



**HAL**  
open science

# Dispersion et temps de transit de globules rouges dans les capillaires et réseaux microcirculatoires

Sylvain Losserand

► **To cite this version:**

Sylvain Losserand. Dispersion et temps de transit de globules rouges dans les capillaires et réseaux microcirculatoires. Biophysique. Université Grenoble Alpes [2020-..], 2020. Français. NNT : 2020GRALY002 . tel-02940690

**HAL Id: tel-02940690**

**<https://theses.hal.science/tel-02940690v1>**

Submitted on 16 Sep 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## THÈSE

Pour obtenir le grade de

### DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

Spécialité : Physique pour les Sciences du Vivant

Arrêté ministériel : 25 mai 2016

Présentée par

**Sylvain LOSSERAND**

Thèse dirigée par **Thomas PODGORSKI**, Directeur de Recherche,  
Université Grenoble Alpes  
et codirigée par **Gwennou COUPIER**, Chargé de Recherche,  
Université Grenoble Alpes

préparée au sein du **Laboratoire Laboratoire Interdisciplinaire  
de Physique**  
dans l'**École Doctorale Physique**

**Dispersion et temps de transit de globules  
rouges dans les capillaires et réseaux  
microcirculatoires**

**Dispersion and transit times of red blood  
cells in capillaries and microcirculatory  
networks**

Thèse soutenue publiquement le **31 janvier 2020**,  
devant le jury composé de :

**Monsieur SIMON MENDEZ**

CHARGE DE RECHERCHE HDR, CNRS DELEGATION OCCITANIE  
EST, Rapporteur

**Madame ANNIE VIALLAT**

DIRECTRICE DE RECHERCHE, CNRS DELEGATION PROVENCE ET  
CORSE, Président

**Monsieur MARC LEONETTI**

CHARGE DE RECHERCHE, CNRS DELEGATION ALPES, Examineur

**Monsieur TANGUY LE BORGNE**

Professeur, UNIVERSITE RENNES 1, Rapporteur





## Remerciements

En premier lieu, je tiens à remercier profondément Thomas Podgorski et Gwenou Coupier. D'abord pour la confiance qu'ils m'ont donnée en m'acceptant comme thésard puis pour leur soutien tout au long de la thèse. La liberté qu'ils m'ont accordée et leurs nombreux conseils m'ont permis de réaliser et de mettre à l'épreuve de nombreuses expériences parfois fructueuses, parfois infructueuses mais qui m'ont toujours permis d'en apprendre un peu plus sur les écoulements sanguins.

Je tiens à remercier aussi toutes les personnes qui m'ont accompagné techniquement et scientifiquement. Je suis particulièrement reconnaissant à Danièle Centanni pour l'assistance apportée dans le domaine de la microfabrication, l'Établissement Français du Sang pour leur disponibilité et leur réactivité. J'aimerais aussi remercier toutes les personnes appartenant au GDR Mecabio : les conférences et les symposiums m'ont apporté énormément que ce soit scientifiquement ou personnellement.

Une thèse n'est pas seulement synonyme de travail mais est aussi synonyme de rencontres. Je remercie donc toute l'équipe DYFCOM pour les nombreuses discussions (scientifiques ou non) qui permettent d'égayer les journées. Je remercie aussi tous les co-thésards que j'ai eu la chance de côtoyer pendant ces trois ans et demi, je n'oublierai jamais les parties de tarot, les barbecues l'été et les nombreuses activités que nous avons faites ensemble.

Finalement j'aimerais remercier ma famille qui malgré leurs réticences devant l'idée d'effectuer une thèse, m'ont toujours soutenu dans ce long projet.

Enfin je remercie le CNES et le CNRS pour le financement de mes travaux.





# Table des matières

<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>1 Les écoulements sanguins</b>	<b>7</b>
1.1 Le sang . . . . .	7
1.1.1 Composition . . . . .	7
1.1.2 Le globule rouge . . . . .	8
1.2 Viscosité du sang . . . . .	12
1.2.1 Le sang : un fluide rhéofluidifiant . . . . .	12
1.2.2 Influence de la fraction volumique sur la viscosité du sang . . . . .	14
1.2.3 Influence du confinement : effet Fåhræus-Lindqvist . . . . .	15
1.3 Structuration du sang . . . . .	17
1.3.1 La couche de déplétion . . . . .	17
1.3.2 Le phénomène de margination . . . . .	19
1.3.3 Organisation spatiale . . . . .	20
1.4 Comportements aux bifurcations . . . . .	22
<b>2 Matériel et méthodes</b>	<b>25</b>
2.1 La microfluidique . . . . .	25
2.1.1 Un outil adapté . . . . .	25
2.1.2 Fabrication et contraintes . . . . .	26
2.2 Préparation des échantillons sanguins . . . . .	27
2.3 Acquisition et traitements d'images . . . . .	29
<b>3 Migration d'un globule rouge dans un canal</b>	<b>31</b>
3.1 Introduction . . . . .	31
3.2 Théorie sur la migration . . . . .	32
3.2.1 Migration transverse sous cisaillement simple . . . . .	33
3.2.2 Migration transverse dans un capillaire . . . . .	33
3.3 Méthode expérimentale . . . . .	34
3.3.1 Le circuit microfluidique . . . . .	34
3.3.2 Préparation des solutions . . . . .	35
3.3.3 Méthode expérimentale . . . . .	36
3.4 Résultats expérimentaux . . . . .	36
3.4.1 Vitesse longitudinale . . . . .	36
3.4.2 Vitesse transversale . . . . .	39

---

<b>4</b>	<b>Évolution d'un profil d'hématocrite le long d'un canal</b>	<b>47</b>
4.1	Introduction . . . . .	47
4.1.1	État de l'art . . . . .	47
4.1.2	Dispositif expérimental et méthodes . . . . .	49
4.1.3	Préparation des solutions . . . . .	50
4.1.4	Méthode expérimentale . . . . .	50
4.2	Résultats expérimentaux . . . . .	51
4.3	Discussion . . . . .	58
<b>5</b>	<b>Dispersion d'un bolus de globules rouges en écoulement confiné</b>	<b>61</b>
5.1	Introduction . . . . .	61
5.1.1	État de l'art . . . . .	62
5.1.2	Méthode expérimentale pour créer des nuages de globules rouges	65
5.2	Évolution d'un bolus dans un canal en 2D . . . . .	67
5.2.1	Montage expérimental et méthodes . . . . .	67
5.2.2	Résultats expérimentaux . . . . .	69
5.3	Évolution d'un bolus dans un réseau microfluidique ramifié . . . . .	79
5.3.1	Montage expérimental et méthodes . . . . .	80
5.3.2	Résultats expérimentaux . . . . .	80
	<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>85</b>
<b>A</b>	<b>Publication dans Microvascular Research : Migration velocity of reb blood cells in microchannels</b>	<b>89</b>
	<b>Bibliographie</b>	<b>97</b>

# Introduction

## Le système circulatoire

Le système circulatoire se compose d'un fluide : le sang. Celui-ci s'écoule dans un réseau fermé : les vaisseaux sanguins. Une pompe, le myocarde (ou coeur) et un système de valves imposent un écoulement unidirectionnel. Ce système assure principalement une fonction de transport. Les éléments véhiculés sont nombreux et de différentes natures : on peut citer des nutriments, des déchets, des informations (hormones...), de la chaleur, des gaz... Cette fonction est facilitée par une architecture complexe et ramifiée qui permet d'alimenter efficacement les tissus dans tout le corps humain.

La circulation sanguine est généralement segmentée selon divers critères. Une de ces segmentations consiste à séparer le système circulatoire en deux sous-ensembles en fonction du nombre de Reynolds de l'écoulement [Fung 1990]. Le nombre de Reynolds aussi noté  $Re$  compare les effets visqueux aux effets inertiels ( $Re = uD/\nu$  où  $u$  est une vitesse caractéristique,  $D$  représente une longueur caractéristique enfin  $\nu$  est la viscosité cinématique moyenne du fluide), un  $Re \ll 1$  indique un écoulement dominé par les forces visqueuses aussi appelé écoulement de Stokes tandis qu'un  $Re \gg 1$  indique un écoulement inertiel. Le premier sous-ensemble, la macrocirculation, comprend l'ensemble des gros vaisseaux où  $Re \gg 1$  (artères, veines). La macrocirculation a pour principale fonction de transporter le sang entre les différents organes ou les autres tissus. Par contraste, le deuxième sous-ensemble, la microcirculation, est composée de l'ensemble des petits vaisseaux dont le diamètre est  $\leq 100 \mu\text{m}$  (artérioles, capillaires, veinules) et au sein duquel  $Re \ll 1$ . C'est au niveau de la microcirculation que se déroulent les échanges entre le sang et les tissus. Topologiquement, les vaisseaux sanguins forment un système multi-échelle, dense et très hétérogène dont la compréhension représente un défi en physique. Le tableau 1 donnent des ordres de grandeur pour différents types de vaisseaux. Les vaisseaux de la microcirculation (soulignés en bleu dans le tableau) sont les plus nombreux, ont la plus grande surface de section et sont les plus petits. Ces caractéristiques permettent de maximiser la surface totale de contact entre le sang et les tissus.

Sur le plan anatomique, les vaisseaux composant le réseau microcirculatoire sont tapissés d'une seule couche de cellules endothéliales. Les artérioles et les pré-capillaires sont en partie cerclés par des léiomyocytes (muscles lisses), leur but est de contrôler le diamètre de ces vaisseaux, permettant ainsi de réguler la perfusion de l'arbre capillaire sous jacent (vasodilatation ou vasoconstriction). La microcirculation sanguine présente une géométrie complexe avec d'importantes hétérogénéités

vaisseaux	nombre	diamètre (mm)	surface de section (cm <sup>2</sup> )	$u$ (mm s <sup>-1</sup> )	Re
aorte	1	25	4,5	400	3000
artères	$\sim 300$	4	20	100-400	500
artérioles	$\sim 0.5 \times 10^6$	0,06	400	1-100	0,7
capillaires	$\sim 10 \times 10^9$	0,007	6000	$\leq 1$	0,002
veinules	$\sim 1 \times 10^6$	0,04	800	$\leq 3$	0,01
veines	$\sim 600$	10	40	3-50	150
veine cave	$\sim 2$	45	18	50-300	3000

TABLE 1 – Tableau comparatif du nombre de vaisseaux, des diamètres moyens, des surfaces totales de sections, des vitesses moyennes et des nombres de Reynolds estimés pour différents types de vaisseaux sanguins (d’après [Sherwood 2012b, Nelson 2010]). Les vaisseaux surlignés en bleu appartiennent à la microcirculation.

géométriques (orientations, longueurs, épaisseurs des vaisseaux), de plus son organisation structurale peut varier de manière importante au sein du même organe. La figure 1 tirée des travaux de thèse de Guibert [Guibert 2009] est une reconstruction tridimensionnelle à partir d’images obtenues par micro-tomographie à rayon X, du réseau microvasculaire d’une partie du cortex cérébral d’un primate (28 mm<sup>2</sup> sur une profondeur de 3.3 mm). Cette reconstruction permet de se rendre compte de l’hétérogénéité de la microcirculation mais aussi de la densité importante de vaisseaux ( $\approx 16\,000$  segments) et d’interconnexions ( $\approx 12\,000$  bifurcations).

De par la petite taille de ce réseau, sa structure ramifiée non plane et la difficulté de contrôler les paramètres physiques du système (pressions, débits...), l’étude des écoulements in vivo dans les réseaux microvasculaires reste un défi. Malgré tout, des les années 1830 des médecins et physiciens se sont employés à mettre en place des modèles phénoménologiques pour décrire les différents phénomènes observés : débit et couche de déplétion [Poiseuille 1835], diminution de la concentration et de la viscosité du sang dans les petits vaisseaux [Fåhræus 1931], loi de séparation des globules rouges aux intersections [Pries 1989]. Depuis les années 2000, l’avènement de la microfluidique et l’amélioration exponentielle des capacités de calcul ont permis de réaliser plus facilement qu’auparavant des études quantitatives sur des systèmes d’écoulements simples aux conditions bien contrôlées et de relancer ainsi l’étude des écoulements sanguins. Ces deux modes d’investigation complémentaires permettent de sonder plus facilement les lois fondamentales régissant les écoulements sanguins aux petites échelles.

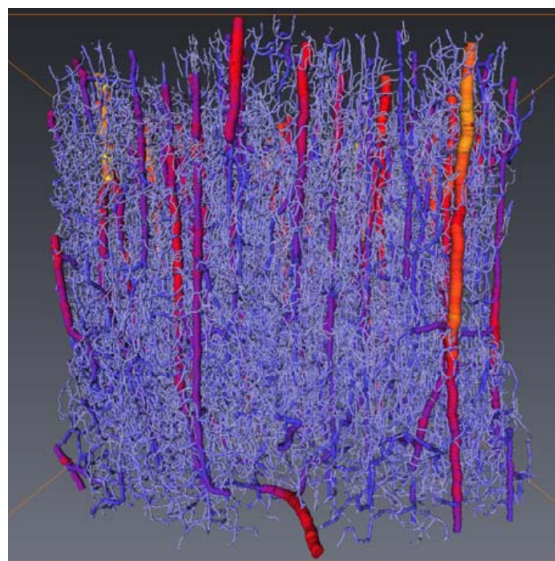


FIGURE 1 – Reconstruction 3D d’une partie du cortex cérébral d’un primate. Le code couleur indique le diamètre des vaisseaux, allant du rouge pour les plus larges vaisseaux (supérieur à  $80\ \mu\text{m}$ ) au bleu pour les plus petits (environ  $5\ \mu\text{m}$ ).

## Présentation de la thèse

L’étude et la compréhension, dans la microcirculation, des écoulements sanguins n’a pas seulement un intérêt purement médical. En effet les écoulements sanguins se rattachent à la thématique plus générale des écoulements confinés de suspensions, qui est reliée à de nombreuses applications industrielles et est à l’origine de nombreuses innovations dans le domaine des procédés, de la chimie... Pour autant, la connaissance de ce type d’écoulement et particulièrement la compréhension des écoulements sanguins reste parcellaire : il s’agit en effet d’un problème multifacettes dont les nombreux couplages rendent l’étude particulièrement compliquée. Pour améliorer les connaissances sur le sujet et faciliter l’analyse des observations il est ainsi nécessaire de passer en premier lieu par des études hiérarchisées séparant les différents phénomènes multi-échelles. Les recherches menées sur les écoulements sanguins s’intéressent ainsi généralement aux échelles microscopiques avec l’étude du comportement et de la déformation de globules rouges isolés. Mais aussi, aux échelles macroscopiques avec l’étude de la rhéologie globale de ses suspensions. Enfin, de nombreuses études s’intéressent aux échelles intermédiaires par l’analyse des structurations observées dans les écoulements, des interactions que subissent les globules rouges, de l’influence des intersections sur les écoulements et la répartition des globules rouges.

Ce travail de thèse s’inscrit dans cette approche d’observer des phénomènes en environnement contrôlé aux échelles microscopiques et intermédiaires. Une idée directrice à l’origine de ce travail est de comprendre et de modéliser différents effets

qui jouent un rôle sur le temps de transit des globules rouges au sein d'un organe. En effet ce temps de transit est non seulement dépendant du trajet du globule rouge au sein d'un réseau microcapillaire mais également de la vitesse moyenne de ce même globule rouge. Cette vitesse dépend principalement de la position de celui-ci dans la section des vaisseaux. Le travail présenté ici s'intéresse donc particulièrement à l'évolution de la position des globules rouges au sein de canaux. L'influence de différents paramètres tels la concentration et le confinement sur la trajectoire est étudiée. La majorité des modèles historiques décrivant les écoulements sanguins sont des modèles en régime stationnaire qui ne prennent pas en compte les états transitoires. Or dans la microcirculation in-vivo, les distances entre bifurcation du réseau capillaire suggèrent que l'état stationnaire n'est pas nécessairement atteint. Cette thèse s'intéresse ainsi principalement aux états non stationnaires et à la dynamique de différents phénomènes : l'étude de leurs temps caractéristiques permet ainsi de montrer leur importance dans la microcirculation. En effet les résultats présentés dans cette thèse confirment que la majorité des écoulements dans la microcirculation sont probablement dans des états transitoires et que ces états transitoires ont un rôle très important dans la distribution des globules rouges au niveau des bifurcations.

Le présent manuscrit est organisé selon le plan suivant :

- Un état de l'art général des connaissances sur les écoulements sanguins et une présentation des concepts et phénomènes déjà observés sont introduits dans le premier chapitre. Ce chapitre décrit en premier lieu la représentation physique des globules rouges. Une description de la rhéologie est présentée dans la suite, l'influence des globules rouges et du confinement sur la viscosité est aussi discutée. La section suivante présente les résultats de travaux décrivant la structuration du sang et les origines de celle-ci. Les concepts de migration, de couche de déplétion et de margination sont notamment présentés ici. La dernière partie de ce chapitre présente le comportement des globules rouges au niveau des intersections.
- Le chapitre deux présente les méthodes et outils expérimentaux utilisés durant cette thèse. La première partie décrit les techniques de microfabrication et leurs limites. La section suivante liste la composition des différents de solutions utilisées durant cette thèse. Finalement la dernière partie présente les bases de l'analyse d'images utilisées dans cette thèse.
- Le troisième chapitre présente les premiers résultats expérimentaux obtenus durant cette thèse. Par l'utilisation d'une suspension diluée et à l'aide d'un montage expérimental basé sur une intersection en T, la dynamique de migration des globules rouges est analysée en fonction de leur déformabilité et de leur confinement. À partir de ces résultats une loi de migration décrivant le déplacement latéral des globules rouges est proposée.
- La dynamique d'évolution du profil de concentration d'hématocrite et de

la couche de déplétion à la suite d'une intersection est présentée dans le quatrième chapitre. Une description de cette évolution est permise grâce à l'utilisation de différents paramètres. À partir de ceux-ci, la distance caractéristique nécessaire pour obtenir un état stationnaire dans des vaisseaux en fonction de l'hématocrite et du confinement est extraite.

- Le chapitre cinq présente la dispersion de nuages de globules rouges dans différentes géométries. La première section présente la dispersion de nuages de globules rouges au sein de canaux pseudo-2D (canaux avec des grands rapports d'aspect) en fonction de différents paramètres telle la concentration et la déformabilité des globules rouges. À partir du modèle présenté dans le chapitre 3, on montre qu'il est possible d'extraire des informations sur les propriétés mécaniques des globules rouges du nuage par la seule mesure de l'évolution de sa taille. Des résultats préliminaires décrivant l'évolution de bolus dans un canal rectiligne à section carrée et dans un réseaux de capillaires sont aussi présentés. Ces résultats permettent de discuter de l'influence des bifurcations sur le temps de transit.





# Les écoulements sanguins

---

Le sang est une suspension biologique. Les suspensions sont généralement des fluides complexes dont les comportements et propriétés rhéologiques dépendent fortement des caractéristiques mécaniques et physicochimiques des objets suspendus. Les globules rouges, représentant la principale population des cellules suspendues, exercent une influence importante sur les comportements du sang de par leurs propriétés particulières. Enfin, les dimensions de la microcirculation (diamètre des vaisseaux) qui sont comparables aux éléments figurés du sang entraînent de nouveaux phénomènes. Ceux-ci sont généralement locaux et ne peuvent être expliqués par la seule mesure de valeurs macroscopiques. Ainsi la compréhension des observations faites sur le sang passe par une étude approfondie et une meilleure modélisation du comportement local des globules rouges.

## 1.1 Le sang

Le sang est le liquide s'écoulant à l'intérieur des vaisseaux sanguins. D'un point de vue biologique il s'agit de l'un des rares tissus conjonctifs liquides du corps humain. D'un point de vue physique il s'agit d'une suspension formant un fluide complexe aux propriétés mécaniques encore mal comprises dont la rhéologie est fortement dépendante de l'état et de la concentration en globules rouges ainsi que de nombreux paramètres physico-cliniques du plasma sanguin.

### 1.1.1 Composition

D'un point de vue biologique, le sang est un tissu constitué d'une cohorte de cellules baignant dans un liquide : le plasma. Les cellules sanguines, aussi appelées éléments figurés du sang, représentent environ  $45\% \pm 10\%$  du volume sanguin total chez l'Humain. Ce pourcentage est très variable d'un individu à l'autre : le sexe et l'hygiène de vie (activité, nourriture...) ont un important effet sur celui-ci. De plus ce pourcentage peut évoluer au cours du temps au sein du même individu : l'âge et l'évolution de l'état de santé peuvent modifier ce ratio.

## Le plasma

Le plasma est un liquide majoritairement constitué d'eau (90% du volume), le volume restant étant composé de solutés de diverses natures. On classe généralement les solutés présents dans le sang en fonction de leur famille chimique : les solutés organiques regroupent l'ensemble des protéines, des nutriments (lipides, glucides...) et des déchets métaboliques, les solutés gazeux comprennent les gaz respiratoires (principalement le  $O_2$  et le  $CO_2$ ), enfin les solutés minéraux comprennent les ions tel que le  $Na^+$  et le  $Cl^-$ .

Le plasma a des propriétés physiques proches de l'eau : il s'agit d'un liquide newtonien peu compressible dont la viscosité sous cisaillement, du même ordre de grandeur que l'eau, est comprise entre 1.3 et 1.7 mPas à 37 °C [Mayer 1966]. Des études récentes tendent à montrer que le plasma pourrait être visco-élastique dans des écoulements élongationnels [Brust 2013]. L'action de certaines protéines (l'albumine principalement) et de certains ions permet de maintenir un pH très stable compris entre 7.35 et 7.45 au niveau des artères.

## Les éléments figurés du sang

Les éléments figurés du sang forment trois familles, chacune d'elles possédant des rôles précis et un phénotype particulier :

- les érythrocytes ou globules rouges, ou encore hématies, constituent la grande majorité des éléments figurés du sang (98 %). Leur part dans le volume sanguin total (aussi appelé hémocrite, noté  $\Phi$  ici) est de l'ordre de 45 %. Ces cellules ont pour principale mission le transport des gaz ( $O_2$ ,  $CO_2$ ).
- les thrombocytes ou plaquettes sanguines sont à l'origine des fragments de mégacaryocytes, ils ont un rôle primordial dans la coagulation sanguine. Ils représentent 0.4 % du volume sanguin.
- les leucocytes ou les globules blancs forment une grande famille de différents types cellulaires qui participent tous au système immunitaire. En conditions physiologiques normales leur part volumique n'excède pas 0.1 %.

### 1.1.2 Le globule rouge

Les globules rouges, de par leur importante fraction volumique jouent un rôle prépondérant dans les propriétés mécaniques du sang. De plus lorsque le diamètre des vaisseaux se rapproche de leur taille leur influence est d'autant plus forte . Alors que dans la macrocirculation, le sang peut être considéré comme un fluide homogène, dans la microcirculation, où les diamètres des vaisseaux sont de l'ordre de grandeur de ceux des globules rouges, la compréhension des écoulements nécessite une analyse approfondie de la dynamique de ceux-ci.

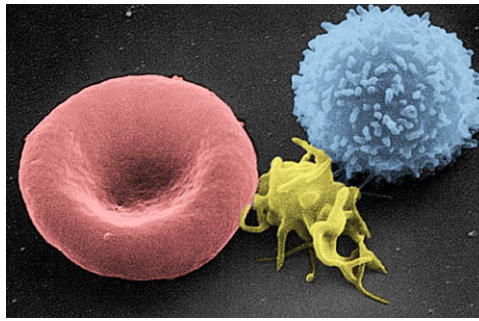


FIGURE 1.1 – Image obtenue à partir d’un microscope électronique montrant un représentant de cellule de chaque famille, de gauche à droite : un érythrocyte, un thrombocyte et un leucocyte (source : Wikipedia common).

### 1.1.2.1 Description

Les globules rouges humains ont un diamètre moyen de  $7.2 \mu\text{m}$  et forment des disques biconcaves (Fig. 1.1) : la région centrale est épaisse au minimum de  $0.8 \mu\text{m}$  tandis que la région externe est épaisse au maximum de  $2.6 \mu\text{m}$  [Plebani 2012]. Le volume total de cette cellule est de  $\mathcal{V} = 95 \pm 10 \text{ fL}$  pour une aire de surface de  $\mathcal{A} = 134 \pm 12 \mu\text{m}^2$  [Gifford 2003]. Le volume réduit  $V = 3(4\pi)^{1/2}\mathcal{V}/\mathcal{A}^{3/2}$  compare le volume de l’objet avec le volume d’une sphère de même surface (ainsi un index de 1 correspond à une sphère). Le dégonflement des globules rouges mesuré par le volume réduit se situe aux alentours de 0.65 [Canham 1968]. Ainsi en condition physiologique où  $\mathcal{A}$  et  $\mathcal{V}$  restent constants, les globules rouges peuvent facilement se déformer et prendre de multiples configurations en fonction des contraintes externes (confinement, cisaillement...). Une grande partie des pathologies affectant les globules rouges modifient leur géométrie (celle-ci étant souvent accompagnée d’une modification de leurs propriétés mécaniques). Ceux-ci peuvent grossir (macrocytose), rétrécir (microcytose), perdre leur forme de discocytes et prendre de nouvelles formes (elliptocytose, sphérocytose...). Ainsi les globules rouges se rigidifient et prennent une forme de faucille lorsqu’ils sont atteints de drepanocytose (globule rouge falciforme), leurs membranes deviennent granuleuses et moins élastiques lors de leur vieillissement ou en réaction à certains signaux chimiques (échinocytes) [Turgeon 2004].

### 1.1.2.2 Composition

Les hématies sont produites dans la moelle osseuse et ont une espérance de vie comprise entre 90 et 120 jours. Ces cellules ont la particularité d’être dépourvues d’un noyau, de posséder peu d’organites et d’avoir une faible teneur en eau (60 % environ). En contrepartie leur cytoplasme contient une importante quantité d’hémoglobines (30 à 35 % de la masse totale du globule rouge [Rosen 1967]). Cette

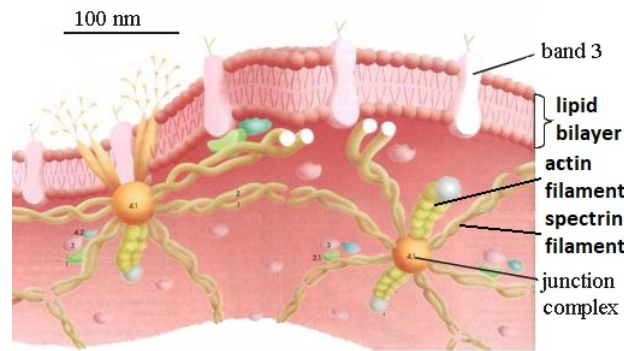


FIGURE 1.2 – Schéma représentant la bicouche lipidique et le réseau du cytosquelette.

molécule est un complexe métalloprotéique capable de fixer le  $O_2$  dans les poumons et de le relarguer dans les tissus. Le fer contenu dans cette molécule donne la caractéristique couleur rouge à ces cellules. Le cytosquelette des globules rouges est assez particulier puisqu'il se concentre sous la surface de la bicouche lipidique. Il est composé principalement de filaments de spectrine. Ceux-ci forment un maillage pseudo-hexagonal dense où les mailles formées de complexes protéiques et de courts filaments d'actines (37 nm) relient les différents filaments de spectrines entre eux et à la bicouche lipidique [Lux 2016].

### 1.1.2.3 Déformation et comportement des hématies sous écoulement

Malgré une relative simplicité biologique, les globules rouges possèdent une phénoménologie de comportements et de déformations très riche. Ces comportements dépendent d'une multitude de facteurs (type d'écoulement, importance du confinement) mais aussi des caractéristiques particulières du globule rouge : son volume réduit inférieur à 1 et ses propriétés mécaniques. De plus la compréhension de la physique des globules rouges ne se limite pas à de la curiosité scientifique mais permet aussi le développement d'applications médicales notamment dans le domaine du diagnostic.

**Représentation physique** Pour permettre de conserver une aire de surface et un volume constants, le globule rouge est habituellement représenté par le physicien ou le mécanicien comme un objet contraint. La membrane est caractérisée par un module élastique, il est généralement admis que la dilatation de son aire est négligeable, ainsi l'énergie de celle-ci ne peut provenir que de l'énergie de courbure [Deuling 1976, Canham 1970]. Cette énergie lui impose une forme discoïde au repos. Le globule rouge est délimité par une membrane visco-élastique de surface constante et d'épaisseur négligeable. Le module de cisaillement de la paroi  $G$  provient du cytosquelette sous-membranaire et est estimé autour de  $6 \mu\text{N m}^{-1}$ . Son exacte valeur

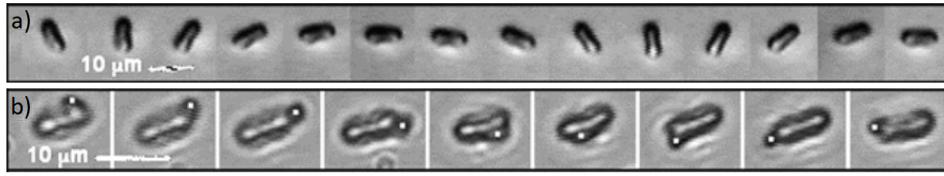


FIGURE 1.3 – Globules Rouges soumis à du cisaillement,  $\lambda = 1/47$ . La série d’images a) est prise sous un cisaillement de  $6 \text{ s}^{-1}$ , une particule fixée sur la membrane permet d’observer le mouvement de chenille de char. La série d’images b) est prise sous un cisaillement de  $0.8 \text{ s}^{-1}$  et montre le ”tumbling” d’un globule rouge [Abkarian 2008]

est sujette à caution et dépend de la façon de la calculer à partir des mesures : l’utilisation de pinces optiques donne  $G = 2,5 \pm 0,4 \text{ } \mu\text{N m}^{-1}$  [Hénon 1999] tandis que  $G$  a été estimé aux alentours de  $10 \text{ } \mu\text{N m}^{-1}$  par la mesure de la déformation de globules rouges soumis à un écoulement en cisaillement [Hochmuth 1973]. Enfin l’utilisation de pipettes aspirantes donnent des résultats compris entre 4 et  $10 \text{ } \mu\text{N m}^{-1}$  [Lelièvre 1995, Evans 1984]. Le fluide interne est considéré comme newtonien et possède une viscosité  $\mu_i \sim 6 \text{ mPas}$  à  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  et  $\mu_i \sim 15 \text{ mPas}$  à  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  [Kelemen 2001, Chung 1994]. De cette valeur on peut extraire le contraste de viscosité  $\lambda = \mu_i/\mu$  où  $\mu$  est la viscosité du fluide externe. En condition physiologique sa valeur se situe autour de 5. On introduit généralement  $R_0 = \sqrt[3]{3/4\pi \mathcal{V}} \sim 2.8 \text{ } \mu\text{m}$ , le rayon caractéristique d’un globule rouge correspondant au rayon équivalent d’une sphère de même volume.

**Comportement des globules rouges** Le globule rouge n’étant pas une particule solide, la paroi et le cytoplasme peuvent avoir une dynamique propre. Il existe une importante phénoménologie liée aux mouvements de fluides à l’intérieur des globules rouges, les comportements dépendant principalement du cisaillement imposé et du rapport de viscosité  $\lambda$ . Ainsi à faible cisaillement et à fort  $\lambda$  on peut observer un phénomène nommé ”tumbling” : le globule rouge subit des retournements périodiques, cette dynamique se rapproche de la dynamique de particules solides sous écoulement (série d’images de la ligne supérieure de la Fig. 1.3). À l’inverse, un globule rouge soumis à de forts cisaillements et à de faibles  $\lambda$  suit une dynamique de chenille de char : la membrane tourne autour du fluide interne dans un régime stable avec un angle constant par rapport à l’écoulement (série d’images de la ligne inférieure de la Fig. 1.3). Entre ces deux types de dynamique, il existe de nombreux comportements intermédiaires tel que le ”trembling” où un couplage entre déformations et oscillations périodiques a lieu [Minetti 2019]...

Grâce aux propriétés du cytosquelette et à leur volume réduit, les globules rouges sont capables de changer de conformation de manière importante et réversible que ce soit en situation confinée ou non. La probabilité d’obtenir telle ou telle forme est

fortement dépendante du cisaillement, de  $\lambda$  et du confinement. De récentes études ont complété la classification des déformations à faible confinement [Lanotte 2016] : l'utilisation d'une chambre de cisaillement cône plan (faible confinement) a permis de différencier de nombreux types de déformations dont la probabilité d'apparition dépend fortement du cisaillement (voir Fig. 1.4). La découverte par la même étude que les formes polylobes obtenues à fort cisaillement subsistent à forte hématicrite et jouent un rôle important sur la viscosité du sang, illustre l'intérêt de mieux comprendre la déformation des globules rouges. Ses déformations sont réversibles, l'étude des temps caractéristiques de relaxation et de déformation montre que les globules rouges peuvent récupérer leur forme discoïde ou prendre une autre forme très rapidement ( $\leq 1$  s [Lanotte 2016]). Ainsi en écoulement physiologique la forme d'un globule rouge n'est pas fixe et peut varier en fonction des multiples interactions qu'il subit (cisaillement, influences hydrodynamiques des parois et des autres globules rouges). Le confinement entraîne de nouvelles contraintes qui se répercutent sur la déformation des globules rouges. Les formes les plus connues sous fort confinement sont la forme de parachute à fort cisaillement et la forme "slipper" à plus faible cisaillement [Takeishi 2019].

Malgré les avancées majeures sur la connaissance des déformations et des comportements des globules rouges lorsque ceux-ci sont isolés. Les investigations de ces mêmes comportements lorsque les globules rouges sont suffisamment concentrés pour interagir entre eux restent rares. En effet de par la taille caractéristique très faible de ces interactions, l'étude expérimentale et numérique du comportement individuel des globules rouges au sein d'une solution concentrée reste un défi. Pourtant ces comportements individuels jouent un rôle important voir prépondérant lorsque l'on s'intéresse aux comportements collectifs de ces solutions.

## 1.2 Viscosité du sang

Le sang est un fluide non newtonien : en condition physiologique celui-ci présente un comportement rhéofluidifiant. Sa rhéologie dépend principalement des propriétés mécaniques des globules rouges, de l'hématocrite et du confinement.

### 1.2.1 Le sang : un fluide rhéofluidifiant

Le sang se comporte comme un fluide rhéofluidifiant : sa viscosité est ainsi moins importante à fort cisaillement qu'à faible cisaillement. La courbe pleine de la Fig. 1.5 montre l'évolution de la viscosité du sang en fonction du cisaillement pour une hématicrite physiologique moyenne de 45%. Ses propriétés rhéofluidifiantes sont ainsi bien illustrées : la viscosité relative par rapport au plasma diminue bien avec l'augmentation du cisaillement.

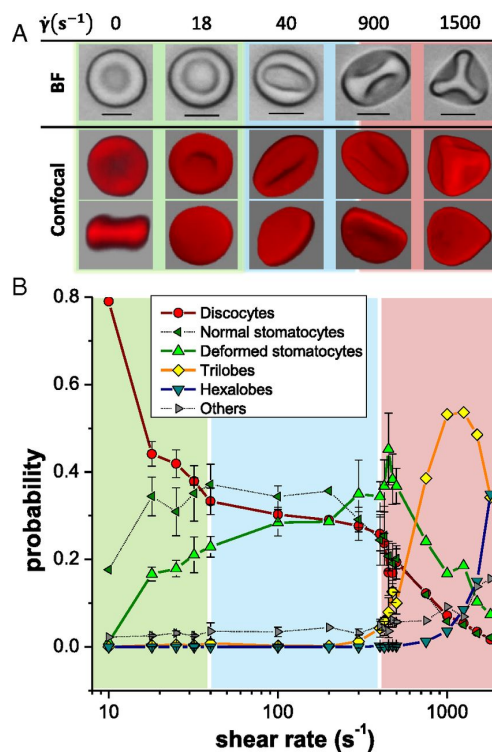


FIGURE 1.4 – Investigation de la forme des globules rouges soumis à différents cisaillements. (A) observation de cellules rigidifiées au microscope optique (noir et blanc) et au microscope confocal (rouge). Les formes de gauche à droite : discocyte, stomatocyte, stomatocyte déformé, trilobe, hexalobe. (B) Probabilité de distribution de la forme des globules rouges en fonction du cisaillement [Lanotte 2016].



Le sang est une suspension, en tant que telle sa rhéologie dépend fortement des propriétés mécaniques des particules la composant et de leurs interactions. Une importante interaction présente chez les globules rouges est leur capacité à s'agréger à faible cisaillement : les hématies se lient les unes aux autres de manière réversible pour former de longs rouleaux qui peuvent eux-mêmes s'interconnecter. L'augmentation virtuelle de la taille des particules suspendues entraîne une augmentation de la résistance à l'écoulement et donc une hausse de la viscosité. Les mécanismes exactes de l'agrégation sont encore débattus à ce jour. Ils sont fortement dépendants des macro-molécules présentes dans le plasma, notamment le fibrinogène et font intervenir des mécanismes de pontage entre membranes et des forces de déplétion [Baskurt 2011]. Les forces physiques en jeu étant faibles, des contraintes hydrodynamiques peuvent facilement briser ses interactions et donc ces rouleaux (comme lors de l'augmentation du cisaillement par exemple). Ainsi l'écrantage du phénomène d'agrégation par l'ajout d'albumine cause une forte réduction des écarts de viscosité entre cisaillements forts et faibles comme observé dans la courbe en pointillé de la Fig. 1.5.

L'altération des propriétés mécaniques des globules rouges peut entraîner une modification de la rhéologie du sang. Ainsi comme le montre la courbe en tirets de la Fig. 1.5, une solution de globules rouges rigidifiés à l'aide de glutaraldéhyde (une molécule entraînant la réticulation des protéines), devenus donc incapables de se déformer, modifie fortement la viscosité. Celle-ci devient indépendante du cisaillement et montre un comportement quasi-newtonien. Sa valeur est elle aussi fortement modifiée, elle est inférieure à faible cisaillement et, inversement, à fort cisaillement, celle-ci devient plus forte comparée à du sang normal (courbe pleine). Il est intéressant de noter que cette valeur est toujours supérieure à des globules rouges déformables sans agrégation.

### 1.2.2 Influence de la fraction volumique sur la viscosité du sang

De nombreux phénomènes, dont certains seront discutés plus tard, peuvent provoquer des variations de l'hématocrite dans le système circulatoire sanguin et induire une distribution très hétérogène de celui-ci. Or la rhéologie du sang est fortement impactée par l'hématocrite : l'augmentation du nombre de particules entraîne une augmentation de la dissipation visqueuse totale (effet linéaire), et une hausse des interactions entre celles-ci (effet non linéaire). Ces diverses interactions ont pour effet une augmentation de la résistance du fluide à l'écoulement et donc in fine à une augmentation de la viscosité. Cette relation entre viscosité et concentration n'est pas linéaire sauf à basse concentration comme le montre la courbe en pointillé de la Fig 1.6. Les modèles décrivant l'évolution de la viscosité sanguine en fonction de l'hématocrite ont été tirés de l'analyse de la viscosité de solutions de sphères rigides

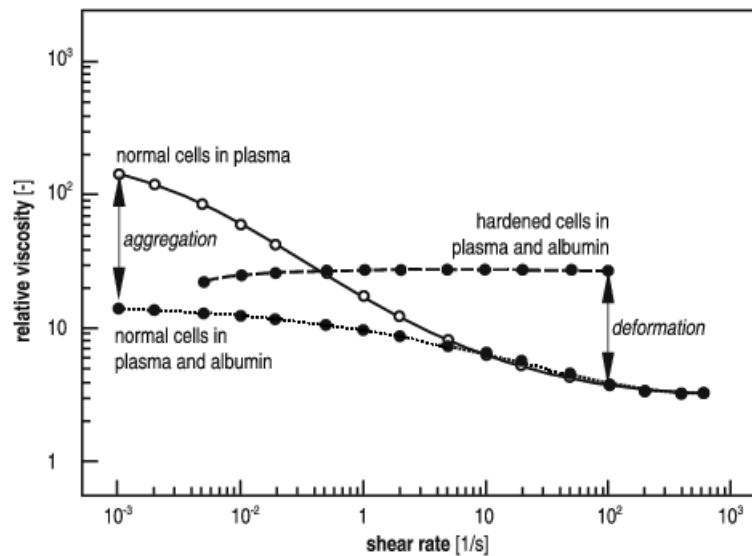


FIGURE 1.5 – Viscosité relative en fonction du cisaillement pour différentes solutions de globules rouges à 45% [Chien 1970].

[Einstein 1906] puis ont été mis en place phénoménologiquement [Krieger 1959]. L'une des difficultés pour mettre en place des modèles pertinents vient de la forte dépendance de la viscosité aux propriétés mécaniques des globules rouges. En effet, l'augmentation de la viscosité en fonction de la concentration est beaucoup plus faible pour des suspensions composées d'objets déformables que pour des suspensions composées d'objets rigides. La viscosité relative (par rapport au plasma) de sphères solides (courbes continues de la Fig 1.6) ou de globules drépanocytaires anémiés en O<sub>2</sub> (dans ces conditions, les érythrocytes se comportent comme des objets rigides, courbe en tirets de la Fig 1.6) augmente plus fortement que la viscosité de globules sains. L'origine de cette différence de rhéologie est multiple. La première est d'ordre géométrique, l'augmentation de rigidité entraîne une réduction de la fraction volumique maximale que peuvent atteindre des particules en solution (seulement 64% pour des sphères rigides) ainsi la viscosité diverge à plus faible concentration pour des objets rigides. De plus, les contraintes de contacts augmentent la viscosité par l'augmentation de la friction entre les différentes particules. Celles-ci se transmettent plus facilement pour des particules solides que pour des particules déformables d'où l'évolution de viscosité plus forte avec des particules solides qu'avec des globules rouges déformables.

### 1.2.3 Influence du confinement : effet Fåhræus-Lindqvist

Les précédentes mesures de viscosité ont été obtenues sur des systèmes macroscopiques (rhéomètre cône-plan, couette, capillaire). À ces échelles le sang peut être

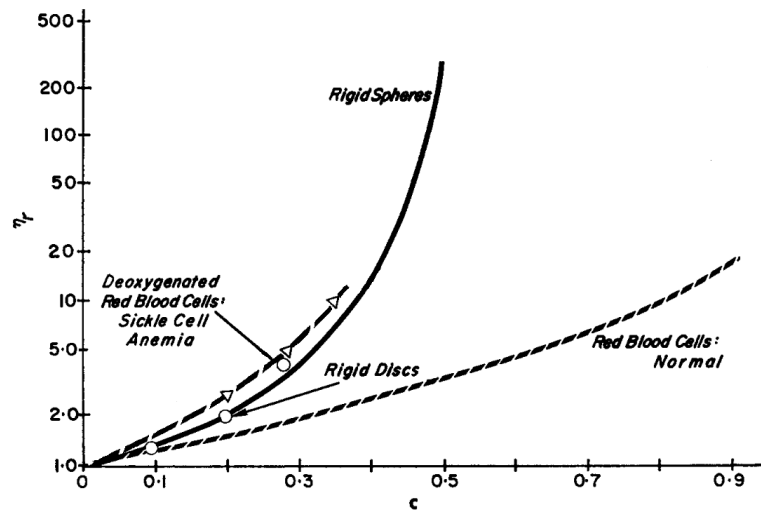


FIGURE 1.6 – Viscosité relative d’une suspension de globules rouges, d’une suspension de sphères rigides en latex et d’une suspension de globules rouges drépanocytaires en fonction de la fraction volumique [Goldsmith 1968].

considéré comme un milieu continu. Dans la microcirculation la taille des globules rouges ne peut être négligée par rapport à la taille des vaisseaux, l’approximation d’un milieu continu n’est plus valide. Pour autant l’impossibilité de simuler un grand ensemble de globules rouges et la nécessité de créer des modèles macroscopiques pour décrire la circulation dans de grands systèmes (un organe par exemple) ont nécessité la mesure de valeurs macroscopiques qui permettent de décrire un milieu diphasique par une approche de milieu continu. La viscosité apparente est l’une des valeurs issue de ces modèles. Celle-ci indique la viscosité équivalente qu’aurait un fluide newtonien continu ayant le même débit et soumis à la même pression qu’une suspension sanguine.

Une des premières études faite sur les écoulements sanguins confinés a mis en évidence la présence d’une couche dépourvue de cellules au niveau des parois [Poiseuille 1835]. Cette couche est appelée couche de déplétion. L’hématocrite étant nul dans cette couche, sa viscosité locale est donc égale à celle du plasma. Ce contraste de viscosité entre le fluide proche des parois et le fluide riche en globules rouges au centre des vaisseaux entraîne un phénomène de lubrification au niveau des parois : c’est l’effet Fåhræus-Lindqvist [Fåhræus 1929]. Ce phénomène de lubrification entraîne une réduction de la viscosité apparente. Cet effet dépend de la taille de la couche de déplétion or l’épaisseur de celle-ci varie assez peu en fonction de la taille des vaisseaux. Ainsi plus on diminue le diamètre du vaisseau plus le volume relatif occupé par cette couche devient important et donc plus le phénomène de lubrification s’intensifie. D’après la Fig 1.7, la viscosité apparente est minimale dans les capillaires ayant une taille de l’ordre du globule rouge (7-8  $\mu\text{m}$ ), cette taille

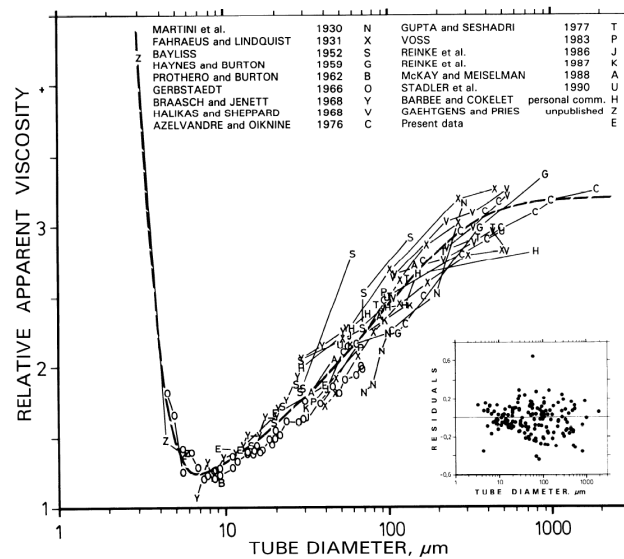


FIGURE 1.7 – Viscosité apparente relative de suspensions de globules rouges passant au travers de longs capillaires en verres dont le diamètre interne est compris entre 3.3 et 1978  $\mu\text{m}$  [Pries 1992].

correspond aux dimensions des globules rouges.

## 1.3 Structuration du sang

Les éléments figurés du sang interagissent entre eux et avec leur environnement. Ces différentes interactions peuvent entraîner la manifestation de nombreuses structururations telle la création d'une couche de déplétion, la présence de margination ou l'organisation en files des globules rouges. Les structururations des écoulements sanguins apparaissent à toutes les échelles. Contrairement à la macrocirculation où les effets de celles-ci peuvent être négligés ou du moins intégrés dans les modèles continus (agrégation), ces structururations possèdent une importance fondamentale dans la microcirculation. La taille des éléments figurés du sang devenant non négligeable par rapport à la dimension des vaisseaux, la répartition et l'organisation spatiale des cellules dans l'écoulement devient un paramètre primordial pour analyser les phénomènes observés dans la microcirculation.

### 1.3.1 La couche de déplétion

La couche de déplétion fut l'une des premières observations faites sur la microcirculation et reste l'un des mécanismes les plus étudiés de la circulation sanguine. Cette couche de déplétion possède de nombreux effets sur les propriétés du sang, et ceux-ci ne sont pas limités à la viscosité : on peut ainsi citer l'effet Fåhræus. Les

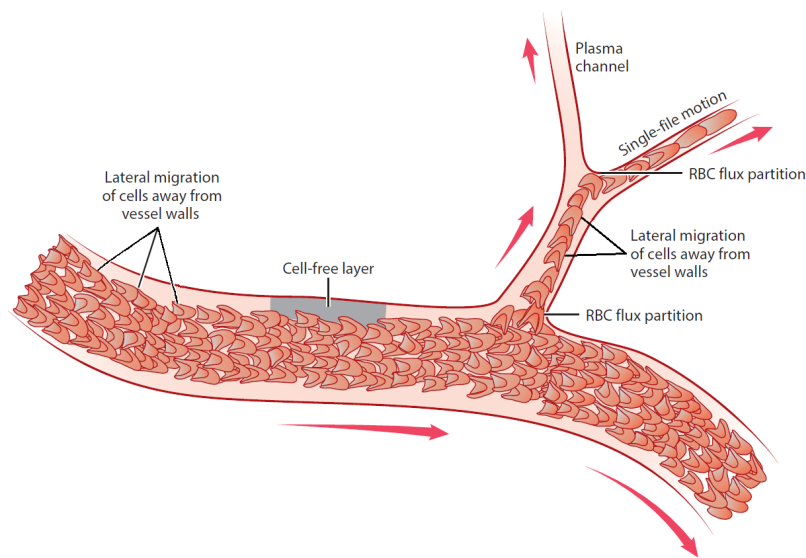


FIGURE 1.8 – Exemple de différents phénomènes observés dans la microcirculation. [Secomb 2017]

globules rouges étant concentrés au centre des vaisseaux leur vitesse moyenne est supérieure à la vitesse moyenne du plasma : le rapport entre le débit du plasma et celui des globules rouges est donc modifié. Ce phénomène est négligeable à l'échelle de la macrocirculation mais devient important aux échelles de la microcirculation. Par conservation de la masse, l'hématocrite doit compenser l'évolution de ce rapport, on observe alors un hématocrite plus faible au niveau des capillaires comparé à l'hématocrite des gros vaisseaux (on parlera d'hématocrite de décharge).

Comme dit précédemment, la couche de déplétion reste encore aujourd'hui un sujet d'études [Katanov 2015, Fedosov 2010, Narsimhan 2013, Yamaguchi 1992], notamment grâce au développement de la simulation numérique. Celles-ci se sont principalement intéressées à sa taille et dans une moindre mesure à sa dynamique de création en fonction de divers paramètres tel que la taille des vaisseaux, les propriétés mécaniques des globules rouges, l'hématocrite. Malgré tout, la compréhension des phénomènes physiques sous-jacents entraînant la création de cette couche reste pour l'instant partiellement compris. Sa présence est expliquée par deux approches complémentaires. La première explication est d'ordre géométrique : la présence d'une paroi implique que les centres de gravité des globules rouges doivent se situer au minimum à une demi-largeur d'un globule rouge, ainsi en moyenne il y aurait plus de globules rouges au centre du canal que contre les parois. La seconde explication est d'ordre hydrodynamique : à faible nombre de Reynolds ( $\ll 1$ ), la déformabilité des globules rouges permet une rupture de leur symétrie entraînant une migration transversale des parois vers le centre du canal [Goldsmith 1971, Olla 1997]. Cette rupture de symétrie peut aussi provenir dans les cas in-vivo de l'élasticité de la

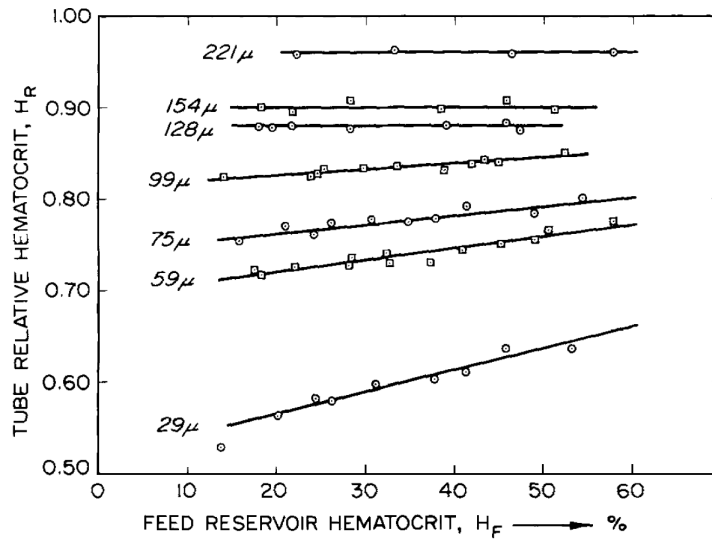


FIGURE 1.9 – Fraction volumique relative de globules rouges en fonction de l'hématocrite de décharge au niveau du réservoir. [Barbee 1971]

brosse formée par le glycocalyx au niveau des parois endothéliales [Davies 2018].

L'épaisseur de la couche de déplétion correspond à un équilibre entre la migration et la diffusion transversale des globules rouges. Cette diffusion provient des nombreuses interactions hydrodynamiques que subissent les globules rouges. En effet dans un écoulement de Poiseuille les hématies peuvent se déplacer à des vitesses différentes. Lorsque deux hématies se croisent elles ont tendance à se repousser perpendiculairement au cisaillement. Cet événement apparait uniquement pour des particules déformables : comme pour la migration transversale, les déformations subies par ces objets entraînent la brisure de la symétrie causant ainsi un déplacement transversal. Les études expérimentales de [Grandchamp 2013, Pinho 2016] ont montré que les coefficients de diffusion que l'on pouvait extraire dépendaient fortement de la concentration, du cisaillement et des propriétés mécaniques des globules rouges : une augmentation de leur déformabilité entraîne une amplification de leur capacité à diffuser.

### 1.3.2 Le phénomène de margination

Les différents éléments figurés du sang se répartissent de manière non-homogène au sein des vaisseaux, ainsi les globules rouges sont concentrés au centre du canal tandis que les autres éléments (plaquettes et globules blancs) sont en moyenne plus proche des parois : ce phénomène porte le nom de margination [Qi 2017]. Ce mécanisme est extrêmement important en physiologie : les plaquettes et les globules blancs doivent pouvoir facilement avoir accès aux parois pour y remplir leurs rôles. L'une des principales explications de ce phénomène est la différence de

rigidité, de taille et de de forme entre les différents types cellulaires : les globules rouges très déformables migrent transversalement plus vite que les autres lignées cellulaires plus rigides. Ainsi au fur et à mesure des interactions les globules blancs et les plaquettes ont tendances à s'éloigner du centre des vaisseaux en direction des parois. Il a notamment été observé qu'une réduction de la rigidité des globules blancs réduisait leur margination [Fay 2016]. Malgré cette explication le phénomène reste mal compris quantitativement, de plus la dynamique et l'amplitude de la margination semble dépendre du type de particule [Henríquez 2016].

L'amplitude de la margination des globules blancs semble évoluer inversement au cisaillement [Goldsmith 1984] : un faible cisaillement augmente la margination tandis qu'un fort cisaillement a tendance à la réduire. Une hypothèse avancée pour expliquer cette observation est la présence d'agrégation à faible cisaillement qui favorise le regroupement des globules rouges entre eux excluant ainsi les autres grosses cellules [Pearson 2000]. L'influence de l'hématocrite sur la margination des globules blancs reste discutée : la relation entre hématocrite et margination semble non monotone et apparait comme peu dépendante de l'hématocrite tant que l'on reste à des concentrations  $\leq 45$  % [Firrell 1989]. La margination des plaquettes est considérée comme proportionnelle à l'hématocrite et au cisaillement [Aarts 1988]. L'évolution opposée de la margination des plaquettes et des globules blancs en fonction du cisaillement peut expliquer le fait que la margination des plaquettes est supérieure dans les artérioles (fort cisaillement) que dans les veinules (faible cisaillement) et inversement pour les globules blancs [Woldhuis 1992].

### 1.3.3 Organisation spatiale

Sous écoulement, les suspensions confinées présentent des structures dynamiques auto-organisées. Un des exemples les plus connus dans des capillaires très fins est la formation de trains de globules rouges dont les membres sont équidistants les uns des autres [Clavería 2016]. Les globules rouges peuvent prendre de nombreuses organisations spatiales, ces motifs résultant des interactions hydrodynamiques entre globules rouges et parois. Celles-ci ne sont pas limitées aux plus proches voisins des globules rouges mais peuvent s'appliquer sur de longues distances [Tomaiuolo 2012]. L'étude de ces organisations spatiales s'est surtout faite en 2D sur le plan des simulations ; de ces analyses de nombreux paramètres influant sur ce type de structuration ont pu être identifiés : hématocrite, contraste de viscosité  $\lambda$ , molécules présentes dans le plasma, confinement, propriétés mécaniques des globules rouges, cisaillement... Les nombreuses interdépendances entre ces paramètres rendent complexe l'études de ces systèmes (relation entre viscosité et cisaillement, hématocrite et viscosité...).

Dans le même temps, des études récentes sur un écoulement de Couette confiné d'une suspension de globules rouges, ont pu montrer l'influence non monotone de la structuration des écoulements sur la viscosité [Thiébaud 2014]. La Fig. 1.10 is-



sue de [Iss 2019] montre la distribution transversale des globules rouges pour deux confinements et différents hématocrites sous un écoulement Poiseuille pseudo 2D (profil de vitesse de type bouchon dans le plan de la caméra et profil de vitesse parabolique dans l'axe perpendiculaire à la caméra). Pour le cas à fort confinement ( $30\ \mu\text{m}$ ), on remarque l'absence de structure marquante à faible hématocrite mais en augmentant l'hématocrite on observe la mise en place de trains non organisés dès 7 %. En continuant d'augmenter l'hématocrite on obtient deux lignes continues de globules rouges à 12 % puis trois lignes à 18 %. Pour le second confinement ( $60\ \mu\text{m}$ ) on peut remarquer la mise en place de trains dès 5 %, mais l'augmentation de l'hématocrite tend à diminuer l'amplitude de la structuration. Ces différentes études suggèrent que ces structururations ont un impact non négligeable dans la microcirculation, notamment au niveau des bifurcations. La caractérisation de leur stabilité, de leurs temps (de création...) et distances (longueur d'interaction...) caractéristiques permettrait une meilleure compréhension de la microcirculation. In fine, la microcirculation ne peut donc se résumer à la seule étude de l'hématocrite et du confinement.

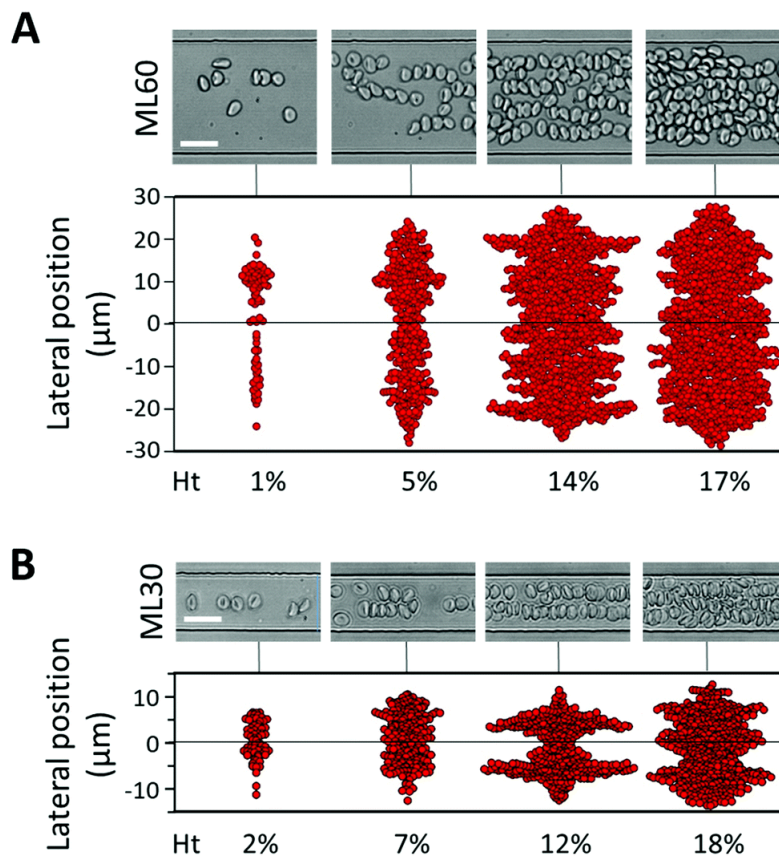


FIGURE 1.10 – Distribution des globules rouges transverse à l'écoulement pour différentes concentrations et différents confinements ( $60\ \mu\text{m}$  (A) et  $30\ \mu\text{m}$  (B)) et différentes concentrations. [Iss 2019]



## 1.4 Comportements aux bifurcations

La microcirculation est caractérisée par la présence de nombreuses bifurcations. Ces intersections diffèrent toutes les unes des autres : les nombreuses géométries possibles (angle de séparation, diamètre et débit des branches) créent ainsi une multitude de conditions d'écoulement possibles. De plus les globules rouges ne sont pas des traceurs passifs, l'hétérogénéité de leur concentration à l'entrée d'une intersection influe donc fortement sur la distribution des hématocrites dans les branches filles. Ces deux phénomènes : géométriques et hydrodynamiques conduisent à une séparation de phase qui entraîne de fortes hétérogénéités de la distribution des globules rouges dans le réseau. Pourtant la distribution de l'hématocrite dans le réseau microcirculatoire est d'une importance primordiale dans l'oxygénation des tissus.

Si l'on se place dans le cas d'une intersection donnant deux branches filles on remarque généralement une concentration de globules rouges supérieure dans la branche avec le plus gros débit et inversement pour la branche de plus faible débit : c'est l'effet de Zweifach-Fung [Fung 1993]. Cette inhomogénéité peut être très importante, ainsi des vaisseaux complètement dépourvus de globules rouges ont été observés à la suite d'intersections ; ce phénomène est appelé "plasma skimming". Cette répartition inhomogène peut être expliquée sous confinement par la présence de la couche de déplétion : dans un système stationnaire celle-ci est de la même largeur de part et d'autre du canal amont, mais sa contribution relative au volume de chaque branche est différente. En plus de la couche de déplétion, l'organisation spatiale de la suspension joue un rôle capital dans la répartition du sang aux intersections : les globules en lignes se dirigent ainsi tous dans la même branche par exemple [Shen 2016b]. Le graphe Fig. 1.11 présente la concentration de la branche fille ayant le plus faible débit (25 % du débit de la branche mère) en fonction de la concentration de la branche parente et du diamètre de celle-ci. On remarque que l'hématocrite est plus faible dans la branche fille d'intérêt lorsque la branche mère est petite (10  $\mu\text{m}$ ) : on observe l'effet de la structuration de l'écoulement en effet dans cette branche parente les globules rouges sont alignés et choisissent préférentiellement la branche avec le plus gros débit. Ce phénomène de distribution préférentielle des globules rouges dans l'une ou l'autre des branches filles d'une bifurcation de la microcirculation est donc très sensible à la répartition des globules rouges dans le vaisseau amont. Ceci justifie pleinement l'intérêt de mieux comprendre les évolutions transitoires de la distribution transverse des globules rouges entre deux bifurcations successives.

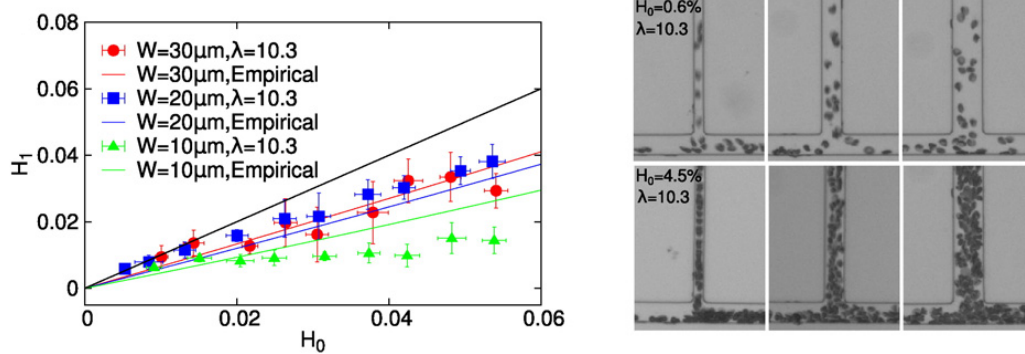


FIGURE 1.11 – Graphe représentant l'hématocrite  $H_1$  de la branche fille ayant un faible débit (25% du débit initial) en fonction de l'hématocrite  $H_0$  de la branche parente. Les lois empiriques proviennent des travaux de [Pries 1990], tandis que la ligne noire indique une répartition homogène. Image obtenus pour trois tailles de canaux parents (10, 20, 30  $\mu\text{m}$ ) différents à deux concentrations initiales différentes (0.6 et 4.5%) [Shen 2016b].



# Matériel et méthodes

## Contents

<b>1.1</b>	<b>Le sang</b>	<b>7</b>
1.1.1	Composition	7
1.1.2	Le globule rouge	8
<b>1.2</b>	<b>Viscosité du sang</b>	<b>12</b>
1.2.1	Le sang : un fluide rhéofluidifiant	12
1.2.2	Influence de la fraction volumique sur la viscosité du sang	14
1.2.3	Influence du confinement : effet Fåhræus-Lindqvist	15
<b>1.3</b>	<b>Structuration du sang</b>	<b>17</b>
1.3.1	La couche de déplétion	17
1.3.2	Le phénomène de margination	19
1.3.3	Organisation spatiale	20
<b>1.4</b>	<b>Comportements aux bifurcations</b>	<b>22</b>

Dans ce chapitre, sont présentés les principaux outils expérimentaux qui ont permis d'effectuer les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit. Les designs des circuits microfluidiques et les protocoles plus spécifiques à chaque projet sont décrits dans les chapitres suivants.

## 2.1 La microfluidique

### 2.1.1 Un outil adapté

Le concept de microfluidique désigne à la fois une technologie consistant à contrôler et manipuler des faibles quantités de fluides ( $\ll 1 \mu\text{L}$ ) dans des environnements confinés (une des dimensions du système doit être  $\ll 1 \text{ mm}$ ) et une discipline s'intéressant à l'étude de la mécanique des fluides à l'échelle micrométrique. A ces échelles, les phénomènes prépondérants diffèrent de ceux présents dans les dispositifs macroscopiques. Ainsi l'énergie potentielle gravitationnelle devient négligeable tandis que les forces liées à la capillarité deviennent non négligeables et peuvent même devenir prépondérantes. Par ailleurs les effets inertiels s'effacent au profit des forces visqueuses : les nombres de Reynolds sont généralement très faibles  $\ll 1$ , se

traduisant donc par des écoulements de Stokes. Les déplacements ou les mélanges de particules peuvent devenir très dépendants de leurs coefficients de diffusion respectifs de par l'absence de turbulence.

La microfluidique est un domaine de recherche très actif, ses applications nombreuses lui permettent d'être régulièrement associée à d'autres disciplines scientifiques : tel que la chimie analytique, la biologie moléculaire et cellulaire. Les précédents développements de la micro-électronique et de la microfabrication ont énormément profité à la microfluidique et ont facilité sa diffusion (réduction des coûts, accessibilité des méthodes de fabrication...). La diversité des géométries et des outils ayant été développés ses dernières années (micropompes, microvalves...) ont permis la mise en place de nombreux instruments aux usages divers : séquençage du génome [Jolly 2019], étude des cellules [Yang 2018]... Ce secteur intéresse aussi fortement l'industrie : l'amélioration et la diminution des coûts de production ont rendu possible la mise en place de dispositifs à usage courant tel la mise en place de micro laboratoires. Certains de ces équipements, appelés Lab-on-chip ont pour vocation, par exemple, de permettre des diagnostics rapides de maladies [Wu 2018].

Ce projet étant dédié à l'étude in-vitro de la microcirculation qui par définition a des dimensions inférieures au millimètre, et de par l'expertise que possède le laboratoire LIPhy dans la microfluidique, son utilisation couplée à l'observation par microscope optique s'est naturellement imposée comme l'outil de prédilection dans ma thèse.

### 2.1.2 Fabrication et contraintes

La première étape consiste à concevoir un moule qui est réalisé par lithographie douce [Weibel 2007] : une fine couche de résine est déposée sur une plaque de silicium, un traitement UV permet d'obtenir un bas-relief du réseau. Par la suite les moulages sont fabriqués à l'aide de polydiméthylsiloxane Sylgard®184 (PDMS) : le mélange du PDMS liquide avec un réticulant dans des proportions 10 masses pour 1 permet d'obtenir un silicone solide. Le moulage est collé de manière irréversible par traitement plasma sur une surface en verre. Des trous préalablement percés dans le moulage permettent d'insérer les tuyaux dans les entrées et les sorties du système. L'écoulement peut être créé par l'utilisation de pousses seringues (contrôle du débit) et/ou par l'utilisation de contrôleurs de pressions.

Les contraintes géométriques sont peu nombreuses, mais il est important de noter que la méthode impose des designs de circuit plan en 2D avec une épaisseur constante sur tout le moule. Les principales contraintes sont liées :

- D'une part aux rapports d'aspect : la hauteur du canal doit être au maximum deux fois plus grande que la largeur minimale du canal.
- D'autre part la résolution du système est limitée : celle-ci dépend des masques utilisés pour l'exposition UV. On s'est limité à l'emploi de masques plastiques

(Selba S.A.) permettant d'obtenir des structures ayant une taille minimale de 2  $\mu\text{m}$ .

- Finalement, malgré l'existence de méthodes pour obtenir des canaux à sections circulaires [Fiddes 2010], les canaux manipulés durant ma thèse auront tous des sections rectangulaires par souci de praticabilité : l'observation au microscope en devient beaucoup plus aisée.

Le PDMS possède de nombreux avantages : celui-ci est transparent à la lumière, inerte à la majorité des produits chimiques, perméable à l'air (réduisant le risque de bulles au sein du système), biocompatible, facile d'utilisation et est très économique [Owen 2001]. Ses propriétés élastiques lui permettent de se déformer sous certaines contraintes importantes. Il est donc important de prendre en compte cet effet lorsque l'on travaille avec de fortes pressions, en effet la section du canal peut être modifiée et entraîner ainsi des modifications de l'écoulement (voir Fig. 2.1).

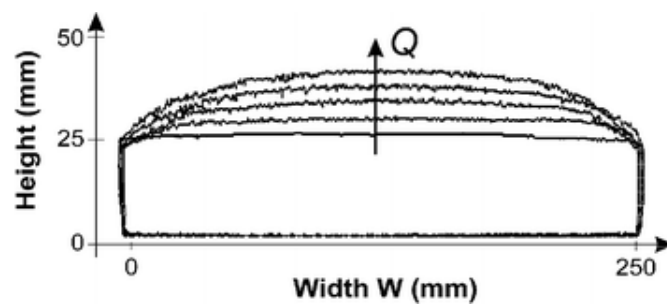


FIGURE 2.1 – Section transversale (initialement  $26 \times 250 \mu\text{m}^2$ ) d'un canal en PDMS collé sur une lamelle en verre (height = 0) ayant un module d'Young de 2,2 MPa soumis à différents débits : 1, 100, 500, 700  $\mu\text{L min}^{-1}$ . [Gervais 2006]

## 2.2 Préparation des échantillons sanguins

Ma thèse s'est concentrée sur l'étude du comportement des globules rouges sous écoulement en s'affranchissant de la variabilité pouvant venir de la composition du plasma. Les échantillons que nous recevons en laboratoire sont des échantillons de sang total qu'il faut laver et par la suite suspendre dans des solutions tampons et isotoniques, de préférence isodense.

Les échantillons sanguins sont prélevés par l'Établissement Français du Sang (EFS) sur des donneurs sains, un anticoagulant (citrate) est additionné à la suspension prélevée. Les échantillons sanguins sont ensuite préparés de la façon suivante : ceux-ci sont au préalable lavés 3 fois à l'aide de la solution tampon nommée L dans le Tab. 2.1. Cette solution est constituée de 200 mL d'eau dans laquelle est dissoute

1 pastille de Phosphate Buffered Solution (PBS Sigma©). Cette pastille permet de disposer d'une solution concentrée à  $10 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ,  $137 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{NaCl}$ ,  $2.7 \text{ mmol L}^{-1}$  de  $\text{KCl}$  et permet de maintenir un pH de 7.4. La phase de nettoyage est effectuée 3 fois sur chaque échantillon avant expérimentation : dans un contenant l'échantillon sanguin est dilué dans la solution L puis par centrifugation douce ( $1000 g$ ), le fluide porteur est séparé des éléments figurés du sang, ceux-ci plus lourds ont sédimenté au fond du récipient, le surnageant est retiré et seul le culot constitué des éléments figurés du sang est conservé. Cette étape permet de retirer les protéines plasmatiques baignant dans le plasma et d'éliminer une partie de la couche leuco-plaquettaire (couche surfactante du culot contenant les leucocytes et les plaquettes). Après cette étape de nettoyage, le sang est suspendu à la concentration et dans la solution suspendante voulue, la solution tampon peut varier en fonction des expériences.

Les solutions tampons employées dans les expériences sont présentées dans le Tab. 2.1. Elles utilisent toutes de l'OptiPrep™ de Sigma, l'OptiPrep™ est une solution d'eau et de iodixanol. Le iodixanol est une molécule biocompatible utilisée pour augmenter la densité de solution ou bien comme agent de contraste dans certaines radiographies. Dans cette thèse, l'Optiprep™ sert à augmenter la densité des solutions tampons et ainsi limiter la sédimentation des globules rouges. Enfin l'OptiPrep™ est utilisé pour créer des gradients de densité discontinue (solution D) et permettre la séparation des globules rouges en fonction de leur densité [Franco 2013]. L'ajout d'albumine de sérum bovin (BSA) permet de réduire le risque d'adhésion des globules rouges aux parois, cette protéine globulaire n'a pas d'impact notable sur les comportements des globules rouges [Williams 1973]. Finalement pour contrôler la viscosité de la solution il est possible d'ajouter du dextran (Sigma-Aldrich), il est important de noter que le dextran est également utilisé au laboratoire pour provoquer une agrégation contrôlée des globules rouges [Neu 08]. Ainsi la taille du dextran (dextran 100k Sigma-Aldrich) et la masse à ajouter ont été sélectionnées pour ne pas favoriser l'agrégation et aucune agrégation particulière n'a été observé dans les solutions V2 et V3.

Durant cette thèse, je me suis notamment intéressé à l'influence des propriétés mécaniques des globules rouges sur les écoulements. Pour cela j'ai utilisé trois approches distinctes qui m'ont permis de faire varier ces propriétés, celles-ci se basant chacune sur des concepts différents :

- La première méthode consiste à rigidifier artificiellement les globules rouges à l'aide de molécules réticulantes tel le glutaraldéhyde. Des concentrations fortes de glutaraldéhyde  $> 0.1 \%$  et des temps longs d'exposition ( $> 10 \text{ min}$ ) sont utilisés transformant ainsi les globules rouges en particules solides incapable de se déformer : il s'agit donc d'une méthode en tout ou rien irréversible [Abay 2019].
- La deuxième technique consiste à séparer les globules rouges en fonction de

leur densité : l'utilisation d'un gradient discontinu de densité (solutions D) et d'une centrifugation à 2000g pendant 1h permet de séparer les globules rouges en fonction de leur densité. La densité des globules rouges augmente avec l'âge [Franco 2013] or il est communément admis que des globules rouges vieux sont plus rigides que des jeunes [Park 2016].

- La dernière méthode consiste à modifier la viscosité du fluide externe pour faire varier le contraste de viscosité  $\lambda$ . Dans des conditions expérimentales similaires (même cisaillement), un fluide plus visqueux exerce une force supérieure sur le globule rouge comparé à un fluide moins visqueux, entraînant ainsi une plus grande déformation de l'hématie.

Utilisation	Nom	Composition	Densité	Viscosité (mPas)
Lavage sang	L	200 mL + 1 pastille PBS	1	1
Basique	B	130mL eau + 70mL OptiPrep™ + 1 pastille PBS + 0.2g BSA	1.112	1.7
	D1	138mL eau + 62mL OptiPrep™ + 1 pastille PBS + 0.2g BSA	1.099	1.6
Gradient densité	D2	134mL eau + 66mL OptiPrep™ + 1 pastille PBS + 0.2g BSA	1.106	1.7
	D3	126mL eau + 74mL OptiPrep™ + 1 pastille PBS + 0.2g BSA	1.118	1.7
	D4	120mL eau + 80mL OptiPrep™ + 1 pastille PBS + 0.2g BSA	1.128	1.8
$\lambda$ variable	V2	134mL eau + 66mL OptiPrep™ + 6.5g dextran 100 + 1 pastille PBS + 0.2g BSA	1.112	5.8
	V3	138mL eau + 62mL OptiPrep™ + 10g dextran 100 + 1 pastille PBS + 0.2g BSA	1.112	9.1

TABLE 2.1 – Tableau listant toutes les solutions utilisées durant cette thèse, leur composition, et certaines de leurs propriétés physiques (densité et viscosité).

## 2.3 Acquisition et traitements d'images

La taille des globules rouges est de l'ordre de quelques micromètres, le microscope optique s'est donc imposé comme méthode d'observation. Un seul type de microscope fut utilisé ici : il s'agit d'un microscope inversé (Olympus IX71), les



grossissements utilisés varient entre  $\times 10$  et  $\times 32$ . Les globules rouges possèdent un pic d'absorption aux alentours de 410 nm [Wojdyla 2012] (ceci explique leur couleur rouge). Pour augmenter le contraste des images et faciliter l'analyse, un filtre bleu ( $434 \text{ nm} \pm 17 \text{ nm}$ ) est utilisé pour toutes les expériences. Les vidéos sont enregistrées à l'aide d'une caméra monochrome DMK 23UX174 (de The ImagingSource) ayant une résolution pouvant aller jusqu'à  $1920 \times 1200$  et une fréquence atteignant les 54 fps. La taille des pixels de la caméra étant  $5.86 \text{ } \mu\text{m}$  et le grossissement maximal étant de  $\times 32$ , la résolution maximale obtenue par les images acquises est de  $0.183 \text{ } \mu\text{m PIX}^{-1}$ .

Les travaux présentés dans cette thèse ont nécessité l'extraction de données variées. Il a été ainsi nécessaire d'extraire la position des globules rouges et/ou l'hématocrite locale et/ou la vitesse de l'écoulement à partir des vidéos obtenues. Ces analyses ont été effectuées à l'aide de codes numériques personnels écrits en Python tirant profit des bibliothèques de traitement d'image tel OpenCV. Le schéma de ces codes suivent la même logique :

- En premier lieu l'arrière plan est extrait. Si la concentration est suffisamment faible, la moyenne temporelle de l'intensité des pixels permet d'obtenir facilement et rapidement l'arrière plan. Si la concentration en globules rouges est importante on peut construire l'arrière plan à partir de la valeur maximale temporelle du pixel (les globules rouges étant plus sombres que l'arrière plan), il est important de noter que cette méthode est sensible au bruit de la caméra et nécessite donc des traitements supplémentaires. A partir de cet arrière plan il est possible d'extraire la position des parois à l'aide d'un seuillage (les parois sont plus sombres que le reste du circuit).
- La mesure de l'hématocrite local se base sur la loi de Beer-Lambert :  $\Phi = -c \log(I/I_0)$  où  $c$  une constante à étalonner,  $I$  et  $I_0$  les intensités de l'image et de l'arrière plan respectivement et  $\Phi$  l'hématocrite.
- La détection de la position des globules rouges est permise par un algorithme de détection des contours, la différence entre  $I$  et  $I_0$  permet de faire ressortir les globules rouges et ainsi d'accélérer la détection des contours. Un seuillage de l'aire des contours permet de détecter les globules en contact, l'utilisation d'algorithmes de segmentation permettant d'obtenir des contours correspondants bien à la perception visuelle. La position du globule rouge peut être extraite à partir du centre de masse des pixels inscrits dans le contour.
- La vitesse de globules rouges peut être mesurée de deux manières différentes. Si la concentration est faible et que l'on a déjà la position des globules rouges il est possible de recréer la trajectoire de ceux-ci à l'aide d'algorithmes de particle tracking velocimetry (PTV) et donc d'obtenir leur vitesse. Si l'on ne connaît pas la position des globules rouges, il est possible d'extraire la vitesse des globules rouges à l'aide de corrélations d'images ou d'algorithme de Particle Image Velocimetry (PIV).

# Migration d'un globule rouge dans un canal

---

## Contents

<b>2.1</b>	<b>La microfluidique</b>	<b>25</b>
2.1.1	Un outil adapté	25
2.1.2	Fabrication et contraintes	26
<b>2.2</b>	<b>Préparation des échantillons sanguins</b>	<b>27</b>
<b>2.3</b>	<b>Acquisition et traitements d'images</b>	<b>29</b>

---

## 3.1 Introduction

Dans le Chap. 1, nous avons introduit une propriété des globules rouges : leur capacité à migrer transversalement vers le centre du canal. Ce phénomène joue un rôle important sur la couche de déplétion, en effet sa taille est le résultat de l'équilibre entre cette migration transversale et la dispersion des globules rouges, conséquence de leurs interactions, qui les pousse contre les parois. Les conséquences de cette couche de déplétion sur la microcirculation sont nombreuses, pourtant les deux sous-phénomènes qui la créent sont mal compris et restent peu étudiés. Enfin l'impact de la migration des globules rouges n'est pas limité à la couche de déplétion, celle-ci a une forte influence sur le phénomène de margination.

L'intérêt d'étudier la migration ne se limite pas seulement à la compréhension des écoulements sanguins in vivo mais possède de véritables applications dans la mise en place de puces microfluidiques pour le diagnostic ou le traitement du sang. Geislinger et al. ont ainsi présenté une puce microfluidique capable de séparer une solution diluée de globules rouges et de plaquettes : les plaquettes moins déformables migrent plus lentement que les globules rouges, en contrôlant la position des sorties il est possible de séparer les deux populations [Geislinger 2012]. De nombreux travaux sont effectués sur des dispositifs appelés Déplacement Latéral Déterministe (DLD), ceux-ci sont constitués d'un réseau dense de micro piliers. Les trajectoires des particules au sein de ce réseau dépendent fortement de leurs propriétés physiques et de la dynamique des déplacements transverses à l'écoulement. Ainsi il est

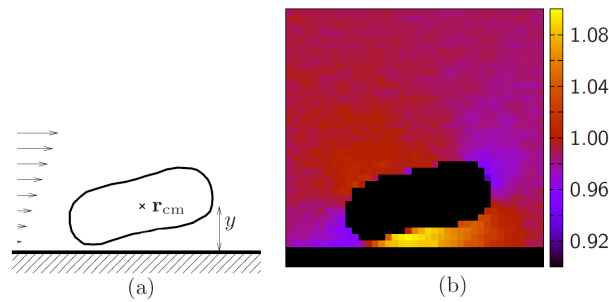


FIGURE 3.1 – Forme et champs de pression d’une vésicule en chenille de char sous cisaillement simple proche d’une paroi. [Meßlinger 2009]

possible de séparer différents types de globules rouges [Zeming 2016] ou différents types de globules blancs [Holmes 2014].

Nous proposons donc d’étudier d’un point de vue dynamique cette migration dans la configuration simple de canaux rectilignes ayant différents confinements. Nous montrerons dans cette partie qu’une loi d’échelle simple permet de décrire la migration. Ce chapitre reprend notamment les résultats qui sont publiés dans [Losserland 2019].

## 3.2 Théorie sur la migration

Lorsque la symétrie d’une particule est brisée par les forces d’origine visqueuse, on observe même à faible nombre de Reynolds ( $Re \ll 1$ ) un déplacement perpendiculaire à l’écoulement : c’est le phénomène de migration non inertielle. Dans un souci de simplicité, le terme migration sous entendra une migration non inertielle. La déformabilité des globules rouges permet la brisure de la symétrie de l’écoulement et donc leur migration transverse à l’écoulement [Goldsmith 1971]. Il est important de noter que cette force de portance est de nature purement visqueuse et ne peut être comparée aux forces inertielles de portance que l’on observe sur les ailes d’avion par exemple.

Les vésicules géantes sont des membranes lipidiques fermées exhibant sous certaines conditions des comportements similaires aux globules rouges. Les vésicules ont elles aussi la capacité de se déformer et donc de migrer. La Fig. 3.1 issu des simulations numériques de Meßlinger présente le champs de pression autour d’une vésicule sous écoulement [Meßlinger 2009]. Son intégration le long de la paroi permet d’obtenir une force de portance, on remarque ainsi que la force résultante est perpendiculaire à l’écoulement et dirigée vers le haut (à l’opposé de la paroi). On peut remarquer que les pressions sont inhomogènes le long de la paroi, ce gradient de pression pouvant entraîner une déformation plus ou moins grande de la vésicule.

### 3.2.1 Migration transverse sous cisaillement simple

La dynamique de migration des vésicules sous cisaillement simple fut théoriquement décrite dans les travaux de Olla [Olla 1997]. Ainsi la vitesse de migration d'une vésicule de taille  $R_0$  de forme fixe ellipsoïdale positionnée à une distance  $y$  de la paroi avec  $y \gg R_0$  s'écrit :

$$\dot{y} = UR_0^3 \frac{\dot{\gamma}}{y^2}, \quad (3.1)$$

où  $\dot{\gamma}$  représente le cisaillement du flot non perturbé. Le paramètre adimensionnel  $U$  dépend des propriétés de la vésicule tels le contraste de viscosité  $\lambda$  et le volume réduit  $\mathcal{V}$ . Cette loi fut confirmée plus tard par des simulations numériques 2D [Meßlinger 2009] et 3D [Farutin 2013]. Des mesures de la vitesse de migration furent effectuées dans des conditions de microgravité [Callens 2008]. La loi d'échelle et la valeur du préfacteur  $U$  obtenue sont en accord avec la théorie et les simulations (malgré l'hypothèse d'une forme fixe faite par Olla) pour  $\lambda = 1$  [Zhao 2011] ou pour des valeurs de lambda plus élevé [Bureau 2017]. Dans [Zhao 2011], la loi en  $y^{-\alpha}$  avec  $\alpha = 2$  est valide pour  $y/R_0 \gtrsim 2$  et que pour  $1 \gtrsim y/R_0 \gtrsim 2$ ,  $\alpha$  semble inférieur à 2, en accord avec l'étude expérimentale proche paroi effectuée par [Abkarian 2002] où  $\alpha = 1$  est suggéré.

En condition physiologique, les globules rouges isolés sont loin d'un régime en chenille de char. Ainsi les globules rouges ne possèdent pas d'inclinaison fixe par rapport à l'écoulement [Lanotte 2016, Minetti 2019]. Par symétrie, un objet solide en tumbling ne devrait pas migrer [Olla 1997]. Pourtant Grandchamp et al. ont montré que des globules rouges en tumbling migrent en suivant la même loi que des vésicules en chenille de char (Eq. 3.1) [Grandchamp 2013]. Cette migration non-nulle suggère que la déformabilité des globules rouges est suffisante pour permettre une brisure de symétrie de l'écoulement et in fine permettre une migration transversale.

### 3.2.2 Migration transverse dans un capillaire

Dans un capillaire, le cisaillement de l'écoulement non perturbé est non uniforme. Cette brisure de symétrie seule permet d'induire la migration de vésicules même en absence de parois [Farutin 2013]. Dans un canal réaliste, les effets hydrodynamiques liés aux parois et au cisaillement participent de manière complexe à la migration. Coupier et al. ont ainsi montré que sur un large éventail de confinements ( $2 < w/R_0 < 10$ , où  $w$  est la demi largeur du canal), de volumes réduits et de contrastes de viscosité que la vitesse de migration des vésicules lipidiques suivent une loi du type [Coupier 2008] :

$$\dot{y} = \xi \frac{R_0^{\delta+1} \dot{\gamma}(y)}{(y - y_w)^\delta}, \quad (3.2)$$

où  $\delta$  est proche de 1,  $\xi$  est un paramètre dépendant des propriétés des vésicules (similaire à  $U$  dans l'Eq. 3.1) et  $y_w$  la position du centre de masse lorsque la vésicule est la plus proche de la paroi. Pour les vésicules quasi sphériques utilisées dans [Coupier 2008],  $y_w \sim R_0$ . En général, cette valeur paraît dépendre de la déformabilité de la particule. La valeur de  $\delta$  a été confirmée par des simulations numériques 2D [Coupier 2008].

Pour la suite, nous proposons de tester une loi d'échelle empirique similaire à la précédente :

$$\dot{y} = \xi \frac{R_0^{\delta+1} \dot{\gamma}(y)}{y^\delta}, \quad (3.3)$$

Cette loi est formellement plus simple que la précédente et permet de comparer différentes situations sans avoir à prendre en compte les interactions proche parois. Cette formulation est celle généralement utilisée dans la littérature [Geislinger 2014, Qi 2017]. En effet, les globules rouges étant très déformables, le choix de la valeur de  $y_w$  de l'Eq 3.2 pose problème et n'apporte que très peu d'information au vu de la dispersion des propriétés des globules rouges, de leurs orientations initiales et de leur régimes. Il est montré par la suite que la loi d'échelle énoncée ci-dessus peut convenablement décrire la migration des globules rouges en milieu confiné et donner des valeurs de  $\delta$  et  $\xi$  valides pour une large gamme de paramètres.

## 3.3 Méthode expérimentale

### 3.3.1 Le circuit microfluidique

Le circuit microfluidique utilisé est un canal rectiligne de section rectangulaire. La hauteur et la largeur de la section du circuit sont dénotées  $2h$  et  $2w$  respectivement, la longueur utile du canal est de 2.7 cm. Les globules rouges s'écoulent le long de  $Ox$  et migrent le long de  $Oy$ . Les parois sont localisées aux positions  $y = 0$  et  $y = 2w$  dans la direction  $Oy$  et aux positions  $z = -h$  et  $z = h$  dans la direction  $Oz$ . Avant le canal d'intérêt, l'écoulement est établi sur une longue distance résultant en un centrage préliminaire des globules rouges dans la direction  $Oz$  ( $z = 0$ ), en fonction de la largeur du canal, le centrage préliminaire en  $Ox$  n'est pas forcément complet. La suspension atteint alors une intersection en T : le contrôle du débit dans les branches filles permet de déplacer la ligne de séparation de l'écoulement et donc de permettre d'augmenter la taille de la couche de déplétion dans la branche d'intérêt. On crée ainsi une condition initiale où les globules rouges entrant dans le circuit d'intérêt sont proches des parois ( $y = 0$ ). Dans cette partie, six canaux sont utilisés. Chaque canal possède ses propres dimensions :  $w = 3.9, 6.2, 10.2, 12.6, 17.4, 27 \mu\text{m}$  avec respectivement  $h = 4.8, 4.8, 6.5, 10, 10, 10 \mu\text{m}$ . Le confinement défini par le ratio entre la taille caractéristique du canal ( $w$ ) et le rayon caractéristique

du globule rouge ( $R_0$ ) varie entre 1.5 et 10. Les écoulements sont contrôlés grâce à un contrôleur de pression (Elveflow™ Mk3).

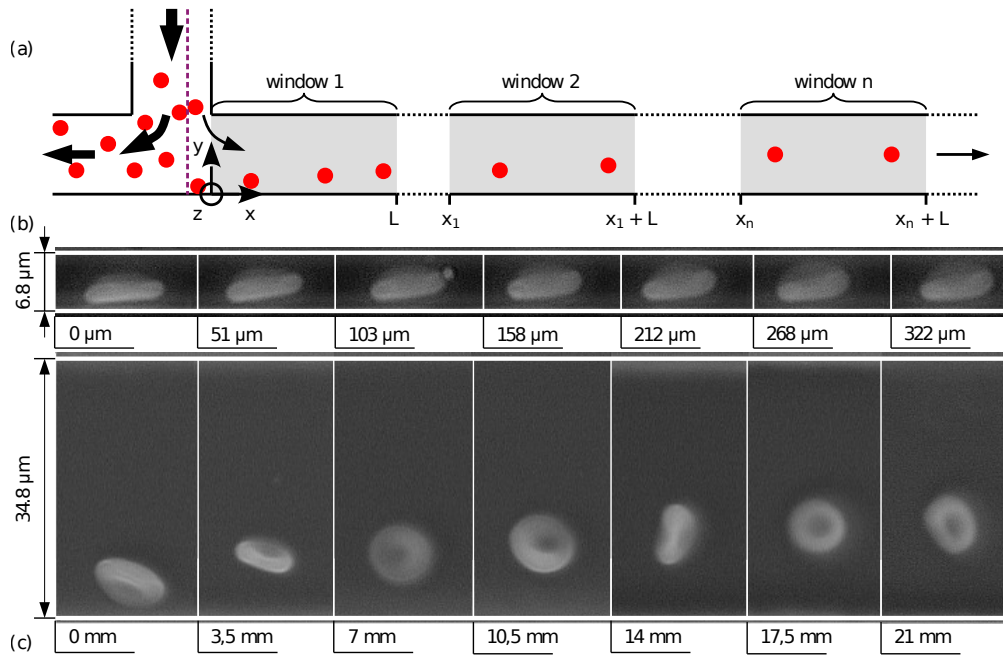


FIGURE 3.2 – (a) Schéma du canal microfluidique utilisé dans ce chapitre. La ligne de séparation de l'écoulement est indiquée en ligne hachée violette. (b) Trajectoire d'un globule rouge sous fort confinement. (c) Position de différents globules rouges dans différentes fenêtres sous faible confinement. Les globules rouges sont choisis pour représenter la trajectoire médiane (voir le graphe en bas à gauche de la Fig. 3.5).

### 3.3.2 Préparation des solutions

Le sang est au préalable lavé suivant le protocole développé dans le Chap.2. Pour limiter les interactions entre globules rouges, l'hématocrite des suspensions utilisées dans les expériences est très faible (0.1%). Les globules rouges sont suspendus dans la solution B isodense. Pour rappel, la solution tampon possède une densité de  $1.112 \pm 0.001$  qui empêche la sédimentation des globules rouges et une viscosité de  $1.9 \times 10^{-3} \text{ Pa}\cdot\text{s}$  à  $20^\circ\text{C}$  qui est donc légèrement supérieure à la viscosité du plasma.

De plus, pour une expérience particulière, les globules rouges sont séparés en fonction de leur densité par l'utilisation d'une solution à gradients discontinus de densité fabriquée à partir d'Optiprep™ (solutions D). Ce gradient se compose de 4 couches de volumes similaires (2 mL), elles ont une densité respectivement de

1.128 g mL<sup>-1</sup> (solution D4), de 1.118 g mL<sup>-1</sup> (solution D3), de 1.106 g mL<sup>-1</sup> (solution D2), de 1.099 g mL<sup>-1</sup> (solution D1). 2 mL de sang préalablement lavé est déposé au sommet de ce gradient, une centrifugation à 3000 rpm pendant 30 min à température ambiante permet de séparer les globules rouges en fonction de leur densité. Finalement, deux sous-populations sont extraites et suspendues dans une solution isodense correspondante (solutions D2 ou D4). La première population correspond aux globules rouges ayant une densité comprise entre 1.099 et 1.106 et représente  $\simeq 5\%$  de la population totale, la seconde population se caractérise par une densité comprise entre 1.118 et 1.128 et représente  $\simeq 10\%$  de la population totale.

### 3.3.3 Méthode expérimentale

Les vidéos sont acquises à l'aide d'un grossissement X32 et d'un microscope inversé en utilisant une caméra CMOS à une fréquence de 30 images/s. Les globules rouges ne sont pas suivis directement : les mesures sont effectuées sur des fenêtres de taille  $L = 350\ \mu\text{m}$  à différentes positions  $x$ ; approximativement 200 globules rouges sont observés sur chaque fenêtre. Un programme écrit manuellement en langage Python et utilisant la librairie OpenCV<sup>™</sup> [Bradski 2000] détermine le centre de masse projeté des globules rouges. Un simple programme de tracking permet d'obtenir la trajectoire des globules rouges dans chaque fenêtre et de calculer la vitesse  $v_p(y, 0)$ . En fonction du confinement de la dynamique de la migration, la fonction de probabilité de densité de la position  $y$  est calculée sur une partie ou la totalité de la fenêtre. Pour réduire l'influence des valeurs extrêmes, la valeur médiane des trajectoire  $y(x)$  est choisie pour décrire la trajectoire des globules rouges. Les barres d'erreur présentées dans les figures suivantes représentent la dispersion de  $y_d$  et sont définies comme la moyenne entre la valeur du 33<sup>ème</sup> et celle du 66<sup>ème</sup> percentile des distances entre la paroi et le centre des globules rouges. Toutes les dimensions de longueurs sont adimensionnées par  $w$  et seront dénotées par un  $\sim$ .

## 3.4 Résultats expérimentaux

### 3.4.1 Vitesse longitudinale

La Fig. 3.3 montre la vitesse mesurée  $v_p$  des globules rouges en fonction de leur position  $\tilde{y}$  (points gris). La vitesse maximale est atteinte pour  $\tilde{y} = 1$  (comme pour un fluide pur en écoulement de Poiseuille) mais la courbe expérimentale indique que  $v_p$  converge vers 0 avant  $\tilde{y} = 0$ . Une simple explication vient de la taille de la particule qui est non négligeable comparée aux dimensions du canal. Il n'existe pas de solution simple pour décrire la vitesse de ces particules. De plus la déformabilité

et la forme complexe des globules rouges éliminent la possibilité de trouver une solution analytique simple.

### 3.4.1.1 Modèle de la vitesse longitudinale de particules en milieu dilué

La transformation de l'équation de la vitesse de migration en une équation décrivant la trajectoire nécessite une description de  $v_p$  pour analyser les résultats. En considérant les globules rouges comme des sphères solides, une solution analytique fut proposée dans un écoulement Poiseuille 2D [Pasol 2011] mais cette approche ne peut être facilement étendue en 3D. Par la suite, la vitesse longitudinale  $v_p$  sera approximée par la vitesse moyennée sur un rectangle de taille  $(2r)^2$  de centre de masse  $y$  et  $z = 0$  de l'écoulement sans globule rouge tel que :

$$v_p(y, z) = \frac{1}{4r^2} \int_{z-r}^{z+r} \int_{y-r}^{y+r} v_x(Y, Z) dY dZ, \quad (3.4)$$

avec  $v_x$ , la vitesse du fluide sans globule rouge dans un canal rectangulaire [Bruus 2008] :

$$v_x(y, z) = v_0 \sum_{n=1,3,\dots}^{\infty} a_n \left( 1 - \frac{\cosh(b_n(y-w))}{\cosh(b_n w)} \right) \cos(b_n z), \quad (3.5)$$

où :

$$v_0 = \frac{v_{max}}{\sum_{n=1,3,\dots}^{\infty} a_n \left( 1 - \frac{1}{\cosh(b_n w)} \right)}, \quad (3.6)$$

avec  $v_{max} = v_x(w, 0)$  la vitesse maximale du fluide et :

$$a_n = \frac{(-1)^{\frac{n-1}{2}}}{n^3}, \quad b_n = \frac{n\pi}{2h}. \quad (3.7)$$

Finalement on obtient :

$$v_p(y, z) = v_0 \frac{h}{\pi r^2} \sum_{n=1,3,\dots}^{\infty} \frac{a_n}{n} \sin(b_n r) \left( r - \frac{\sinh(b_n r) \cosh(b_n(y-w))}{b_n \cosh(b_n w)} \right). \quad (3.8)$$

### 3.4.1.2 Discussion des résultats

Malgré ces hypothèses fortes, les ajustements de courbes utilisant l'Eq.3.8 avec  $v_{max}$  comme paramètre libre et  $r = R_0$ , donnent des approximations correctes des valeurs expérimentales (voir Fig. 3.3). Le modèle met en évidence la différence qu'il peut exister entre  $v_x$  et  $v_p$  : une augmentation de la largeur des canaux entraîne une



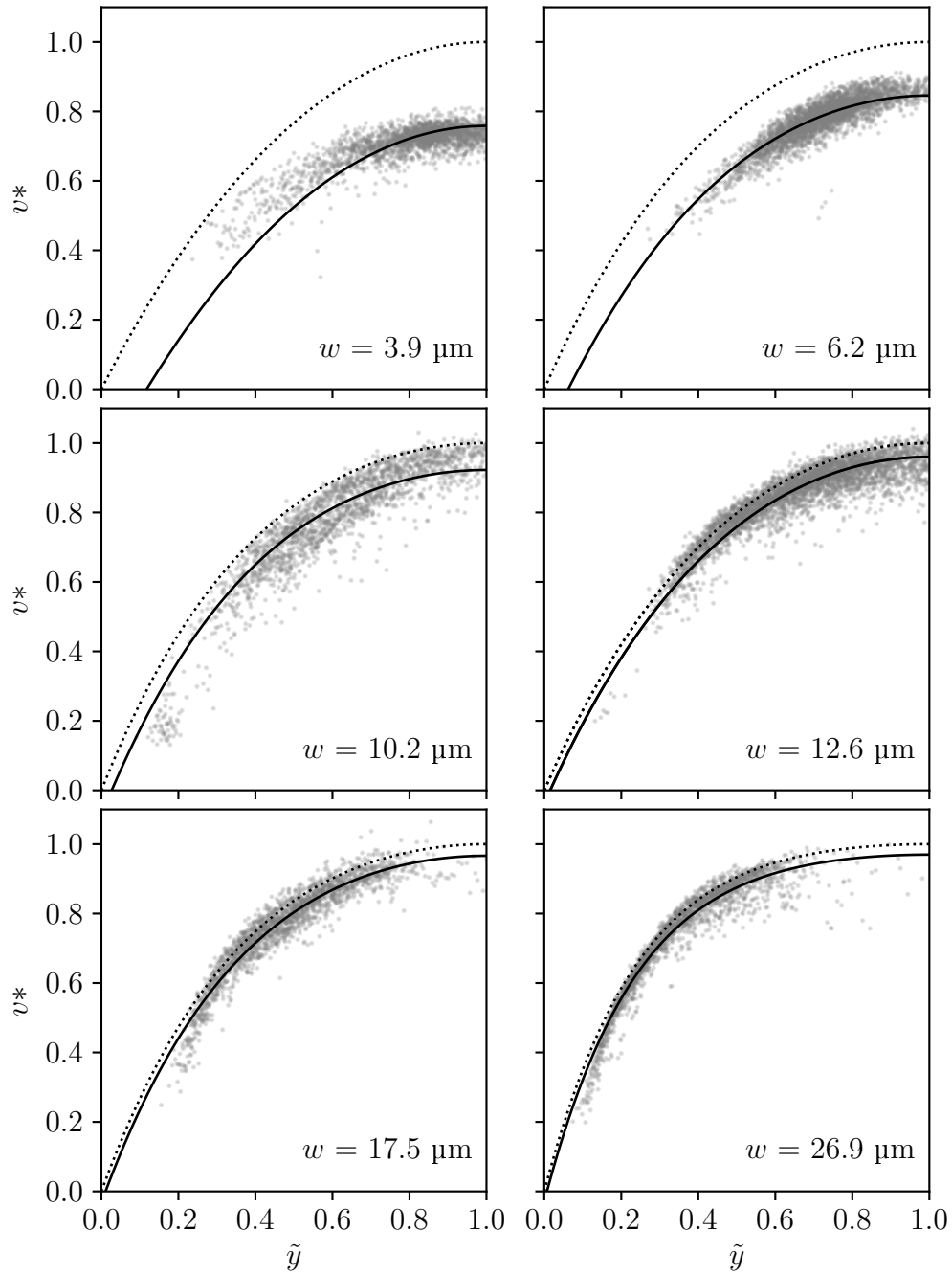


FIGURE 3.3 – Les points gris représentent la vitesse des globules rouges, re-dimensionnée par  $v_{max}$  de l'Eq.3.6 qui est obtenu à partir du fit des résultats expérimentaux par l'Eq.3.8. La ligne en pointillé représente la vitesse du fluide  $v_x$  sans globules rouges à  $z = 0$  obtenu à partir de l'Eq.3.5 et la ligne en pointillés représente le fit obtenu à partir de l'Eq.3.8.

réduction de la différence entre les deux vitesses. Les divergences du modèle apparaissent près des parois et viennent du fait que le modèle ne prend pas en compte l'influence non négligeable des globules rouges sur l'écoulement. Cette influence étant plus grande proche des parois, les différences devraient être plus importantes au voisinage des parois comme le montre [Goldman 1967].  $v_{max}$  obtenu à partir des ajustements de l'Eq. 3.8 aux résultats expérimentaux est compris entre 0.5 et 3  $\text{mm s}^{-1}$ , ce qui correspond aux observations in vivo dans la microcirculation. Le nombre capillaire  $Ca = \eta_e \dot{\gamma}_e R_0 / G$  peut être introduit, avec  $\dot{\gamma}_e = v_{max} / w$  un cisaillement caractéristique et  $\eta_e$  la viscosité dynamique du fluide externe. Celui-ci est compris entre 0.1 et 1 dans notre série d'expériences.

### 3.4.2 Vitesse transversale

#### 3.4.2.1 Résultats expérimentaux

La Fig.3.4 montre la trajectoire médiane des globules rouges pour un canal de largeur  $w = 10.2 \mu\text{m}$ . Les globules rouges migrent des parois vers le centre du canal. L'Eq. 3.3 décrit la vitesse de migration, ainsi à partir de cette loi une équation différentielle décrivant la trajectoire théorique  $y_{th}(x)$  peut être introduite :

$$\frac{\partial y_{th}}{\partial x} = \xi \frac{R_0^{\delta+1} \dot{\gamma}(y_{th}, 0)}{y^\delta v_p(y_{th}, 0)}. \quad (3.9)$$

$\dot{\gamma}$  et  $v_p$  sont obtenus respectivement à partir de l'Eq. 3.2 et 3.8. Les deux expressions dépendent de  $v_{max}$ , on peut en déduire que la trajectoire n'est donc pas explicitement dépendante de  $v_0$ . Ainsi les possibles imprécisions dans sa détermination au travers de la vitesse des globules rouges n'affecte pas la détermination des paramètres de la migration. Les données expérimentales sont ajustées à l'aide de l'Eq. 3.9. Une première étape consiste à l'intégrer numériquement puis lors de la deuxième étape, le résidu d'une fonction coût est mesuré ( $< |(\tilde{y} - \tilde{y}_{th}) / \tilde{y}_d| >$ ). Le problème possède trois paramètres libres :  $\xi$ ,  $\delta$  et la position initiale médiane des globules rouges dénotée  $y_0$ . La minimisation du résidu est basée sur une méthode globale appelée évolution différentielle [Storn 1997]. Dans la Fig. 3.4, plusieurs courbes d'ajustement sont présentées, toutes donnant des résultats convenables. La valeur de  $y_0$  obtenue à partir de la minimisation est plutôt constante et apparaît comme indépendante des deux autres paramètres. Au contraire,  $\delta$  et  $\xi$  semblent corrélés, une augmentation de l'un entraînant l'augmentation de l'autre.

En fixant  $\tilde{y}_0 = \tilde{y}(0)$ , le résidu peut être exploré dans l'espace des paramètres  $(\delta, \xi)$ , comme montré dans l'insert de la Fig. 3.4. La zone bleue correspond à une zone  $< |(\tilde{y} - \tilde{y}_{th}) / \tilde{y}_d| \leq 0.5$ . Ainsi les couples de paramètres  $(\delta, \xi)$  présents dans cette zone donnent une erreur inférieure à  $y_d$ . Cette zone varie en fonction du confinement et aucune loi évidente ne permet a priori de relier ces deux paramètres entre eux. La Fig. 3.6 présente les couples de paramètres  $(\delta, \xi)$  optimisant les

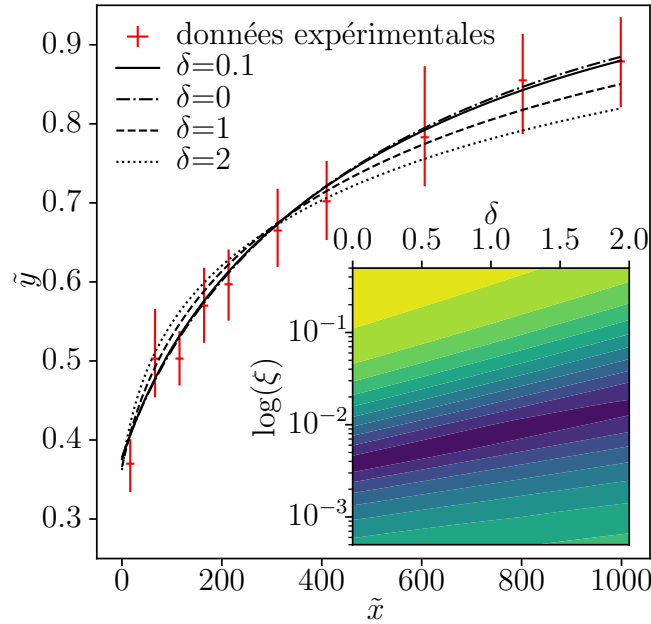


FIGURE 3.4 – Trajectoire des globules rouges dans un canal de largeur  $w = 10.6 \mu\text{m}$  (rouge). Les courbes d’ajustement (noir) utilisent différents couples de paramètres  $(\delta, \xi, y_0)$ . La courbe noire continue est obtenue lorsque tous les paramètres sont laissés libres  $(0.14, 4.1 \times 10^{-3}, 0.38)$ , les courbes noires en pointillées sont obtenues avec un  $\delta$  fixé donnant respectivement  $(0, 3.7 \times 10^{-3}, 0.38)$ ,  $(1, 7.7 \times 10^{-3}, 0.37)$ ,  $(2, 1.6 \times 10^{-2}, 0.36)$ . Le graphe de surface montre le résidu total  $\sum |(\tilde{y} - \tilde{y}_{th})/\tilde{y}_d|$  dans l’espace des paramètres  $(\delta, \xi)$ .

résultats expérimentaux présentés dans la Fig. 3.5 en fonction de diverses conditions expérimentales (cisaillement, vitesse, confinement et rapport d’aspect). La corrélation observée entre la viscosité et le couple de paramètres  $(\delta, \xi)$  est biaisée par le point extrême (points obtenus à partir de l’optimisation des résultats présentés dans le graphe en haut à droite de la Fig. 3.6) ainsi aucune corrélation ne peut être avancée.

Ce résultat contraste avec des résultats obtenus précédemment dans de plus simples géométries [Grandchamp 2013] et/ou avec de plus simples objets (vésicules principalement [Coupier 2008]) dans lesquels ces paramètres apparaissaient comme indépendants. Nous considérons ici que cette corrélation apparente pour un confinement donné est le résultat d’une fonction de migration spécifique qui combinée avec le bruit des mesures empêche un ajustement plus précis des courbes. Aspirant à trouver un couple  $(\delta, \xi)$  universel qui procure le meilleur ajustement pour une grande gamme de paramètres, nous prenons donc en compte l’ensemble des résultats pour les différents canaux. Ainsi pour chaque expérience, pour des valeurs

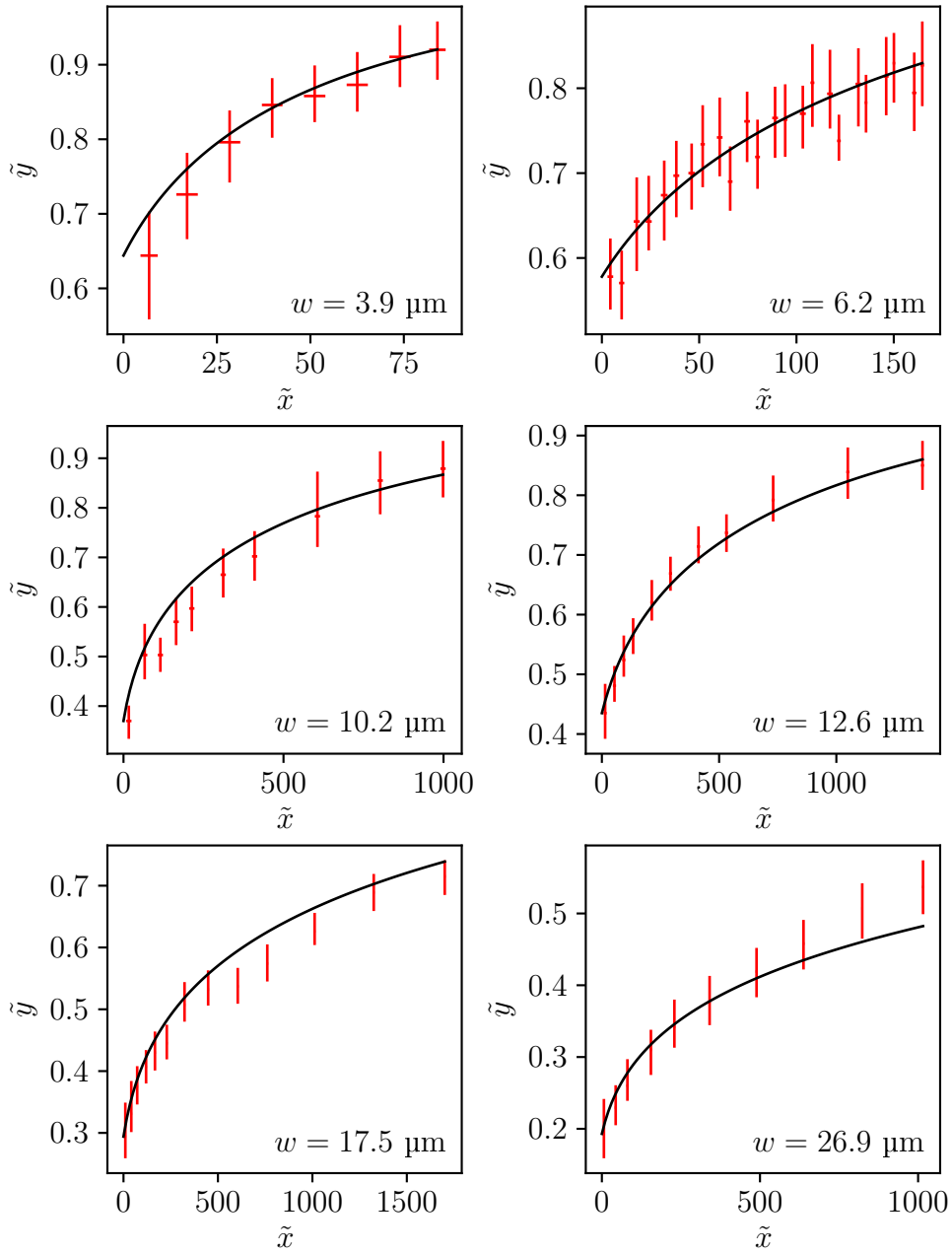


FIGURE 3.5 – Les graphes représentent la trajectoire médiane  $\tilde{y}(\tilde{x})$  pour 6 différents confinements (rouge) et leurs courbes d’ajustement respectives (noir) obtenues à partir de l’Eq. 3.9 en utilisant  $\delta_s$ ,  $\xi_s$  et  $\tilde{y}_0$  comme paramètre de fit.

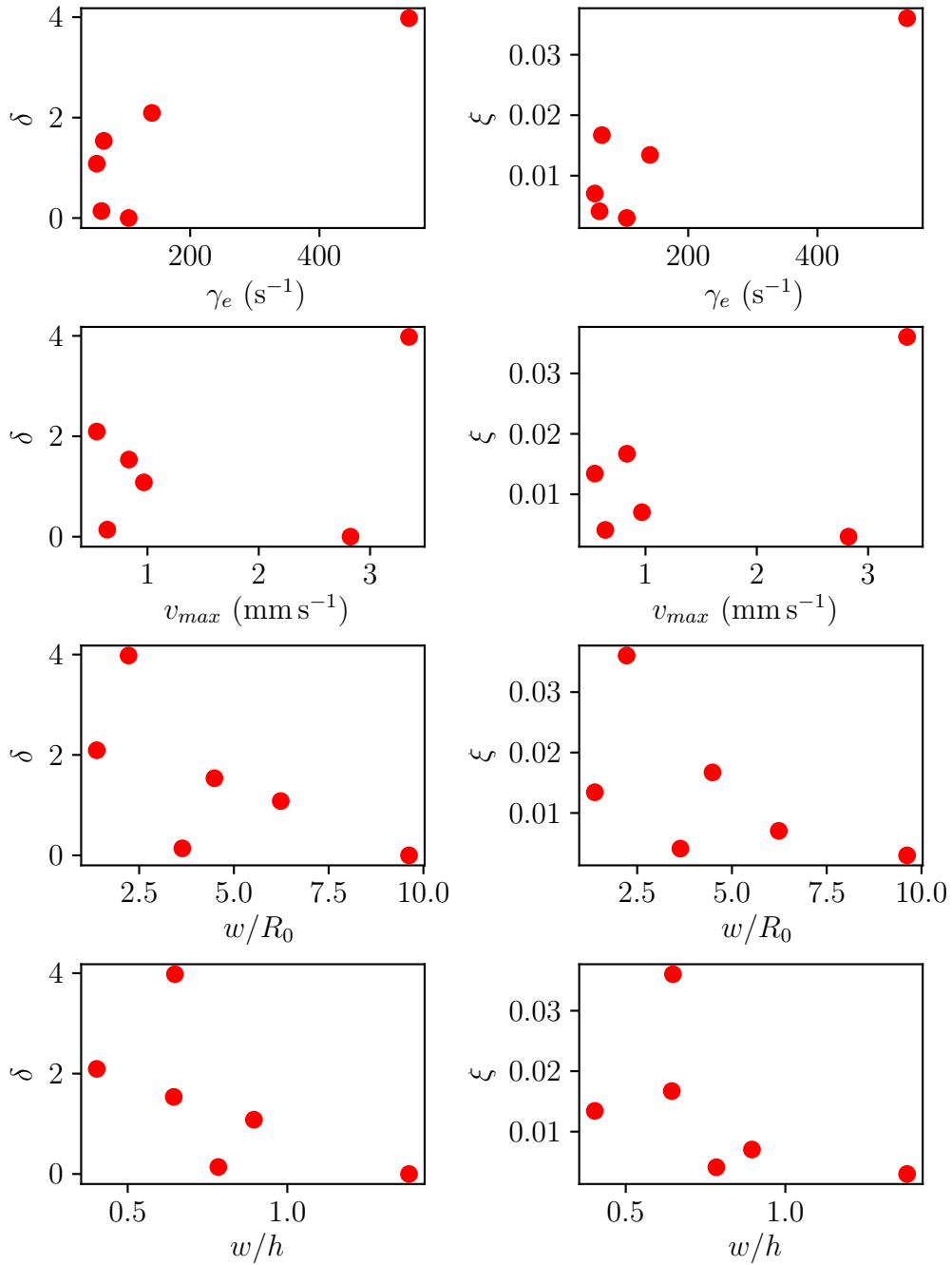


FIGURE 3.6 – Influence du cisaillement caractéristique  $\dot{\gamma}_e$ , de la vitesse  $v_{max}$ , du confinement, de la forme du canal sur  $\delta$  et  $\xi$ .  $\delta$  et  $\xi$  présentés dans ce graphe sont obtenus à partir de l’ajustement de l’Eq. 3.9 sur les résultats expérimentaux présentés dans la Fig. 3.5 en laissant les 2 paramètres  $\delta$  et  $\xi$  libres avec  $\tilde{y}_0 = \tilde{y}(0)$  constant.

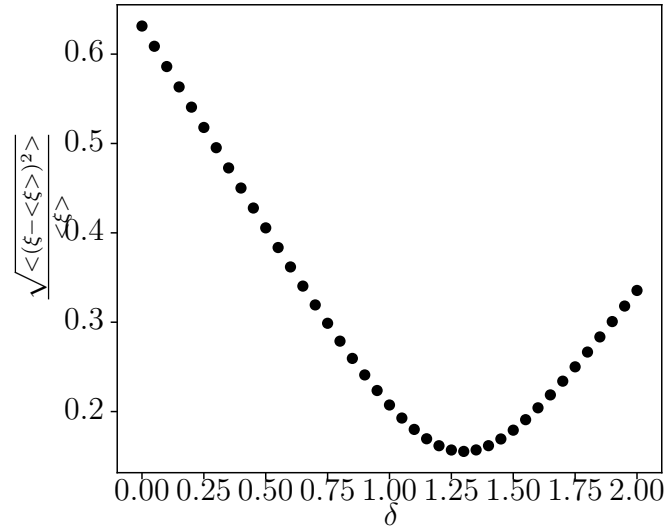


FIGURE 3.7 – Erreur moyenne quadratique  $\Delta\xi$  en fonction de  $\delta$ .

fixées  $y_0 = y(0)$  et  $\delta$  compris entre 0 et 2 avec un pas de 0.05, la valeur de  $\xi$  minimisant le résidu est calculé. En considérant tous les canaux, une moyenne  $\langle \xi \rangle$  et un écart normalisé au carré de la moyenne  $\Delta\xi = \sqrt{\langle (\xi - \langle \xi \rangle)^2 \rangle} / \langle \xi \rangle$  en fonction de  $\delta$  peut être calculé. En utilisant le minimum de  $(\delta, \xi)$  obtenu à partir de la Fig. 3.7, la valeur la plus probable est extraite pour  $\delta$  et  $\xi$  :  $\delta_s = 1.30 \pm 0.05$  et  $\xi_s = 1.1 \times 10^{-2} \pm 0.2 \times 10^{-2}$ .

Les trajectoires médianes des globules rouges  $\tilde{y}(\tilde{x})$  sont présentées pour six confinements différents. Dans notre intervalle de paramètres, les globules rouges se déplacent des parois vers le centre du canal en accord avec les résultats de [Guckenberger 2018]. La vitesse de migration décroît au fur et à mesure que les globules rouges se rapprochent du centre des canaux. Les courbes d'ajustement obtenues à partir de l'Eq. 3.9 avec  $\delta = \delta_s$ ,  $\xi = \xi_s$  et  $y_0$  libres donnent de bons résultats même à fort confinement où la migration latérale est principalement due à la déformation des globules rouges.

Nous avons étudié l'influence des propriétés mécaniques des globules rouges en isolant deux sous populations d'hématies plus et moins denses à l'aide d'un gradient de densité (voir 3.3). Leur trajectoire médiane a été mesurée dans des canaux larges de  $w = 12.6 \mu\text{m}$ . À cette largeur, la déformation des globules rouges est très faible et la migration dépend principalement du cisaillement et des parois, de plus l'amplitude de migration est suffisamment importante pour observer des différences. La Fig. 3.8 montre que les globules rouges moins denses migrent plus rapidement que les globules rouges plus denses, la comparaison de leur  $\xi$  respectif obtenu à partir de l'Eq. 3.9 lorsque  $\delta = \delta_s$  est fixé montre une évidente différence :  $1.4 \times 10^{-2}$  pour les moins denses et  $6.5 \times 10^{-3}$  pour les plus denses. Les globules rouges plus denses sont généralement considérés comme plus âgés comparés aux

globules rouges moins denses [Piomelli 1993]. L'effet du vieillissement sur les globules rouges est encore discuté à ce jour : une déshydratation des globules rouges lors de leur vieillissement pourrait entraîner une augmentation de leur viscosité interne [Vaugh 1992] ou bien la modification des protéines des globules rouges peut modifier la physiologie des globules rouges (pH, dynamique du cytosquelette, osmolarité...) et donc ses propriétés mécaniques [Bocci 1981]. Il existe ainsi de fortes indications que les plus vieux globules rouges ont une densité plus élevée et une déformabilité moindre [Linderkamp 1982] (provoquant finalement leur élimination dans la rate [Deplaine 2011]). Nos résultats contribuent indirectement à montrer que les globules rouges denses sont moins déformables.

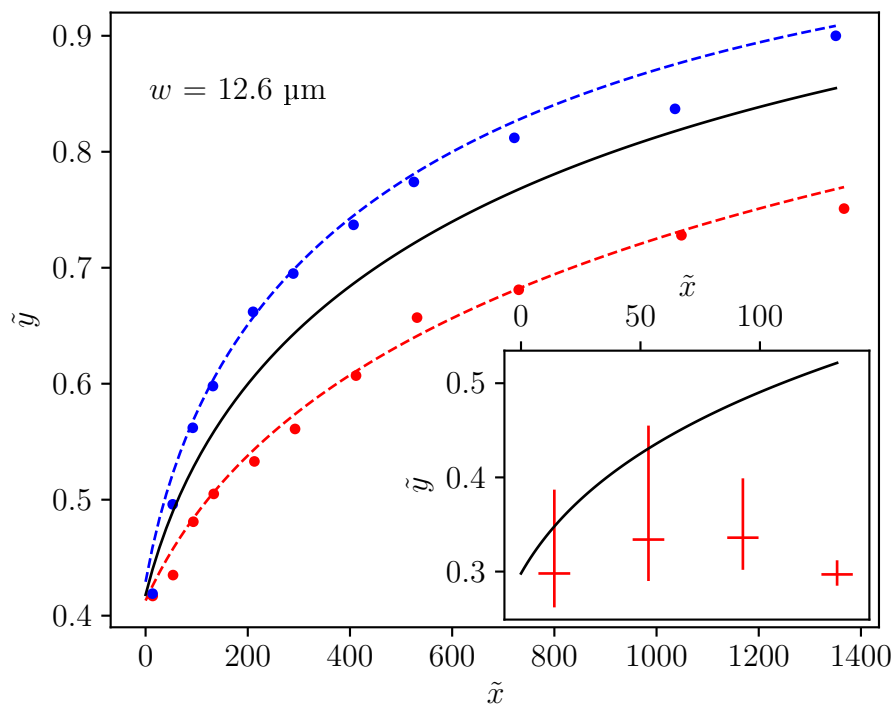


FIGURE 3.8 – Courbe d’ajustement pour la migration dans un écoulement de Poiseuille ( $2w = 25 \mu\text{m}$ ) pour 2 populations différentes de globules rouges. La couleur rouge représente la trajectoire médiane des globules rouges moins dense (points) et sa courbe d’ajustement obtenues à partir de l’Eq. 3.9 avec un fixe  $\delta_s$ , et des paramètres  $\xi$  et  $\tilde{y}_0$  libres. La couleur bleue indique la trajectoire médiane et sa courbe d’ajustement pour les globules rouges plus denses. La courbe noire est la trajectoire médiane générale obtenue précédemment en utilisant  $\delta_s$ ,  $\xi_s$  et  $\tilde{y}_0$ . Le graphe inséré représente la trajectoire médiane de globules rouges rigidifiés (en rouge), tandis que la courbe noire indique la trajectoire médiane générale.

Pour comparaison, l’insertion dans la Fig. 3.8 montre que des globules rouges

rigidifiés artificiellement en utilisant du glutaraldéhyde (à une concentration  $> 0.1\%$  telle que les protéines ont toutes complètement réticulées et que les globules rouges deviennent rigides [Sosa 2014]) perdent leur capacité à migrer et se comportent comme des particules rigides. La déformabilité est donc un important paramètre dans la dynamique de migration.

### 3.4.2.2 Discussion des résultats

Un exposant  $\delta = 2$  correspondant à la migration dans un écoulement de cisaillement simple près d'une paroi [Callens 2008] tandis qu'un exposant  $\delta = 0$  correspond à la migration dans un Poiseuille non borné [Farutin 2013]. Un exposant compris entre 0 et 2 peut donc être vu comme résultant de la combinaison des contributions de la migration induite par la paroi et de la migration due au cisaillement non constant. Cependant, le poids de ces contributions n'est pas le même en fonction de la position des particules [Kaoui 2009, Nix 2016], ainsi il n'est pas clair si un exposant universel  $\delta_s$  soit maintenu indépendamment du confinement (ratio entre le rayon des cellules et celui du canal).

Qi et al. ont simulés dans un écoulement de Poiseuille entre deux parois infinies la migration de globules rouges [Qi 2017] ; le modèle de membrane des objets simulés possède les mêmes caractéristiques que celles des globules rouges mais la viscosité du fluide interne est égale à la viscosité du fluide externe. Ils trouvent que, pour des canaux avec une épaisseur 12 à 18 fois plus grande que le rayon des cellules, des valeurs de  $\delta$  comprises entre 1.2-1.3 en moyenne, avec  $\xi$  compris dans un intervalle de 0.04 à 0.07. Nous trouvons donc une valeur de  $\delta$  proche mais des valeurs plus faibles pour  $\xi$ . On peut expliquer ce résultat par la différence de  $\lambda$ , qui est très éloigné de la réalité et de nos expériences. L'augmentation du contraste de viscosité entraîne généralement une diminution du coefficient  $\xi$  dans les écoulement de Poiseuille [Coupier 2008] ou de  $U$  pour des écoulements de cisaillement [Bureau 2017]. Par exemple Grandchamp et al. trouvent un facteur de 9 entre les valeurs de  $U$  (proportionnel à  $\xi$ ) dans le cas physiologique et  $\lambda = 1$  [Grandchamp 2013]. La similarité des valeurs de  $\delta$  dans ces différents travaux tend à montrer que la valeur trouvée ici décrit bien dans cet intervalle de confinement le couplage entre les parois et le gradient de cisaillement.

À l'inverse, nos résultats sont en contradiction avec le modèle proposé par Henríquez et al. : ils proposent qu'il est nécessaire de prendre en compte l'évolution de la déformation des globules rouges le long de  $y$  [Henríquez 2016]. En effet, cette déformation étant dépendante du cisaillement et donc de la position  $y$ , l'amplitude de la migration pourrait donc varier le long de  $y$ , se traduisant par un coefficient  $\xi$  dépendant lui aussi de  $y$ . Cette différente approche pourrait être transcrite dans un exposant  $\delta$  différent, tant que la vitesse de migration est mesurée à partir de données expérimentales ou numériques qui couvrent des intervalles limités et/ou



associés avec du bruit. Ainsi dans leurs travaux, [Henríquez 2016] fixe  $\delta = 2$  et le modèle proposé implique que  $\xi$  est une fonction décroissante de  $y$ , impliquant que la vitesse de migration décroît beaucoup plus rapidement avec  $y$  que dans l'Eq. 3.3 avec  $\xi$  constant et  $\delta = 1.3$ .

# Évolution d'un profil d'hématocrite le long d'un canal

---

## Contents

---

<b>3.1</b>	<b>Introduction</b>	<b>31</b>
<b>3.2</b>	<b>Théorie sur la migration</b>	<b>32</b>
3.2.1	Migration transverse sous cisaillement simple	33
3.2.2	Migration transverse dans un capillaire	33
<b>3.3</b>	<b>Méthode expérimentale</b>	<b>34</b>
3.3.1	Le circuit microfluidique	34
3.3.2	Préparation des solutions	35
3.3.3	Méthode expérimentale	36
<b>3.4</b>	<b>Résultats expérimentaux</b>	<b>36</b>
3.4.1	Vitesse longitudinale	36
3.4.2	Vitesse transversale	39

---

## 4.1 Introduction

Dans le chapitre précédent nous nous sommes intéressés aux déplacements transverses des globules rouges causés par le cisaillement et les parois. Pour limiter les interactions hydrodynamiques entre les globules rouges et se focaliser sur la dynamique individuelles, les expériences avaient été effectuées à très faible hématocrite  $\leq 1\%$ . À l'inverse dans ce chapitre nous allons nous intéresser au cas plus réaliste où les interactions entre globules rouges et l'hématocrite local ont une influence sur la distribution des globules rouges dans des situations confinées (diamètre des canaux  $\leq 50\ \mu\text{m}$ ) et sur la mise en place de la couche de déplétion.

### 4.1.1 État de l'art

Dans un canal, les globules rouges se déplacent dans le sens de l'écoulement à des vitesses variables, conduisant à des interactions hydrodynamiques entre globules rouges. Par exemple dans un écoulement de cisaillement, deux particules

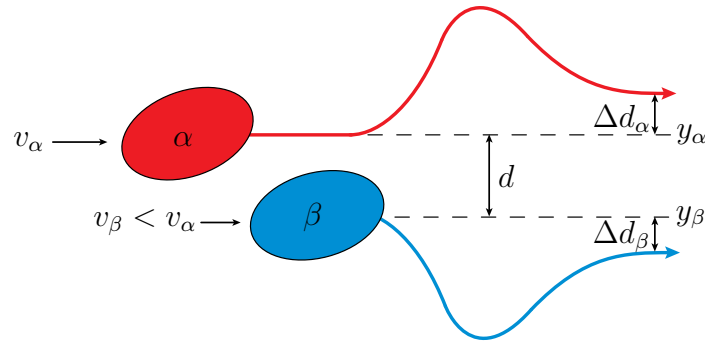


FIGURE 4.1 – Schéma représentant une interaction de paire entre deux objets  $\alpha$  et  $\beta$  déformables dans un écoulement quelconque [Henríquez 2016].  $v$  représente la vitesse de l'écoulement.

identiques présentes sur deux lignes de courant différentes et se déplaçant l'une vers l'autre vont généralement subir un déplacement irréversible dans le plan du cisaillement et de la vorticité après leur interaction (Fig. 4.1). Ainsi l'inter-distance finale transversale à l'écoulement entre ces deux particules est différente de l'inter-distance initiale. C'est le cas pour des vésicules ou des globules rouges en l'absence d'agrégation [Loewenberg 1997, Gires 2014]. Ces interactions de paires ont donc pour conséquences de disperser les particules les unes des autres transversalement à l'écoulement. Dans la littérature, ce phénomène est formellement assimil e à un problème de diffusion et souvent d enom e "diffusion induite par cisaillement" [Da Cunha 1996, Griffiths 2012, Grandchamp 2013].   la différence des particules solides les globules rouges migrent transversalement en direction du centre du canal. La dispersion et la migration ont donc un comportement antagoniste : la diffusion induite par cisaillement tend à espacer les globules rouges les uns des autres en les écartant contre la paroi tandis que la migration tend à concentrer les globules rouges vers le centre du canal. C'est le couplage de ces deux phénomènes oppos es qui nous intéresse ici.

Sherwood et al. se sont int eres s es au profil de concentration en sortie d'une intersection en T [Sherwood 2012a] et ont pu montrer quantitativement que le profil de distribution de l'hématocrite au sein des branches filles est asymétrique par rapport au centre du canal. Cette asymétrie est causée par la présence de la couche de déplétion. En effet celle-ci se trouvant au niveau des parois, elle ne peut être distribuée à toutes les parois des branches filles. La Fig. 4.2 montre la distribution de la couche de déplétion dans deux branches filles à la suite d'une intersection en Y. On observe que les branches filles possèdent une couche de déplétion uniquement d'un côté, leurs profils de concentration ne sont donc pas symétriques par rapport à leurs lignes médianes respectives. L'amplitude de cette asymétrie est variable et dépend du rapport de débit entre les deux branches filles, de la géométrie de l'intersection et du profil d'hématocrite dans la branche parente [Balogh 2018].

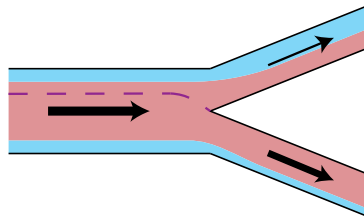


FIGURE 4.2 – Schémas présentant la distribution de la couche de déplétion (zone bleu) dans un circuit bidimensionnel représentant une intersection en Y. Les flèches représentent le débit et le sens d'écoulement. L'épaisseur de la ligne indique l'amplitude du débit : la branche fille du haut a un débit inférieur à la branche fille du bas qui se traduit par une distribution asymétrique des couches de déplétion. La ligne pointillée violette indique la ligne de séparation.

Dans leur travail suivant [Sherwood 2014], les auteurs se sont intéressés à l'influence d'un enchaînement de deux intersections en T (formant au final un canal en forme de  $\pi$ ) sur les profils d'hématocrite dans les branches filles. Leurs résultats montrent que les profils de concentration peuvent être très différents. En effet le profil de concentration n'a pas le temps d'atteindre un état stationnaire entre les deux branches verticales du canal en  $\pi$ , on a donc deux configurations d'entrée différentes entre les deux branches verticales, entraînant in fine deux profils d'hématocrite différents. Dans cette étude, Sherwood et al. se sont limités à une seule interdistance ( $5D$  avec  $D = 50 \mu\text{m}$  la largeur du canal). Cette valeur a été choisie pour être inférieure à  $10D$ , distance nécessaire minimale pour obtenir un profil d'hématocrite symétrique selon Pries [Pries 1989]. Cette valeur a été obtenue à partir de travaux in-vivo avec peu ou pas de contrôle sur l'écoulement, l'influence de la concentration ou du confinement sur cette dimension n'ayant jamais été étudiée. Ce chapitre a pour but d'étudier la dynamique d'évolution du profil de concentration à la suite d'une intersection en T en fonction de l'hématocrite et du confinement, afin d'obtenir des lois d'évolution plus génériques.

### 4.1.2 Dispositif expérimental et méthodes

Le dispositif expérimental utilisé pour les expériences décrites dans ce chapitre est basé sur celui du chapitre précédent. La principale différence vient des concentrations en globules rouges utilisées et à la méthode d'analyse des résultats. En effet, les deux circuits utilisés ici ont la même géométrie que les circuits utilisés dans le chapitre précédent. On utilisera les mêmes notations que précédemment. Avant le canal d'intérêt, l'écoulement est établi sur une longue distance : le profil d'hématocrite à l'entrée de la bifurcation en T est supposé symétrique par rapport à la médiane de la branche d'entrée. La suspension atteint alors une intersection en T : le contrôle de la pression dans les branches filles permet de déplacer la ligne de

séparation de l'écoulement et donc de contrôler la taille de la couche de déplétion dans la branche d'intérêt [Sherwood 2012a]. On crée ainsi une condition où 1/3 du circuit d'intérêt est dépourvue de globules rouges. Durant cette partie, deux canaux sont utilisés. Ceux-ci possèdent leurs propres dimensions :  $w = 10.2$  et  $15.3 \mu\text{m}$  avec respectivement  $h = 6.4$  et  $10 \mu\text{m}$ , leurs longueurs utiles sont égales ( $2.7 \text{ cm}$ ). Les confinements pour ces canaux sont respectivement 3.5 et 5.5. Les écoulements sont contrôlés grâce à un contrôleur de pression (Elveflow™ Mk3).

### 4.1.3 Préparation des solutions

Les globules rouges sont au préalable lavés suivant le protocole décrit dans le Chap. 2. Contrairement au chapitre précédent, des hématocrites de réservoir plus élevés sont utilisés dans ce chapitre : 1, 15, 30 et 45%. Les globules rouges sont suspendus dans une solution isodense (solution B). De par la méthode expérimentale (une part faible des globules s'écoulent dans le canal d'intérêt) et de par le confinement, l'hématocrite mesuré au niveau du canal d'intérêt est plus faible que l'hématocrite de réservoir. Les résultats sont in fine présentés en fonction des hématocrites mesurés dans les capillaire.

### 4.1.4 Méthode expérimentale

Les vidéos sont acquises à l'aide d'un grossissement X32 monté sur un microscope inversé en utilisant une camera CMOS à une fréquence de 30 images/s. Les globules rouges ne sont pas suivis directement : des films d'une durée de 1 min sont enregistrés sur des fenêtres de taille  $L = 70$  et  $L = 100 \mu\text{m}$  à différentes positions  $x$ , respectivement pour les canaux de largeur  $w = 10.2$  et  $w = 15.3 \mu\text{m}$ .

Un programme en langage Python, utilisant la librairie OpenCV™ [Bradski 2000] permet d'analyser les vidéos :

- L'arrière plan ( $I_0$ ) de l'image étant plus clair que les globules rouges, il est possible d'extraire une image de référence à partir du maximum dans le temps de l'intensité des pixels. La diffraction optique (provenant de la finesse du focus) et le gain de la caméra bruite fortement cette image de référence. Un seuillage et l'utilisation d'un filtre médian permet de réduire ce bruit. L'utilisation d'un seuillage suivi d'un traitement d'image morphologique permet d'extraire les pixels appartenant aux parois, les parois sont ensuite approximées à l'aide d'une droite.
- La mesure de la concentration est possible à partir de l'intensité moyenne ( $I$ ) des pixels. Dans les canaux d'intérêt, l'hématocrite restera en deçà de 20 %. Ainsi à partir de cette nouvelle image, il est possible d'extraire l'hématocrite via une relation de type Beer-Lambert :  $\Phi \propto \log(I/I_0)$ . L'évolution du profil de concentration pouvant être rapide le long du canal, la plage ( $d_x$ ) sur la-

quelle est mesurée l'hématocrite doit rester réduite dans la direction  $x$ . Dans le même temps moyenner l'hématocrite sur un  $\Delta x$  plus large est nécessaire pour obtenir un profil plus lisse. Un bon compromis est obtenu pour une bande d'une largeur  $d_x = 7 \mu\text{m}$ .

- L'évolution de la couche de déplétion est discutée dans ce chapitre. En effet celle-ci a un rôle primordial dans de nombreux phénomènes observés dans la microcirculation (effet Fåhræus, plasma skimming, rhéologie, distribution des globules rouges aux bifurcations). La couche de déplétion peut être définie de différentes manières. Ainsi dans la littérature la couche de déplétion est parfois mesurée à partir d'un seuil d'hématocrite [Yin 2013], cette définition n'est pas utilisée ici puisque le choix du seuillage est arbitraire. Une autre définition consiste à considérer la couche de déplétion comme la couche restante totalement dépourvue de globules rouges pendant l'observation [Zhou 2019]. Sa détermination consiste donc à mesurer la taille de la zone où aucun globule rouge n'est passé. Cette méthode permet d'avoir une mesure de la couche de déplétion même à très faible hématocrite mais a le désavantage d'être sensible à l'existence d'événements rares (un globule rouge isolé rampant contre la paroi par exemple). On définit ici la zone de déplétion comme la zone comprise entre la paroi du canal et la membrane des globules rouges les plus proches des parois moyennée dans le temps et l'espace. A partir de l'image obtenue à partir de  $I - I_0$  et d'un seuillage, un masque séparant les globules rouges de l'arrière plan est créé. A partir de ce masque, la couche de déplétion peut être extraite en mesurant la distance séparant la paroi des parois des globules rouges (sur les zones où il n'y a pas de globules rouges, la couche de déplétion n'est pas calculée et ne participe pas à la moyenne). Cette mesure est moyennée spatialement en premier lieu le long de  $x$  sur chaque image, puis l'on moyenne temporellement celles-ci. On sépare bien évidemment la couche de déplétion au niveau de  $y = 2w$  que l'on note  $d_t$  et la couche de déplétion au niveau de  $y = 0$  que l'on note  $d_b$  (voir Fig. 4.3).

## 4.2 Résultats expérimentaux

Les Figs. 4.4 et 4.6 présentent l'évolution des profils de concentration pour deux épaisseurs ( $2w = 20.4$  et  $30.6 \mu\text{m}$  respectivement) le long de  $Oy$  en fonction de  $\Phi_c$  et de la position  $x$ .  $\Phi_c$  correspond à l'hématocrite moyen à l'entrée du canal juste après la bifurcation des canaux après l'intersection. En effet, le fait de séparer l'écoulement pour obtenir des conditions initiales particulières et le confinement (effet Fåhræus) entraînent un  $\Phi_c$  qui peut être significativement différent de l'hématocrite de réservoir  $\Phi_r$  (voir Tab. 4.2). Pour chaque profil on redimensionnera

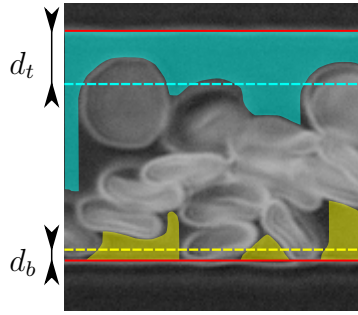


FIGURE 4.3 – Mesure des couches de déplétion en un point  $x$  à un certain temps. Les lignes rouges représente les parois supérieure et inférieure du canal. La zone jaune correspond à la zone prise en compte dans le calcul de  $d_b$  qui est représenté par la ligne en pointillé jaune. La zone bleue correspond à la zone prise en compte dans le calcul de  $d_t$ .

par  $\Phi_0$ , la concentration locale maximale.

Les résultats présentés dans les Fig. 4.4 et 4.6 permettent de décrire de manière qualitative l'évolution des profils de concentration le long de  $x$ . Dans tous les cas, le profil d'hématocrite initial présente la même forme :  $\Phi/\Phi_0$  augmente fortement à partir de  $y = 0$  (ou à partir de  $y$  proche de 0) pour arriver à un pic en  $y = y_p$  proche de  $y = 0$ . À partir de ce pic l'hématocrite décroît de façon monotone (aux erreurs de mesures près) jusqu'à 0 avant  $y = 2w$ . Le profil de concentration évolue fortement le long de  $x$  : en effet  $y_p$  se décale en direction de  $y = w$  tandis que la pente devient plus faible entre  $y = 0$  et  $y = y_p$  et plus forte entre  $y = y_p$  et  $y = 2w$ . On notera l'apparition d'une couche de déplétion ( $\Phi/\Phi_0 = 0$ ) aux abords de la paroi  $y = 0$  tandis que la taille de la couche de déplétion à la paroi  $y = 2w$  aura tendance à diminuer. Une observation importante est le fait que les profils de concentrations ne tendent pas vers un  $\Phi/\Phi_0$  constant le long de  $y$  indique que la migration des globules rouges n'est pas négligeable dans la mise en place des profils d'hématocrite.

Les Fig. 4.5 et 4.7 présentent l'évolution de la médiane  $y_{med}$  en fonction de  $x$ . On note que dans tous les cas,  $y_{med}$  tend vers le centre du canal et que le profil de concentration tend à devenir symétrique par rapport à  $y = w$ . Le 20<sup>ème</sup> et le 80<sup>ème</sup> percentiles (notés  $y_{20}$  et  $y_{80}$  respectivement) évoluent de façon parallèle à  $y_{med}$ . La distance entre  $y_{20}$  et  $y_{med}$  est initialement plus faible que la distance entre  $y_{80}$  et  $y_{med}$  puis les deux distances tendent à s'équilibrer l'une à l'autre. La distance totale (somme des deux autres) varie peu ou pas suivant  $x$ . Les pointillés rouges montrent l'évolution des couches de déplétion : ces courbes permettant de confirmer que la couche de déplétion au niveau de la paroi  $y = 0$  grandit tandis que la couche de déplétion au niveau de la paroi  $y = 2w$  diminue. On remarque aux faibles concentrations que la position de la couche de déplétion est inférieure à celle du

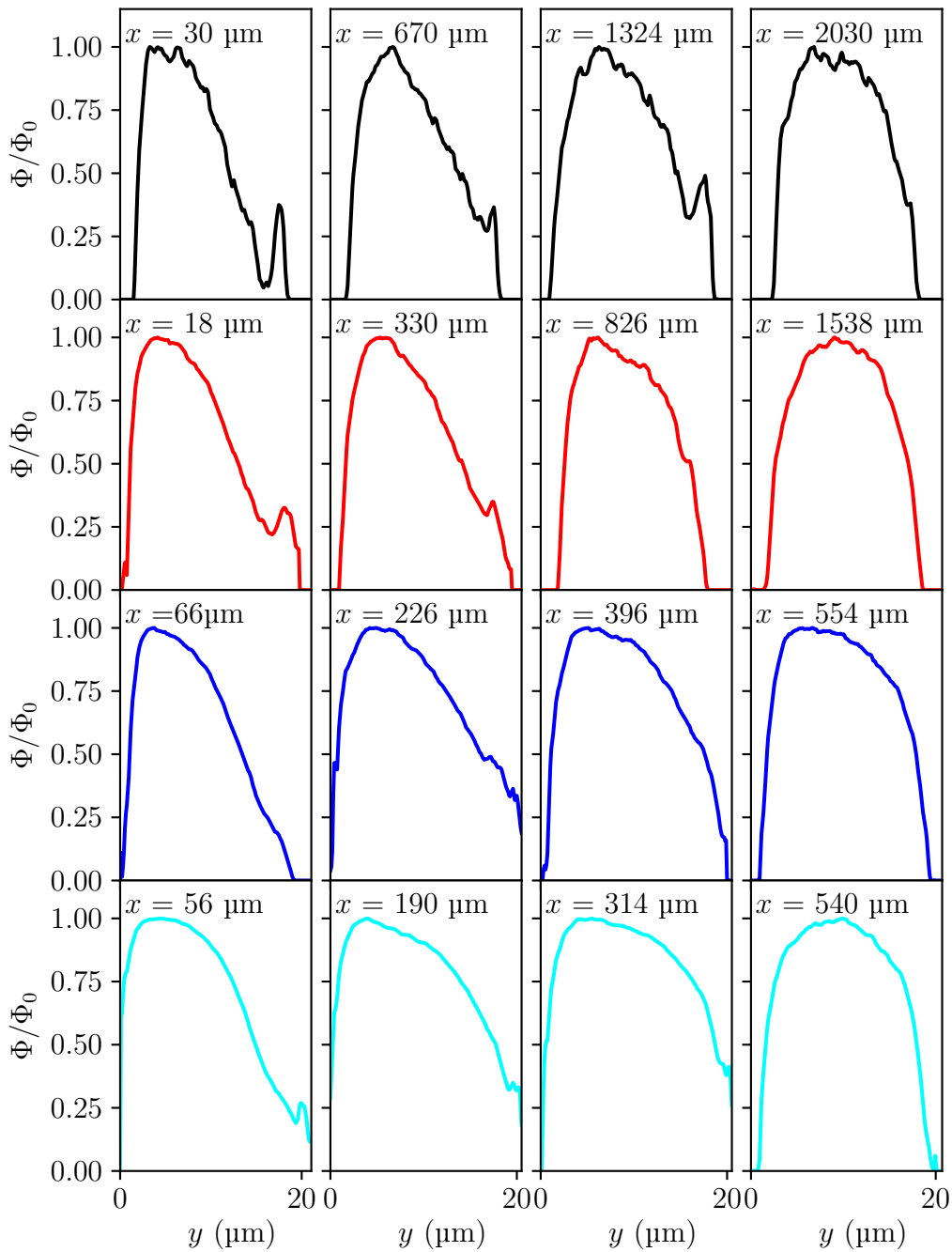


FIGURE 4.4 – Profils de concentration le long de  $y$  en fonction de  $x$  et de  $\Phi_c$  pour un canal de largeur  $20.4 \mu\text{m}$ . Chaque rangée correspond à un  $\Phi_c$  donné : de haut en bas : 1 % (noir), 5% (rouge), 12% (bleu), 15% (cyan). Les profils de concentration sont redimensionnés par  $\Phi_0$  le maximum de concentration de chaque profil.



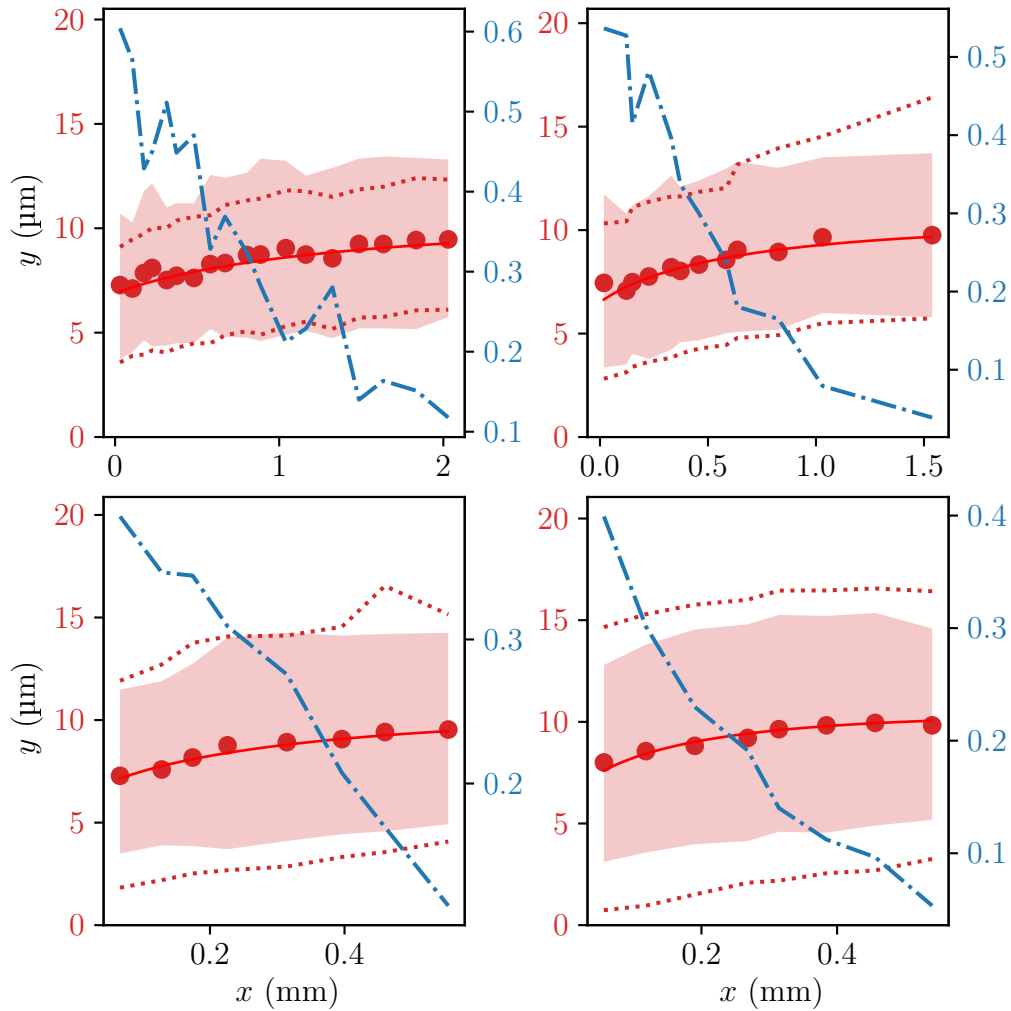


FIGURE 4.5 – Caractéristiques de l'évolution du profil de concentration pour différents  $\Phi_c$  : 1 % en haut à gauche, 5 % en haut à droite, 12 % en bas à gauche et 15% en bas à droite pour  $w = 10.2 \mu\text{m}$ . Points rouges :  $y_{med}(x)$ ; pointillés rouges : limites des couches de déplétion; zone rouge : aire comprise entre  $y_{20}(x)$  et  $y_{80}(x)$ ; courbe bleue :  $\tilde{\mu}_3(x)$

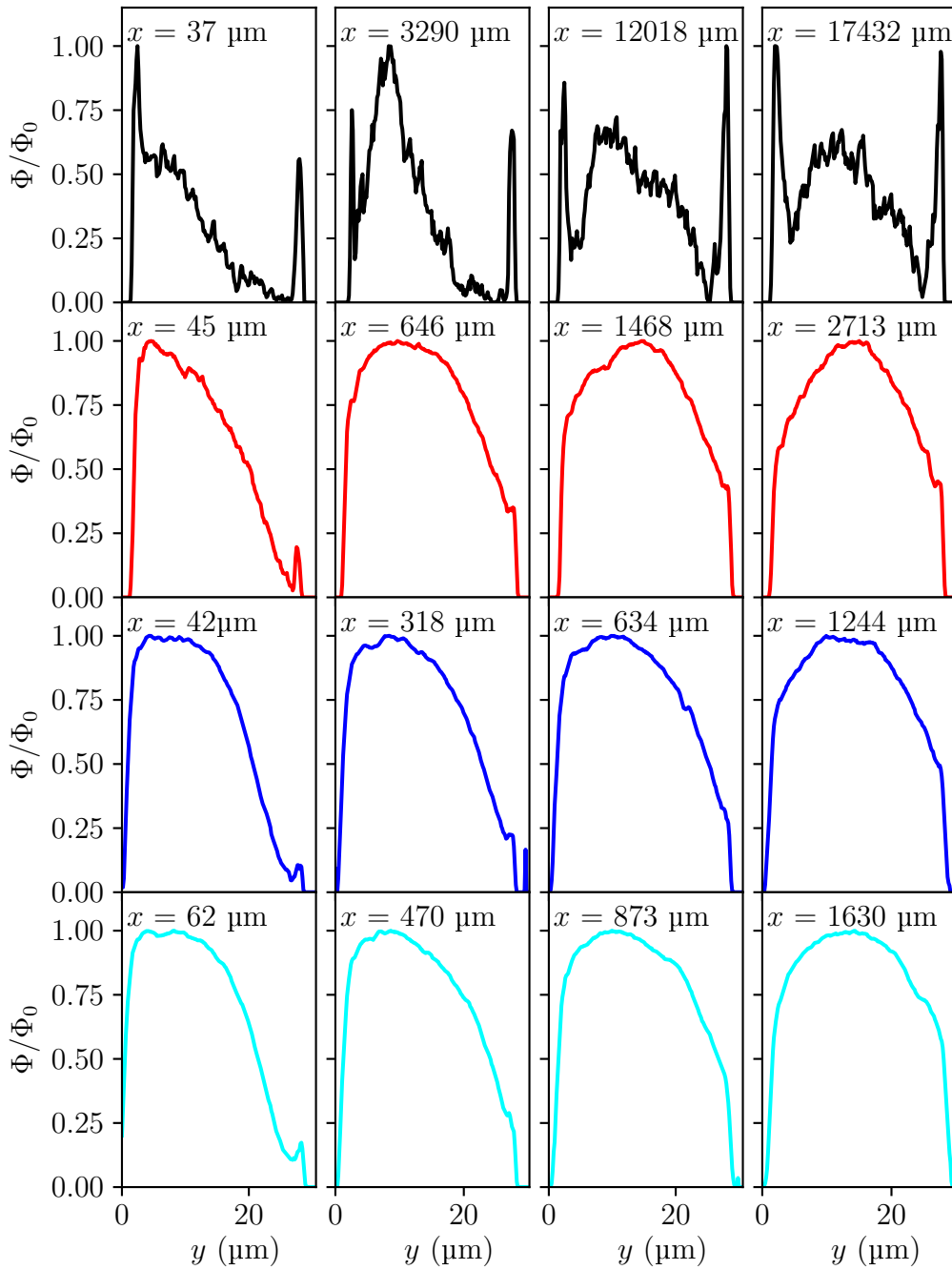


FIGURE 4.6 – Profils de concentration le long de  $y$  en fonction de  $x$  et de  $\Phi_c$  pour un canal de largeur  $30.6 \mu\text{m}$ . Chacune des lignes correspond à un  $\Phi_c$  donné : de haut en bas : 0.5 % (noir), 5% (rouge), 10 % (bleu), 15% (cyan).

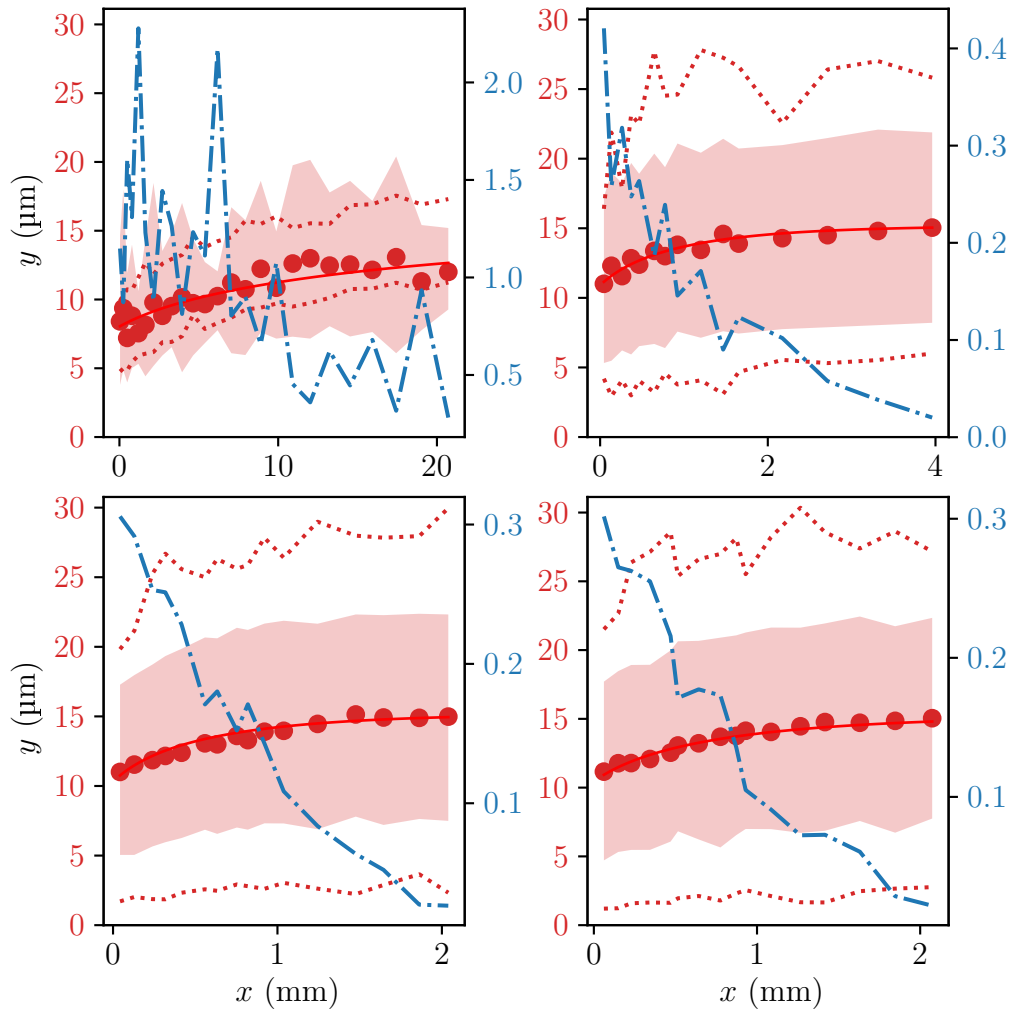


FIGURE 4.7 – Caractéristiques de l'évolution du profil de concentration pour différents  $\Phi_c$  : 0.5 % en haut à gauche, 5 % en haut à droite, 10 % en bas à gauche et 15% en bas à droite pour  $w = 15.3 \mu\text{m}$ . Points rouges :  $y_{med}(x)$ ; pointillés rouges : limites des couches de déplétion; zone rouge : aire comprise entre  $y_{20}(x)$  et  $y_{80}(x)$ ; courbe bleue :  $\tilde{\mu}_3(x)$

percentile  $y_{80}$ . Il s'agit d'un artefact provenant des pics d'hématocrites causés par la diffraction de la lumière au niveau des parois.

Ce centrage de la médiane se rapproche du phénomène de migration. Or cette même migration joue un rôle important dans le centrage et la forme du profil d'hématocrite. On suppose donc une dynamique similaire à la migration transverse. Ainsi une loi d'échelle décrivant la trajectoire de la médiane s'inspirant de la loi de migration présentée dans le chapitre précédent peut être introduite :

$$\frac{\partial y_{th}}{\partial x} = \alpha R_0^{\beta+1} \frac{\dot{\gamma}(y, 0)}{y^\beta v_p(y, 0)}. \quad (4.1)$$

avec  $\dot{\gamma}$  le cisaillement dans un écoulement sans globule,  $v_p$  la vitesse longitudinale des particules diluées calculée à partir de l'Eq. 3.8. Pour ne pas confondre les paramètres avec ceux du chapitre précédent on note  $\alpha$  et  $\beta$ , les équivalents respectivement de  $\xi$  et de  $\delta$  de l'Eq. 3.9. L'évolution expérimentale de la position de la médiane est ajustée par l'Eq. 4.1 en posant  $\beta = \delta_s = 1.3$  et en laissant les coefficients  $y_{med}(0)$  et  $\alpha$  libres. Les résultats sont présentés dans le Tab. 4.2. Pour rappel, le loi de migration d'un globule rouge avait permis de trouver le couple de paramètres  $\xi_s = 1.1 \times 10^{-2}$  et  $\delta_s = 1.3$  pour  $\Phi_c < 0.01$ . A l'exception du cas très bruyé ( $\Phi_c = 0.5$  % et  $w = 15.3$   $\mu\text{m}$ ), on trouve pour tous les cas que  $\alpha > \xi_s$ . Ce résultat indique qu'une l'augmentation  $\Phi_c$  (qui se traduit par une augmentation de la diffusion) accélère la mise en place de l'état stationnaire. On observe de plus que dans le canal de largeur  $w = 10.2$   $\mu\text{m}$   $\alpha$  augmente avec  $\Phi_c$  : cela indique que les interactions entre globules favorisent le centrage du profil de l'hématocrite et que la force de migration de la partie supérieure (sous-entendu la zone comprise entre  $w$  et  $2w$ ) n'est pas suffisante pour empêcher l'étalement du profil de concentration initialement très asymétrique. Dans le même temps l'apparition d'une couche de déplétion contre la paroi en  $y = 0$  et l'absence de profil de concentration uniforme confirment le rôle des forces de migration dans l'établissement des couches de déplétion.

Pour toutes les concentrations et les deux tailles de canaux utilisés, on observe que les profils de concentration, au départ dissymétriques, deviennent de plus en plus symétriques au fur et à mesure que la distance parcourue augmente, simultanément à une migration d'ensemble vers le centre. Le calcul du coefficient d'asymétrie permet de donner des informations sur la dynamique de cette évolution. Une estimation du moment d'ordre 3 ( $\tilde{\mu}_3$ ) de la distribution permet de mesurer l'asymétrie de la population [Joanes 1998] :

$$\tilde{\mu}_3 = \frac{m_3}{s^3} = \frac{\frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \Phi_n (y_n - \bar{y})^3}{\left( \frac{1}{N} \sum_{n=1}^N \Phi_n (y_n - \bar{y})^2 \right)^{3/2}}, \quad (4.2)$$

Avec  $m_3$  le moment centré d'ordre 3 de l'échantillon et  $s$  l'écart type de ce

$w$ ( $\mu\text{m}$ )	$\Phi_r$ (%)	$\Phi_c$ (%)	$\beta$	$\alpha$
10.2	1	1	1.3	0.020
	15	5		0.042
	30	12		0.092
	45	15		0.18
15.3	1	0.5	1.3	0.0045
	15	5		0.13
	30	10		0.20
	45	15		0.16

TABLE 4.1 – Valeurs des constantes utilisées par les courbes d'ajustement présentées dans les Fig. 4.7 et 4.5.

même échantillon. Un  $\tilde{\mu}_3$  proche de 0 indique une distribution symétrique. La valeur absolue de  $\tilde{\mu}_3$  est représentée en bleu dans les Fig. 4.5 et 4.7. Dans tous les cas sa valeur décroît avec  $x$  et se rapproche de 0. On notera le  $\tilde{\mu}_3$  très bruité pour le graphe représentant un écoulement avec  $\Phi_c = 0.5$  % et  $w = 15.3$   $\mu\text{m}$  ( Fig. 4.7, graphe en haut à gauche). Ce parasitage vient de la difficulté à extraire un profil de concentration du bruit de fond ; en effet à cet hématocrite la mesure de  $\log(I/I_0)$  présente une très faible amplitude qui peut être inférieure au bruit de fond : les pics aux extrémités (1ère ligne de la Fig 4.6) correspondent en partie au bruit causé par la diffraction des parois. Si l'on s'intéresse à l'évolution de  $\tilde{\mu}_3$  dans les autres cas on remarque  $\tilde{\mu}_3$  tend plus rapidement vers 0 lorsque  $\Phi_c$  devient plus important. Ainsi pour un canal large de 20.4  $\mu\text{m}$  (Fig. 4.5), ce coefficient passe de 0.4 à 0.1 en 1500, 700, 550 et 500  $\mu\text{m}$  pour des  $\Phi_c$  respectifs 1, 5, 12 et 15 %. Dans le cas du canal à 30  $\mu\text{m}$  (Fig. 4.7), ce coefficient passe de 0.3 à 0.1 en 2400, 1200 et 1000  $\mu\text{m}$  pour des  $\Phi_c$  respectifs 5, 10, 15 %. Cette influence de l'hématocrite traduit le fait que la distribution induite par les interactions hydrodynamiques (diffusion induite par cisaillement) est favorable à une mise à l'équilibre plus rapide de la structure de la suspension. Cependant il est important de noter que  $\tilde{\mu}_3(x)$  donne seulement une idée de l'évolution de la symétrie du profil de l'hématocrite et non de la forme de celui-ci.

### 4.3 Discussion

Ces dernières années plusieurs équipes se sont intéressées expérimentalement à la dynamique d'évolution d'un profil de concentration le long d'un canal. L'équipe de Kazuya s'est intéressée à l'évolution du profil de concentration de globules rouges rigidifiés dans des canaux de tailles similaires au notre ( $2w \times 2h = 28 \times 27$   $\mu\text{m}$ ) et à des hématocrites comparables (5 à 20 %) [Tatsumi 2019]. Ces globules rouges rigidifiés donnent un profil d'hématocrite différent avec 3 pics de concentration : deux contre

les parois et un central, l'amplitude du pic central semblant diminuer lorsque l'on augmente l'hématocrite. Cette observation diffère des résultats présentés ici, où l'on n'observe pas cette structuration en couches. La principale différence réside dans la capacité des globules rouges à se déformer. On peut donc supposer que la déformabilité est un paramètre essentiel et joue un rôle important dans la forme stationnaire du profil d'hématocrite. Les simulations numériques de Kolitsi et al. se sont intéressés entre autre au profil de concentration stationnaire d'une suspension de globules rouges à  $30\ \mu\text{m}$  pour des canaux allant de  $20$  à  $200\ \mu\text{m}$  [Kolitsi 2019]. Leurs résultats à fort confinement corroborent nos résultats puisqu'ils observent des profils de concentrations similaires.

In vivo, la fréquence des intersections et leur géométrie ( $T$ ,  $Y$ ...) peut varier dans de fortes proportions d'un organe à l'autre et peut varier au sein même d'un organe : la distance entre deux intersections est comprise entre  $3.5D$  à  $20D$  en moyenne [House 1986]. Dans le travail présent on remarque que pour les plus fortes concentrations le profil symétrique n'est atteint qu'à partir de  $20D$  pour  $D = 20.4\ \mu\text{m}$  et à partir de  $30D$  pour  $D = 30.6\ \mu\text{m}$ . Même en tenant en compte du fait que les hématocrites peuvent être supérieurs dans la microcirculation in vivo (20 ou 30 %), ce qui peut favoriser une mise à l'équilibre plus rapide comme on l'a vu dans ce chapitre. Cela suggère que dans la majorité des branches de la microcirculation, les profils d'hématocrite (et donc la couche de déplétion) sont asymétriques. Cette asymétrie doit donc influencer fortement sur la répartition de l'hématocrite dans les branches filles et dans la perfusion de l'arbre capillaire. Du fait de son influence sur les conditions d'entrée dans les bifurcations successives, la dynamique de mise à l'équilibre d'un profil d'hématocrite doit être prise en compte dans les modèles pour pouvoir simuler correctement les séparations de phase.



# Dispersion d'un bolus de globules rouges en écoulement confiné

---

## Contents

---

<b>4.1</b>	<b>Introduction</b>	<b>47</b>
4.1.1	État de l'art	47
4.1.2	Dispositif expérimental et méthodes	49
4.1.3	Préparation des solutions	50
4.1.4	Méthode expérimentale	50
<b>4.2</b>	<b>Résultats expérimentaux</b>	<b>51</b>
<b>4.3</b>	<b>Discussion</b>	<b>58</b>

---

## 5.1 Introduction

Dans les chapitres précédents nous nous sommes intéressés à la structuration de l'écoulement et à la compréhension du phénomène de la migration transverse des globules rouges qui entraîne la création de la couche de déplétion. Un paramètre essentiel à la compréhension du système microcirculatoire est le temps de transit des globules rouges à travers un réseau capillaire ou un organe. En effet, les échanges des solutés entre sang et tissus sont directement conditionnés par ce temps. Par exemple, dans le cas des échanges gazeux, un temps de transit trop rapide pourrait entraîner une sous oxygénation des tissus tandis qu'un temps de transit trop long peut avoir pour conséquence une désoxygénation totale des globules avant la sortie du réseau et une inhomogénéité de l'apport en  $O_2$ . Par ailleurs, dans le cas d'une pathologie comme la drépanocytose où la désoxygénation de l'hémoglobine anormale (HbS) entraîne la polymérisation de celle-ci, un temps de transit important pourrait avoir pour conséquence une plus grande rigidification des globules rouges et une augmentation de la probabilité de vaso-occlusion.

Le temps de transit d'un globule rouge au sein d'un réseau de capillaires est lié d'une part au chemin suivi dans un réseau et d'autre part à sa vitesse au sein du réseau :



- Le réseau microcapillaire est un réseau de capillaires denses et ramifiés. De nombreux trajets permettent ainsi de traverser ce réseau. La longueur de ceux-ci pouvant varier, les globules rouges ne parcourent généralement pas la même distance au sein d'un réseau.
- Au sein d'une même branche du réseau, la vitesse d'un globule rouge dépend de sa position dans la section du canal. Cette position dépend elle-même de la migration du globule rouge et de sa diffusion.

Ces phénomènes étant fortement dépendants des propriétés mécaniques des globules rouges, on peut en déduire que le temps de transit des globules rouges dépend lui aussi de leurs propriétés mécaniques.

Dans ce chapitre nous allons d'abord nous intéresser à la dispersion d'un bolus de globules rouges dans un canal simple pseudo-2D. L'influence de l'hématocrite et des propriétés mécaniques des globules rouges sur cette dispersion est discutée. Dans la suite de ce chapitre, des résultats préliminaires décrivant l'évolution d'un bolus dans un réseau ramifié modèle sont présentés (la géométrie du réseau est telle que tous les globules parcourent la même distance quel que soit le chemin choisi). L'influence des intersections sur l'évolution de la dispersion du temps de transit du bolus est discutée.

### 5.1.1 État de l'art

L'étude pionnière de Lipowsky et al. s'est intéressée à la mesure du temps de transit des globules rouges au sein de différents réseaux microcirculatoires *in vivo* [Lipowsky 1993]. Pour cela ils ont mesuré l'évolution d'un bolus de globules rouges marqués par fluorescence dans le muscle cremaster de rats. Par la mesure de l'évolution de l'intensité de fluorescence au cours du temps à l'entrée (artériole) et à la sortie (veinule) du réseau capillaire, les auteurs ont pu faire des observations intéressantes sur le temps de transit des globules rouges et la dispersion de ce temps dans un même échantillon. La Fig. 5.1 présente l'intensité de fluorescence en entrée (artériole) et en sortie (veinule) pour trois fluides : le plasma seul (graphe a)), une suspension de globules rouges et plasma (graphe b)) et une suspension de globules rouges rigidifiés par glutaraldéhyde et de plasma (graphe c)). On remarque que pour le cas du plasma le profil d'intensité s'est élargi et que le pic d'intensité s'est décalé entre l'entrée et la sortie. Cette même dispersion est légèrement différente pour des globules rouges : l'élargissement de ce profil est ainsi plus faible tandis que le pic d'intensité se décale dans une moindre mesure. Ce résultat indique que les globules rouges ne peuvent être considérés comme des traceurs passifs, les propriétés mécaniques des globules rouges jouent donc un rôle important. En général, les globules rouges sont plus centrés que le plasma (effet Fåhræus), la dispersion des vitesses est donc plus faible conduisant ainsi à une plus faible dispersion de leur temps de transit. Au contraire des globules sains et du plasma, on observe pour les

globules rigidifiés un important élargissement du profil d'intensité et un fort décalage du pic d'intensité. Le fait de rigidifier les globules rouges les transforme en particule solide, ils devraient donc se comporter comme des traceurs. Pourtant, on remarque un fort écart entre la dispersion du plasma et celle des globules rouges rigidifiés. Cette observation montre que le confinement couplé aux propriétés mécaniques des globules rouges jouent un rôle primordial dans la dispersion et le temps de transit des globules rouges. Ces résultats doivent être pris avec précaution : ceux-ci restent globaux, se limitent à l'étude d'un organe particulier et ne donnent pas accès à ce qui se passe au niveau des capillaires.

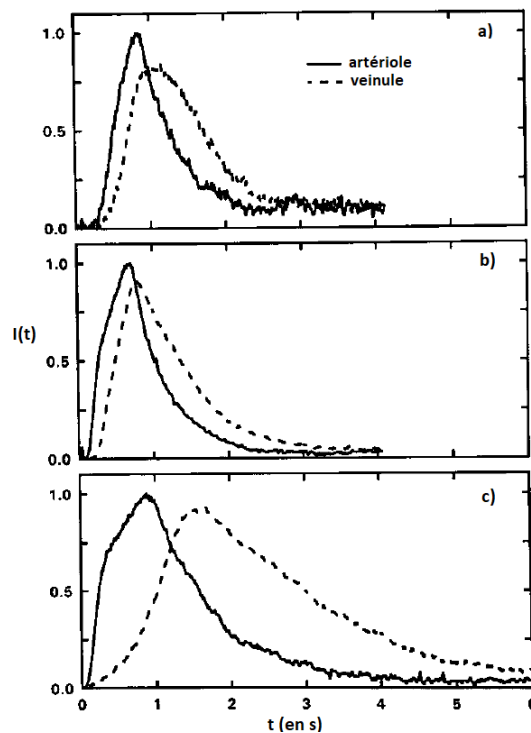


FIGURE 5.1 – Courbes présentant l'évolution de l'intensité de fluorescence en fonction du temps à l'entrée (artériole) et à la sortie (veinule d'un réseau capillaire) pour (a) du plasma, (b) une suspension de globules rouges contrôles, (c) une suspension des globules rouges rigidifiés [Lipowsky 1993].

Dans ses travaux de thèse, Shen s'est intéressé par la simulation numérique à l'évolution d'un groupe de globules rouges dans un réseau en nid d'abeilles réguliers [Shen 2016a]. Pour cela il a mesuré l'extension d'un bolus de globules rouges dans la direction de l'écoulement. Ce nuage s'écoulait dans un réseau hexagonal de canaux aux limites périodiques. En faisant varier le nombre capillaire  $Ca$  et le contraste de viscosité  $\lambda$ , il a montré que la taille du bolus de globules rouges après un temps long variait en fonction de ces deux paramètres (voir Fig. 5.2). En outre ses simulations montrent que les nuages de globules rouges rigidifiés s'élargissent individuellement

jusqu'à remplir tout le domaine de simulation.

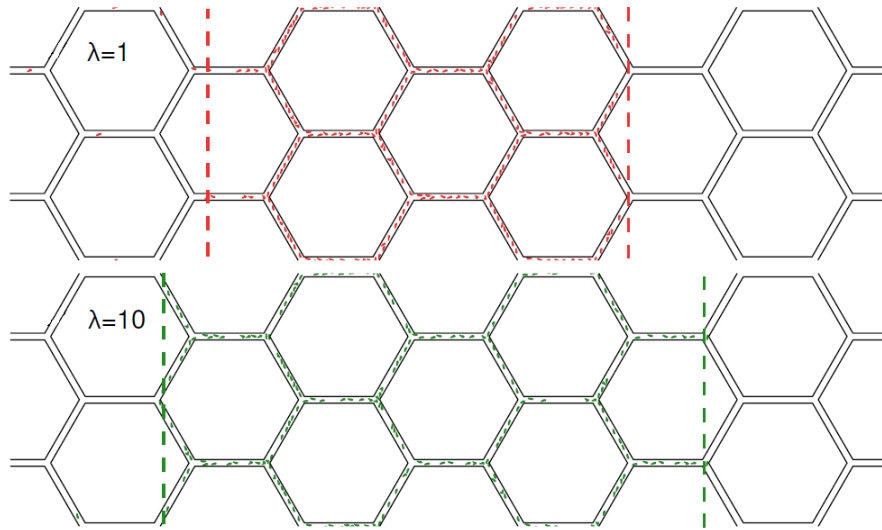


FIGURE 5.2 – Distribution des globules rouges dans un réseau en nid d'abeille après que l'écoulement se soit stabilisé pour  $Ca = 0, 1$  et différents  $\lambda$ . La flèche indique le sens de l'écoulement tandis que les traits pointillés indiquent l'avant et l'arrière du nuage [Shen 2016a].

Il est convenu dans la littérature qu'une réduction du  $\lambda$  ou une augmentation de  $Ca$  se traduit par une plus grande déformabilité des globules rouges. Ces deux paramètres dépendent à la fois des globules rouges et donc de leurs propriétés mécaniques mais aussi des propriétés de l'écoulement. Ainsi une augmentation du module de cisaillement de la membrane  $G$  (réduction de  $Ca$ ) ou une augmentation de la viscosité interne (augmentation de  $\lambda$ ) entraînent une rigidification des globules rouges. Tandis qu'une augmentation du cisaillement (augmentation de  $Ca$ ) ou une augmentation de la viscosité externe (diminution du  $\lambda$ ) augmente la déformation des globules rouges. En effet, les modifications des propriétés de l'écoulement entraînent une hausse des contraintes appliquées sur le globule rouge et donc à une amplification de ses déformations. Les simulations de Shen confirment donc qu'une plus grande rigidité des globules rouges augmente leur dispersion en écoulement :

- Pour des faibles  $\lambda$  ( $\lambda = 1$  dans la Fig. 5.2), il n'y a pratiquement pas de dispersion dans sa géométrie de réseau. En s'intéressant aux trajectoires on remarque qu'entre deux bifurcations les globules rouges ont le temps de migrer jusqu'au centre avant la prochaine bifurcation. Il y a donc une réinitialisation des conditions à chaque bifurcation, ainsi tous les globules rouges ont un comportement identique, la dispersion de leur temps de transit est donc nulle.
- A l'inverse pour des plus forts  $\lambda$  ( $\lambda = 10$  dans la Fig. 5.2), il y a une dispersion plus importante. Au contraire du cas précédent, on remarque que les globules rouges n'ont pas tous le temps de migrer au centre du canal avant chaque

bifurcation. Ainsi il n'y pas de trajectoires communes au globules rouges, ce qui conduit à une grande dispersion des vitesses et in fine à une dispersion de leurs temps de transit.

Suite aux résultats de Shen, il nous a paru pertinent dans un premier temps de nous intéresser à la dispersion dans un canal simple. Le but est de comprendre les phénomènes qui se produisent entre deux bifurcations du réseau. Pour cela l'influence de la déformabilité des globules rouges et de la concentration sur l'évolution de la taille d'un nuage de globules rouges est discutée. Par la suite nous mesurons l'influence d'un réseau sur l'élargissement d'un nuage de globules rouges. Nous nous limitons à des réseaux réguliers possédant des longueurs de branche égales.

### 5.1.2 Méthode expérimentale pour créer des nuages de globules rouges

Dans la suite de ce chapitre, l'évolution de la taille de nuages de globules rouges (bolus) est mesurée. Au préalable de la mesure il est donc nécessaire de créer ces nuages et de les injecter dans les canaux où sont prises les mesures. Les bolus utilisés dans les prochaines expériences sont tous créés suivant le même procédé. La principale complication est de pouvoir créer des bolus facilement, de manière régulière tout en gardant un système microfluidique simple ne nécessitant pas une complexification de la géométrie des circuits. Pour créer des nuages nous avons exploré l'idée intuitive d'utiliser des valves : celles-ci peuvent contrôler le passage ou non des globules rouges et donc la formation ou non des bolus.

Il existe de nombreuses méthodes en microfluidiques permettant la mise en place de valves pour le contrôle d'écoulements pulsés. La majorité des valves sont de type pneumatique : elles se basent sur la déformation en fonction de la pression de matériaux déformables. On peut citer plusieurs exemples tel les "Quake PDMS bilayer micro-valve" [Unger 2000] ou bien les "Plunger micro-valves" [Baek 2005]. Ces valves sont généralement constituées de deux circuits séparés par une fine couche de polymères déformables : l'augmentation de la pression dans l'une des deux couches entraîne une déformation de la couche déformable intermédiaire qui bloque les canaux présents dans l'autre couche. Ces méthodes sont constituées de plusieurs couches ce qui rend leur production plus complexe et leur utilisation moins aisée (dispersion de la lumière en microscopie...).

Les circuits utilisés dans la suite de cette partie ne nécessite qu'une valve. De plus nous voulions un système commode à produire pouvant tenir sur une seule couche de PDMS. Nous avons opté pour un système de commutateur : notre circuit est constitué de deux entrées et de deux sorties. La Fig. 5.3 présente la géométrie et le fonctionnement du circuit. Un débit ( $Q$ ) constant est imposé dans le canal ①, tandis qu'une pression variable est imposée dans la deuxième entrée (②). Celle-ci est permise par l'utilisation d'un contrôleur de pression (OB1 de ElveFlow) pouvant

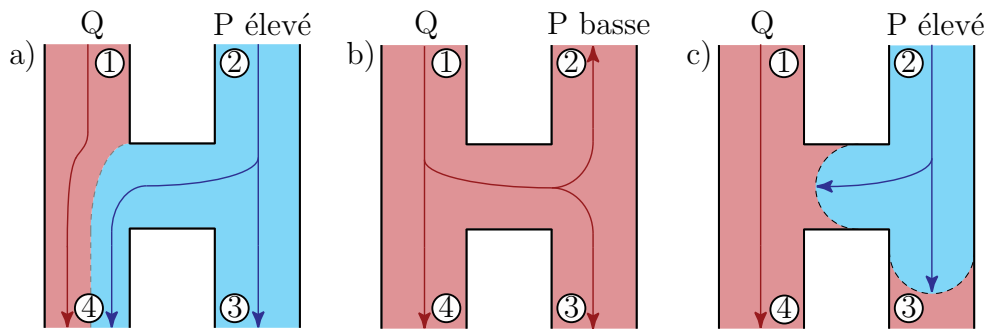


FIGURE 5.3 – Schéma d'un commutateur microfluidique. La couleur rouge correspond au fluide contenant les globules rouges tandis que le fluide bleu correspond au fluide porteur. Les trois schémas présentent les différentes étapes amenant à la création d'un bolus. La Fig a présente l'état de base, la Fig. b montre le résultat de la diminution de la pression dans la voie ②. Finalement la Fig c montre l'étape intermédiaire du passage de la situation b à la situation a lorsque l'on remonte la pression dans la voie ②. On remarque dans la voie ③ l'alternance entre fluide porteur et sang.

appliquer des variations rapides et périodiques de la pression. Ce contrôle de la pression dans la deuxième entrée permet de diriger le sens de l'écoulement dans la branche reliant les deux entrées. La création d'un nuage de globule rouges se déroule de la manière suivante :

- Dans l'état stationnaire (Fig. 5.3 a) ) le sang est injecté par la voie ① à débit constant et s'écoule dans la voie ④ tandis que le fluide suspendant est injecté par la voie ②, l'imposition d'une pression suffisante permet un écoulement dans les voies ③ et ④.
- Lorsque l'on diminue fortement la pression de la voie ②, le sang provenant de la voie ① peut s'écouler dans les 3 autres voies (Fig. 5.3 b) ).
- Finalement le retour d'une pression suffisante dans la voie ② permet d'inverser une nouvelle fois l'écoulement et de retomber dans la situation stationnaire (Fig. 5.3 c) ).

Ainsi l'alternance de l'écoulement sang/fluide porteur permet de créer des bolus dans la voie ③. Cette méthode permet la création de nuages constants et reproductibles, les limites venant des limites techniques du contrôleur de pression contrôlant la pression dans la voie ②. Il est important de noter que cette méthode entraîne un débit variable dans la branche ③. En effet il est expérimentalement irréalisable de lier le débit  $Q$  de l'entrée ① avec la pression de l'entrée ② pour obtenir un débit constant dans la branche ③. Pour mesurer la dispersion d'un nuage il est nécessaire d'avoir une vitesse constante le long de la voie ③. On fera donc en sorte que l'espacement temporel entre chaque bolus soit suffisant pour permettre au bolus de traverser toute la voie ③.

## 5.2 Évolution d'un bolus dans un canal en 2D

### 5.2.1 Montage expérimental et méthodes

Dans cette section, les voies ③ des canaux microfluidiques sont rectilignes et de sections rectangulaires. La largeur et la hauteur sont notées respectivement  $2w$  et  $2h$ . Les écoulements se font suivant l'axe  $Ox$ , les parois sont en  $y = -w$  et  $y = w$  dans la direction  $Oy$  et en  $z = 0$  et  $z = 2h$  dans la direction  $Oz$ . Pour obtenir un canal pseudo-2D et avoir un profil de vitesse parabolique dans le plan  $(Oxz)$  et un profil quasi bouchon dans le plan  $(Oxy)$ , un rapport d'aspect minimum tel que  $w \geq 8h$  est fixé. Pour éliminer les effets de bords dans la direction  $y$ , les mesures sont effectuées dans une zone comprise dans l'intervalle  $-w/2 \geq y \geq w/2$ . Le profil de vitesse dans cet intervalle est supposé indépendant de  $y$ , si bien que  $v_x(y, z) = v_x(z)$  d'où  $\dot{\gamma}(y, z) = \dot{\gamma}(z)$ . En supposant l'absence de cisaillement suivant l'axe  $Oy$  et que l'on expérimentera avec des hématocrites faibles ou modérés (inférieurs à 20%), on supposera que les déplacements transversaux à l'écoulement des globules rouges se font uniquement le long de l'axe  $(Oz)$ .

Les images sont obtenues à partir du même matériel que dans le chapitre précédent (voir section 3), à la différence près qu'ici un grossissement X10 est utilisé. L'évolution du bolus ne peut être suivie en continu (la longueur étant supérieure à la taille de la fenêtre d'observation). Les mesures sont effectuées sur des fenêtres de longueur  $L = 470 \mu\text{m}$  à différentes positions  $x$ , positions où l'on enregistre temporellement le défilement des globules rouges. Le rapport d'intensité entre l'image et l'arrière plan ( $I/I_0$ ) est calculé. On supposera la concentration  $\Phi$  suffisamment faible pour avoir  $I/I_0 \propto \Phi$  (loi de Beer-Lambert). Entre 8 et 10 nuages sont observés à chaque position  $x$  (environ tous les 1.5 mm), ces bolus sont séparés distinctement les uns des autres (30 s) pour pouvoir reconstituer facilement un bolus moyen et diminuer l'effet des bruits de mesure. On calcule ensuite une fonction de répartition du bolus moyen en fonction du temps pour chaque position  $x$  étudiée. On définit la taille du bolus ( $\tau(x)$ ) comme la différence de temps de passage en un point  $x$  entre les globules rouges en tête du bolus et ceux à la fin du bolus. Pour limiter le bruit,  $\tau(x)$  est mesuré à partir de la différence de temps entre le moment où les globules rouges à l'avant du nuage ont passé  $x$  et le moment à partir duquel 80% des globules rouges ont passé le point  $x$ . Cette valeur est un bon compromis permettant d'avoir un état initial où les globules rouges à la fin du bolus sont suffisamment proches de la paroi pour observer une différence de vitesse et que la concentration locale en hématies reste comparable au reste du bolus tout en s'affranchissant des globules rouges isolés de la fin du bolus.

Il est important de souligner les limites techniques de la méthode avant de passer aux résultats expérimentaux. En effet au moment de la création du bolus (commutation des pressions), la vitesse dans la branche ③ est différente de la vitesse



dans l'état de base. Les nuages présents dans le canal principal subissent donc une fluctuation de vitesse à chaque création d'un nouveau bolus. Ainsi pour les mesures il devient donc nécessaire d'attendre que le système soit dans l'état stable (Fig. 5.3 a)). De plus la taille du système étant limitée (la branche ③ est longue de 3 cm) et la migration pouvant être rapide, il devient nécessaire de prendre les mesures au plus proche de l'injection de la suspension de globules rouges (branche ①). On limitera donc la taille des bolus à 5 mm par un réglage de l'amplitude et de la durée des impulsions de pression. La vitesse maximale des hématies est environ de  $1.5 \text{ mm s}^{-1}$ . Idéalement la forme initiale d'un bolus devrait s'approcher d'une fonction porte. La distance entre la valve et la première mesure est suffisante pour modifier le profil de concentration (une réorganisation des globules rouges au sein du nuage de globules rouges tend à diminuer la concentration à ces limites). Cela se traduit par un hématoците à la borne des 80 % ( $\Phi_{80}$ ) différent de celui du plateau (ou de l'hématoците maximal) du bolus. On définira ainsi l'évolution des paramètres non pas en fonction de l'hématoците du réservoir mais de l'hématoците de pic  $\Phi_p$  mesuré dans le bolus initial (voir Fig 5.4).

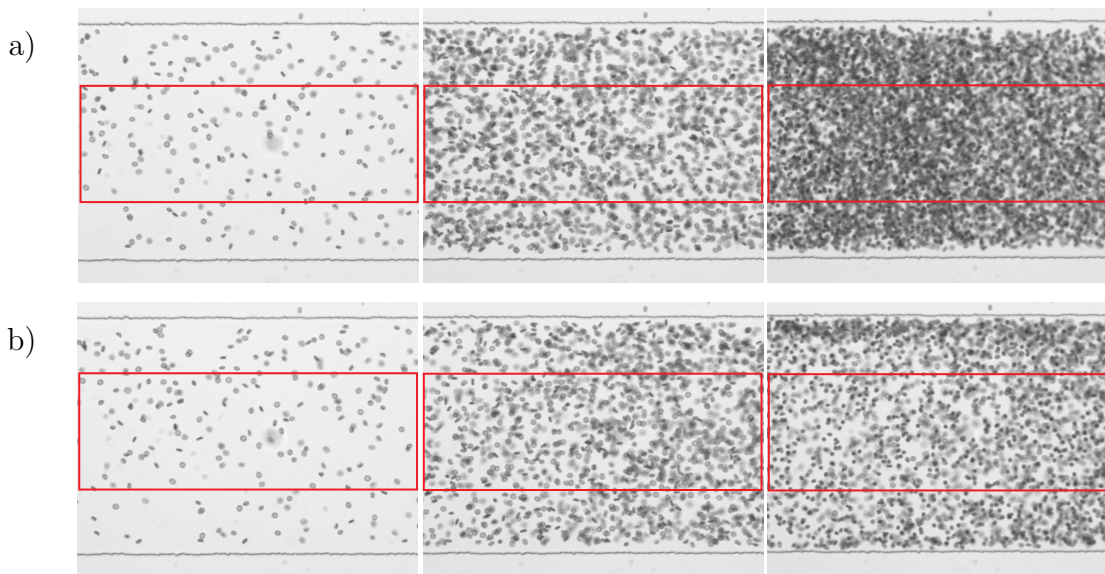


FIGURE 5.4 – Le rectangle rouge délimite la zone prise en compte pour enregistrer le profil temporel de concentration de globules rouges à une position  $x$  donnée, en fonction du temps. a) extraites lors du pic d'hématoците du bolus pour un hématoците de réservoir valant, de gauche à droite : 1, 7, 20 %. L'hématoците mesuré sur ces images et qui sera considéré est de gauche à droite 0.1, 1.1 et 5 %. b) images extraites lorsque 80 % du bolus est passé pour un hématoците de réservoir valant, de gauche à droite : 1, 7, 20 %. L'hématoците mesuré sur ces images est de gauche à droite 0.1, 1.1 et 1.5 %.

## 5.2.2 Résultats expérimentaux

La première série d'expériences décrit l'influence de l'hématocrite sur l'évolution du bolus tandis que la deuxième série d'expériences analyse l'influence de la déformabilité des globules rouges sur l'évolution du bolus. L'influence de la déformabilité est étudiée de deux manières. La première consiste à modifier le rapport de viscosité  $\lambda$  tandis que la deuxième compare des globules de densité différentes comme dans le Chap. 3.

### 5.2.2.1 Influence de l'hématocrite sur la dispersion d'un nuage de globules rouges

Dans un premier temps, l'influence de l'hématocrite sur l'évolution d'un bolus de globules rouges est étudiée. Trois hématocrites de réservoir sont utilisés : 1, 7 et 20%. Le canal dans lequel s'écoulent les bolus est rectiligne, de section rectangulaire avec une épaisseur de  $2h = 33 \mu\text{m}$  et de largeur de  $2w = 350 \mu\text{m}$ . La préparation des échantillons sanguins s'effectue comme présentée dans le Chap. 2, les globules rouges sont par la suite suspendus dans une solution isodense (solution B).

**Dynamique du profil d'hématocrite** La Fig. 5.5 présente l'évolution et la dispersion du profil d'hématocrite  $\Phi(t, x)$  du nuage de globules rouges. Pour  $x = 0$  on remarque que le profil de concentration du nuage est moins pointu pour  $\Phi_p = 0.1$  (correspond à  $\Phi_r = 1 \%$ ) que pour les deux autres hématocrites. Cet aplatissement tend à disparaître pour faire apparaître un pic. Par la suite, le pic tend à s'effacer pour former un dôme tandis que l'amplitude de son pic diminue avec  $x$ . Dans le cas où  $\Phi_p = 0.1$ , le profil reste plutôt symétrique tandis que pour les autres concentrations on remarque l'apparition d'une queue. Cette queue paraît d'autant plus marquée que  $\Phi_p$  est grand. Dans tous les cas on remarque que le cas stationnaire n'est pas atteint et que la dispersion du temps de transit est très importante.

**Évolution théorique d'un bolus dans un canal 2D** Du fait de la simplicité de notre géométrie, il est possible de décrire les phénomènes se déroulant dans le bolus le long de  $x$ . La Fig. 5.6 représente l'évolution supposée d'un bolus suivant l'axe  $x$  dans le plan  $(Oxy)$  et le plan  $(Oxz)$ . Du fait de la différence de vitesse entre les globules rouges, le bolus (en rouge dans la figure) s'allonge suivant l'axe  $(Ox)$ . L'absence de cisaillement et d'interactions dans le plan  $(Oxy)$  se traduit seulement par une augmentation de la longueur  $\mathcal{L}(x)$ .  $\mathcal{L}(x)$  est défini comme la taille spatiale du nuage de globules rouges lorsque la queue du bolus passe en  $x$ . La dynamique d'évolution est fortement conditionnée par ce qui se passe dans le plan  $(Oxz)$ . En effet, dans le plan  $(Oxz)$ , le cisaillement et les parois entraînent la migration des globules rouges (flèche jaune) ce qui se traduit par une réduction de l'épaisseur du bolus. Si l'on se place à une distance suffisante (noté  $x_\infty$  dans le schéma), les



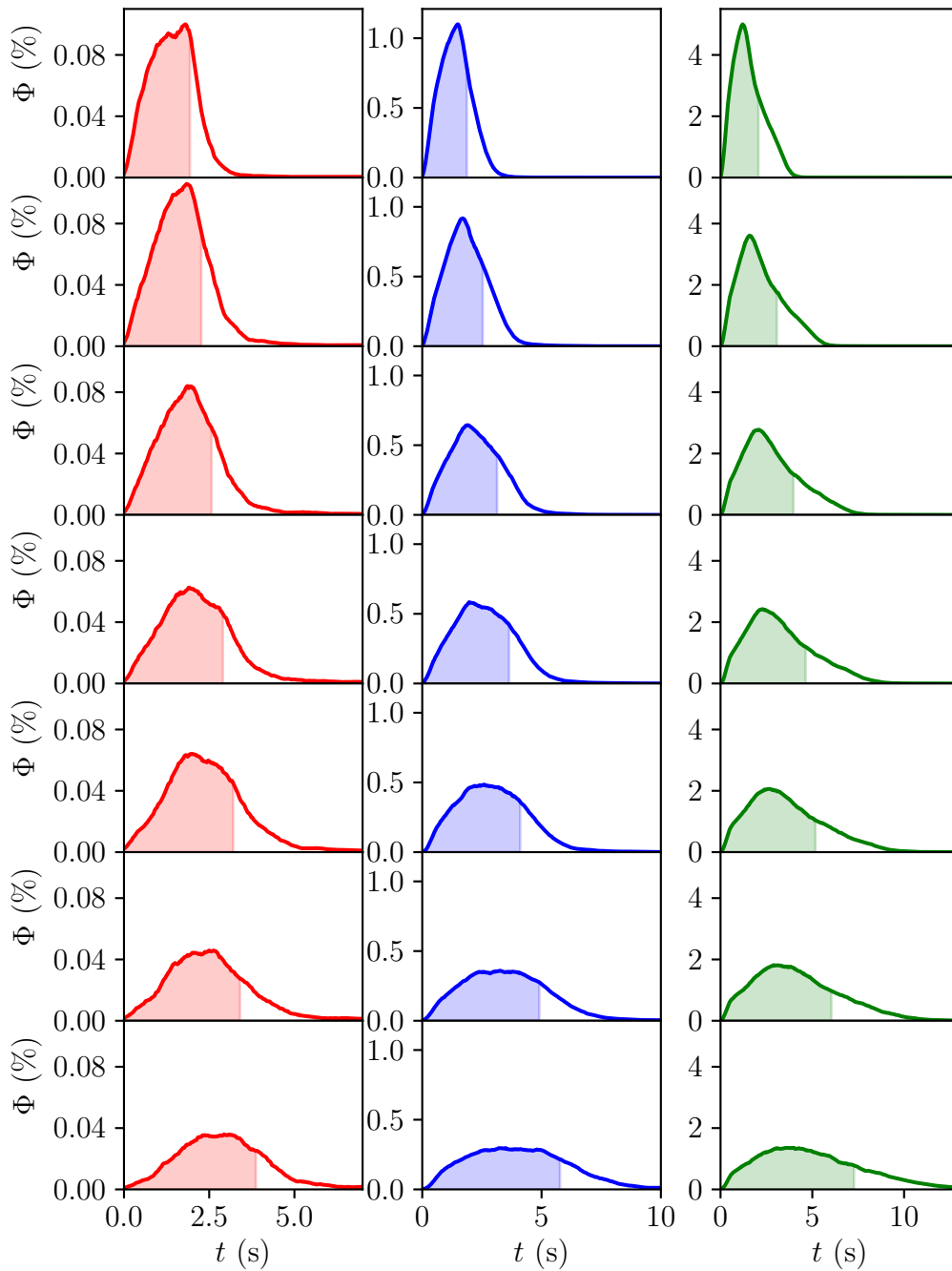


FIGURE 5.5 – Résultats expérimentaux présentant l'évolution du profil de concentration d'un bolus en fonction de  $x$  (de haut en bas 0, 3, 7, 11, 15, 20 et 26 mm) pour différentes hématocrites de pic (0.1 % en rouge à gauche, 1.1 % en bleu au centre et 5 % en vert à droite). Les zones contiennent 80 % des globules rouges du bolus.

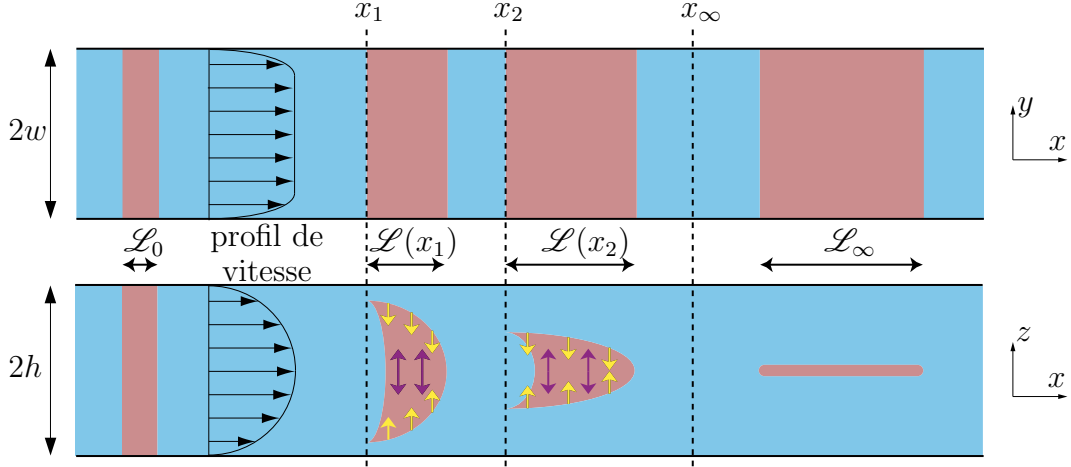


FIGURE 5.6 – Schéma présentant l'évolution d'un bolus de particules déformables le long de l'axe  $x$  suivant les plans  $(Oxy)$  (canal du haut) et  $(Oxz)$  (canal du bas). Les flèches jaunes montrent les déplacements liés au phénomène de migration tandis que les flèches violettes présentent l'influence de la dispersion des globules rouges.

globules rouges ont tous eu le temps de migrer au centre du canal et se déplacent donc tous à la même vitesse, cela se traduit par une taille finie constante du bolus (noté  $\mathcal{L}_\infty$  dans le schéma). Au final la distance nécessaire pour atteindre la longueur finale du bolus dépend de l'interaction entre migration et dispersion (flèche violette sur le schéma) qui conditionne le temps mis par les globules rouges initialement les plus lents et proches des parois pour rejoindre le centre du canal.

On peut exprimer  $\tau(x)$  à partir de  $t_{av}(x)$  le temps de passage de l'avant du bolus au point  $x$  et  $t_{ar}$  lorsque 80 % du nuage a passé le point  $x$  :

$$\tau(x) = t_{ar}(x) - t_{av}(x), \quad (5.1)$$

La principale variable d'intérêt n'est pas la taille du bolus mais son évolution. On notera  $\Delta\tau(x)$  l'allongement (mesuré en temps de passage) du nuage par rapport à sa taille temporelle initiale en fonction de  $x$ . On posera  $\tau_0 = \tau(x = 0)$  la taille initiale du bolus, on peut ainsi définir :

$$\Delta\tau(x) = \tau(x) - \tau_0, \quad (5.2)$$

Le signe de  $\Delta\tau(x)$  permet d'indiquer si le bolus s'allonge (signe positif) ou si celui-ci se contracte (signe négatif). Le temps  $t$  nécessaire pour aller de  $x_0 = 0$  à  $x$  pour une particule, en posant  $V_x(x)$  la vitesse de la particule dans le sens de l'écoulement, et  $\langle V_x \rangle$  la vitesse moyenne le long de la trajectoire de la particule s'écrit :

$$t(x, V_x) = \frac{x}{\langle V_x \rangle} = \frac{x^2}{\int_0^x V_x(X) dX} \quad (5.3)$$

Ainsi en posant  $x_A = 0$ ,  $t_{av} = t(x, V_{av})$  et  $t_{ar} = t(x, V_{ar}) + \tau_0$  où  $V_{av}$  et  $V_{ar}$  décrivent respectivement la vitesse longitudinale du front du bolus (correspondant dans notre cas à la vitesse d'un globule rouge au centre du Poiseuille) et la vitesse de la queue du bolus, l'Eq.5.2 peut s'écrire sous la forme :

$$\Delta\tau(x) = x \left( \frac{1}{\langle V_{ar}(x) \rangle} - \frac{1}{\langle V_{av}(x) \rangle} \right) = x^2 \left( \frac{1}{\int_0^x V_{ar}(X) dX} - \frac{1}{\int_0^x V_{av}(X) dX} \right), \quad (5.4)$$

Dans ce système il est possible de relier directement  $\mathcal{L}$  de la Fig. 5.6 et  $\tau$  par :

$$\mathcal{L}(x) = \tau(x)V_{av}(x). \quad (5.5)$$

L'écoulement non perturbé est semblable à un écoulement de Poiseuille dirigé suivant l'axe ( $Ox$ ) et délimité par deux plaques infinies situées respectivement à 0 et  $2h$  (axe ( $Oz$ )). En posant  $v_{max}$  la vitesse maximale du fluide au centre du canal ( $z = h$ ),  $v_x$  la vitesse du fluide sans globule rouge dépend uniquement de  $z$  et s'écrit sous la forme :

$$v_x(z) = \frac{2v_{max}}{h^2} \left( zh - \frac{z^2}{2} \right) \quad (5.6)$$

Les globules rouges étant suffisamment dilués, on supposera comme dans le Chap. 3 qu'ils ne modifient pas significativement le profil de vitesse moyen et qu'ils sont transportés dans la direction  $x$  à une vitesse proche de celle du fluide. On peut définir la vitesse des particules de la même manière que dans le chap. 3 :

$$v_p(z) = \frac{1}{2R_0} \int_{z-R_0}^{z+R_0} v_x(Z) dZ = \frac{2v_{max}}{h^2} \left( hz - \frac{z^2}{2} - \frac{R_0^2}{6} \right) \quad (5.7)$$

Dans les expériences décrites ici, c'est la vitesse maximale des globules rouges ( $v_0$ ) qui est mesurée et non la vitesse maximale du fluide porteur ( $v_{max}$ ). En sachant que la vitesse maximale des particules est obtenue en  $z = h$ , on peut extraire à partir de l'Eq. 5.7 une relation théorique entre  $v_{max}$  et  $v_0$  :

$$v_{max} = \frac{3h^2}{3h^2 - R_0^2} v_0 \quad (5.8)$$

Ainsi :

$$v_p(z) = \frac{6v_0}{3h^2 - R_0^2} \left( hz - \frac{z^2}{2} - \frac{R_0^2}{6} \right) \quad (5.9)$$

On supposera que les globules rouges sont initialement répartis de manière aléatoire uniformément dans l'épaisseur du canal. Les globules rouges au sein du bolus s'organisent spatialement rapidement : les globules rouges au centre du canal sont les plus rapides et se distribuent à l'avant du bolus tandis que les globules rouges proches des parois, plus lents, se retrouvent à la fin du bolus. La répartition aléatoire initiale permet d'admettre que les globules rouges à l'avant du bolus sont déjà centrés et que ceux-ci se déplacent à la vitesse maximale au sein du canal. On peut ainsi simplifier l'Eq. 5.4 tel que :

$$\Delta\tau(x) = x \left( \frac{1}{\langle v_{ar}(x) \rangle} - \frac{1}{v_0} \right), \quad (5.10)$$

La mesure de  $\Delta\tau(x)$  permet de remonter à  $\langle v_{ar}^{exp}(x) \rangle$  à partir de l'Eq. 5.10, ainsi :

$$\langle v_{ar}^{exp}(x) \rangle = \frac{v_0 x}{\Delta\tau(x) v_0 + x}, \quad (5.11)$$

L'évaluation de  $\langle v_{ar}(x) \rangle$  nécessite de connaître la trajectoire des globules rouges. On suppose que tous les globules rouges migrent en moyenne vers le centre du canal. Une trajectoire moyenne des globules rouges peut être extraite. De la même façon que dans le Chap 4 on applique une loi de migration similaire à l'Eq. 3.3.

$$\frac{\partial z_{th}}{\partial x} = \xi \frac{R_0^{\delta+1} \dot{\gamma}(z)}{z^\delta}, \quad (5.12)$$

Après une première estimation de la position initiale  $z_0$  des globules rouges à la fin du bolus, il est possible de résoudre numériquement l'équation différentielle 5.12 et ainsi d'obtenir la trajectoire équivalente des globules à la fin du bolus  $z(x)$ . Finalement l'intégration de l'Eq. 5.9 en fonction de  $x$  permet d'obtenir une vitesse théorique de l'arrière du bolus  $\langle v_{ar}^{th}(x) \rangle$ . L'analyse des résultats expérimentaux consiste donc à la minimisation de  $|\langle v_{ar}^{exp}(x) \rangle - \langle v_{ar}^{th}(x) \rangle|$  par l'optimisation des paramètres  $\delta$ ,  $\xi$  et  $z_0$ .

Dans le Chap. 3, deux paramètres  $\xi_s$  et  $\delta_s$  ont été mesurés.  $\delta$  est l'exposant de la distance à la paroi dans la loi de migration et ne dépend a priori que de la géométrie du canal et du type d'écoulement. En effet, dans la littérature on remarque que sa valeur est proche de 2 pour un écoulement de cisaillement [Callens 2008] et proche de 1 pour un Poiseuille confiné [Coupier 2008, Losserand 2019]. Pour pouvoir comparer nos résultats avec ceux du Chap. 3 on posera  $\delta = \delta_s = 1.3$ .  $\xi$  représente l'amplitude de la migration donc la capacité des objets à migrer et donc de leurs propriétés mécaniques. L'optimisation de  $\xi$  et  $z_0$  est effectuée à l'aide d'un algorithme à évolution différentielle [Storn 1997] implémentée dans la librairie *lmfit* [Newville 2014] de Python.

On peut noter que dans le cas suffisamment dilué, seule la migration joue un rôle, la dynamique de  $\Delta\tau(x)$  dépend uniquement de la vitesse de migration. Ainsi la mesure des paramètres  $\delta$  et  $\xi$  à partir de  $\Delta\tau(x)$  doit permettre de retrouver les résultats  $\delta_s$  et  $\xi_s$  du Chap. 3.

**Évolution d'un bolus** Les résultats expérimentaux (marqueurs) avec leurs courbes d'ajustement respectives (lignes discontinues) sont présentés sur la Fig. 5.7. On remarque que l'allongement des bolus est d'autant plus important que l'hématocrite est fort. Cette observation ne peut être interprétée directement, en effet la pente à l'origine est plus importante dans le cas de solutions concentrées que dans des solutions diluées indiquant que la différence de vitesse entre les plus rapides et les plus lents globules rouges est plus importante dans les solutions concentrées. La vitesse des globules les plus lents étant dépendante de leur position transversale à l'écoulement on peut supposer que les globules rouges lents dans les solutions concentrées se situent plus proches des parois. Cette observation correspond aux résultats présentés dans le Chap. 4 : l'augmentation de la concentration entraîne une réduction de la taille de la couche de déplétion initiale. Les conditions initiales ( $z_0$  en particulier) étant différentes il est difficile de comparer directement l'effet de la concentration sur la migration par la seule observation des résultats expérimentaux.

Ainsi on utilisera les courbes d'ajustement obtenues à partir de l'optimisation des paramètres  $\xi$  et  $z_0$  (les résultats sont présentés dans le Tab. 5.1). La valeur du  $z_0$  obtenue à partir du modèle confirme l'hypothèse que les globules lents dans les solutions concentrées sont plus proches des parois que les globules rouges lents des solutions diluées. En fixant  $\delta$  à 1.3 et en utilisant  $\xi$  comme un paramètre d'optimisation il est possible d'observer l'effet de la concentration sur ce coefficient. On remarque un saut dans la valeur du coefficient entre les bolus créés à partir d'un faible hématocrite et d'un hématocrite moyen. Il est généralement admis que les globules rouges peuvent interagir entre eux dans le plan de cisaillement lorsque la distance les séparant est inférieure à 2 ou 3 rayons [Tatsumi 2019]. Ainsi une concentration plus forte entraîne au contraire une augmentation des interactions inter/globules, ces interactions ont tendances à déplacer les globules rouges en direction des parois ainsi en moyenne la migration des globules rouges vers le centre du canal s'en trouve diminuée, ce qui se traduit par une réduction du coefficient  $\xi$ . Il est important de souligner que les interactions ont beaucoup d'importance en début de parcours. En effet la concentration locale au sein d'un nuage de globules rouges diminue avec  $x$  (voir Fig. 5.5). On tend ainsi de plus en plus vers une dynamique gouvernée par la migration. La relation entre  $\xi$  et  $\Phi$  paraît non triviale, en effet les interactions augmentent avec la concentration. Or la différence des  $\xi$  entre  $\Phi_r = 7$  et 20 % est très faible. Cette observation peut s'expliquer par cette hypothèse : la concentration au niveau du pic du bolus est différente de la concentration à la fin du bolus (voire Fig.5.4) or ce sont les globules rouges à la fin du bolus qui décident

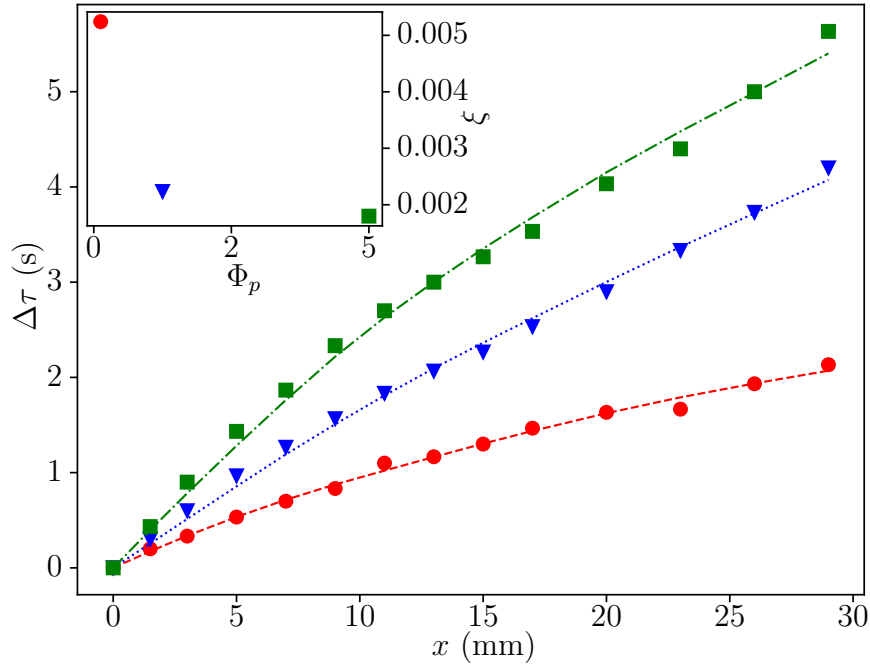


FIGURE 5.7 – Le graphe principal représente l'évolution moyenne  $\Delta\tau$  de bolus en fonction de la position  $x$  pour différentes concentrations de réservoir et leurs fits respectifs : 1% (marqueurs ronds), 7% (marqueurs triangulaires), 20% (marqueurs carrés). L'insert représente l'évolution du paramètre de fit  $\xi$  en fonction de l'hématocrite de pic du bolus.

de la dynamique d'évolution de sa longueur. À partir de la Fig 5.4 b) il est possible de mesurer  $\Phi_{80}$ , on obtient  $\Phi_{80} = 1\%$  et  $1.5\%$  respectivement pour  $\Phi_p = 1.1$  et  $5\%$ . Cette faible différence entre les  $\Phi_{80}$  pourrait expliquer le faible écart entre les  $\xi$ .

$\Phi_r$ (%)	$\Phi_p$ (%)	$\delta^*$	$\xi^*$	$z_0$ ( $\mu\text{m}$ )
1	0.1		$5.3 \times 10^{-3}$	10.5
7	1	1.3	$2.2 \times 10^{-3}$	9.3
20	5		$1.8 \times 10^{-3}$	8.0

TABLE 5.1 – Valeurs des constantes utilisées par les courbes d'ajustement présentées dans la Fig. 5.7.

On notera finalement que le coefficient de  $\xi$  obtenu à faible hématocrite est plus faible que le coefficient  $\xi$  trouvé dans le Chap. 3. Plusieurs raisons peuvent être invoquées pour interpréter ces différences :

- Les conditions expérimentales sont différentes : la géométrie utilisée ici est bidimensionnelle (le confinement de la solution est seulement dans l'axe  $Oxz$ ) tandis que la géométrie utilisée dans le Chap. 3 était tridimensionnelle (confinement se fait selon l'axe  $Oxz$  et  $Oxy$ ), ces configurations différentes peuvent jouer sur la dynamique de migration et pourraient expliquer les écarts dans ces valeurs.
- Le Chap. 3 s'intéresse à la dynamique de la médiane. Or dans ce chapitre, c'est la dynamique des globules rouges les plus lents qui est mesurée. De plus, il a été montré dans le Chap. 3 que les propriétés mécaniques des globules rouges étaient hétérogènes et que ceci se traduit par une migration plus ou moins rapide. In fine, on peut supposer que le  $\xi$  mesuré sur les bolus donne des informations sur les propriétés mécaniques des globules rouges les plus lents à migrer, auxquels est associé un  $\xi$  plus faible.

### 5.2.2.2 Influence de la viscosité du fluide externe sur l'évolution d'un bolus

La trajectoire et le comportement des globules rouges est très dépendante du contraste de viscosité  $\lambda$  [Fischer 2013]. Nait-Ouhra et al. ont ainsi longuement étudié numériquement l'impact de ce paramètre sur la migration et la position finale de vésicules [Nait-Ouhra 2018]. En fixant le nombre capillaire ils ont montré qu'une réduction du contraste de viscosité entraîne une augmentation de la vitesse de migration. En effet si l'on se place dans des écoulements similaires (même profil de cisaillement), l'augmentation de la viscosité du fluide externe entraîne une augmentation des contraintes appliquées sur le globule rouge qui en réponse se déformera plus. La relation entre déformation et migration reste mal comprise mais il est communément admis qu'une déformation plus importante entraîne une migration plus rapide : des vésicules plus dégonflées et qui ont donc une capacité plus grande à se déformer ont une migration plus rapide que des vésicules moins dégonflées et donc moins déformables dans des conditions d'écoulements similaires [Abkarian 2005, Callens 2008, Losserand 2019].

On utilise un circuit similaire au paragraphe précédent : il possède les mêmes dimensions à part son épaisseur qui est légèrement supérieure ( $40 \mu\text{m}$ ). On se place dans les mêmes conditions d'écoulement que précédemment. Toutes les expériences sont réalisées à une hématocrite de réservoir de 1% pour limiter fortement le risque d'interactions entre globules rouges. Les évolutions de bolus dans trois fluides porteurs à la viscosité différente seront présentées : on utilisera donc les solutions B, L1, L2 (voir Chap. 2) qui ont une viscosité respective de 1.7, 5.8, 8.1 mPa.s. Nos expériences sont effectuées à une température de  $20^\circ\text{C}$ . On suppose que la viscosité interne des globules rouges est équivalente à la viscosité d'une solution d'hémoglobine à cette même température. Celle-ci possédant une viscosité de 15 mPa.s à  $20^\circ\text{C}$  on obtient

des  $\lambda$ , respectivement de 8.8, 2.6 et 1.9.

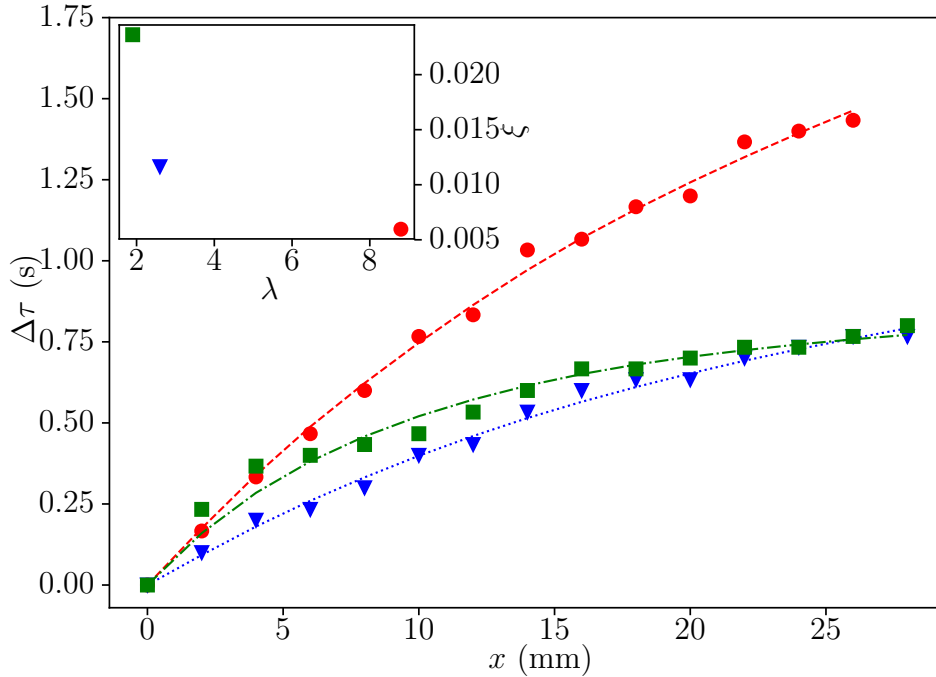


FIGURE 5.8 – Le graphe principal représente l'évolution moyenne  $\Delta\tau(x)$  pour différents contrastes de viscosité  $\lambda$  : 8.8 (marqueurs ronds), 2.6 (marqueurs triangulaires), 1.9 (marqueurs carrés). L'insert représente l'évolution du paramètre de fit  $\xi$  en fonction du contraste de viscosité  $\lambda$ .

Les valeurs des paramètres utilisés dans le fit des résultats expérimentaux sont présentées dans le Tab. 5.2. On observe que l'augmentation du  $\lambda$  induit une diminution  $\xi$ . À partir de simulations numériques, l'équipe de Qi et al. a discuté de la valeur de  $\xi$  en fonction du nombre capillaire et de la taille de canaux en 2D (34 et 50  $\mu\text{m}$ ) à partir de la migration d'un modèle de globule rouge isolé à  $\lambda = 1$  [Qi 2017]. Leurs conclusions ne font pas ressortir de lien entre respectivement la taille du canal et  $\xi$  et entre le nombre capillaire et  $\xi$  (en accord avec les résultats présentés dans notre Chap. 3). En revanche si l'on suppose la relation entre  $\xi$  et  $\lambda$  monotone pour les faibles  $\lambda$ , leurs valeurs de  $\xi$  comprises entre  $31 \times 10^{-3}$  et  $69 \times 10^{-3}$  pour  $\delta = 1, 3$  sont comparables à nos résultats.

### 5.2.2.3 Influence de la déformabilité des globules rouges sur l'évolution d'un bolus

Le même circuit que celui utilisé pour tester l'influence de l'hématocrite sur la dynamique d'un bolus est utilisé. On utilise des hématocrites faibles (1 %) pour les mêmes raisons que dans le paragraphe précédent. À partir d'un échantillon sanguin



$\Phi_r$ (%)	$\lambda$	$\delta$	$\xi$	$z_0$ ( $\mu\text{m}$ )
	8.8		$6.1 \times 10^{-3}$	11.5
1	2.6	1.3	$11.6 \times 10^{-3}$	13.3
	1.9		$23.6 \times 10^{-3}$	10.8

TABLE 5.2 – Valeurs des constantes utilisées par les courbes d'ajustement présentées dans la Fig. 5.8.

préalablement lavé, on utilise trois différentes populations, la première contient toute la population de globules rouges et est suspendue dans la solution B. D'une manière similaire à celle présentée dans le Chap 3, on extrait deux sous-populations obtenues à partir d'un gradient de concentration. La première sous-population, faite des globules les moins denses a une densité comprise entre 1.099 et 1.106 et est suspendue dans la solution D2. Tandis que la deuxième sous population, faite des globules rouges les plus denses a une densité comprise entre 1.118 et 1.128 et est suspendue dans la solution D4.

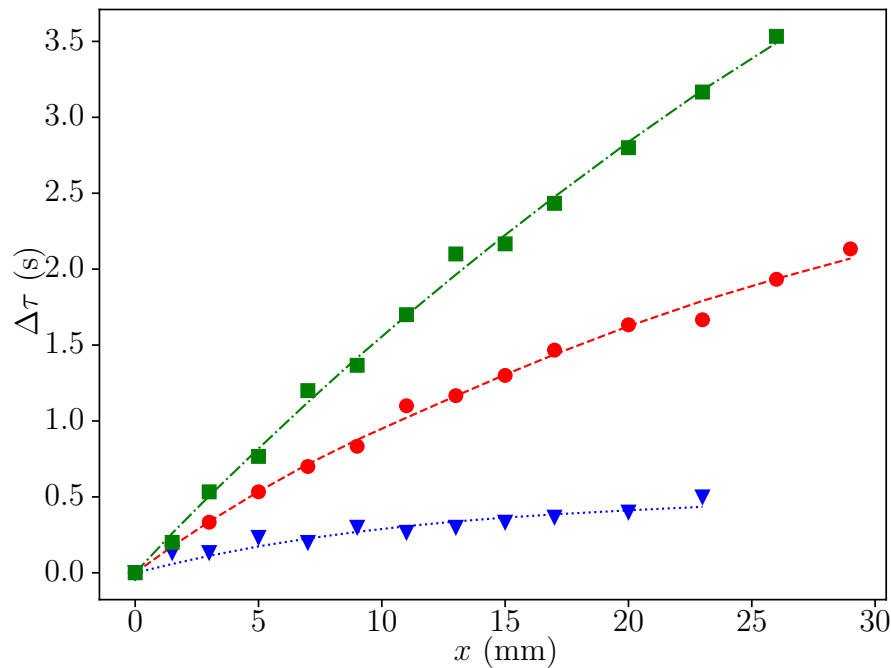


FIGURE 5.9 – Évolution de  $\Delta\tau(x)$  pour trois populations de globules rouges ayant des densités différentes : la population totale (marqueurs ronds), une population ayant une densité comprise entre 1.099 et 1.106  $\text{g mL}^{-1}$  pour les faibles densité (marqueurs triangulaires), 1.118 et 1.128  $\text{g mL}^{-1}$  pour les fortes densités (marqueurs carrés).

On observe que les bolus composés de globules légers atteignent très vite un

plateau, indiquant que les globules rouges ont tous achevés leur migration au centre du canal et ont donc tous la même vitesse. Les valeurs de  $\xi$  utilisées dans les courbes d'ajustement éclairent sur l'influence de la densité (et donc de leur déformabilité) sur le coefficient  $\xi$ . En effet on observe qu'une diminution de la densité entraîne une augmentation de sa valeur. Si l'on compare les valeurs de  $\xi$  obtenues dans le Chap. 3 et dans ce paragraphe, on note que le  $\xi$  obtenu pour les globules rouges légers est très proche du résultat présenté dans le Chap. 3 ( $13.8 \times 10^{-3}$  ici contre  $14 \times 10^{-3}$  dans le Chap. 3). Ce résultat indique qu'il y a très peu de dispersion de la vitesse de migration dans la population des globules légers et donc peu d'hétérogénéités des propriétés mécaniques. Au contraire on remarque un écart important entre le  $\xi$  obtenu pour des globules rouges denses :  $1.7 \times 10^{-3}$  ici contre  $6.5 \times 10^{-3}$  le Chap. 3. En supposant que le système utilisé ici tend à mettre en avant les globules rouges qui ont une migration plus lente et sont donc moins déformables, on peut supposer que les globules denses ont une plus grande hétérogénéité de leurs propriétés que les globules peu denses. Ces résultats permettent de montrer l'importance de la déformabilité sur le comportement des globules rouges.

$\Phi_r$ (%)	densité moyenne	$\delta$	$\xi$	$z_0$ ( $\mu\text{m}$ )
	1.103		$13.8 \times 10^{-3}$	10.2
1	1.112	1.3	$5.3 \times 10^{-3}$	10.2
	1.123		$1.7 \times 10^{-3}$	8.6

TABLE 5.3 – Valeurs des constantes utilisées par les courbes d'ajustement présentées dans la Fig. 5.9.

### 5.3 Évolution d'un bolus dans un réseau microfluidique ramifié

Dans les paragraphes précédents nous nous sommes intéressés à l'évolution d'un bolus dans un long canal bidimensionnel. In vivo la microcirculation se caractérise par un réseau dense de canaux fortement interconnectés. L'évolution de la longueur d'un bolus à l'entrée et à la sortie d'un réseau est donc étudiée dans cette section. Pour se limiter à l'étude de l'influence des bifurcations (redistribution...), la géométrie du réseau est choisi de telle sorte pour que tous les globules rouges parcourent la même distance entre l'entrée et la sortie du réseau. In fine la comparaison de la dispersion dans un canal droit et dans un réseau à la section similaire et de même longueur totale permet de discuter de l'influence des bifurcations sur la dispersion et le temps de transit des nuages de globules rouges.

### 5.3.1 Montage expérimental et méthodes

Dans cette section, deux types de circuit sont utilisés : dans un cas la voie ③ est un canal rectiligne dont la hauteur et la largeur sont comparables. Dans l'autre cas la voie ③ forme un réseau ramifié. Ce réseau est constitué d'une succession de 6 intersections : 3 divergentes et 3 convergentes. Ces intersections ont une forme de U pour respecter la symétrie du système (voir Fig. 5.10). Les bifurcations sont donc toutes symétriques et les différents trajets possible entre l'entrée et la sortie ont la même longueur. On s'intéresse donc ici essentiellement au rôle joué par les bifurcations dans la redistribution des positions des globules rouges dans la largeur du canal. Les branches et le canal ont la même section rectangulaire :  $2wx2h=30x25 \mu\text{m}^2$ . Pour un réseau donné la longueur de la médiane des branches est constante et est notée  $L_b$ . Trois différentes longueurs sont utilisées ici : 2, 4 et 8 mm donnant les longueurs totales ( $L_T$ ) respectives 10, 20 et 40 mm. Les écoulements se font suivant l'axe  $Ox$ , cet axe suit la ligne médiane des canaux.

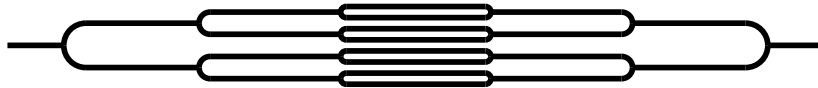


FIGURE 5.10 – Schéma dans le plan ( $Oxy$ ) présentant la géométrie de la voie ③ dans cette section.

Pour le canal rectiligne on utilise la même méthode d'analyse que précédemment. Pour les réseaux, on se limite à l'analyse du nuage à l'entrée et à la sortie du réseau. Il serait possible de suivre le bolus tout le long du canal mais la difficulté de mesurer une vitesse caractéristique en tout point  $x$  rend la correction de la mesure  $\Delta\tau(x)$  compliquée. En effet à la suite d'une intersection les globules rouges à l'avant du bolus ne vont pas forcément à la vitesse maximale, il devient donc compliqué de relier la taille spatiale (difficilement mesurable mais indépendante de la vitesse) à la taille temporelle (facilement mesurable mais dépendante de la vitesse). Ainsi  $\Delta\tau$  ne sera mesuré qu'en entrée et en sortie du réseau sur des fenêtres de longueur  $L = 600 \mu\text{m}$ . L'analyse se déroule de la même manière que précédemment. Dans tous les cas l'hématocrite de réservoir est de 1%.

### 5.3.2 Résultats expérimentaux

Les valeurs de  $\Delta\tau$  en sortie de réseau pour trois différents réseaux ( $L_b = 2, 4,$  et  $8 \text{ mm}$ ) sont présentés dans la Fig. 5.11. La dispersion du bolus est beaucoup plus grande dans le cas des réseaux que dans le cas du canal rectiligne du fait de

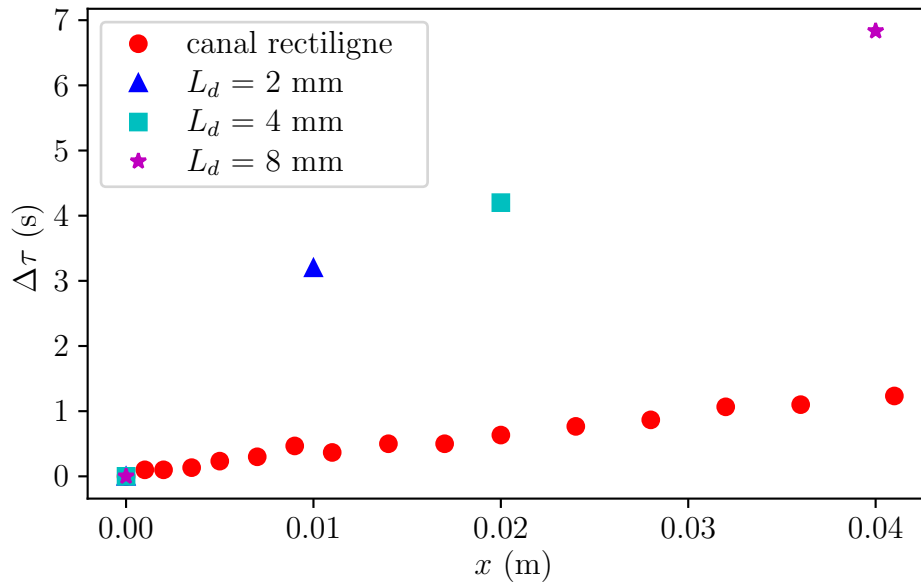


FIGURE 5.11 – Le graphe principal représente  $\Delta\tau(x)$  dans quatre types de canaux. Dans un canal rectiligne (points rouges), dans des réseaux avec  $L_d = 2$  mm (triangle bleu), 4 mm (carré cyan) et 8 mm (étoile magenta).

la réinitialisation effectuée par les bifurcations qui interrompent le processus de migration des globules rouges vers le centre du canal. On remarque que la valeur de  $p = \Delta\tau(L_d)/L_T$  dans le cas des réseaux diminue avec l'augmentation de  $L_d$  : 0.32, 0.21, 0.17 s/mm<sup>-1</sup> pour  $L_d = 2, 4$  et 8 mm respectivement.

Il est nécessaire et intéressant de distinguer ce qui se passe dans les intersections convergentes et divergentes :

- **Dans les intersections divergentes**, les globules rouges au centre se retrouvent plaqués aux parois après la bifurcation tandis que les globules rouges proches des parois se retrouvent relativement plus proches du centre dans les branches filles. Les globules rouges lents deviennent les globules rouges rapides tandis que les globules rapides deviennent les globules rouges lents (voir Fig. 5.12 gauche). Ce phénomène aurait donc tendance à réduire la dispersion de la vitesse moyenne des globules rouges et in fine à limiter la dispersion du bolus. Les globules rouges ne sont pas des traceurs, ceux-ci sont déformables et peuvent migrer latéralement entre chaque intersection. Dans le cas extrême de  $L_d = \infty$ , on obtiendrait un temps définitif  $\Delta\tau(x = \infty)$  constant, les globules rouges se trouvant tous au centre et ayant tous la même vitesse. Dans le Chap. 4, pour un canal faisant 30  $\mu\text{m}$  et un hématoците de 1 % l'état stationnaire n'est pas atteint. Les globules rouges ne suivent pas tous la même trajectoire et n'ont donc pas tous la même vitesse moyenne. Ce phénomène pourrait expliquer la diminution de  $p$  avec l'augmentation de  $L_d$ . En effet un plus grand  $L_d$  tend à réduire la différence de position à l'entrée

d'une intersection, les trajectoires des globules rouges deviennent très proche les unes des autres réduisant ainsi la différence de vitesse moyenne entre ces globules rouges.

- **Dans les intersections convergentes**, les globules rouges au centre se retrouvent au milieu de la paroi et du centre tandis que les globules rouges au niveau des parois se retrouvent soit proche du centre soit au niveau des parois du canal fille. Si les globules rouges n'ont pas le temps de migrer il est possible d'avoir des globules rouges qui restent d'intersection en intersection contre les parois (voir Fig. 5.12 droite). Leur vitesse moyenne étant inférieure au reste des globules rouges on observe un allongement du bolus. Le centre est constitué de la fusion de deux des couches de déplétion des branches parentes, la dispersion et la migration des globules rouges tend à la faire disparaître. In fine la possibilité d'avoir des globules rouges continuellement proches des parois et donc lents pourrait expliquer la valeur de  $\Delta\tau$ . De la même manière que les intersections convergentes : l'augmentation de  $L_d$  permettrait aux globules rouges proche des parois de migrer vers le centre du canal se traduisant par des écarts de vitesse plus faibles avec les autres globules rouges diminuant ainsi le coefficient  $p$ .

Les deux types de bifurcations tendent à diminuer la dispersion. Pourtant nos résultats montrent une très forte dispersion comparée au cas du canal rectiligne. Cet écart peut provenir de l'influence des bifurcations divergentes : des globules rouges qui transitent sur les branches extérieures se trouvent en moyenne plus proche des parois et ont donc une vitesse plus faible que les globules rouges se déplaçant dans les branches centrales. Cette différence de vitesse conduit donc à une augmentation de la dispersion du nuage. Cette hypothèse peut être testée en utilisant des réseaux non symétriques suivant l'axe  $Ox$  (un réseau avec des bifurcations divergentes à branches longues et des bifurcations convergentes à branches courtes et un autre réseau à la géométrie opposée).

Un axe d'étude intéressant serait d'étudier l'influence des interconnexions sur l'évolution d'un bolus. On observe que l'hématocrite dans les branches extérieures est inférieur à celle des branches intérieures : en ignorant la capacité de migrer des globules rouges, les canaux externes reçoivent la couche près des parois du canal initial créant un phénomène semblable au "plasma skimming". Or dans la circulation in vivo, le réseau microcirculatoire n'est pas aussi hiérarchisé. L'enchaînement d'intersections de différents types peut aider à homogénéiser les hématocrites dans les vaisseaux et limiter cet effet de "plasma skimming".

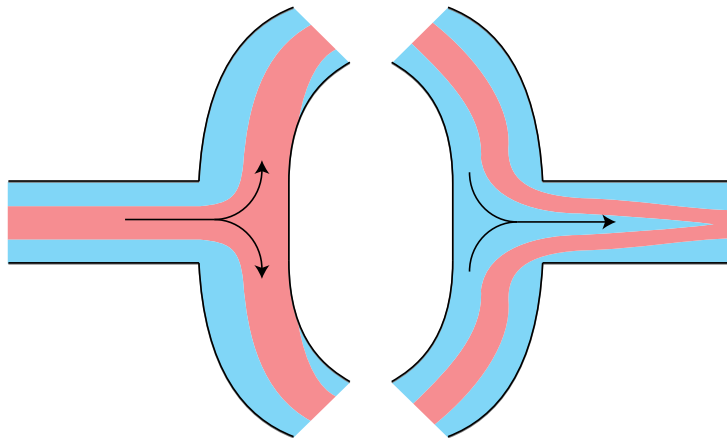


FIGURE 5.12 – Schémas présentant l'évolution de la zone avec des globules rouges (en rouge) et l'évolution de la couche de déplétion dans le cas d'une intersection divergente (gauche) et d'une intersection convergente (droite). Les flèches indiquent le sens de l'écoulement.



# Conclusion et perspectives

Dans cette thèse, nous nous sommes penchés sur un certain nombre de phénomènes impliqués dans la dynamique des écoulements sanguins dans les réseaux micro-circulatoires, ceux-ci pouvant notamment influencer le temps de transit des globules rouges au sein de ces réseaux.

La première partie s'est focalisée sur le phénomène de migration. En utilisant un canal en T, nous avons mis en place une condition initiale où les globules rouges sont proches des parois, permettant ainsi une observation de leurs trajectoires au sein d'un canal droit. À partir de ces mesures une loi d'échelle décrivant la migration sur un large intervalle de cisaillement et de confinement a pu être établie. Afin de mettre en évidence l'effet des propriétés mécaniques des globules rouges sur cette migration, nous avons séparé plusieurs populations de globules rouges à partir d'un même échantillon à l'aide d'un gradient de concentration. Ces différentes sous-populations ont montré des vitesses de migration différentes : les globules denses (généralement plus vieux) migrent plus lentement que les globules rouges moins denses et plus jeunes. Outre la grande sensibilité de la dynamique de migration aux fluctuations des propriétés mécaniques au sein d'un même échantillon, ces résultats indiquent qu'il est nécessaire de prendre en compte l'hétérogénéité des globules rouges lorsque l'on veut étudier leur dynamique collective dans les écoulements sanguins. Les résultats de cette thèse ouvrent un certain nombre de pistes qui peuvent éventuellement conduire à une amélioration de la compréhension du phénomène de migration. Les résultats présentés ici se basent sur une analyse statistique des trajectoires. Des travaux numériques ont montré que le mode dynamique des globules rouges (mouvement de chenille de char, bascule, rolling...) pouvait avoir une influence forte sur la migration. Un approfondissement et la compréhension de la dispersion des trajectoires observées dans nos expériences, même pour des fractions volumiques diluées, passe nécessairement par une étude plus fine des comportements individuels des hématies (mode dynamique, orientation...). Sur le plan applicatif, qu'il soit dans le domaine du diagnostic ou du tri de cellules, nos résultats montrent de manière claire que les différences de vitesse de migration en fonction des propriétés mécaniques sont suffisamment remarquables pour réussir à mettre en évidence la polydisparité des globules rouges au sein d'un même échantillon sain.

Dans la deuxième partie, l'évolution d'un profil d'hématocrite le long d'un canal après une bifurcation a été étudié. On a pu montrer que cette dynamique d'évolution est fortement dépendante de l'hématocrite à l'entrée de la bifurcation et du confinement. L'analyse de la dynamique de centrage et de symétrisation de ces profils de concentration a permis de montrer qu'en moyenne, le nuage de globules rouges suit une dynamique de migration vers le centre qui peut être décrite par une loi d'échelle similaire à celle des globules rouges isolés, avec une correction sur les paramètres



dépendant de la fraction volumique. De plus d'après nos résultats, il est possible de dire que dans la microcirculation et pour des diamètres de vaisseaux supérieurs à 20  $\mu\text{m}$ , la distance moyenne nécessaire à la mise en place d'un profil de concentration stationnaire est supérieure à la distance entre deux intersections. L'asymétrie du profil de concentration avant une intersection dans un réseau peut jouer un rôle très important dans la répartition des hématocrites entre les deux branches et la mise en place de distributions hétérogènes. Ce phénomène est pour l'instant ignoré dans les modèles moyennés qui sont généralement utilisés pour modéliser des écoulements en réseau. Pour ces raisons, une étude plus avancée de la séparation de phases dans des bifurcations successives avec une évolution transitoire des distributions des globules rouges entre bifurcations pourrait permettre des avancées dans la compréhension de la perfusion des organes. Les hématocrites observés in-vivo peuvent être plus importants que les  $\Phi_c$  observés durant ce chapitre (maximum 15 % ici contre 30 % in-vivo). En conservant le même système et en réduisant la taille de la couche de déplétion dans le canal d'intérêt, il serait possible d'augmenter la concentration et d'observer l'influence de la taille de la couche de déplétion sur la dynamique de symétrisation. Les travaux de Kolitsi et al. se sont intéressés au coefficient de diffusion d'une suspension de globules rouges confinée. Leurs résultats suggèrent que ce coefficient dépendrait fortement de la position dans un canal [Kolitsi 2019]. L'utilisation de globules rouges marqués par fluorescence permettrait de pouvoir les suivre même à forte hématocrite, à partir de leurs trajectoires il serait alors possible d'extraire les coefficients de diffusion locale.

La dernière partie de ce travail, qui s'est concentrée sur la dispersion axiale d'un nuage de globules rouges a permis de montrer qu'il était possible d'obtenir les propriétés mécaniques moyennes des globules rouges à partir d'une mesure macroscopique. Ainsi par la mesure de l'allongement d'un bolus de globules rouges, il est possible d'extraire les paramètres d'une loi d'échelle de migration. Ces paramètres sont fortement dépendants de l'hématocrite initial, du contraste de viscosité mais aussi des propriétés mécaniques des globules rouges. La capacité de ce système à mesurer les propriétés mécaniques d'un système microscopique (les globules rouges) à partir d'une mesure macroscopique (allongement d'un bolus) donne de nombreuses perspectives industrielles, particulièrement dans le domaine du diagnostic médical. En effet, certaines pathologie altèrent la déformabilité des globules rouges ce qui en fait un marqueur important pour le diagnostic [Banerjee 1998]. Pour autant, la mesure de la déformabilité reste peu utilisé dans les laboratoires d'analyse. La méthode existante : l'ektacytométrie mesure la diffraction de la lumière de globules rouges cisailés. Malgré son intérêt avéré dans le diagnostic de certaines maladies (malaria notamment), il s'agit d'une méthode onéreuse, sensible aux échantillons hétérogènes et dont la lecture reste utilisateur dépendant [Renoux 216]. Ainsi la mesure de l'allongement d'un pulse qui est lié aux propriétés mécaniques des globules rouges le composant à l'avantage pourrait permettre de diagnostiquer des varia-

tions de la déformabilité des globules rouges et in fine diagnostiquer des maladies. Cette méthode à l'avantage simple de nécessiter peu de matériel et d'être facilement répétable.

Suivant ces travaux de recherche, deux directions de recherches non présentées ici mériteraient des investissements. Nous avons travaillé à température ambiante comme la plupart des études en microfluidique sur la dynamique des globules rouges. Or la température joue énormément sur la viscosité de l'hémoglobine et donc sur le contraste de viscosité qui lui-même joue sur la migration et l'évolution des profils d'hématocrite. Pourtant très peu d'études s'intéressent à l'impact de la température sur les écoulements sanguins : Pinho et al. ont ainsi montré que le déplacement radial des globules rouges, en fonction de la température et de la position, variait de manière non linéaire indiquant une relation complexe entre la température et la trajectoire des globules rouges [Pinho 2016]. Le deuxième axe de recherche est l'étude de l'influence de l'hétérogénéité des globules rouges sur l'écoulement. Le marquage à l'aide de deux fluorophores différents de deux sous populations de globules rouges (séparés en fonction de leur densité par exemple) permettrait d'observer l'évolution de leur profil d'hématocrite respectif après une bifurcation ou bien d'observer l'influence de chaque sous-population dans l'étalement d'un nuage de globules rouges. En effet certaines études suggèrent une margination des globules rouges en fonction de leurs propriétés mécaniques [Chen 2019], l'idée serait donc de comparer l'amplitude et la dynamique de cette margination.



ANNEXE A

**Publication dans Microvascular  
Research : Migration velocity of  
red blood cells in microchannels**

---



## Migration velocity of red blood cells in microchannels

Sylvain Losserand<sup>\*</sup>, Gwennou Coupier, Thomas Podgorski

Université Grenoble Alpes, CNRS, LIPhy, Grenoble F-38000, France



### ABSTRACT

The lateral migration of red blood cells (RBCs) in confined channel flows is an important ingredient of microcirculatory hydrodynamics and is involved in the development of a cell free layer near vessel walls and influences the distribution of RBCs in networks. It is also relevant to a number of lab-on-chip applications. This migration is a consequence of their deformability and is due to the combined effects of hydrodynamic wall repulsion and the curvature of the fluid velocity profile. We performed microfluidic experiments with dilute suspensions of RBCs in which the trajectories and migration away from the channel wall are analyzed to extract the mean behavior, from which we propose a generic scaling law for the transverse migration velocity valid in a whole range of parameters relevant to microcirculatory and practical situations. Experiments with RBCs of different mechanical properties (separated by density gradient sedimentation or fixed with glutaraldehyde) show the influence of this parameter which can induce significant dispersion of the trajectories.

### 1. Introduction

Blood is a dense suspension of essentially RBCs within plasma, which is a Newtonian fluid. RBCs have the particularity to be highly deformable in physiological conditions, which leads to complex flow patterns in confined environment due to several mechanisms.

One of the most famous features, first observed by Poiseuille (1835), is the presence of a cell-free plasma layer (CFL) near vessels walls (D.Katanov et al., 2015; Fedosov et al., 2010; Narsimhan et al., 2013; Sherwood et al., 2012; Yamaguchi et al., 1992) inducing a decrease of the apparent viscosity referred to as Fåhræus-Lindqvist effect (Fåhræus and Lindqvist, 1931) as well as a decrease of the hematocrit in small vessels compared to large ones (Fåhræus, 1929; Popel and Johnson, 2005). Several phenomena can be invoked to explain this cell free layer, one being geometrical: the presence of a capillary wall implies that the centers of RBCs must lie at least one RBC half-thickness away from the wall. This means that, on average, there will be more RBCs near the center of the capillary than very near the wall. The second one is hydrodynamical: at low-Reynolds number the deformability of RBCs allows a symmetry breaking that leads to transverse migration from the wall to the center of the channel (Goldsmith, 1971; Olla, 1997). This symmetry breaking can also be obtained through the elastic deformation of the glycocalyx brush covering the endothelium (Davies et al., 2018). Finally, RBC aggregation can have an influence on the CFL (Sherwood et al., 2012). Transverse migration also plays a role in the so-called margination effect: contrary to RBCs which are concentrated around the centerline, other blood elements like white cells or platelets are margined against the wall (Bächer et al., 2018; Fedosov et al., 2012; Goldsmith and Spain, 1984; Henríquez Rivera et al., 2016; Kumar

and Graham, 2012; Mehrabadi et al., 2016; Qi and Shaqfeh, 2017), which helps them to accomplish their function (e.g. in immune response, inflammation ...). The centering of RBCs also influences the repartition of RBCs at bifurcations: due to the heterogeneity of the RBC concentration in vessels and the existence of a cell free layer, a heterogeneous distribution of the hematocrit takes place in the microcirculation (Balogh and Bagchi, 2018; Barber et al., 2008; Doyeux et al., 2011; Fenton et al., 1985; Kaliviotis et al., 2017; Pries et al., 1989; Roman et al., 2016; Shen et al., 2016).

The importance of understanding this migration is not limited to *in vivo* microcirculation but also has important possible applications in the design of Lab-on-Chip devices for particle separation. Geislinger et al. (2012) presented a device capable to separate a dilute suspension of RBCs and platelets: the less deformable platelets migrate less than RBC and by controlling the position of the two outlets it is possible to separate the two populations. Important works are also done on a device named deterministic lateral displacement (DLD), which is made of a dense network of small pillars. The trajectory of particles inside this network is highly dependent on their properties, resulting in the possibility to separate different entities like RBCs (Zeming et al., 2016), or different types of white cells (Holmes et al., 2014).

In confined situations where the channel size is equal to a few cell radius, the effect of shape changes is strong and non-monotonous time variation of position can be observed. Numerical simulations explored the migration dynamics and the asymptotic position of simplified models of cells like 2D capsules (Aouane et al., 2014) and 2D vesicles (Hariprasad and Secomb, 2015; Li and Ma, 2010) that can only qualitatively be compared to experiments. To date, although results are available on the shape and the position of RBCs in very confined

<sup>\*</sup> Corresponding author.

E-mail address: [sylvain.losserand@univ-grenoble-alpes.fr](mailto:sylvain.losserand@univ-grenoble-alpes.fr) (S. Losserand).

<https://doi.org/10.1016/j.mvr.2019.02.003>

Received 21 December 2018; Received in revised form 18 February 2019; Accepted 18 February 2019

Available online 02 March 2019

0026-2862/ © 2019 Elsevier Inc. All rights reserved.

channels (Guckenberger et al., 2018; Nait-Ouhra et al., 2018), there exist no experimental measurement and no quantification of migration dynamics of RBCs in confined Poiseuille flow (but in the pioneering work of Goldsmith, 1971). The main objective of this paper is therefore to describe the migration of isolated RBCs for different confinements by using a simple general scaling law which could be used to validate numerical simulations, design future microfluidic devices or apply to some physiological situations where the hematocrit is low due to strongly heterogeneous distribution of cells at bifurcations in the microcirculation (Balogh and Bagchi, 2018; Barber et al., 2008; Doyeux et al., 2011; Fenton et al., 1985; Kaliviotis et al., 2017; Pries et al., 1989; Roman et al., 2016; Shen et al., 2016).

### 1.1. Transverse migration in simple shear flow

Among biomimetic models, giant vesicles are closed lipid membranes exhibiting in certain conditions, dynamical properties that are similar to those RBCs, though they do not have cytoskeleton providing in plane shear elasticity. Their migration dynamics was theoretically described by Olla (1997). For a vesicle with a fixed ellipsoidal shape, the drift velocity when the distance to the wall is large compared to vesicle size reads

$$\dot{y} = U\gamma \frac{R_0^3}{y^2}, \quad (1)$$

where  $y$  is the distance of the center of mass to the wall,  $\dot{\gamma}$  the shear rate of the unperturbed flow,  $R_0$  the typical size of the vesicle and  $U$  a dimensionless parameter that depends on vesicle properties: the viscosity contrast  $\lambda$  between the inner and outer fluids and the reduced volume  $\nu = 6\sqrt{\pi}\mathcal{V}/S^{3/2}$  where  $\mathcal{V}$  is the vesicle volume and  $S$  its surface area. In the following,  $R_0$  will be taken as the radius of the sphere of the same volume  $\mathcal{V}$  as the considered particle:  $R_0 = (3\mathcal{V}/4\pi)^{1/3}$ . For RBCs of typical volume  $90 \mu\text{m}^3$  McLaren et al. (1987), this leads to  $R_0 = 2.8 \mu\text{m}$ .

This law has been confirmed later by 2D (Meßlinger et al., 2009) or by 3D (Farutin and Misbah, 2013; Sukumaran and Seifert, 2001; Zhao et al., 2011) numerical simulations and by theoretical analysis (Farutin and Misbah, 2013). In the past years, several experiments in microgravity condition were conducted to measure this drift velocity (Bureau et al., 2017; Callens et al., 2008). The overall scaling for the drift velocity as well as the value of the prefactor  $U$  are in agreement with simulations and theory (even though Olla assumes a fixed shape), for  $\lambda = 1$  (Farutin and Misbah, 2013; Zhao et al., 2011) or higher values of  $\lambda$  (Bureau et al., 2017). Note that in Zhao et al. (2011), the  $y^{-\alpha}$  scaling with  $\alpha = 2$  seems to be valid for  $y/R_0 \gtrsim 2$  and that for  $1 \lesssim y/R_0 \lesssim 2$ ,  $\alpha$  is smaller than 2, in agreement with the experimental near-wall study of Abkarian et al. (2002) where  $\alpha = 1$  is suggested.

Finally, similar  $y^{-2}$  scalings for the lift velocity were found for elastic capsules through numerical simulations (Nix et al., 2014; Singh et al., 2014).

In physiological conditions, in terms of external fluid (plasma) viscosity and shear rates, isolated RBCs are far from a tank-treading regime (Bitbol, 1986; Goldsmith and Marlow, 1972; Lanotte et al., 2016; Minetti et al., 2019; Morris and Williams, 1979) where they would adopt a fixed orientation relative to the flow. It was recently shown, however, that the scaling proposed for vesicles is still valid and a mean drift velocity (which corresponds to a drift velocity averaged over one body rotation period) characterized by  $UR_0^3 = 0.36 \mu\text{m}^3$  was measured (Grandchamp et al., 2013). We are aware of no direct theoretical or numerical validation of this measurement.

### 1.2. Transverse migration in a channel

In a channel, the shear rate of the unperturbed flow is not uniform. This sole symmetry breaking is sufficient to induce migration of lipid vesicles even in the absence of walls (Danker et al., 2009; Farutin and

Misbah, 2013; Kaoui et al., 2008). In a realistic channel, wall lift and shear rate gradient contribute to migration in a complex way, in particular near the centerline where cell shape or dynamic depends a lot on its position close to this zero shear rate centerline. Over a wide range of confinement degree ( $2 < w/R_0 < 10$ , where  $w$  is the half width of the channel), reduced volumes and viscosity ratios, it was shown experimentally in Coupier et al. (2008) that for lipid vesicles the migration velocity may be written as

$$\dot{y} = \xi \frac{R_0^{\delta+1} \dot{\gamma}(y)}{(y - y_w)^\delta}, \quad (2)$$

where  $\delta$  is close to 1 and  $\xi$  a dimensionless parameter that depends on the vesicle properties, similar to  $U$  for the drift under simple shear rate and  $y_w$  is the position of the center of mass when the particle is as close as possible to the wall. For the quasispherical vesicles considered in Coupier et al. (2008),  $y_w \sim R_0$  but in general, it may depend on particle deformability. This scaling was confirmed by 2D numerical simulations (Coupier et al., 2008).

The alternative empirical law that we propose in this paper,

$$\dot{y} = \xi \frac{R_0^{\delta+1} \dot{\gamma}(y)}{y^\delta}, \quad (3)$$

is formally simpler and allows for comparison between different situations with no need to take into account the detail of the near-wall interactions. This formulation is the one generally used in the literature (Geislinger and Franke, 2014; Olla, 1997; Qi and Shaqfeh, 2017) and we shall consider it in the following. Indeed, RBCs are so deformable that  $y_0$  can be very small and discussing its very precise value is not relevant from an experimental point of view, due to the dispersion in cell properties, initial cell orientation and the precision we can reach in its determination.

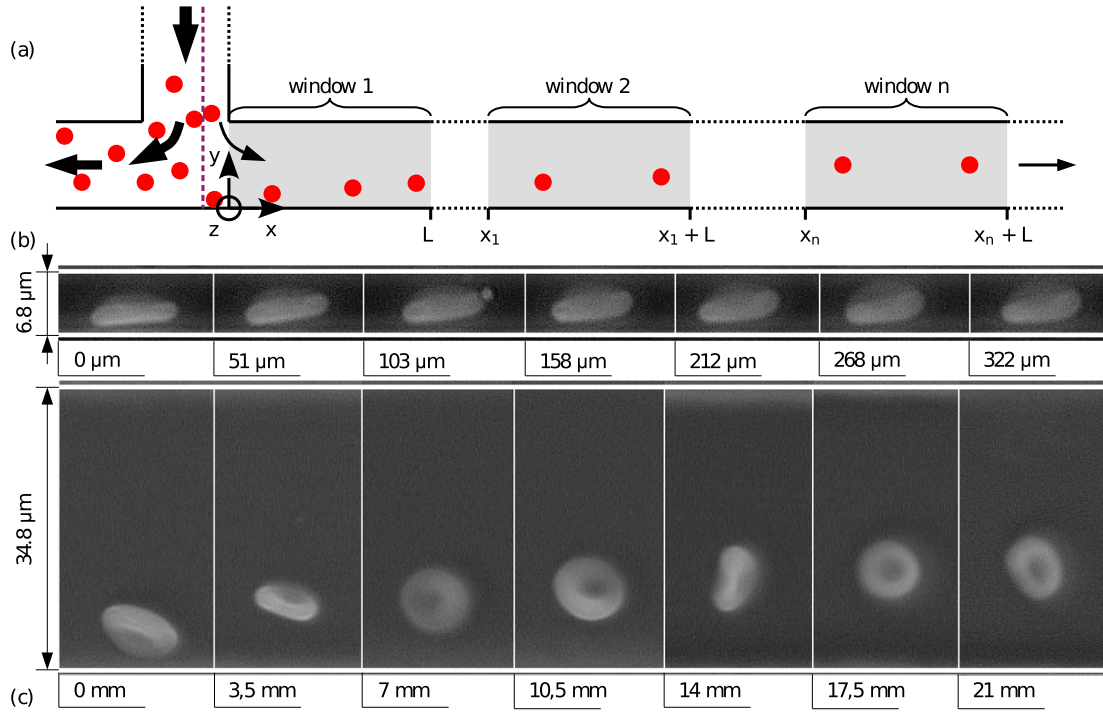
We show here that scaling law such as Eq. (3) can appropriately describe RBC migration in a confined channel and provide values for  $\delta$  and  $\xi$  that are valid in a wide range of parameters.

## 2. Experimental set-up and methods

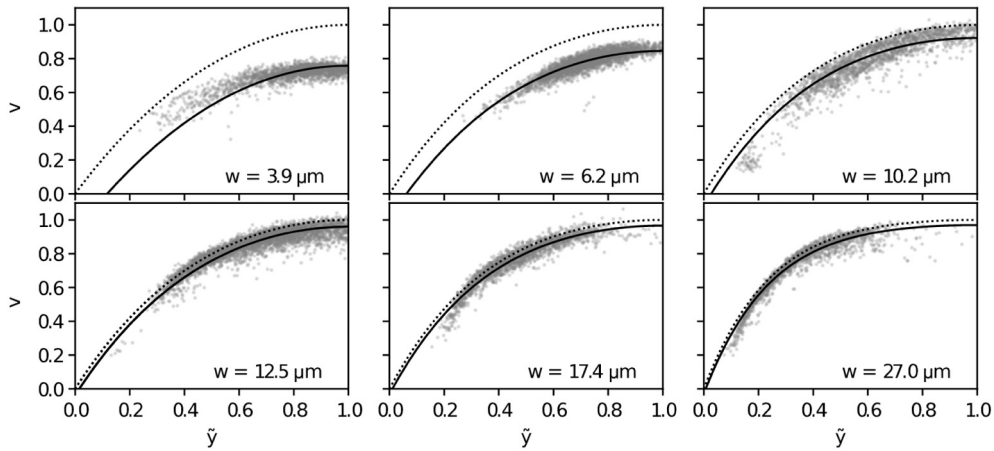
The considered microfluidic channels are straight and of rectangular cross section. The width and the height of the section are respectively denoted  $2w$  and  $2h$ , the useful length of the channel is 2.7 cm. RBCs flow along the  $Ox$  direction and migrate laterally along  $Oy$ . The walls are located at  $y = 0$  and  $y = 2w$  in the  $Oy$  direction and at  $z = -h$  and  $z = h$  in the  $Oz$  direction (Fig. 1). Before the channel of interest, the flow is established over a long time resulting in a preliminary centering of the RBCs in the  $Oz$  direction ( $z = 0$ ), depending on the width of the channel the preliminary centering in  $Ox$  is not necessarily complete. The suspension then reaches a T intersection: the control of the flow rate in the daughter branches permit to move the separation line, thus allowing to direct slightly more than the CFL of the incoming branch in the outlet of interest and creating an initial condition where the incoming RBCs are near the wall ( $y = 0$ ) in this outlet (Fig. 1).

The channel is produced by soft lithography in polydimethylsiloxane (PDMS) bonded to a glass slide by plasma treatment. Channels with different sizes are used:  $w = 3.9, 6.2, 10.6, 12.5, 17.4, 27 \mu\text{m}$  with respective  $h = 4.8, 4.8, 6.5, 10, 10, 10 \mu\text{m}$ . The ratio between the characteristic channel size and the characteristic radius of the RBC ( $w/R_0$ ) varies between 1.5 and 10. The flow is controlled thanks to a pressure controller (Elveflow™ Mk3).

Blood is supplied by the Etablissement Français du Sang (EFS) and is taken from healthy volunteers. Blood samples are first washed 3 times in a solution of phosphate-buffered saline (PBS tablet Sigma™ : 10 M phosphate buffer, 2.7 M potassium chloride and 137 M with pH 7.4). Then samples are suspended at a low volume fraction (0.1%) so that RBC/RBC interactions become negligible in an isodense solution made of 70 mL of Optiprep™ (iodixanol aqueous solution), 130 mL of ultra-



**Fig. 1.** (a) Sketch of the experimental channel. The separation line of the incoming flow is indicated by the violet dashed line. (b) Trajectory of a RBC migrating at high confinement (one single window). (c) Position of different RBCs in successive windows for a smaller confinement. RBCs are chosen to represent the median trajectory (see bottom middle panel in Fig. 4). (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



**Fig. 2.** Grey points: measured velocity of RBCs, rescaled by  $v_{\text{max}}$  from Eq. (6) which is obtained from the fitting of experimental data using Eq. (8). The dashed line represents the velocity of the fluid  $v_x$  without RBC at  $z = 0$  using Eq. (5) and the full line represents the fitted velocity using Eq. (8).

pure water and a PBS tablet Roman et al. (2012). The buffer has a density of  $1.112 \pm 0.001$  which prevents the sedimentation of the RBCs and a viscosity of  $\eta_e = 1.9 \times 10^{-3}$  Pa s at 20  $^\circ\text{C}$  which is a little higher than plasma viscosity (1.54 mPa s at 25  $^\circ\text{C}$ ; Lawrence, 1950).

Furthermore, for one experiment, density-fractionated RBCs were prepared using discontinuous gradients with Optiprep. The gradient was built up in four layers of 2 mL, containing ultra-pure water and respectively 40% ( $1.128 \text{ g mL}^{-1}$ ), 37% ( $1.118 \text{ g mL}^{-1}$ ), 33% ( $1.106 \text{ g mL}^{-1}$ ), 31% ( $1.099 \text{ g mL}^{-1}$ ) of Optiprep, buffered with a PBS tablet. 2 mL of blood sample initially washed using the method explained above are layered on the top of the gradient solution following a centrifugation at 3000 rpm for 30 min at room temperature. After the centrifugation, two subpopulations are extracted and suspended in a density matched solution. The first population corresponds to RBCs having a density between 1.099 and 1.106 and represent the first  $\approx 5\%$

of the total population, the second population has a density included between 1.118 and 1.128 representing the last  $\approx 10\%$  of the total population.

Images are acquired with a 32X objective mounted on an inverted microscope (Olympus<sup>™</sup> IX71) using a CMOS camera (ImagingSource<sup>™</sup>, DMK UX174) at a rate of 30 frames/s. RBCs are not followed directly, measurements are made on windows of size  $L = 350 \mu\text{m}$  at different positions  $x$ ; about 200 RBCs are observed by windows (see Fig. 1). A custom Python software using the library OpenCV<sup>™</sup> (Bradski, 2000) determines the center of mass of the projected shapes of RBCs. Using the trajectories of the RBCs obtained in each window, velocities  $v_p(y,0)$  are computed using a simple tracking program. Depending on the confinement, the probability density function of the position  $y$  of the RBCs is calculated on a part or on the entire window. To reduce the influence of the outliers the median trajectory  $y(x)$  is chosen to describe



the trajectory of the RBCs. The dispersion  $y_d$  is defined as the mean between the position of the 33<sup>rd</sup> and 66<sup>th</sup> percentile. All lengths dimensions are rescaled by  $w$  and are denoted with a  $\sim$ .

### 3. Results

#### 3.1. Longitudinal velocity

Fig. 2 shows the measured velocity  $v_p$  of RBCs as a function of their position  $\tilde{y}$  (grey point). The maximum velocity is at  $\tilde{y} = 1$  as for the fluid but the experimental plots show that  $v_p$  converges to 0 before  $\tilde{y} = 0$ . A straightforward explanation is the influence of the finite size of a particle compared to the size of the channel. There is no simple solution for this complex flow due to the presence of walls. Furthermore, the deformability and the complex shape of the RBC eliminate the possibility of a simple analytical solution.

A description of  $v_p$  is necessary in the continuation of this paper to translate the migration velocity (Eq. (3)) into a description of the trajectory (Eq. (9)). By considering RBCs as solid spheres, an analytical solution was proposed in 2D Poiseuille (Pasol et al., 2011) flow but this approach cannot be easily extended to 3D flow. We approximated  $v_p$  by the mean velocity of the flow without RBC averaged on a square area of size  $(2r)^2$  and of center of mass  $y$  and  $z = 0$ .

The mean velocity is thus written as an integral:

$$v_p(y, z) = \frac{1}{4r^2} \int_{z-r}^{z+r} \int_{y-r}^{y+r} v_x(Y, Z) dY dZ, \quad (4)$$

with  $v_x$  the velocity of the fluid without RBCs in a rectangular channel (Bruus, 2008):

$$v_x(y, z) = v_0 \sum_{n=1,3,\dots}^{\infty} a_n \left( 1 - \frac{\cosh(b_n(y-w))}{\cosh(b_n w)} \right) \cos(b_n z), \quad (5)$$

where

$$v_0 = \frac{v_{\max}}{\sum_{n=1,3,\dots}^{\infty} a_n \left( 1 - \frac{1}{\cosh(b_n w)} \right)}, \quad (6)$$

with  $v_{\max} = v_x(w, 0)$  the maximal velocity of the fluid and

$$a_n = \frac{(-1)^{\frac{n-1}{2}}}{n^3}, \quad b_n = \frac{n\pi}{2h}. \quad (7)$$

This yields:

$$v_p(y, z) = v_0 \frac{h}{\pi r^2} \sum_{n=1,3,\dots}^{\infty} \frac{a_n}{n} \sin(b_n r) \left( r - \frac{\sinh(b_n r) \cosh(b_n (y-w))}{b_n \cosh(b_n w)} \right). \quad (8)$$

Despite our rough assumption, the fit using Eq. (8) with  $v_{\max}$  as a free parameter and  $r = R_0$ , gives a correct approximation of the experimental values (see Fig. 2). The model brings to light the effect of the confinement on the difference between  $v_p$  and  $v_x$ : an increase of the channel width induces a reduction of the difference between the two velocities. Discrepancies with the model appear near the wall and come from the fact that the model does not take into account the non-negligible influence of the RBC on the flow. This influence being stronger near walls, the discrepancies should be stronger near walls as shown by Goldman et al. (1967).  $v_{\max}$  obtained from the fit using Eq. (8) is between 0.5 and 3 mm s<sup>-1</sup> which is in the range of typical values observed in microcirculation. A capillary number  $Ca = \eta_e \dot{\gamma}_e R_0 / \mu_s$  can be introduced, with  $\dot{\gamma}_e = v_{\max} / w$  a characteristic shear stress and  $\mu_s = 3 \mu\text{N m}^{-1}$  for the RBC shear elasticity Sinha and Graham (2015).  $Ca$  is found to be between 1 and 7.

##### 3.1.1. Transversal velocity

Fig. 3 shows an experimental result for  $w = 10.6 \mu\text{m}$ . RBCs move away from the wall and migrate towards the center. Eq. (3) describes

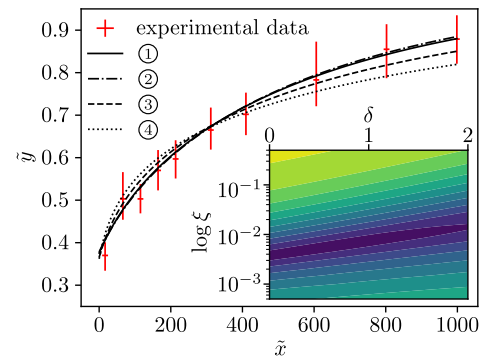


Fig. 3. Trajectory of RBCs in a channel with  $w = 10.6 \mu\text{m}$  (red). Fitting curves (black) using different couples of parameters  $(\delta, \xi, y_0)$ , in ① all parameters are free, giving at the end  $(0.14, 4.1 \times 10^{-3}, 0.38)$ , ②, ③, ④ are fits using a fixed  $\delta$  giving respectively  $(0, 3.7 \times 10^{-3}, 0.38)$ ,  $(1, 7.7 \times 10^{-3}, 0.37)$ ,  $(2, 1.6 \times 10^{-2}, 0.36)$ . The surface plot in insert shows the residual  $\sum |(\tilde{y} - \tilde{y}_d) / \tilde{y}_d|$  in the  $(\delta, \xi)$  parameter space. Dark blue color represents the minimal residual. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

the migration velocity and from this equation the theoretical trajectory  $y_{th}(x)$  obeys the differential equation:

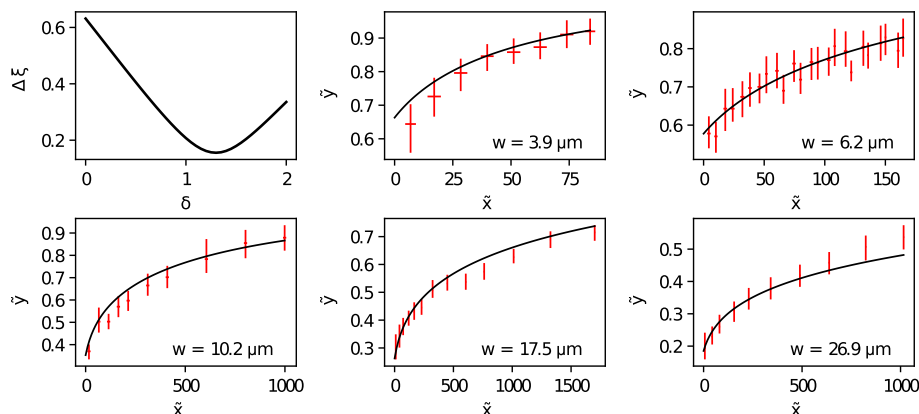
$$\frac{\partial y_{th}}{\partial x} = \xi \frac{R_0^{\delta+1} \dot{\gamma}(y_{th}, 0)}{y_{th}^{\delta} v_p(y_{th}, 0)}. \quad (9)$$

$\dot{\gamma}$  and  $v_p$  are respectively obtained from Eqs. (5) and 8. Both expressions are proportional to  $v_{\max}$ , therefore the trajectory does not explicitly depend on  $v_0$ . Consequently, the potential inaccuracies in its determination through the cell velocity will not affect the determination of the lift parameters. The data are fitted using Eq. (9). A first step consists in integrating it numerically and in a second step the residual of a cost function is computed. The problem has three free parameters  $\xi, \delta$  and the initial value of  $y$  denoted  $y_0$ . The minimization of  $\langle |(\tilde{y} - \tilde{y}_d) / \tilde{y}_d| \rangle$  is based on a global method named differential-evolution (Storn and Price, 1997). In Fig. 3, different fits of the same dataset are shown, all of them giving reasonable results. The value of  $y_0$  found from minimization is pretty constant and appears to be independent of the two other parameters. In contrast,  $\delta$  and  $\xi$  seem correlated as an increase of one induces the increase of the other one.

By fixing  $\tilde{y}_0 = \tilde{y}(0)$ , the residual can be explored in the  $(\delta, \xi)$  parameter space, as shown in the insert of Fig. 3. The blue zone corresponds to  $\langle |(\tilde{y} - \tilde{y}_d) / \tilde{y}_d| \rangle \leq 0.5$ . Thus, parameter values  $(\delta, \xi)$  present in this zone give an error inferior to  $y_d$ . This zone varies from confinement to confinement and no clear law relating the 2 parameters can be extracted. In more simple geometry (Grandchamp et al., 2013) or with simpler objects (Bureau et al., 2017; Callens et al., 2008; Couplier et al., 2008), these two parameters were instead shown to be independent of each other. We consider here that the apparent correlation for a given confinement is the result of the specific migration function combined with the noise in the data that prevents a more accurate fit. Aiming at finding a  $(\delta, \xi)$  couple of values that gives the best fit over a wide range of parameters, we thus take into account the whole set of results in different channels. For each experiment, for a fixed value of  $y_0 = y(0)$  and  $\delta$  ranging from 0 to 2 with a step of 0.05, the value of  $\xi$  minimizing the residual is determined. By considering all the channels a mean  $\langle \xi \rangle$  and a normalized mean square error  $\Delta \xi = \sqrt{\langle (\xi - \langle \xi \rangle)^2 \rangle} / \langle \xi \rangle$  as a function of  $\delta$  can be computed. From the minimum of the mean square error (see Fig. 4, top left) we extract the most probable value for  $\delta$  and  $\xi$ :  $\delta_s = 1.30 \pm 0.05$  and  $\xi_s = 1.1 \times 10^{-2} \pm 0.2 \times 10^{-2}$ .

The RBC trajectories  $\tilde{y}(\tilde{x})$  are shown in Fig. 4 for five different confinements. In our range of parameters, RBCs move from the wall towards the center of the channel in agreement with the results of



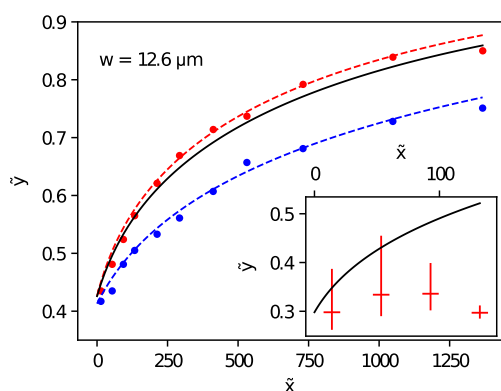


**Fig. 4.** Top left: mean square error  $\Delta\xi$  as a function of  $\delta$ . Other plots represent the median trajectory  $\bar{y}(\bar{x})$  of RBCs for 5 different confinements (red) and their respective fitting curves (black) found from Eq. (9) using fixed  $\delta_s$  and fixed  $\xi_s$  with  $\bar{y}_0$  a fitting parameter. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Guckenberger et al. (2018) and the migration velocity decreases as RBCs approach the centerline. The fit obtained from Eq. (3) with  $\delta = \delta_s$ ,  $\xi = \xi_s$  and  $y_0$  free give good results even at high confinement where the lateral migration is mainly the result of the deformation of the RBC.

We also investigated the influence of RBC mechanical properties by isolating the most and less dense fractions of RBCs in a density gradient (see Experimental set-up and methods). Fig. 5 shows that less dense RBCs migrate faster than denser RBCs, the comparison of their respective  $\xi$  obtained from the fit of Eq. (9) when  $\delta = \delta_s$  is fixed show a clear difference:  $1.4 \times 10^{-2}$  for the less dense and  $6.5 \times 10^{-3}$  for the denser ones. Denser RBCs are usually considered more aged than less dense RBCs (Piomelli and Seaman, 1993). Different interpretations can be found in the literature about the effect aging on RBCs, either through a dehydration of RBCs that leads to an increase of hemoglobin viscosity, or to modification of membrane properties (Bocci, 1981; Waugh et al., 1992). Nevertheless, there are strong indications that older cells have a higher density and lower deformability (Linderkamp and Meiselman, 1982) (eventually leading to their elimination in the spleen; Deplaine et al., 2011). Our study also indirectly suggests that denser cells are less deformable.

For comparison, the inset in Fig. 5 shows that artificially hardened RBCs using glutaraldehyde (at a concentration  $> 0.1\%$  so that proteins



**Fig. 5.** Fit of experimental data for the lift in Poiseuille flow (channel size of 25  $\mu\text{m}$ ) of two different populations of RBCs. The red color represents the median trajectory of the less dense RBCs (points) and its fitting curve using Eq. (9) with a fixed  $\delta_s$ , free  $\xi$  and  $\bar{y}_0$  (dashed line). The blue color denotes the trajectory and its respective fit for the denser RBCs. The black curve is the general trajectory found previously using  $\delta_s$  and  $\xi_s$  and  $\bar{y}_0$  the mean between  $\bar{y}(0)$  of the two experimental curves. The insert represents the median trajectory of rigidified RBCs in red and the general trajectory in black. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

are completely crosslinked and RBCs become rigid; Sosa et al., 2014) lose their capability to migrate and behave like rigid particles. The deformability is thus an important parameter in the migration dynamics.

#### 4. Discussion

An exponent different from  $\delta = 2$  may be interpreted in several ways. Except when the vesicle is close to the center, its migration velocity in an unbounded Poiseuille flow is constant ( $\delta = 0$ ). An exponent between 0 and 2 might be seen as a kind of average between the contributions of wall-induced lift and migration due to non-constant shear rate. Still, the weight of these contributions is not the same depending on the position of the particle (Kaoui et al., 2009; Nix et al., 2016), so it is not clear whether such a scaling with a  $\delta$  exponent independent from the cell radius to channel size ratio would hold.

In Qi and Shaqfeh (2017), 3D RBCs were simulated in a 2D Poiseuille flow; the cells' membrane have the same properties as that of red blood cells but the viscosity of the inner fluid is taken to be equal to that of the external fluid. In addition, the capillary number is quite large such that the dynamics of the cells resembles that of vesicles, with tank-treading like motion accompanied by some small oscillations. They find that for a channel width of 12 and 18 cell radius, a scaling law such as Eq. (3) is found with  $\delta$  in the range 1.2–1.3 on average, with  $\xi$  in the range 0.04–0.07. We thus find a similar range for  $\delta$ , but smaller values for  $\xi$ . This may be explained by the value of the viscosity contrast, which is not 1 in reality. Increasing the viscosity contrast generally leads to a decrease of  $\xi$  in Poiseuille flow (Couplier et al., 2008) or of  $U$  in simple shear flow (Bureau et al., 2017; Olla, 1997). In Grandchamp et al. (2013), we found a factor 9 for the  $U$  values between the physiological case and a viscosity contrast close to 1. The similarity in the range for  $\delta$  shows that the found values well describe the interplay between wall and shear gradient effects, in that range of confinement. To the contrary, our results are in contradiction with the model proposed in Henríquez Rivera et al. (2016): it is proposed that because of shape change with the shear rate, therefore with the  $y$  position,  $\xi$  may also depend on  $y$  (Henríquez Rivera et al., 2016). This may somehow be transcribed into a different exponent  $\delta$ , as long as the migration velocity is confronted to numerical or experimental data that spans on a limited range and/or are associated with noise. In Henríquez Rivera et al. (2016),  $\delta$  is set to 2 and the proposed modeling implies that  $\xi$  is a decreasing function of  $y$ , which implies that the velocity decreases much more strongly with  $y$  than in Eq. (3) with  $\xi$  constant and  $\delta \sim 1.3$ .

The structure of a RBC suspension is the result of two counterbalancing effects, lift and multiple collisions between cells, that lead to transverse diffusion (Grandchamp et al., 2013). This controls in

particular the width of the cell free layer near the walls.

In [Henríquez Rivera et al. \(2016\)](#), a good agreement with the literature is found for the gap size for a suspension simply sheared between two walls, using two approaches: direct numerical simulations of cells, or a theoretical approach solving the lift + diffusion equation. The simulations are run with elastic capsules whose mechanical properties are such that they are essentially in a tank-treading regime. Agreement with the theory is obtained by considering a fitting parameter  $U/f$  of order 0.5, where  $U$  is the dimensionless prefactor of Eq. (1) and  $f$  that of the diffusive flux written as  $-fR_0^2\gamma\Phi\frac{\partial\Phi}{\partial y}$ . This makes sense, since this value of the parameter is quite close to that obtained for lipid vesicles in tank-treading regime: in [Callens et al. \(2008\)](#), we found  $U$  to be of order 0.1 and in [Bureau et al. \(2017\)](#),  $f$  is shown to be of order 0.06, which makes  $U/f \sim 1.7$ . It was also argued in [Henríquez Rivera et al. \(2016\)](#) that the crowded environment in which these interactions take place justify to consider an effective viscosity of the carrying fluid higher than that of the plasma. Indeed, from [Grandchamp et al. \(2013\)](#), one can see that for RBCs in plasma,  $U/f_2 \approx 0.016/2.8 \approx 0.006$ , which would certainly not be sufficient to create a cell free layer. Of course, it is clear that a cell lifting in a crowded environment will not lift the same way as an isolated cell, because the neighbors may modify its dynamics and response to flow, and will screen the wall. Considering tank-treading capsules for mimicking the collective behavior of red blood cells as in [Henríquez Rivera et al. \(2016\)](#) or [Qi and Shaqfeh \(2017\)](#) appears thus as relevant for obtaining accurate predictions, though the choice of the effective viscosity contrast must be debated, as in [Narsimhan et al. \(2013\)](#). Still, it hides the subtle modification of lift mechanisms by cell-cell interaction processes.

By dimension analysis in a 2D Poiseuille flow, it is possible to estimate a typical time describing the time needed for RBC to migrate from the wall ( $y = 0$ ) to the distance corresponding to the CFL ( $y = d$ ):

$$\tau_L = \frac{wd^{\delta_s+1}}{v_{\max}\xi_s R_0^{\delta_s+1}}. \quad (10)$$

Shear-induced diffusion also contributes to equilibration, with an equilibration time deduced from the expression of the diffusive flux below,

$$\tau_D = \frac{w^3}{f v_{\max} \Phi_0 R_0^2}, \quad (11)$$

where  $\Phi_0$  is a typical volume fraction in cells.

Using results from [Fedosov et al. \(2010\)](#), for a channel of typical size  $w = 5 \mu\text{m}$ , with  $\Phi_0 = 30\%$  and a CFL of size  $d = 2 \mu\text{m}$ , the distance needed for all RBC to pass through the CFL is  $\tau_L v_{\max} = 200 \mu\text{m}$  and the one to obtain an equilibration is  $\tau_D v_{\max} = 150 \mu\text{m}$ . The found typical distances are of the same scale and indicate that, in the microcapillary network, except in the smallest capillaries, equilibration is not likely to happen between two successive bifurcations, which are often very close to each other. ([Balogh and Bagchi, 2018](#); [Peyrounette et al., 2018](#); [Poiseuille, 1835](#); [Risser et al., 2009](#)). Non-stationary dynamics must, therefore, be considered when looking at network flow. The factor 2 that we found in the  $\xi$  values for the denser (less deformable) and less dense (more deformable) cells also indicates that uneven distribution of cells depending on their age may also occur in the microvasculature.

## Acknowledgments

This work was partially supported by CNES (Centre National d'Etudes Spatiales). The authors' team is part of LabEx Tec 21 (Investissements d'Avenir - grant agreement ANR-11-LABX-0030). S. L. thanks LabEx Tec 21 for a Proof of Concept fellowship.

## References

Abkarian, M., Lartigue, C., Viallat, A., 2002. Tank treading and unbinding of deformable

- vesicles in shear flow: determination of the lift force. *Phys. Rev. Lett.* 88, 068103.
- Aouane, O., Thiébaud, M., Benyoussef, A., Wagner, C., Misbah, C., 2014. Vesicle dynamics in a confined poiseuille flow: from steady state to chaos. *Phys. Rev. E* 90, 033011.
- Bächer, C., Kihm, A., Schrack, L., Kaestner, L., Laschke, M.W., Wagner, C., Gekle, S., 2018. Antimargination of microparticles and platelets in the vicinity of branching vessels. *Biophysical Journal* 115 (2), 411–425.
- Balogh, P., Bagchi, P., 2018. Analysis of red blood cell partitioning at bifurcations in simulated microvascular networks. *Phys. Fluids* 30, 051902.
- Barber, J.O., Alberding, J.P., Restrepo, J.M., Secomb, T.W., 2008. Simulated two-dimensional red blood cell motion, deformation, and partitioning in microvessel bifurcations. *Ann. Biomech. Eng.* 36, 1690–1698.
- Bitbol, M., 1986. Red blood cell orientation in orbit  $c = 0$ . *Biophys. J.* 49, 1055–1068.
- Bocci, V., 1981. Determinants of erythrocyte ageing: a reappraisal. *British Journal of Haematology* 48 (4), 515–522.
- Bradski, G., 2000. The opencv library. *Dr. Dobb's Journal of Software Tools*.
- Bruus, H., 2008. *Theoretical Microfluidics*. Oxford University Press, USA, pp. 346.
- Bureau, L., Couplier, G., Dubois, F., Duperray, A., Farutin, A., Minetti, C., Misbah, C., Podgorski, T., Tsvirkun, D., Vysokikh, M., 2017. Blood flow and microgravity. *C. R. Mécanique* 345 (2), 78–85.
- Callens, N., Minetti, C., Couplier, G., Mader, M., Dubois, F., Misbah, C., Podgorski, T., 2008. Hydrodynamic lift of vesicles under shear flow in microgravity. *Europhys. Lett.* 83 (2), 24002. <https://doi.org/10.1209/0295-5075/83/24002>.
- Couplier, G., Kaoui, B., Podgorski, T., Misbah, C., 2008. Noninertial lateral migration of vesicles in bounded Poiseuille flow. *Phys. Fluids* 20, 111702.
- Danker, G., Vlahovska, P.M., Misbah, C., 2009. Vesicles in Poiseuille flow. *Phys. Rev. Lett.* 102, 148102.
- Davies, H.S., Débarre, D., El Amri, N., Verdier, C., Richter, R.P., Bureau, L., 2018. Elasto-hydrodynamic lift at a soft wall. *Phys. Rev. Lett.* 120, 198001. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.120.198001>.
- Deplaine, G., Safeukui, I., Jéddi, F., Lacoste, F., Brousse, V., Perrot, S., Biligui, S., Guilloitte, M., Guitton, C., Dokmak, S., Aussilhou, B., Sauvanet, A., Cazals Hatem, D., Paye, F., Thellier, M., Mazier, D., Milon, G., Mohandas, N., Mercereau-Puijalon, O., David, P.H., Buffet, P.A., 2011. The sensing of poorly deformable red blood cells by the human spleen can be mimicked in vitro. *Blood* 117 (8), e88–e95. <https://doi.org/10.1182/blood-2010-10-312801>.
- Katanov, D., Gompper, G., Fedosov, D.A., 2015. Microvascular blood flow resistance: role of red cell migration and dispersion. *Microvasc. Res.* 99, 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2015.02.006>.
- Doyeux, V., Podgorski, T., Peponas, S., Ismail, M., Couplier, G., 2011. Spheres in the vicinity of a bifurcation: elucidating the Zweifach-Fung effect. *Journal of Fluid Mechanics* 674, 359–388. <https://doi.org/10.1017/S0022112010006567>.
- Fåhræus, R., 1929. The suspension stability of the blood. *Physiol. Rev.* 9 (2), 241–274.
- Fåhræus, R., Lindqvist, T., 1931. The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am. J. Physiol.* 96, 562–568.
- Farutin, A., Misbah, C., 2013. Analytical and numerical study of three main migration laws for vesicles under flow. *Phys. Rev. Lett.* 110, 108104. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.110.108104>.
- Fedosov, D.A., Caswell, B., Popel, A.S., Karniadakis, G.E., 2010. Blood flow and cell-free layer in microvessels. *Microcirculation* 17, 615–628. <https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2010.00056.x>.
- Fedosov, D.A., Fornleitner, J., Gompper, G., 2012. Margination of white blood cells in microcapillary flow. *Phys. Rev. Lett.* 108, 028104. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.108.028104>.
- Fenton, B.M., Carr, R.T., Cokelet, G.R., 1985. Nonuniform red cell distribution in 20 to 100 m bifurcations. *Microvascular Research* 29 (1), 103–126.
- Geislinger, T.M., Eggart, B., Braunmüller, S., Schmid, L., Franke, T., 2012. Separation of blood cells using hydrodynamic lift. *Appl. Phys. Lett.* 100, 183701.
- Geislinger, T.M., Franke, T., 2014. Advances in Colloid and Interface Science 208, 161–176.
- Goldman, A., Cox, R., Brenner, H., 1967. Slow viscous motion of a sphere parallel to a plane wall — I. Motion through a quiescent fluid. *Chemical Engineering Science* 22 (4), 637–651.
- Goldsmith, H.L., 1971. Red cell motions and wall interactions in tube flow. *Fed. Proc.* 30, 1578.
- Goldsmith, H.L., Marlow, J., 1972. Flow behaviour of erythrocytes. I. Rotation and deformation in dilute suspensions. *Proc. R. Soc. B* 182, 351.
- Goldsmith, H.L., Spain, S., 1984. Margination of leukocytes in blood flow through small tubes. *Microvasc. Res.* 27, 204–222.
- Grandchamp, X., Couplier, G., Srivastav, A., Minetti, C., Podgorski, T., 2013. Lift and down-gradient shear-induced diffusion in red blood cell suspensions. *Phys. Rev. Lett.* 110, 108101.
- Guckenberger, A., Kihm, A., John, T., Wagner, C., Gekle, S., 2018. Numerical experimental observation of shape bistability of red blood cells flowing in a microchannel. *Soft Matter* 14, 2032–2043. <https://doi.org/10.1039/C7SM02272G>.
- Hariprasad, D.S., Secomb, T.W., 2015. Prediction of noninertial focusing of red blood cells in Poiseuille flow. *Phys. Rev. E* 92, 033008. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.92.033008>.
- Henríquez Rivera, R.G., Zhang, X., Graham, M.D., 2016. Mechanistic theory of margination and flow-induced segregation in confined multicomponent suspensions: simple shear and poiseuille flows. *Phys. Rev. fluids* 1, 060501. <https://doi.org/10.1103/PhysRevFluids.1.060501>.
- Holmes, D., Whyte, G., Bailey, J., Vergara-Irigaray, N., Ekpenyong, A., Guck, J., Duke, T., 2014. Separation of blood cells with differing deformability using deterministic lateral displacement. *Interface Focus* 4 (6), 20140011. <https://doi.org/10.1098/rsfs.2014.0011>.

- Kaliviotis, E., Sherwood, J., Balabani, S., 2017. Partitioning of red blood cell aggregates in bifurcating microscale flows. *Scientific reports* 7, 44563.
- Kaoui, B., Coupier, G., Misbah, C., Podgorski, T., 2009. Lateral migration of vesicles in microchannels: effects of walls and shear gradient. *Houille Blanche* 5, 112–119. <https://doi.org/10.1051/hb/2009063>.
- Kaoui, B., Ristow, G., Cantat, I., Misbah, C., Zimmermann, W., 2008. Lateral migration of a two-dimensional vesicle in unbounded Poiseuille flow. *Phys. Rev. E* 77, 021903. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.77.021903>.
- Kumar, A., Graham, M.D., 2012. Mechanism of margination in confined flows of blood and other multicomponent suspensions. *Phys. Rev. Lett.* 109, 108102. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.109.108102>.
- Lanotte, L., Mauer, J., Mendez, S., Fedosov, D.A., Fromental, J.-M., Claveria, V., Nicoud, F., Gompper, G., Abkarian, M., 2016. Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 113 (43), 13289–13294. <https://doi.org/10.1073/pnas.1608074113>.
- Lawrence, J.S., 1950. The plasma viscosity. *Journal of Clinical Pathology* 3 (4), 332–344.
- Li, H., Ma, G., 2010. Modeling performance of a two-dimensional capsule in a micro-channel flow: long-term lateral migration. *Phys. Rev. E* 82, 026304. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.82.026304>.
- Linderkamp, O., Meiselman, H., 1982. Geometric, osmotic, and membrane mechanical properties of density-separated human red cells. *Blood* 59 (6), 1121–1127.
- McLaren, C.E., Brittenham, G.M., Hasselblad, V., 1987. Statistical and graphical evaluation of erythrocyte volume distributions. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology* 252 (4), H857–H866. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1987.252.4.H857>.
- Mehrabadi, M., Ku, D.N., Aidun, C.K., 2016. Effects of shear rate, confinement, and particle parameters on margination in blood flow. *Phys. Rev. E* 93, 023109.
- Meßlinger, S., Schmidt, B., Noguchi, H., Gompper, G., 2009. Dynamical regimes and hydrodynamic lift of viscous vesicles under shear. *Phys. Rev. E* 80, 011901. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.80.011901>.
- Minetti, C., Audemar, V., Podgorski, T., Coupier, G., 2019. Dynamics of a large population of red blood cells under shear flow. *Journal of Fluid Mechanics* 864, 408â–448. <https://doi.org/10.1017/jfm.2019.42>.
- Morris, D., Williams, A., 1979. The effects of suspending medium viscosity on erythrocyte deformation and haemolysis in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 550 (2), 288–296.
- Nait-Ouhra, A., Guckenberger, A., Farutin, A., Ez-Zahraouy, H., Benyoussef, A., Gekle, S., Misbah, C., 2018, Dec. Lateral vesicle migration in a bounded shear flow: viscosity contrast leads to off-centered solutions. *Phys. Rev. Fluids* 3, 123601. <https://doi.org/10.1103/PhysRevFluids.3.123601>.
- Narsimhan, V., Zhao, H., Shaqfeh, E.S.G., 2013. Coarse-grained theory to predict the concentration distribution of red blood cells in wall-bounded Couette flow at zero Reynolds number. *Phys. Fluids* 25 (6), 061901. <https://doi.org/10.1063/1.4810808>.
- Nix, S., Imai, Y., Ishikawa, T., 2016. Lateral migration of a capsule in a parabolic flow. *J. Biomech.* 49, 2249–2254.
- Nix, S., Imai, Y., Matsunaga, D., Yamaguchi, T., Ishikawa, T., 2014. Lateral migration of a spherical capsule near a plane wall in Stokes flow. *Phys. Rev. E* 90, 043009. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.90.043009>.
- Olla, P., 1997. The lift on a tank-treading ellipsoidal cell in a shear flow. *J. Phys. II France* 7, 1533–1540. <https://doi.org/10.1051/jp2:1997201>.
- Pasol, L., Martin, M., Ekiel-Jezewska, M., Wajnryb, E., BŁawdziewicz, J., Feuillebois, F., 2011. Motion of a sphere parallel to plane walls in a poiseuille flow. application to field-flow fractionation and hydrodynamic chromatography. *Chemical Engineering Science* 66 (18), 4078–4089.
- Peyrounette, M., Davit, Y., Quintard, M., Lorthois, S., 2018. Multiscale modelling of blood flow in cerebral microcirculation: details at capillary scale control accuracy at the level of the cortex. *PLoS one* 13, 1–35.
- Piomelli, S., Seaman, C., 1993. Mechanism of red blood cell aging: relationship of cell density and cell age. *American Journal of Hematology* 42 (1), 46–52. <https://doi.org/10.1002/ajh.2830420110>.
- Poiseuille, J.-M., 1835. Recherches sur les causes du mouvement du sang dans les vaisseaux capillaires. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* 1, 554–560.
- Popel, A.S., Johnson, P.C., 2005. Microcirculation and hemorheology. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 37, 43–69. <https://doi.org/10.1146/annurev.fluid.37.042604.133933>.
- Pries, A.R., Ley, K., Claassen, M., Gaethgens, P., 1989. Red cell distribution at microvascular bifurcations. *Microvasc. Res.* 38, 81–101.
- Qi, Q.M., Shaqfeh, E.S.G., 2017. Theory to predict particle migration and margination in the pressure-driven channel flow of blood. *Phys. Rev. Fluids* 2, 093102. <https://doi.org/10.1103/PhysRevFluids.2.093102>.
- Risser, L., Plouraboué, F., Cloetens, P., Fonta, C., 2009. A 3D investigation shows that angiogenesis in primate cerebral cortex mainly occurs at capillary level. *Int. J. Dev. Neurosci.* 27, 185–196. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2008.10.006>.
- 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. *Microvasc. Res.* 84, 249. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2012.08.006>.
- Roman, S., Merlo, A., Duru, P., Risso, F., Lorthois, S., 2016. Going beyond 20 µm-sized channels for studying red blood cell phase separation in microfluidic bifurcations. *Biomicrofluidics* 10, 034103. <https://doi.org/10.1063/1.4948955>.
- Shen, Z., Coupier, G., Kaoui, B., Polack, B., Harting, J., Misbah, C., Podgorski, T., 2016. Inversion of hematocrit partition at microfluidic bifurcations. *Microvasc. Res.* 105, 40–46. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2015.12.009>.
- 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, 024119.
- Singh, R.K., Li, X., Sarkar, K., 2014. Lateral migration of a capsule in plane shear near a wall. *Journal of Fluid Mechanics* 739, 421–443. <https://doi.org/10.1017/jfm.2013.624>.
- Sinha, K., Graham, M.D., 2015. Dynamics of a single red blood cell in simple shear flow. *Phys. Rev. E* 92, 042710. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.92.042710>.
- Sosa, J., Nielsen, N., Vignes, S., Chen, T., Shevkoplyas, 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. <https://doi.org/10.3233/CH-131719>.
- Storn, R., Price, K., 1997. Differential evolution — a simple and efficient heuristic for global optimization over continuous spaces. *Journal of Global Optimization* 11 (4), 341–359.
- Sukumaran, S., Seifert, U., 2001. Influence of shear flow on vesicles near a wall: a numerical study. *Phys. Rev. E* 64, 011916. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.64.011916>.
- Waugh, R., Narla, M., Jackson, C., Mueller, T., Suzuki, T., Dale, G., 1992. Rheologic properties of senescent erythrocytes: loss of surface area and volume with red blood cell age. *Blood* 79 (5), 1351–1358.
- Yamaguchi, S., Yamakawa, T., Niimi, H., 1992. Cell-free plasma layer in cerebral microvessels. *Biorheology* 29, 251–260. <https://doi.org/10.3233/BIR-1992-292-305>.
- Zeming, K., Salafi, T., Chen, C., Zhang, Y., 2016. Asymmetrical deterministic lateral displacement gaps for dual functions of enhanced separation and throughput of red blood cells. *Scientific Reports* 6, 22934.
- Zhao, H., Spann, A.P., Shaqfeh, E.S.G., 2011. The dynamics of a vesicle in a wall-bound shear flow. *Phys. Fluids* 23, 121901.

# Bibliographie

- [Aarts 1988] P. Aarts, van den Broek S. A. J., G. Prins, G. D. C. Kuiken, J. J. Sixma and R. M. Heethaar. *Blood platelets are concentrated near the wall and red blood cells, in the center in flowing blood*. Arteriosclerosis, vol. 8 6, pages 819–24, 1988.
- [Abay 2019] A. Abay, G. Simionato, R. Chachanidze, A. Bogdanova, L. Hertz, P. Bianchi, E. van den Akker, M. von Lindern, M. Leonetti, G. Minetti, C. Wagner and L. Kaestner. *Glutaraldehyde – A Subtle Tool in the Investigation of Healthy and Pathologic Red Blood Cells*. Frontiers in Physiology, vol. 10, page 514, 2019.
- [Abkarian 2002] M. Abkarian, C. Lartigue and A. Viallat. *Tank Treading and Unbinding of Deformable Vesicles in Shear Flow : Determination of the Lift Force*. Physical Review Letters, vol. 88, page 068103, 2002.
- [Abkarian 2005] M. Abkarian and A. Viallat. *Dynamics of vesicles in a wall-bounded shear flow*. Biophysical Journal, vol. 89, page 1055, 2005.
- [Abkarian 2008] M. Abkarian and A. Viallat. *Vesicles and red blood cells in shear flow*. Soft Matter, vol. 4, pages 653–657, 2008.
- [Baek 2005] J. Y. Baek, J. Y. Park, J. I. Ju, T. S. Lee and S. H. Lee. *A pneumatically controllable flexible and polymeric microfluidic valve fabricated via in situ development*. Journal of Micromechanics and Microengineering, vol. 15, no. 5, pages 1015–1020, mar 2005.
- [Balogh 2018] P. Balogh and P. Bagchi. *Analysis of red blood cell partitioning at bifurcations in simulated microvascular networks*. Physics of Fluids, vol. 30, no. 5, page 051902, 2018.
- [Banerjee 1998] R. Banerjee, K. Nageshwari and R.R. Puniyani. *The diagnostic relevance of red cell rigidity*. Clinical Hemorheology and Microcirculation, vol. 19, no. 1, pages 21–24, 1998.
- [Barbee 1971] J. H. Barbee and G. R. Cokelet. *The Fahraeus effect*. Microvascular Research, vol. 3, no. 1, pages 6 – 16, 1971.
- [Baskurt 2011] O. Baskurt, B Neu and H. J. Meiselman. Red blood cell aggregation. IOS Press, 2011.
- [Bocci 1981] V. Bocci. *Determinants of erythrocyte ageing : a reappraisal*. British Journal of Haematology, vol. 48, no. 4, pages 515–522, 1981.
- [Bradski 2000] G. Bradski. *The OpenCV Library*. Dr. Dobb’s Journal of Software Tools, 2000.

- [Brust 2013] M. Brust, C. Schaefer, R. Doerr, L. Pan, M. Garcia, P. E. Arratia and C. Wagner. *Rheology of Human Blood Plasma : Viscoelastic Versus Newtonian Behavior*. Physical Review Letters, vol. 110, page 078305, Feb 2013.
- [Bruus 2008] H. Bruus. Theoretical microfluidics. Oxford University Press, USA, 2008.
- [Bureau 2017] L. Bureau, G. Coupier, F. Dubois, A. Duperray, A. Farutin, C. Minetti, C. Misbah, T. Podgorski, D. Tsvirkun and M. Vysokikh. *Blood flow and microgravity*. Comptes Rendus Mécanique, vol. 345, no. 2, pages 78 – 85, 2017.
- [Callens 2008] N. Callens, C. Minetti, G. Coupier, M.-A. Mader, F. Dubois, C. Misbah and T. Podgorski. *Hydrodynamic lift of vesicles under shear flow in microgravity*. Europhysics letters, vol. 83, no. 2, page 24002, 2008.
- [Canham 1968] P. B. Canham and A. C. Burton. *Distribution of Size and Shape in Populations of Normal Human Red Cells*. Circulation Research, vol. 22, no. 3, pages 405–422, 1968.
- [Canham 1970] P.B. Canham. *The minimum energy of bending as a possible explanation of the biconcave shape of the human red blood cell*. Journal of Theoretical Biology, vol. 26, no. 1, pages 61 – 81, 1970.
- [Chen 2019] Y. Chen, Y. Li, D. Li, J. Li and H. Chen. *Margination mechanism of stiffened red blood cell in microchannel with different cross-section shapes*. Microfluidics and Nanofluidics, vol. 23, no. 2, page 25, Jan 2019.
- [Chien 1970] S. Chien. *Shear Dependence of Effective Cell Volume as a Determinant of Blood Viscosity*. Science, vol. 168, no. 3934, pages 977–979, 1970.
- [Chung 1994] T.-W. Chung, W.-K. Chen, S.-N. Chu and C.-J. Lee. *The importance of hemoglobin contents on viscosity of liposome encapsulated hemoglobin suspensions*. Journal of the Chinese Institute of Engineers, vol. 17, no. 6, pages 815–822, 1994.
- [Clavería 2016] V. Clavería, O. Aouane, M. Thiébaud, M. Abkarian, G. Coupier, C. Misbah, T. John and C. Wagner. *Clusters of red blood cells in microcapillary flow : hydrodynamic versus macromolecule induced interaction*. Soft Matter, vol. 12, pages 8235–8245, 2016.
- [Coupier 2008] G. Coupier, B. Kaoui, T. Podgorski and C. Misbah. *Noninertial lateral migration of vesicles in bounded Poiseuille flow*. Physics of Fluids, vol. 20, page 111702, 2008.
- [Da Cunha 1996] F. R. Da Cunha and E. J. Hinch. *Shear-induced dispersion in a dilute suspension of rough spheres*. Journal of Fluid Mechanics, vol. 309, page 211–223, 1996.

- [Davies 2018] H. S. Davies, D. Débarre, N. El Amri, C. Verdier, R. P. Richter and L. Bureau. *Elastohydrodynamic Lift at a Soft Wall*. *Physical Review Letters*, vol. 120, page 198001, 2018.
- [Deplaine 2011] G. Deplaine, I. Safeukui, F. Jeddi, F. Lacoste, V. Brousse, S. Perrot, S. Biligui, M. Guillotte, C. Guitton, S. Dokmak, B. Aussilhou, A. Sauvanet, D. Cazals Hatem, F. Paye, M. Thellier, D. Mazier, G. Milon, N. Mohandas, O. Mercereau-Puijalon, P. H. David and P. A. Buffet. *The sensing of poorly deformable red blood cells by the human spleen can be mimicked in vitro*. *Blood*, vol. 117, no. 8, pages e88–e95, 2011.
- [Deuling 1976] H.J. Deuling and W. Helfrich. *The curvature elasticity of fluid membranes : A catalogue of vesicle shapes*. *Journal de Physique*, vol. 37, no. 11, pages 1335–1345, 1976.
- [Einstein 1906] A. Einstein. *A new determination of molecular dimensions*. *Annalen der Physik*, vol. 19, pages 289–306, 1906.
- [Evans 1984] E. Evans, N. Mohandas and A. Leung. *Static and dynamic rigidities of normal and sickle erythrocytes. Major influence of cell hemoglobin concentration*. *The Journal of Clinical Investigation*, vol. 73, pages 477–488, 2 1984.
- [Fåhræus 1929] R. Fåhræus. *The suspension stability of the blood*. *Physiol. Rev.*, vol. 9, no. 2, pages 241–274, 1929.
- [Fåhræus 1931] R. Fåhræus and T. Lindqvist. *The viscosity of the blood in narrow capillary tubes*. *American Journal of Physiology*, vol. 96, pages 562–568, 1931.
- [Farutin 2013] A. Farutin and C. Misbah. *Analytical and Numerical Study of Three Main Migration Laws for Vesicles Under Flow*. *Physical Review Letters*, vol. 110, page 108104, 2013.
- [Fay 2016] M. E. Fay, D. R. Myers, A. Kumar, C. T. Turbyfield, R. Byler, K. Crawford, R. G. Mannino, A. Laohapant, E. A. Tyburski, Y. Sakurai, M. J. Rosenbluth, N. A. Switz, T. A. Sulchek, M. D. Graham and W. A. Lam. *Cellular softening mediates leukocyte demargination and trafficking, thereby increasing clinical blood counts*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 113, no. 8, pages 1987–1992, 2016.
- [Fedosov 2010] D. A. Fedosov, B. Caswell, A. S. Popel and G. E. Karniadakis. *Blood Flow and Cell-Free Layer in Microvessels*. *Microcirculation*, vol. 17, pages 615–628, 2010.
- [Fiddes 2010] L. K. Fiddes, N. Raz, S. Srigunapalan, E. Tumarkan, A. C. Simmons, A. R. Wheeler and E. Kumacheva. *A circular cross-section PDMS microfluidics system for replication of cardiovascular flow conditions*. *Biomaterials*, vol. 31, no. 13, pages 3459 – 3464, 2010.



- [Firrell 1989] J. C. Firrell and H. H. Lipowsky. *Leukocyte margination and deformation in mesenteric venules of rat*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, vol. 256, no. 6, pages H1667–H1674, 1989. PMID : 2735435.
- [Fischer 2013] T. M. Fischer and R. Korzeniewski. *Threshold shear stress for the transition between tumbling and tank-treading of red blood cells in shear flow : dependence on the viscosity of the suspending medium*. Journal of Fluid Mechanics, vol. 736, page 351–365, 2013.
- [Franco 2013] R. S. Franco, M. E. Puchulu-Campanella, L. A. Barber, M. B. Palascak, C. H. Joiner, P. S. Low and R. M. Cohen. *Changes in the properties of normal human red blood cells during in vivo aging*. American Journal of Hematology, vol. 88, no. 1, pages 44–51, 2013.
- [Fung 1990] Y. C. Fung. Micro- and macrocirculation. Springer New York, 1990.
- [Fung 1993] Y. C. Fung. Biomechanics : mechanical properties of living tissues. Springer, Berlin, 1993.
- [Geislinger 2012] T. M. Geislinger, B. Eggart, S. Braunmüller, L. Schmid and T. Franke. *Separation of blood cells using hydrodynamic lift*. Applied Physics Letters, vol. 100, page 183701, 2012.
- [Geislinger 2014] T. M. Geislinger and Franke T. *Hydrodynamic lift of vesicles and red blood cells in flow — from Fåhræus & Lindqvist to microfluidic cell sorting*. Advances in Colloid and Interface Science, vol. 208, pages 161 – 176, 2014.
- [Gervais 2006] 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.
- [Gifford 2003] S. C. Gifford, M. G. Frank, J. Derganc, C. Gabel, R. H. Austin, T. Yoshida and M. W. Bitensky. *Parallel Microchannel-Based Measurements of Individual Erythrocyte Areas and Volumes*. Biophysical Journal, vol. 84, no. 1, pages 623 – 633, 2003.
- [Gires 2014] P.-Y. Gires, A. Srivastav, C. Misbah, T. Podgorski and G. Couplier. *Pairwise hydrodynamic interactions and diffusion in a vesicle suspension*. Physics of Fluids, vol. 26, page 013304, 2014.
- [Goldman 1967] A. J. Goldman, R. G. Cox and H. Brenner. *Slow viscous motion of a sphere parallel to a plane wall—I Motion through a quiescent fluid*. Chemical Engineering Science, vol. 22, no. 4, pages 637 – 651, 1967.
- [Goldsmith 1968] Harry L. Goldsmith. *The Microrheology of Red Blood Cell Suspensions*. The Journal of General Physiology, vol. 52, no. 1, pages 5–28, 1968.

- [Goldsmith 1971] H. L. Goldsmith. *Red cell motions and wall interactions in tube flow*. Federation Proceedings, vol. 30, page 1578, 1971.
- [Goldsmith 1984] H. L. Goldsmith and S. Spain. *Margination of leukocytes in blood flow through small tubes*. Microvascular Research, vol. 27, pages 204 – 222, 1984.
- [Grandchamp 2013] X. Grandchamp, G. Coupier, A. Srivastav, C. Minetti and T. Podgorski. *Lift and Down-Gradient Shear-Induced Diffusion in Red Blood Cell Suspensions*. Physical Review Letters, vol. 110, page 108101, 2013.
- [Griffiths 2012] I. M. Griffiths and H. A. Stone. *Axial dispersion via shear-enhanced diffusion in colloidal suspensions*. EPL (Europhysics Letters), vol. 97, no. 5, page 58005, mar 2012.
- [Guckenberger 2018] A. Guckenberger, A. Kihm, T. John, C. Wagner and S. Gekle. *Numerical experimental observation of shape bistability of red blood cells flowing in a microchannel*. Soft Matter, vol. 14, pages 2032–2043, 2018.
- [Guibert 2009] R. Guibert. *Analyse des écoulements micro-vasculaires cérébraux*. PhD thesis, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2009.
- [Hénon 1999] S. Hénon, G. Lenormand, Richert A. and F. Gallet. *A New Determination of the Shear Modulus of the Human Erythrocyte Membrane Using Optical Tweezers*. Biophysical Journal, vol. 76, no. 2, pages 1145 – 1151, 1999.
- [Henríquez 2016] R. G. Henríquez, X. Zhang and M. D. Graham. *Mechanistic theory of margination and flow-induced segregation in confined multicomponent suspensions : Simple shear and Poiseuille flows*. Physical Review Fluids, vol. 1, page 060501, 2016.
- [Hochmuth 1973] R.M. Hochmuth, N. Mohandas and P.L. Blackshear. *Measurement of the Elastic Modulus for Red Cell Membrane Using a Fluid Mechanical Technique*. Biophysical Journal, vol. 13, no. 8, pages 747 – 762, 1973.
- [Holmes 2014] D. Holmes, G. Whyte, J. Bailey, N. Vergara-Irigaray, A. Ekpenyong, J. Guck and T. Duke. *Separation of blood cells with differing deformability using deterministic lateral displacement*. Interface Focus, vol. 4, no. 6, page 20140011, 2014.
- [House 1986] S. D. House and P. C. Johnson. *Diameter and blood flow of skeletal muscle venules during local flow regulation*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, vol. 250, no. 5, pages H828–H837, 1986. PMID : 3706555.
- [Iss 2019] C. Iss, D. Midou, A. Moreau, D. Held, A. Charrier, S. Mendez, A. Viallat and E. Helfer. *Self-organization of red blood cell suspensions under confined 2D flows*. Soft Matter, vol. 15, pages 2971–2980, 2019.



- [Joanes 1998] D. N. Joanes and C. A. Gill. *Comparing measures of sample skewness and kurtosis*. Journal of the Royal Statistical Society : Series D (The Statistician), vol. 47, no. 1, pages 183–189, 1998.
- [Jolly 2019] P. Jolly, J. Rainbow, A. Regoutz, P. Estrela and D. Moschou. *A PNA-based Lab-on-PCB diagnostic platform for rapid and high sensitivity DNA quantification*. Biosensors and Bioelectronics, vol. 123, pages 244 – 250, 2019.
- [Kaoui 2009] B. Kaoui, G. Coupier, C. Misbah and T. Podgorski. *Lateral migration of vesicles in microchannels : effects of walls and shear gradient*. Houille Blanche, vol. 5, pages 112–119, 2009.
- [Katanov 2015] D. Katanov, G. Gompper and D. A. Fedosov. *Microvascular blood flow resistance : Role of red blood cell migration and dispersion*. Microvascular Research, vol. 99, pages 57 – 66, 2015.
- [Kelemen 2001] C. Kelemen, S. Chien and G.M. Artmann. *Temperature Transition of Human Hemoglobin at Body Temperature : Effects of Calcium*. Biophysical Journal, vol. 80, no. 6, pages 2622 – 2630, 2001.
- [Kolitsi 2019] L. I. Kolitsi and S. G. Yiantsios. *Effects of artery size on the hydrodynamic diffusivity of red cells and other contained particles*. Physical Review Fluids, vol. 4, page 113103, Nov 2019.
- [Krieger 1959] I. M. Krieger and T. J. Dougherty. *A Mechanism for Non-Newtonian Flow in Suspensions of Rigid Spheres*. Transactions of the Society of Rheology, vol. 3, no. 1, pages 137–152, 1959.
- [Lanotte 2016] L. Lanotte, J. Mauer, S. Mendez, D. A. Fedosov, J.-M. Fromental, V. Claveria, F. Nicoud, G. Gompper and M. Abkarian. *Red cells' dynamic morphologies govern blood shear thinning under microcirculatory flow conditions*. Proceedings of the National Academy of Sciences, vol. 113, no. 43, pages 13289–13294, 2016.
- [Lelièvre 1995] J.C. Lelièvre, C. Bucherer, S. Geiger, C. Lacombe and V. Vereycken. *Blood Cell Biomechanics Evaluated by the Single-Cell Micromanipulation*. Journal de Physique III, vol. 5, no. 10, pages 1689–1706, 1995.
- [Linderkamp 1982] O Linderkamp and HJ Meiselman. *Geometric, osmotic, and membrane mechanical properties of density-separated human red cells*. Blood, vol. 59, no. 6, pages 1121–1127, 1982.
- [Lipowsky 1993] H.H. Lipowsky, L.E. Cram, W. Justice and M.J. Eppihimer. *Effect of Erythrocyte Deformability on in Vivo Red Cell Transit Time and Hematocrit and Their Correlation with in Vitro Filterability*. Microvascular Research, vol. 46, no. 1, pages 43 – 64, 1993.
- [Loewenberg 1997] M. Loewenberg and E. J. Hinch. *Collision of two deformable drops in shear flow*. Journal of Fluid Mechanics, vol. 338, page 299–315, 1997.

- [Losserland 2019] S. Losserland, G. Coupier and T. Podgorski. *Migration velocity of red blood cells in microchannels*. *Microvascular Research*, vol. 124, pages 30 – 36, 2019.
- [Lux 2016] S. E. Lux. *Anatomy of the red cell membrane skeleton : unanswered questions*. *Blood*, vol. 127, no. 2, pages 187–199, 2016.
- [Mayer 1966] G. A. Mayer. *Relation of the Viscosity of Plasma and Whole Blood*. *American Journal of Clinical Pathology*, vol. 45, no. 3, pages 273–276, 03 1966.
- [Meßlinger 2009] S. Meßlinger, B. Schmidt, H. Noguchi and G. Gompper. *Dynamical regimes and hydrodynamic lift of viscous vesicles under shear*. *Physical Review E*, vol. 80, page 011901, 2009.
- [Minetti 2019] C. Minetti, V. Audemar, T. Podgorski and G. Coupier. *Dynamics of a large population of red blood cells under shear flow*. *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 864, page 408–448, 2019.
- [Nait-Ouhra 2018] A. Nait-Ouhra, A. Guckenberger, A. Farutin, H. Ez-Zahraouy, A. Benyoussef, S. Geckle and C. Misbah. *Lateral vesicle migration in a bounded shear flow : Viscosity contrast leads to off-centered solutions*. *Physical Review Fluids*, vol. 3, page 123601, Dec 2018.
- [Narsimhan 2013] V. Narsimhan, H. Zhao and E. S. G. Shaqfeh. *Coarse-grained theory to predict the concentration distribution of red blood cells in wall-bounded Couette flow at zero Reynolds number*. *Physics of Fluids*, vol. 25, no. 6, page 061901, 2013.
- [Nelson 2010] B. J. Nelson, I. K. Kaliakatsos and J. J. Abbott. *Microrobots for Minimally Invasive Medicine*. *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 12, no. 1, pages 55–85, 2010. PMID : 20415589.
- [Neu 08] B. Neu, R. Wenby and H. J. Meiselman. *Effects of Dextran Molecular Weight on Red Blood Cell Aggregation*. *Biophysical Journal*, vol. 95, no. 6, pages 3059–3065, 08.
- [Newville 2014] M. Newville, T. Stensitzki, D. B. Allen and A. Ingargiola. *LMFIT : Non-Linear Least-Square Minimization and Curve-Fitting for Python*. Sep 2014.
- [Nix 2016] S. Nix, Y. Imai and T. Ishikawa. *Lateral migration of a capsule in a parabolic flow*. *Journal of Biomechanics*, vol. 49, pages 2249 – 2254, 2016.
- [Olla 1997] P. Olla. *The lift on a tank-treading ellipsoidal cell in a shear flow*. *J. Phys. II France*, vol. 7, pages 1533–1540, 1997.
- [Owen 2001] M.J. Owen. *Elastomers : Siloxane*. In K.H. Jürgen Buschow, Robert W. Cahn, Merton C. Flemings, Bernhard Ilshner, Edward J. Kramer, Subhash Mahajan and Patrick Veyssi re, editors, *Encyclopedia of Materials : Science and Technology*, pages 2480 – 2482. Elsevier, Oxford, 2001.

- [Park 2016] H. Park, S. Lee, M. Ji, K. Kim, Y. Son, S. Jang and Y. Park. *Measuring cell surface area and deformability of individual human red blood cells over blood storage using quantitative phase imaging*. Scientific Reports, vol. 6, no. 1, page 34257, 2016.
- [Pasol 2011] L. Pasol, M. Martin, M.L. Ekiel-Jeżewska, E. Wajnryb, J. BŁawdziewicz and F. Feuillebois. *Motion of a sphere parallel to plane walls in a Poiseuille flow. Application to field-flow fractionation and hydrodynamic chromatography*. Chemical Engineering Science, vol. 66, no. 18, pages 4078 – 4089, 2011.
- [Pearson 2000] M. J. Pearson and H. H. Lipowsky. *Influence of erythrocyte aggregation on leukocyte margination in postcapillary venules of rat mesentery*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, vol. 279, no. 4, pages H1460–H1471, 2000. PMID : 11009430.
- [Pinho 2016] D. Pinho, R. O. Rodrigues, V. Faustino, T. Yaginuma, J. Exposto and R. Lima. *Red blood cells radial dispersion in blood flowing through microchannels : The role of temperature*. Journal of Biomechanics, vol. 49, no. 11, pages 2293–2298, 2016.
- [Piomelli 1993] S. Piomelli and C. Seaman. *Mechanism of red blood cell aging : Relationship of cell density and cell age*. American Journal of Hematology, vol. 42, no. 1, pages 46–52, 1 1993.
- [Plebani 2012] M. Plebani, L. Giuseppe, C. Gianfranco and J. F. Emmanuel. *In vitro and in vivo hemolysis an unresolved dispute in laboratory medicine*. Berlin : De Gruyter, 2012.
- [Poiseuille 1835] J.-M. Poiseuille. *Recherches sur les causes du mouvement du sang dans les vaisseaux capillaires*. Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences, vol. 1, pages 554–560, 1835.
- [Pries 1989] A. R. Pries, K. Ley, M. Claassen and P. Gaethgens. *Red cell distribution at microvascular bifurcations*. Search Results Web results Microvascular Research, vol. 38, pages 81–101, 1989.
- [Pries 1990] A. R. Pries, T. W. Secomb, P. Gaehtgens and J. F. Gross. *Blood flow in microvascular networks. Experiments and simulation*. Circulation Research, vol. 67, no. 4, pages 826–34, 1990.
- [Pries 1992] 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.
- [Qi 2017] Q. M. Qi and E. S. G. Shaqfeh. *Theory to predict particle migration and margination in the pressure-driven channel flow of blood*. Physical Review Fluids, vol. 2, page 093102, 2017.

- [Renoux 216] C. Renoux, N. Parrow, C. Faes, P. Joly, M. Hardeman, J. Tisdale, M. Levine, N. Garnier, Y. Bertrand, K. Kebaili, D. Cuzzubbo, G. Cannas, C. Martin and P. Connes. *Importance of methodological standardization for the ektacytometric measures of red blood cell deformability in sickle cell anemia*. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, vol. 62, no. 2, pages 173–179, 216.
- [Rosen 1967] R. Rosen. *Optimality principles in biology*. Springer US, 1967.
- [Secomb 2017] T. W. Secomb. *Blood Flow in the Microcirculation*. *Annual Review of Fluid Mechanics*, vol. 49, no. 1, pages 443–461, 2017.
- [Shen 2016a] Z. Shen. *Blood flow in microfluidic architectures : collective behaviors of deformable particles in confined flow*. Theses, Université Grenoble Alpes, May 2016.
- [Shen 2016b] Z. Shen, G. Coupier, B. Kaoui, B. Polack, J. Harting, C. Misbah and T. Podgorski. *Inversion of hematocrit partition at microfluidic bifurcations*. *Search Results Web results Microvascular Research*, vol. 105, pages 40 – 46, 2016.
- [Sherwood 2012a] J. M. Sherwood, J. Dusting, E. Kaliviotis and S. Balabani. *The effect of red blood cell aggregation on velocity and cell-depleted layer characteristics of blood in a bifurcating microchannel*. *Biomicrofluidics*, vol. 6, no. 2, page 024119, 2012.
- [Sherwood 2012b] L. Sherwood. *Human physiology : From cells to systems*. Cengage Learning, 2012.
- [Sherwood 2014] J. M. Sherwood, D. Holmes, E. Kaliviotis and S. Balabani. *Spatial Distributions of Red Blood Cells Significantly Alter Local Haemodynamics*. *PLOS ONE*, vol. 9, no. 6, pages 1–13, 06 2014.
- [Sosa 2014] J. M. Sosa, N. D. Nielsen, S. M. Vignes, T. G. Chen and S. S. Shevkoplyas. *The relationship between red blood cell deformability metrics and perfusion of an artificial microvascular network*. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, vol. 57, no. 3, pages 275 – 289, 2014.
- [Storn 1997] R. Storn and K. Price. *Differential Evolution – A Simple and Efficient Heuristic for global Optimization over Continuous Spaces*. *Journal of Global Optimization*, vol. 11, no. 4, pages 341–359, Dec 1997.
- [Takeishi 2019] N. Takeishi, H. Ito, M. Kaneko and S. Wada. *Deformation of a Red Blood Cell in a Narrow Rectangular Microchannel*. *Micromachines*, vol. 10, no. 3, 2019.
- [Tatsumi 2019] K. Tatsumi, S. Noguchi, A. Tatsumi, R. Kuriyama and K. Nakabe. *Particle and rigidized red blood cell concentration distributions in microchannel flows*. *Physics of Fluids*, vol. 31, no. 8, page 082006, 2019.

- [Thiébaud 2014] M. Thiébaud, Z. Shen, J. Harting and C. Misbah. *Prediction of Anomalous Blood Viscosity in Confined Shear Flow*. Physical Review Letters, vol. 112, page 238304, Jun 2014.
- [Tomaiuolo 2012] G. Tomaiuolo, L. Lanotte, G. Ghigliotti, C. Misbah and S. Guido. *Red blood cell clustering in Poiseuille microcapillary flow*. Physics of Fluids, vol. 24, no. 5, page 051903, 2012.
- [Turgeon 2004] M. L. Turgeon. Clinical hematology : Theory and procedures. Philadelphia, PA : Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- [Unger 2000] M. A. Unger, H.-P. Chou, T. Thorsen, A. Scherer and S. R. Quake. *Monolithic Microfabricated Valves and Pumps by Multilayer Soft Lithography*. Science, vol. 288, no. 5463, pages 113–116, 2000.
- [Waugh 1992] R. E. Waugh, M. Narla, C. W. Jackson, T. J. Mueller, T. Suzuki and G. L. Dale. *Rheologic properties of senescent erythrocytes : loss of surface area and volume with red blood cell age*. Blood, vol. 79, no. 5, pages 1351–1358, 1992.
- [Weibel 2007] Douglas B. Weibel, Willow R. DiLuzio and George M. Whitesides. *Microfabrication meets microbiology*. Nature Reviews Microbiology, vol. 5, no. 3, pages 209–218, mar 2007.
- [Williams 1973] A. R. Williams. *The effect of bovine and human serum albumins on the mechanical properties of human erythrocyte membranes*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes, vol. 307, no. 1, pages 58 – 64, 1973.
- [Wojdyla 2012] M. Wojdyla, S. Raj and D. Petrov. *Absorption spectroscopy of single red blood cells in the presence of mechanical deformations induced by optical traps*. Journal of Biomedical Optics, vol. 17, no. 9, pages 1 – 8, 2012.
- [Woldhuis 1992] B. Woldhuis, G. J. Tangelder, D. W. Slaaf and R. S. Reneman. *Concentration profile of blood platelets differs in arterioles and venules*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, vol. 262, no. 4, pages H1217–H1223, 1992. PMID : 1566903.
- [Wu 2018] J. Wu, M. Dong, C. Rigatto, Y. Liu and F. Lin. *Lab-on-chip technology for chronic disease diagnosis*. npj Digital Medicine, vol. 1, 2018.
- [Yamaguchi 1992] S. Yamaguchi, T. Yamakawa and H. Niimi. *Cell-free plasma layer in cerebral microvessels*. Biorheology, vol. 29, pages 251–260, 1992.
- [Yang 2018] R.-J. Yang, L.-M. Fu and H.-H. Hou. *Review and perspectives on microfluidic flow cytometers*. Sensors and Actuators B : Chemical, vol. 266, pages 26 – 45, 2018.
- [Yin 2013] X. Yin, T. Thomas and J. Zhang. *Multiple red blood cell flows through microvascular bifurcations : Cell free layer, cell trajectory, and hematocrit separation*. Microvascular Research, vol. 89, pages 47 – 56, 2013.

- 
- [Zeming 2016] K. K. Zeming, T. Salafi, C. H. Chen and Y. Zhang. *Asymmetrical Deterministic Lateral Displacement Gaps for Dual Functions of Enhanced Separation and Throughput of Red Blood Cells*. Scientific Reports, vol. 6, page 22934, 2016.
- [Zhao 2011] H. Zhao, A. P. Spann and E. S. G. Shaqfeh. *The dynamics of a vesicle in a wall-bound shear flow*. Physics of Fluids, vol. 23, page 121901, 2011.
- [Zhou 2019] Q. Zhou, J. Fidalgo, L. Calvi, M. O. Bernabeu, P. R. Hoskins, M. S. N. Oliveira and T. Krüger. *Spatio-temporal dynamics of dilute red blood cell suspensions in a microchannel flow at low Reynolds number*. 2019.



## Résumé

Le sang est une suspension dense en globules rouges (GR, environ 50% du volume) qui sont des cellules très déformables, leur principal fonction est le transport de l'oxygène des poumons vers les organes. Cet échange gazeux dans les organes fait intervenir un réseau ramifié de capillaires sanguins où de nombreux phénomènes couplés créent un écoulement complexe (organisation des globules rouges dans l'écoulement, rhéologie, séparation de l'écoulement aux intersections). Un paramètre essentiel de la microcirculation est le temps de transit des GRs dans un organe, ce temps de transit est une limitation à la diffusion et à la disponibilité en oxygène et peut conduire à une désaturation non optimale avant de quitter le réseau microcirculatoire pour rejoindre le système veineux. Suivant les propriétés mécaniques des GRs qui peuvent être modifiées par des pathologies et leur concentration, leur temps de transit peut varier dans de larges proportions, et peut ainsi être très dispersé autour de la valeur moyenne pour le même échantillon : certains GRs sont plus rapides que d'autres. Les mécanismes en jeu font intervenir la rhéologie du sang (la viscosité apparente varie en fonction du confinement des capillaires, de la rigidité des globules rouges) et la migration hydrodynamique des globules rouges due à l'interaction entre les GRs et les parois du vaisseaux. Ce phénomène de dispersion peut être qualitativement relié au phénomène connu de la dispersion de Taylor d'une solution dans un canal et est aussi connu dans le cas des suspensions colloïdales. Des simulations numériques dans l'équipe d'accueil ont montré que la dispersion moyenne de la vitesse de transit des GRs dans un réseau microcirculatoire était très sensible aux propriétés mécaniques des GRs et à leur dispersion transversale dans le réseau. Cette thèse propose ainsi d'explorer plusieurs aspects de la dispersion des globules rouges dans différentes situations modèles. Le premier chapitre sera dédié à l'étude de la migration transversale des globules rouges des parois vers le centre du canal en milieu très dilué, en effet ce phénomène joue un rôle très important dans la mise en place d'une couche de déplétion au niveau des parois. Le second chapitre sera dédié à l'étude de la dynamique de structuration observé dans les écoulements, l'idée est de mesurer l'évolution du profil de concentration des globules rouges le long d'un canal rectiligne après une intersection en T. Le dernier chapitre s'intéressera à l'évolution d'un bolus de globules rouges dans un canal pseudo-2D rectiligne, ça dynamique permettre d'observer l'influence des propriétés mécaniques des globules rouges et de la concentration sur la dispersion des temps de transit.

## Abstract

Blood is a dense suspension of red blood cells (RBCs, about 50% in volume) which are highly deformable cells whose function is oxygen transport from lungs to organs. This gas exchange function in organs involves flow in a dense and ramified capillary network where several coupled phenomena lead to a complex traffic flow (organisation of RBCs in flow, rheology, separation at bifurcations). An essential parameter of microcirculation is the transit time of RBCs in an organ, that can be a limitation to diffusion and disponibility of oxygen and lead to non-optimal desaturation before leaving the microvascular network to reach the veinous system. Depending on mechanical properties of RBCs that can be modified by pathologies, and their en concentration, their transit time can vary in large proportions, and also be quite dispersed around the mean value for the same sample : some RBCs are faster than others. The mechanisms involved are the rheology of blood (the apparent viscosity varies with confinement in capillaries and RBC rigidity), and the hydrodynamic migration dispersion of RBCs due to interactions between cells and with vessel walls. This phenomenon can be qualitatively related to the well known phenomenon of Taylor dispersion of a solute in a channel and is also known for colloidal suspensions. Numerical simulations in the host team have revealed that the dispersion of average transit velocities of RBCs in a microcirculatory network was very sensitive to the mechanical properties of cells, as well as their transverse spatial dispersion in the network. This thesis proposes to explore several aspects of RBC dispersion in different model situations. The first chapter will be dedicated to the study of the transverse migration of RBCs from the walls towards the center of the canal in a very diluted medium, in fact this phenomenon plays a very important role in the establishment of a depletion layer at the walls. The second chapter will be dedicated to the study of structuration dynamics observed in flows, the idea is to measure the evolution of the concentration profile of RBCs along a rectilinear canal after a T intersection. chapter will focus on the evolution of a bolus of RBCs in a rectilinear pseudo-2D channel, it dynamic to observe the influence of the mechanical properties of red blood cells and concentration on the dispersion of transit time.



