

Écoulements de solutions sanguines dans des réseaux: étude de la relation débit-pression

Rapport de stage pour le diplôme de Master Physique et Ingénierie du Vivant.
 Stage effectué au Centre de Biochimie Structurale de Montpellier et encadré par le Dr. Manouk Abkarian.
 Financé par la Key Initiative Interdisciplinary Blood Science et effectué en partenariat avec le zoo de Montpellier.

1.Introduction

Décrit pour la première fois par Poiseuille il y a presque 200 ans [1], le système microvasculaire repose sur une organisation spatiale complexe permettant la circulation du sang depuis les artérioles jusqu'aux veines par l'intermédiaire d'un lit de capillaires. Ce réseau capillaire est particulièrement important car il constitue le principal lieu d'échanges de nutriments et d'oxygène entre le sang et les tissus, comprendre le fonctionnement de la microcirculation sanguine à cette échelle est ainsi primordial. Le lit capillaire étant caractérisé par des vaisseaux de diamètres similaires voire même inférieurs à la taille des globules rouges (environ 6-8 μ m), la physique de l'écoulement du sang dans cet environnement est dominée par la nature corpusculaire de ce fluide. En effet, le comportement du sang dans le réseau est directement lié à la dynamique locale des globules rouges et comprendre le lien entre ces deux échelles est essentiel. A ce jour, la majorité des études sur la microcirculation se limite à des cas d'écoulement dans des capillaires droits mais grâce aux avancées technologiques du domaine microfluidique, des études portant à la fois sur un comportement à l'échelle globale du réseau et à l'échelle locale des cellules ont vu le jour [2-3]. C'est dans la continuité de ces travaux que s'inscrit l'étude présentée aujourd'hui. Dans ce rapport sont décrits la méthode expérimentale utilisée pour l'étude des suspensions sanguines dans un réseau ainsi que les comportements à l'échelle du fluide et à celle des globules rouges qui ont pu être observés.

2.Etat de l'art

Le sang et ses propriétés ont été étudiés extensivement par la communauté scientifique depuis plusieurs siècles. Fluide non-newtonien, le sang suit un comportement rhéofluidifiant: sa viscosité dépend du

taux de cisaillement auquel il est soumis [4]. Ce caractère viscoélastique provient de sa composition, en particulier des globules rouges, cellules connues pour leur grande capacité à se déformer. L'altération des propriétés mécaniques de ces cellules a ainsi une influence directe sur la viscosité du sang (Fig 1).

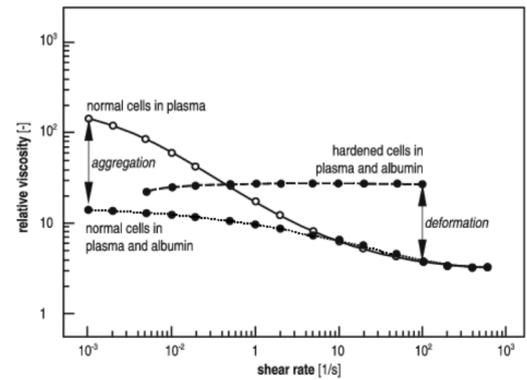


Fig 1. Viscosité relative en fonction du cisaillement pour différentes solutions de globules rouges à 45% [4]. La viscosité relative correspond à la viscosité apparente (extraite de la relation débit-pression) normalisée par la viscosité du plasma, milieu de suspension des globules rouges.

De plus, l'hématocrite, c'est-à-dire la fraction volumique des globules rouges, influence également la viscosité [5]: l'augmentation du nombre de cellules engendre une augmentation de la perte de charge et une hausse des interactions entre globules.

Dans des canaux de tailles similaires à celles des globules, la description du sang comme une suspension est donc obligatoire pour étudier la physique des écoulements sanguins. Une des premières expériences d'écoulement sanguin en milieu confiné, réalisée sur des capillaires droits par Poiseuille [1] en 1835, a mis en évidence la présence d'une couche dépourvue de globules au niveau des parois du tube. Cette couche dite de déplétion est à l'origine de nombreux phénomènes. Seuls deux de ces phénomènes sont décrits dans ce rapport.

Tout d'abord, la viscosité de cette couche correspond à la viscosité du milieu de suspension, c'est-à-dire le plasma. De ce fait, la viscosité de la suspension présente un gradient local dû à l'absence de globule proche des parois et la densité forte en globule au centre du capillaire. Ce gradient de viscosité entraîne un phénomène de lubrification qui se traduit par une réduction de la viscosité apparente (extraite de données débit-pression), appelé l'effet de Fahraeus-Lindqvist[6]. Ce phénomène dépend de l'épaisseur de la couche de déplétion or celle-ci varie très peu en fonction du diamètre du tube donc plus le tube est fin, plus la couche occupe une partie importante du volume et le phénomène de lubrification s'intensifie (Fig 2[7]). Pour des diamètres de tube inférieurs à 10µm, l'inversion de l'effet Fahraeus-Lindqvist peut être expliquée de façon simplifiée par le mouvement en file indienne des globules rouges qui sont déformés au maximum et qui peuvent être alors considérés comme un seul corps rigide [8].

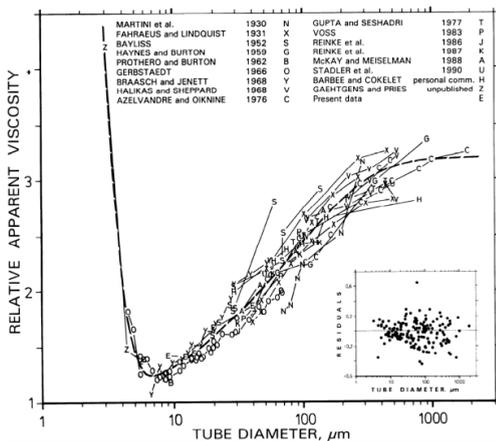


Fig 2. Viscosité apparente relative de suspensions sanguines en écoulement dans des capillaires en verre en fonction du diamètre du tube [7].

La couche de déplétion est également à l'origine de l'effet Fahraeus: les globules étant concentrés au centre des vaisseaux, leur vitesse moyenne est supérieure à la vitesse moyenne du plasma et le rapport entre le débit du plasma et celui des globules rouges est donc modifié. Cet effet se traduit par la réduction relative de l'hématocrite de tube H_{T_p} , c'est-à-dire la fraction volumique de globules rouges dans le sang pour un canal, par rapport à l'hématocrite de décharge H_D qui correspond à la fraction volumique de globules rouges dans le sang s'écoulant de ce même canal.

A l'échelle du réseau, la présence de cette couche de déplétion entraîne également une séparation de phase au niveau de bifurcations asymétriques. En effet, la microcirculation est caractérisée par la présence de

nombreuses bifurcations qui de par leurs différentes géométries (angle de séparation, diamètre et débit des branches) provoquent une hétérogénéité de la distribution des globules rouges qui ont tendance à s'écouler dans la branche fille ayant le débit le plus élevé, c'est l'effet de Zweifach-Fung[9]. Cette inhomogénéité peut être très importante et des vaisseaux complètement dépourvus de globules ont été observés à la suite d'intersection, c'est le "plasma skimming".

La physique des écoulements sanguins confinés dans des réseaux est ainsi un domaine complexe et où la corrélation entre l'échelle locale avec la déformabilité des globules rouges et l'échelle macroscopique des relations pression-débit n'est pas encore élucidée.

Bien que se restreignant au cas d'un réseau ne présentant que des bifurcations symétriques d'un point de vue géométrique, c'est dans l'optique d'apporter des informations sur ce lien que cette étude est réalisée.

3. Matériel & méthodes

3.1. Fabrication des canaux microfluidiques

Les deux types de circuits utilisés lors de l'étude ont été fabriqués par des techniques de photolithographie.

Circuits Voronoï. Le premier, désigné ici sous l'appellation "circuit Voronoï", est fabriqué grâce à une technique particulière de photolithographie appelée "backside lithography". Cette technique permet l'obtention de microcanaux à section ronde avec une proportionnalité entre la hauteur et la largeur[10]. Les puces microfluidiques utilisées lors de l'étude ont pour but de mimer la hiérarchie physiologique de la microcirculation sanguine en reliant les branches d'entrée (artérioles) et de sortie (veinules) par un lit de capillaires sans chute brutale de hauteur entre le réseau et les branches d'accès (Fig 3).

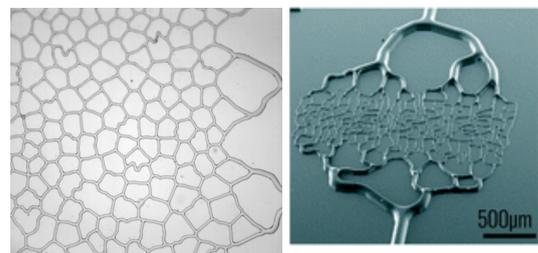


Fig 3. Photographies au microscope x15 (à gauche) et au SEM [10] (à droite) des circuits dits de Voronoï

Suite à l'observation de bouchages lors de l'utilisation des circuits de Voronoï, un second type de circuit en réseaux a été dessiné.

Circuits nid d'abeille. Contrairement aux circuits de Voronoï, ces réseaux n'ont pas vocation à reproduire la topologie de la microcirculation mais plutôt à apporter une compréhension quantitative du phénomène. Ces circuits sont des circuits à deux niveaux: les branches d'entrée et de sortie de 2mm de largeur font 90µm de hauteur et le réseau fait 4,3µm de hauteur (Fig 4a). Cette différence de hauteurs permet à la fois de conserver une hiérarchie de niveaux entre les entrées, les sorties et le réseau bien que celle-ci est discontinue dans ce type de puces, mais également de travailler dans un régime de vitesses correspondant au régime physiologique, c'est à dire de l'ordre de quelques micromètres par secondes [11]. Huit circuits comportant des réseaux de géométries différentes ont été dessinés de façon à avoir la même résistance hydrodynamique. Ces réseaux sont constitués de mailles réparties en colonnes disposées en quinconce et caractérisées par les longueurs L_1 et L_2 (Fig 4b.). La longueur L_2 définit la taille de la zone d'extension des globules et la longueur L_1 caractérise les bifurcations. Étudier des circuits ayant des ratios L_1/L_2 différents permet ainsi d'étudier le rôle des bifurcations du réseau sur l'écoulement.

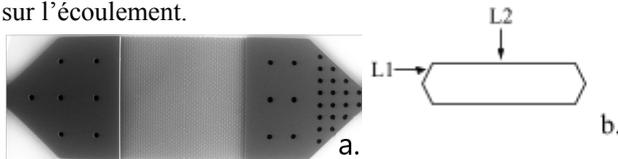


Fig 4. Circuit nid d'abeille a. Photographie au MEB d'un circuit nid d'abeille. L'écoulement se fait de la droite vers la gauche. b. Maille élémentaire des réseaux géométriques

Les caractéristiques des différents réseaux sont résumées dans Tab. 1.

Réseau	L1(µm)	L2(µm)
1	15	30
2	15	15
3	10	30
4	20	0
5	30	15
6	15	10
7	20	10
8	10	25

Tab 1. Caractéristiques des différents réseaux types nid d'abeille

Il est ainsi possible de décrire le réseau comme un assemblage de tubes de section carrée et de longueur L_1 ou L_2 . La résistance hydrodynamique d'un fluide de

viscosité η dans un tube de section carrée de taille h de longueur L est donnée par $R = \frac{28.4\eta L}{h^4}$. En utilisant cette formule, les résistances des tubes de longueur L_1 et L_2 seront donc notés R_1 et R_2 . Soient k le nombre de colonnes et m le nombre de mailles dans une colonne. Afin de déterminer les couples (k,m) nécessaires pour que les différents réseaux aient la même résistance, la résistance équivalente totale du réseau a été calculée en utilisant les calculs de résistances en série et en parallèle connues en électricité. La résistance équivalente du réseau est :

$$R = k \left(\frac{(2R_1 + R_2)(R_1 + R_2)}{m(2R_1 + R_2) + 2(R_1 + R_2)} + \frac{R_2}{m+1} \right)$$

La résistance totale de la puce microfluidique correspond à la somme de la résistance du réseau et des résistances branches d'entrée et de sortie de 90µm de hauteur énoncées par la formule de résistance de tube de section rectangulaire $R = \frac{12\eta L}{(1-0,63(h/l))(lh^3)}$ où l désigne la largeur du rectangle.

Les couples (k,m) ont été choisis pour obtenir des débits entre 0,1µL et 8µL/min pour une gamme de pression de 50 à 1000 mbar. La résistance équivalente totale des circuits utilisés est de l'ordre de $8,90 \cdot 10^{-14} Pa \cdot s \cdot m^{-3}$. Les résistances dues aux branches de 90µm de hauteur contribuent à la résistance totale de moins de 1%.

Les moules en silicium de ces circuits en nid d'abeille ont été traités au silane afin de faciliter le démoulage. Bien que d'autres circuits nid d'abeille aient été utilisés, les courbes de pression-débit visibles dans la partie Résultats présentent uniquement des données issues d'écoulement dans un circuit nid d'abeille de type 2 (Fig 5).

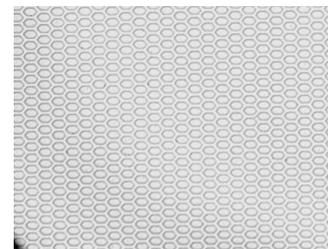


Fig 5. Photographie d'un circuit nid d'abeille de type 2

Moulage et préparation des puces. Les plaquettes de silicium obtenues sont moulées avec un mélange de monomères de polydiméthylsiloxane (PDMS) et d'agent réticulant de ratio 10:1. Une fois le mélange versé sur le moule de silicium, la boîte de Pétri contenant le moule est placée sous une cloche à vide pour enlever les bulles d'air présentes dans le mélange.

Le moule est alors mis à cuire à 70°C pour 2h. Le PDMS réticulé est ensuite détaché du moule en silicium et découpé au scalpel. Les trous d'entrée et de sortie de la puce obtenue sont percés grâce à des poinçons de biopsie de 1.5mm ou 1mm.

Après nettoyage et traitement au plasma (oxygène) pendant 40s, les circuits microfluidiques sont fermés en collant la puce en PDMS à la lamelle de microscope.

Afin de réduire l'adhérence des cellules à la surface du PDMS, les circuits sont traités au PLL-PEG (Polydimethylsiloxane avec polyéthylène glycol) dilué dans du HEPES 5 mM à une concentration de 0,5 mg/mL pendant 1h.

3.2. Préparation du sang

Les expériences d'écoulement ont été menées avec des échantillons de sang humain sain. Le plasma de chaque échantillon sanguin a été séparé des globules rouges par centrifugation (3000 rpm pendant 5 min, 22°C) puis jeté. Les globules rouges ont ensuite été re-suspendus et lavés dans une solution de PBS (1X) (Phosphate Buffered Saline) contenant de la BSA (Bovine Serum Albumin) à 1mg/mL et du Glucose à 5mM. Afin d'avoir une solution d'isodensité et pour limiter la sédimentation des cellules, les globules rouges ont ensuite été suspendus dans une solution de PBS (1X) et d'Optiprep (61.5%/38.5%) ajustée à l'hématocrite désiré.

Il est à noter que ces concentrations de PBS et d'Optiprep correspondent aux concentrations nécessaires pour une solution de sang humain sain à 40% d'hématocrite.

3.3. Montage expérimental

Le montage expérimental est composé d'un microscope inversé Nikon Eclipse Ti-U équipé d'un objectif x10 ou x40 (pouvant être ajustés pour atteindre respectivement des grossissements x15 et x60) et d'une caméra Optronis. Pour chaque expérience, la différence de pression entre l'entrée et la sortie du dispositif microfluidique est maintenue et contrôlée par un contrôleur de pression Flow-EZ (FLUIGENT SA, France) dont la gamme de pression varie entre 0,1 mbar et 1 bar.

Les débits sont mesurés grâce au débitmètre Small Flow Unit (Fluigent SA, France) avec une fréquence d'échantillonnage de 1Hz. Chaque valeur présentée dans la section Résultats provient d'une moyenne sur un ensemble de données mesurées à pression constante

et la barre d'erreurs correspond à l'écart-type de cet ensemble.

3.4. Analyses d'images

Les analyses d'images sont réalisées avec le logiciel ImageJ. Les stacks d'images sont tout d'abord traités pour optimiser la détection des globules rouges. Le fond des images est retiré par soustraction de la moyenne absolue des valeurs d'intensité sur le stack d'images entier de façon à ce que les objets mobiles soient plus de plus forte intensité. Les images en valeur de gris obtenues sont ensuite converties en images binaires par sélection d'un seuil optimal. La mesure de l'hématocrite est ensuite réalisée avec une fonction de détection de régions d'intérêt pour détecter les globules rouges et mesurer leurs aires. Une moyenne sur un stack de 1000 images est réalisée à laquelle est soustraite l'aire de la surface inaccessible aux globules (intérieurs des mailles) pour obtenir l'hématocrite réel. Le tracé de trajectoires des globules rouges est effectué grâce à une projection des minima d'intensité pour un stack de deux images. La taille du stack est choisie de façon à pouvoir distinguer les globules dans des conditions à forte concentration en globules et de forte pression.

4. Résultats

4.1. Caractérisation des circuits

Biocompatible, transparent et perméable à l'air, le PDMS est fortement utilisé en microfluidique depuis une vingtaine d'années grâce à ses nombreuses qualités. Cependant, le PDMS est également connu pour ses capacités à se déformer lorsqu'il est sujet à de fortes pressions. Dans de telles conditions, la taille des circuits moulés peuvent être modifiés et il est donc nécessaire de caractériser la déformabilité du système microfluidique utilisé lorsqu'une étude sur la relation pression-débit est menée [12]. Fig 6 montre ainsi le débit mesuré en fonction de la différence de pression fixée pour l'écoulement d'une solution de PBS et d'OPTIPREP dans le cas d'un circuit de Voronoï et d'un circuit de type réseau 1. Autant pour le circuit de Voronoï que pour le circuit de type nid d'abeille, les points de mesure ne s'écartent que faiblement des fits linéaires et ce uniquement pour des hautes pressions. L'écoulement d'un fluide simple dans les réseaux peut ainsi être décrit comme un écoulement de Poiseuille avec une relation $Q = \frac{\Delta P}{R_{totale}}$ où R_{totale} , résistance équivalente pour la puce microfluidique, est une

constante. La dilatation des canaux due à la déformation du PDMS lors de l'écoulement peut ainsi être considérée comme absente à faibles pressions. L'appellation "série" désigne une série de mesures, elles sont réalisées sur la même puce, à la suite. Les deux séries représentées pour le circuit de Voronoï ayant des valeurs similaires, cela montre ainsi que les mesures sont reproductibles. Le terme de "moule" quant à lui désigne la puce utilisée (moulage). A partir d'un même moule en silicium, il est possible de produire un grand nombre de puces microfluidiques qui sont censées être identiques. Les données issues d'écoulements dans les 2ème et 3ème moulages (points bleus et jaunes) sont assez similaires et l'approximation peut être faite que travailler avec deux moulages différents de la même puce est équivalent à travailler avec la même puce. Le décalage de la série de mesures du 1er moulage peut être attribué à la présence de débris de PDMS dans le réseau augmentant ainsi la résistance de la puce. Au vu de la reproductibilité et de la linéarité des mesures ainsi que pour souci de clarté, seule une courbe moyenne des fits linéaires des différentes séries ou moulages sera représentée dans la suite des résultats.

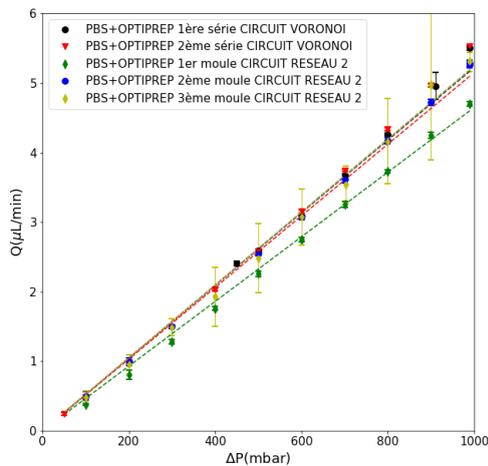


Fig 6. Mesures débit-pression d'un écoulement d'une solution tampon de PBS/Optiprep pour les deux types de canaux étudiés. Les droites discontinues représentent les fits linéaires de chaque série de valeurs. Le terme "série" désigne une série de mesures. Une différence entre deux séries de mesure démontre alors une hystérésis du phénomène observé ou un changement entre les deux séries (déposition de cellules ou bouchage par débris de PDMS par exemple). Tous les moulages réalisés depuis la même plaquette de silicium sont normalement identiques bien qu'ils correspondent à des puces microfluidiques différentes.

4.2. Écoulements de suspensions sanguines

Après avoir caractérisé les puces microfluidiques avec un fluide simple, des expériences utilisant des suspensions sanguines à différentes

concentrations en hémocrite et différents types de réseaux ont été réalisées. Dans les canaux de Voronoï, l'écoulement d'une solution de sang humain équilibrée à 20% d'hémocrite révèle une non linéarité de la relation entre le débit et la pression à partir de 400 mbar (Fig 7a). Bien que présentant des débits plus faibles suite à une déposition de cellules, la deuxième série de valeurs montre aussi cette courbure.

Ce phénomène a également été observé avec les puces de réseaux à deux niveaux (Fig 7b). Cependant, cette non linéarité n'a été observée que pour l'écoulement de solution à 40% d'hémocrite. La courbe obtenue dans le cas d'une solution sanguine à 10% d'hémocrite est linéaire et sa pente est semblable à celle de la courbe obtenue pour l'écoulement de la solution de PBS/Optiprep. Les points correspondant à des pressions de 900 mbar et 990 mbar de cette courbe semblent ne plus suivre la relation linéaire, cela peut être expliqué par une déposition de cellules au cours de la mesure réduisant le diamètre des canaux et augmentant ainsi la résistance à l'écoulement. Seul le comportement aux faibles pressions a pu être relevé dans le cas d'une solution à 20% d'hémocrite pour ce type de puces.

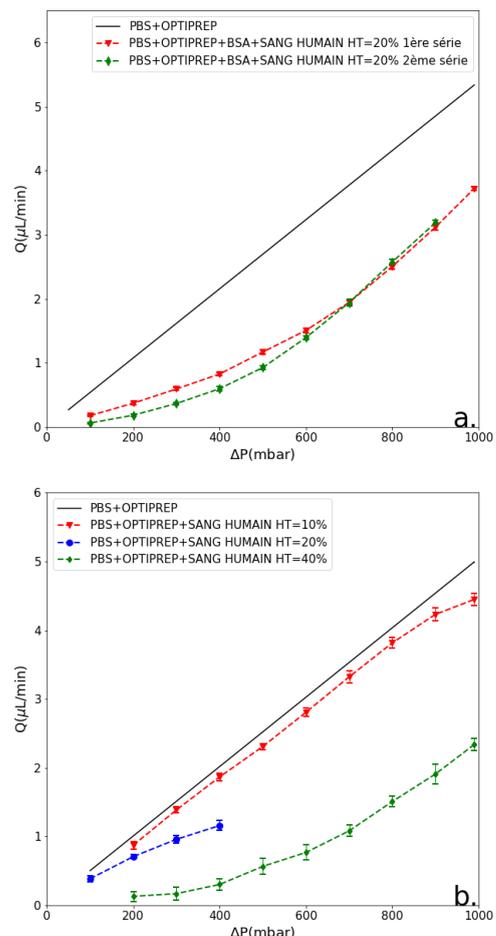


Fig 7. Courbes débit-pression de suspensions sanguines à différents

hématocrites pour a. un circuit de type Voronoï, b. un circuit de type réseau 2

Afin de séparer le rôle des suspensions sanguines et celui de la géométrie des circuits dans les résultats obtenus, la résistance des écoulements de suspensions sanguines a été normalisée par la résistance de l'écoulement du fluide simple de caractérisation (Fig 8a et b) et tracée en fonction du débit mesuré. Les courbes continues correspondent aux fits linéaires. Ces figures mettent en évidence une dépendance de la résistance avec le débit. En effet Fig 6a et la courbe correspondant à la suspensions à 40% d'hématocrite de Fig 8b montrent une diminution de la résistance avec le débit qui semble une loi de puissance. En augmentant le débit, le ratio $R_{sang}/R_{PBS+OPTIPREP}$ se rapproche de 1 et les suspensions semblent donc résister de moins en moins à l'écoulement dans le réseau. La résistance normalisée de la suspension sanguine à 10% d'hématocrite (Fig 8b courbe rouge) varie très faiblement et peut être approximée comme étant constante ce qui signifie que cette solution fortement diluée suit un comportement semblable à celui d'un fluide simple dans le réseau quelque soit le débit, à viscosité légèrement plus élevée que celle de la solution de PBS/Optiprep. Les données illustrant le comportement de la suspension à 20% d'hématocrite dans le circuit type nid d'abeille (Fig 8b courbe bleue) indiquent une augmentation de la résistance avec le débit. Cette augmentation est due à la déposition cellulaire rétrécissant le diamètre effectif des canaux. En faisant l'analogie avec un écoulement de Poiseuille simple dans un tube de diamètre D , il est facilement compréhensible que la résistance hydrodynamique soit très sensible au diamètre des canaux puisque dans un écoulement de Poiseuille $R = f(D^4)$.

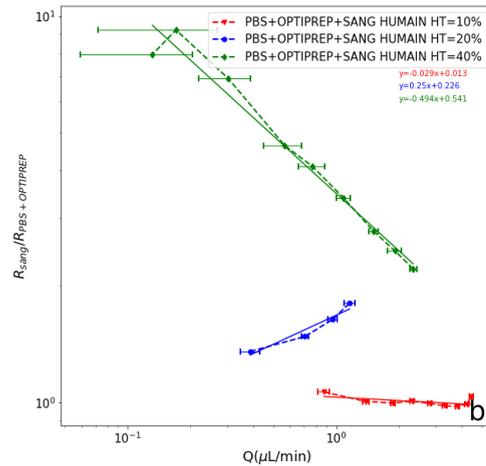
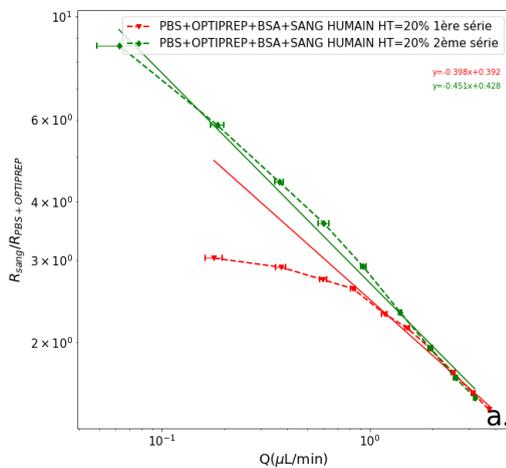


Fig 8. Résistances des écoulements de suspensions sanguines normalisées par les résistances de l'écoulement d'un fluide simple dans le même réseau en fonction du débit mesuré. a. circuit Voronoï, b. circuit nid d'abeille de type 2. en échelle log/log. Les courbes continues correspondent aux fits linéaires des données.

4.3. Comportement à l'échelle du réseau

Au cours des expériences, des vidéos de l'écoulement des suspensions sanguines dans le réseau ont été prises afin d'étudier les phénomènes observés à l'échelle des globules. La figure 8 présente ainsi l'hématocrite calculé sur une portion de réseau nid d'abeille 8 (Fig 9) de $297.67 \times 238.14 \mu\text{m}^2$ pour deux suspensions sanguines de concentration différentes. Dans les deux cas, la concentration en globules rouges augmente avec la pression jusqu'à atteindre un plateau où l'hématocrite semble se stabiliser. Pour la suspension la plus diluée, l'hématocrite semble se stabiliser à une valeur proche de l'hématocrite du réservoir (Fig 10). Il est important de préciser que les valeurs de débit mesurées correspondant aux écoulements dont proviennent ces courbes ne sont pas très stables et qu'il est probable que des dépôts de cellules soient à l'origine de l'arrêt de l'augmentation de l'hématocrite visible sur les deux courbes.

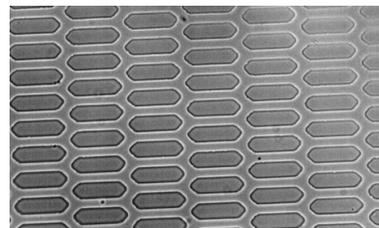


Fig 9. Photographie en grossissement x60 du réseau 8 type nid d'abeille ayant servi pour les écoulements dont les mesures d'hématocrite sont présentées en Fig 8.

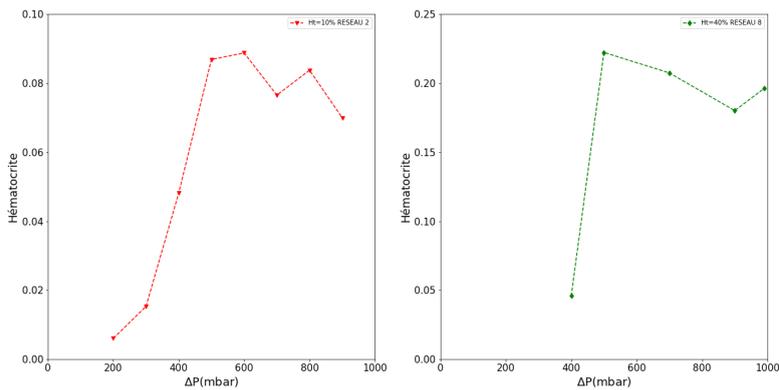


Fig 10. Hématocrite en fonction de la différence de pression fixée dans un réseau type nid d'abeille (8) pour une suspension sanguine à 10% d'hématocrite (à gauche) et 40% d'hématocrite (à droite)

De plus, l'augmentation de l'hématocrite avec la pression est visible directement sur les différentes vidéos d'écoulements réalisées (Fig 11).

Les images présentées en Fig 11 illustrent les trajectoires des cellules d'une suspension à 40% d'hématocrite pour un temps de 2 ms (stack de 2 images pour un framerate de 502 fps) pour une pression de 400 mbar (à gauche) et de 990 mbar (à droite). Ces images mettent en évidence la corrélation entre l'hématocrite global du réseau et la pression à la source de l'écoulement puisque la concentration en globules rouges semble plus élevée sur la projection réalisée sur les images de l'écoulement à 990 mbar que sur celle réalisée à plus faible pression. Cependant, ces images montrent également une différence de dynamique locale des globules. En effet, la vitesse des globules à faible pression est non seulement plus faible que celle des globules soumis à un écoulement à forte pression mais également répartie de façon homogène sur le réseau. A l'inverse, les vitesses des globules sont réparties de façon hétérogène comme l'illustrent les différentes trajectoires à 990 mbar. Cet effet semble être dû à l'hétérogénéité de la répartition des globules rouges dans les canaux. La pression à la source de l'écoulement a également une influence sur la déformation des globules car la forme de parachute est prédominante sur la Fig 11 à faible pression tandis que la forme de slipper est la forme la plus représentée dans l'écoulement à forte pression.

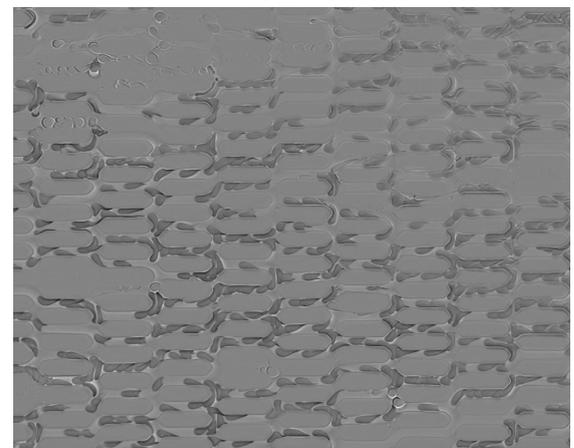
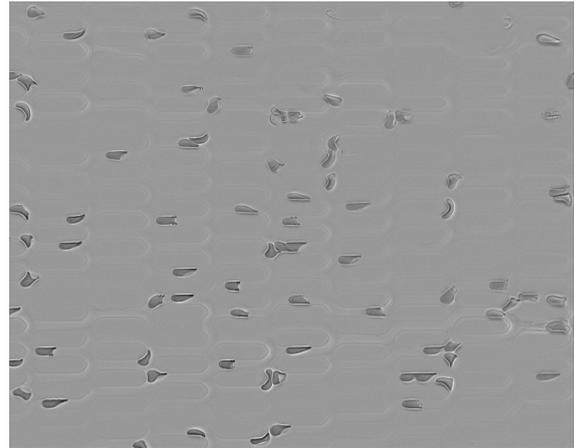


Fig 11. Trajectoires suivies par des globules rouges pendant un temps de 2 ms pour une suspension sanguine à 40% d'hématocrite à 400 mbar (en haut) et 990 mbar (en bas).

5. Discussion

Un réseau pouvant être décrit comme un assemblage de tubes interconnectés, la relation entre la pression et le débit de fluide sortant d'un réseau devrait être similaire à une simple loi de Poiseuille et ainsi être linéaire. De plus, cette relation linéaire a déjà été observée au cours de travaux semblables à ceux effectués lors de ce stage [3]. Cependant, les résultats obtenus au cours de cette étude effectuée sur des suspensions sanguines montrent une relation pression-débit qui présente un profil non linéaire à partir de 400 mbar (Fig. 7) et dont la résistance normalisée à l'écoulement dépend du débit (Fig.8). De par sa définition, cette résistance normalisée par celle du milieu de suspension des globules peut être reliée directement à la viscosité apparente de la suspension. Les résultats obtenus démontrent alors une viscosité apparente variant avec le taux de cisaillement auquel est assimilé le débit. A première vue, ce constat ne semble pas surprenant car le sang est connu pour sa nature rhéofluidifiante. Cependant, les expériences sont

réalisées à des taux de cisaillement supérieurs à $10^3 s^{-1}$ et la viscosité apparente est constante pour une telle gamme de cisaillement [4]. Après avoir écarté la dilatation des canaux de PDMS comme source de cette non-linéarité (Fig 6), il est naturel de se questionner quant à l'origine de ce phénomène. Les suspensions fortement diluées d'hématocrite à 10% ne semblent pas être sujettes à ce phénomène et montrent une résistance à l'écoulement quasiment constante (Fig 5b et 6b) ce qui correspond donc au comportement d'un fluide simple, dont la viscosité est légèrement supérieure à celle de la solution tampon dans laquelle elle est diluée grâce à la présence de quelques globules. Il apparaît alors évident que ce phénomène est directement relié à l'hématocrite de la solution. Toutefois, il a été montré que pour des canaux de $5\mu m$ comme ceux constituant notre réseau, la viscosité apparente extraite de la relation entre différence de pression et débit ne dépend pas de l'hématocrite de la solution injectée (Fig 12 [13]). De plus, une baisse de la résistance apparente avec l'augmentation du débit par l'effet Fahraeus se traduirait par une diminution de l'hématocrite et non par une augmentation comme il a été observé (Fig 10).

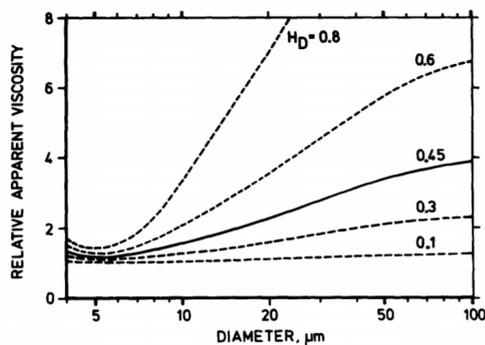


Fig 12. Viscosité apparente en fonction du diamètre du tube pour plusieurs suspensions de globules rouges à différents hématocrites. Les valeurs proviennent d'expériences menées sur des capillaires droits.

Ce comportement non linéaire à l'échelle du fluide semble donc trouver sa source à l'échelle locale des globules dans le réseau. L'augmentation de la pression à laquelle est soumis le fluide semble augmenter la concentration en globules dans le réseau mais également faire apparaître une hétérogénéité des vitesses des globules dans le réseau. En effet, à forte pression, les cellules semblent s'arrêter et se déformer plus fréquemment au niveau des bifurcations du réseau ce qui entraîne l'accumulation de globules rouges en amont d'une intersection qui se déplacent alors à vitesse très faible. Cette hétérogénéité de la répartition des globules pourrait ainsi des zones de faible

hématocrite où les globules se déplacent à vitesse plus élevée ce qui pourrait expliquer la diminution de la perte de charge traduite par la non linéarité. Nos résultats s'expliqueraient alors par les interactions entre les globules et le réseau lui-même.

Cependant, l'ensemble de données recueilli n'est pour l'instant pas suffisant pour comprendre l'origine de la diminution de la perte de charge avec le débit et des nouvelles expériences comparant les comportements à l'échelle macroscopique de suspensions s'écoulant dans des réseaux de même résistance hydrodynamique mais de géométrie différentes s'imposent. Ces expériences seront réalisées dans la suite de ce stage. De plus, des écoulements de suspensions de globules rouges dont les propriétés mécaniques sont altérées, comme des globules rouges d'individu atteints de drépanocytose ou même des globules de poulet dont le noyau réduit la déformabilité, vont également être menées afin de comprendre l'influence réelle de la déformabilité des globules rouges et de leurs comportements aux bifurcations sur la relation macroscopique entre le débit et la différence de pression.

6. Conclusions

Dans la continuité de plusieurs études sur les écoulements de suspensions sanguines dans des réseaux, cette étude a mis en évidence un phénomène jusqu'alors non observé de diminution de la perte de charge avec le débit. Bien que des études complémentaires soient nécessaires, notre travail démontre un lien direct entre la géométrie du réseau, le comportement des globules rouges et le comportement à l'échelle macroscopique du fluide et apporte ainsi de nouvelles informations pour la compréhension de la microcirculation.

D'un point de vue personnel, ce stage m'a permis de mener à bien un projet depuis la fabrication des canaux microfluidiques nécessaires aux expériences jusqu'à la mise en place et réalisation de ces expériences. Cette expérience m'a également fait découvrir le monde de la microfluidique, en particulier des écoulements sanguins, qui m'a beaucoup plu et dont le lien direct avec les applications médicales est fort intéressant.

8. Références

[1] J.M. Poiseuille. Recherches sur les causes du mouvement du sang dans les vaisseaux capillaires. Séance publique du 28 décembre 1835, Académie des Sciences, 1835.

- [2]Hagit Stauber, Dan Waisman, Netanel Korin, *and* Josué Sznitman , "Red blood cell dynamics in biomimetic microfluidic networks of pulmonary alveolar capillaries", *Biomicrofluidics* 11, 014103, 2017.
- [3]H. Stauber et al., Red blood cell (RBC) suspensions in confined microflows: Pressure-flow relationship, *Medical Engineering and Physics*, 2017.
- [4]Chien. Shear Dependence of Effective Cell Volume as a Determinant of Blood Viscosity. *Science*, vol. 168, no. 3934, pages 977–979, 1970.
- [5]Harry L. Goldsmith. The Microrheology of Red Blood Cell Suspensions. *The Journal of General Physiology*, vol. 52, no. 1, pages 5–28, 1968.
- [6]R. F^oahræus and T. Lindqvist. The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *American Journal of Physiology*, vol. 96, pages 562–568, 1931.
- [7]A. R. Pries, D. Neuhaus and P. Gaehtgens. Blood viscosity in tube flow : dependence on diameter and hematocrit. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, vol. 263, no. 6, pages H1770–H1778, 1992. PMID : 1481902.
- [8]M.F. Kiani and A.G. Hudetz. A semi-empirical model of apparent blood viscosity as a function of vessel diameter and discharge hematocrit. *Biorheology*, 28(1-2):65–73, 1991.
- [9]Y. C. Fung. *Biomechanics : mechanical properties of living tissues*. Springer, Berlin, 1993.
- [10]M Fenech, V Girod, V Claveria, S Meance, M Abkarian, B Charlot. Microfluidic blood vasculature replicas using backside lithography. *Lab on a Chip* 19 (12), 2096-2106
- [11]G.J. Tangelder, D.W. Slaaf, A.M. Muijtjens, T. Arts, M.G. oude Egbrink, and R.S. Reneman. Velocity profiles of blood platelets and red blood cells flowing in arterioles of the rabbit mesentery. *Circulation Research*, 59(5):505–514, November 1986.
- [12]T. Gervais, J. El-Ali, A. Günther and K. F. Jensen. Flow-induced deformation of shallow microfluidic channels. *Lab Chip*, vol. 6, pages 500–507, 2006.
- [13]A.R. Pries and T.W. Secomb. Blood flow in microvascular networks. *Comprehensive Physiology*, 2011.