR}, est d'environ 41 ± 6 pixels. Si la distance entre le premier ou le dernier pic et le début ou la fin du canal (sans plus d'indication, le sens début-fin du canal est donné par le sens de l'écoulement) est inférieure à L_{GR}, alors cela indique qu'un globule n'est pas complètement contenu dans le canal d'intérêt. Appelons L_{GR}^{-} la longueur d'un globule partiellement contenu dans le canal d'intérêt. La contribution au nombre total de globule rouges contenus dans le canal est donnée par : $\dfrac{L_{GR}^{-}}{L_{GR}}$. Pour déterminer le nombre de globules entièrement dans le canal, $N_{GR_{int}}$, il faut comparer la valeur du plateau d'intensité entre deux extrema, à celle du fluide suspendant puis s'assurer que la distance entre deux pics soit de l'ordre de L_{GR}. Prenons l'exemple de la Figure 3.19. Une suite de valeur d'intensité de 200 U.A. précède le pic A. Or, on voit que le fluide suspendant a une intensité de l'ordre de 300 U.A. (plateau entre les extrema C et D). Donc, on sait que le pic A est issu d'un globule, non entièrement contenu dans le canal. Dans ce cas, les intervalles entre les extrema A et B, B et C, et D et E définissent trois globules entièrement contenu dans le canal, car la distance entre les pics est de l'ordre de L_{GR}. Une source d'erreur potentielle est l'absence, dans certains cas, de la bande brillante à l'avant ou à l'arrière du globule. En D, il n'y a pas de pic du fait justement de l'absence de ce halo sur l'avant du globule. Aussi, cette méthode de comptage appliquée au cas de la Figure 3.19 détecte les globules entre la sortie et le pic A, entre le pic A et le pic B, et entre le pic B et le pic C, mais pas le globule situé entre le pic D et le pic E. La Figure 3.19 a été choisie pour illustrer la principale source d'erreur de cette méthode. Bien que la situation présente sur cette figure ne soit pas systématique, elle est suffisamment récurrente pour que cette méthode fournisse une erreur du même ordre qu'un comptage manuel.

L'hématocrite de tube moyen est ainsi donné par :

$$\bar{H}_t = \frac{(N_{GR_{int}} + \dfrac{L_{GR}^{-}}{L_{GR}})\mathcal{V}_{GR}}{\mathcal{V}_{canal}} \tag{3.11}$$

où $\mathcal{V}_{GR}$ et $\mathcal{V}_{canal}$ représentent respectivement les volumes d'un globule rouge et du canal.

Cette méthode fournit une erreur sur le nombre de globule comprise entre plus ou moins 0.5 et 1.5 globules, soit une erreur moyenne de 1 globule, similaire à l'erreur obtenue par comptage. En terme d'hématocrite, cette incertitude se traduit par, une distribution autour de l'hématocrite de tube moyen de $\bar{H}_t \pm 0.07$. Toutefois, elle réduit considérablement le temps de traitement des séquences dans les réseaux. Ainsi, cette technique a été utilisée en association avec le comptage manuel "classique". $\sim 70\%$ des points de comparaison entre l'expérience et la simulation pour ce confinement (voir Chapitre Réseaux) ont été obtenus par la méthode de comptage classique, les $\sim 30\%$ restant ont été obtenus par le comptage automatisé.

Chapitre 4

Écoulements en régime établi dans un canal droit à section carrée

Nous présentons dans ce chapitre les résultats relatifs aux écoulements de suspensions de globules rouges dans des canaux à section carrée, droits et uniques, en régime établi. Plus exactement, nous proposons tout d'abord d'étendre l'étude sur les profils d'hématocrite amorcée par Sophie Roman dans sa thèse. Nous établissons une expression simple fournissant une description paramétrique des points expérimentaux que nous avons extraits de nos séquences.

Ensuite, toujours au cours de sa thèse, Sophie Roman a quantifié l'influence qu'exerce le confinement géométrique sur l'aplatissement du profil de vitesse des globules rouges. Nous complétons ce travail en y incluant l'influence de l'hématocrite.

Enfin, ces résultats nous permettent d'établir une formulation analytique de l'effet Fåhraeus en régime établi, que nous comparerons à la formulation de Pries *et al.* (1990).

Afin de faciliter la lecture de ce chapitre et des suivants, nous rappelons sur la figure immédiatement ci-après (Figure 4.1), la convention adoptée pour l'orientation des axes de la section droite. La direction (Ox) est choisie pour définir la position dans la largeur du canal, (Oy) la position dans la profondeur du canal, parallèle aux rayons lumineux et (Oz) la position dans la longueur du canal, parallèle à l'écoulement.

Enfin, nous rappelons que les profils d'hématocrite que nous mesurons, notés $\tilde{H}_t(x)$, sont issus de l'intégration du profil d'hématocrite dans la section $H_t(x, y)$ le long de lignes $y = C$, où C est une constante appartenant à $\left]-\frac{W}{2};\frac{W}{2}\right[$. Par conséquent, l'hématocrite de tube moyen dans la section,

noté $\bar{H}_t$, s'exprime comme :

$$\bar{H}_t = \frac{1}{W} \int_{-\frac{W}{2}+\delta}^{\frac{W}{2}-\delta} \tilde{H}_t(x)\, dx \tag{4.1}$$

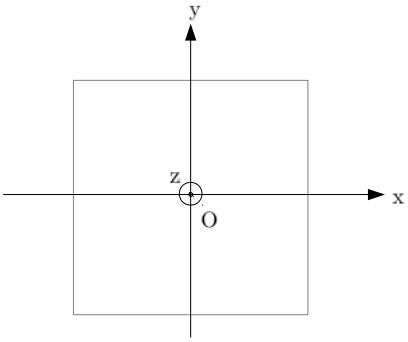

FIGURE 4.1 – Section droite d'un canal, avec notations associées, l'axe optique est selon la direction (Oy) et l'écoulement se fait selon (Oz).

1. Profil d'hématocrite

Nous souhaitons dans cette section proposer une paramétrisation des profils d'hématocrite expérimentaux. Nous décrivons ci-après une à une les étapes nous y amenant. Cette démarche nous a également permis de proposer une relation empirique liant la largeur δ de la couche d'exclusion plasmatique, paramètre essentiel pour la description du profil d'hématocrite, à l'hématocrite de tube moyen.

1.1 Description des profils d'hématocrite

Du fait de la qualité optique limitée des séquences acquises par Sophie Roman (voir Figure 3.1, Chapitre Matériels et Méthodes), il ne lui a pas été possible de résoudre la forme du profil d'hématocrite près des parois. Comme vu dans le Chapitre Matériels et Méthodes, le dispositif PDMS/verre utilisé dans notre étude permet de déterminer le profil d'hématocrite en proche paroi si $\bar{H}_t < 9\%$ pour $R = 0.5$ et si $\bar{H}_t < 15\%$ pour $R = 1$. Dans ces conditions, une épaisseur non nulle δ de couche d'exclusion plasmatique a également été mesurée.

La forme des profils mesurés suggère qu'une description adéquate peut se faire au moyen d'une parabole, en dehors de la couche d'exclusion plasmatique ($|x| \leqslant \frac{W}{2} - \delta$), voir symboles bleus Figure 4.2, notée :

$$f(x) = \tilde{\alpha} + \tilde{\beta} x^2 \tag{4.2}$$

où $\tilde{\alpha}$ et $\tilde{\beta}$ sont deux coefficients déterminés par un ajustement au sens des moindres carrés de la fonction f aux données. Pour nous en assurer, nous avons comparé la valeur de l'hématocrite de tube moyen à la valeur moyenne prise par la fonction f, en d'autres termes, nous avons comparé $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$, calculé selon l'Équation (4.1), à $\bar{\mathrm{f}}$, où :

$$\bar{\mathrm{f}} = \frac{2}{\mathrm{W}} \int_0^{\mathrm{x}_0} (\tilde{\alpha} + \tilde{\beta}\mathrm{x}^2)\,\mathrm{dx} \tag{4.3}$$

où x_0, appartenant à l'intervalle $\Big[-\frac{\mathrm{W}}{2}, \frac{\mathrm{W}}{2} \Big]$, est tel que $\mathrm{f}(\mathrm{x}_0) = \mathrm{f}(-\mathrm{x}_0) = 0$, représente la quantité $\frac{\mathrm{W}}{2} - \delta$. Nous présentons sur la Figure 4.3 la comparaison entre $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ et $\bar{\mathrm{f}}$. La distribution des points autour de la droite identité laisse à penser que la forme que nous avons choisie décrit correctement les profils expérimentaux, et donc $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} = \bar{\mathrm{f}}$. Sur la Figure 4.2, nous montrons comment une fonction f(x) (traits pointillés rouges) s'ajuste aux points expérimentaux (symboles bleus), pour différents cas, ce qui confirme le très bon accord entre nos points expérimentaux et une telle forme pour les décrire. En particulier, cette forme permet de capturer à la fois la valeur maximale du profil, mais aussi l'épaisseur de la couche d'exclusion plasmatique.

Comme nous venons de le voir, la forme parabolique fournit une description adéquate des profils expérimentaux. Nous souhaitons à présent obtenir une expression $\mathrm{H}_\mathrm{t}(\mathrm{x}, \mathrm{y})$ de ces profils, où le couple (x, y) repère un point de la section droite. Tout d'abord, $\mathrm{H}_\mathrm{t}(\mathrm{x}, \mathrm{y})$ doit vérifier :

$$\frac{1}{\mathrm{W}^2} \int_{-\frac{\mathrm{W}}{2}+\delta}^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta} \int_{-\frac{\mathrm{W}}{2}+\delta}^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta} \mathrm{H}_\mathrm{t}(\mathrm{x}, \mathrm{y})\,\mathrm{dxdy} = \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} \tag{4.4}$$

Par ailleurs, nous rappelons que nous travaillons avec un fluide suspendant qui est à isodensité avec les globules rouges. Aussi, nous supposons que nous pouvons négliger les effets liés à la gravité. Sous cette hypothèse, du fait des symétries de la section, nous supposons que le profil d'hématocrite doit être invariant par rotation de $\pm\frac{\pi}{2}$. Nous avons aussi :

$$\tilde{\mathrm{H}}_\mathrm{t}(\mathrm{x}) = \frac{2}{\mathrm{W}} \int_0^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta} \mathrm{H}_\mathrm{t}(\mathrm{x}, \mathrm{y})\,\mathrm{dy} \tag{4.5}$$

Comme nous venons de montrer que $\mathrm{f}(\mathrm{x}) = \tilde{\mathrm{H}}(\mathrm{x})$, il vient, d'après l'Équation (4.1) et le fait que $\bar{\mathrm{f}} = \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$:

$$\frac{2}{\mathrm{W}} \int_0^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta} \tilde{\alpha} + \tilde{\beta}\mathrm{x}^2\,\mathrm{dx} = \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} \tag{4.6}$$

Nous pouvons introduire deux coefficients, α et β tels que :

$$\begin{cases} \tilde{\alpha} = \alpha\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}} \\ \tilde{\beta} = \beta\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}} \end{cases} \tag{4.7}$$

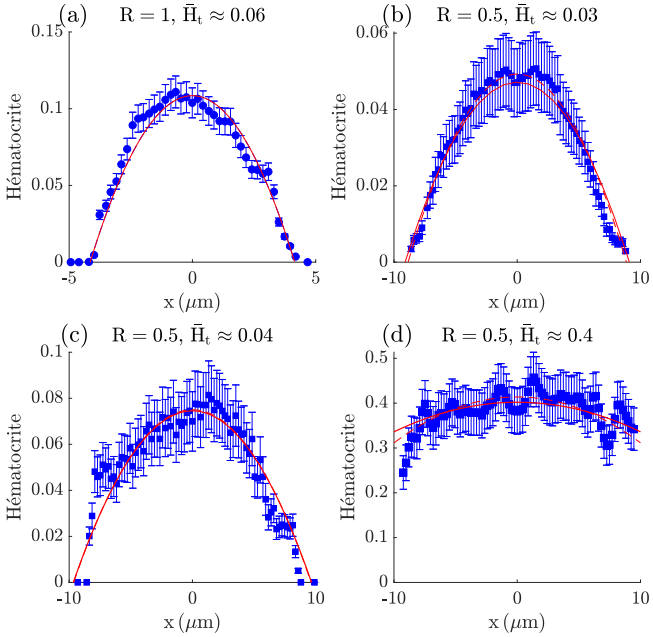

FIGURE 4.2 – Profils expérimentaux et en pointillés la fonction f associée, ajustée au sens des moindres carrés. La moyenne des résidus pour (a), (b), (c) et (d) vaut respectivement 0.0033, 0.00068, 0.0046 et 0.0586. Les courbes en traits continus représentent le résultat de la paramétrisation semi-empirique que nous avons développée (voir Sections 1.2 et 1.3). Cette paramétrisation ne nécessite l'ajustement d'aucun paramètre, et requiert seulement la connaissance de $\bar{H}_t$ et W. Sur les Figures (a) et (c) les courbes pointillées et continues sont superposées.

Ce qui implique alors que :

$$\frac{2}{W}\int_0^{\frac{W}{2}-\delta}(\alpha+\beta x^2)\,dx = \sqrt{\bar{H}_t} \tag{4.8}$$

L'hypothèse d'invariance par rotation permet aussi d'écrire :

$$\frac{2}{W}\int_0^{\frac{W}{2}-\delta}(\alpha+\beta y^2)\,dy = \sqrt{\bar{H}_t} \tag{4.9}$$

En effectuant le produit des Équations (4.8) et (4.9) et en arrangeant les intégrandes, nous obtenons :

$$\bar{H}_t = \frac{4}{W^2}\int_0^{\frac{W}{2}-\delta}\int_0^{\frac{W}{2}-\delta}(\alpha+\beta x^2)(\alpha+\beta y^2)\,dxdy \tag{4.10}$$

Par identification avec l'Équation (4.4), nous cherchons donc un profil d'hématocrite de la forme :

$$H_t(x,y) = (\alpha+\beta x^2)(\alpha+\beta y^2) \tag{4.11}$$

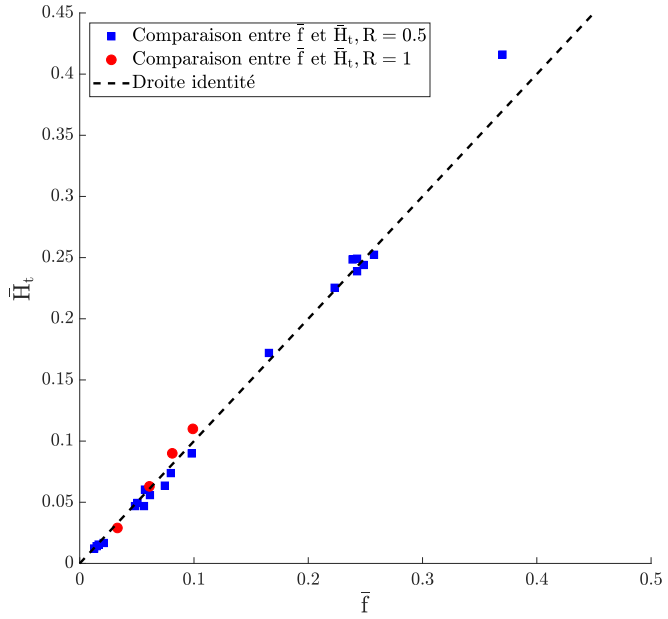

FIGURE 4.3 – Comparaison entre $\bar{H}_t$ et $\bar{f}$.

en dehors de la couche d'exclusion plasmatique. Dans la couche d'exclusion plasmatique nous avons $H_t(x, y) = 0$. Notons, au vu de l'expression du profil d'hématocrite, que la couche d'exclusion plasmatique est supposée former une bande de largeur constante δ. Cette vision est largement critiquable, mais elle présente l'avantage de ne pas avoir à introduire une forme supposée de dépendance de δ selon x et y.

Nous cherchons maintenant à déterminer explicitement α et β. Nous avons donc deux inconnues, et ne disposons pour l'instant que de l'Équation (4.10) pour déterminer ces deux coefficients. Dans la suite, nous nous intéressons tout d'abord aux cas $R = 0.5$ et $R = 1$.

1.2 Paramétrisation des profils d'hématocrite : $R \leqslant 1$ et $\delta > 0$

Le résultat de la paramétrisation dans ce cas est présenté sur les Figures 4.2(a), 4.2(b) et 4.2(c) (traits continus rouges). Par définition même de la couche d'exclusion plasmatique, nous savons que la valeur de l'hématocrite doit y être nul. Ainsi, en écrivant notamment que l'hématocrite est nul en $x = W/2 - \delta$, nous obtenons la relation :

$$\alpha + \beta(\frac{W}{2} - \delta)^2 = 0 \tag{4.12}$$

Déterminer α et β passe donc par la résolution du système suivant, Équa-

tions (4.4), (4.11) et (4.12) :

$$\begin{cases} \dfrac{4}{\mathrm{W}^2}\displaystyle\int_0^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta}\int_0^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta}(\alpha+\beta\mathrm{x}^2)(\alpha+\beta\mathrm{y}^2)\,\mathrm{dxdy} = \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} \\ \alpha+\beta\Big(\dfrac{\mathrm{W}}{2}-\delta\Big)^2 = 0 \end{cases} \tag{4.13}$$

Résoudre ce système fournit les expressions suivantes pour α et β :

$$\begin{cases} \alpha = \dfrac{3\mathrm{W}\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}}{4(\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta)} \\ \beta = -\dfrac{3\mathrm{W}\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}}{4(\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta)^3} \end{cases} \tag{4.14}$$

Les deux coefficients dépendent de $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ et δ.

Afin d'éliminer une de ces deux variables, nous exploitons les mesures de couche d'exclusion plasmatique effectuées par la méthode optique décrite Section 4.3.1 du Chapitre Matériels et Méthodes. Pour l'ensemble des expériences, nous reportons, sur la Figure 4.4, les valeurs de la largeur de la couche d'exclusion plasmatique en fonction de l'hématocrite de tube moyen, dans les cas $\mathrm{R} = 0.5$, Figure 4.4(a), et $\mathrm{R} = 1$, Figure 4.4(b). Dans les deux cas, nous avons une décroissance de l'épaisseur de la couche d'exclusion plasmatique lorsque $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ augmente. Pour décrire analytiquement la tendance observée, nous proposons empiriquement une relation exponentielle liant δ et $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$:

$$\begin{cases} \delta(\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}) = 1.15\exp(-5\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}) & \mathrm{R}=1 \\ \delta(\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}) = 3.83\exp(-50\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}) & \mathrm{R}=0.5 \end{cases} \tag{4.15}$$

A notre connaissance, il s'agit de la première relation de cette nature déterminée expérimentalement *in vitro*. Remarquons dans les deux cas que δ décroît avec $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$. Cette décroissance est analogue à une occupation de plus en plus importante de la section droite par les globules rouges. Pour le cas $\mathrm{R} = 1$, cette occupation est due à une transition des écoulements organisés en file indienne, vignette A (Figure 4.5), à une organisation où les globules rouges se chevauchent ("zipper"), ainsi que le montre la courbe tirée de l'étude de Gaehtgens *et al.* (1980) et présentée sur la Figure 4.5. Les vignettes B et C de cette même figure montrent respectivement la transition entre le régime mono-file et *zipper*, pour laquelle il y a coexistence des deux régimes, et le régime *zipper* "établi". Les résultats de Gaehtgens *et al.* (1980) montrent que la transition entre les deux régimes d'écoulement s'effectue, pour un diamètre de tube de 10 microns, pour un hématocrite de tube de l'ordre de 0.1. Dans notre cas, à $\mathrm{R} = 1$, la transition apparaît pour un hématocrite similaire, de l'ordre de $0.13 - 0.15$. Notons que pour $\mathrm{R} = 0.5$, nous

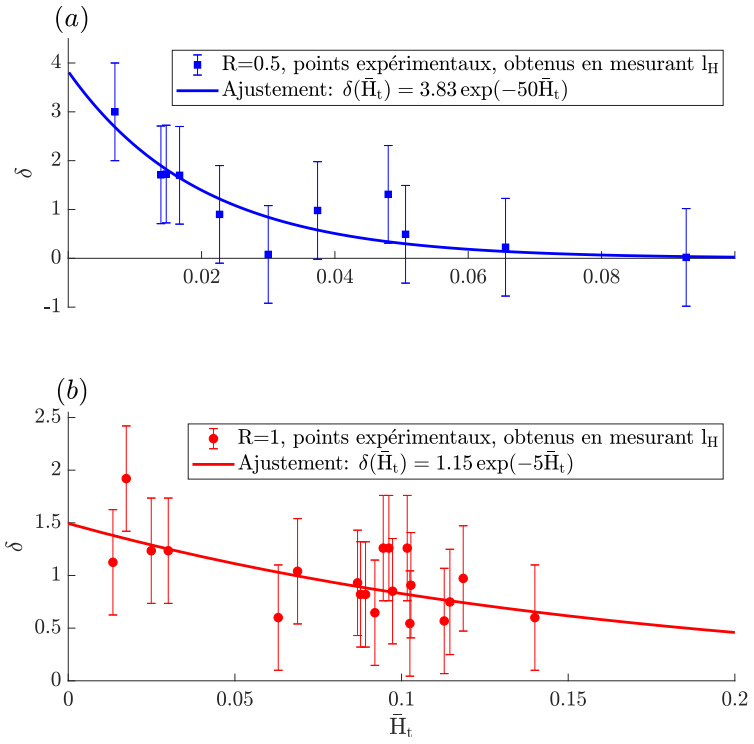

FIGURE 4.4 – Variations de δ en fonction de $\bar{H}_t$, pour le cas R = 0.5 (a) et le cas R = 1 (b). Voir l'Équation (3.5) du chapitre Matériels et Méthodes, et la Section 4.3.1 de ce même chapitre pour le détail de la méthode de mesure.

observons du multi-file dès $\bar{H}_t \sim 0.03$, voir vignettes D et E. Enfin, à l'inverse, pour le cas R = 2, nos séquences montrent une organisation selon une file unique, même à des valeurs élevées d'hématocrites, voir vignette F.

La décroissance de δ avec $\bar{H}_t$ est d'autant plus rapide que R est petit. Il n'existe, toujours à notre connaissance, aucun support théorique dans la littérature pour expliquer un tel résultat. Ce résultat suggère que les interactions hydrodynamiques permises entre globules rouges, qui tendent à élargir leur distribution dans la section (Grandchamp *et al.*, 2013), et donc à réduire la taille de la couche d'exclusion plasmatique sont, en comparaison des forces qui tendent à augmenter la taille de la couche d'exclusion plasmatique générées par le taux de cisaillement, plus importantes, à mesure que R diminue.

Notons que des simulations réalisées par Lei *et al.* (2013) font état, pour des canaux circulaires de diamètre 20 μm, d'une couche d'exclusion plasmatique d'épaisseur non nulle pour un hématocrite de tube de près de 40%. Une telle différence entre nos mesures et les résultats de la simulation pourrait être un effet de la forme de la section, ou bien pourrait résulter de

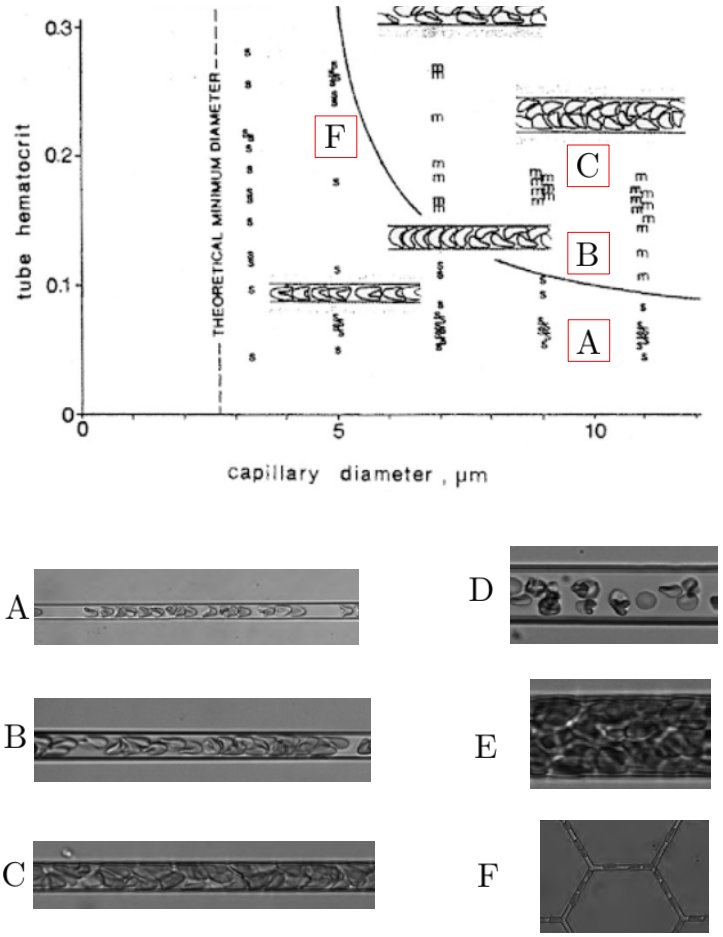

FIGURE 4.5 – Transition des écoulements, de mono-files vers des organisations type "*zipper*", d'après Gaehtgens *et al.* (1980). Nous complétons ce graphe avec des images issues de nos séquences d'écoulement en canaux carrés. A : R = 1, $\bar{H}_t^e \approx 0.07$; B : R = 1, $\bar{H}_t^e \approx 0.13$; C : R = 1, $\bar{H}_t^e \approx 0.2$; D : R = 0.5, $\bar{H}_t^e \approx 0.04$; E : R = 0.5, $\bar{H}_t^e \approx 0.18$; F : R = 2, $\bar{H}_t^e \approx 0.14 - 0.21$;.

l'imprécision de nos mesures qui pourrait conduire à une sous-estimation de notre part de δ. D'après l'étude de Sherwood *et al.* (2014a), pour une suspension de globules rouges, dont l'hématocrite de tube est de l'ordre de 0.16, s'écoulant dans un canal droit de section carrée telle que $W = 50\,\mu$m, il n'y a pas de couche d'exclusion plasmatique, et l'hématocrite à la paroi est non nul, quand les simulations de Lei *et al.* (2013) suggèrent une couche d'exclusion plasmatique de l'ordre de $2\,\mu$m pour un hématocrite de tube de ~ 0.4 et pour un diamètre de $40\,\mu$m. Cela renforce l'idée que la forme de la section jouerait un rôle important dans la structuration des globules rouges dans un canal droit. Enfin, si la forme de la section n'est pas à l'origine de ces différences, alors la taille de la couche d'exclusion plasmatique

pourrait être sur estimée par ces simulations. Ce champ étant en plein développement (Guckenberger *et* Gekle, 2017), il n'est pas impossible qu'une compréhension plus fine de la physique des écoulements sanguins à fort confinement faisant suite à des études comme la notre ou celle de Sherwood *et al.* (2014a), par exemple, puisse permettre à ces simulations de mieux capturer les observations expérimentales *in vitro*.

Nous nous intéressons maintenant au cas où δ est nul.

1.3 Paramétrisation des profils d'hématocrite : $R = 0.5$ et $\delta = 0$

Dans le cas que nous traitons à présent, la valeur locale de l'hématocrite à la paroi est non nulle, (voir Figure 4.2(d) pour la comparaison entre le résultat de cette paramétrisation et les points expérimentaux). Nous la noterons H_0. Pour $R = 0.5$, nous avons mesuré une épaisseur de couche d'exclusion plasmatique quasiment nulle, pour $\bar{H}_t \approx 0.09$, voir Figure 4.4(a), ce qui nous permet d'affirmer que, pour des valeurs d'hématocrite de tube plus élevées, $\delta = 0$. Pour le cas $R = 1$, nous n'avons jamais obtenu de valeur nulle de l'épaisseur de la couche d'exclusion plasmatique, dans la gamme d'hématocrite où cette mesure est techniquement possible, *i.e.* pour $\bar{H}_t \leq 0.15$. Bien qu'il semble intuitif de considérer qu'au-delà d'un certain hématocrite (inférieur à 1), quel que soit le confinement, que la couche d'exclusion plasmatique sera nulle, nous ne sommes en mesure de déterminer cette valeur que pour le confinement $R = 0.5$. Aussi, dans la suite, seul ce confinement sera considéré.

De la même manière que pour le cas précédent ($\delta > 0$, Section 1.2), nous souhaitons déterminer les coefficients α et β. Pour ce faire, nous cherchons à établir un système d'équations sur la base de relations empiriques que nous pouvons déterminer à partir de nos séquences d'écoulements.
Tout d'abord la valeur de H_0 est déterminée en ajustant la fonction f aux points expérimentaux non impactés par la diffraction aux parois (voir Chapitre Matériels et Méthodes, Section 4.3.1), et en supposant $H_0 = f(W/2) = f(-W/2)$.

De la même manière que nous avons étudié l'évolution de δ en fonction de $\bar{H}_t$, nous pouvons tracer la variation de H_0 en fonction de $\bar{H}_t$, voir Figure 4.6.

On observe que H_0 croît linéairement avec $\bar{H}_t$. L'extrapolation linéaire, $H_0 = 1.1\,\bar{H}_t - 0.086$ donne une valeur nulle de H_0 pour $\bar{H}_t = 0.078$, proche de la valeur maximale de $\bar{H}_t$ pour laquelle une valeur non nulle de δ est mesurée, $\bar{H}_t \approx 0.093$, voir Figure 4.4(a). La proximité entre ces deux valeurs nous permet de valider dans la limite de l'incertitude expérimentale, nos mesures de δ et H_0. Notons toutefois que ces deux valeurs suggèrent l'existence simultanée d'un cas $H_0 > 0$ et $\delta > 0$. Incompatible avec les défi-

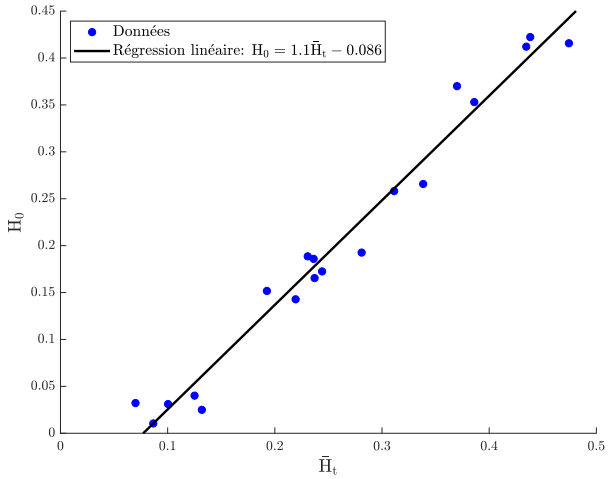

FIGURE 4.6 – H_0 en fonction de $\bar{H}_t$, pour $R = 0.5$.

nitions intrinsèques de la couche d'exclusion plasmatique et d'hématocrite non nulle à la paroi, cette coexistence met en avant la difficulté à capturer avec précision et exactitude la transition entre les états $\delta = 0$ et $H_0 = 0$.

Notons qu'il est difficile d'interpréter physiquement H_0. En effet, sa valeur est déterminée à partir des profils mesurés, qui donnent une valeur d'hématocrite *moyennée* le long de l'axe optique. Mathématiquement, nous allons procéder ci-dessous comme si H_0 était une valeur constante le long de la paroi, comme nous l'avons fait pour δ. De nouveau, si ce point est amplement discutable, il permet de restreindre au maximum le nombre de paramètres permettant la paramétrisation du profil. Au final, dans ce cadre, le système à résoudre pour déterminer α et β s'écrit alors :

$$\begin{cases} \dfrac{4}{W^2}\displaystyle\int_0^{\frac{W}{2}}\int_0^{\frac{W}{2}} (\alpha + \beta x^2)(\alpha + \beta y^2)\,dxdy &= \bar{H}_t \\ \alpha + \beta\Big(\dfrac{W}{2}\Big)^2 &= \dfrac{H_0}{\sqrt{\bar{H}_t}} \end{cases} \tag{4.16}$$

Les deux coefficients ont alors pour expression :

$$\begin{cases} \alpha = \dfrac{3\bar{H}_t - H_0}{2\sqrt{\bar{H}_t}} \\ \beta = \dfrac{6}{W^2}\Big(\dfrac{H_0 - \bar{H}_t}{\sqrt{\bar{H}_t}}\Big) \end{cases} \tag{4.17}$$

avec $W = 20$ et :

$$H_0 = 1.1\bar{H}_t - 0.086 \tag{4.18}$$

Nous venons de décrire la méthode que nous avons employée pour paramétriser les profils d'hématocrite obtenus expérimentalement. Nous avons présenté le résultat de cette méthode sur la Figure 4.2, qui montre un bon accord avec les points expérimentaux. Notons que grâce à cette méthode, les profils d'hématocrite, en régime établi, ne sont paramétrisés que par $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$, pour W fixé.

Nous nous intéressons à présent au cas $\mathrm{R} = 2$. Dans ce cas, nous allons voir que le nombre d'inconnues rentrant dans la paramétrisation du profil d'hématocrite se réduit à un.

1.4 Paramétrisation des profils d'hématocrite : $\mathrm{R} = 2$

Parler de profil d'hématocrite à un tel confinement semble *a priori* incompatible avec l'observation des séquences d'images à un tel confinement, dans lesquelles les globules se déplacent les uns derrière les autres, chaque globule étant parfaitement discernable. Toutefois, nous ferons l'hypothèse que ceux-ci peuvent être décrits par un profil d'hématocrite, lorsque l'écoulement dure suffisamment longtemps pour qu'un grand nombre de globules (supérieur à 100) soient considérés. Cependant, même dans ce cas, la diffraction aux parois nous empêche d'extraire une forme de profil à partir de nos images. Nous supposons donc que, du fait du confinement, ce profil est plat. Ainsi, nous reprenons l'Équation (4.11) en imposant $\beta = 0$. Il vient alors, en dehors de la couche d'exclusion plasmatique :

$$\mathrm{H_t}(\mathrm{x}, \mathrm{y}) = \alpha^2 \tag{4.19}$$

Notons que si $\alpha = 1$, alors le fluide suspendant ne se trouve que dans la couche d'exclusion plasmatique. Autrement dit, si $\alpha = 1$, le noyau central est constitué uniquement de globules rouges, qui occupent tout l'espace du manchon central. Nous pouvons déterminer l'expression du coefficient α en écrivant :

$$\frac{4}{\mathrm{W}^2} \int_0^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta} \int_0^{\frac{\mathrm{W}}{2}-\delta} \alpha^2 \,\mathrm{dxdy} = \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} \tag{4.20}$$

ce qui permet d'obtenir l'expression de α :

$$\alpha = \sqrt{\frac{\mathrm{W}\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}}{\mathrm{W} - 2\delta}} \tag{4.21}$$

Ce paramètre dépend donc, encore une fois de $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ et δ uniquement. Dans l'idéal, afin de simplifier la description de ce paramètre, il faudrait aussi pouvoir exprimer δ en fonction de $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$, de sorte que la forme du profil dans la

section puisse être déterminée seulement à partir de la connaissance de $\bar{H}_t$. Toutefois, du fait de la difficulté à conduire des expériences dans ce régime de fort confinement géométrique, nous n'avons pas été en mesure d'établir une relation entre la couche d'exclusion plasmatique et l'hématocrite de tube moyen.

En revanche, pour $\bar{H}_t \approx 0.135$, au moyen de la méthode manuelle décrite dans le chapitre Matériels et Méthodes (Section 5.1) nous avons pu déterminer que pour des vitesses comprises entre $3.3\,\mathrm{mm.s^{-1}}$ et $6.6\,\mathrm{mm.s^{-1}}$, nous avons : $\delta = 1.1 \pm 0.09\,\mu$m (moyenne $\pm$ déviation standard, déterminées sur une trentaine de globules), lorsque pour des vitesses de l'ordre de $800\,\mu$m/s, $\delta = 0.96 \pm 0.11\,\mu$m.

La largeur de la couche d'exclusion plasmatique est légèrement influencée par la vitesse du globule rouge et est d'autant plus faible que ce dernier paramètre est faible.

Comparons à présent nos mesures de couche d'exclusion plasmatique, avec celles d'Hochmuth *et al.* (1970). Dans leur étude, ils font s'écouler des globules rouges suspendus dans du plasma dans des capillaires cylindriques en verre de diamètre variant entre 4.5 et 9.6 microns. Leur méthode de mesure de la couche d'exclusion plasmatique est identique à celle que nous proposons pour nos canaux R = 2. Nous reportons sur la Figure 4.7 les résultats qu'ils ont obtenus dans les capillaires de plus petits diamètres, 4.5 microns. Comme dans notre cas, la couche d'exclusion plasmatique qu'ils ont mesurée est d'autant plus faible que la vitesse de l'écoulement l'est aussi. Un plateau semble être atteint lorsque celle-ci est supérieure à $800\,\mu\mathrm{m.s^{-1}}$, jusqu'à la vitesse maximale qu'ils ont considérée, à savoir $2000\,\mu\mathrm{m.s^{-1}}$ (voir Figure 4.7). Les valeurs de δ que nous obtenons dans nos canaux sont considérablement plus élevées que les leurs, même pour une vitesse identique de $800\,\mu\mathrm{m.s^{-1}}$. Cela ne pouvant être attribué à la méthode de mesure, deux effets pourraient influencer les valeurs de δ. Le premier, serait un effet de la forme de la section. Toutefois, l'étude numérique conduite par Hu *et al.* (2012) sur des capsules, sphériques au repos, ne semble pas confirmer cette hypothèse (voir la Figure 9 de Hu *et al.* (2012)), puisque pour les deux géométries, la partie de la section occupée par la capsule est sensiblement similaire. Un autre effet pourrait provenir de l'iodixanol contenu dans l'Optiprep, dont l'influence sur les propriétés mécaniques de la membrane du globule rouge est inconnue à ce jour. Enfin, l'étude d'Hochmuth *et al.* (1970) a été conduite dans des tubes en verre. Or, nous avons trois sections sur quatre qui sont du PDMS, la dernière du verre, et l'ensemble est activé à la BSA. L'effet de la BSA pourrait être rapproché de celui induit par des chaînes de polymères incrustées sur la paroi des canaux, qui tendent à augmenter la largeur de la couche d'exclusion plasmatique, par rapport au cas "nu" (Lanotte *et al.*, 2014).

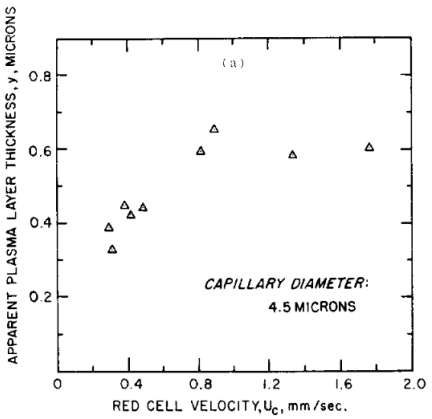

FIGURE 4.7 – Évolution de δ en fonction de la vitesse, d'après Hochmuth *et al.* (1970).

Même si nous n'avons pas été en mesure de déterminer une relation entre $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}$ et δ, il est possible d'affirmer que la largeur de la couche d'exclusion plasmatique doit décroître dans la limite des forts hématocrites. En effet, nous pouvons déduire de l'Équation (4.21) que la plus petite valeur de δ que nous avons mesurée ($\sim 0.85\,\mu$m) conduit à des valeurs non physique du paramètre α (*i.e.* $\alpha > 1$) dès que $\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} \approx 0.42$. Aussi, il faut nécessairement que les interactions entre globules aux forts hématocrites aient pour conséquence de diminuer la valeur de δ.

La vision continue décrite par un profil d'hématocrite, même pour ce très fort confinement, permet de retrouver le volume d'un globule rouge, en utilisant le raisonnement ci-après. Rappelons que nous avons mentionné dans le chapitre précédent (Section 5.2) que la longueur des globules rouges, en pixels, est $\mathrm{L_{GR}} = 41 \pm 6\,$px, soit $\mathrm{L_{GR}} = 9 \pm 1.3\,\mu$m. Supposons à présent que nous ayons un écoulement de globules rouges dans un canal $\mathrm{R} = 2$, en régime établi, dont l'hématocrite de tube est 0.42. Puisque dans ce cas, $\alpha = 1$, cela signifie que, en dehors de la couche d'exclusion plasmatique, la section est toujours occupée par un globule rouge. L'écoulement peut donc être vu comme un train ininterrompu de globules. Considérons une portion de canal valant $\mathrm{L_{GR}}$. Cette portion contient un seul globule rouge. De plus, l'hématocrite de tube dans ce canal vaut 0.42. Ce qui peut s'écrire comme : $0.42 = \dfrac{\mathcal{V}_\mathrm{GR}}{\mathcal{V}_\mathrm{canal}}$, où $\mathcal{V}_\mathrm{GR}$ et $\mathcal{V}_\mathrm{canal}$ sont les volumes d'un globule rouge et de la portion de canal respectivement, avec $\mathcal{V}_\mathrm{canal} = \mathrm{W}^2\mathrm{L_{GR}} = 225\,\mu\mathrm{m}^3$. Soit, en multipliant par 0.42, $\mathcal{V}_\mathrm{GR} = 94.5\,\mu\mathrm{m}^3$.

Cette valeur est très proche de celles que l'on trouve dans la littérature (Mohandas *et* Gallagher 2008 ; Memmolo *et al.* 2014), et nous permet de valider, une première fois, l'approche continue de la phase globules rouges,

exprimée au travers du profil d'hématocrite, pour ce très fort confinement géométrique.

La paramétrisation des profils d'hématocrite nous offre une expression de ces profils pour différentes gammes d'hématocrite de tube. Nous résumons dans l'encadré ci-après l'ensemble des coefficients et leur expression. Dans ce qui suit, nous comparons l'aplatissement de ces profils, pour les trois confinements.

Paramétrisation des profils d'hématocrite :

$$\begin{cases} \mathrm{H_t(x,y)} = (\alpha + \beta x^2)(\alpha + \beta y^2) & \text{si } |\mathrm{x}|, |\mathrm{y}| \leqslant \dfrac{\mathrm{W}}{2} - \delta \\ \mathrm{H_t(x,y)} = 0 & \text{si } |\mathrm{x}|, |\mathrm{y}| > \dfrac{\mathrm{W}}{2} - \delta \end{cases} \tag{4.22}$$

• $\mathrm{R} \leqslant 1$ **et** $\delta > 0$

$$\alpha = \frac{3\mathrm{W}\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}}{4(\frac{\mathrm{W}}{2} - \delta)} \tag{4.23}$$

$$\beta = -\frac{3\mathrm{W}\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}}{4(\frac{\mathrm{W}}{2} - \delta)^3} \tag{4.24}$$

$$\delta = 3.83\exp(-50\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}) \qquad \text{si R} = 0.5 \tag{4.25}$$

$$\delta = 1.15\exp(-5\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}) \qquad \text{si R} = 1 \tag{4.26}$$

• $\mathrm{R} \leqslant 1$ **et** $\delta = 0$

$$\alpha = \frac{3\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} - \mathrm{H}_0}{2\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}} \tag{4.27}$$

$$\beta = \frac{6}{\mathrm{W}^2}\Big(\frac{\mathrm{H}_0 - \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}{\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}}\Big) \tag{4.28}$$

$$\mathrm{H}_0 = 1.1\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t} - 0.086 \qquad \text{si R} = 0.5 \tag{4.29}$$

• $\mathrm{R} = 2$

$$\alpha = \sqrt{\frac{\mathrm{W}\sqrt{\bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t}}}{\mathrm{W} - 2\delta}} \tag{4.30}$$

$$\beta = 0 \tag{4.31}$$

1.5 Aplatissement des profils d'hématocrite

Par analogie avec le coefficient d'aplatissement introduit pour caractériser le profil des vitesses (voir Équation (2.3) du deuxième chapitre), nous souhaitons maintenant réécrire l'Équation (4.22) sous la forme :

$$\mathrm{H_t(x,y)} = \mathrm{H_{t_{max}}}\Big(1 - \mathrm{B_H}\Big(\frac{\mathrm{x}}{\mathrm{W}/2}\Big)^2\Big)\Big(1 - \mathrm{B_H}\Big(\frac{\mathrm{y}}{\mathrm{W}/2}\Big)^2\Big) \tag{4.32}$$

Dans cette expression, $H_{t_{max}}$ représente l'hématocrite maximal au centre du canal et B_H, non majoré *a priori*, représente le coefficient d'aplatissement (ou *bluntness*) du profil d'hématocrite. Nous avons, dans la couche d'exclusion plasmatique, $H_t(x, y) = 0$.

Par identification avec l'Équation (4.22), nous déterminons l'expression de ces deux nouveaux coefficients :

$$\begin{cases} H_{t_{max}} = \alpha^2 \\ B_H = -\dfrac{W^2\beta}{4\alpha} \end{cases} \tag{4.33}$$

Les profils expérimentaux mesurés, $\tilde{H}_t(x)$ deviennent alors simplement :

$$\tilde{H}_t(x) = \tilde{H}_{t_{max}}\left(1 - B_H\left(\frac{x}{W/2}\right)^2\right) \tag{4.34}$$

où $\tilde{H}_{t_{max}} = \dfrac{\sqrt{\bar{H}_t}}{\alpha}H_{t_{max}}$. Nous représentons sur la Figure 4.8 l'évolution de B_H en fonction de $\bar{H}_t$ pour les trois confinements. Pour $R = 2$, par hypothèse, le

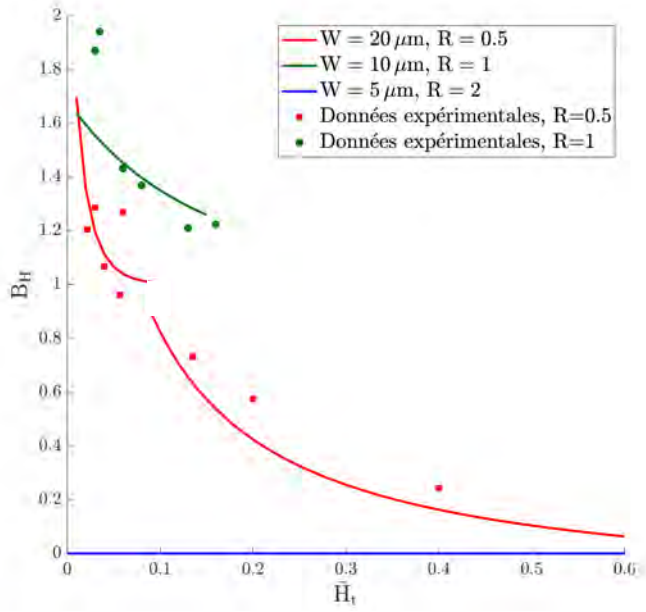

FIGURE 4.8 – Évolution de B_H en fonction de $\bar{H}_t$ pour les trois confinements. Notons le décrochage de la courbe pour $R = 0.5$. Nous avons choisi de ne pas tracer de manière continue cette courbe, du fait de la difficulté à représenter nettement la transition entre l'état $\delta > 0$ et $H_0 > 0$.

profil est plat sur toute la gamme d'hématocrite, d'où $\beta = 0$ et donc $B_H = 0$.

Pour $R = 0.5$ et $R = 1$, notons que B_H est toujours strictement positif. Ce paramètre décroît avec l'hématocrite, ce qui signifie que le profil est d'autant plus plat que l'hématocrite est important.

A partir des Équations (4.23), (4.24) et (4.33), B_H peut être écrit sous la forme $B_H = \frac{W^2}{4(\frac{W}{2} - \delta)^2}$, lorsque δ est non nul. Fixons W. Parce que δ diminue avec $\bar{H}_t$ (voir Équations (4.25) et (4.26)), alors, B_H décroît. A présent, relaxons W et fixons $\bar{H}_t$. Du fait de sa forme pour $\delta > 0$, B_H peut être vu comme une manière d'évaluer la proportion de la largeur d'un canal occupée par la couche d'exclusion plasmatique, à un hématocrite de tube fixé. Aussi, B_H est d'autant plus important que la proportion de canal occupée par la couche d'exclusion plasmatique l'est aussi.

Lorsque l'hématocrite est suffisamment fort pour que la couche d'exclusion plasmatique disparaisse, nous avons supposé l'existence d'un hématocrite de paroi non nul, appelé H_0 (cas $R = 0.5$). Puisque, nous l'avons mentionné, nos mesures ne permettent pas de déterminer avec précision la valeur de $\bar{H}_t$ pour laquelle il y a une transition entre $\delta > 0$ et $H_0 > 0$, qui est autour de $\bar{H}_t \approx 0.1$, nous distinguons deux régimes. Le premier, correspondant au cas $\delta > 0$ est étendu jusqu'à $\bar{H}_t = 0.09$ (voir courbe rouge, pour $\bar{H}_t \leqslant 0.09$, Figure 4.8). Le deuxième régime, correspondant à H_0 "commence" à $\bar{H}_t = 0.1$ (voir courbe rouge, pour $\bar{H}_t \geqslant 0.1$, Figure 4.8). Au-delà de la transition, l'évolution de B_H peut s'expliquer aussi par l'expression des coefficients α et β, comme nous l'avons fait pour le cas $\delta > 0$. Nous ne proposons toutefois pas cette analyse, car identique à celle que nous venons de faire.

Notons que pour $R = 1$ nous ne pouvons pas proposer, avec certitude, d'expression pour ces coefficients lorsque l'hématocrite de tube est supérieur à 0.15. Aussi nous ne proposons pas d'évolution quantitative de B_H avec $\bar{H}_t$ pour $\bar{H}_t > 0.15$. Nous pouvons toutefois affirmer que B_H ne peut que décroître avec l'hématocrite de tube, au moins jusqu'à une certaine valeur de $\bar{H}_t < 1$.

Enfin, les données expérimentales que nous montrons sur la Figure 4.8 (symboles) présentent un bon accord avec la formule semi-empirique de B_H (traits pleins). Ces données ont été obtenues en calculant B_H à partir des coefficients α et β déterminés par ajustement de la fonction f à nos profils d'hématocrite expérimentaux, indépendamment des expressions encadrées, ce qui tend à valider ces expressions.

Remarquons que pour les fortes valeurs de $\bar{H}_t$, *i.e.* supérieures à 50%, le coefficient d'aplatissement du profil d'hématocrite pour $R = 0.5$ se rapproche de celui, nul, du cas $R = 2$, ce qui tend à suggérer un lien entre le confinement géométrique, et un "confinement collectif". Ici, le confinement collectif est le confinement "ressenti" par chaque globule dans une suspension concentrée. Aussi, une quantité pertinente à laquelle nous pouvons rattacher

cette notion est l'hématocrite de tube moyen, $\bar{H}_t$: plus l'hématocrite de tube moyen augmente, et plus le confinement collectif est important. L'analyse des courbes ci-dessus suggère qu'une manière de quantifier l'effet qu'a un "confinement effectif" total, prenant en compte les confinements géométrique et collectif, peut se faire au travers de la valeur du coefficient d'aplatissement du profil d'hématocrite, B_H. Nous reprendrons cette idée dans le chapitre suivant où nous montrerons l'influence des trois paramètres $\bar{H}_t$, B_H et R sur l'effet de séparation de phase.

Pourquoi le profil d'hématocrite n'est-il pas plat dans le cas $R = 1$ **?** Si les notions de coefficient d'aplatissement non nul pour $R = 0.5$, et de coefficient d'aplatissement nul pour $R = 2$ sont intuitives, la notion de coefficient d'aplatissement nul pour $R = 1$ mérite d'être discutée. En particulier, nous proposons une explication pour son origine. Tout d'abord, rappelons que la paramétrisation du profil d'hématocrite pour ce dernier cas est, en pratique, limitée à des écoulements quasi-exclusivement monofiles. Pour comprendre comment, à partir d'un écoulement monofile il est possible d'avoir un profil d'hématocrite non plat, nous comparerons les cas $R = 1$ et $R = 2$. Nous illustrons les deux situations sur la Figure 4.9 ci-dessous.

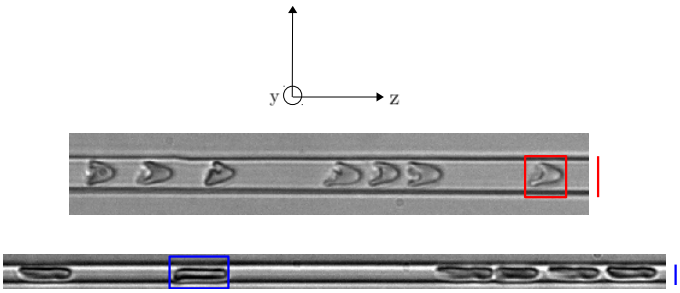

FIGURE 4.9 – Globules s'écoulant en mono-file dans des canaux $R = 1$, en haut et $R = 2$, en bas. La barre bleue représente 10 microns quand la barre bleue en représente 5. Les globules encadrés sont ceux à partir desquels ont été obtenues les courbes de la Figure 4.10.

Nous voyons sur la Figure 4.9 les formes typiques prises par les globules rouges pour les deux confinements. Sur la figure du haut, les globules ont une forme caractéristique de parachute. Cette forme est typique du confinement $R = 1$. Sur la figure du bas, les globules ont une forme plus allongée, semblable à un grain de riz, typique des canaux les plus étroits ($R = 2$).

La forme du profil d'hématocrite, et en particulier le fait qu'il ne soit pas aplati, émerge de la forme des globules. Nous traçons, sur la Figure 4.10, l'évolution de l'occupation de la section par un globule rouge issu de la Figure 4.9 (haut et bas), après binarisation des images. Cette dernière étape permet une mesure plus aisée de la largeur du globule rouge. L'occupation de la section est définie comme étant le rapport entre la largeur d'un globule

rouge, w_{GR}, normalisée par la largeur du canal, W. La mesure est effectuée de l'avant vers l'arrière (par rapport au sens de l'écoulement) du globule. La Figure 4.10 montre que l'occupation de la section est quasiment constante pour le cas R = 2, lorsqu'elle ne fait que croître pour le cas R = 1.

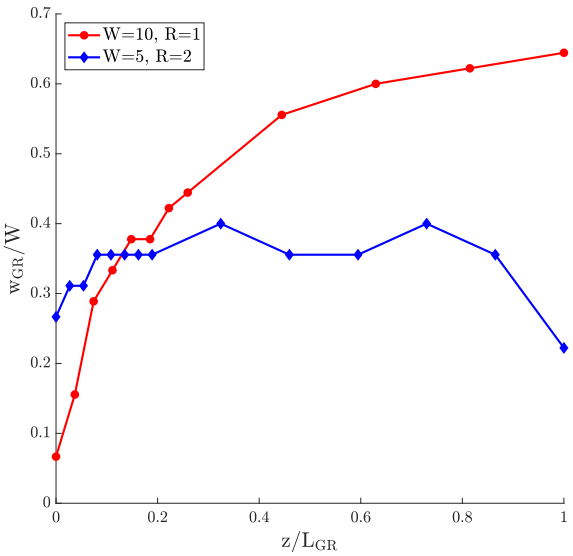

FIGURE 4.10 – Évolution de l'occupation de la section le long d'un globule rouge, pour R = 1 (bleu) et R = 2 (rouge). Les globules ayant servi à obtenir ces courbes sont encadrés sur la Figure 4.9.

A partir de la courbe d'occupation de la section, nous pouvons déduire une réponse à la question soulevée. En effet, dans un canal R = 1, plaçons nous sur un plan z_m = constante à l'instant initial t_0 et supposons que ce plan soit sur l'avant, par rapport au sens de l'écoulement, d'un globule. Supposons que l'on souhaite connaître la forme du profil en cette position. La méthode de mesure du profil consiste à mesurer l'atténuation moyenne de la lumière induite par l'hémoglobine contenue dans les globules pendant une durée T. Intéressons nous au profil d'atténuation I(x) mesuré sur un seul globule. A l'instant initial, t_0, l'atténuation est produite par l'avant arrondi du globule. Cela donnerait un profil d'atténuation $I^0(x)$ valant partout $I_{0_{FS}}$ (qui est l'atténuation due au fluide suspendant) sauf autour d'un voisinage de x = 0. Considérons l'instant suivant, $t_1 = t_0 + \delta t$, où δt est très petit devant $\frac{L_{GR}}{V_{GR}}$, où L_{GR} et V_{GR} sont respectivement la longueur et la vitesse du globule rouge. Le globule s'est déplacé d'une distance $V_{GR}\delta t$, occupant alors, du fait de sa forme, une plus grande proportion de z_m. Le profil $I^1(x)$ nouvellement acquis vaut alors $I_{0_{FS}}$ partout sauf sur un voisinage de x = 0, égal à $\frac{w_{GR}}{W}$ (voir Figure 4.10), plus grand que celui du profil $I^0(x)$. L'opération est répétée jusqu'à ce que la jupe du globule rouge

ait traversé entièrement le plan z_m. *In fine*, le profil d'atténuation total $I(x)$ vérifie $I(x) = \frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n} I^k(x)$. Celui-ci est donc maximal pour $x = 0$ et décroît lorsqu'on s'éloigne de cette position, ce qui explique le fait que le profil d'hématocrite ne soit pas plat, lorsque $R = 1$. Pour le cas $R = 2$, nous pouvons appliquer le même raisonnement. Du fait de sa forme allongée, le profil total doit être quasiment plat, ce qui est en accord avec l'hypothèse que nous avons faite. Nous verrons dans le chapitre suivant comment l'aplatissement du profil d'hématocrite a une influence sur la séparation de phase.

D'après le raisonnement que nous venons de suivre, nous pouvons voir le profil d'hématocrite dans une section droite comme étant la projection orthogonale sur cette section de l'ensemble des formes prises par les globules rouges en écoulement. Projection pour laquelle chaque point de la section droite (x, y) est affecté d'un coefficient, nécessairement égal à $H_t(x, y)$, qui par ailleurs dépend du rapport entre le temps passé par le point (x, y) à "être" dans la phase globule sur la durée totale de l'écoulement.

Dans la suite, nous nous intéressons au profil de vitesse des globules rouges. Nous cherchons à étendre la paramétrisation des profils d'hématocrite amorcée par Sophie Roman en y incluant en particulier, comme nous l'avons fait pour δ et H_0, une dépendance à $\bar{H}_t$.

2. Profil de vitesse des globules rouges

L'ensemble des profils de vitesse mesurés par *dual-slit* dans ce travail confirment les résultats de Roman *et al.* (2016). A ces profils, il est possible d'ajuster l'équation ci-dessous :

$$V_{GR}^{max}(x) = V_0\Big(1 - B\frac{x^2}{(W/2)^2}\Big) \tag{4.35}$$

où V_0 et B sont respectivement la vitesse maximale au centre du canal et coefficient d'aplatissement du profil de vitesse. Confirmant les résultats de S. Roman, nos travaux montrent eux aussi l'existence de deux régimes, caractérisés par $B = 0$ (profil plat) si $R \geqslant 1$ et $B > 0$ si $R < 1$.

A partir du profil de vitesse maximale, on déduit le profil de vitesse, qui a la forme suivante (Roman 2012) :

$$V_{GR}(x, y) = V_0\Big(1 - \frac{Bx^2}{(W/2)^2}\Big)\Big(1 - \frac{By^2}{(W/2)^2}\Big) \tag{4.36}$$

L'optimisation du système d'injection ainsi que la meilleure qualité d'image ont permis de stabiliser les écoulements, et ce, même à fort hématocrite et aussi d'avoir une mesure plus précise de cet hématocrite, par

rapport à l'étude expérimentale de Sophie Roman. Ainsi, à partir de l'ensemble de nos mesures expérimentales de profils de vitesse maximale des globules rouges par *dual-slit*, on présente sur la Figure 4.11 l'évolution du paramètre B en fonction de $\bar{H}_t$ pour $R = 0.5$. L'influence de V_0 n'a pas été étudiée, puisque, pour les raisons techniques d'implémentation de la *dual-slit*, ce paramètre est toujours, au maximum, de l'ordre du quelques millimètre par seconde. Toutefois, il est quand même possible de dire que, dans la gamme considérée (de $\sim 300\,\mu m.s^{-1}$ à $\sim 3\,mm.s^{-1}$), V_0 ne semble pas avoir d'influence sur B.

On ajuste aux points expérimentaux la fonction f_B suivante où λ, μ et ν sont trois paramètres libres :

$$f_B(x) = \left(\frac{x}{\lambda}\right)^{-\mu-1}\left(1+\left(\frac{x}{\lambda}\right)^{-\mu}\right)^{-\nu-1} \tag{4.37}$$

Cette fonction est une densité de probabilité, connue comme étant la loi de Burr (1942). Un ajustement de l'équation ci-dessus aux données au sens des moindres carrés, donne comme valeurs aux paramètres $\lambda = 0.169$, $\mu = 1.685$ et $\nu = 0.798$. Nous obtenons donc :

$$B(\bar{H}_t) = \left(\frac{\bar{H}_t}{0.169}\right)^{-2.685}\left(1+\left(\frac{\bar{H}_t}{0.169}\right)^{-1.685}\right)^{-1.798} \tag{4.38}$$

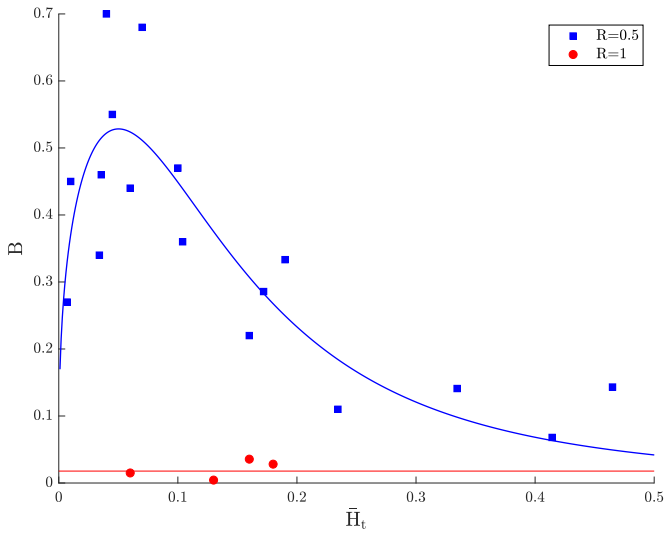

FIGURE 4.11 – Évolution du coefficient d'aplatissement du profil de vitesse des globules rouges en fonction de $\bar{H}_t$ pour $R = 0.5$ (points bleus) et $R = 1$ (point rouges). L'incertitude sur les mesures du paramètre est de plus ou moins 0.05. La courbe bleue continue représente l'Équation (4.38).

La tendance suivie par les points expérimentaux mise en évidence pour le cas $R = 0.5$ n'a, à notre connaissance, jamais été reportée. Nous justifions

notre choix de la fonction f_B, pour décrire nos points expérimentaux, sur la base des considérations suivantes. Supposons que l'hématocrite de tube tende vers zéro : la suspension se réduit alors à un unique globule rouge qui s'écoule dans un canal très long. En régime établi, le globule rouge ne se déforme pas. Le profil de vitesse maximale (celui qui est mesuré par *dual-slit*) est alors réalisé sur l'intégralité du globule. Mais, puisque le globule ne se déforme pas, le profil résultant de cette mesure doit être plat et égal à la vitesse du centre de masse du globule. Ainsi, la valeur de B tend vers zéro.

Ensuite, lorsque l'hématocrite augmente, les globules occupent une surface de la section droite de plus en plus importante, et sont donc soumis aux gradients de vitesses du fluide suspendant dans celle-ci. Lorsque l'hématocrite devient plus important (supérieur à 0.053, d'après la Figure 4.11, courbe et points bleus), les interactions entre globules tendent à aplatir le profil de vitesse. Notons de nouveau la similitude entre fort confinement collectif et fort confinement géométrique, ainsi que nous l'avons exhibée pour le paramètre B_H.

Enfin, ajuster aux points expérimentaux une courbe exponentielle décroissante fournit une valeur moyenne des résidus légèrement plus grande que celle que nous avons en utilisant la fonction f_B (0.2588 contre 0.1474).

La connaissance à la fois de la forme du profil de vitesse des globules rouges et du profil d'hématocrite nous permet de mesurer le débit de globules rouges dans un canal de section carrée, en régime établi. Nous ne sommes pas en mesure de mesurer le profil de vitesse du fluide suspendant, aussi sommes nous obligés de déduire le débit de ce dernier au moyen d'hypothèses faites sur son profil de vitesse. Après avoir montré comment nous obtenons les débits de globules rouges, de fluide suspendant et de sang, nous validerons dans la section suivante les expressions obtenues en comparant l'intensité de l'effet Fåhraeus déduite de nos corrélations empiriques et hypothèses, à celle prédite par la loi de Pries *et al.* (1990), adaptée pour des globules rouges humains (Roman *et al.*, 2016), voir Équation (2.11), Chapitre Introduction. Dans l'encadré ci-dessous, nous résumons les grandeurs liées à la paramétrisation des profils de vitesse des globules rouges, et leur expression.

Paramétrisation des profils de vitesse des globules rouges :

$$V_{GR}(x,y) = V_0\Big(1 - 4B\Big(\frac{x}{W}\Big)^2\Big)\Big(1 - 4B\Big(\frac{y}{W}\Big)^2\Big) \tag{4.39}$$

- $R = 0.5$

$$B(\bar{H}_t) = \Big(\frac{\bar{H}_t}{0.169}\Big)^{-2.685}\Big(1 + \Big(\frac{\bar{H}_t}{0.169}\Big)^{-1.685}\Big)^{-1.798} \tag{4.40}$$

- $R > 1$

$$B(\bar{H}_t) = 0 \tag{4.41}$$

3. Débits de globules rouges et de fluide suspendant

3.1 Expression des débits

Le débit de globules rouges (Q_{GR}) est obtenu en intégrant le produit du profil de vitesse des globules rouges par le profil d'hématocrite, sur toute la surface, en excluant la couche d'exclusion plasmatique, lorsque celle-ci est de taille non nulle. Le débit de globules rouges est alors donné par :

$$Q_{GR} = 4V_0\Big(\alpha\Big(\frac{W}{2} - \delta\Big) + \frac{1}{3}\Big(\beta - \alpha\frac{4B}{W^2}\Big)\Big(\frac{W}{2} - \delta\Big)^3 - \frac{1}{5}\frac{4\beta B}{W^2}\Big(\frac{W}{2} - \delta\Big)^5\Big)^2 \tag{4.42}$$

Le débit de fluide suspendant (Q_{FS}) est déterminé en supposant qu'il s'agit d'un fluide Newtonien ayant donc un profil de Poiseuille, de vitesse nulle à la paroi et de vitesse maximale V_0, par ailleurs égale à celle des globules rouges. Nous discuterons de cette dernière hypothèse après avoir traité le cas $R = 2$. Sous ces hypothèses, le débit de fluide suspendant s'écrit (Roman *et al.* 2016) :

$$Q_{FS} = \frac{(1 - \bar{H}_t)V_0W^2}{2.0963} \tag{4.43}$$

Le débit de sang total Q_{sang} est alors simplement donné par :

$$Q_{sang} = Q_{FS} + Q_{GR} \tag{4.44}$$

3.2 Validation : paramétrisation de l'effet Fåhraeus

Afin de valider l'ensemble des expressions établies ci-dessus, et résumées dans les encadrés, nous comparons l'intensité de l'effet Fåhraeus que nous pouvons en déduire à celle établie dans des conditions similaires (Pries *et*

al. 1990). Rappelons que l'effet Fåhraeus traduit la différence, entre l'hématocrite de tube moyen et l'hématocrite de débit dans un tube donné, telle que : $\dfrac{\bar{H}_t}{H_D} < 1$.

Nous exprimons H_D en fonction de α, β, B, et W. Tout d'abord, nous rappelons l'expression de H_D :

$$H_D = \frac{Q_{GR}}{Q_{sang}} \tag{4.45}$$

En se servant des Équations (4.22), (4.39), et (4.42)-(4.44), il vient :

$$H_D = \frac{A}{A + \dfrac{(1 - H_t)W^2}{2.0963}} \tag{4.46}$$

où $A = 4\Big(\alpha\Big(\dfrac{W}{2} - \delta\Big) + \dfrac{1}{3}\Big(\beta - \alpha\dfrac{4B}{W^2}\Big)\Big(\dfrac{W}{2} - \delta\Big)^3 - \dfrac{1}{5}\dfrac{4\beta B}{W^2}\Big(\dfrac{W}{2} - \delta\Big)^5\Big)^2$.

Notre formulation de l'effet Fåhraeus, comme celle de Pries *et al.* (1990) est indépendante de V_0. Nous traçons, sur la Figure 4.12 pour $R = 1$ et $R = 0.5$, $\bar{H}_t$ en fonction de H_D, d'après l'Équation (4.46). Sur cette même figure, nous traçons aussi l'effet Fåhraeus tel que prédit par Pries *et al.* (1990).

Nous définissons l'écart E entre la courbe que nous pouvons prédire et celle

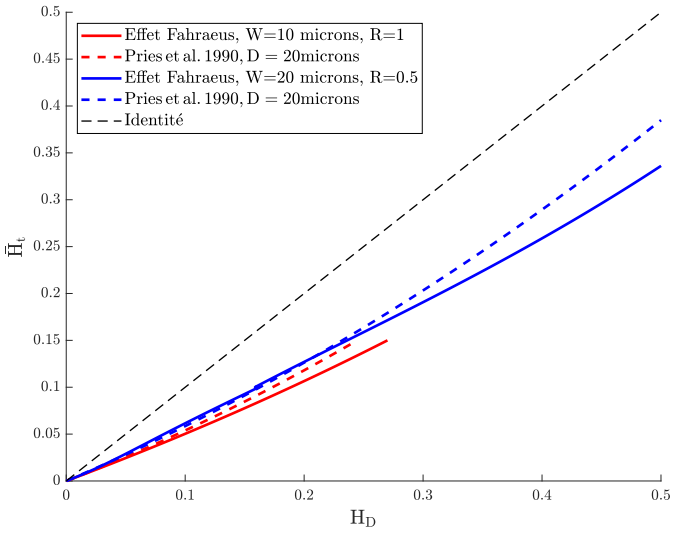

FIGURE 4.12 – Comparaison entre la loi de Pries *et al.* (1990) adaptée aux globules rouges humains (courbes pointillées), et la prédiction de l'effet Fåhraeus issue de l'Équation (4.46) (courbes continues), pour W = 20 (bleu) et W = 10 (rouge).

obtenue par Pries *et al.* (1990), à confinement fixé :

$$E(\bar{H}_t) = |1 - \frac{H_D(\bar{H}_t)}{H_{D_{Pries}}(\bar{H}_t)}| \tag{4.47}$$

L'écart maximal est de 9.5% et 10% pour $R = 1$ et $R = 0.5$ respectivement, ce qui est satisfaisant, car, pour valider les mesures expérimentales de débit de globules rouges et de sang, nous avons, dans Roman *et al.* (2016), comparé l'intensité de l'effet Fåhraeus déduite de ces mesures à celle prédite par Pries *et al.* (1990). L'écart maximal obtenu pour $R = 1$ et $R = 0.5$ est, respectivement, 9% et 40%.

Pour $R = 0.5$, notre courbe de l'effet Fåhraeus n'est pas exactement convexe, à la différence de celle de Pries *et al.* (1990). Nous nous concentrons sur ce point sur la Figure 4.13. Cette concavité, qui apparaît aux faibles hématocrites, tire son origine de la non monotonie du coefficient d'aplatissement du profil de vitesse des globules rouges avec l'hématocrite. Sur la Figure 4.13, nous reproduisons les résultats expérimentaux obtenus par Roman *et al.* (2016) pour l'effet Fåhraeus aux deux confinements $R = 0.5$ et $R = 1$. Dans les deux cas, notre expression de cet effet capture, au moins qualitativement, la tendance des points expérimentaux. Notons, comme le montre la Figure 4.13 que, malgré la dispersion expérimentale, les données issues de Roman *et al.* (2016) présentent eux aussi cette concavité (symboles carrés noirs), et la tendance qu'ils suivent est bien capturée par notre expression de l'effet Fåhraeus.

La paramétrisation de l'effet Fåhraeus que nous proposons est quantitativement en accord avec l'expression proposée par Pries *et al.* (1990). Cet accord nous permet de valider les Équations (4.22)-(4.29) et (4.39)-(4.41). Cependant, comme nous l'avons mentionné dans le Chapitre Introduction (Section 4.1), il existe une inversion de l'effet Fåhraeus lorsque le confinement géométrique devient trop fort. Nous revenons sur ce point dans la dernière section de ce chapitre : en l'état, notre formulation de cet effet ne peut capturer une telle inversion.

3.3 Inversion de l'effet Fåhraeus due au confinement géométrique

Lorsque le profil de vitesse des globules rouges est plat (*i.e.* si $B = 0$), nous pouvons simplifier l'Équation (4.46) sous la forme (voir aussi Équations (3.8)-(3.10) du Chapitre Matériels et Méthodes) :

$$H_D = \frac{\bar{H}_t}{\bar{H}_t + \dfrac{1 - \bar{H}_t}{2.0963}} \tag{4.48}$$

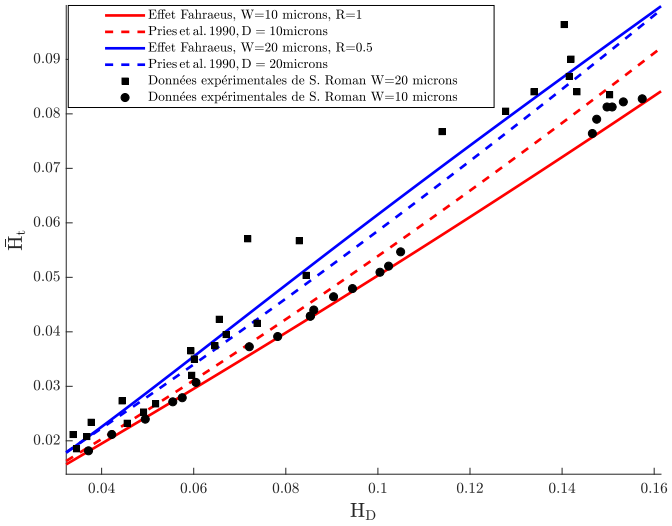

FIGURE 4.13 – Agrandissement de la figure précédente, pour mettre en évidence l'effet de l'aplatissement du profil de vitesse sur l'effet Fåhraeus, pour le cas W = 20. Les points expérimentaux sont issus de Roman *et al.*, (2016). Un ajustement au sens des moindres carrés d'un polynôme de degré deux aux données (non représenté sur la figure) donne une description des points R = 0.5 par une courbe de forme concave, quand cette courbe a une forme convexe pour le cas R = 1.

Cette équation est valable pour les confinements géométriques R = 1 et R = 2. Elle implique donc que l'intensité de l'effet Fåhraeus est indépendante du confinement géométrique. Or, ceci est en contradiction avec l'inversion de l'effet Fåhraeus observée pour des canaux de diamètres inférieurs à 5 microns par Albrecht *et al.* (1979). Pour lever cette incohérence, nous nous appuyons sur une étude expérimentale récente portant sur l'écoulement de cellules cancéreuses du cancer du sein réalisée par Morley *et al.* (2017). Ces derniers montrent que, à diamètre de tube fixé, plus une cellule est grosse, donc plus le confinement géométrique est important, plus sa vitesse maximale est inférieure à celle du fluide suspendant. Si on note λ_V le rapport entre la vitesse du fluide suspendant et celle de la cellule, soit dans notre cas $V_{0_{FS}}/V_{0_{GR}}$, alors l'expression (34) est obtenue dans le cas $\lambda_V = 1$. Pour induire une dépendance de l'effet Fåhraeus au confinement géométrique, nous introduisons ce paramètre dans l'Équation (4.48), ce qui donne :

$$H_D = \frac{\bar{H}_t}{\bar{H}_t + \lambda_V \dfrac{1 - \bar{H}_t}{2.0963}} \tag{4.49}$$

Laisser le paramètre λ_V libre nous permet de minimiser l'écart (au sens de l'Équation (4.47)) entre la courbe issue de Pries *et al.* (1990) et

l'Équation (4.49). Le résultat de cette minimisation fait que nos courbes et celles de Pries *et al.* (1990) sont quasiment superposées pour $\lambda_V \approx 1.3$ (voir Figure 4.14). Si de la même manière nous introduisons le paramètre λ_V pour les deux autres confinements, il vient, pour $R = 1$, $\lambda_V \approx 1.17$ et pour $R = 0.5$, $\lambda_V \approx 1.11$. Ces résultats suggèrent donc que, en supposant que λ_V soit indépendant de $\bar{H}_t$, plus le confinement géométrique est faible, plus la vitesse maximale des globules rouges est proche de celle du fluide suspendant. Cette observation est en accord avec celle de Morley *et al.* (2017). De plus, cette évolution est en accord avec les résultats de Sugii *et al.* (2005) que nous avons reportés sur la Figure 2.6 du chapitre Introduction (voir Section 3.1.1 de ce chapitre pour l'explication) et qui montrent que dans un cylindre vérifiant $R = 0.1$, on a $\lambda_V \approx 1$. Cette dernière étude suggère aussi que, à $\bar{H}_t$ fixé, plus le confinement géométrique est faible, plus B est grand. Nos résultats sont cohérents avec cette observation. Ainsi, prendre en compte l'existence d'une possible différence de vitesse entre fluide suspendant et globules permettrait d'expliquer l'inversion de l'effet Fåhraeus.

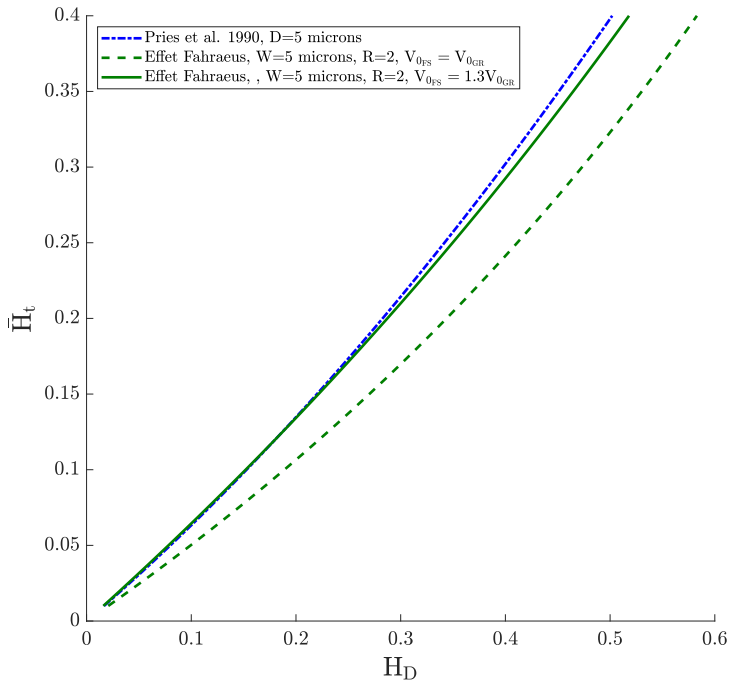

FIGURE 4.14 – Effet de la différence entre la vitesse maximale des globules rouges et celle du fluide suspendant, sur l'intensité de l'effet Fåhraeus.

4. Conclusion

Les résultats présentés dans ce chapitre ont été obtenus en adoptant une vision continue de l'écoulement sanguin dans des canaux droits en régime établi. En particulier, nous avons proposé une description semi-empirique des profils d'hématocrite, qui est fonction des dimensions de la section droite du canal et de la taille de la couche d'exclusion plasmatique, δ. Pour des confinements supérieurs à 0.5, nous avons montré, que la décroissance de ce paramètre avec l'hématocrite de tube moyen est d'autant plus rapide que le confinement géométrique est faible. Lorsque $\delta = 0$, nous avons introduit la notion d'hématocrite non nul à la paroi, H_0 et avons inclus ce paramètre dans la description des profils d'hématocrite, lorsque $R = 0.5$. Au moyen des expressions de ces paramètres, nous avons pu montrer que, pour tous les confinements, le profil d'hématocrite est de plus en plus plat à mesure que l'hématocrite augmente. Par contre, pour un hématocrite fixé, l'aplatissement du profil, que nous avons appelé B_H, n'évolue pas de manière monotone avec le confinement : en effet, quelque soit $\bar{H}_t > 0.05$, B_H est maximal pour le confinement intermédiaire, $R = 1$ (voir Figure 4.8). Nous avons interprété ce résultat en terme de forme prise par le globule, du fait du confinement géométrique. Outre le profil d'hématocrite, nous nous sommes intéressés au profil de vitesse des globules rouges, et avons prolongé l'étude de Sophie Roman. En particulier, nous avons montré que, pour $R = 0.5$, le coefficient d'aplatissement du profil de vitesse des globules rouges n'évolue pas de manière monotone avec le confinement collectif. Enfin, nous avons montré que supposer que la vitesse maximale des globules rouges est plus faible que celle du fluide suspendant permet de retrouver l'inversion de l'effet Fåhraeus observée aux très forts confinements géométriques.

D'une manière générale, nos résultats suggèrent que, un écoulement sanguin, en régime établi dans une section carrée, peut être complètement décrit par la simple donnée de V_0 et $\bar{H}_t$. L'effet Fåhraeus, quant à lui, peut être déterminé uniquement par la connaissance de $\bar{H}_t$, toujours en régime établi et pour W connu. L'Équation (4.46) confirme de plus que la forme du profil de vitesse des globules rouges ainsi que la forme du profil d'hématocrite influencent l'effet Fåhraeus.

En pratique, l'implémentation de la *dual-slit* s'en voit simplifiée : il n'est plus nécessaire de faire une mesure dans toute la largeur du canal. Alliée à la mesure de $\bar{H}_t$, seule une mesure en son centre est nécessaire, pour déterminer V_0.

Dans le chapitre suivant, nous complexifierons la géométrie dans laquelle nous ferons s'écouler les suspensions de globules rouges. Les géométries considérées seront des bifurcations divergentes. Ce type de géométrie permet d'ores et déjà de proposer une validation, dans l'esprit de celle réalisée dans Roman *et al.* (2016), pour cette simplification pratique. A cette fin, nous

quantifions l'écart à la conservation du débit de globules rouges, $\mathrm{E}_{\mathrm{CM}}^{\mathrm{GR}}$, défini comme :

$$\mathrm{E}_{\mathrm{CM}}^{\mathrm{GR}} = |1 - \frac{\mathrm{Q}_{\mathrm{GR}}^{1} + \mathrm{Q}_{\mathrm{GR}}^{2}}{\mathrm{Q}_{\mathrm{GR}}^{\mathrm{e}}}| \tag{4.50}$$

ainsi que l'écart à la conservation du débit de sang, défini comme $\mathrm{E}_{\mathrm{CM}}^{\mathrm{sang}}$:

$$\mathrm{E}_{\mathrm{CM}}^{\mathrm{sang}} = |1 - \frac{\mathrm{Q}_{\mathrm{sang}}^{1} + \mathrm{Q}_{\mathrm{sang}}^{2}}{\mathrm{Q}_{\mathrm{sang}}^{\mathrm{e}}}| \tag{4.51}$$

Nous obtenons $\mathrm{E}_{\mathrm{CM}}^{\mathrm{GR}} = 0.0962 \pm 0.0665$ et $\mathrm{E}_{\mathrm{CM}}^{\mathrm{sang}} = 0.0968 \pm 0.0847$. Bien qu'ayant une distribution large autour de la valeur moyenne d'écart à la conservation des débits, dans les deux cas, cette valeur moyenne est suffisamment faible pour nous permettre d'affirmer que nous disposons d'un autre critère pour valider les descriptions semi-empirique de nos profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges, mais aussi d'affirmer que les mesures seules de V_0 et $\bar{\mathrm{H}}_{\mathrm{t}}$ sont suffisantes pour déterminer les débits de sang et de globules rouges, sans accroître les erreurs de mesures réalisées en utilisant la *dual-slit* "usuelle" (Roman *et al.*, 2016).

Dans de telles géométries, nous chercherons à y comprendre la structuration de l'écoulement, *i.e.* la distribution des débits dans les branches filles de la bifurcation. En particulier, nous nous servirons de la paramétrisation semi-empirique des profils de vitesse des globules rouges et d'hématocrite pour expliquer, au moins en partie, la physique du phénomène de séparation de phase.

Chapitre 5

Séparation de phase

Dans ce chapitre nous présentons les résultats expérimentaux obtenus concernant le phénomène de séparation de phase. Pour toutes ces expériences, nous sommes en régime établi dans la branche mère, c'est-à-dire que le profil d'hématocrite y est convergé et n'y varie pas le long de (Oz), ce qui peut se vérifier par deux mesures distantes de quelques centaines de microns. Après avoir explicité la méthode d'obtention des données, nos résultats sont exposés pour des bifurcations asymétriques puis symétriques et comparés à la loi de Pries *et al.* (1989). En nous basant sur les résultats du chapitre précédent, nous présentons en Section 2 un modèle de séparation de phase, semi-empirique, basé sur une vision continue des écoulements sanguins, en utilisant le concept de ligne séparatrice de fluide, et discutons de sa capacité à reproduire nos résultats pour le confinement géométrique le plus faible, mais aussi, de manière plus surprenante, pour le confinement le plus important. Enfin, nous appliquons ce modèle à des données issues de la littérature, ce qui met en lumière certaines limites de la loi de séparation de phase de Pries *et al.* (1989), en particulier lorsque le profil d'hématocrite n'est pas établi dans la branche mère. Notons que, contrairement à ces derniers, qui présentent des données de séparations de phase corrigées pour tenir compte des écarts apparents à la conservation de la masse, inhérents aux mesures expérimentales, les données que nous fournissons sont brutes, *i.e.* ne présentent aucune forme de correction, ainsi que nous l'avons fait dans Roman *et al.* (2016).

1. Séparation de phase : résultats expérimentaux

Parmi toutes les expérimentations de séparation de phase que nous avons conduites, nous résumons dans la table fournie en Annexe B, 23 expérimentations exploitables, obtenues pour des bifurcations symétriques. Nous qualifions une expérimentation d'exploitable si, pour chaque branche fille, nous avons pu balayer au moins quatre valeurs du débit fractionnaire de sang

total pendant la durée de l'expérience.

Parmi les difficultés expérimentales nous ayant empêché de réaliser des expérimentations exploitables, citons les deux plus fréquentes. La première est le bouchage d'un des trois canaux par une impureté ou des globules rouges ayant adhéré aux parois. Ces événements sont caractéristiques des expérimentations dans les bifurcations comportant au moins une branche à $R = 2$, plus rarement à $R = 1$. La deuxième difficulté est la fuite, qui émerge au niveau du canal d'alimentation. Cette fuite est due, le plus souvent, à la manipulation faite au moment de relier, au moyen de la tubulure, le réservoir externe à la puce micro-fluidique. Mal réalisée, cette manipulation conduit au décollement du pavé de PDMS de la lamelle de verre, et touche indifféremment toutes les bifurcations.

Ci-dessous, nous décrivons la méthode que nous employons pour déduire les débits fractionnaires de sang total et de globules rouges de nos données expérimentales.

1.1 Méthode d'obtention des données

Afin d'obtenir les courbes usuelles de représentation de la séparation de phase, comme nous l'avons vu dans le Chapitre Introduction (Figure 2.16, Section 6.1), il nous faut obtenir les fractions de débits de sang et de globules rouges de la branche d'entrée qui alimentent les branches filles (i), aussi appelés débits fractionnaires, notées respectivement FQ^{i}_{sang} et FQ^{i}_{GR}, et définies comme :

$$\begin{cases} FQ^{i}_{sang} = \dfrac{Q^{i}_{sang}}{Q^{e}_{sang}} \\ FQ^{i}_{GR} = \dfrac{Q^{i}_{GR}}{Q^{e}_{GR}} \end{cases} \tag{5.1}$$

A cette fin, au moyen du contrôleur de pression, la pression d'entrée étant fixée, nous imposons en sortie des branches filles des pressions plus ou moins importantes afin de faire varier les débits dans ces branches et ainsi obtenir des valeurs du débit fractionnaire FQ^{i}_{sang} dans toute la gamme de valeurs possibles. Nous attendons environ 5 min entre le moment où les pressions en sortie de bifurcation sont imposées et le moment où nous réalisons l'enregistrement de la séquence d'images, afin de nous assurer que l'écoulement est bien stabilisé. L'obtention des débits fractionnaires passe par la mesure des débits de globules rouges et de sang dans au moins deux des trois branches qui composent la bifurcation :

— Si $R \leqslant 1$, nous mesurons les profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges dans les trois branches afin de déterminer Q^{i}_{GR} au

moyen de l'Équation (4.42) (chapitre précédent, Section 3.1). Q^{i}_{FS} est déterminé *via* la mesure de $\bar{H}^{i}_{t}$ et V^{i}_{0} et l'Équation (4.43) (chapitre précédent).

— Pour $R = 2$, il n'est pas possible de mesurer de profils d'hématocrite. Nous déterminons donc les débits de globules rouges dans les branches filles au moyen de l'Équation (3.10) (Chapitre Matériels et Méthodes). Notons que pour ce cas, la mesure de vitesse a été effectuée " manuellement". Cette manière de déterminer les débits de globules rouges et de sang a été appliquée dès lors qu'au moins une branche d'une bifurcation considérée a une section droite de $5 \times 5\,\mu m^2$.

Par ailleurs, nous englobons l'ensemble des incertitudes de mesure dans l'écart apparent à la conservation des débits. Nous affectons à cet écart, que nous appelons ΔFQ_{Σ} le rôle de quantifier l'erreur commise sur FQ_{Σ}, où Σ fait référence au sang ou aux globules rouges, que nous appelons ΔFQ_{Σ}. L'écart, ΔFQ_{Σ} est donc donné par la formule (Roman *et al.* 2016) :

$$\Delta FQ_{\Sigma} = \frac{1}{2}|1 - \frac{Q^{1}_{\Sigma} + Q^{2}_{\Sigma}}{Q^{e}_{\Sigma}}| \tag{5.2}$$

le facteur $\frac{1}{2}$ traduit l'hypothèse d'une contribution égale des deux branches filles à l'incertitude totale. Ainsi, du fait de la façon que nous avons d'obtenir nos résultats de séparation de phase dans les bifurcations contenant un canal $R = 2$, nous forçons $\frac{Q^{1}_{\Sigma} + Q^{2}_{\Sigma}}{Q^{e}_{\Sigma}} = 1$, et donc $\Delta FQ_{\Sigma} = 0$. Enfin, en pratique, parce que l'incertitude sur la mesure des débits de sang est en général d'un ordre de grandeur similaire à celle sur la mesure des débits de globules rouges, nous ne reportons sur nos courbes de séparation de phase expérimentales que les erreurs commises sur les débits de globules rouges.

Avant de présenter nos données, il nous faut mentionner une conséquence inhérente à notre méthode d'obtention des points expérimentaux. Nous l'avons dit, afin de parcourir toute la gamme possible des valeurs de FQ^{i}_{sang}, nous imposons en sortie des branches filles une pression plus ou moins élevée afin de réduire le débit dans la branche souhaitée. Toutefois, ceci impacte la vitesse des globules rouges dans la branche mère, qui varie typiquement d'un facteur 2, alors que l'hématocrite de débit reste constant durant l'acquisition des données (qui prend typiquement une heure).

Nous présentons dans les deux sections suivantes une sélection des résultats de séparation de phase nous permettant d'illustrer les aspects de la séparation de phase que nous souhaitons aborder. Ces résultats sont organi-

sés comme suit. Nous nous intéressons d'abord aux bifurcations asymétriques telles que $W^2 = W^e$ et $W^1 = \frac{W^e}{2}$, puis aux bifurcations symétriques.

Pour les bifurcations asymétriques, nous nous intéressons, dans l'ordre suivant, à l'influence, sur l'intensité de la séparation de phase :

— de l'angle entre les branches filles,

— du confinement dans la branche mère.

L'influence de l'hématocrite dans la branche mère fera l'objet d'un traitement à part, après avoir présenté le modèle semi-empirique.

Ensuite, dans les bifurcations symétriques, nous nous intéressons à l'influence sur la séparation de phase de :

— l'angle entre les branches filles, pour $R = 0.5$, $R = 1$ et $R = 2$,

— la vitesse des globules rouges dans la branche mère, pour $R = 1$,

— le confinement géométrique, à hématocrite constant,

— l'influence de l'hématocrite pour $R = 1$.

De la même manière que pour les bifurcations asymétriques, nous traiterons l'influence de l'hématocrite pour $R = 0.5$ après avoir introduit le modèle semi-empirique de séparation de phase.

Nos résultats seront généralement comparés à la loi de séparation de phase de Pries *et al.* (1989), obtenue en utilisant les paramètres A, B et X_0 adaptés aux globules rouges humains. Les valeurs de ces trois paramètres sont déterminées à partir des expressions que nous donnons dans le Chapitre Introduction (Équations (2.14) et (2.15), Section 5), et qui ne dépendent que des dimensions des sections des branches et de l'hématocrite de débit de la branche d'entrée. Sauf explicité autrement, nous n'ajustons jamais l'expression de cette loi à nos données, mais superposons sa prédiction à nos données expérimentales. Dans un souci de simplicité, la loi de séparation de phase de Pries *et al.* (1989) sera désignée dans la suite comme la loi de Pries. Ensuite, lorsque nous qualifierons cette loi d'ajustée, alors ses coefficients auront été déterminés par un ajustement aux données au sens des moindres carrés. Enfin, qualifiée de corrigée, les coefficients de la loi auront été déterminés grâce au modèle semi-empirique que nous avons développé.

Afin de quantifier la précision d'un modèle M pour décrire nos points expérimentaux, nous définissons un paramètre e_M, tel que :

$$e_M = \frac{1}{N}\sum_{k=1}^{N}(FQ^{exp}_{GR_k} - M(FQ^{exp}_{sang_k}))^2 \tag{5.3}$$

où N est le nombre de points expérimentaux, un point ayant comme coordonnées $(FQ^{exp}_{sang_k}, FQ^{exp}_{GR_k})$ déterminées expérimentalement. Ensuite $M(FQ^{exp}_{sang_k})$ est la fraction de débit de globule rouge déterminée par un modèle M de séparation de phase, ici la loi de Pries ou le modèle semi-empirique (MSE). Ainsi, plus e_M est éloigné de 0, moins bonne est la comparaison entre la prédiction du modèle M et les données expérimentales.

Nous introduisons aussi un paramètre, que nous appelons e_I, qui quantifie l'écart à la droite identité, défini comme :

$$e_I = \frac{1}{N}\sum_{k=1}^{N}(FQ_{GR_k} - FQ_{sang_k})^2 \tag{5.4}$$

L'Annexe B répertorie les valeurs des paramètres e_M et e_I associés aux cas expérimentaux étudiés.

Enfin, parce que la loi de Pries utilise dans son expression l'hématocrite de débit, nos résultats expérimentaux seront présentés dans ce chapitre en fonction de cette quantité, obtenue à partir de $\bar{H}_t$ en utilisant notre formulation de l'effet Fåhraeus (Équation (4.46), chapitre précédent, Section 3.2). Notons que convertir l'hématocrite de tube en hématocrite de débit avec la loi de Pries et *al.* (1990) de l'effet Fåhraeus ne modifie pas les résultats de séparation de phase.

1.2 Bifurcations asymétriques

1.2.1 Influence de l'angle entre les branches filles

La Figure 5.1 présente les résultats obtenus dans une bifurcation $20-20-10-180$ et une bifurcation $20-20-10-90$, pour un hématocrite de débit dans la branche mère valant environ 15 %. La loi de Pries, reportée sur la figure, ne fait pas intervenir un tel paramètre. En accord avec cette dernière, nos points expérimentaux ne semblent pas exhiber d'influence particulière relative à l'angle entre les branches filles.

1.2.2 Influence du confinement

Nous reportons sur la Figure 5.2 les points expérimentaux obtenus dans des bifurcations asymétriques $10-10-5-180$ et $20-20-10-180$, pour un hématocrite de débit dans la branche mère de l'ordre de 15%. Les points expérimentaux pour la bifurcation $10-10-5-180$ sont nettement plus éloignés de la droite identité que ceux de la bifurcation $20-20-10-180$, traduisant l'influence du confinement géométrique de la branche mère sur l'intensité de la séparation de phase. Plus le confinement dans branche mère est fort, plus la distribution des débits de globules rouges entre les deux

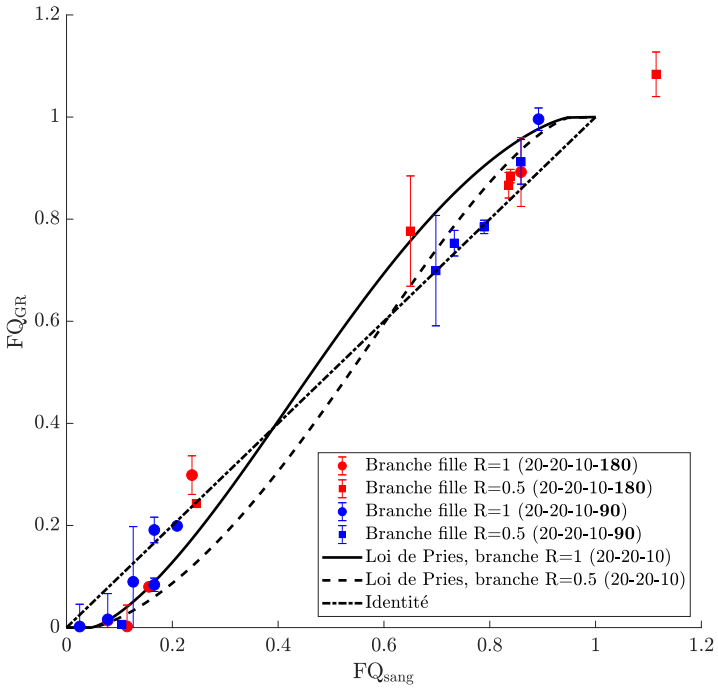

FIGURE 5.1 – Influence de l'angle de la bifurcation. Points expérimentaux obtenus dans des bifurcations $20-20-10-180$ et $20-20-10-90$. Symboles rouges : 180° ; symboles bleus : 90° (voir légende pour détails), $H_D \approx 15\%$ et loi de Pries (traits continu et pointillés).

branches filles est disproportionnée. Ce résultat est conforme à ce que prédit la loi de Pries.

1.2.3 Séparation de phase dans les bifurcations asymétriques : conclusion

Nos résultats expérimentaux montrent que pour des expériences effectuées avec H_D de l'ordre de 15 %, la branche de plus petite section est favorisée. Nous verrons qu'à plus fort hématocrite, cela n'est plus aussi évident. De plus, dans la limite de l'incertitude de mesure, la séparation de phase dans des bifurcations asymétriques n'est pas affectée par l'angle entre les branches filles. Enfin, plus le confinement dans la branche mère est important, plus la séparation de phase est prononcée. La loi de Pries prédit quantitativement ces deux résultats expérimentaux.

Au contraire, la loi proposée par Gould *et* Linninger (2015), que nous avons comparée aux points expérimentaux obtenus par Sophie Roman dans (Roman *et al.*, 2016) ne permet pas une description de la séparation de phase

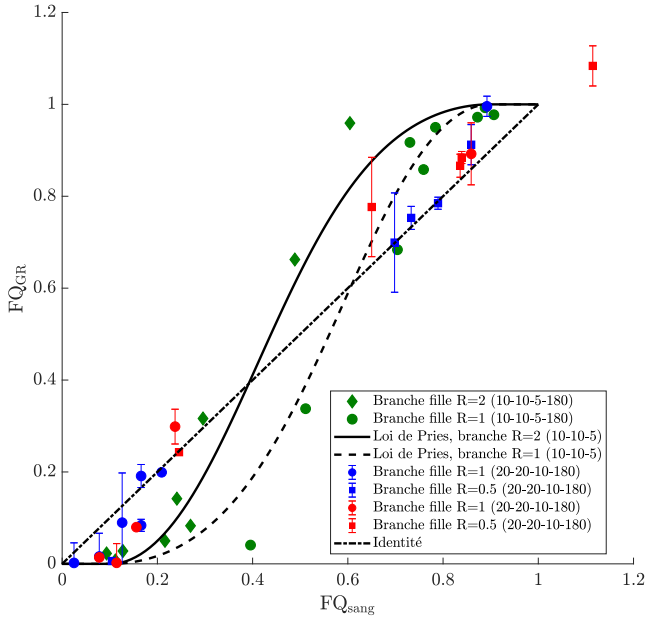

FIGURE 5.2 – Influence du confinement géométrique, pour $H_D \approx 15\%$. Points expérimentaux obtenus dans des bifurcations $20-20-10$ et $10-10-5$. Symboles rouges et bleus : bifurcation $20-20-10$ (identiques à la Figure 5.1) ; symboles verts : bifurcation $10-10-5$ et loi de Pries (traits continu et pointillés).

qui soit cohérente avec ses résultats ni les nôtres. En effet, selon la loi de Gould *et* Linninger (2015), les points expérimentaux décrivant le comportement de la séparation de phase dans la branche de plus grande section doivent tous se trouver au-dessus de la droite identité, et donc ceux décrivant ce qui se passe dans la branche de plus petit diamètre, en dessous, et ce, quelle que soit la valeur de FQ^i_{sang} et les autres paramètres expérimentaux (angle et confinement). Or, ce n'est pas ce que nous observons sur les courbes que nous avons présentées. Le comportement inverse est même obtenu : les points expérimentaux liés à la branche fille de plus petit diamètre sont en dessous de la droite identité aux faibles valeurs de FQ^i_{sang} et au-dessus de cette droite pour les valeurs plus élevées. La distribution des points expérimentaux de la branche fille de plus gros diamètre se déduit de la symétrie des points expérimentaux liés à la branche de plus petit diamètre (voir notamment la Figure 5.2, symboles verts). Par la suite, nous ne considérerons pas cette loi lorsque les bifurcations seront symétriques, puisque cette dernière ne prédit pas de séparation de phase dans ces géométries.

1.3 Bifurcations symétriques

1.3.1 Influence de l'angle

Comme nous pouvons nous y attendre d'après les résultats obtenus dans les bifurcations asymétriques, l'angle n'a pas d'influence remarquable sur l'intensité de la séparation de phase, et ce pour les trois confinements considérés (voir sur la Figure 5.3, les distributions très similaires des points rouges et bleus pour chaque cas).

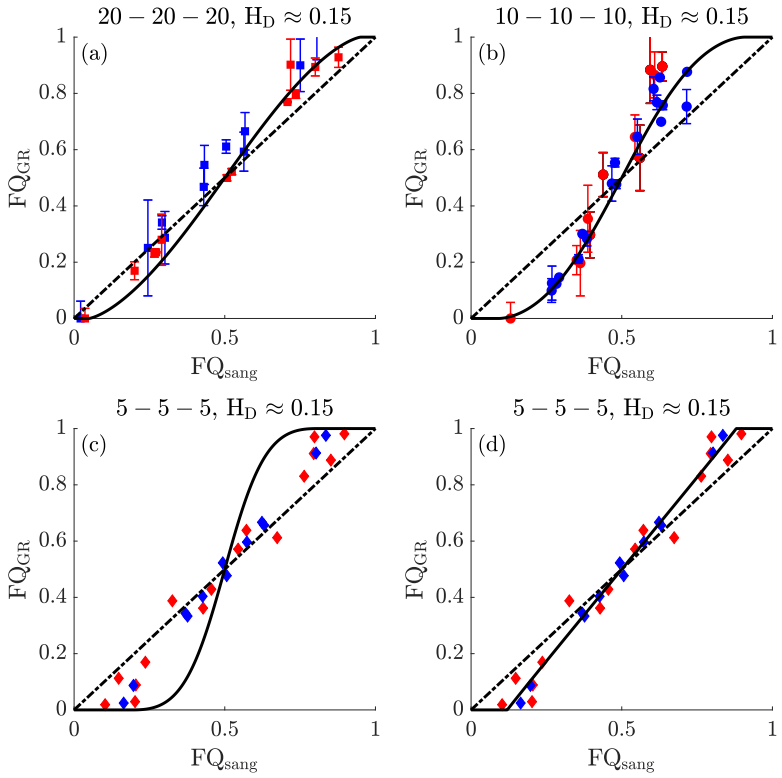

FIGURE 5.3 – Influence de l'angle pour $H_D^e \approx 15\%$ (dans tous les cas, les points bleus correspondent à des bifurcations 90° et les points rouges à des bifurcations 180°). Loi de Pries (courbe continue) et points expérimentaux obtenus dans des bifurcations : (a) $20-20-20$, (b) $10-10-10$, (c) $5-5-5$, (d) mêmes points expérimentaux que (c), avec la loi de Pries ajustée (courbe continue) aux points expérimentaux.

1.3.2 Influence du confinement

Nous nous intéressons à présent, pour H_D^e fixé, à l'influence du confinement sur l'intensité de la séparation de phase. Pour ce faire, nous nous

appuyons à nouveau sur la Figure 5.3.

Pour les trois cas présentés sur la Figure 5.3, nous obtenons les valeurs de $e_I = 0.0057, 0.0213$ et 0.0072 par ordre de confinement croissant (voir Section 1.1 pour la définition de ce paramètre). Ceci montre que l'intensité de l'effet de séparation de phase est non monotone avec le confinement, contrairement à ce que prédit la loi de Pries (sans ajustement de ses paramètres à nos données). Calculé à partir de la loi de Pries, par ordre de confinement croissant, e_I vaut 0.0052, 0.0172, 0.0504. Il s'agit là de la première fois qu'un tel effet est reporté. Cela est probablement dû au fait qu'aucune étude de séparation de phase, *in vitro* ou *in vivo*, n'avait encore considéré un confinement géométrique aussi fort dans la branche d'entrée.

Une manière d'expliquer cette inversion repose sur les résultats relatifs à l'aplatissement des profils d'hématocrite, que nous avons évoqué au chapitre précédent (Section 1.5). Nous avons mis en évidence que le coefficient d'aplatissement des profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges tendent tous, plus ou moins rapidement, vers zéro (voir la Figure 4.8 du chapitre précédent), caractérisant des profils plats. Nous verrons dans la Section "Modèle semi-empirique de la séparation de phase" que l'évolution de e_I avec le confinement géométrique est principalement influencée par l'aplatissement B_H du profil d'hématocrite et la taille de la couche d'exclusion plasmatique.

Cette différence d'intensité de la séparation de phase se retrouve dans les coefficients. Ajuster les paramètres de la loi de Pries aux points expérimentaux, au sens des moindres carrés, fournit aux paramètres A, B et X_0 les valeurs de, respectivement, 0, 0.99 et 0.11 contre 0, 2.38 et 0.19 pour la prédiction de la loi de Pries. Le fait que notre valeur de B soit très proche de 1, associée à une valeur non nulle de X_0, est signe d'une courbe (quasi) linéaire par morceaux, similaire aux résultats de Fenton *et al.* (1985). Au contraire, la valeur 2.38 du paramètre B, prédite par la loi de Pries, résulte en une courbe sigmoïde présentant deux points d'inflexion bien marqués, voir courbe noire de la Figure 5.3(c). Au niveau des points d'inflexion la distance de la courbe de séparation de phase à la droite identité est la plus grande. Or, nous l'avons mentionné en introduisant le paramètre e_I, la séparation de phase est d'autant plus marquée que la courbe est éloignée de la droite identité. Cela signifie donc que la séparation de phase est la plus marquée aux valeurs de FQ_{sang} où a lieu l'inflexion de la courbe (par exemple, pour $FQ_{sang} \approx 0.3$ et $FQ_{sang} \approx 0.7$, sur la courbe noire de la Figure 5.3(c). Ensuite, plus le paramètre X_0 est grand, plus la valeur de FQ_{sang} à partir de laquelle des globules commencent à alimenter la branche fille de bas débit est élevée. Par rapport à la loi de Pries, nos points expérimentaux suggèrent que cette branche fille recevra des globules pour une distribution plus asymétrique des débits. Dans l'ensemble, les nouveaux paramètres traduisent un effet de séparation de phase moins marqué.

1.3.3 Influence de la vitesse des globules rouges dans la branche mère

Les données présentées sur la Figure 5.4 ont été obtenues dans des bifurcation $10-10-10-180$ (points bleus) et $10-10-10-90$ (points rouges) pour des hématocrites de débit proches mais avec des vitesses de globules rouges très différentes. En dépit de la grande différence entre la vitesse moyenne mesurée sur l'ensemble des séquences acquises pour les deux cas, nous n'observons pas d'influence notable de la vitesse sur l'intensité de la séparation de phase.

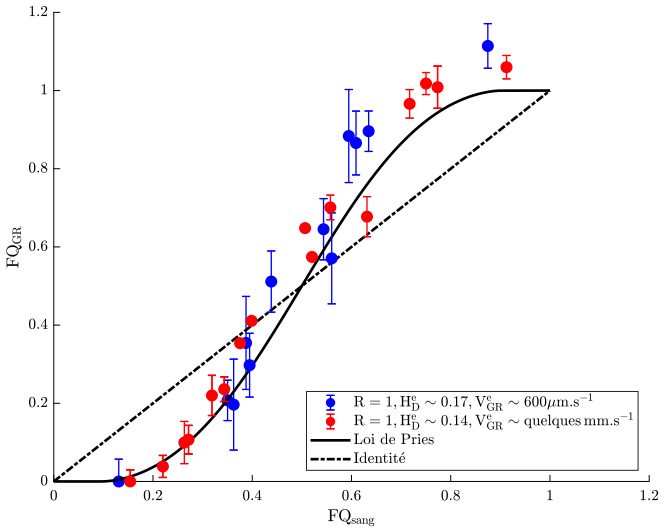

FIGURE 5.4 – Influence de la vitesse. Points expérimentaux obtenus dans des bifurcations $10-10-10$. Symboles bleus : $V^e_{GR} \approx 600\,\mu m.s^{-1}$; symboles rouges : $V^e_{GR} \approx$ quelques $mm.s^{-1}$, $H_D \approx 15\%$ et loi de Pries (traits continus).

1.3.4 Influence de l'hématocrite

Nous nous intéressons sur la Figure 5.5 à l'influence de l'hématocrite, pour $R = 1$. Le comportement observé est en accord avec ce que prédit la loi de Pries : plus l'hématocrite dans la branche d'entrée est faible, plus l'intensité de la séparation de phase est marquée.

1.3.5 Séparation de phase dans les bifurcations symétriques : conclusion

Les comparaisons que nous venons de présenter montrent que ni l'angle entre les branches filles de la bifurcation, ni la vitesse des globules rouges n'ont d'influence remarquable sur l'intensité de la séparation de phase, dans

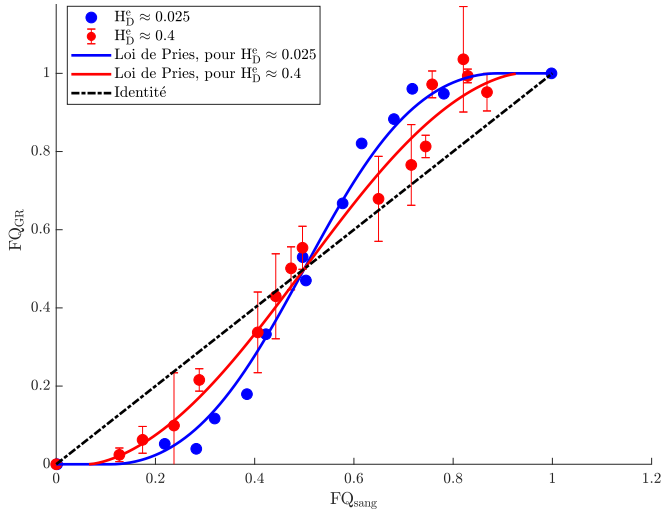

FIGURE 5.5 – Influence de l'hématocrite. Points expérimentaux obtenus dans des bifurcations $10-10-10$. Symboles rouges : $H_D^e \approx 0.4$; symboles bleus : $H_D^e \approx 0.025$ et loi de Pries (traits continus).

la limite de l'incertitude expérimentale. Ensuite, plus l'hématocrite dans la branche mère est fort, moins l'effet de séparation de phase est marqué. Ces propriétés sont prédites par la loi de Pries.

Toutefois, l'ensemble des comparaisons présentées précédemment a mis en évidence des situations où la loi de Pries, dans laquelle les coefficients A, B et X_0 sont prédits par les corrélations empiriques associées (Équation (2.15), Chapitre Introduction), décrit assez mal les résultats expérimentaux, alors qu'un ajustement de sa forme (Équation (2.14), Chapitre Introduction) aux données permet une description bien meilleure. Dans ces cas, la valeur de $e_{Pries_{original}}$ est supérieure à la valeur de $e_{Pries_{ajusté}}$. Afin de mieux comprendre dans quelles conditions ces corrélations semi-empiriques sont valides, nous présentons, sur la Figure 5.6(a), les valeurs de $e_{Pries_{original}}$ et $e_{Pries_{ajusté}}$, pour toutes les expériences effectuées dans des bifurcations symétriques, en fonction de l'hématocrite. La Figure 5.6(b) présente le rapport entre ces deux erreurs.

Sur la Figure 5.6(a), nous voyons que l'erreur décroît avec l'hématocrite de débit. Cela peut s'expliquer par le fait que plus l'hématocrite est faible, plus les profils d'hématocrite et de vitesse maximale de globules rouges sont en général bruités, ce qui affecte la précision des grandeurs à extraire. La précision augmentant avec l'hématocrite, cela expliquerait la décroissance.

Sur la Figure 5.6(b), nous voyons que le rapport entre les deux erreurs, quant à lui, est croissant. Cela signifie que les valeurs prédites des coefficients A, B et X_0 sont d'autant moins adéquates pour prédire l'intensité de la séparation de phase que l'hématocrite est fort. Cette conclusion a déjà été faite dans Roman *et al.* (2016), pour le cas $R = 0.5$. Nos résultats montrent que

cette conclusion est aussi valable pour le cas R = 1. Bien sur, la définition de l'erreur que nous avons choisie (voir Équation (5.3)) ne permet pas de déterminer si les coefficients issus de l'ajustement de la loi de Pries aux données sont représentatifs d'une atténuation de la séparation de phase ou non. Cependant, nous sommes en mesure d'affirmer que, d'une manière générale, lorsqu'un ajustement est réalisé, ce dernier marque une atténuation de la séparation de phase, par rapport à la prédiction de la loi de Pries. Ensuite, remarquons que, tous hématocrites confondus, l'intensité de la séparation de phase pour le confinement géométrique le plus fort, R = 2, nécessite la plus forte correction de la loi de Pries.

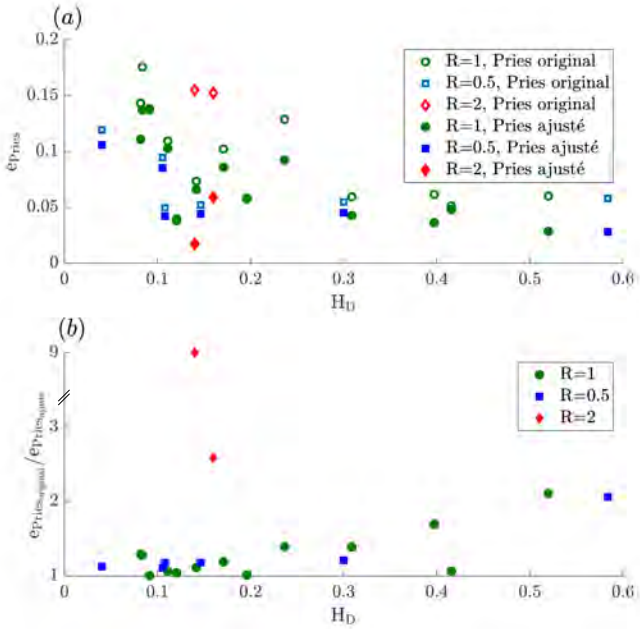

FIGURE 5.6 – (a) : évolution de $e_{Pries_{original}}$ et $e_{Pries_{ajusté}}$ en fonction de H_D, pour les trois confinements. (b) évolution de $\frac{e_{Pries_{original}}}{e_{Pries_{ajusté}}}$, en fonction de H_D, pour les trois confinements géométriques. Notons que toutes les valeurs sont supérieures à 1.

En dépit des limitations que nous venons de soulever dans le régime des hauts hématocrites, la prédiction est suffisamment précise pour ne pas à avoir à ajuster la loi aux points expérimentaux, à l'exception du cas R = 2. Le critère retenu pour faire une telle affirmation est la comparaison entre une valeur prise par le ratio $\frac{e_{Pries_{original}}}{e_{Pries_{ajusté}}}$ et une observation qualitative des points expérimentaux par rapport à la loi de Pries. Ainsi, tant que $\frac{e_{Pries_{original}}}{e_{Pries_{ajusté}}}$ est inférieur à 2, nous considérons que l'intensité de la séparation

de phase prédite par la loi de Pries est "globalement identique" à celle que nous mesurons expérimentalement, ce qui est le cas pour $R \leqslant 1$ et $H_D \leqslant 0.4$.

Il est remarquable que cette loi, obtenue *in vivo* puisse, de manière aussi précise, décrire nos courbes expérimentales obtenues *in vitro* en régime établi. Cette loi a été obtenue dans le mésentère du rat, *via* une étude similaire à la nôtre, reproduite dans 65 micro-bifurcations artériolaires. Dans cette étude, la gamme de FQ^{i}_{sang} a été balayée en occluant plus ou moins un des deux vaisseaux filles, loin en aval de la bifurcation. Il est mentionné dans l'article original Pries *et al.* (1989), que des asymétries de profil d'hématocrite dues à la successions des bifurcations ont été observées dans la branche mère de certaines bifurcations. Aussi, nous voyons deux possibilités pouvant expliquer un accord aussi bon entre une loi dérivée *in vivo* et des points expérimentaux acquis *in vitro*, en régime établi.

Premièrement, le nombre de bifurcations considérées par Pries *et al.* (1989) peut être suffisamment élevé pour que, statistiquement, l'effet des asymétries soit estompé.

Deuxièmement, ces asymétries pourraient en fait être en nombre négligeable. Un mécanisme de relaxation des profils vers une forme symétrique pourrait alors être à l'œuvre. Si, en sortie de branche de mère de bifurcation, le profil est symétrique, cela suggère que la physique de la séparation de phase est quasiment exclusivement liée aux propriétés mécaniques des globules rouges. Le fait que nous ayons besoin d'avoir un canal d'entrée d'une longueur de l'ordre du millimètre (ou en tout cas plusieurs centaines de microns), ce qui est considérablement plus long que les vaisseaux des réseaux microvasculaires, pour atteindre un régime établi, laisse à penser qu'il existerait *in vivo* une caractéristique permettant de parvenir plus rapidement qu'*in vitro* à un écoulement quasiment établi. Dit autrement, la relaxation des profils d'hématocrite suite à une bifurcation est potentiellement plus rapide *in vivo* qu'*in vitro*. Ce point sera rediscuté dans le chapitre dédié aux réseaux.

Dans la suite, nous tentons d'expliquer le mécanisme de séparation de phase uniquement grâce à la structuration de l'écoulement (*i.e.*, la forme des profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges) dans le canal d'entrée. Cela revient à déterminer les gammes de confinements géométrique et collectif pour lesquels le *plasma skimming* seul est suffisant pour prédire l'intensité de la séparation de phase. Hors de ces gammes, cela permet de progresser dans la compréhension des mécanismes qui influent sur l'intensité de la séparation de phase.

2. Modèle semi-empirique de la séparation de phase

2.1 Formulation du modèle : approche continue et notion de ligne séparatrice de fluide

Le modèle que nous proposons repose sur une vision continue des micro-écoulements sanguins. En effet, il ne fait intervenir que les profils de vitesse et d'hématocrite. Introduire de tels profils "masque" la nature discrète des globules et la vision continue permet à un globule de se "scinder en deux". Bien entendu, une telle approche paraît d'autant plus critiquable que le confinement géométrique (quantifié par la valeur de R dans notre travail) est important (Obrist *et al.* 2010, Lei *et al.* 2013).

Nous présentons ci-après ce modèle, et le justifierons *a posteriori*. En adoptant une vision continue, nous nous appuyons sur les études de Fenton *et al.* (1985) et Enden *et* Popel (1994), effectuées dans ce même cadre conceptuel. Plus spécifiquement, Fenton *et al.* (1985) montrent que leurs données de séparation de phase obtenues dans des bifurcation $20-20-20$, $50-50-50$ et $100-100-100$, où les canaux sont des tubes en verre de section circulaire, peuvent être très bien décrites par un modèle basé sur la seule connaissance de la structuration de l'écoulement dans une section droite du tube d'entrée. Parce qu'aucun profil n'est mesuré dans leur étude, il leur est nécessaire de postuler une forme pour les profils d'hématocrite et de vitesse de globules rouges et de fluide suspendant. Le profil d'hématocrite est supposé être uniforme dans la section droite sauf dans la couche d'exclusion plasmatique où l'hématocrite est nul. Le profil de vitesse se déduit d'une modélisation du sang à deux fluides Newtoniens de viscosités différentes. Le premier correspond à la couche d'exclusion plasmatique, le deuxième, plus visqueux, au cœur central riche en globules. Dans nos géométries, un tel modèle peut donc être enrichi par la connaissance précise de la forme des profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges que nous proposons.

La notion de ligne séparatrice de l'écoulement est introduite : il s'agit d'une délimitation fictive qui "sépare" la section droite du tube d'entrée en deux régions, définissant alors deux tubes de courant dans le canal d'entrée, qui vont alimenter l'une ou l'autre branche fille de la bifurcation.

Nous décrivons maintenant le modèle semi-empirique, basé sur les études de Fenton *et al.* (1985), Pries *et al.* (1989), Enden *et* Popel (1994), en utilisant les notations employées dans ce manuscrit, et l'appliquons à nos écoulements en bifurcations, afin de voir quelles sont ses prédictions concernant l'effet de séparation de phase.

Considérons une bifurcation quelconque, dans laquelle l'écoulement se fait en régime de Stokes. Supposons que, suffisamment loin en aval pour

que l'écoulement soit établi, deux régions S_1 et S_2 de la section de la branche d'entrée, qui alimentent respectivement les branches 1 et 2 puissent être déterminées. Du fait de la conservation de la masse, l'union de S_1 et S_2 correspond à la totalité de la section de la branche d'entrée, et leur intersection correspond à la ligne séparatrice de fluide.

Si on suppose cette ligne séparatrice connue pour les écoulements considérés, alors il est possible de déterminer les débits de globules rouges et de sang dans les deux branches filles i en écrivant :

$$\mathrm{Q}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{GR}} = \iint_{\mathrm{S_i}} \mathrm{H}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{t}} \mathrm{V}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{GR}} \, \mathrm{d}S \tag{5.5}$$

où $\mathrm{H}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{t}}$ et $\mathrm{V}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{GR}}$ sont respectivement le profil d'hématocrite et de vitesse des globules rouges dans le canal d'entrée.

De même, il vient pour le débit de fluide suspendant dans la branche i :

$$\mathrm{Q}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{FS}} = \iint_{\mathrm{S_i}} (1 - \mathrm{H}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{t}}) \mathrm{V}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{FS}} \, \mathrm{d}S \tag{5.6}$$

où $\mathrm{V}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{FS}}$ est le profil de vitesse du fluide suspendant dans le canal d'entrée. Pour une section carrée de côté W, le profil de vitesse d'un fluide newtonien a l'expression suivante, d'après Hu *et al.* (2012) :

$$\mathrm{V_{FS}}(\mathrm{x},\mathrm{y}) = \frac{\pi \frac{\mathrm{V_0}}{2.0963} \Lambda}{2\left(\frac{\pi^4}{96} - \sum\limits_{\mathrm{k}=0}^{+\infty} \frac{\tanh\left(\frac{(2\mathrm{k}+1)\pi}{2}\right)}{(2\mathrm{k}+1)^5 \frac{\pi}{2}}\right)} \tag{5.7}$$

$$\text{où} \quad \Lambda = \sum_{\mathrm{k}=0}^{+\infty} \left(\frac{1}{(2\mathrm{k}+1)^3} - \frac{\cosh\left(\frac{(2\mathrm{k}+1)\pi \mathrm{x}}{\mathrm{W}}\right)}{(2\mathrm{k}+1)^3 \cosh\left(\frac{(2\mathrm{k}+1)\pi}{2}\right)} \right) \sin\left((2\mathrm{k}+1)\pi\left(\frac{\mathrm{y}}{\mathrm{W}} + \frac{1}{2}\right)\right)$$

Dans l'Équation (5.7) ci-dessus, $\mathrm{V_0}$ est la vitesse maximale du fluide suspendant.

Le débit de sang total dans la branche fille i, $\mathrm{Q}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{sang}}$ est donné par :

$$\mathrm{Q}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{sang}} = \mathrm{Q}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{GR}} + \mathrm{Q}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{FS}} \tag{5.8}$$

Pour chaque position de la ligne séparatrice, nous pouvons donc déterminer les valeurs des fractions de débit de sang et de globules rouges de la branche mère, respectivement $\mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{sang}}$ et $\mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{GR}}$, qui vont alimenter la branche fille i. Afin de parcourir l'ensemble des valeurs possibles de $\mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{sang}}$ et $\mathrm{FQ}^{\mathrm{i}}_{\mathrm{GR}}$, il suffit de faire varier la position de la ligne séparatrice dans la section.

L'étape suivante consiste à déterminer les formes prises par la ligne séparatrice, qui dépendent de la géométrie de la bifurcation. L'hypothèse centrale que nous formulons ici est que ces formes peuvent être assimilées aux formes des lignes séparatrices déterminées pour un fluide Newtonien en régime de Stokes. Dans ce cas, pour une bifurcation symétrique où les canaux sont carrés et pour un fluide Newtonien en régime de Stokes, la ligne séparatrice de fluide est un segment parallèle à (Oy) de longueur W (Hitt *et* Macken, 2004). Dans cette dernière étude, les auteurs étudient la forme prise par la ligne de "convergence" des fluides, pour le cas d'une bifurcation convergente. Par réversibilité des écoulements de Stokes, nous déduisons la forme de la ligne séparatrice dans nos bifurcations divergentes. Dans ce cas, S_1 et S_2 sont deux rectangles, de longueur W et de largeur variable (voir Figure 5.7 pour un exemple). Pour le cas d'une bifurcation asymétrique, la forme de la ligne séparatrice de fluide dépend de la position [1] et de la taille de la section de la branche fille de plus petite section, ainsi que du rapport entre le débit dans la branche fille considérée et celui dans la branche mère. Anne-Virginie Salsac nous a aimablement fourni la forme de ces lignes séparatrices, dans une géométrie identique à celle que nous considérons expérimentalement et pour plusieurs valeurs de partition des débits, Q^*. La méthode d'obtention des lignes est reportée dans Wang *et. al* (2016) et Wang *et al.* (2018). Ces lignes sont représentées sur la Figure 5.7.

Finalement, pour que le modèle soit consistant, nous recalculons FQ_{sang} à partir de la forme des lignes séparatrices et des Équations (5.1), (5.5), (5.6) et (5.8).

Dans la suite, nous comparons les prédictions du modèle présenté ci-dessus à nos données expérimentales, pour des bifurcations symétriques puis asymétriques, et aussi à des données issues de la littérature. Nous utiliserons désormais l'expression "modèle semi-empirique" de séparation de phase pour qualifier ce modèle. En effet, il repose certes sur une description simple de l'écoulement au niveau de la bifurcation (ainsi que sur des résultats numériques de simulations d'écoulements de Stokes) mais son utilisation requiert, comme données d'entrée, la forme des profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges dans la branche d'entrée qui est obtenue expérimentalement.

2.2 Application du modèle semi-empirique de séparation de phase : le cas des bifurcations symétriques

Dans cette Section, nous comparons les résultats du modèle semi-empirique aux données expérimentales.

Bifurcations 20-20-20

Les Figures 5.8(a) et 5.8(b) ci-dessous montrent qualitativement le bon ac-

1. La position de la branche fille par rapport à la branche mère au niveau de l'embranchement est une conséquence de la fabrication d'un moule à deux épaisseurs de résine.

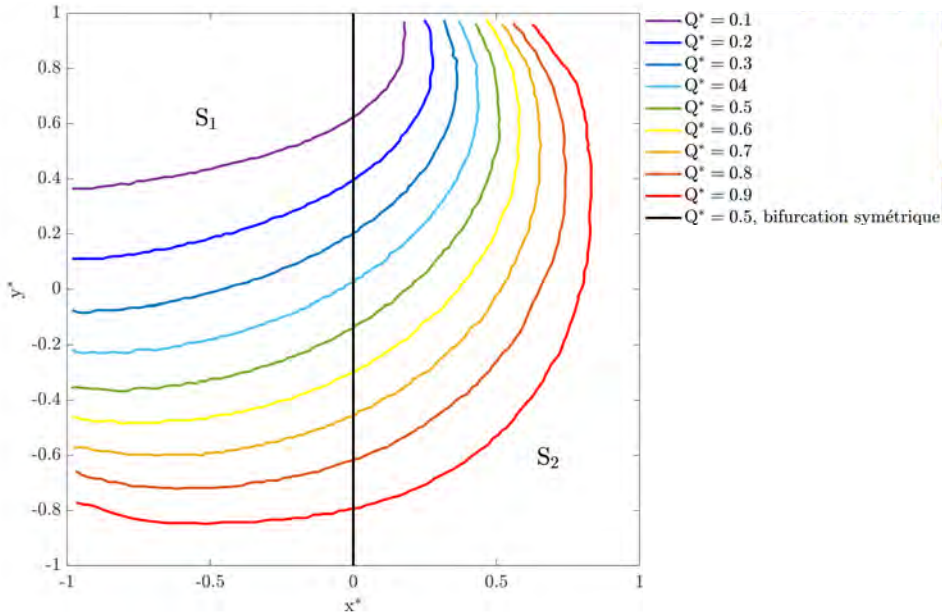

FIGURE 5.7 – Lignes séparatrices de fluide fournies par Anne-Virginie Salsac et calculées pour un fluide Newtonien dans une bifurcation respectant la géométrie de nos bifurcations asymétriques. Les différentes courbes (du violet au rouge) sont obtenues pour des valeurs du débit de partition Q^* allant de 0.1 à 0.9. La branche fille de plus petite section se trouve "du côté gauche, en haut" de la section de la branche mère présentée sur cette figure. La ligne noire correspond à la forme d'une ligne séparatrice de fluide pour une bifurcation symétrique, dans le cas $Q^* = 0.5$.

cord entre le modèle semi-empirique et nos points expérimentaux dans le cas des bifurcations $20 - 20 - 20$, lorsque $H_D \approx 0.15$ (Figure 5.8(a)) et $H_D \approx 0.6$ (Figure 5.8(b)). Notons que la position relative des points expérimentaux par rapport à la droite identité a tendance à s'inverser lorsque l'hématocrite est élevé : pour le cas le plus dilué, si $FQ^i_{sang} < 0.5$, alors $FQ^i_{GR} < FQ^i_{sang}$ (et inversement) ; en revanche, pour le cas le plus concentré, nous observons expérimentalement, en général, que si $FQ^i_{sang} < 0.5$, alors $FQ^i_{GR} > FQ^i_{sang}$ (et inversement). Cela veut dire que, à fort hématocrite, le débit fractionnaire de globules rouges est plus important que le débit fractionnaire de sang, si le débit fractionnaire de sang est inférieur à 0.5. Un tel comportement ne peut pas être prédit par la loi de Pries. En effet, cette forme particulière de courbe de séparation de phase n'est possible que si le paramètre B de la loi de Pries est strictement inférieur à 1. Or, l'expression de ce coefficient proposé par Pries le contraint à rester dans une gamme de valeurs supérieures ou égales à 1 (voir Équation (2.15), du Chapitre Introduction). Un ajustement de la loi de Pries à nos données permet néanmoins à la courbe de séparation de phase de recouvrer la tendance que semblent suivre les points expérimentaux.

Notons que nous ne présentons la courbe de séparation de phase de

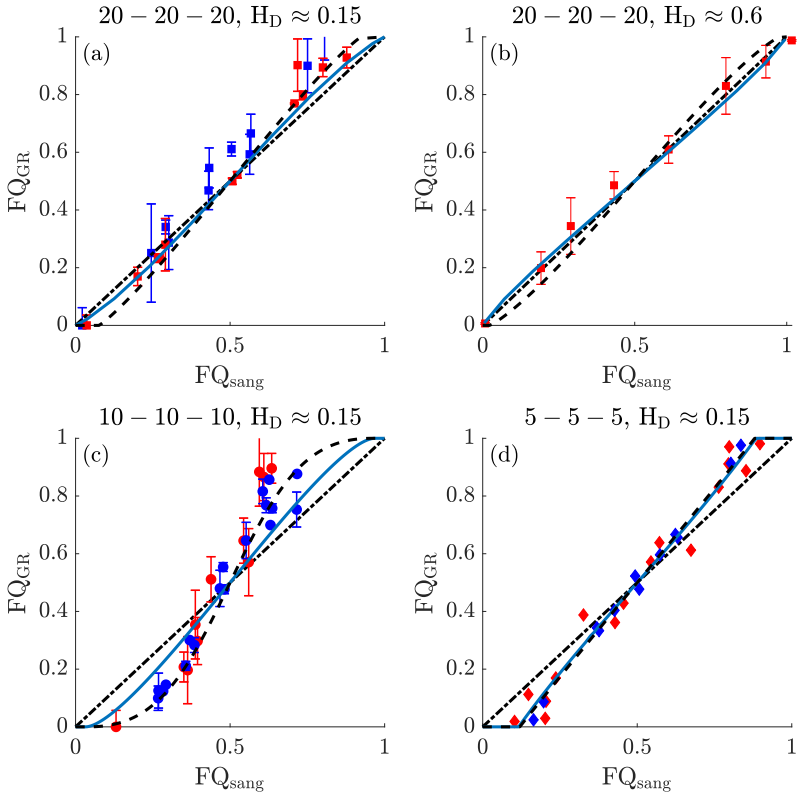

FIGURE 5.8 – Comparaison entre le modèle semi-empirique et les données expérimentales, pour des bifurcations symétriques. (a), (c), (d) : $H_D^e \approx 0.15$, il s'agit des points expérimentaux de la Figure 5.3 ; (b) : $H_D^e \approx 0.6$. Les courbes continues bleues représentent les résultats du modèle semi-empirique. La courbe pointillée noire représente la loi de Pries. Dans tous les cas, les points bleus correspondent à des bifurcations 90° et les points rouges à des bifurcations 180°. La courbe point-pointillée est la droite identité.

la Figure 5.8(b) qu'après avoir présenté le modèle semi-empirique car la tendance observée étant peu marquée, nous l'avions, dans un premier temps, assimilée à du bruit, notamment à cause des barres d'erreur. Parce que le modèle semi-empirique fournit une tendance similaire, sans ajustement, nous pouvons en déduire que cette distribution des points expérimentaux possède une origine physique. Notons que si nous ajustons la loi de Pries aux données de Roman *et al.* (2016) que nous présentons sur la Figure 5.9 ci-après, nous obtenons une valeur de B égale à $0.82 < 1$, confirmant la tendance observée sur cet autre exemple, obtenu à hématocrite élevé, non acquis par nos soin.

Bifurcations 5-5-5

Pour le confinement le plus important (bifurcation $5-5-5$, $R = 2$), Figure 5.8(d), le modèle semi-empirique fournit de nouveau une description

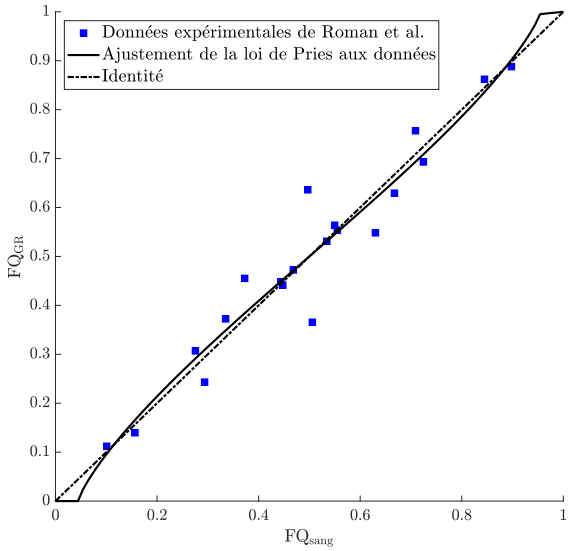

FIGURE 5.9 – Ajustement de la loi de Pries aux données de séparation de phase obtenues à fort hématocrite par Roman *et al.* (2016). Notons la forme atypique de la courbe de séparation de phase qui émerge de l'ajustement. Les barres d'erreurs ont été omises.

satisfaisante de nos points expérimentaux. La proximité entre nos résultats expérimentaux et ceux du modèle est *a priori* surprenante, puisque, du fait du confinement, traiter la phase globule comme une phase continue semble inapproprié. Toutefois, rappelons que nous obtenons ces points expérimentaux en considérant un nombre de globules statistiquement significatif (au moins 100 globules différents). Ce nombre important permet de généraliser la notion de profil d'hématocrite à tout confinement. Notons que l'hypothèse que nous faisons sur le profil d'hématocrite est exactement celle qu'ont faite Fenton *et al.* (1985), à savoir, un cœur central à hématocrite constant, entouré par une zone d'exclusion plasmatique. Dans notre cas, la couche d'exclusion plasmatique vaut environ $1\,\mu$m. Aussi, comme pour celle issue du modèle de Fenton *et al.* (1985), la courbe de séparation de phase que nous obtenons présente des points d'inflexion beaucoup moins marqués que pour les courbes sigmoïdes caractérisant des régimes moins confinés.

Notons que, à ce confinement, nous avons mentionné dans la Section 3.3 du chapitre précédent que, à ce confinement, l'écart entre la vitesse maximale des globules rouges et celui du fluide suspendant est de l'ordre de 35%. Il est important de souligner qu'inclure une telle différence dans le modèle semi-empirique n'a presque aucun impact sur la courbe de séparation de phase résultante. Les courbes de séparation de phase étant presque superposées, nous ne présentons pas ce résultat.

Bifurcations 10-10-10
Contrairement aux deux cas précédents, le modèle échoue à prédire convenablement l'intensité de la séparation de phase pour le confinement géométrique intermédiaire (Figure 5.8(c), courbe bleue continue), où le modèle sous-estime significativement l'intensité de la séparation de phase. En revanche, le modèle est d'autant meilleur pour décrire la séparation de phase que l'hématocrite est élevé, sans pour autant parvenir à fournir une description satisfaisante de nos points expérimentaux, voir Figure 5.10 et paragraphe suivant pour une explication relative à cette figure.

Conclusions
De tous ces résultats, nous pouvons déduire que le modèle semi-empirique est d'autant meilleur que le confinement effectif ressenti par les globules rouges est important (*i.e.* fort confinement géométrique et/ou fort hématocrite), comme le montre qualitativement la Figure 5.8. La Figure 5.10 permet de quantifier cette observation.

Sur la Figure 5.10(a), nous présentons l'évolution du paramètre e_{MSE} en fonction de l'hématocrite pour les trois confinements géométriques. e_{MSE} diminue lorsque l'hématocrite augmente, pour les deux confinements géométriques les plus faibles, montrant que le modèle semi-empirique est d'autant mieux adapté que l'hématocrite croit (*i.e.* le confinement collectif augmente), ce qui revient à dire que l'intensité de la séparation de phase est mieux capturée par ce modèle aux faibles valeurs du coefficient d'aplatissement du profil d'hématocrite, B_H (voir Figure 4.8 du chapitre précédent). Balogh *et* Bagchi (2018), dans leur travaux numériques, ont montré qu'une vision continue des écoulements sanguins pour traiter la séparation de phase est d'autant plus juste que le profil d'hématocrite est plat.

Sur la Figure 5.10(b), nous présentons $\frac{e_{Pries}}{e_{MSE}}$ en fonction de H_D, pour les trois confinements géométriques. Sur cette figure, les valeurs prises par le rapport $\frac{e_{Pries}}{e_{MSE}}$ croissent avec H_D. Cela veut dire que plus l'hématocrite est important, meilleur est le modèle semi-empirique par rapport à celui de Pries. Remarquons que certaines valeurs du rapport sont inférieures à 1 (symbolisé par la ligne pointillée sur la Figure 5.10(b)). Pour ces points, correspondant principalement à $R = 1$ et $H_D < 0.4$, et à $R = 0.5$ et $H_D < 0.1$, la loi de Pries permet de mieux capturer l'intensité de la séparation de phase que ne le permet le modèle semi-empirique. Enfin, notons que pour le confinement géométrique le plus fort, en dépit de la faible valeur de H_D, le modèle semi-empirique est nettement plus juste dans sa prédiction de l'intensité de la séparation de phase que ne l'est la loi de Pries.

Nous discutons à présent des raisons possibles pouvant expliquer pourquoi le modèle semi-empirique ne peut pas convenablement décrire nos points de séparation de phase, pour le confinement géométrique intermé-

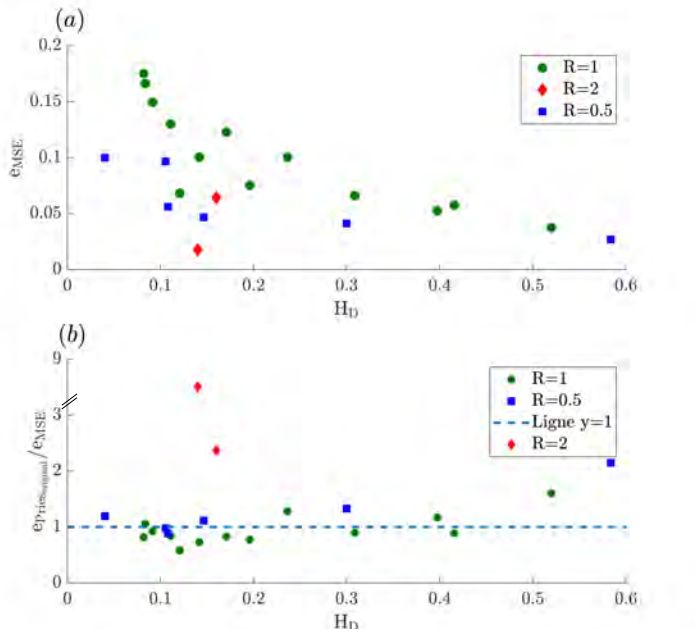

FIGURE 5.10 – (a) : évolution de e_{MSE} en fonction de H_D, pour les trois confinements. (b) : évolution de $\frac{e_{Pries_{original}}}{e_{MSE}}$, en fonction de H_D, pour les trois confinements géométriques. Notons la position relative des points par rapport à la droite y = 1, à comparer avec celle de la Figure 5.6(b) pour laquelle tous les points sont au-dessus de la droite y = 1.

diaire, R = 1. Nous émettons pour cela deux hypothèses.

Première hypothèse : nous supposons, pour ce modèle, que la forme des lignes séparatrices de fluide obtenues pour un fluide Newtonien sont transposables aux écoulements sanguins. Cette supposition pourrait ne pas être valide pour le confinement intermédiaire. Toutefois, le fait que le modèle semi-empirique permette une bonne prédiction de la séparation de phase pour le confinement géométrique le plus fort, R = 2, suggère que cette hypothèse n'est probablement pas la bonne.

Deuxième hypothèse : comme il a été montré par Balogh *et* Bagchi (2018), l'intensité totale de la séparation de phase a deux origines. La première, est celle issue de la structuration de l'écoulement, représentée par les profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges. Cette intensité est celle prédite par le modèle semi-empirique. La deuxième fait appel à la nature corpusculaire des globules rouges. Aussi, nous nous intéressons à présent à cet aspect des écoulements sanguins. Pour cela, nous nous appuyons sur la Figure 5.11. Sur cette figure, nous considérons un écoulement mono-file obtenu dans les confinements géométriques R = 1 (en haut), et R = 2 (en

bas). Nous positionnons une ligne séparatrice de fluide (trait continu rouge). Le modèle semi-empirique prédirait que toute particule située au dessus de cette ligne alimentera la branche fille de bas débit, lorsque toute particule située en dessous alimentera la branche fille de haut débit. Or, pour le cas $R = 1$, nous voyons que, du fait de leur forme en parachute, seule la jupe des globules se trouve au dessus de la ligne séparatrice. Pour le cas $R = 2$, la longueur des globules rouges située de part et d'autre de la ligne séparatrice de fluide est identique. La différence de répartition de la longueur des globules rouges de part et d'autre de la ligne séparatrice serait donc à l'origine de l'écart entre les résultats expérimentaux et ceux du modèle semi-empirique pour le cas $R = 1$. En effet, pour le confinement intermédiaire, seul l'arrière du globule est soumis à l'attraction dans la branche de bas débit. Aussi, par rapport au confinement géométrique plus fort, il est plus probable que les globules alimentent la branche de haut débit.

Le détail de la compréhension des mécanismes associés à notre deuxième hypothèse reposant sur une compréhension fine des propriétés mécaniques du globules rouges, il serait intéressant de pouvoir la confirmer ou l'infirmer grâce à une investigation numérique effectuée à l'échelle du globule rouge, dans l'esprit des études de Fedosov *et al.* (2011), Lei *et al.* (2013) ou encore Lanotte *et al.* (2016).

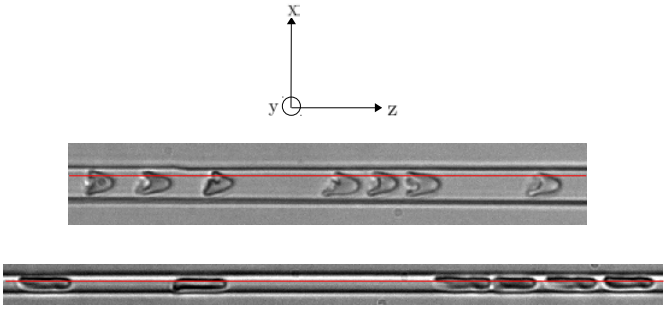

FIGURE 5.11 – Illustration de la proportion du globule située de part et d'autre de la ligne séparatrice de fluide (en rouge) pour $R = 1$ (en haut) et $R = 2$ (en bas). La ligne rouge n'a pour vocation que d'illustrer notre propos. Qualitativement, sa position engendre une distribution des débits de sang très asymétrique entre les deux branches filles.

Enfin, le fait que nos points expérimentaux ne soient pas influencés par l'angle entre les branches filles, suggère que la forme des lignes séparatrices de fluide n'est que peu impactée par ce paramètre, puisque le modèle semi-empirique n'inclue aucune dépendance à la géométrie, autre que sa symétrie et la taille et la forme de la section droite, et parvient à décrire convenablement certaines de nos données.

Nous nous intéressons à présent aux bifurcations asymétriques. Les

conclusions que nous tirons de la comparaison entre nos résultats expérimentaux et le modèle semi-empirique sont identiques aux conclusions que nous venons d'énoncer pour les bifurcations symétriques.

2.3 Application du modèle semi-empirique de séparation de phase : le cas des bifurcations asymétriques

Nous comparons les résultats issus du modèle semi-empirique aux bifurcations asymétriques $20-20-10$ et $10-10-5$ sur la Figure 5.12. La comparaison entre le modèle semi-empirique et les données expérimentales conduit à des conclusions identiques à celles obtenues dans des bifurcations symétriques : plus les effets du confinement effectif (*i.e.* confinement géométrique et confinement collectif) sur l'aplatissement du profil d'hématocrite sont marqués (*i.e.* plus le profil d'hématocrite est plat dans la branche mère), meilleure est la comparaison.

Ainsi, comme pour les bifurcations symétriques, la comparaison entre les résultats issus du modèle semi-empirique et nos points expérimentaux montrent que le modèle semi-empirique décrit de manière qualitativement satisfaisante nos points expérimentaux quand la branche mère a un confinement géométrique de $\mathrm{R} = 0.5$, lorsque $\mathrm{H_D} \approx 0.15$ (Figure 5.12(b)) et $\mathrm{H_D} \approx 0.4$ (Figure 5.12(c)). Le modèle sous-estime en revanche l'intensité de la séparation de phase pour la bifurcation $10-10-5$. Dans tous les cas, il prédit un excès de globules rouges dans la branche fille de plus petit diamètre.

Ce dernier point n'est toutefois plus vérifié si l'hématocrite de débit devient fort (Figure 5.12(c)), la disproportion entre les deux branches s'atténue pour quasiment distribuer les points expérimentaux le long de la droite identité. Le modèle suggère que la branche de plus gros diamètre est favorisée, ce qui semble être aussi le cas des points expérimentaux. Cette inversion de la position relative des points expérimentaux par rapport à la droite identité est similaire à celle que nous observons dans les bifurcations $20-20-20$, et est caractéristique d'un profil d'hématocrite très aplati sans couche d'exclusion plasmatique. Comme les bifurcations symétriques où il existe des combinaisons de valeurs des paramètres permettant à la loi de Pries de capturer la position relative des points de séparation de phase par rapport à la droite identité, il est possible de capturer le fait que la branche de plus gros diamètre soit favorisée en affectant à cette dernière une valeur positive du paramètre A, et donc à la plus petite branche, une valeur négative de ce paramètre.

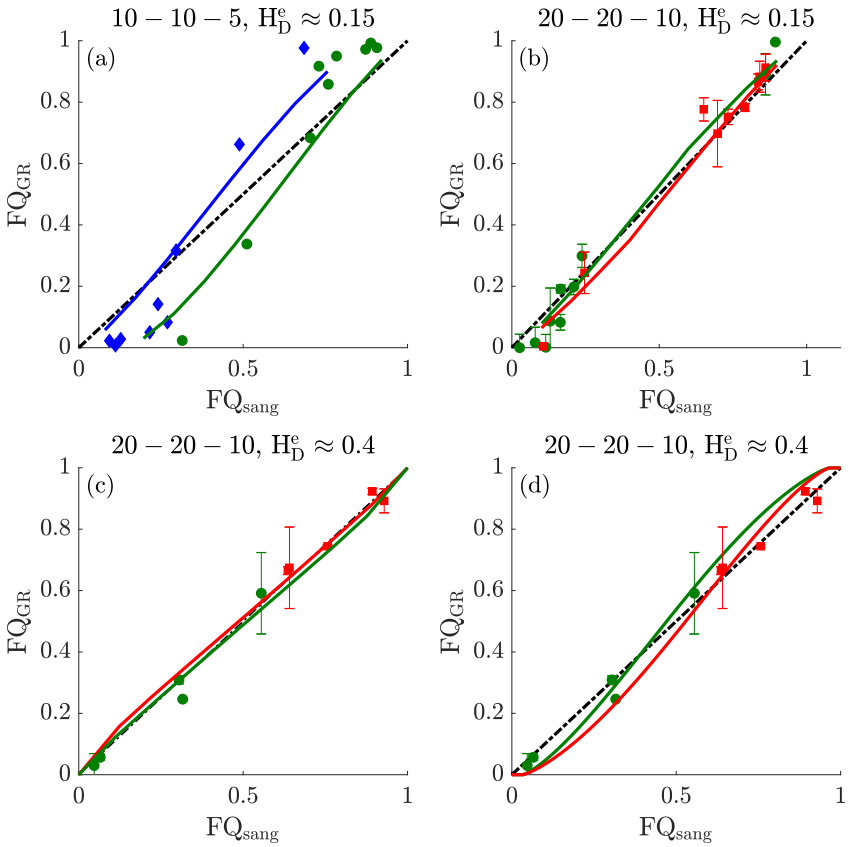

FIGURE 5.12 – Figures (a)-(c) : comparaison entre le modèle semi-empirique et nos données expérimentales, pour des bifurcations asymétriques. Figure (d) : mêmes points expérimentaux qu'en Figure (c), comparés à la loi de Pries. (a), (b) : $H^e_D \approx 0.15$; (c) : $H^e_D \approx 0.4$. Les courbes continues représentent les résultats du modèle semi-empirique. Dans tous les cas, la couleur bleue est associée à $R = 2$, la couleur verte à $R = 1$ et la couleur rouge à $R = 0.5$. La courbe pointillée est la droite identité.

2.4 Application du modèle semi-empirique de séparation de phase à des données de la littérature

Nous avons vu que le modèle semi-empirique permet d'expliquer au moins qualitativement nos résultats de séparation de phase. Pour confirmer cette approche, nous l'appliquons à présent à des données numériques et expérimentales (*in vitro*) extraites de la littérature. Les études auxquelles nous nous intéressons sont, à notre connaissance, les deux seules études présentant à la fois des résultats sur le profil d'hématocrite dans le canal d'entrée et la séparation de phase, et dans lesquelles la prédiction de la loi de Pries est mise en défaut. Nous considérons deux travaux. Le premier est numérique, et comporte une validation expérimentale de certains résultats,

et a été réalisé par Shen *et al.* (2016), et le second expérimental, réalisé en conditions *in vitro*, par Sherwood *et al.* (2014a).

2.4.1 Le modèle semi-empirique appliqué aux travaux de Shen *et al.* (2016)

L'étude de Shen *et al.* (2016) consiste en l'étude d'écoulements bidimensionnels de globules modélisés par la méthode *Lattice Boltzmann*. Chaque globule consiste en une membrane, simulée par 60 nœuds, encapsulant un fluide Newtonien dont la viscosité est une ou dix fois celle du fluide suspendant. Les écoulements se font dans la géométrie que nous avons présentée dans le Chapitre Introduction (Section 6.1, Figure 2.17). Les canaux de cette géométrie ont tous la même section de largeur $\mathrm{W} = 20\,\mu\mathrm{m}$.

L'objectif de leur étude est d'étudier la conséquence qu'a la structuration de l'écoulement (*i.e.* l'organisation des globules rouges) dans la branche mère sur la séparation de phase. Un résultat important est que, selon l'organisation des globules rouges, une inversion de l'effet Zweifach-Fung est observée. Une telle inversion, équivalente à une inversion de l'effet de séparation de phase, se traduit de la manière suivante : pour une valeur de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}} > 0.5$, le ratio $\mathrm{H}^1_{\mathrm{D}}/\mathrm{H}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{D}}$ est inférieur à 1. Pour une bifurcation symétrique, en régime établi, cette situation représente un cas exceptionnel. D'une manière générale, l'effet Zweifach-Fung, qui traduit l'effet de séparation de phase, est vérifié : pour $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{sang}} > 0.5$, on a nécessairement $\mathrm{H}^1_{\mathrm{D}}/\mathrm{H}^{\mathrm{e}}_{\mathrm{D}} \geqslant 1$.

Les différentes structurations présentées sont des conséquences du ratio de viscosité entre le fluide interne et le fluide externe. Les auteurs introduisent le paramètre λ comme étant le rapport entre la viscosité η_{in} de la solution d'hémoglobine encapsulée dans le globule, et η_{out} la viscosité du fluide suspendant :

$$\lambda = \frac{\eta_{in}}{\eta_{out}} \tag{5.9}$$

Les résultats pour $\lambda = 1$ et $\lambda = 10$ sont obtenus en ajustant η_{out}.

Les simulations conduites par les auteurs permettent d'obtenir un profil d'hématocrite et une courbe de séparation de phase à une bifurcation symétrique. Les profils d'hématocrite obtenus dans ces deux cas sont présentés sur la Figure 5.13, pour un même hématocrite de tube de 5%. Notons que ce profil présente une légère asymétrie. Cette asymétrie, qui n'est *a priori* pas physique est probablement un artefact de simulation (profil calculé sur un trop petit nombre de globules par exemple, ou influence de la condition à la limite). On note une très nette structuration de l'écoulement en deux files quand $\lambda = 10$ (cf Figure 5.13, haut), qui conduit à l'inversion de l'effet de séparation de phase.

Nous sommes en mesure de retrouver l'inversion de l'effet de séparation de phase grâce aux profils d'hématocrite simulés par Shen *et al.* (2016), *via* l'emploi du modèle semi-empirique. L'écoulement étant bidimensionnel, nous écrivons le profil de vitesse du fluide suspendant comme étant :

$$V_{FS}(x) = V_0\Big(1 - \frac{4x^2}{W^2}\Big) \tag{5.10}$$

Les profils de vitesse des globules rouges n'étant pas renseignés dans l'article de Shen *et al.* (2016), nous appliquons le modèle en prenant $B = 0$ puis $B = 1$ et mettons en évidence que ce paramètre n'a pas d'influence notable sur les résultats. Ceux présentés dans la Figure 5.13 ont été obtenus pour $B = 1$. Le profil d'hématocrite lui est récupéré manuellement au moyen d'un *web digitizer*[2]. Les résultats sont présentés de la manière suivante : le ratio $\frac{H_D^i}{H_D^e}$, calculé à partir des débits de sang et de globules rouges dans les branches filles et la branche mère, est tracé en fonction de FQ_{sang}^i. Le modèle semi-empirique permet de capturer l'effet de séparation de phase classique (pour $\lambda = 1$) et son inversion (pour $\lambda = 10$), en étant qualitativement en accord avec les points issus de la simulation numérique (voir Figure 5.13, milieu). L'inversion de l'effet de séparation de phase est provoquée par la structuration de l'écoulement en deux files, qui elle émerge des interactions hydrodynamiques entre le globule et son environnement, dans le cas 2D. L'explication de cette inversion au moyen du modèle semi-empirique est la même que celle avancée par les auteurs : lorsque la ligne séparatrice de fluide est au niveau du creux du profil d'hématocrite, la branche fille 1 reçoit du fluide suspendant en excès par rapport aux globules rouges. Cet excès a comme conséquence de réduire la valeur de l'hématocrite dans cette branche, à une valeur inférieure à celle de la branche mère. Le modèle nous permet aussi d'obtenir une courbe de séparation de phase qui ne peut plus être décrite par une courbe sigmoïde, ce qui est une signature de l'inversion de l'effet de séparation de phase (voir Figure 5.13 bas).

2.4.2 Le modèle semi-empirique appliqué aux travaux de Sherwood *et al.* (2014a)

Le dispositif expérimental utilisé dans cette étude consiste en deux bifurcations en série, distantes de 250 μm, une branche fille de la bifurcation amont étant la branche mère de la bifurcation aval. Nous appelons cette dernière "bifurcation étudiée". Tous les canaux ont la même section, qui est telle que $R = 0.2$ ($W \times W = 50\mu m^2$).

Dans cette étude, les auteurs s'intéressent à la question de l'effet de la présence d'une bifurcation divergente située en amont de celle étudiée, sur

2. http ://arohatgi.info/WebPlotDigitizer/app3_12/

l'intensité de la séparation de phase dans cette dernière. La branche mère de la bifurcation aval est une branche fille de la bifurcation amont. Cette étude a donc pour but d'étudier, dans un cas simple, l'influence qu'ont des bifurcations successives sur la distribution des globules dans des géométries plus complexes que la simple bifurcation, un point que l'on abordera dans le dernier chapitre de ce manuscrit, consacré aux réseaux. Les auteurs fournissent une courbe de séparation de phase au niveau de la bifurcation la plus en aval, celle étudiée. Toutefois, la forme du profil d'hématocrite, dans la branche mère de cette bifurcation, ayant conduit à ce résultat de séparation de phase n'est pas précisée par les auteurs, et il en est de même pour le profil de vitesse des globules rouges.

Les trois profils d'hématocrite présentés sur la Figure 5.14(d) (récupérés eux aussi manuellement par un *web digitizer*) ont été obtenus expérimentalement par les auteurs dans la branche mère de la bifurcation étudiée, pour plusieurs valeurs de débits fractionnaires de sang dans cette branche. C'est pourquoi les points expérimentaux de séparation de phase sont présentés de manière identiques sur les Figures 5.14(a)-(c). Seul change le profil d'hématocrite utilisé dans le modèle semi-empirique. Puisque nous ne sommes pas capable de déduire la forme des profils d'hématocrite en tout point (x, y) de la section, nous considérerons un écoulement bidimensionnel, ainsi que nous l'avons fait pour les travaux de Shen *et al.* (2016) : nous décrivons les profils d'hématocrite, de vitesse des globules rouges et de fluide suspendant uniquement selon la direction (Ox).

Ensuite, dans les trois cas présentés sur les Figures 5.14(a)-(c), nous avons supposé que le coefficient d'aplatissement du profil de vitesse des globules rouges vaut $\mathrm{B} = 0.65$: la valeur non nulle de l'hématocrite à la paroi suggère une vitesse de glissement non nulle des globules rouges à la paroi, $\mathrm{V_g}$, que l'on peut relier à leur vitesse maximale, $\mathrm{V_0}$ au moyen de la relation $\mathrm{V_g} = \mathrm{V_0}(1 - \mathrm{B})$ (voir Équation (4.35), chapitre précédent). $\mathrm{V_g}$ et $\mathrm{V_0}$ sont estimés à partir d'une mesure manuelle effectuée sur la Figure 2(b) dans Sherwood *et al.* (2014a).

Nous appliquons à présent le modèle semi-empirique aux profils d'hématocrite mesurés par les auteurs. Notre modèle, contrairement à la prédiction de la loi de Pries, permet de retrouver la forme particulière qu'adoptent leurs points expérimentaux. Du fait de l'asymétrie du profil d'hématocrite dans la branche fille issue de la branche d'entrée, les courbes de séparation de phase décrivant la distribution des débits de globules rouges dans chacune d'elles ne sont plus superposées et symétriques par rapport au points $(0.5, 0.5)$. De plus, le modèle semi-empirique capture l'excès de globules rouges reçu par la branche située du côté vers lequel est disymétrisé le profil d'hématocrite, et capture donc bien l'effet de l'asymétrie du profil d'hématocrite sur

la séparation de phase. Toutefois, aux faibles valeurs de FQ^{i}_{sang} (inférieures à $\sim 30\%$), le modèle sous-estime l'intensité de la séparation de phase (par conservation de la masse, cette observation se retrouve aux fortes valeurs de FQ^{i}_{sang} de l'autre branche). Le meilleur accord entre les résultats expérimentaux et ceux du modèle sont ceux de la Figure 5.14(c). Cet accord est obtenu pour le profil rouge de la Figure 5.14(d).

Nous concluons ce chapitre en discutant l'ensemble de nos résultats et des implications liées à l'utilisation de notre modèle semi-empirique pour décrire la séparation de phase.

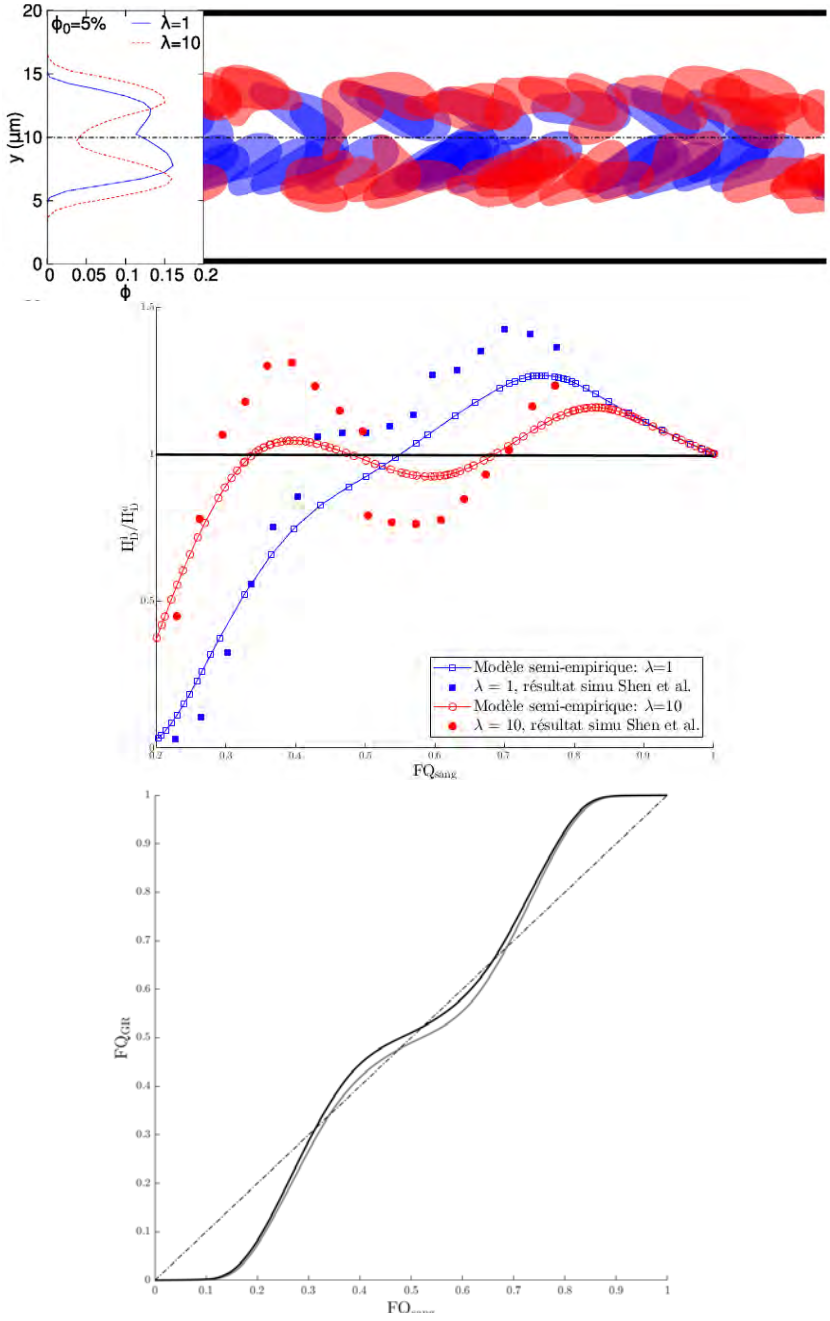

FIGURE 5.13 – En haut : profils d'hématocrite obtenus par Shen *et al.* (2016) pour les deux valeurs du paramètre λ, d'après Shen *et al.* (2016). Au milieu : H_D^1/H_D^e en fonction de FQ_{sang} : résultats numériques de Shen *et al.* pour les cas $\lambda = 10$ (point rouges) et $\lambda = 1$ (points bleus), et mêmes résultats obtenus avec le modèle semi-empirique (points reliés rouges : $\lambda = 10$, points reliés bleus : $\lambda = 1$). La ligne noire correspond à $H_D^1/H_D^e = 1$. En bas : courbe de séparation de phase obtenue pour le cas $\lambda = 10$ *via* le modèle semi-empirique. Le fait qu'il y ait deux courbes vient de la légère asymétrie présentée par le profil d'hématocrite.

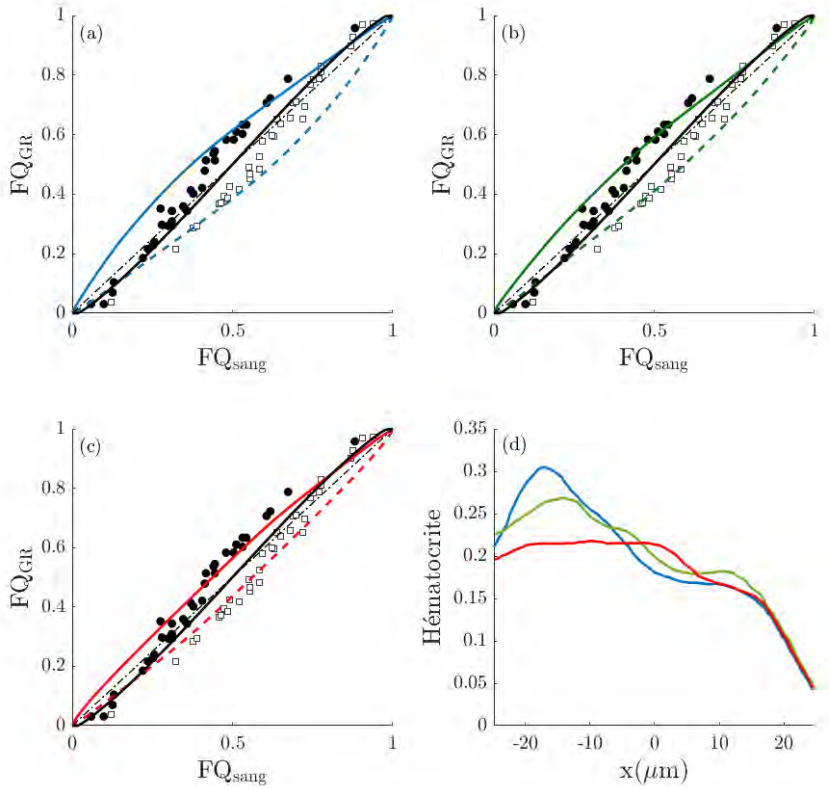

FIGURE 5.14 – Figures (a)-(c) : points expérimentaux de séparations de phases obtenus par Sherwood *et al.* (2014a), les cercles noirs correspondent à une branche fille de la seconde bifurcation, et les carrés blancs à l'autre branche fille de la même bifurcation. Les courbes colorées donnent les résultats du modèle semi-empirique, obtenus à partir des profils profils d'hématocrite de même couleur présentés sur la Figure (d). La courbe en trait noir continu est la prédiction de la loi de Pries.

3. Conclusion

Nous avons présenté les résultats de séparation de phase, obtenus dans des bifurcations symétriques et asymétriques. Au moyen du paramètre e_{Pries}, dans la continuité des résultats de S. Roman, nous avons montré que la loi de Pries décrit d'autant mieux nos points de séparation de phase que le confinement collectif est faible (voir Figure 5.6(b)). Pour les forts confinements collectifs et géométriques (*i.e* forts confinements effectifs), la loi de Pries sur-estime l'intensité de la séparation de phase. Ce résultat est en accord avec ceux de Roman *et al.* (2016), reproduits sur la Figure 5.9. Enfin, le cas nécessitant la correction la plus importante de la loi de Pries est celui du confinement géométrique le plus fort (voir les losanges rouges Figure 5.6(b), par rapport aux autres points).

Premièrement, nous avons proposé un modèle semi-empirique qui repose à la fois sur une vision continue de la phase globule rouge mais aussi sur l'existence supposée d'une ligne séparatrice de fluide. Le modèle proposé a pour objectif de mettre en évidence les situations de confinements collectif et géométrique pour lesquels la séparation de phase est dictée principalement par l'organisation spatiale des globules rouges dans la section droite sans avoir à recourir à la description discrète des corpuscules. Sur la Figure 5.10(a) nous avons mis en évidence que ce modèle est d'autant plus juste que le confinement collectif est important et/ou que le confinement géométrique est fort. Pour rappel, à partir de ces deux notions de confinement, nous avons défini dans le chapitre précédent (Section 1.5) un confinement effectif, dont les effets se font ressentir sur le coefficient d'aplatissement du profil d'hématocrite B_H. Plus le confinement effectif est important, *i.e.* plus le profil d'hématocrite est plat, en accord avec Balogh *et* Bagchi (2018), meilleure est la précision du modèle semi-empirique pour prédire l'intensité de la séparation de phase. En pratique, le modèle est particulièrement adapté aux confinements géométriques $R = 0.5$ avec $H_D > 0.1$ et $R = 2$ pour tout hématocrite (voir Figure 5.10, points bleus et rouges). La prédiction de la séparation de phase dans le cas de confinement géométrique intermédiaire $R = 1$, afin d'être la plus juste possible nécessite de prendre en compte la taille non nulle des globules rouges. A cette fin, nous nous sommes appuyés sur la forme prise par les globules rouges aux deux confinements géométriques les plus forts, et avons comparé les deux situations (voir Section 2.2, et l'explication rattachée à la Figure 5.11). Nous avons suggéré une explication simple liée à la possibilité ou non des globules rouges d'avoir une jupe : le confinement géométrique $R = 1$ permet l'émergence d'une jupe qui oblige à considérer la vision corpusculaire, lorsque le confinement géométrique $R = 2$ aplatit cette jupe et permet une description de la séparation de phase au moyen du modèle semi-empirique. Cette explication nous a donc permis de formuler une hypothèse expliquant l'inversion de l'intensité de séparation de

la séparation de phase aux très forts confinements (voir Figure 5.3 et Section 1.3.2). L'écrasement de la jupe aux très forts confinements va de pair avec l'impossibilité pour les globules rouges de se structurer en *zipper*, voir les travaux de Gaehtgens *et al.* (1980) (reproduits sur la Figure 4.5 (haut) du chapitre précédent). Aussi, nous suggérons que le modèle semi-empirique permettrait de déduire complètement l'intensité de la séparation de phase aux confinements $R > 2$.

Deuxièmement, à l'aide du modèle semi-empirique, nous pouvons par ailleurs dégager, en régime établi, l'influence relative qu'ont les profils d'hématocrite, de vitesse des globules rouges et du fluide suspendant sur l'effet de séparation de phase. Comme nous ne nous intéressons qu'au régime établi, pour discuter de l'influence relative des profils, nous ne considérerons que des formes de profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges "réalistes", *i.e.* similaire à celles que nous mesurons, donc au moins symétriques par rapport aux plans (Oxz) et (Oxy).

Notons tout d'abord qu'il n'y aurait pas de séparation de phase, si le profil d'hématocrite était parfaitement plat (sans couche d'exclusion plasmatique), et les profils de vitesse des globules rouges et de fuide suspendant strictement identiques. Comme le profil vitesse des globules rouges est toujours différent de celui du fluide suspendant, l'intensité de la séparation de phase ne peut jamais être strictement nulle.

La contribution de la courbure du profil de vitesse des globules rouges est négligeable, pour les hématocrites et confinements considérés. Le décalage entre la vitesse maximale que nous avons déduit de notre étude sur l'inversion de l'effet Fåhraeus (chapitre précédent, Section 3.3) contribue à augmenter l'intensité de la séparation de phase, mais de manière négligeable. Pour un profil d'hématocrite fixé, la séparation de phase est d'autant moins prononcée que le profil de vitesse des globules rouges est plat. Le profil qui influence le plus la séparation de phase est le profil d'hématocrite. La séparation de phase est d'autant moins prononcée que le profil d'hématocrite est plat. Enfin, à confinements géométrique et collectif fixé, la séparation de phase est d'autant plus prononcée que la couche d'exclusion plasmatique est épaisse.

Troisièmement, ce modèle semi-empirique peut être généralisé aux N-furcations. Nous développons ceci en Annexe C.

Dans cette annexe, de la même manière que dans le présent chapitre, les résultats du modèle semi-empirique permettent de paramétriser une loi de Pries généralisée, qui peut ensuite être utilisée pour simuler la répartition des globules rouges dans des réseaux à mailles carrées, comportant en entrée une trifurcation. Nous utiliserons une loi de Pries généralisée au chapitre suivant.

Dans le dernier chapitre, nous nous intéressons en effet aux réseaux 2D modèles. Notre objectif sera de comprendre la structuration de l'écoulement

à grande échelle dans ces géométries.

Chapitre 6

Perfusion de réseaux 2D modèles : expériences et simulations

Ce cinquième et dernier chapitre est dédié à la compréhension de la perfusion, *i.e.* la distribution de l'hématocrite dans des réseaux modèles 2D à maille élémentaire hexagonale. Rappelons que ces réseaux, déjà présentés dans le Chapitre Matériels et Méthodes, comportent 88 canaux identiques, de longueur 50 microns. Nous disposons de deux types de réseaux, correspondant à 2 confinements géométriques différents : R = 1 et R = 2.

Nos résultats expérimentaux, distribution de l'hématocrite de tube moyen et de la vitesse moyenne des globules rouges, seront comparés à ceux issus d'un modèle analytique, qui prend en compte la rhéologie atypique de la micro-circulation (effet de séparation de phase, effets Fåhraeus et Fåhraeus-Lindqvist). La résolution numérique de ce modèle permet d'obtenir notamment la distribution de l'hématocrite et des débits de sang et de globules rouges au sein du réseau, desquels sont déduites leur vitesse moyenne.

Nous débutons ce chapitre en présentant brièvement ce modèle, introduit initialement par Pries *et al.* (1990). Le code permettant de résoudre l'écoulement sanguin a été écrit par Maxime Berg, doctorant dans le cadre de l'ERC *BrainMicroFlow*.

Nous comparons la distribution d'hématocrite prédite par ce modèle à celle que nous avons obtenue expérimentalement pour le cas R = 2. En particulier, nous étudierons l'influence de la forme de la loi de séparation de phase introduite dans le modèle sur cette comparaison.

Ensuite, nous étudierons le cas des réseaux avec R = 1. Là encore, le modèle numérique et les résultats expérimentaux seront comparés. Une différence majeure par rapport au cas R = 2 est que nous observons des profils d'hématocrite asymétriques, dont la forme évolue le long du canal suite à une

bifurcation. Ainsi est introduit un nouvel ingrédient physique, la relaxation des profils d'hématocrite vers un profil d'équilibre, celui qui serait mesuré sans bifurcation, dans un canal droit suffisamment long. L'asymétrie associée va jouer un rôle important sur la séparation de phase qui ne pourra plus être correctement décrite par la loi de Pries, comme on peut s'y attendre d'après le modèle semi-empirique présenté au chapitre précédent et d'après les travaux de Sherwood *et al.* (2014a).

Il est à noter que les comparaisons que nous effectuons sont principalement des comparaisons branche à branche. Dans leur étude, Pries *et al.* (1990), proposent essentiellement des comparaisons entre les distributions statistiques des paramètres, obtenues expérimentalement et numériquement, et concluent à un bon accord global. Nous avons choisi de privilégier des comparaisons locales, car il s'agit de la méthode de comparaison la plus contraignante.

Puisque, comme nous venons de l'écrire, la relaxation des profils d'hématocrite joue un rôle dans la perfusion de nos réseaux, nous présenterons finalement des résultats préliminaires sur cette relaxation. Une telle étude n'a, à notre connaissance, jamais été effectuée *in vitro*, en particulier pour des confinements géométriques aussi forts.

Enfin, en conclusion de ce chapitre, nous résumerons brièvement les résultats et discuterons de la pertinence d'une extrapolation de ces résultats, obtenus *in vitro*, à des conditions *in vivo*.

1. Modèle numérique

Nous souhaitons déterminer les distributions de l'hématocrite de tube et de la vitesse des globules rouges dans un réseau tel que celui présenté sur la Figure 6.1. A cette fin, nous nous appuyons sur un modèle non-linéaire itératif proposé par Pries *et al.* (1990) et repris en particulier par Lorthois *et al.* (2011). Outre la géométrie du réseau, sont spécifiés comme données d'entrée du modèle la différence de pression entre les branches d'entrée et de sortie du réseau, ainsi que l'hématocrite de tube dans la branche d'entrée. Les nœuds du réseau sont repérés par des entiers. Chaque branche du réseau relie deux nœuds différents et est notée ij.

Nous décrivons brièvement ci-dessous la procédure permettant la résolution de l'écoulement.

Tout d'abord, une distribution uniforme d'hématocrite de débit, qui, nous le rappelons est défini comme $H_{D,ij} = Q_{GR,ij}/Q_{sang,ij}$, est supposée dans l'ensemble du réseau. Le débit de sang dans chaque branche ij, noté $Q_{sang,ij}$ est relié à la chute de pression $(P_i - P_j)$ au moyen de la loi de Poiseuille (voir

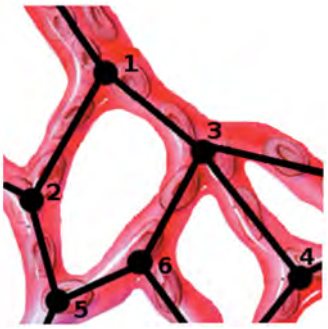

FIGURE 6.1 – Illustration de la notion de nœuds et de branches. La portion de réseau présentée sur la figure comporte 6 nœuds, numérotés de 1 à 6, et 6 branches complètes, d'après Erbertseder *et al.* (2012).

Équation (2.12), Chapitre Introduction, Section 4.2), rappelée ci-dessous :

$$Q_{sang,ij} = (P_i - P_j)\frac{\pi D_{ij}^4}{128\mu_{app}(H_{D,ij})L_{ij}} \tag{6.1}$$

où, P_i et P_j sont les pressions aux nœuds i et j, $D_{ij} = W$ et $L_{ij} = L$ la longueur constante de chaque branche. La viscosité du sang $\mu_{app}(H_{D,ij})$ est déterminée à partir de l'expression de l'effet Fåhraeus-Lindqvist, qui dépend de l'hématocrite de débit $H_{D,ij}$

Ensuite, le système suivant, déterminé en invoquant la conservation des débits de sang à chaque nœud i, est résolu pour obtenir les débits de sang $Q_{sang,ij}$:

$$\sum_j (P_i - P_j)\frac{\pi D_{ij}^4}{128\mu_{app}(H_{D,ij})L_{ij}} = 0 \tag{6.2}$$

La distribution des débits de globules rouges est alors déterminée au moyen d'une loi de séparation de phase. Dans notre cas, nous nous servirons du résultat obtenu par la prédiction de la loi de Pries originale comme référence. Nous comparerons ce résultat à une nouvelle description de l'effet de séparation de phase obtenue par le modèle semi-empirique, adaptée au cas des réseaux.

A partir de la connaissance des débits de sang et de globules rouges, l'hématocrite de débit est déterminé dans chaque branche. Le processus est itéré à partir de l'Équation (6.1) jusqu'à ce que, d'une itération sur l'autre, la variation d'hématocrite dans un canal soit inférieure à 10^{-15}.

Finalement, le modèle permet d'obtenir la distribution de l'hématocrite de tube moyen dans les canaux, $\bar{H}_{ij}$ et aussi la distribution des vitesses moyennes des globules rouges. En effet, pour chaque canal, la vitesse des globules rouges peut être obtenue à partir du débit de sang, au moyen de l'effet Fåhraeus avec $\frac{\bar{H}_{t,ij}}{H_{D,ij}} = \frac{\bar{V}_{sang,ij}}{\bar{V}_{GR,ij}}$. Notons qu'il a été montré par Guibert

et al. (2009) que les résultats sur l'hémodynamique, *i.e.* distribution des pressions et des débits de sang et donc la vitesse des globules rouges, dépendent peu du choix de la loi de séparation de phase, contrairement aux résultats relatifs à l'hématocrite de tube, comme nous le verrons dans ce chapitre. Le résultat de Guibert *et al.* (2009) s'explique par la faible dépendance à l'hématocrite de la loi de viscosité utilisée, en particulier aux diamètres que nous considérons. En vertu de cette propriété, nous ne présenterons qu'un seul résultat relatif à la vitesse des globules rouges par confinement géométrique.

Par la suite, nous quantifions l'écart e_c entre les champs d'hématocrite obtenus, pour chaque branche (b), expérimentalement (notés $\bar{H}^b_{t_{exp}}$) et numériquement (notés $\bar{H}^b_{t_{sim}}$) par :

$$e_c = \frac{\sum_{b=1}^{n} |\bar{H}^b_{t_{exp}} - \bar{H}^b_{t_{sim}}|}{n\bar{H}^e_t} \tag{6.3}$$

où n est le nombre de branches du réseau.

2. Comparaison entre résultats expérimentaux et numériques : R=2

Les résultats expérimentaux ci-dessous ont été obtenus dans un réseau qui présente l'occlusion non souhaitée d'un canal par un globule rouge (canal entouré en rouge sur la Figure 6.2). Pour prendre en compte cette occlusion dans le modèle, nous avons simplement divisé par 10 le diamètre du canal occlu, ce qui suffit pour que l'écoulement dans cette branche devienne négligeable. Cette situation est un bon exemple de la difficulté à conduire des expérimentations dans des réseaux présentant un tel confinement.

2.1 Comparaison des vitesses des globules rouges expérimentales et simulées

Du fait du très fort confinement géométrique dans lequel nos expériences sont conduites, il a été difficile de stabiliser l'écoulement. En particulier, nous avons constaté l'apparition de cycles de bouchage et débouchage du canal d'entrée, au niveau de la jonction avec le canal d'alimentation. Pour les limiter, nous avons été contraints d'imposer un différentiel de pression élevé entre l'entrée et la sortie, d'où une vitesse d'entrée de l'ordre de quelques $cm.s^{-1}$, soit plusieurs ordres de grandeurs au-dessus des vitesses mesurées *in vivo* pour ce confinement. Une vitesse aussi élevée ne permet l'emploi d'aucune méthode automatisée pour la mesure de vitesse dans un grand nombre de nos canaux. Aussi, bien que fastidieux, nous avons mesuré manuellement la vitesse moyenne des globules rouges dans toutes les branches du réseau.

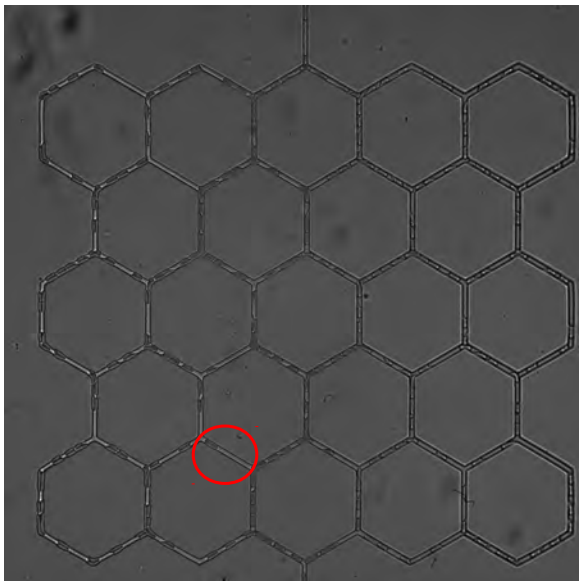

FIGURE 6.2 – Image extraite d'une séquence d'écoulement dans un réseau avec $R = 2$, pour $\bar{H}_t^e \approx 0.2$. Le cercle rouge montre la position de la branche occluse par un globule rouge immobilisé. L'écoulement principal se fait de haut en bas.

Cette vitesse moyenne est issue, pour chaque branche, de cinq groupes de mesure. Les instants initiaux des groupes sont 0, $\frac{\Delta t}{5}$, $\frac{2\Delta t}{5}$, $\frac{3\Delta t}{5}$, $\frac{4\Delta t}{5}$ où Δt est la durée de la séquence.

Nous présentons sur la Figure 6.3 le résultat de la comparaison, branche à branche, entre les vitesses obtenues expérimentalement et celles issues des simulations. Ainsi, pour un point donné, l'abscisse représente la mesure expérimentale quand l'ordonnée est la vitesse prédite par le modèle. Idéalement, les points devraient tous s'aligner selon la droite identité. Leur distribution autour de cette droite nous permet de conclure à une comparaison satisfaisante entre les résultats expérimentaux et numériques.

2.2 Comparaison des hématocrites expérimentaux et simulés avec la loi de Pries

Nous présentons maintenant sur la Figure 6.4, la comparaison branche à branche de l'hématocrite de tube moyen, déterminé expérimentalement *via* la méthode décrite dans le Chapitre Matériels et Méthodes (Section 5.2), et numériquement. Cette figure comporte 2 cas différents : $\bar{H}_t^e \approx 0.20$ et $\bar{H}_t^e \approx 0.145$. Notons pour ces deux cas que la dispersion des points autour de la droite identité est relativement importante. Cette dispersion n'est pas surprenante puisque nous avons vu dans le chapitre précédent (Figure

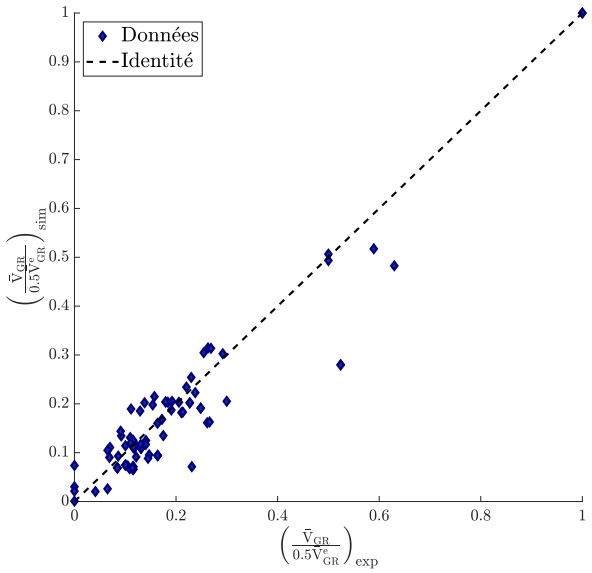

FIGURE 6.3 – Vitesse des globules rouges dans chaque canal obtenue par le modèle en fonction de celle mesurée expérimentalement. Dans les deux cas, cette vitesse est normalisée par la vitesse des branches filles issues de la branche d'entrée du réseau, égale à $0.5V^e_{GR}$. Ici, $\bar{H}^e_t \approx 0.145$ et $R = 2$. Signe de la difficulté à stabiliser l'écoulement, pour chaque point l'incertitude expérimentale est de l'ordre de ± 0.1.

5.3(c), Section 1.3.1) pour les bifurcations $5-5-5$, qu'il s'agit du cas pour lequel l'écart entre la loi de Pries et les données expérimentales est le plus important. Les valeurs de e_c représentant une telle dispersion sont 0.2834 et 0.2527, pour $\bar{H}^e_t \approx 0.20$ et $\bar{H}^e_t \approx 0.145$ respectivement.

2.3 Comparaison des hématocrites expérimentaux et simulés avec la loi de Pries modifiée

Nous utilisons à présent la loi de Pries obtenue en ajustant ses paramètres à nos données expérimentales de séparation de phase pour les bifurcations $5-5-5$ (cf Figure 5.3(d), chapitre précédent). Nous rappelons que l'ajustement conduit aux valeurs suivantes pour les paramètres de la loi de Pries : $A = 0$, $B \approx 1$, $X_0 \approx 0.1$ (voir Section 1.3.2, chapitre précédent). Injecter ces valeurs dans l'expression de la formulation de séparation de phase proposée par Pries *et al.* (1989) a pour conséquence de faire diminuer les valeurs prises par e_c, comme vu sur la Figure 6.5, traduisant un bien meilleur accord entre les prédictions de ce modèle et les données expérimentales. Les valeurs de e_c diminuent de 47% et 22% respectivement pour $\bar{H}^e_t \approx 0.20$ et $\bar{H}^e_t \approx 0.145$.

Notons que la correction que nous appliquons à la loi de Pries repose sur un cas expérimental obtenu pour un seul hématocrite (en l'occurrence $H_D \approx 0.15$). Or, la loi de Pries, dans sa formulation originelle voit ses

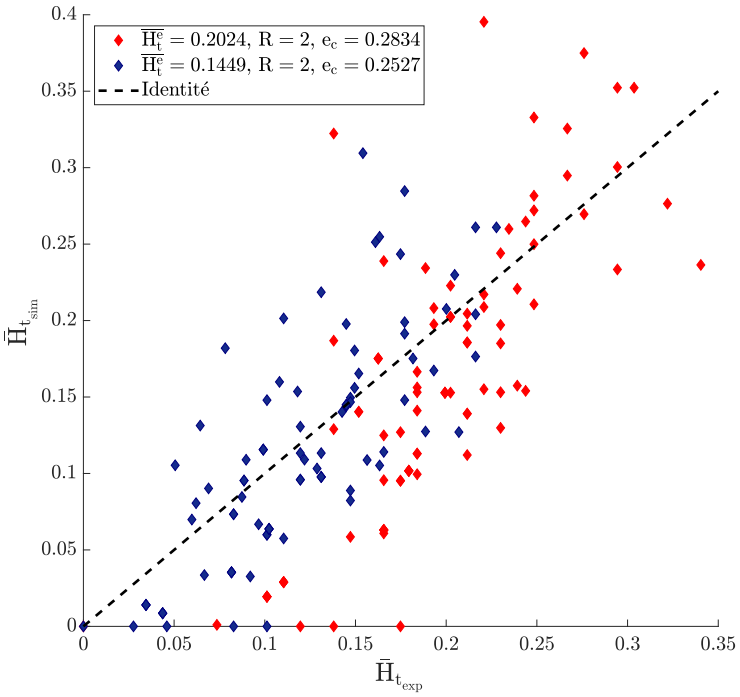

FIGURE 6.4 – Comparaison branche à branche de l'hématocrite de tube mesuré expérimentalement et celui prédit par le modèle, en utilisant la prédiction de la loi de Pries, pour R = 2. Un point correspond à une branche. En bleu, $\bar{H}_t^e \approx 0.145$, en rouge $\bar{H}_t^e \approx 0.20$. L'incertitude de la mesure expérimentale est de l'ordre de ± 0.07, dans les deux cas.

coefficients dépendre de H_D^e de manière explicite. Le fait que pour les deux hématocrites considérés dans nos réseaux les valeurs de e_c après correction soient très similaires suggère que, pour ce confinement, la dépendance des coefficients à l'hématocrite est faible, en tout cas pour la gamme considérée.

Dans la suite, nous nous intéressons au confinement géométrique plus faible, R = 1. Comme précédemment, nous comparons dans un premier temps les résultats expérimentaux aux résultats numériques "bruts" utilisant la prédiction de la loi de Pries. Parce que nous souhaitons corriger la loi de Pries, nous détaillons les arguments physiques sur lesquels s'appuient cette correction, et la manière dont nous utilisons le modèle semi-empirique pour aboutir à une nouvelle loi.

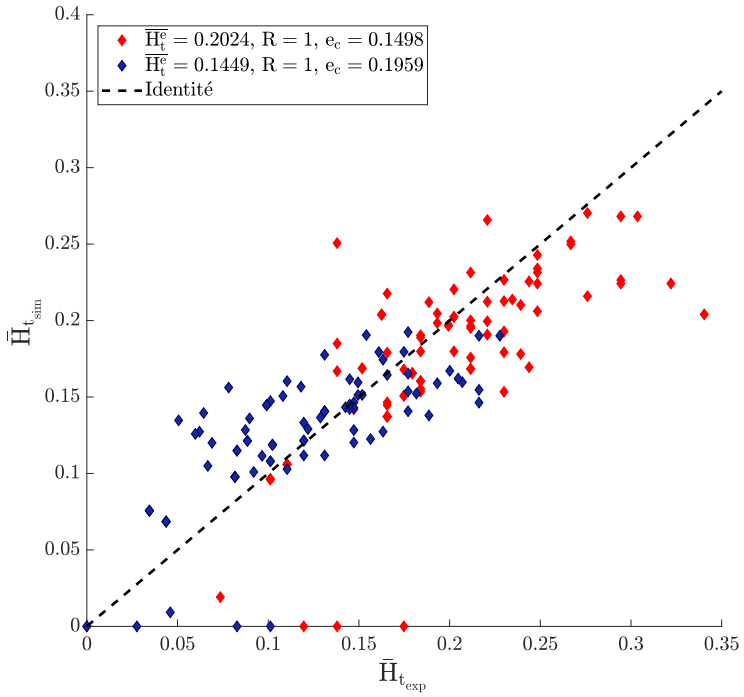

FIGURE 6.5 – Comparaison de l'hématocrite branche à branche en utilisant une loi de Pries ajustée aux données obtenues dans les bifurcations 5-5-5. En bleu, $\bar{H}_t^e \approx 0.145$, en rouge $\bar{H}_t^e \approx 0.20$, dans les deux cas R = 2. L'incertitude de la mesure expérimentale est de ± 0.07, dans les deux cas.

3. Comparaison entre résultats expérimentaux et numériques : R=1

Les méthodes de mesure des champs de vitesse des globules rouges et d'hématocrite de tube ont été présentées dans le Chapitre Matériels et Méthodes (voir respectivement Section 3 et Section 4.3.2). Dans un premier temps, nous revenons sur la technique de mesure des vitesse, qui repose ici sur une technique de μ-PIV, et présentons une validation de cette technique.

3.1 Vitesse des globules rouges

3.1.1 Mesure de la vitesse des globules rouges par μ-PIV

A partir de nos résultats de μ-PIV, effectué uniquement dans les branches où l'hématocrite est non nul, nous mettons tout d'abord en avant un effet surprenant, qui, à notre connaissance n'a jamais été décrit pour un tel confinement : le champ de vitesse des globules rouges n'est pas constant et varie en fonction de la distance z à l'entrée de la branche considérée (voir Figure

6.6 haut). Par conservation de la masse, cela implique que le profil d'hématocrite doit lui aussi varier et que sa valeur moyenne doit évoluer en fonction de la distance z à l'entrée du canal.

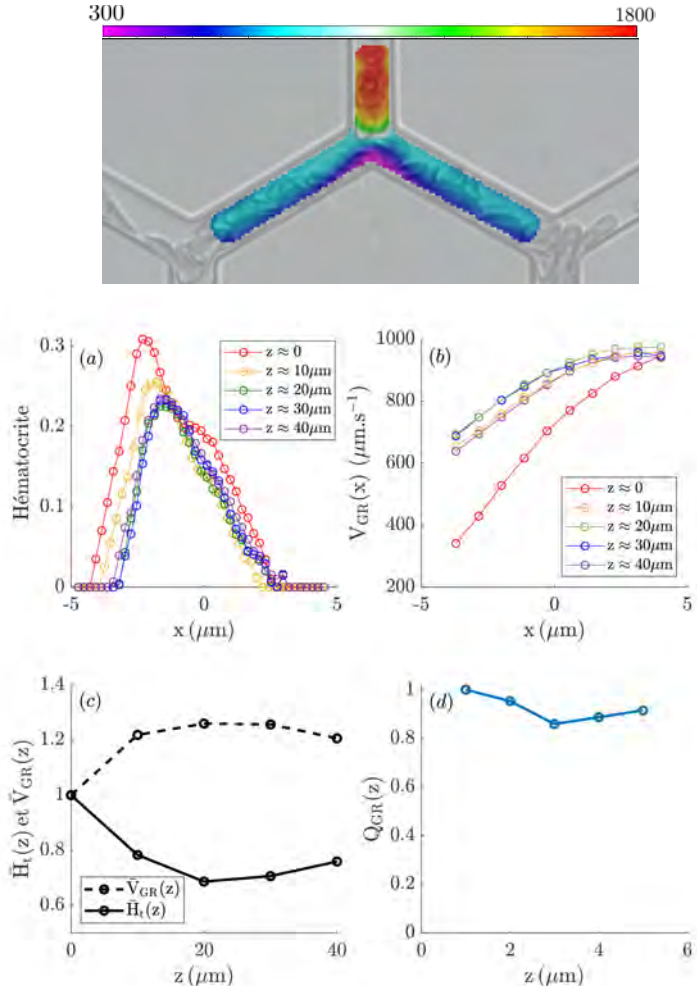

FIGURE 6.6 – En haut, résultat de la mesure de la norme du vecteur vitesse des globules rouges (V_{GR_x}, V_{GR_z}) par μ-PIV (en $\mu m.s^{-1}$) dans la bifurcation d'entrée du réseau, pour lequel R = 1. Figures (a) et (b), évolution des formes du profil d'hématocrite et de vitesse des globules rouges le long d'une des deux branches filles. Figure (c) évolution de l'hématocrite de tube moyen et de la vitesse moyenne des globules rouges calculée à partir des profils présentés sur les Figures (a) et (b). Ces valeurs sont normalisées par celles mesurées en z = 0. (d) Évolution du débit de globules rouges obtenue à partir des profils présentés. Le débit est normalisé par celui obtenu en z = 0.

Sur les Figures 6.6(a) et 6.6(b), nous montrons, pour la branche de droite de la bifurcation d'entrée, l'évolution des champs d'hématocrite et de vitesse des globules rouges avec z. Notons que la méthode de mesure de μ-PIV est

plus sensible que la méthode de mesure de l'hématocrite. Aussi, là où nous mesurons un hématocrite nul ($x > 2.5\,\mu$m, par exemple), la μ-PIV fournit des vitesses de globules rouges non nulles.

Notons, dans les deux cas, que la forme des profils est très différente de celle en régime établi. Les profils d'hématocrite sont asymétriques, et présentent une asymétrie de la taille de la couche d'exclusion plasmatique, similaire à celle observée *in vivo* par Ng *et al.* (2014). Remarquons enfin que les valeurs prises par la couche d'exclusion plasmatique de part et d'autre du profil sont considérablement plus élevées que celles mesurées en régime établi.

L'asymétrie des profils d'hématocrite se répercute sur les profils de vitesse des globules rouges. En effet, un profil d'hématocrite peut être vu, en première approximation, comme un profil de viscosité (Sherwood *et al.*, (2014b)). Ce nouveau profil possède la même asymétrie que le profil d'hématocrite (ici, maximum positionné en $x < 0$). Sous la même différence de pression, la vitesse des globules rouges doit être d'autant plus faible que la viscosité est élevée, ce qui inverse l'asymétrie du profil de vitesse des globules rouges (maximum en $x > 0$), par rapport à celui du profil d'hématocrite (ou de viscosité). Nous perdons ainsi la forme plate, caractérisant les profils de vitesse au confinement géométrique $R = 1$, en régime établi. Toujours dans la même branche, nous comparons sur la Figure 6.6(c) l'évolution de la vitesse moyenne des globules rouges (courbe pointillée) à l'évolution de l'hématocrite de tube moyen (courbe continue). Ces deux quantités sont obtenues en intégrant les profils des Figures 6.6(a) et 6.6(b). La valeur de référence, pour les deux cas, est celle mesurée en entrée du canal. Nous voyons sur la Figure 6.6(c) que lorsque l'hématocrite diminue, la vitesse des globules rouges augmente, et ce, en vertu de la conservation de la masse. En particulier, la vitesse moyenne des globules dans le canal est toujours supérieure à celle mesurée en entrée du canal, alors que l'hématocrite dans le canal est toujours inférieur à la valeur mesurée en entrée. Sur la Figure 6.6(d), nous montrons l'évolution du débit de globule rouge en fonction de z, calculé à partir des profils des Figures 6.6(a) et (b), et normalisé par la valeur en entrée de canal. Idéalement, les points devraient tous avoir comme ordonnée 1. L'écart à cette valeur de référence est, au maximum, de $\sim 15\%$, ce qui est dans la gamme d'incertitude que nous avons obtenue avec nos mesures de *dual-slit* en régime établi. Aussi, cela nous permet de valider notre méthode de mesure de vitesse des globules rouges par μ-PIV.

Dans la suite de ce chapitre, sauf spécifié autrement, lorsque nous présentons des valeurs expérimentales relatives à l'hématocrite, il s'agit de valeurs moyennes. Celles-ci auront été obtenues par intégration du profil d'hématocrite mesuré en sortie de canal. Il en va de même pour les données relatives à la vitesse des globules rouges.

Comme dans la section précédente, nous commençons par comparer les vitesses des globules rouges issues de nos mesures de μ-PIV et celles prédites

par le modèle numérique.

3.1.2 Comparaison des vitesses des globules rouges expérimentales et simulées

Pour ce cas, comme pour le précédent, la comparaison entre les vitesses de globules rouges et celles prédites par le modèle analytique numérique est qualitativement bonne, comme le montre la Figure 6.7.

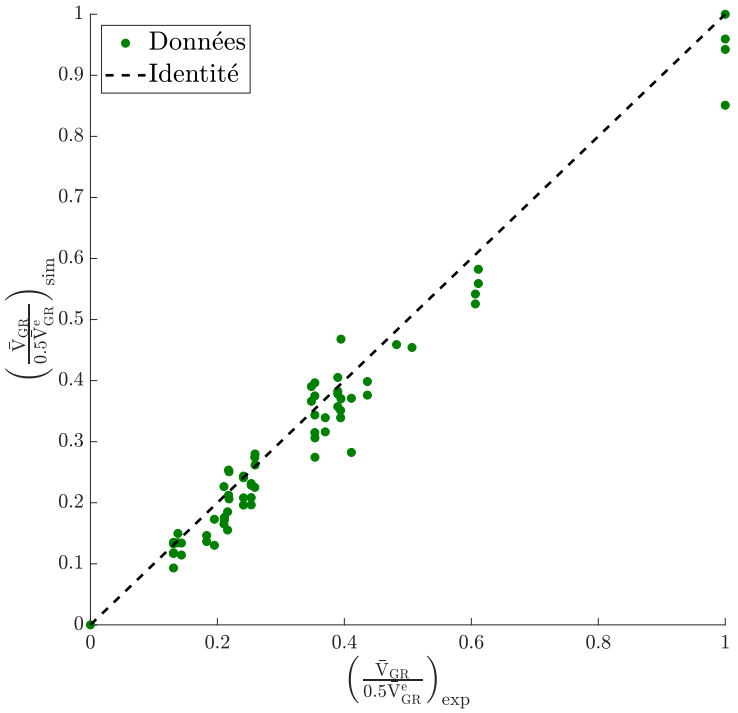

FIGURE 6.7 – Vitesse des globules rouges dans chaque canal obtenue par le modèle numérique en fonction de celle mesurée expérimentalement. Dans les deux cas, cette vitesse est normalisée par la moitié de celle de la branche d'entrée. Ici, $\bar{H}^e_t = 0.085$ et $R = 1$.

3.2 Hématocrite : résultats expérimentaux et comparaison avec les simulations basées sur la loi de Pries

3.2.1 Résultats expérimentaux

Nous présentons tout d'abord une image du réseau complet, moyennée temporellement, pour trois valeurs croissantes d'hématocrite d'entrée ($\bar{H}^e_t \approx 0.03$, $\bar{H}^e_t \approx 0.08$ et $\bar{H}^e_t \approx 0.15$, Figures 6.8 à 6.10).

L'analyse qualitative des Figures 6.8 à 6.10 met en avant trois propriétés émergeant dans les réseaux :

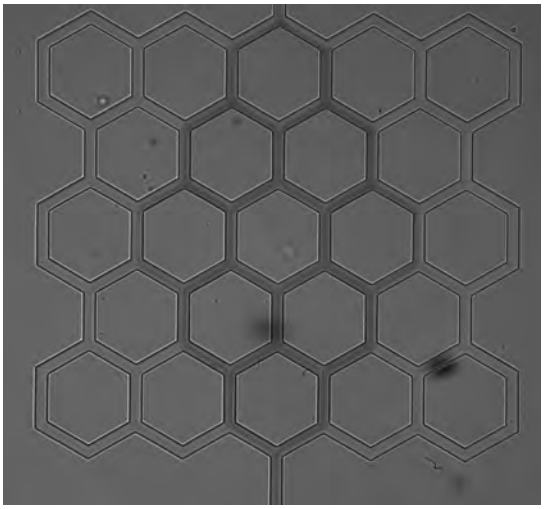

FIGURE 6.8 – Image moyennée temporellement pour $\bar{H}_t^e \approx 0.035$. R = 1. L'écoulement principal se fait de haut en bas.

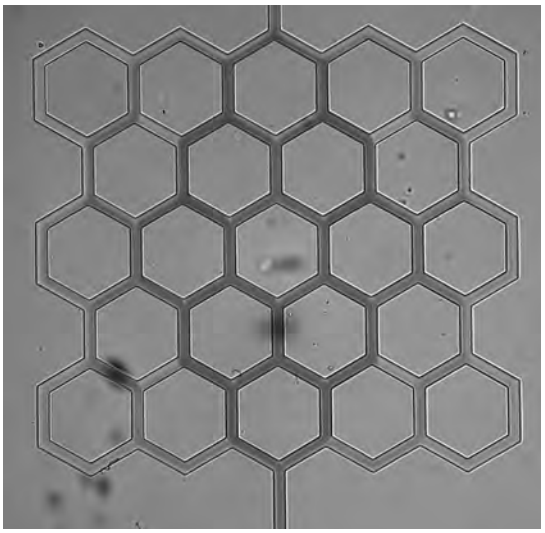

FIGURE 6.9 – Image moyennée temporellement pour $\bar{H}_t^e \approx 0.08$. R = 1. L'écoulement principal se fait de haut en bas.

1. Plus l'hématocrite dans la branche d'entrée est faible, plus le nombre de canaux dépourvus de globules, situés en bordure de réseau, est important.
2. Plus l'hématocrite dans la branche d'entrée est important, plus l'hématocrite maximal dans le réseau est lui aussi important.
3. Comme nous l'avons déjà mentionné, les profils d'hématocrite présentent de fortes asymétries, en particulier dans les branches les plus en amont.

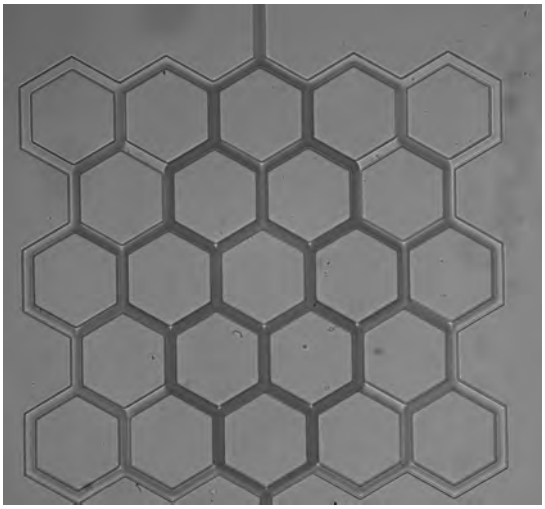

FIGURE 6.10 – Image moyennée temporellement pour $\bar{H}_t^e \approx 0.155$. R = 1. L'écoulement principal se fait de haut en bas.

Les deux premiers points peuvent être quantifiés en traçant les histogrammes représentant la distribution des hématocrites moyens dans le réseau, voir Figure 6.11, colonne de gauche. Quant à l'asymétrie des profils, nous y reviendrons plus loin.

3.2.2 Comparaison avec les simulations basées sur la loi de Pries

Les histogrammes représentant la distribution des hématocrites simulés dans le réseau sont donnés sur la Figure 6.11 (colonne de droite). Les histogrammes issus de la simulation présentent des différence marquées avec ceux issus des mesures expérimentales. En particulier, le nombre de canaux dépourvus de globules est considérablement plus faible dans la simulation. Par ailleurs, les hématocrites maximaux simulés sont toujours plus faibles que ceux mesurés expérimentalement.

Nous reportons maintenant sur la Figure 6.12 la comparaison entre l'hématocrite mesuré et l'hématocrite prédit par le modèle numérique dans chacune des branches du réseau, pour les trois valeurs d'hématocrite d'entrée considérées (Figures 6.8 à 6.10).

L'écart entre l'expérience et la simulation est d'autant plus important que l'hématocrite dans la branche d'entrée est faible, en témoignent les valeurs prises par e_c, qui varient du simple au double, entre le cas à $\bar{H}_t^e \approx 0.035$ et les deux autres cas, plus concentrés (voir Figure 6.12).

Dans la suite, nous cherchons à améliorer la comparaison entre l'expérience et la simulation numérique. Cela nous permettra de comprendre pourquoi l'écart est d'autant plus important que l'hématocrite est faible.

De la même manière que pour le cas R = 2, nous allons corriger la loi

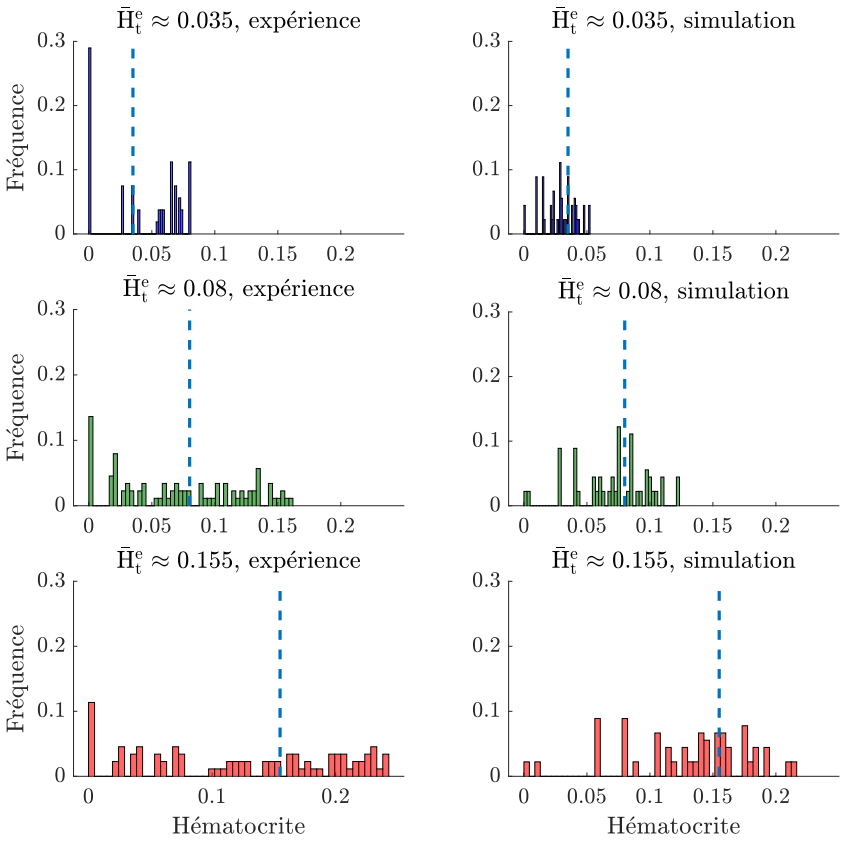

FIGURE 6.11 – Histogrammes de la distribution de l'hématocrite obtenue expérimentalement (colonne de gauche) et numériquement (colonne de droite). La fréquence correspond au pourcentage de canaux étant dans une gamme de valeurs donnée d'hématocrite. Le trait vertical pointillé correspond à la valeur de $\bar{H}_t^e$. Ici, R = 1.

de Pries. Le point particulier qui émerge pour ce cas R = 1 est la forte asymétrie des profils d'hématocrite dans les branches les plus amonts du réseau (Propriété 3). Nous appellerons "effet d'histoire" la conséquence qu'a une telle asymétrie sur la distribution des globules rouges. Aussi, nous dirons que l'effet d'histoire est d'autant plus prononcé que e_c avant correction est important. Ainsi, d'après la Figure 6.12, l'effet d'histoire est d'autant plus marqué que l'hématocrite dans la branche d'entrée est faible. Il est évident qu'après correction, ce paramètre aura une valeur inférieure. Il est important de comprendre que l'effet d'histoire, au sens où nous l'entendons, est, sinon absent des réseaux géométriquement très confinés R = 2, au moins négligeable (dans les deux cas que nous avons étudiés).

Nous décrivons à présent la stratégie que nous avons déployée pour corriger la loi de Pries. Nous avons vu, dans le chapitre dédié à la séparation

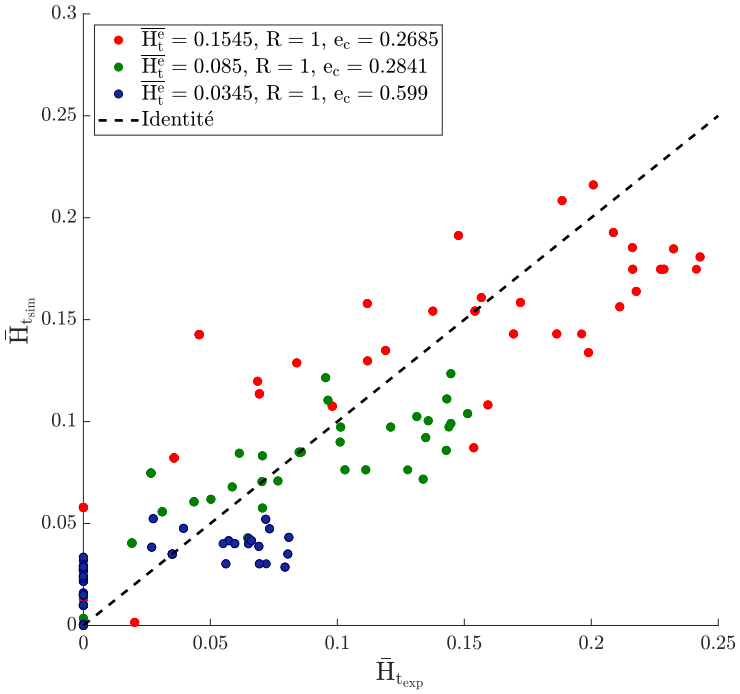

FIGURE 6.12 – Comparaison entre l'hématocrite mesuré expérimentalement et les résultats numériques dans chaque canal. Chaque point est obtenu en moyennant la valeur entre le canal considéré et son symétrique par rapport à l'axe de symétrie longitudinal du réseau. L'écart entre la valeur minimale et la valeur maximale obtenue de part et d'autre de l'axe de symétrie du réseau est au maximum de 3%, quel que soit l'hématocrite d'entrée. Ici, R = 1.

de phase, au travers de l'étude de Sherwood *et al.* (2014a), Section 2.4.2, que l'asymétrie des profils d'hématocrite modifie la proportion de débit de globules rouges de la branche mère que reçoit chaque branche branche fille, FQ^i_{GR}, par rapport à la situation de régime établi. Cette dernière situation est, en général, bien capturée par la loi de Pries, lorsque la première ne l'est en général pas, comme nous l'avons déjà souligné. Nous allons donc nous servir du modèle semi-empirique pour déduire la "nouvelle" distribution des débits dans les branches fille des bifurcations divergentes des réseaux. Un moyen "naïf" de procéder serait, pour chaque cas expérimental, d'appliquer le modèle semi-empirique à chaque bifurcation divergente. Nous pourrions alors, à partir du profil d'hématocrite et de vitesse des globules rouges mesuré en sortie de branche mère, en déduire FQ^i_{GR} à partir de FQ^i_{sang} et ainsi extraire l'hématocrite de tube. Cependant, cette manière de procéder possède deux inconvénients majeurs. Le premier inconvénient est que cela revient à corriger "manuellement" la distribution des FQ^i_{GR}, et traiter chaque expérience "individuellement", et ainsi de ne proposer que des

corrections *ad hoc*. Deuxième inconvénient, nous voyons sur les Figures 6.8 à 6.10 que l'asymétrie des profils d'hématocrite semble être d'autant plus prononcée que la bifurcation est en amont du réseau. Aussi, nous nous attendons à ce que l'effet des corrections sur les bifurcations diminue au fur et à mesure que nous nous intéressons à des bifurcations situées en aval. Cependant, nous savons que les valeurs de e_c sont impactées par les incertitudes de mesure, que nous ne sommes pas en mesure de quantifier rigoureusement. Aussi, en procédant de manière "naïve" il nous serait difficile de discuter de l'influence relative du bruit expérimental et de l'intensité de la correction, sur les bifurcations les moins susceptibles *a priori* d'influencer sur la distribution des globules rouges dans le réseau.

Ainsi, la première étape de la correction consiste à dégager, théoriquement, les bifurcations présentant l'influence la plus importante sur la distribution des globules rouges, *i.e.* de l'hématocrite, dans le réseau. Cette première étape a été mise en œuvre en interaction étroite avec Maxime Berg. Nous décrivons cette méthode dans la première partie de la section suivante.

3.3 Hématocrite : comparaison avec les simulations basée sur une loi de Pries corrigée

Par une analyse de sensibilité effectuée par M. Berg au moyen de la bibliothèque C++ OpenTURNS, nous montrons, ainsi que nous l'intuitions, que les bifurcations situés les plus en amont ont l'influence la plus importante sur la distribution de l'hématocrite dans le réseau.

3.3.1 Analyse de sensibilité

Modifier une loi de séparation de phase revient à modifier la valeur des débits fractionnaires de globules rouges entre les branches filles, pour des débits fractionnaires de sang fixés. Aussi, en pratique, après avoir imposé l'hématocrite en entrée de réseau et la différence de pression totale entre l'entrée et la sortie, nous faisons varier dans la branche fille 1 de chaque bifurcation divergente la valeur de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{GR}}$ entre 0 et 1. Par conservation de la masse, il vient $\mathrm{FQ}^2_{\mathrm{GR}} = 1 - \mathrm{FQ}^1_{\mathrm{GR}}$. C'est pourquoi, nous avons étudié la sensibilité de l'hématocrite dans chacune des branches à une variation de $\mathrm{FQ}^1_{\mathrm{GR}}$ dans l'ensemble des bifurcations du réseau grâce à une analyse de Sobol (Sobol, 1993). L'influence de quelques bifurcations représentatives sur la valeur de l'hématocrite dans l'ensemble des branches est représentée sur la Figure 6.13. Sur cette figure, un indice de Sobol d'une branche associé à une bifurcation vaut zéro si cette bifurcation n'influence pas l'hématocrite de la branche considérée. Plus l'indice croît, plus cette influence augmente. Un indice égal à un signifie que la branche est influencée uniquement par la bifurcation considérée. La somme des indices de Sobol d'une branche

associés a chacune des bifurcations vaut un.

Les panneaux de cette figure montrent, en première approximation, que, plus la bifurcation considérée se situe en amont du réseau, plus elle influence la distribution de l'hématocrite dans l'ensemble du réseau. Ainsi, la bifurcation d'entrée, panneau (a), influence fortement l'ensemble des branches du réseau, avec des valeurs d'indices de Sobol élevées sauf dans la zone centrale. Cependant, il n'est pas pertinent de corriger la loi de Pries dans cette bifurcation pour laquelle le profil d'hématocrite en entrée est toujours symétrique. Hormis cette bifurcation d'entrée, les bifurcations qui influencent le plus les distributions d'hématocrite sont celles présentées dans les panneaux (b) à (e) (et leurs symétriques). Le panneau (f) présente une bifurcation ayant moins d'influence sur la distribution d'hématocrite que celles des panneaux précédents. Dans la suite, la loi de Pries sera donc corrigée uniquement dans les bifurcations (b) à (e) et leur symétriques.

La section suivante est consacrée à l'établissement de ces corrections.

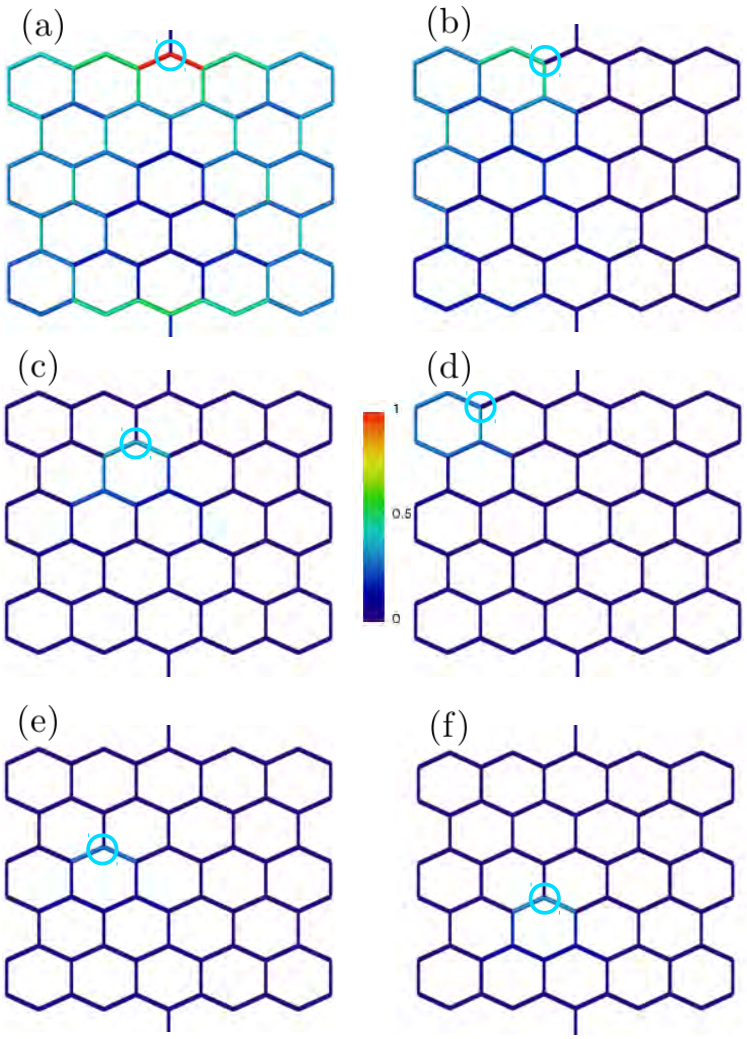

FIGURE 6.13 – Résultat de l'analyse de sensibilité pour plusieurs bifurcations, repérées par un cercle bleu. (a) : résultat de l'analyse de sensibilité portant sur la bifurcation d'entrée du réseau, (b)-(e) : résultat de l'analyse de sensibilité portant sur les bifurcations les plus influentes du réseau, (f) : résultat de l'analyse de sensibilité portant sur une bifurcation à influence "négligeable". L'échelle de couleur représente les valeurs prises par les indices de Sobol globaux des canaux, pour chaque bifurcation considérée.

3.3.2 Méthode de correction de la loi de Pries

Considérons une bifurcation divergente représentée dans un des panneaux (b) à (e) (voir Figure 6.13). Les étapes menant à la correction de la loi de Pries reposent sur le modèle semi-empirique de séparation de phase, modèle exposé au chapitre précédent (Section 2). Nous extrayons tout d'abord

la forme du profil d'hématocrite en sortie du canal mère de la bifurcation considérée (Figure 6.14, gauche). Parce que nous ne sommes pas en mesure de déterminer la forme de ce profil dans toute la section, nous déduisons une courbe de séparation de phase en supposant un écoulement bi-dimensionnel, ainsi que nous l'avons fait pour les études de Shen *et al.* (2016) et Sherwood *et al.* (2014a) (voir Section 2.4 du chapitre dédié à la séparation de phase). Pour simplifier, le profil de vitesse des globules rouges est supposé plat, car sa forme exacte n'a pas beaucoup d'influence sur la séparation de phase, pour ce confinement. A partir de ces ingrédients, nous déterminons une courbe de séparation de phase grâce au modèle semi-empirique (voir symboles de la Figure 6.14, droite). Parce qu'il est plus aisé d'exprimer l'intensité de la séparation de phase au moyen de l'expression proposée par Pries *et al.* (1989), nous déterminons la valeur des coefficients A, B et X_0 en ajustant, au sens des moindres carrées, la forme de la loi de Pries à la courbe de séparation de phase issue du modèle semi-empirique (voir traits continus de la Figure 6.14, droite). Il est important de comprendre que la forme de la loi de Pries n'est donc utilisée que comme un moyen de paramétriser les résultats du modèle semi-empirique, car plus commode à insérer dans le code numérique existant. Nous reportons en Annexe D les valeurs prises par ces trois coefficients en fonction de l'hématocrite de tube de quelques bifurcations divergentes.

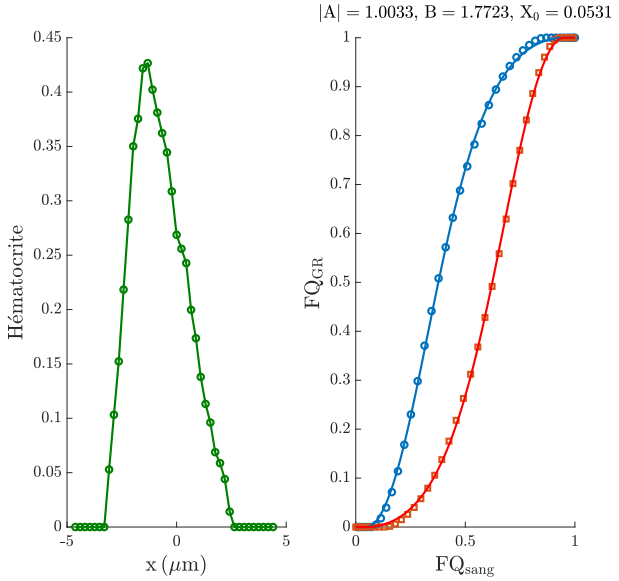

FIGURE 6.14 – A gauche : profil d'hématocrite en sortie de canal mère d'une bifurcation. A droite : les cercles et les carrés correspondent à la courbe de séparation de phase prédite par le modèle semi-empirique et déterminée à partir du profil de gauche. Les courbes en trait continus représentent l'ajustement de la loi de Pries aux points de séparation de phase. Les valeurs des trois coefficients sont reportées sur la figure.

Rappelons que la taille de la couche d'exclusion plasmatique régit, au sens du modèle semi-empirique, la valeur de X_0. Aussi, idéalement, du fait de l'asymétrie de la taille de cette couche d'exclusion plasmatique de part et d'autre du profil, il faudrait, comme suggéré par Carr *et* Wickham (1990), que la valeur du paramètre X_0, prenne en compte cette asymétrie et ne dépende pas seulement du diamètre de la branche mère et de son hématocrite, ainsi que le prédit la loi de Pries. Nous devrions donc définir deux valeurs de X_0, une pour chaque valeur de δ, ce qui nous donnerait une description de la séparation de phase à quatre paramètres. Toutefois, nous ne considérerons pas cette asymétrie, car la paramétrisation de la sigmoïde au moyen de seulement trois paramètres suffit à convenablement décrire nos courbes de séparation de phase, comme nous le voyons sur la Figure 6.14.

3.3.3 Influence de la correction sur les résultats numériques

Nous appliquons cette méthode aux bifurcations influençant le plus de branches situées en aval. Nous illustrons sur la Figure 6.15 la manière dont les corrections successives modifient la comparaison entre la simulation et les résultats expérimentaux, pour le cas $\bar{H}_t^e \approx 0.08$.

Conformément aux résultats de l'analyse de sensibilité, nous voyons que la diminution de e_c la plus importante se fait pour la bifurcation (et son symétrique) présentée sur le panneau (b) de la Figure 6.13. Cela est probablement du au fait qu'un globule situé dans le réseau est nécessairement passé par l'une ou l'autre branche fille de ces bifurcations.
Enfin, notons que, expérimentalement, pour le cas le plus dilué, *i.e.* $\bar{H}_t^e \approx 0.03$, la bifurcation du panneau (d) de la Figure 6.13 est dépourvue de globules rouges. Aussi, pour ce cas, et uniquement pour ce cas, la correction s'applique aux bifurcations repérées sur les panneaux (b), (c) et (e).

Après correction, et quel que soit l'hématocrite en entrée de réseau, e_c sature à des valeurs comprises entre 0.15 et ~ 0.2 (ces valeurs sont du même ordre de grandeur que celles que nous obtenons dans le cas $R = 2$, voir Figure 6.5). Nous discutons ci-dessous des origines potentielles de cette saturation. Premièrement, la correction de la prédiction de la loi de Pries que nous proposons repose uniquement sur le modèle semi-empirique. Or, comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, la nature discrète des globules rouges influe sur la séparation de phase. Notre correction du modèle ne prend pas en compte ce phénomène, ce qui pourrait expliquer en partie au moins, la saturation de e_c. Deuxièmement, comme nous l'avons vu, dans le chapitre Matériels et Méthodes (Section 5.2), la méthode de comptage des globules rouges, appliquée dans le cas $R = 2$, fournit des incertitudes sur la mesure de l'hématocrite de tube de l'ordre de $\pm 7\%$. De même pour le cas $R = 1$, une incertitude liée à notre méthode de mesure existe, mais il est difficile de la quantifier. Aussi, du fait de l'existence même de ces incertitudes expérimentales, nous savons que la valeur de e_c

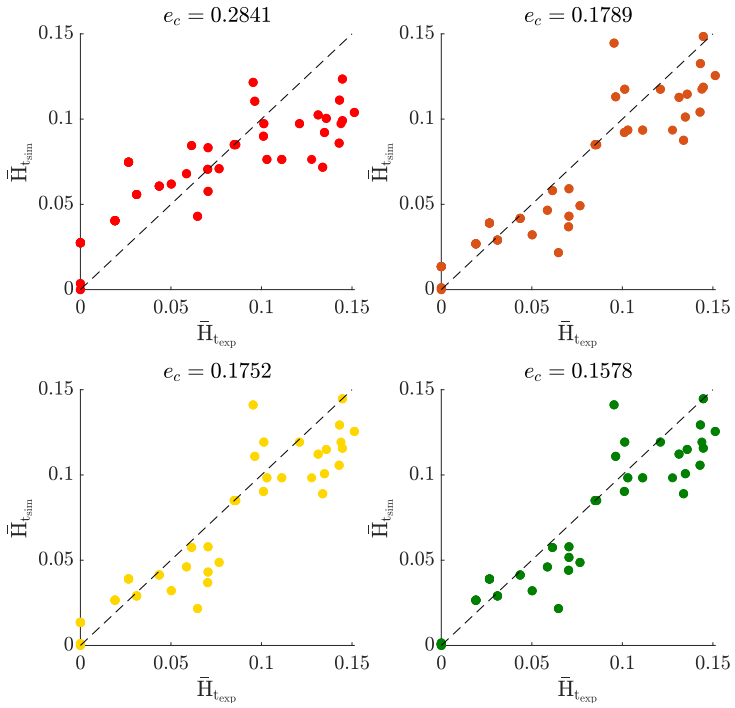

FIGURE 6.15 – Comparaison de l'hématocrite branche à branche entre le modèle et l'expérience pour le cas expérimental $\bar{H}_t^e = 0.08$, après corrections successives appliquées aux bifurcations présentées sur les panneaux (b), (c) et (d) de la Figure 6.13. Cadran supérieur gauche : pas de correction ($e_c = 0.2841$) ; cadran supérieur droit : bifurcations (b) ($e_c = 0.1789$) ; cadran inférieur gauche : bifurcations (b) et (c) ($e_c = 0.1752$) ; cadran inférieur droit : (b), (c) et (d) ($e_c = 0.1578$).

ne pourra pas tendre vers 0.

Sur la Figure 6.17, nous montrons les résultats obtenus dans les 3 cas considérés, après que la procédure de correction détaillée ci-dessus a été appliquée aux bifurcations des panneaux (b) à (e) de la Figure 6.13. La dispersion des données autour de la droite identité est bien moindre par rapport au cas sans correction (voir Figure 6.12), ce qui se traduit par des valeurs de e_c divisées typiquement par un facteur ~ 2 (comme nous l'avons présenté sur la Figure 6.16).

Enfin, nous présentons également sur la Figure 6.18 une comparaison des résultats numériques avant et après corrections de l'effet d'histoire, pour le cas $\bar{H}_t^e \approx 0.03$ (correction appliquée aux bifurcations des panneaux (b), (c) et (e) de la Figure 6.13), qui montrent comment le "motif" de perfusion observé expérimentalement (Figure 6.8), avec des hématocrites quasiment nuls dans les parties latérales du réseau, est bien retrouvé après corrections.

En plus des cas que nous avons traités jusqu'à présent, nous reportons une situation pour laquelle nous ne sommes pas en mesure de donner la

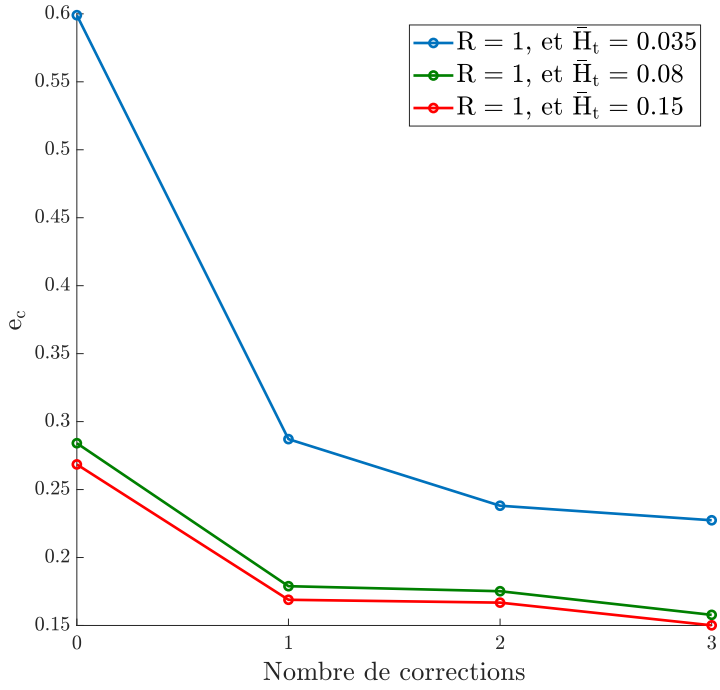

FIGURE 6.16 – Évolution de e_c en fonction du nombre de corrections appliquées. Dans les trois cas étudiés, nous voyons que la bifurcation influençant le plus la valeur de e_c est celle située le plus en amont dans le réseau (voir panneau (b), Figure 6.13). Les suivantes n'ont qu'une moindre influence.

valeur exacte de l'hématocrite. Pour ce dernier cas, nous avons obtenu une forte concentration dans le canal d'entrée grâce à une fuite au niveau du canal d'alimentation qui a laissé s'épancher la solution isodense entre le PDMS et la lame de verre, sans les que les globules rouges ne puissent s'immiscer. La conséquence de cette fuite, non désirée *a priori* et qu'il ne nous a pas été possible de reproduire par la suite, est l'obtention d'une concentration en globules rouges jamais atteinte dans nos dispositifs microfluidiques. Ce cas particulier montre que l'effet d'histoire disparaît lorsque l'hématocrite est suffisamment fort, les globules rouges se comportant alors presque comme des traceurs passifs dont la taille caractéristique serait très petite devant celle du canal (voir Figure 6.19, gauche).

Une mesure de la densité optique *via* la méthode optique donne une valeur moyenne dans la largeur du canal de ≈ 0.25. Notre courbe de calibration OD vs $\bar{H}_t$ pour les lames Leja 10 microns montre que nos points de mesure de densité optique saturent à des valeurs de l'ordre de $\approx 0.2 - 0.25$, à partir de $\bar{H}_t \approx 0.5$. Au-delà d'un hématocrite de tube d'environ 0.6, les points expérimentaux dévient sensiblement de la droite $\mathrm{OD} = \frac{1}{2}\bar{H}_t$. Ainsi, nous supposons que l'hématocrite dans le canal d'entrée vaut au

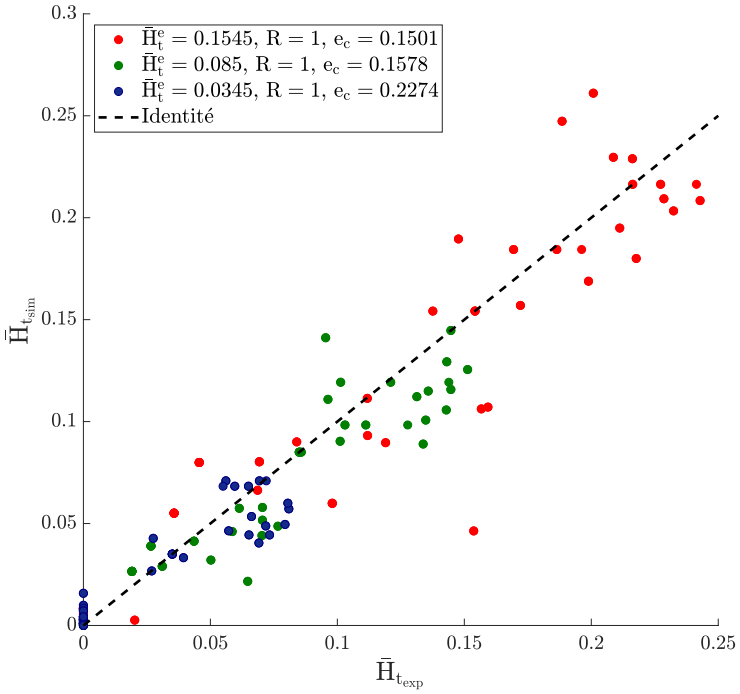

FIGURE 6.17 – Comparaison de l'hématocrite branche à branche après correction de la loi de Pries aux bifurcations des panneaux (b) à (e), voir Figure 6.12 pour l'état avant correction.

moins 0.6, puisque nous sommes à la limite de sensibilité de la densité optique à l'hématocrite. Sur la Figure 6.19 (droite) nous représentons trois histogrammes. Deux de ces histogrammes ont été obtenus par le modèle numérique, et le dernier (jaune, obtenu expérimentalement) est la distribution de densité optique dans chaque canal, normalisée par la valeur mesurée dans le canal d'entrée. Puisque nous ne sommes pas en mesure de déterminer précisément la valeur de $\bar{H}^e_t$, nous avons imposé, dans les simulations $\bar{H}^e_t \approx 0.6$. L'histogramme rouge représente la distribution de l'hématocrite de tube (normalisé par $\bar{H}^e_t$) prédite par le modèle numérique utilisant la loi de Pries non corrigée. Ce modèle prédit des valeurs beaucoup plus faibles que celles que nous avons mesurées (histogramme jaune). L'histogramme bleu a été obtenu avec le modèle numérique utilisant une version corrigée de la loi de Pries. La correction suppose un profil d'hématocrite plat, sans couche d'exclusion plasmatique. Déterminés au moyen du modèle semi-empirique, sous les hypothèses énoncées, les coefficients A, B et X_0 prennent les valeurs 0, 0.95 et 0, respectivement. Cette valeur de B légèrement inférieure à 1 est due à la courbure du profil de vitesse du fluide suspendant. Nous affectons ces valeurs quel que soit l'hématocrite. Au vu des résultats que nous présentons sur la Figure 6.19 (droite), la correction

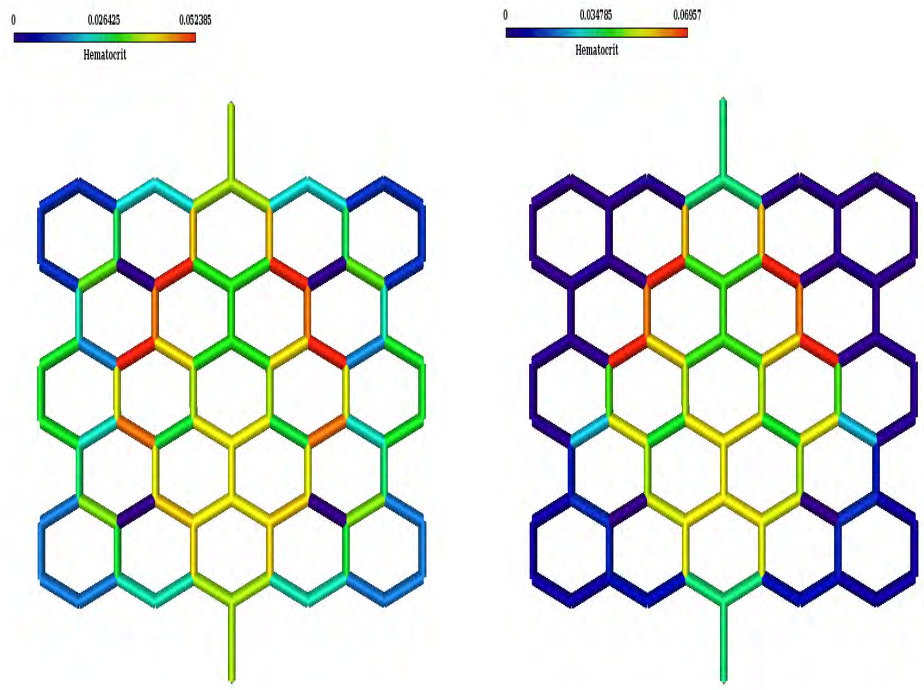

FIGURE 6.18 – Résultat de la simulation numérique avant correction (à gauche) et après correction aux six bifurcations (panneaux (b), (c) et (e) de la Figure 6.13). Ce résultat est à comparer avec le résultat expérimental de la Figure 6.8.

de la loi de Pries (histogramme bleu) permet une meilleure description de nos résultats expérimentaux que ne le fait la loi de Pries brute (histogramme rouge). En dépit de la faible intensité de la séparation de phase associée au modèle semi-empirique, l'histogramme bleu montre l'émergence d'une distribution autour de la valeur d'entrée, qui est du même ordre que la distribution issue des mesures expérimentales (histogramme jaune).

Cette situation à fort confinement collectif auquel nous nous intéressons est à rapprocher des deux cas à très fort confinement géométrique que nous avons étudié en Section 2 de ce chapitre. L'ensemble de ces cas représentent des situations à fort confinement effectif. Pour tous ces cas, affecter une valeur unique aux coefficients A, B et X_0, toutes issues du modèle semi-empirique, permet une meilleure comparaison entre l'expérience et le modèle numérique. Ce résultat montre que lorsque le confinement effectif est suffisamment fort, l'effet d'histoire s'atténue. Or, nous avons montré que l'effet d'histoire est lié à l'asymétrie des profils d'hématocrite dans certaines branches. Nous pouvons donc supposer que, à partir d'un certain confinement effectif, ou bien il n'est pas possible de générer de profil d'hématocrite asymétriques dans les branches filles, ou bien, cela signifie que la relaxation

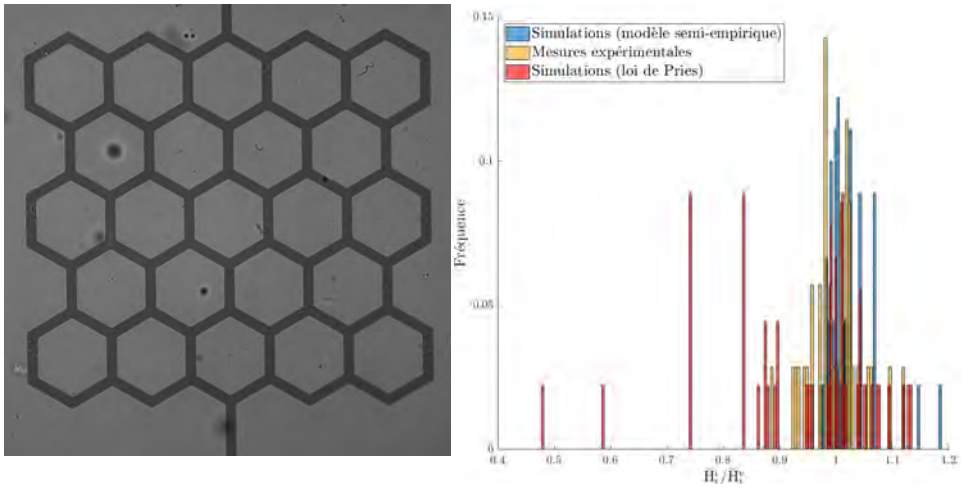

FIGURE 6.19 – A gauche : image moyennée temporellement pour $\bar{H}_t^e$ vraisemblablement supérieur à 0.6, R = 1. L'écoulement principal se fait de haut en bas. A droite : histogrammes de l'hématocrite de tube de chaque canal normalisé par celui mesuré en entrée.

des profils d'hématocrite est d'autant plus rapide que le confinement effectif est fort.

Nous nous intéressons ci-après à la dynamique de relaxation des profils d'hématocrite, puisque cette dernière détermine l'asymétrie du profil d'hématocrite en sortie du canal. Dans la suite, nous fournissons des résultats expérimentaux préliminaires, relatifs à la relaxation de profils d'hématocrite pour des confinements géométriques supérieurs à 0.5. A notre connaissance, aucune étude de ce type n'a encore été publiée dans la littérature.

4. Dynamique de la relaxation des profils d'hématocrite suite à une bifurcation divergente

Bien que n'ayant pas été conçus pour une telle étude, nos dispositifs microfluidiques (bifurcations et réseaux) nous permettent d'extraire quelques résultats préliminaires liés à la dynamique de relaxation des profils d'hématocrite dans une des branches filles d'une bifurcation divergente. La limitation vient de la présence des bandes de diffraction aux parois. Pour renforcer cette étude, il faudrait, en premier lieu, sinon faire disparaître ces bandes, au moins atténuer leur effet pour tout cas expérimental étudié. Dans cette étude, nous nous sommes principalement concentrés sur le confinement géométrique R = 1. Seul un cas à R = 0.5 est présenté. Nous n'avons pas considéré le cas R = 2, puisque les asymétries sont négligeables.

Dans tous les cas que nous présentons, l'écoulement est en régime établi

dans la branche mère de la bifurcation. Les bifurcations sont symétriques. Les débits fractionnaires de sang et de globules rouges sont proches de 0.5. Les globules rouges, lorsqu'ils rentrent dans la bifurcation, ont tendance à s'écraser à l'apex (voir Figure 6.20), puis sont advectés dans la branche fille en relaxant progressivement vers le centre du canal. L'accumulation de globules rouges à l'apex de bifurcations microvasculaires a déjà été observée dans l'étude numérique proposée par Balogh *et* Bagchi (2017).

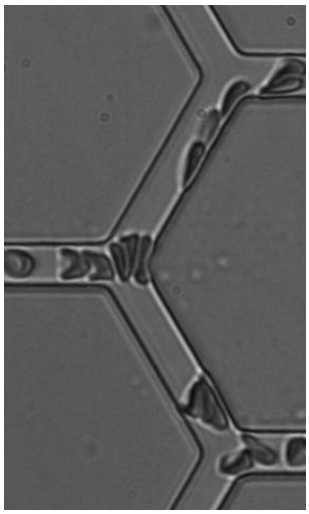

FIGURE 6.20 – Empilement de globules à l'apex de la bifurcation. D'une manière générale, celui-ci se disloque pour arriver à une distribution des globules rouges similaires à la branche fille du haut. L'écoulement se fait de gauche à droite.

Par conséquent, les profils d'hématocrite sont dysimétrisés en entrée de la branche fille, avec un maximum d'intensité dans la partie correspondante du canal. Leur forme varie ensuite dans la longueur du canal (voir Figure 6.6(a) et Figure 6.21). Le cas de la Figure 6.21 représente un cas plus dilué ($H_t^e \approx 0.03$) que celui de la Figure 6.6(a) (pour lequel $H_t^e \approx 0.08$). Ce nouveau profil a été obtenu dans un réseau à maille hexagonale, dont les branches font 250 μm de long. Étant donnée la forme de la maille élémentaire, nous appelons ce type de bifurcation "Y".

Nous quantifions cette évolution au moyen de deux paramètres que nous appelons $P_A(z)$ et $P_F(z)$. Le premier est un paramètre dit d'asymétrie et se définit comme :

$$P_A(z) = \frac{\min(\int_{-\frac{W}{2}}^{0} H_t(x,z)\,dx, \int_{0}^{\frac{W}{2}} H_t(x,z)\,dx)}{\max(\int_{-\frac{W}{2}}^{0} H_t(x,z)\,dx, \int_{0}^{\frac{W}{2}} H_t(x,z)\,dx)} \tag{6.4}$$

Pour un profil symétrique par rapport à (Oz), $P_A(z)$ vaut 1. A l'inverse, pour un profil compartimenté dans l'une ou l'autre moitié du canal, $P_A(z)$ vaut 0.

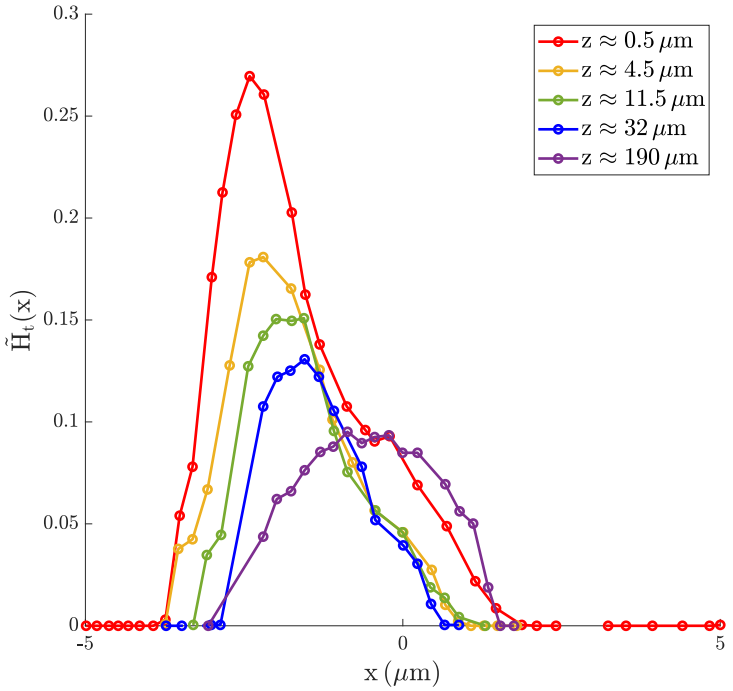

FIGURE 6.21 – Forme du profil d'hématocrite pour différentes positions dans le canal fille. Géométrie : Y, $\bar{H}_t^e \approx 0.03$. Notons que la forme des profils est similaire à celles que nous présentons sur la Figure 6.6(a). Ces mesures ont été faites dans un réseau, non utilisé par ailleurs, pour lequel les branches font 250 μm et R = 1.

Ce paramètre seul ne suffit pas à quantifier la relaxation du profil d'hématocrite vers un profil totalement convergé. Il s'agit du rôle tenu par le deuxième paramètre, $P_F(z)$, que nous définissons comme l'écart quadratique moyen, normalisé par $\bar{H}_t^e$. Il s'agit d'un écart entre le profil d'hématocrite situé à la distance z de l'entrée du canal fille considéré, $H_t(x_k, z)$, et l'expression semi-empirique du profil en régime établi, $\tilde{H}_t(x_k)$:

$$P_F(z) = \frac{1}{\bar{H}_t^e}\sqrt{\frac{1}{n}\sum_{k=1}^{n}(H_t(x_k,z) - \tilde{H}_t(x_k))^2} \tag{6.5}$$

Pour z suffisamment grand, en principe, $P_F(z)$ devrait tendre vers 0. Nous représentons sur la Figure 6.22 l'évolution de ces deux paramètres pour diverses conditions expérimentales.

Quelles que soient les conditions expérimentales, nous observons globalement que $P_F(z)$ décroit avec z : plus l'on s'éloigne de l'entrée, plus le profil d'hématocrite se rapproche, quantitativement, de sa forme convergée. Notons toutefois que cette relaxation est très lente : au bout de 200μm, la forme convergée n'est toujours pas atteinte. Ensuite, bien que $P_F(z)$ soit globalement décroissant, l'évolution de $P_A(z)$ n'est pas monotone. Dans tous les

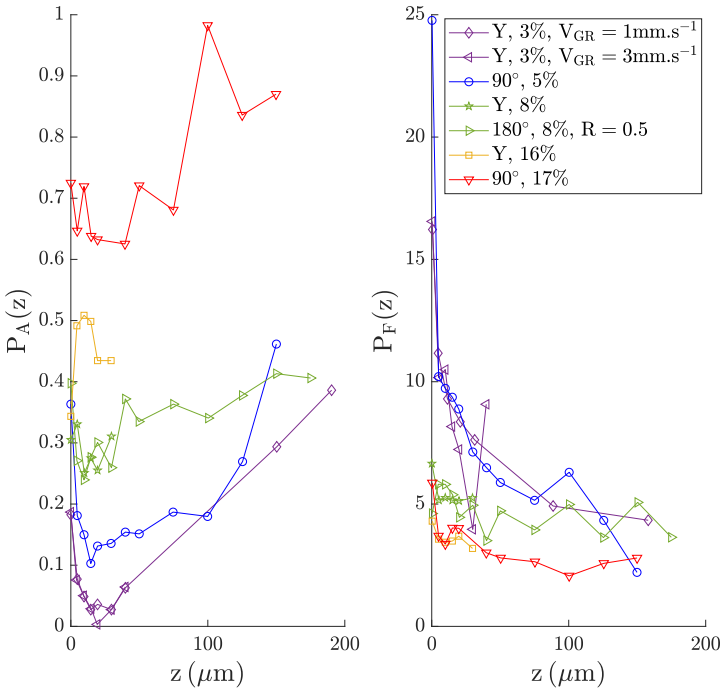

FIGURE 6.22 – Évolution des paramètres P_A et P_F le long de (Oz). Les couleurs varient du violet au rouge et sont associées à l'hématocrite de tube. (violet : $\bar{H}_t \approx 0.03$, rouge : $\bar{H}_t \approx 0.17$). Les vitesses des globules rouges, sont comprises entre 1 et $5\,\mathrm{mm.s^{-1}}$.

cas, sauf le cas $10-10-10-Y$ à $\bar{H}_t^e \approx 16\%$ (courbe jaune), $P_A(z)$ décroît avant d'entamer une croissance, cette fois-ci quasiment monotone. Nous attribuons cette décroissance à la formation puis la dislocation de l'empilement de globules rouges formé à l'apex, illustré sur la Figure 6.20. Cette succession d'étapes conduit à la brisure de symétrie du profil d'hématocrite de la branche d'entrée.

Ensuite, pour toutes les conditions expérimentales, pour une distance z de l'entrée fixée, nous observons là encore presque systématiquement, que plus l'hématocrite est faible, plus $P_A(z)$ est petit et $P_F(z)$ est grand. Cela veut dire que, plus l'hématocrite mesuré en sortie de canal est faible, plus sa forme est éloignée, au sens de $P_F(z)$, de celle du profil en régime établi. En effet à faible hématocrite, le profil est plus asymétrique qu'à hématocrite plus fort, et ce, indépendamment de la vitesse ou de l'angle de la bifurcation. Notons que l'angle semble jouer un rôle dans l'évolution du paramètre d'asymétrie. En effet, les valeurs de $P_A(z)$ sont significativement plus élevée pour la bifurcation $10-10-10-90$ que pour la bifurcation $10-10-10-Y$, alors que les hématocrites mesurés sont très proches (courbe jaune *vs* courbe

rouge). Enfin, notons que la vitesse, dans la gamme considérée, de l'ordre de quelques millimètres par seconde, ne semble pas influencer les paramètres $P_A(z)$ et $P_F(z)$ (courbes violettes).

5. Conclusion : importance de l'effet d'histoire...

Consacré à la compréhension de la perfusion de réseaux modèles, ce chapitre se place dans la continuité du chapitre précédent dédié à la séparation de phase. Une des problématiques abordée dans ces deux chapitres porte sur la question de pouvoir prédire de façon adéquate l'intensité de l'effet de séparation de phase, afin de capturer la distribution des globules rouges dans les branches d'une géométrie donnée. Nous avons vu dans ce chapitre que, au sortir de la branche d'entrée du réseau, les globules rouges percutent l'apex de la bifurcation et parfois s'y accumulent, générant une asymétrie. De la propagation de cette asymétrie découle un "effet d'histoire", déjà mis en évidence numériquement par Shen (2016).

Ci-dessous, nous nous intéressons à l'importance de cet effet d'abord *in vitro*, en résumant l'ensemble de nos résultats, puis *in vivo*.

5.1 *...in vitro*

Nos travaux, dans la continuité de ceux, expérimentaux, de Sherwood *et al.* (2014a) montrent que, lorsque les branches des réseaux ne sont pas assez longues, les profils d'hématocrite n'ont pas le temps de relaxer vers la forme d'équilibre, ce qui a une incidence sur la distribution des globules rouges dans les géométries ainsi formées de telles branches. Comme les résultats numériques de Shen (2016) le montrent, nos résultats expérimentaux confirment que les globules rouges alimentent préférentiellement le cœur du réseau au détriment des bords.

Nous avons quantifié cet effet d'histoire par rapport à une configuration où les profils d'hématocrite auraient tous convergés vers leur forme en régime établi, configuration représentée par le modèle numérique employant la prédiction de la loi de Pries. Nous avons montré que l'écart à cette configuration est d'autant plus important que le confinement effectif est faible. Pour compléter cette étude, nous nous sommes intéressés à la dynamique de la relaxation des profils d'hématocrite. Nos résultats, pour $R = 1$, suggèrent qu'il s'agit d'un processus d'autant plus lent que le confinement collectif est faible. Cette tendance est cohérente avec la diminution de l'effet d'histoire avec l'augmentation de l'hématocrite. Des expériences supplémentaires sont nécessaires pour le confinement plus faible, $R = 0.5$. Pour $R = 2$, parce que l'asymétrie est négligeable, nous n'avons pas d'effet d'histoire.

En revanche, pour le cas à très fort confinement géométrique, comme celui à très fort confinement collectif, la loi de Pries surestime l'intensité de

la séparation de phase. Aussi, une correction à cette loi, pour ces deux cas, est, là encore, nécessaire.

5.2 ...*in vivo*

L'étude que nous avons réalisée *in vitro* a permis de dégager quelques ingrédients physiques qui régissent la distribution des globules rouges dans un réseau donné. Dans une perspective de compréhension de l'hémodynamique microvasculaire dans des réseaux anatomiques complexes et en condition *in vivo*, par exemple les réseaux cérébraux étudiés dans le projet *BrainMicroFlow*, nous souhaitons maintenant discuter de la possible généralisation de nos résultats. Une telle généralisation nécessite de prendre en compte les composantes que nous avons négligées, dans notre étude *in vitro*, et de discuter de leur potentielle influence sur l'effet d'histoire. Les deux principales sont l'agrégation érythrocytaire et la présence du glycocalyx aux parois.

Nous considérons d'abord l'agrégation. Présente dans les plus grosses artérioles et jusqu'aux vaisseaux pré-capillaires au moins, celle-ci, en agrégeant les globules, tend à former des corpuscules plus gros que la cellule unique. Cela revient à augmenter le confinement géométrique. Or, nous avons vu que, à confinement collectif fixé, plus le confinement géométrique est important, moins l'effet d'histoire est prononcé. Aussi, *a priori*, l'agrégation serait un phénomène qui tendrait, sinon à diminuer l'intensité de l'effet d'histoire, à ne pas l'augmenter. En général, le confinement collectif *in vivo* est plus important que celui que nous avons étudié dans nos puces microfluidiques.

Le glycocalyx qui tapisse la surface endothéliale peut être vu comme un milieu poreux excluant les globules (Secomb *et al.*, 1998). Or, cette couche de polymère s'étend sur 400 à 500 nm dans le vaisseau (Secomb *et al.*, 1998 ; Cabrales *et al.*, 2007). Intact, le glycocalyx contribue à réduire le diamètre interne des vaisseaux sanguins, et ainsi à augmenter le confinement géométrique. Ainsi, tout ceci contribue vraisemblablement, à diminuer l'effet d'histoire.

Afin de confirmer notre propos, il serait intéressant de disposer d'études systématiques *in vivo* relatives à l'asymétrie et la relaxation des profils d'hématocrite, dans l'esprit de celles amorcées par Pries *et al.* (1989), Ng *et al.* (2014) et Santisakultarm *et al.* (2012). De telles études n'ont, à notre connaissance pas encore été effectuées, en dépit de techniques de mesure existantes, telles la microscopie bi-photonique, ayant le potentiel de les réaliser.

Il n'est toutefois pas exclu que, dans des cas pathologiques, l'effet d'histoire soit non négligeable *in vivo*. Nous nous intéressons ci-dessous à une étude conduite chez le hamster syrien doré dans laquelle le glycocalyx a été dégradé.

Dans cette étude, au moyen d'une *dorsal window chamber* Cabrales *et*

al. (2007) montrent que, suite à une dégradation du glycocalyx par hyaluronidase, le nombre de capillaires perfusés par des globules rouges diminue de 35%. En retour, les capillaires perfusés par des globules rouges ont un hématocrite 1.16 à 1.27 fois plus important que lorsque le glycocalyx est intact. Ce changement de distribution de l'hématocrite ne s'accompagne d'aucune autre modification de paramètres hémodynamiques : par rapport au cas de contrôle, la vitesse des globules rouges, les débits de sang et de globules rouges dans l'artériole nourricière et la veinule de drainage sont inchangés. De même, les diamètres des vaisseaux, en particulier ceux des capillaires est inchangé ($5.1 \pm 0.5\mu$m après hyaluronidase contre $4.9 \pm 0.4\mu$m avant). Parce que la vitesse des globules rouges est inchangée par rapport au cas de contrôle, une adhésion des globules blancs à la paroi de certains vaisseaux est exclue par les auteurs. Ces derniers n'avancent pas clairement d'explication quant à ces résultats, mais proposent que ces modifications de la perfusion des réseaux microvasculaires sont d'origine hydrodynamique sans apporter plus de détails. Nous proposons une explication basée sur l'étude que nous avons conduite.

Le diamètre des globules rouges du hamster doré est d'environ $5\,\mu$m. Aussi, suite à une dégradation du glycocalyx, le confinement géométrique passe de 1.25 à 1. Or, nous avons montré que réduire le confinement géométrique peut générer des profils d'hématocrite asymétriques, qui, en retour, augmentent le nombre de vaisseaux perfusés uniquement par du plasma et accroissent la concentration en globules rouges de ceux qui en contiennent. Ainsi, l'effet d'histoire pourrait influencer la perfusion des réseaux microvasculaires des individus dont le glycocalyx est dégradé, ce qui est le cas chez des personnes diabétiques par exemple (Zuurbier *et al.*, 2005). Cette hypothèse nécessiterait d'être validée ou infirmée par plus de données expérimentales sur l'influence du glycocalyx sur la distribution des globules rouges dans un réseau modèle.

Chapitre 7

Conclusion

La nature diphasique du sang et les propriétés mécaniques du constituant quasi exclusif de la phase solide que sont les globules rouges sont à l'origine d'une rhéologie atypique, riche de phénomènes complexes. Parmi ces phénomènes, la séparation de phase a intrigué plusieurs générations de chercheurs et, à l'heure actuelle, est toujours mal comprise. Ainsi, le but de nos travaux a été de comprendre comment les globules rouges se distribuent dans des géométries modèles de complexité croissante. Nous avons considéré d'abord le canal droit, unique, puis la bifurcation et enfin le réseau 2D modèle. Ces différentes géométries nous ont permis d'étudier la structuration de l'écoulement à différentes échelles, et l'impact d'une échelle donnée sur l'échelle supérieure. En d'autres termes, notre objectif premier a donc été de comprendre comment, en régime établi, se structure un écoulement sanguin dans un canal simple (*i.e.* déterminer la forme des profils d'hématocrite et de vitesse des globules rouges) et comment, ensuite, cette organisation influe sur la structuration à l'échelle de la bifurcation (*i.e.* la distribution des globules rouges dans les branches filles de la bifurcation), et enfin, quelles conséquences peut avoir ce phénomène sur la structuration à l'échelle du réseau entier (*i.e.* la distribution des globules rouges dans le réseau). Une problématique associée à l'étude que nous avons conduite est la suivante : est-il possible, à partir de la géométrie du réseau, d'y prédire la distribution de l'hématocrite en connaissant seulement les profils de vitesses et d'hématocrite dans la branche d'entrée, dans laquelle on suppose le régime établi, ainsi que l'hydrodynamique à l'échelle du réseau ?

L'originalité de nos travaux expérimentaux a été de nous intéresser à des régimes de confinements géométriques ($R = 0.5$, $R = 1$ et $R = 2$) encore peu, voire pas du tout, étudiés aussi bien expérimentalement que théoriquement. De plus, nous présentons des résultats quantitatifs relatifs à la distribution des globules rouges dans des réseaux 2D. A notre connaissance, aucuns résultats de cette nature n'ont encore été publiés, et en particulier

pour des confinements géométriques aussi importants. Aussi l'interprétation que nous faisons de nos résultats devra-t-elle être complétée par d'autres travaux, aussi bien expérimentaux que théoriques.

Avant de revenir sur ces résultats, nous rappelons ci-dessous les principales contributions méthodologiques de notre travail.

Contributions méthodologiques. Nous avons utilisé un dispositif expérimental conçu lors d'un précédent travail de thèse, effectué par Sophie Roman. Ce dispositif est approprié pour une étude fine des écoulements de suspensions de globules rouges dans des canaux uniques et bifurcations. Nous avons modifié les puces microfluidiques jusqu'alors employées, qui consistaient en deux épaisseurs de polydiméthylsiloxane (PDMS), en remplaçant l'une de ces deux couches par une lamelle de verre. Cela nous a permis d'obtenir une nette amélioration de la qualité des images acquises, et a rendu possible l'extraction de profils de densité optique mieux résolus, en particulier au niveau de la paroi des canaux. Pour convertir ces profils de densité optique en profils d'hématocrite, nous avons proposé une calibration de la densité optique en fonction de l'hématocrite. Cette calibration est une étape critique, puisque toutes les interprétations des mesures réalisées dans nos différentes géométries reposent sur cette calibration. Cette dernière a été réalisée dans des dispositifs commerciaux conçus pour le comptage de spermatozoïdes, contenant un ensemble de cellules de Hele-Shaw d'épaisseur précisément contrôlée (lames Leja). Elle nous a permis de déterminer les relations qui lient les deux quantités, sur une large gamme d'hématocrite et pour les régimes de confinement géométrique tels que $R \leqslant 1$. Nous avons comparé ces résultats à la calibration précédemment effectuée par S. Roman, directement dans des canaux microfluidiques $R = 0.5$, avec le même dispositif optique, mais alors restreinte à un régime plus dilué. Le bon accord nous a permis de valider, dans un premier temps, cette méthode de calibration.

L'étape suivante a consisté en la conception et la micro-fabrication de nouvelles puces microfluidiques. Nous avons modifié la géométrie des canaux d'injection afin d'obtenir des écoulements stables sur l'ensemble de la durée d'acquisition de l'ensemble des données, et ce, pour une large gamme d'hématocrites, pour les deux confinements géométriques les plus faibles. Grâce à ces modifications, nous avons pu acquérir des séquences d'écoulements de suspension de globules rouges en canaux droits.

Structuration de l'écoulement dans des canaux droits. Tout d'abord, nous avons pu progresser dans l'analyse de la structuration de l'écoulement dans des canaux droits en régime établi. Nous avons notamment pu extraire des profils d'hématocrite pour les deux confinements les plus faibles ($R = 0.5$ et $R = 1$) dans une large gamme de concentration. A partir de ces profils nous avons proposé une paramétrisation semi-empirique qui permet de les décrire de manière satisfaisante. Notons qu'il s'agit d'une

deuxième façon de valider la calibration de la densité optique en fonction de l'hématocrite, puisque cette description repose sur la mesure de l'hématocrite de tube. Cette paramétrisation inclut une dépendance à la largeur de la section droite (W), à l'hématocrite de tube moyen ($\bar{H}_t$) et à la largeur de la couche d'exclusion plasmatique (δ). Nous avons de même proposé une relation empirique décrivant l'évolution de δ en fonction de $\bar{H}_t$. En particulier, nos résultats montrent que δ décroît avec $\bar{H}_t$, et que cette décroissance est d'autant plus rapide que le confinement géométrique est faible.

Lorsque $\bar{H}_t$ devient si élevé que δ est nul, pour le confinement le plus faible, nous avons montré l'existence d'un "hématocrite de paroi" (H_0), non nul, dont nous avons aussi proposé une relation empirique en fonction de $\bar{H}_t$. Un facteur limitant la paramétrisation des profils sur l'ensemble de la gamme de valeurs possibles d'hématocrite, pour $R = 1$, est la présence sur la paroi des canaux de bandes de surbrillance dues à la diffraction de la lumière en cet endroit. Nous reviendrons sur ce point dans les perspectives. *In fine* la paramétrisation des profils d'hématocrite ne dépend que de W, et de $\bar{H}_t$.

Pour le confinement le plus fort, $R = 2$, à cause notamment de ces mêmes bandes brillantes, nous n'avons pas été en mesure d'extraire de profils d'hématocrite. Nous avons ainsi supposé que celui-ci est plat. Nous avons montré que cette hypothèse est cohérente, en comparant la mesure du volume d'un globule rouge effectuée à partir de la notion de profil d'hématocrite avec des données de la littérature. Il ne nous a pas non plus été possible de proposer de relation liant δ à $\bar{H}_t$. Néanmoins, comme il avait déjà été établi dans la littérature, nous avons retrouvé le fait que δ est d'autant plus grand que la vitesse des globules rouges est élevée.

Afin de mieux décrire la forme des profils d'hématocrite dans l'ensemble des conditions étudiées, nous avons introduit un coefficient d'aplatissement du profil d'hématocrite (B_H) qui vérifie les deux propriétés suivantes :

- A confinement géométrique fixé, le coefficient d'aplatissement décroît (*i.e.* le profil d'hématocrite s'aplatit) lorsque l'hématocrite croît. Le profil d'hématocrite est complètement plat (B_H tend vers zéro) dans la limite des forts hématocrites, quel que soit le confinement géométrique.
- A hématocrite de tube fixé, le coefficient d'aplatissement n'évolue pas de manière monotone avec le confinement géométrique. Dans la limite des très forts confinements géométriques, le profil d'hématocrite est toujours plat, quel que soit l'hématocrite.

Pour expliquer ce dernier point, nous nous sommes appuyés sur la forme des globules induite par le confinement géométrique. Nous avons ainsi suggéré que la valeur non nulle du coefficient d'aplatissement pour le confinement géométrique intermédiaire provient de la forme "parachute" des globules rouges.

Ensuite, nous avons étendu l'étude amorcée par S. Roman sur le profil de vitesse des globules rouges, en y incluant l'évolution de son coefficient

d'aplatissement (B) en fonction de l'hématocrite pour le confinement géométrique le plus faible. Nous avons montré que B n'évolue pas de manière monotone avec $\bar{H}_t$ et avons proposé une expression empirique pour relier les deux grandeurs. Tout comme B_H, à fort hématocrite, B tend vers zéro.

Le fait que ces deux coefficients tendent vers 0 nous a suggéré d'introduire une notion de confinement collectif, notion complémentaire du confinement géométrique mais qui prend en compte la contrainte spatiale liée à la présence des autres globules et qui croît donc avec l'hématocrite. De ces notions résulte un confinement, que nous appelons effectif, qui peut être quantifié pour chaque configuration par la donnée du couple $(R, \bar{H}_t)$. Nous reviendrons sur ce point dans la suite.

Une conséquence pratique intéressante des paramétrisations et relations empiriques obtenues dans ce travail, notamment celle liant δ, H_0 et B à $\bar{H}_t$ est que les formes des profils de vitesse des globules rouges et d'hématocrite peuvent être déterminées uniquement en mesurant V_0, la vitesse maximale des globules rouges, et $\bar{H}_t$.

Finalement, pour les confinements géométriques les plus faibles, les paramétrisations et relations (semi-)empiriques que nous avons déterminées ont été validées en comparant l'intensité de l'effet Fåhraeus en résultant, à une expression issue de la littérature. Cette comparaison fournit un bon accord. Pour le confinement géométrique le plus fort, nous avons montré qu'afin de capturer l'inversion de l'effet Fåhraeus, il était nécessaire que la vitesse maximale du fluide suspendant soit plus élevée que celle des globules rouges.

Séparation de phase. Nous avons tout d'abord montré que, dans la limite de l'incertitude expérimentale, les angles entre les branches d'une bifurcation ont une influence négligeable sur la séparation de phase. Nous avons augmenté la banque de données acquises par S. Roman, et, en particulier, avons, pour la première fois, réalisé une étude *in vitro* de ce phénomène dans des bifurcations où le confinement géométrique de la branche mère vaut deux. Nos points de séparation de phase présentent une intensité du phénomène bien moindre que celle prédite par la célèbre loi phénoménologique de Pries, lorsque le confinement géométrique est très fort, ou lorsque le confinement est faible mais que le confinement collectif est fort. Dans ces cas, seuls ses coefficients doivent être corrigés, mais pas sa forme générale. Dans tous les autres cas, cette loi décrit très bien nos données expérimentales.

En adoptant une vision continue de la phase *globules*, *i.e.* uniquement au travers des profils d'hématocrite et de vitesses, et en supposant l'existence d'une ligne séparatrice de fluides, nous nous sommes inspirés de travaux issus de la littérature, pour établir un modèle semi-empirique simple de séparation de phase. Ce modèle fournit une description satisfaisante de nos points expérimentaux pour les cas $R = 2$, quel que soit l'hématocrite de débit (H_D) pour le cas $R = 0.5$ lorsque $H_D > 0.1$. De manière surprenante, le confinement géométrique intermédiaire ($R = 1$) s'avère être le cas le plus difficile

à capturer avec cette vision. Nous supposons que cela vient du fait que, pour ce confinement géométrique, le profil d'hématocrite est moins aplati que dans les gammes de paramètres ci-dessus, plus propices à l'emploi du modèle continu. Afin d'expliquer ceci, nous nous sommes appuyés sur une explication basée sur l'origine de cette courbure du profil d'hématocrite, issue de la forme en parachute du globule rouge.

Par ailleurs, nous avons proposé une extension du modèle semi-empirique permettant la description de la séparation de phase dans des trifurcations simples.

Structuration à l'échelle du réseau. Dans des réseaux modèles simples, de canaux de taille similaire à celle des globules rouges ($R = 1$), nous avons finalement mis en évidence de plus fortes hétérogénités spatiales que celles attendues en considérant uniquement l'effet cumulatif de la séparation de phase à chaque bifurcation, décrit par la loi de séparation de Pries. Nous avons montré que cette amplification des hétérogénités est due à l'asymétrie des profils d'hématocrite dans les branches filles des bifurcations. Nous avons appelé "effet d'histoire" l'effet qu'ont ces asymétries sur la distribution des globules rouges à l'échelle du réseau. En prenant en compte cet effet d'histoire, nous avons amélioré les résultats obtenus par un modèle numérique par rapport au cas non corrigé. Plus exactement, nous avons montré que, dans la limite de l'incertitude expérimentale, la loi de séparation de phase doit prendre en compte ces asymétries en particulier dans la bifurcation divergente la plus en amont du réseau. La prise en compte des asymétries dans les bifurcations aval a de moins en moins d'influence sur la distribution des globules rouges à l'échelle du réseau. Nous avons décrit comment utiliser le modèle semi-empirique pour corriger la loi de Pries à partir des profils d'hématocrite mesurés à ces quelques bifurcations.

Allant de pair avec l'effet d'histoire, la relaxation des profils d'hématocrite a fait l'objet d'une étude préliminaire. Pour $R = 1$, les résultats que nous obtenons montrent une dynamique de retour à la symétrie très lente. Cette relaxation est d'autant plus lente que le confinement collectif est faible.

Les profils d'hématocrite à très fort confinement effectif, *i.e.* confinement intermédiaire mais très fort confinement collectif ou très fort confinement géométrique, ne présentent pas d'asymétries, faisant disparaître l'effet d'histoire. Toutefois une correction de la loi de Pries est là encore nécessaire. A ces niveaux de confinements, la loi de Pries surestime en effet l'intensité de la séparation de phase, comme nous l'avons rappelé au paragraphe précédent. Les corrections proposées améliorent nettement la comparaison entre les résultats expérimentaux et numériques.

Finalement, nous avons discuté de l'importance de l'effet d'histoire *in vivo*. Parce que, dans ces conditions, le confinement effectif est en général plus important que dans nos dispositif microfluidiques, nous pensons que l'intensité de cet effet ne devrait pas être aussi important qu'*in vitro*.

Perspectives. Premièrement, d'un point de vue fondamental, il serait intéressant de pouvoir définir de façon plus rigoureuse la notion de confinement effectif afin de comprendre le lien avec l'aplatissement du profil d'hématocrite. Cela permettrait de définir, dans un diagramme $(\mathrm{R}, \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t})$ les régimes de confinement effectif pour lesquels une vision continue est valide, permettant l'utilisation de notre modèle semi-empirique. Nous présentons sur la Figure 7.1 un tel diagramme, issu de l'ensemble de nos résultats. Le diagramme que nous présentons correspond au régime établi. Soulignons toutefois qu'il s'agit d'une représentation qui se veut qualitative.

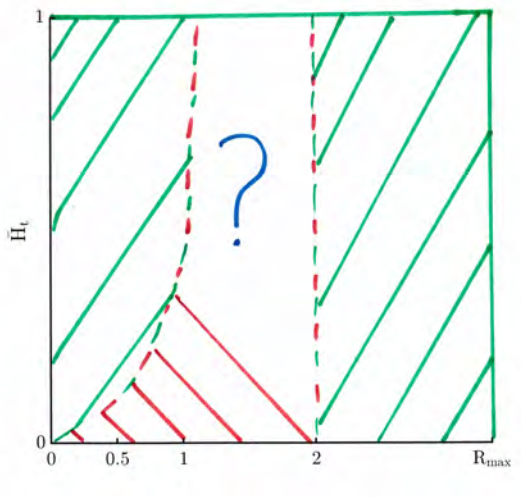

FIGURE 7.1 – Diagramme $(\mathrm{R}, \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t})$. Les zones hachurées en vert correspondent aux régions que nous pensons être propices à l'emploi du modèle semi-empirique. Dans celle hachurée en rouge le modèle semi-empirique sous-estimerait de manière non négligeable l'intensité du phénomène de séparation de phase. La zone marquée d'un point d'interrogation présente trop d'inconnues pour nous permettre d'intuiter un quelconque comportement. Ce diagramme correspond au régime établi. $\mathrm{R}_{\max}$ est déduit du plus petit diamètre de canal théorique dans lequel un globule rouge peut circuler, à savoir environ trois microns.

Sur ce diagramme, nous définissons trois types de régions, aux frontières non clairement établies. Le premier type (hachures vertes) correspond aux zones où le modèle semi-empirique est probablement suffisant pour décrire l'intensité de la séparation de phase ; le deuxième (hachures rouges) à la zone où le modèle est insuffisant ; le troisième (point d'interrogation bleu) à la zone dans laquelle nous ne sommes pas en mesure de nous prononcer clairement.

Il serait aussi intéressant de compléter ce diagramme $(\mathrm{R}, \bar{\mathrm{H}}_\mathrm{t})$ expérimentalement. Il pourrait alors servir de validation pour les études théoriques et/ou numériques.

Une description enrichie incluant l'influence de la durée de l'écoulement, de la vitesse et/ou du nombre de Reynolds, et du nombre capillaire permettrait aussi d'améliorer la compréhension de l'effet de séparation de phase. De même, une généralisation aux régimes non établis serait une première étape pour des simulations hybrides utilisant différents niveaux de résolution (du globule rouge au profil d'hématocrite). Cela permettrait un compromis entre précision des résultats et temps et puissance de calcul.

La généralisation aux situations non établies passe nécessairement par une étude systématique de la relaxation des globules rouges/profils d'hématocrite. Il serait intéressant de discriminer deux conditions à la paroi : l'une similaire à notre étude et l'autre contenant du glycocalyx, ou tout autre polymère s'en rapprochant.

L'étude expérimentale de la relaxation requiert de corriger les problèmes de diffractions à la paroi. A cette fin, nous avons envisagé de réduire l'intensité de la diffraction en réduisant la différence d'indice optique entre le PDMS et le fluide suspendant. Une manière de procéder est de réduire la proportion de réticulant dans le PDMS, dans le but de diminuer son indice optique (~ 1.4), pour le rapprocher de celui de l'eau (~ 1.33). Mais cela rend le PDMS plus collant et bien plus difficile à manipuler. Une autre stratégie serait de corriger les bandes de surbrillance au moyen d'un traitement d'image adapté. La correction des bandes de surbrillance permettrait aussi de compléter la description semi-empirique des profils d'hématocrite par une mesure plus fiable de la largeur de la couche d'exclusion plasmatique et éventuellement rendre possible la mesure de couche d'exclusion plasmatique pour des valeurs d'hématocrite intermédiaires.

Ensuite, un autre critère important jouant sur la dynamique de la relaxation est l'influence de l'asymétrie initiale du profil d'hématocrite sur la relaxation des profils d'hématocrite/globules rouges dans les branches filles. Un autre paramètre à inclure serait donc le ratio des débits entre les branches filles.

Enfin, il serait intéressant d'inclure des globules blancs dans les réseaux pour étudier les effets transitoires qu'ils induisent à leur passage dans ces géométries.

Références

Abkarian, M., & Viallat, A. (2015). On the Importance of the Deformability of Red Blood Cells in Blood Flow. In Fluid-Structure Interactions in Low-Reynolds-Number Flows (pp. 347-462). *Royal Society of Chemistry.*

Albrecht, K. H., Gaehtgens, P., Pries, A., & Heuser, M. (1979). The Fåhraeus effect in narrow capillaries (id 3.3 to 11.0 μm). Microvascular Research, 18(1), 33-47.

Antoine, E., Buchanan, C., Fezzaa, K., Lee, W. K., Rylander, M. N., Vlachos, P. (2013). Flow measurements in a blood-perfused collagen vessel using X-ray micro-particle image velocimetry. *PloS One*, 8(11), e81198.

Audet, D. M., & Olbricht, W. L. (1987). The motion of model cells at capillary bifurcations. Microvascular Research, 33(3), 377-396.

Balogh, P., & Bagchi, P. (2017). A computational approach to modeling cellular-scale blood flow in complex geometry. *Journal of Computational Physics*, 334, 280-307.

Balogh, P., & Bagchi, P. (2018). Analysis of red blood cell partitioning at bifurcations in simulated microvascular networks. *Physics of Fluids*, 30(5), 051902.

Barbee, J. H., & Cokelet, G. R. (1971). The Fåhraeus effect. *Microvascular Research*, 3(1), 6-16.

Bessis, M. (1958). Erythroblastic island, functional unity of bone

marrow. *Revue d'hématologie*, 13(1), 8.

Binet, C. (2011). Hématologie. Elsevier Health Sciences.

Boas, D. A., Jones, S. R., Devor, A., Huppert, T. J., and Dale, A. M. (2008). A vascular anatomical network model of the spatio-temporal response to brain activation. *NeuroImage*, 40 :1116–1129.

Bollu, T., Cornelius, N. R., Sunwoo, J., Nishimura, N., Schaffer, C. B., & Doerschuk, P. C. (2018). Experimentally constrained circuit model of cortical arteriole networks for understanding flow redistribution due to occlusion and neural activation. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 38(1), 38-44.

Burns, J. M., Yang, X., Forouzan, O., Sosa, J. M., & Shevkoplyas, S. S. (2012). Artificial microvascular network : a new tool for measuring rheologic properties of stored red blood cells. *Transfusion*, 52(5), 1010-1023.

Burr, I. W. (1942). Cumulative frequency functions. *The Annals of Mathematical Statistics*, 13(2), 215-232.

Cabrales, P., Vázquez, B. Y. S., Tsai, A. G., & Intaglietta, M. (2007). Microvascular and capillary perfusion following glycocalyx degradation. *Journal of Applied Physiology*, 102(6), 2251-2259.

Carr, R. T., & Wickham, L. L. (1990). Plasma skimming in serial microvascular bifurcations. *Microvascular Research*, 40(2), 179-190.

Chaplin, H., & Mollison, P. L. (1952). Correction for plasma trapped in the red cell column of the hematocrit. *Blood*, 7(12), 1227-1238.

Clavería, V., Aouane, O., Thiébaud, M., Abkarian, M., Coupier, G., Misbah, C., John, T. & Wagner, C. (2016). Clusters of red blood cells in microcapillary flow : hydrodynamic versus macromolecule induced interaction. *Soft Matter*, 12(39), 8235-8245.

Clavica, F., Homsy, A., Jeandupeux, L., & Obrist, D. (2016). Red blood cell phase separation in symmetric and asymmetric microchannel networks : effect of capillary dilation and inflow velocity. *Scientific Reports*, 6, 36763.

Constantinescu, A. A., Vink, H., & Spaan, J. A. (2001). Elevated capillary tube hematocrit reflects degradation of endothelial cell glycocalyx by oxidized LDL. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 280(3), H1051-H1057.

Coupier, G. (2017). Ecoulement confiné d'une suspension d'objets déformables : l'exemple de la microcirculation sanguine

Coupier, G., Kaoui, B., Podgorski, T., & Misbah, C. (2008). Noninertial lateral migration of vesicles in bounded Poiseuille flow. *Physics of Fluids*, 20(11), 111702.

Davies, H. S., Débarre, D., El Amri, N., Verdier, C., Richter, R. P., & Bureau, L. (2018). Elastohydrodynamic lift at a soft wall. *Physical Review Letters*, 120(19), 198001.

Desjardins, C. and B. Duling (1987). Microvessel hematocrit - measurement and impli- cations for capillary oxygen-transport.*American Journal of Physiology* 252 (3, Part2), 494–503.

Desjardins, M., Berti, R., Lefebvre, J., Dubeau, S., & Lesage, F. (2014). Aging-related differences in cerebral capillary blood flow in anesthetized rats. *Neurobiology of Aging*, 35(8), 1947-1955.

Douglas-Hamilton, D. H., Smith, N. G., Kuster, C. E., Vermeiden, J. P., & Althouse, G. C. (2005a). Capillaryloaded particle fluid dynamics : effect on estimation of sperm concentration. *Journal of Andrology*, 26(1), 115-122.

Douglas-Hamilton, D. H., Smith, N. G., Kuster, C. E., Vermeiden, J. P., & Althouse, G. C. (2005b). Particle Distribution in LowVolume

CapillaryLoaded Chambers. *Journal of Andrology*, 26(1), 107-114.

Doyeux, V., Podgorski, T., Peponas, S., Ismail, M., & Coupier, G. (2011). Spheres in the vicinity of a bifurcation : elucidating the Zweifach–Fung effect. *Journal of Fluid Mechanics*, 674, 359-388.

Duthey, B. (2013). Background paper 6.11 : Alzheimer disease and other dementias. A Public Health Approach to Innovation, 1-74.

Enden, G., & Popel, A. S. (1994). A numerical study of plasma skimming in small vascular bifurcations. *Journal of Biomechanical Engineering*, 116(1), 79-88.

Erbertseder, K., Reichold, J., Flemisch, B., Jenny, P., & Helmig, R. (2012). A coupled discrete/continuum model for describing cancer-therapeutic transport in the lung. *PLoS One*, 7(3), e31966.

Erdener, Ş. E., Tang, J., Sajjadi, A., Kılıç, K., Kura, S., Schaffer, C. B., & Boas, D. A. (2017). Spatio-temporal dynamics of cerebral capillary segments with stalling red blood cells. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 0271678X17743877.

Fåhraeus, R. (1929). The suspension stability of the blood. *Physiological Reviews*, 9(2), 241-274.

Fåhraeus, R., & Lindqvist, T. (1931). The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *American Journal of Physiology*-Legacy Content, 96(3), 562-568.

Fedosov, D. A., Pan, W., Caswell, B., Gompper, G.,& Karniadakis, G. E. (2011). Predicting human blood viscosity in silico. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(29), 11772-11777.

Fenton, B. M., Carr, R. T., & Cokelet, G. R. (1985). Nonuniform red cell distribution in 20 to 100 mum bifurcations. *Microvascular Research*,

29(1), 103-126.

Fischer, T. M., Stohr-Lissen, M., & Schmid-Schonbein, H. (1978). The red cell as a fluid droplet : tank tread-like motion of the human erythrocyte membrane in shear flow. *Science*, 202(4370), 894-896.

Forouzan, O., Yang, X., Sosa, J. M., Burns, J. M., & Shevkoplyas, S. S. (2012). Spontaneous oscillations of capillary blood flow in artificial microvascular networks. *Microvascular Research*, 84(2), 123-132.

Fung, Y. C. (2013). Biomechanics : mechanical properties of living tissues. Springer Science & Business Media.

Gaehtgens, P., Albrecht, K. H., & Kreutz, F. (1978). Fåhraeus effect and cell screening during tube flow of human blood. II. Effect of dextran-induced cell aggregation. *Biorheology*, 15(3-4), 155-161.

Gaehtgens, P., Dührssen, C., & Albrecht, K. H. (1980). Motion, deformation, and interaction of blood cells and plasma during flow through narrow capillary tubes. *Blood Cells*, 6(4), 799-817.

Gould, I. G., & Linninger, A. A. (2015). Hematocrit distribution and tissue oxygenation in large microcirculatory networks. *Microcirculation*, 22(1), 1-18.

Grandchamp, X., Coupier, G., Srivastav, A., Minetti, C., & Podgorski, T. (2013). Lift and down-gradient shear-induced diffusion in red blood cell suspensions. *Physical Review Letters*, 110(10), 108101.

Guckenberger, A., Gekle, S. (2017). Theory and algorithms to compute Helfrich bending forces : A review. *Journal of Physics : Condensed Matter*, 29(20), 203001.

Guibert, R., Fonta, C., & Plouraboué, F. (2009). Le réseau microvasculaire structure la distribution de la pression sanguine. *Mechanics &*

Industry, 10(3-4), 255-260.

Guibert, R., Fonta, C., & Plouraboué, F. (2010). A new approach to model confined suspensions flows in complex networks : application to blood flow. *Transport in Porous Media*, 83(1), 171-194.

Hernandez, J. C. C., Bracko, O., Kersbergen, C. J., Muse, V., Haft-Javaherian, M., Berg, M., ... & Cortes-Canteli, M. (2017). Neutrophil adhesion in brain capillaries contributes to cortical blood flow decreases and impaired memory function in a mouse model of Alzheimer's disease. *bioRxiv*, 226886.

Hirsch, S., Reichold, J., Schneider, M., Székely, G., and Weber, B. (2012). Topology and hemodynamics of the cortical cerebrovascular system. *Journal of Cerebral BloodFlow & Metabolism*, 32 :952–967.

Henry, C. B., & Duling, B. R. (1999). Permeation of the luminal capillary glycocalyx is determined by hyaluronan. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 277(2), H508-H514.

Hochmuth, R. M., Marple, R. N., & Sutera, S. P. (1970). Capillary blood flow : I. Erythrocyte deformation in glass capillaries. *Microvascular Research*, 2(4), 409-419.

House, S. D., & Lipowsky, H. H. (1987). Microvascular hematocrit and red cell flux in rat cremaster muscle. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 252(1), H211-H222.

Hu, X. Q., Salsac, A. V., & Barthès-Biesel, D. (2012). Flow of a spherical capsule in a pore with circular or square cross-section. *Journal of Fluid Mechanics*, 705, 176-194.

Iturria-Medina, Y., Sotero, R. C., Toussaint, P. J., Mateos-Pérez, J. M., Evans, A. C., Weiner, M. W., ... & Trojanowki, J. Q. (2016). Early role of vascular dysregulation on late-onset Alzheimer's disease based on multifactorial data-driven analysis. *Nature Communications*, 7, 11934.

Jendrucko, R. J., & Lee, J. S. (1973). The measurement of hematocrit of blood flowing in glass capillaries by microphotometry. *Microvascular Research*, 6(3), 316-331.

Kaliviotis, E., Sherwood, J. M., & Balabani, S. (2017). Partitioning of red blood cell aggregates in bifurcating microscale flows. *Scientific Reports*, 7, 44563.

Kaul, D. K., Fabry, M. E., & Nagel, R. L. (1996). The pathophysiology of vascular obstruction in the sickle syndromes. *Blood reviews*, 10(1), 29-44.

Krogh, A. The Anatomy and Physiology of Capillaries. New Haven, 1929. Frederick Smith AND Peyton Rous, 513.

Lanotte, L., Tomaiuolo, G., Misbah, C., Bureau, L., & Guido, S. (2014). Red blood cell dynamics in polymer brush-coated microcapillaries : A model of endothelial glycocalyx in vitro. *Biomicrofluidics*, 8(1), 014104.

Lanotte, L., Mauer, J., Mendez, S., Fedosov, D. A., Fromental, J. M., Claveria, V., ... & Abkarian, M. (2016). Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 113(47), 13289-13294.

Lee, T. R., Yoo, S. S., & Yang, J. (2017). Generalized plasma skimming model for cells and drug carriers in the microvasculature. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 16(2), 497-507.

Lei, H., Fedosov, D. A., Caswell, B., & Karniadakis, G. E. (2013). Blood flow in small tubes : quantifying the transition to the non-continuum regime. *Journal of Fluid Mechanics*, 722, 214-239.

Lipowsky, H. H., Kovalcheck, S. T. E. V. E. N., & Zweifach, B. W. (1978). The distribution of blood rheological parameters in the microvasculature of cat mesentery. *Circulation Research*, 43(5), 738-749.

Lipowsky, H. H., Usami, S., Chien, S., & Pittman, R. N. (1982). Hematocrit determination in small bore tubes by differential spectrophotometry. *Microvascular Research*, 24(1), 42-55.

Longeville, S., & Stingaciu, L. R. (2017). Hemoglobin diffusion and the dynamics of oxygen capture by red blood cells. *Scientific Reports*, 7(1), 10448.

Lorthois, S., F. Cassot, and F. Lauwers (2011a). Simulation study of brain blood flow regulation by intra-cortical arterioles in an anatomically accurate large human vascular network : Part i : Methodology and baseline flow. *NeuroImage* 54 (2), 1031–1042.

Lorthois, S., Cassot, F., & Lauwers, F. (2011b). Simulation study of brain blood flow regulation by intra-cortical arterioles in an anatomically accurate large human vascular network. Part II : flow variations induced by global or localized modifications of arteriolar diameters. *NeuroImage*, 54(4), 2840-2853.

Memmolo, P., Miccio, L., Merola, F., Gennari, O., Netti, P. A., & Ferraro, P. (2014). 3D morphometry of red blood cells by digital holography. Cytometry part A, 85(12), 1030-1036.

Mohandas, N., & Gallagher, P. G. (2008). Red cell membrane : past, present, and future. *Blood*, 112(10), 3939-3948.

Morley, S. T., Walsh, M. T., & Newport, D. T. (2017). The advection of microparticles, MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells in response to very low Reynolds numbers. *Biomicrofluidics*, 11(3), 034105.

Nelson, P. T., Alafuzoff, I., Bigio, E. H., Bouras, C., Braak, H., Cairns, N. J., ... & Duyckaerts, C. (2012). Correlation of Alzheimer disease neuropathologic changes with cognitive status : a review of the literature. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 71(5), 362-381.

Ng, Y. C., Namgung, B., Tien, S. L., Leo, H. L., & Kim, S. (2016). Symmetry recovery of cell-free layer after bifurcations of small arterioles in reduced flow conditions : effect of RBC aggregation. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 311(2), H487-H497.

Nishimura, N., Schaffer, C. B., Friedman, B., Tsai, P. S., Lyden, P. D., and Kleinfeld, D. (2006). Targeted insult to subsurface cortical blood vessels using ultrashort laser pulses : three models of stroke. *Nature Methods*, 3 :99–108.

Obrist, D., Weber, B., Buck, A., & Jenny, P. (2010). Red blood cell distribution in simplified capillary networks. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1921), 2897-2918.

Olsen, M. G., & Adrian, R. J. (2000). Out-of-focus effects on particle image visibility and correlation in microscopic particle image velocimetry. *Experiments in Fluids*, 29(1), S166-S174.

Ong, P. K., & Kim, S. (2013). Effect of erythrocyte aggregation on spatiotemporal variations in cellfree layer formation near on arteriolar bifurcation. *Microcirculation*, 20(5), 440-453.

Ouzounov, D. G., Wang, T., Wang, M., Feng, D. D., Horton, N. G., Cruz-Hernández, J. C., ... & Xu, C. (2017). In vivo three-photon imaging of activity of GCaMP6-labeled neurons deep in intact mouse brain. *Nature Methods*, 14(4), 388.

Piety, N. Z., Reinhart, W. H., Pourreau, P. H., Abidi, R., & Shevkoplyas, S. S. (2016). Shape matters : the effect of red blood cell shape on perfusion of an artificial microvascular network. *Transfusion*, 56(4), 844-851.

Poelma, C., Kloosterman, A., Hierck, B. P., & Westerweel, J. (2012). Accurate blood flow measurements : are artificial tracers necessary ?. *PloS One*, 7(9), e45247.

Poiseuille, J. L. M. (1839). Recherches sur les causes du mouvement du sang dans les vaisseaux capillaires. Impr. royale.

Pries, A. R., Kanzow, G. E. O. R. G., & Gaehtgens, P. E. T. E. R. (1983). Microphotometric determination of hematocrit in small vessels. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 245(1), H167-H177.

Pries, A. R., Ley, K., & Gaehtgens, P. (1986). Generalization of the Fåhraeus principle for microvessel networks. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 251(6), H1324-H1332.

Pries, A. R., Ley, K., Claassen, M., & Gaehtgens, P. (1989). Red cell distribution at microvascular bifurcations. *Microvascular Research*, 38(1), 81-101.

Pries, A. R., Secomb, T. W., Gaehtgens, P., & Gross, J. F. (1990). Blood flow in microvascular networks. Experiments and simulation. *Circulation Research*, 67(4), 826-834.

Pries, A. R., Neuhaus, D., & Gaehtgens, P. (1992). Blood viscosity in tube flow : dependence on diameter and hematocrit. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 263(6), H1770-H1778.

Pries, A. R., Secomb, T. W., & Gaehtgens, P. (1996). Biophysical aspects of blood flow in the microvasculature. *Cardiovascular Research*, 32(4), 654-667.

Pries, A. R., Secomb, T. W., Jacobs, H., Sperandio, M., Osterloh, K., & Gaehtgens, P. (1997). Microvascular blood flow resistance : role of endothelial surface layer. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 273(5), H2272-H2279.

Pries, A. R., Reglin, B., & Secomb, T. W. (2003). Structural response of microcirculatory networks to changes in demand : information transfer

by shear stress. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 284(6), H2204-H2212.

Reinhart, W. H., Piety, N. Z., Goede, J. S., & Shevkoplyas, S. S. (2015). Effect of osmolality on erythrocyte rheology and perfusion of an artificial microvascular network. *Microvascular Research*, 98, 102-107.

Reitsma, S., Slaaf, D. W., Vink, H., Van Zandvoort, M. A., & Oude Egbrink, M. G. (2007). The endothelial glycocalyx : composition, functions, and visualization. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 454(3), 345-359.

Roman, S. (2012). Ecoulements de suspensions concentrées de globules rouges en micro-canaux : étude expérimentale (Doctoral dissertation).

Roman, S., Lorthois, S., Duru, P., & Risso, F. (2012). Velocimetry of red blood cells in microvessels by the dual-slit method : Effect of velocity gradients. *Microvascular research*, 84(3), 249-261.

Roman, S., Merlo, A., Duru, P., Risso, F., & Lorthois, S. (2016). Going beyond 20 μ m-sized channels for studying red blood cell phase separation in microfluidic bifurcations. *Biomicrofluidics*, 10(3), 034103.

Santisakultarm, T. P., Cornelius, N. R., Nishimura, N., Schafer, A. I., Silver, R. T., Doerschuk, P. C., ... & Schaffer, C. B. (2012). In vivo two-photon excited fluorescence microscopy reveals cardiac-and respiration-dependent pulsatile blood flow in cortical blood vessels in mice. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 302(7), H1367-H1377.

Secomb, T. W., Skalak, R., Özkaya, N., & Gross, J. F. (1986). Flow of axisymmetric red blood cells in narrow capillaries. *Journal of Fluid Mechanics*, 163, 405-423.

Secomb, T. W., Hsu, R., & Pries, A. R. (1998). A model for red blood cell motion in glycocalyx-lined capillaries. *American Journal of*

Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 274(3), H1016-H1022.

Segré, G. (1961). Radial Particle Displacements in Poseuille Flow of Suspensions. *Nature*, 189, 209-210.

Segré, G., & Silberberg, A. (1962). Behaviour of macroscopic rigid spheres in Poiseuille flow Part 2. Experimental results and interpretation. *Journal of Fluid Mechanics*, 14(1), 136-157.

Shen, Z. (2016). Blood flow in microfluidic architectures : collective behaviors of deformable particles in confined flow (Doctoral dissertation, Université Grenoble Alpes).

Shen, Z., Coupier, G., Kaoui, B., Polack, B., Harting, J., Misbah, C., & Podgorski, T. (2016). Inversion of hematocrit partition at microfluidic bifurcations. *Microvascular Research*, 105, 40-46.

Sherwood, J. M., Dusting, J., Kaliviotis, E., & Balabani, S. (2012). The effect of red blood cell aggregation on velocity and cell-depleted layer characteristics of blood in a bifurcating microchannel. *Biomicrofluidics*, 6(2), 024119.

Sherwood, J. M., Holmes, D., Kaliviotis, E., & Balabani, S. (2014a). Spatial distributions of red blood cells significantly alter local haemodynamics. *PLoS One*, 9(6), e100473.

Sherwood, J. M., Kaliviotis, E., Dusting, J., & Balabani, S. (2014b). Hematocrit, viscosity and velocity distributions of aggregating and non-aggregating blood in a bifurcating microchannel. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, 13(2), 259-273.

Shevkoplyas, S. S., Gifford, S. C., Yoshida, T., & Bitensky, M. W. (2003). Prototype of an in vitro model of the microcirculation. *Microvascular Research*, 65(2), 132-136.

Shevkoplyas, S. S., Yoshida, T., Gifford, S. C., & Bitensky, M. W. (2006). Direct measurement of the impact of impaired erythrocyte deformability on microvascular network perfusion in a microfluidic device. *Lab on a Chip*, 6(7), 914-920.

Shih, A. Y., Driscoll, J. D., Drew, P. J., Nishimura, N., Schaffer, C. B., and Kleinfeld, D. (2012). Two-photon microscopy as a tool to study blood flow and neurovascular coupling in the rodent brain. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 32 :1277–1309

Shih, A. Y., Rühlmann, C., Blinder, P., Devor, A., Drew, P. J., Friedman, B., ... & Nishimura, N. (2015). Robust and fragile aspects of cortical blood flow in relation to the underlying angioarchitecture. *Microcirculation*, 22(3), 204-218.

Sobol, I. M. (1993). Sensitivity estimates for nonlinear mathematical models. *Mathematical Modelling and Computational Experiments*, 1(4), 407-414.

Sosa, J. M., Nielsen, N. D., Vignes, S. M., Chen, T. G., & Shevkoplyas, S. S. (2014). The relationship between red blood cell deformability metrics and perfusion of an artificial microvascular network. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 57(3), 275-289.

Srivastav, A., Podgorski, T., & Coupier, G. (2012). Efficiency of size-dependent particle separation by pinched flow fractionation. *Microfluidics and Nanofluidics*, 13(5), 697-701.

Stauber, H., Waisman, D., Korin, N., & Sznitman, J. (2017). Red blood cell dynamics in biomimetic microfluidic networks of pulmonary alveolar capillaries. *Biomicrofluidics*, 11(1), 014103.

Sugii, Y., Okuda, R., Okamoto, K., & Madarame, H. (2005). Velocity measurement of both red blood cells and plasma of in vitro blood flow using high-speed micro PIV technique. *Measurement Science and Technology*, 16(5), 1126.

Svanes, K., & Zweifach, B. W. (1968). Variations in small blood vessel hematocrits produced in hypothermic rats by micro-occlusion. *Microvascular Research*, 1(2), 210-220.

Tsai, P. S., Kaufhold, J. P., Blinder, P., Friedman, B., Drew, P. J., Karten, H. J., Lyden, P. D., and Kleinfeld, D. (2009). Correlations of neuronal and microvascular densities in murine cortex revealed by direct counting and colocalization of nuclei and vessels. *Journal of Neuroscience*, 29 :14553–14570.

Twersky, V. (1970). Absorption and multiple scattering by biological suspensions. *JOSA*, 60(8), 1084-1093.

Vasseur, P., & Cox, R. G. (1976). The lateral migration of a spherical particle in two-dimensional shear flows. *Journal of Fluid Mechanics*, 78(2), 385-413.

Vayssairat, M. and P. Carpentier (1996). *Microcirculation clinique*. Masson.

Vink, H., & Duling, B. R. (1996). Identification of distinct luminal domains for macromolecules, erythrocytes, and leukocytes within mammalian capillaries. *Circulation Research*, 79(3), 581-589.

Vitkova, V., Coupier, G., Mader, M. A., Kaoui, B., Misbah, C., & Podgorski, T. (2009). Tumbling of viscous vesicles in a linear shear field near a wall. *Journal of Optoelectronics and Advanced Materials*, 11(9), 1218-1221.

Wagner, C., Steffen, P., & Svetina, S. (2013). Aggregation of red blood cells : from rouleaux to clot formation. Comptes Rendus Physique, 14(6), 459-469.

Wang, Z., Sui, Y., Salsac, A. V., Barthès-Biesel, D., Wang, W. (2016). Motion of a spherical capsule in branched tube flow with finite inertia.

Journal of Fluid Mechanics, 806, 603-626.

Wang Z., Sui Y., Salsac A.-V., Barthès-Biesel D., Wang W. Path selection of a spherical capsule in a branched channel : effect of the narrowed side-branch geometry. *Journal of Fluid Mechanics*. (2018)

Wayland, H., & Johnson, P. C. (1967). Erythrocyte velocity measurement in microvessels by a two-slit photometric method. *Journal of Applied Physiology*, 22(2), 333-337.

Wintrobe, M. M. (1967). Clinical hematology (6th Eds.) Lea and Febiger, Philadelphia. In Library of Congress, Print USA.

Yazdanbakhsh, K., Lomas-Francis, C., & Reid, M. E. (2000). Blood groups and diseases associated with inherited abnormalities of the red blood cell membrane. *Transfusion Medicine Reviews*, 14(4), 364-374.

Yen, R. T., & Fung, Y. C. (1977). Inversion of Fåhraeus effect and effect of mainstream flow on capillary hematocrit. *Journal of Applied Physiology*, 42(4), 578-586.

Zuurbier, C. J., Demirci, C., Koeman, A., Vink, H., & Ince, C. (2005). Short-term hyperglycemia increases endothelial glycocalyx permeability and acutely decreases lineal density of capillaries with flowing red blood cells. *Journal of Applied Physiology*, 99(4), 1471-1476.

Annexe A

Protocole de fabrication d'un moule silicium

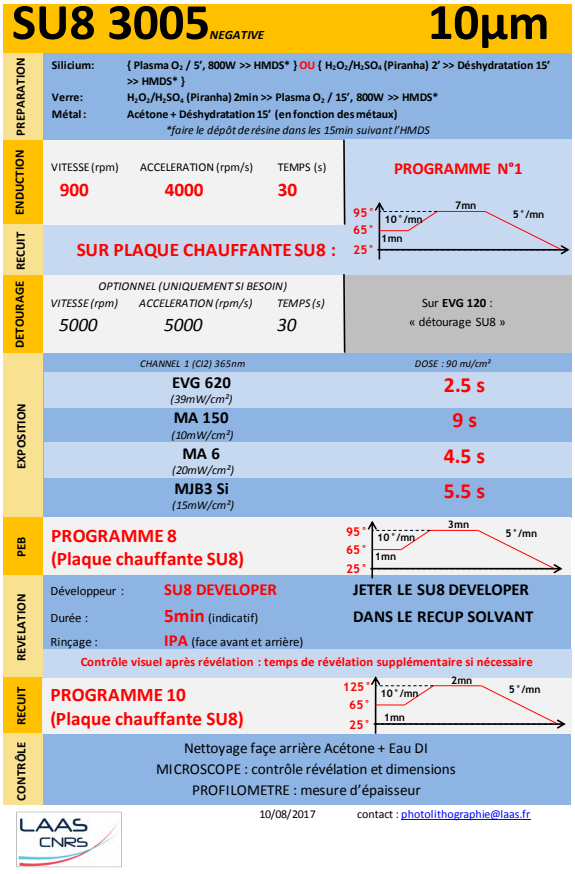

FIGURE 1.1 – Recette pour l'obtention d'une couche de résine d'épaisseur 10 μm, fournie par le LAAS.

Annexe B

Compilation de résultats expérimentaux

Tableau récapitulatif des expériences de séparation de phase que nous avons réalisées dans des bifurcations symétriques. Dans les données que nous présentons, H_D est l'hématocrite de débit. Nous avons défini les erreurs $e_{Pries_{original}}$, $e_{Pries_{ajusté}}$ et e_{MSE} dans le chapitre dédié à la séparation de phase, Section 1.1, Équation (3). L'intensité de la séparation de phase e_I a été définie dans ces mêmes chapitre et section, Équation (4).

Bifurcation	H_D	$\tilde{V}^e_{GR}$ $(mm.s^{-1})$	$e_{Pries_{original}}$	$e_{Pries_{ajusté}}$	e_{MSE}	e_I
$20-20-20-180$	0.040	1	0.1193	0.1058	0.1	0.054
$20-20-20-180$	0.105	5	0.0946	0.0852	0.0967	0.03
$20-20-20-90$	0.107	3	-	-	-	0.021
$20-20-20-90$	0.11	4	0.0497	0.0421	0.0562	0.048
$20-20-20-180$	0.15	3	0.0521	0.0441	0.0468	0.0137
$20-20-20-180$	0.30	3	0.0548	0.0452	0.0412	0.005
$20-20-20-90$	0.58	0.3	0.058	0.0281	0.027	0.00099
$10-10-10-90$	0.0819	4	0.1433	0.1109	0.1752	0.0374
$10-10-10-90$	0.0837	3	0.1756	0.1373	0.1663	0.041
$10-10-10-90$	0.0915	30	0.1382	0.1373	0.1495	0.0213
$10-10-10-180$	0.111	2	0.1093	0.1027	0.1301	0.031
$10-10-10-90$	0.1206	1	0.0397	0.038	0.0683	0.025
$10-10-10-90$	0.1416	3	0.0734	0.066	0.1006	0.0216
$10-10-10-180$	0.1709	0.6	0.1022	0.0859	0.1229	0.026
$10-10-10-180$	0.1959	2	0.0584	0.0576	0.0753	0.0226
$10-10-10-90$	0.2365	2	0.1287	0.0922	0.1004	0.025
$10-10-10-90$	0.3021	3	0.0594	0.0427	-	0.0147
$10-10-10-180$	0.3088	3	0.0594	0.0427	0.0662	0.015
$10-10-10-90$	0.3973	3	0.0616	0.0363	0.0526	0.009
$10-10-10-180$	0.4156	1	0.0513	0.0481	0.0576	0.0119
$10-10-10-180$	0.5198	1	0.0601	0.0285	0.0375	0.0078
$5-5-5-180$	0.14	3	0.1551	0.0173	0.0179	0.006
$5-5-5-90$	0.16	3	0.1524	0.0589	0.0644	0.0082

Annexe C

Trifurcation

Nous appelons “trifurcation 1-3 symétrique” une trifurcation composée d’une branche mère et de trois branches filles de mêmes sections. La branche mère n’a pas nécessairement le même diamètre que les branches filles. Sur la Figure 1, les lignes pointillées représentent les lignes séparatrice de fluide. Les flèches indiquent le sens de l’écoulement du sang. Considérons la situation suivante, schématisée ci-après :

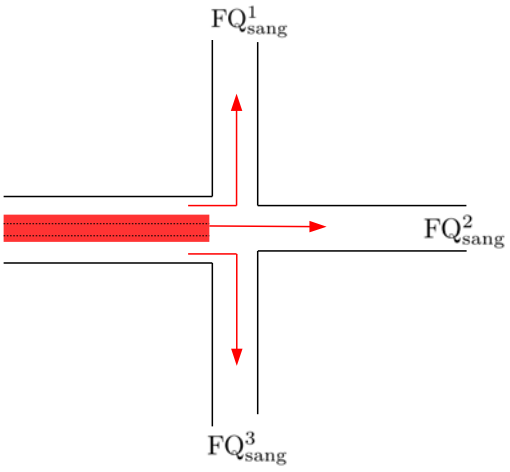

FIGURE 3.1 – Trifurcation symétrique, avec distribution des débits fractionnaires de sang entre les branches filles. La branche mère n’a pas nécessairement le même diamètre que les branches filles.

Il n’existe, à notre connaissance, que trois modèles proposant de résoudre la séparation de phase dans des N-furcations (Guibert *et al.*, 2010 ; Gould *et* Linninger, 2015 ; Lee *et al.*, 2017). Cependant, ces approches n’ont pas été validée expérimentalement.

Nous proposons d'utiliser la loi de Pries de la manière suivante pour déterminer FQ^1_{GR}, FQ^2_{GR}, et FQ^3_{GR}, en supposant connus FQ^1_{sang}, FQ^2_{sang}, et FQ^3_{sang}. Nous faisons l'hypothèse que les lignes séparatrices de fluides sont identiques à celles des bifurcations.

La trifurcation peut être vue comme une bifurcation classique distribuant les débits fractionnaires comme FQ^1_{sang} et $FQ^{2'}_{sang} = FQ^2_{sang} + FQ^3_{sang}$. Dans cette configuration, nous nous retrouvons dans la situation classique d'utilisation de la loi de Pries pour déterminer la distribution des débits fractionnaires de globules rouges entre la branche fille 1 et la branche fille $2'$ fictive, issue du raccord entre les branches filles 2 et 3. Idem si nous avions commencé par la branche fille 3, et raccordé les deux autres branches filles. Au sens du modèle semi-empirique, les branches filles 1 et 3 sont alimentées par la couche d'exclusion plasmatique, ce qui n'est pas le cas de la branche fille 2. Ainsi, il ne faut pas raccorder les branches filles 1 et 3 et laisser libre la branche fille 2, car cette dernière n'est alimentée que par le manchon central de la branche mère. La fraction de débit de globules rouges qui alimente la branche fille 2 doit toujours être déduite par conservation de la masse, après avoir déterminé la fraction de débit de globule rouge dans les deux autres branches filles.

Le cas des trifurcations 2-2 symétriques est plus délicat. Nous faisons seulement l'hypothèse que les deux branches mère peuvent être réunies en une seule, et que l'hématocrite de débit dans cette branche, H^m_D est l'hématocrite de débit moyen des deux branches mère et vaut : $H^m_D = \dfrac{H^{e^1}_D Q^{e^1}_{sang} + H^{e^1}_D Q^{e^2}_{sang}}{Q^{e^1}_{sang} + Q^{e^2}_{sang}}$, et nous déduisons alors l'intensité de la séparation de phase.

Nous vérifions qualitativement notre approche en comparant sur la Figure 2 les résultats expérimentaux et de simulation portant sur la distribution de globules rouges dans un réseau comportant des trifurcations 1-3 symétrique en entrée sur l'axe de symétrie qui relie l'entrée à la sortie.

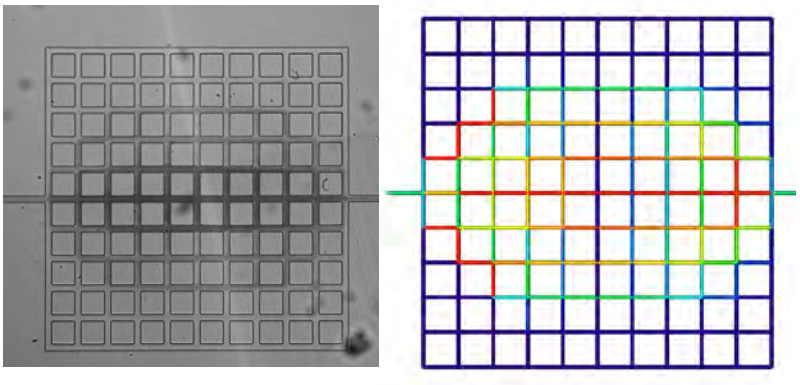

FIGURE 3.2 – Comparaison entre l'expérience et la simulation. Voir la Section 1 du chapitre dédié aux réseaux pour une description du modèle numérique permettant la résolution de l'écoulement sanguin.

Annexe D

Coefficients A, B et X_0 obtenus dans des réseaux

Nous résumons dans la figure ci-dessous les coefficients A, B et X_0 que nous avons mesurés dans nos réseaux, pour diverses valeurs d'hématocrite de tube.

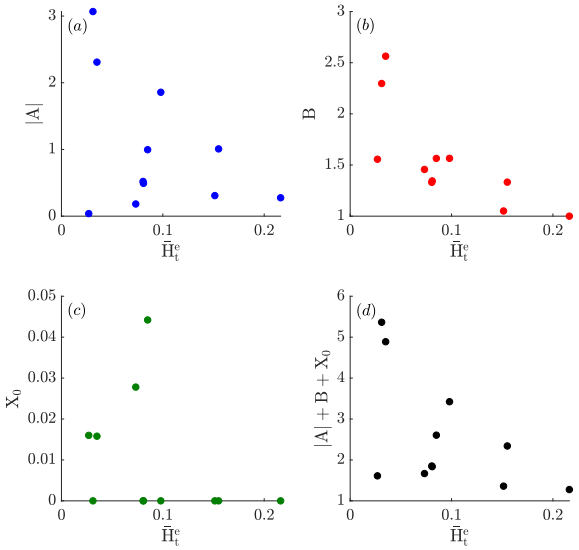

FIGURE 4.1 – L'ensemble des quantités tracés sont en fonction de $\bar{H}_t^e$. (a) : $|A|$; (b) : B ; (c) : X_0 ; (d) : sur cette figure la somme des trois paramètres est tracée. Cette quantité est une manière de représenter l'intensité de la séparation de phase : plus la somme est élevée, plus intense est le phénomène.