ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2007 - Thèse n° 59

EFFET DU POURCENTAGE D'OXYGÈNE INHALÉ SUR LA VISCOSITÉ SANGUINE, LA PERFUSION ET L'OXYGÉNATION MUSCULAIRES DU CHEVAL SOUS ANESTHÉSIE VOLATILE

THÈSE

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 28 Septembre 2007
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

DUCIMETIÈRE Isabelle
Née le 27 Juillet 1982
à Ambilly (Haute-Savoie)

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Année 2007 - Thèse n°

EFFET DU POURCENTAGE D'OXYGÈNE INHALÉ SUR LA VISCOSITÉ SANGUINE, LA PERFUSION ET L'OXYGÉNATION MUSCULAIRES DU CHEVAL SOUS ANESTHÉSIE VOLATILE

THÈSE

Présentée à l'UNIVERSITÉ CLAUDE-BERNARD - LYON I
(Médecine - Pharmacie)
et soutenue publiquement le 28 Septembre 2007
pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

DUCIMETIÈRE Isabelle
Née le 27 Juillet 1982
à Ambilly (Haute-Savoie)

DEPARTEMENT ET CORPS ENSEIGNANT DE L'ENVL

Directeur : Stéphane MARTINOT

Mise à jour : 02/01/2007

	PR EX	PR 1	PR 2	MC	Contractuel, Associé, IPAC et ISPV	AERC	Chargés de consultations et d'enseignement
DEPARTEMENT SANTE PUBLIQUE VETERINAIRE							
Microbiologie, Immunologie, Pathologie Générale	Y. RICHARD		A. KODJO	V. GUERIN-FAUBLEE D. GREZEL			
Pathologie infectieuse			A. LACHERETZ M. ARTOIS	J. VIALARD			
Parasitologie et Maladies Parasitaires	MC. CHAUVE	G. BOURDOISEAU		MP. CALLAIT CARDINAL L. ZENNER			
Qualité et Sécurité des Aliments			P. DEMONT C. VERNOZY	A. GONTHIER S. COLARDELLE			
Législation et Jurisprudence			A. LACHERETZ				
Bio-informatique - Bio-statistique				P. SABATIER ML. DELIGNETTE K. CHALVET-MONFRAY			
DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie			T. ROGER	S. SAWAYA	C. BOULOCHER ME DUCLOS		
Chirurgie et Anesthésiologie		JP. GENEVOIS	D. FAU E.VIGUIER D. REMY		S. JUNOT (MCC) K. PORTIER (MCC) C. DECOSNE-JUNOT (MCC)	C.CAROZZO	
Anatomie-pathologique/Dermatologie-Cancérologie			C. FLEURY	T. MARCHAL	P. BELLI D. PIN		
Hématologie		C. FOURNEL			D. WATRELOT-VIRIEUX (MCC)		
Médecine interne		JL. CADORE		L. CHABANNE F. PONCE M. HUGONNARD C.ESCRIOU			I. BUBLOT
Imagerie Médicale					J. SONET (MCC)		
DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES							
Zootechnie, Ethologie et Economie Rurale		M. FRANCK		L. MOUNIER			
Nutrition et Alimentation				D. GRANCHER L. ALVES DE OLIVEIRA G. EGRON			
Biologie et Pathologie de Reproduction		F. BADINAND	M. RACHAIL-BRETIN	S. BUFF P. GUERIN	A. C. LEFRANC		
Pathologie Animaux de Production		P. BEZILLE	T. ALOGNINOUWA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND			G. LESOBRE P. DEBARNOT D. LAURENT
DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES							
Physiologie/Thérapeutique				J.J. THIEBAULT J.M. BONNET-GARIN			
Biophysique/Biochimie		E. BENOIT F. GARNIER		T. BURONFOSSE			
Génétique et Biologie moléculaire			F. GRAIN	V. LAMBERT			
Pharmacie/Toxicologie Législation du Médicament		G. KECK	P. JAUSSAUD P. BERNY				
Langues					C. FARMER T. AVISON		
DEPARTEMENT HIPPIQUE							
Pathologie équine		JL. CADORE		A. BENAMOU-SMITH			
Clinique équine		O. LEPAGE		A. LEBLOND	M. GLANGL		

Remerciements

A Monsieur le Professeur Claude GHARIB

Professeur à la Faculté de Médecine de Lyon,

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de nos hommages respectueux.

A Madame le Docteur Jeanne-Marie BONNET-GARIN

Maître de Conférence à l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

Qui nous a aidés, par sa disponibilité, ses conseils avisés et ses précieuses corrections, à réaliser ce projet.

Qu'elle trouve ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORÉ

Professeur à l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

Qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury de thèse.

Qu'il trouve ici l'assurance de notre gratitude et de notre profond respect.

A Madame le Docteur Karine PORTIER

Maître de Conférence à l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,

Qui nous a proposé ce sujet et nous a accompagnés tout au long de notre travail.

Qu'elle trouve ici l'expression de nos remerciements et de notre parfaite considération.

Au service d'imagerie médicale de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon et particulièrement à Mademoiselle le Docteur Emilie SÉGARD,

pour le prêt de l'Aloka α 10 et la réalisation des mesures de la perfusion musculaire.

Sincères remerciements.

A Mesdemoiselles Anaïs MICHON et Patricia ABELOUS, et à Messieurs les Docteurs Franck CROISIER et Erwan MARTIN,

pour leur précieuse aide lors des expérimentations.

Sincères remerciements.

A HAMAMATSU Photonics Allemagne et particulièrement à Monsieur SCHLEINKOFER,

pour le prêt du NIRO-200 utilisé dans cette étude et le soutien technique apporté.

Sincères remerciements.

Au Professeur DEBOUZY du CRSSA (Centre de Recherche de Santé du Service des Armées) de Grenoble,

pour le prêt du viscosimètre utilisé dans cette étude.

Sincères remerciements.

SOMMAIRE

LISTE DES FIGURES **14**
LISTE DES TABLEAUX **17**
ABRÉVIATIONS **18**

INTRODUCTION **19**

Etude bibliographique **21**

I . La viscosité sanguine **23**

A. Quelques définitions préalables **23**
1. Qu'est-ce que la viscosité d'un fluide ? 23
2. La viscosité est un rapport entre une contrainte de cisaillement et un taux de cisaillement 23
3. On peut définir plusieurs types de viscosité 24
   a. Viscosité apparente ou dynamique *24*
   b. Viscosité cinématique *25*
   c. Viscosité relative *25*
4. Le sang est un fluide non newtonien dont la viscosité diminue avec le taux de cisaillement 25
   a. Le flux sanguin peut être modélisé comme un flux laminaire *25*
   b. Le sang est un fluide non newtonien *26*
   c. Le sang est un fluide rhéofluidifiant *27*

B. Le sang est un fluide dont le comportement et la viscosité dépendent principalement de ses cellules **28**
1. Le taux d'hématocrite est un des déterminants principaux de la viscosité 28
   a. Le taux d'hématocrite est directement corrélé à la viscosité sanguine *28*
   b. Le taux d'hématocrite du cheval est parfois élevé *29*
2. La déformabilité des globules rouges permet de fluidifier le sang 30
   a. La déformabilité des globules rouges dépend de leur composition et de leur morphologie *31*
   b. Des érythrocytes plus rigides rendent le sang plus visqueux *33*
   c. Le cheval possède des globules rouges peu flexibles *34*
3. L'agrégabilité des globules rouges rend le sang plus visqueux 34
   a. Le mécanisme d'agrégation des globules rouges est encore mal compris *35*
   b. Une agrégabilité accrue des érythrocytes augmente la viscosité du sang *36*
   c. Le cheval possède un sang physiologiquement hyperagrégé *37*

4. La concentration en protéines totales influence également la viscosité sanguine 39
5. Les leucocytes, les plaquettes et les variations de température ont peu d'effets sur la viscosité sanguine dans des conditions physiologiques 40
6. Le sang du cheval présente à bas taux de cisaillement une viscosité plus élevée que celle de nombreuses autres espèces animales 41

C. La viscosité sanguine se mesure à l'aide de différents types de viscosimètres 43
1. Viscosimètre rotatif à cylindres coaxiaux ou viscosimètre de type Couette..... 43
2. Viscosimètre d'Ostwald 43
3. Viscosimètre à chute de bille ou viscosimètre d'Hoepler 44

II. Des fluctuations de la viscosité sanguine peuvent entraîner des variations de la perfusion tissulaire 47

A. L'écoulement sanguin dans les vaisseaux dépend en partie de la viscosité du sang 47
1. La loi de Poiseuille permet de calculer le débit d'un fluide dans un tube en fonction de sa viscosité..... 47
2. La nature de l'écoulement d'un fluide est déterminée par le nombre de Reynolds qui tient compte de la viscosité du fluide 48
3. Les variations du taux de cisaillement vont affecter la viscosité sanguine, donc l'écoulement du sang..... 49

B. La perfusion dans la macrocirculation..... 50
1. Le flux sanguin se comporte différemment dans les veines et dans les artères..... 50
2. Les globules rouges subissent une migration axiale dans les vaisseaux plus petits ... 51
3. Les phénomènes vasomoteurs permettent d'adapter le flux sanguin à la demande tissulaire 52

C. La perfusion dans la microcirculation 52
1. Le réseau microcirculatoire est composé de vaisseaux dont le diamètre et les capacités d'adaptation au flux varient..... 52
2. Les effets Fahraeus et Fahraeus-Lindqvist décrivent une diminution de l'hématocrite et de la viscosité sanguine parallèlement au diamètre vasculaire 54
3. La déformabilité des globules rouges permet la perfusion des capillaires les plus fins 57
4. L'agrégabilité des érythrocytes est un facteur important de la perfusion dans la microcirculation 58
   a. L'agrégabilité est un des mécanismes régulateurs de la microcirculation..... 58
   b. L'agrégabilité peut cependant compromettre la perfusion dans la microcirculation 58
   c. La viscosité plasmatique, les leucocytes et les plaquettes peuvent jouer un rôle important dans la perfusion tissulaire 60
   d. Le cheval, dont la viscosité sanguine est élevée, est pourtant doté d'une importante perfusion tissulaire..... 61

D. Le Doppler couleur est une méthode de mesure efficace de la perfusion tissulaire 62
1. Principe de l'effet Doppler 62
2. Le Doppler couleur s'appuie sur le principe du Doppler pulsé 64
a. Principe du Doppler pulsé 64
b. Principe du Doppler couleur 65
3. Artefacts et sources d'erreurs 66
a. Ambiguïté en fréquence : Phénomène d'Aliasing 66
b. Ambiguïté en profondeur 66
4. Applications pratiques : mesures des vitesses et des débits 67
a. Mesure des vitesses 67
b. Mesure des débits 68

III. L'oxygénation musculaire est influencée par les variations de la perfusion et de la FiO_2 70

A. La perfusion est un facteur déterminant le transport de l'oxygène par les globules rouges vers les tissus 70

B. Les variations de la FiO_2 influencent l'oxygénation musculaire 71
1. La FiO_2 et la PaO_2 varient souvent de façon proportionnelle 71
2. La PaO_2 est un déterminant de la saturation de l'hémoglobine 72
a. La dissociation de l'hémoglobine dépend de la PaO_2 et de la SpO_2 72
b. L'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène peut également varier sous l'action d'autres paramètres sanguins 74
(1) Effet Bohr 74
(2) Effet du 2,3 diphosphoglycérate 74
(3) Déplacement de la courbe de dissociation à gauche 75
(4) Déplacement de la courbe à droite 76
(5) Baisse de la capacité de fixation de l'hémoglobine 77
3. Une hyperoxémie semble conduire à une diminution de la perfusion et, consécutivement, de l'oxygénation tissulaires 77

C. L'oxygénation musculaire peut se mesurer grâce à la spectroscopie dans le proche infrarouge 79
1. La méthode NIRS s'appuie sur l'absorption par les tissus de la lumière dans le proche infrarouge 79
2. Le principe NIRS repose sur des lois physiques comme la loi de Beer-Lambert 80
a. Loi de Beer-Lambert 80
b. Loi de Beer-Lambert modifiée 81
c. Spatial Resolved Spectroscopy 81

Etude expérimentale **85**

Introduction **87**

Contexte scientifique **87**
Objectif **87**
Principe de l'expérimentation **87**

I. Sujets, matériels et méthodes **87**

A. Sujets **88**

B. Tirage au sort de l'ordre de passage **88**

C. Matériels et méthodes **88**
1. Protocole anesthésique 88
2. Protocole expérimental 89
3. Paramètres étudiés 90
a. Paramètres monitorés en continu *90*
b. Etude des paramètres sanguins *90*
(1) Gaz sanguins 90
(2) Hématocrite et protéines totales 90
c. Viscosité sur sang total *91*
d. Perfusion musculaire *92*
e. Oxygénation musculaire *94*
3. Analyses statistiques 96

II. Résultats **98**

A. Paramètres sanguins de contrôle **98**
1. Pression partielle en dioxygène dans le sang artériel (PaO_2) 98
2. Saturation artérielle de l'hémoglobine en dioxygène (SpO_2) 99
3. Pression partielle artérielle en dioxyde de carbone ($PaCO_2$) 100
4. Taux d'hématocrite et concentration en hémoglobine 101
5. Pression artérielle moyenne (PA) 101
6. Concentration en protéines totales (PT) 102

B. Viscosité sanguine **103**

C. Perfusion musculaire **105**
1. Diamètre de l'artériole 105
2. Vitesse du flux sanguin 105
3. Débit sanguin 106

D. Oxygénation musculaire **107**
1. Hémoglobines oxygénée, désoxygénée et totale 107
a. Pour une $FiO_2 = 0,21$ 107
b. Pour une $FiO_2 = 1$ 108
c. Comparaison entre les deux traitements 110
2. TOI 110
3. THI 111

III. Discussion des résultats **113**

A. Viscosité sanguine **113**

B. Perfusion musculaire **115**

C. Oxygénation musculaire **117**

CONCLUSION **121**

BIBLIOGRAPHIE **123**

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Création d'un cisaillement au sein d'un fluide entre deux plaques *23*

Figure 2 : Courbe parabolique des vitesses dans un tube *25*

Figure 3 : Effet du taux de cisaillement sur la viscosité dynamique des fluides *26*

Figure 4 : Comportement des différentes classes de fluides en fonction du cisaillement *27*

Figure 5 : Viscosité relative du sang total et du plasma en fonction de l'hématocrite *29*

Figure 6 : Orientation des globules rouges dans un flux sanguin allant de gauche à droite . *31*

Figure 7 : Globules rouges en microscopie électronique à balayage *32*

Figure 8 : Globules rouges en rouleau dans un vaisseau sanguin (A), détail (B). *35*

Figure 9 : Viscosité dynamique du sang en fonction du taux de cisaillement et des propriétés érythrocytaires *37*

Figure 10 : Frottis sanguin d'un cheval *38*

Figure 11 : Viscosimètre rotatif *43*

Figure 12 : Viscosimètre à chute de bille *44*

Figure 13 : Loi de Poiseuille illustrée *47*

Figure 14 : Nombre de Reynolds *48*

Figure 15 : Evolution de l'écoulement du fluide selon la valeur du nombre de Reynolds *48*

Figure 16 : Variation du taux de cisaillement des grandes artérioles aux grandes veinules .. *49*

Figure 17 : Représentation du flux sanguin à l'intérieur d'un vaisseau *50*

Figure 18 : Architecture du réseau microcirculatoire *53*

Figure 19 : Variation de la viscosité sanguine et de la vitesse moyenne du flux sanguin dans la circulation sanguine des grandes artérioles aux grandes veinules *54*

Figure 20 : Evolution de l'hématocrite en fonction du diamètre vasculaire : Effet Fahraeus *55*

Figure 21 : Evolution de la viscosité relative en fonction du diamètre vasculaire : Effet Fahraeus-Lindqvist *55*

Figure 22 : Schématisation du flux sanguin dans un vaisseau de petit diamètre *56*

Figure 23 : Evolution de la viscosité apparente du sang en fonction de l'hématocrite dans des vaisseaux de différents diamètres *57*

Figure 24 : Agrégats de globules rouges dans des capillaires *59*

Figure 25 : Schématisation de l'effet Doppler selon le mouvement de la cible *63*

Figure 26 : Schématisation de l'angle Doppler *64*

Figure 27 : Relation entre l'hématocrite et la quantité d'oxygène délivrée aux tissus *71*

Figure 28 : Evolution de la PaO_2 théorique prévisible en fonction de la FiO_2 ..... *71*

Figure 29 : Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine de différentes espèces *73*

Figure 30 : Déviation à gauche de la courbe de dissociation de l'hémoglobine *75*

Figure 31 : Déviation à droite de la courbe de dissociation de l'hémoglobine *76*

Figure 32 : Baisse de la capacité de fixation de l'hémoglobine *77*

Figure 33 : Spectre d'absorption des hémoglobines oxygénée et désoxygénée en fonction de la longueur d'onde de la lumière utilisée *80*

Figure 34 : Schématisation de la traversée d'une solution par une lumière *80*

Figure 35 : Détection de la lumière après son parcours dans les tissus par deux récepteurs *82*

Figure 36 : Viscosimètre à chute de bille B 3.1 ..... *91*

Figure 37 : Aloka® α 10 ..... *92*

Figure 38 : Positionnement des points A et B sur le vaisseau et profil des vitesses *93*

Figure 39 : Exemple d'image obtenue en Doppler couleur lors de l'expérimentation *94*

Figure 40 : Moniteur NIRO-200 ..... *94*

Figure 41 : Optodes du NIRO-200 ..... *95*

Figure 42 : Protocole expérimental schématisé *97*

Figure 43 : Evolution de la PaO_2 ..... *99*

Figure 44 : Evolution de la SpO_2 ..... *100*

Figure 45 : Evolution de la $PaCO_2$ *100*

Figure 46 : Evolution de la pression artérielle entre T0 et T1 ..... *102*

Figure 47 : Evolution de la concentration en protéines totales *102*

Figure 48 : Evolution de la viscosité sanguine entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 1 ..... *103*

Figure 49 : Evolution des concentrations tissulaires en oxy- et désoxyhémoglobine (en µM) entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 0,21 ..... *107*

Figure 50 : Moyennes des valeurs d'HbO_2, HHb et cHb (en µM) relevées en continu pendant 1 heure et demie chez les 6 sujets lors de l'anesthésie sous 21 % d'oxygène *108*

Figure 51 : Evolution des concentrations tissulaires en oxy- et désoxyhémoglobine (en micromolaires) entre T0, T100 et T1 pour une FiO_2 de 1 ..... *109*

Figure 52 : Moyennes des valeurs d'HbO_2, HHb et cHb (en µM) relevées en continu pendant 1 heure et demie chez les 6 sujets lors de l'anesthésie sous 100 % d'oxygène *109*

Figure 53 : Evolution du TOI (en %) *110*

Figure 54 : Exemple de tracé obtenu lors d'une anesthésie sous 21 % d'oxygène (cheval 6169) *111*

Figure 55 : Evolution du THI (unité arbitraire) *112*

Figure 56 : Exemple de tracé obtenu lors d'une anesthésie sous 100 % d'oxygène (cheval 6194) *112*

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Pourcentage d'erreur par degré en fonction de l'angle Doppler *67*

Tableau 2 : Date et ordre de passage des chevaux, tirés au sort *88*

Tableau 3 : Récapitulatif des moyennes et écarts-types des paramètres sanguins étudiés à T0 et T1 ..... *104*

Tableau 4 : Evolution du diamètre du vaisseau sanguin étudié entre T0 et T1 ..... *105*

Tableau 5 : Evolution de la vitesse du flux sanguin dans l'artériole étudiée entre T0 et T1 *106*

Tableau 6 : Evolution du débit sanguin dans l'artériole étudiée entre T0 et T1 ..... *106*

ABRÉVIATIONS

2,3-DPG : 2,3 diphosphoglycérate

cHb : concentration en hémoglobine totale

CO_2 : dioxyde de carbone

cP : centipoise

ΔF : fréquence Doppler

ECG : électrocardiogramme

FiO_2 : fraction inspirée en oxygène

Fo : fréquence d'émission

Fr : fréquence de réception

HbO_2 : concentration en hémoglobine oxygénée

HHb : concentration en hémoglobine désoxygénée

mPa.s : milliPascal seconde

NIRS : Near-infrared Spectroscopy = Spectroscopie dans le proche infrarouge

P_{50} : pression de demi-saturation

PaO_2 : pression partielle artérielle en oxygène

$PaCO_2$: pression partielle artérielle en dioxyde de carbone

PCO_2 : pression partielle en dioxyde de carbone

PO_2 : pression partielle en oxygène

PRF : Pulse Repetition Frequency = Fréquence de répétition

PvO_2 : pression partielle veineuse en oxygène

SpO_2 : saturation de l'hémoglobine en oxygène

THI : Tissue Hemoglobin Index = Index d'Hémoglobine tissulaire

TOI : Tissue Oxygenation Index = Index d'oxygénation tissulaire

INTRODUCTION

L'oxygène est nécessaire à la vie de tout organisme, et de toutes les cellules qui le composent. Le globule rouge le transporte des alvéoles pulmonaires jusqu'aux tissus, en suspension dans un fluide mis en mouvement par le cœur : le sang.

Lors d'une anesthésie, les systèmes respiratoire et cardio-vasculaire sont déprimés. Or, le cheval est particulièrement sensible à l'hypoxémie et à l'hypercapnie pendant une anesthésie. Il faut donc s'attacher à maintenir l'organisme dans un état s'approchant le plus possible des conditions physiologiques. Les muscles du cheval supportent mal un décubitus prolongé, car ils sont souvent hypoperfusés. Cette mauvaise perfusion musculaire est principalement due au poids important de l'animal qui va comprimer les muscles sur lesquels il est couché, et à l'hypotension fréquemment observée lors des anesthésies pratiquées sur cette espèce. Pour éviter un phénomène d'ischémie musculaire, des tables opératoires matelassées sont utilisées, l'évolution de la pression artérielle est surveillée et une administration de dobutamine en perfusion est réalisée si nécessaire. En décubitus, les poumons sont également comprimés, ce qui rend la ventilation du cheval difficile, avec la formation courante de shunts pulmonaires droite-gauche, voire d'atélectasie, pouvant compromettre une bonne diffusion des gaz entre les alvéoles et le sang. C'est pourquoi, le praticien doit souvent recourir à l'utilisation de fortes concentrations d'oxygène lors d'une anesthésie volatile chez le cheval pour obtenir une quantité d'oxygène dans le sang suffisante et une oxygénation correcte des tissus (Scicluna, 1995).

La toxicité de l'oxygène à fortes concentrations a été démontrée depuis longtemps. Des effets indésirables au niveau des poumons et du cerveau dus à une vasoconstriction intempestive ont été particulièrement rapportés. Il existe de nombreuses autres conséquences, encore peu explorées, liées à l'administration de hautes doses d'oxygène dans l'organisme.

En effet, plusieurs auteurs ont observé qu'une hyperoxémie pouvait provoquer, dans certaines conditions, un stress oxydant (Vento *et al.*, 2002 ; Phillips *et al.*, 2003 ; Haase *et al.*, 2004 ; Fokkelman *et al.* 2007), résultat d'un déséquilibre au sein de l'individu entre la production d'éléments oxydants -comme les radicaux libres- qui peut être augmentée, et les mécanismes de défense antioxydante enzymatique ou non, qui peuvent être diminués (Morena *et al.*, 2002).

Or, on sait qu'un stress oxydant peut affecter les acides nucléiques, les protéines et les lipides cellulaires (*ibid.*), et ainsi altérer, entre autres, les propriétés visco-élastiques du globule rouge, comme sa déformabilité et sa capacité d'agrégation (Baskurt *et al.*, 1998 ; Chung *et al.*, 1999), ces dernières intervenant largement dans la détermination de la viscosité sanguine. De plus, une viscosité sanguine élevée peut conduire à une mauvaise perfusion tissulaire, et par la suite, à une mauvaise oxygénation tissulaire. Un stress oxydant causé par une hyperoxémie pourrait ainsi compromettre la circulation du sang et l'apport d'oxygène dans le muscle du cheval.

Nous avons donc voulu déterminer les effets du taux d'oxygène inhalé sur la viscosité sanguine, et, par effet de cascade, sur la perfusion et l'oxygénation musculaires, lors d'une anesthésie volatile chez le cheval.

Dans une première partie bibliographique, nous exposerons les facteurs de variation de ces trois éléments et les méthodes de mesure des paramètres associés. Puis, nous détaillerons le protocole et les résultats de l'étude expérimentale préliminaire que nous avons menée pour répondre à notre interrogation. Enfin, nous interprèterons les données recueillies.

Première partie :

Etude bibliographique

I. La viscosité sanguine

A. Quelques définitions préalables

1. Qu'est-ce que la viscosité d'un fluide ?

La viscosité est une mesure de la résistance interne d'un fluide à l'écoulement, une mesure des frictions au sein du fluide. Plus les frictions sont importantes, plus la force nécessaire pour déplacer une couche du fluide par rapport à une couche adjacente est grande (Weiss, 2000). On lui oppose communément la fluidité. Ainsi, l'eau est "fluide", d'une viscosité faible, alors que les huiles végétales, par exemple, sont épaisses, d'une viscosité importante.

La viscosité d'un système est donc déterminée par le mode d'interaction des molécules qui le constituent.

2. La viscosité est un rapport entre une contrainte de cisaillement et un taux de cisaillement

Considérons un fluide situé entre deux plaques solides, parallèles, de surface S, séparées par une petite épaisseur x. La plaque inférieure est fixe tandis que la plaque supérieure est mobile (figure 1).

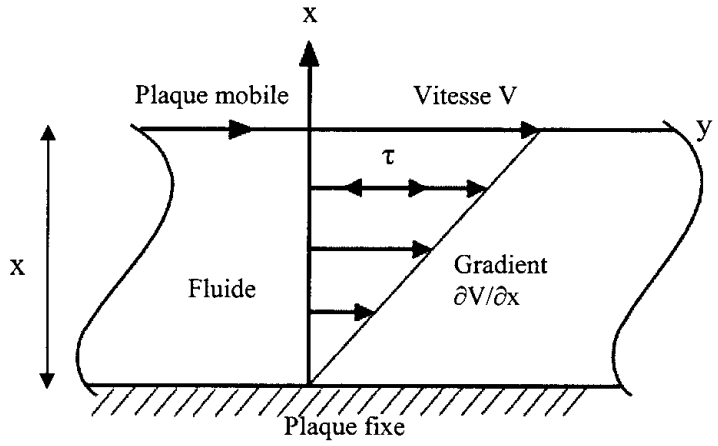


Figure 1 : Création d'un cisaillement au sein d'un fluide entre deux plaques (adapté de Wikipedia, en ligne)

Si on applique une force F à la plaque supérieure dans la direction y, on crée un flux entre les deux plaques : les différentes couches du fluide glissent les unes sur les autres. Les frottements entre le fluide et la plaque mobile (qui modélise une couche adjacente en train de bouger) créent un cisaillement au sein du fluide. Chaque élément de fluide est alors soumis à la contrainte tangentielle $\tau = F/S$, appelée contrainte de cisaillement τ (« shear stress »), en dyne/cm^2 (figure 1). Sous l'effet de cette contrainte, le fluide est mis en mouvement : sa vitesse au contact de la paroi supérieure est la vitesse V de la plaque, alors que sa vitesse au contact de la paroi inférieure est nulle (Rosselet, 1993).

Le cisaillement est donc le glissement de deux surfaces suivant le plan de la section qui les sépare sous l'action de deux forces parallèles, d'intensité différente, orientées dans le même sens. Un milieu soumis à une contrainte de cisaillement $\tau = F/S$ va se déformer en un certain temps : cette vitesse de déformation est appelée taux ou vitesse de cisaillement ou « shear rate ». Elle se définit par un gradient de vitesse $\partial V/\partial x$ (en seconde^{-1}) entre les différentes couches qui glissent les unes sur les autres où ∂V est la vitesse de la couche située à une distance ∂x de la paroi vasculaire. La relation entre la contrainte et le taux de cisaillement définit un coefficient de proportionnalité, la viscosité dynamique η du fluide (*ibid.*) :

$$\boxed{\tau = \eta . (\partial V/\partial x)}$$

3. On peut définir plusieurs types de viscosité

a. Viscosité apparente ou dynamique

La viscosité dynamique η est donc le rapport de la contrainte de cisaillement τ sur le taux de cisaillement $\partial V/\partial x$:

$$\boxed{\eta = \tau / (\partial V/\partial x)}$$

On utilise communément le milliPascal seconde (mPa.s) ou le centipoise (cP) comme unités de la viscosité dynamique (1 mPa.s = 1 cP). L'eau à 20°C a une viscosité apparente de 1mPa.s ou 1 cP (Baskurt & Meiselman, 2003).

b. Viscosité cinématique

Le rapport entre la viscosité dynamique η et la masse volumique du fluide ρ donne la viscosité cinématique du fluide ν (en Stokes) :

$$\boxed{\nu = \eta/\rho}$$

c. Viscosité relative

La viscosité relative du sang est le rapport de la viscosité dynamique du sang sur la viscosité d'un fluide newtonien (défini ci-après) : l'eau, parfois le plasma.

4. Le sang est un fluide non newtonien dont la viscosité diminue avec le taux de cisaillement

Le sang est un tissu conjonctif et, en tant que tel, il est constitué de cellules, de fibres et d'une substance fondamentale, le plasma. C'est donc un liquide dans lequel flottent des cellules en plus ou moins grand nombre : les globules rouges ou érythrocytes, les globules blancs ou leucocytes et les plaquettes sanguines ou thrombocytes.

a. Le flux sanguin peut être modélisé comme un flux laminaire

Dans le système vasculaire, la viscosité du sang n'est pas due aux seuls frottements du fluide contre les parois vasculaires mais également aux frottements entre ses couches adjacentes : les particules du sang, organisées en lames concentriques, se déplacent en glissant les unes sur les autres à une vitesse d'autant plus grande qu'elles sont proches du centre du vaisseau. On obtient ainsi une courbe parabolique de distribution des vitesses (figure 2) (Rosselet, 1993).

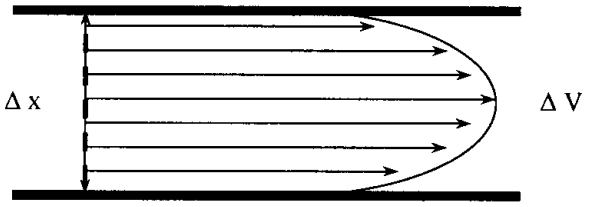


Figure 2 : Courbe parabolique des vitesses dans un tube
(Δx étant la variation d'épaisseur du fluide et ΔV la variation de vitesse au sein du fluide)

Ce type de comportement d'écoulement s'appelle le « flux laminaire » et s'observe quand le flux est assez lent et que la pression à l'intérieur du vaisseau est modérée. Quand le flux devient plus rapide, il a tendance à devenir turbulent. Lorsque la vitesse du sang et la pression sont faibles, on obtient un profil des vitesses aplati (Baskurt & Meiselman, 2003).

b. Le sang est un fluide non newtonien

Si un fluide présente une viscosité constante quelle que soit la valeur des contraintes ou de la vitesse de cisaillement appliquées, il est dit « newtonien » (figure 3). Par exemple, lorsqu'on tourne une cuillère dans un bol d'eau, la résistance à l'avancement ne change pas si on change la vitesse de rotation.
Si la viscosité d'un fluide varie selon les contraintes ou le taux de cisaillement appliqués, il est dit « non newtonien » (figure 3). Lorsqu'on remue de la peinture dans un pot, elle devient moins visqueuse si on la bat rapidement.

Un fluide non newtonien est donc un fluide pour lequel la viscosité change selon la vitesse de cisaillement appliquée, ce qui est le cas du sang (Baskurt, 2003).

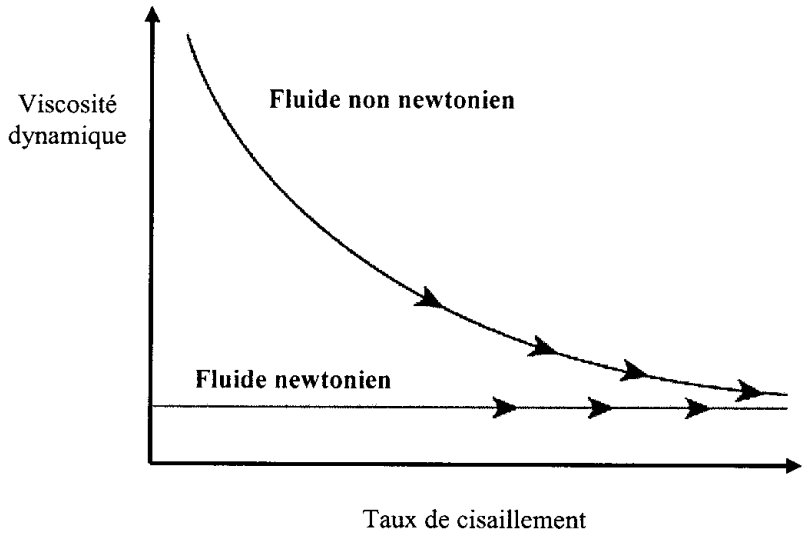


Figure 3 : Effet du taux de cisaillement sur la viscosité dynamique des fluides

Le sang est donc un fluide hétérogène et non newtonien. A l'inverse, le plasma est un fluide newtonien.

c. *Le sang est un fluide rhéofluidifiant*

La viscosité étant le rapport de la contrainte de cisaillement sur le taux de cisaillement, on peut tracer une courbe de ce rapport pour chaque classe de fluides. Pour un fluide newtonien, on obtient une droite passant par l'origine, dont la pente est égale à la viscosité dynamique (figure 4). Quand la courbe est quelconque, le fluide est non newtonien. Sa viscosité apparente peut augmenter (fluide rhéoépaississant) ou diminuer (fluide rhéofluidifiant) lorsque le taux de cisaillement augmente (figure 4) (Baskurt, 2003).

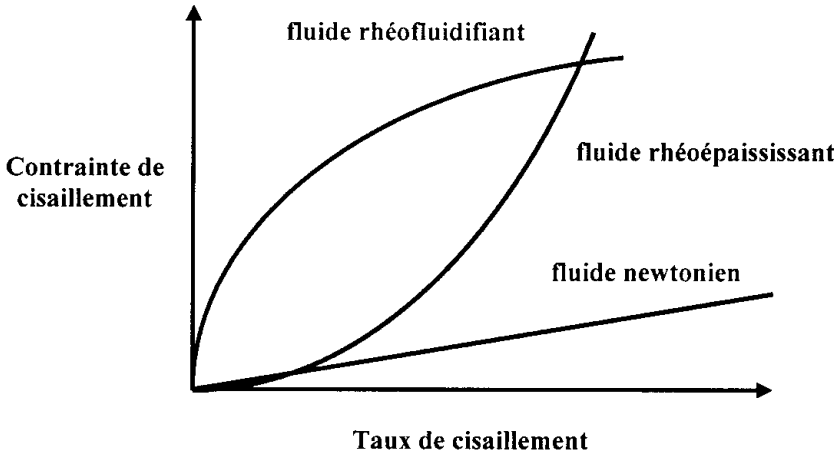


Figure 4 : Comportement des différentes classes de fluides en fonction du cisaillement

Le sang est un fluide dont la viscosité décroît lorsque le taux de cisaillement augmente. Ce phénomène est lié au fait que les globules rouges peuvent se déformer à hauts taux de cisaillement et s'agréger à bas taux de cisaillement (Weiss, 2000), comme nous le verrons plus tard.

En conclusion, le sang est un fluide non newtonien rhéofluidifiant. La viscosité apparente du sang dépend donc, entre autres, des forces de cisaillement en présence.

B. Le sang est un fluide dont le comportement et la viscosité dépendent principalement de ses cellules

Environ 40 % du volume total sanguin sont des cellules, dont 98 % sont des globules rouges. Il en découle que la viscosité sanguine dépend de nombreux facteurs plasmatiques, leucocytaires, plaquettaires, mais surtout érythrocytaires. Les globules rouges étant les éléments majoritaires des cellules sanguines, ils vont intervenir de façon déterminante dans les propriétés du sang : le comportement du sang est étroitement lié à celui des globules rouges.

1. Le taux d'hématocrite est un des déterminants principaux de la viscosité

Dans toutes les espèces, le sang apparaît comme une suspension très concentrée. La viscosité sanguine est environ quatre fois supérieure à celle de l'eau, notamment à cause de cette concentration cellulaire.

Dans les conditions de flux laminaire, la présence d'éléments figurés perturbe le profil hydrodynamique du flux. C'est une des raisons pour lesquelles la viscosité sanguine est plus élevée que la viscosité plasmatique. Cette perturbation du flux et sa contribution dans la viscosité du fluide peuvent être appréciées par le calcul de la viscosité relative qui correspond au rapport de la viscosité sanguine sur la viscosité plasmatique. Le degré de perturbation de l'hydrodynamique du flux et, par conséquent, la viscosité du sang, dépendent de la concentration en particules et de leur taille. Le volume occupé par les cellules du sang, appelé « hématocrite », semble donc être le facteur de variation principal de la viscosité sanguine (Baskurt & Meiselman, 2003).

a. Le taux d'hématocrite est directement corrélé à la viscosité sanguine

De nombreuses études ont démontré que la viscosité sanguine était directement corrélée à l'hématocrite, et ceci chez toutes les espèces animales. Dès le début du XXème siècle, on observe également une relation entre le volume total d'érythrocytes, la viscosité du plasma et la viscosité sanguine.

On tire de ces études une courbe montrant qu'en dessous de 40 % d'hématocrite, la relation viscosité/hématocrite est presque linéaire. En revanche, elle devient logarithmique au-dessus de 40 % d'hématocrite (figure 5).

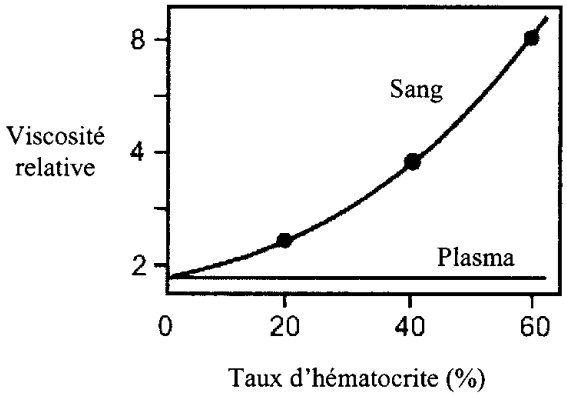


Figure 5 : Viscosité relative du sang total et du plasma en fonction de l'hématocrite (Klabunde, en ligne)

Une légère hausse du taux d'hématocrite, lorsqu'il est élevé (60 %), entraîne une augmentation marquée de la viscosité sanguine : par exemple, à moyens ou hauts taux de cisaillement, une augmentation de l'hématocrite de 1 % génère une élévation de la viscosité sanguine de 4 % (Baskurt & Meiselman, 2003).

La viscosité du sang total dépend plus du volume relatif qu'occupent les globules rouges que de leur taille ou de leur nombre seuls. Cependant, à basses vitesses de cisaillement, on s'aperçoit que la taille des globules rouges affecte la viscosité du sang (Stone *et al.*, 1968), en modifiant la déformabilité et l'hydrodynamique.

b. Le taux d'hématocrite du cheval est parfois élevé

Les globules rouges du cheval sont discoïdes, biconcaves et mesurent de 5 à 6 µm de diamètre, les vieux chevaux possédant des hématies plus grandes que les jeunes, pour un volume égal. Leur durée de vie varie de 140 à 155 jours. Ils présentent une anisocytose plus importante que ceux de n'importe quelle autre espèce (Kramer, 2000). En outre, le taux d'hématocrite est en moyenne de 32 à 46 % du volume sanguin total chez les chevaux (Windberger *et al.*, 2003).

La fourchette de leur taux d'hématocrite est large car on peut distinguer deux types de profil hématologique : d'une part, celui des chevaux pur sang et d'autre part, celui des chevaux de selle communs ou des chevaux de trait. Ainsi, les premiers présenteront un hématocrite beaucoup plus élevé que les autres : parfois jusqu'à 52 % au repos et 72 % lors d'une course ! (Weiss, 2000). De même, les chevaux pur sang possèdent physiologiquement un plus grand nombre d'érythrocytes, un volume sanguin total plus important, mais un volume érythrocytaire plus faible que les chevaux communs (Jain, 1993).

Lors d'un stress ou d'un exercice intense, la rate du cheval, énorme réservoir d'érythrocytes, injecte dans le sang circulant un grand nombre de globules rouges en quelques minutes (Kramer, 2000). Cette splénocontraction augmente très fortement, non seulement l'hématocrite de 18 à 55 %, mais aussi la viscosité sanguine de 60 à 250 %, ce qui peut induire une stase dans la microcirculation menant à des perturbations circulatoires régionales (Andrews *et al.*, 1992).

L'hématocrite des chevaux pouvant varier très rapidement, il est donc nécessaire que leur organisme possède des systèmes régulateurs ou compensateurs pour que la circulation sanguine ne soit pas altérée.

Ainsi, l'hématocrite n'est qu'un déterminant, certes important, de la viscosité sanguine. Il faut étudier de nombreux autres paramètres sanguins pour avoir une vision approchée de la fluidité du sang *in vivo*. En effet, même avec un taux d'hématocrite de 95 %, le sang continue à se comporter comme un liquide grâce au comportement des hématies (Schmid-Schönbein, 1981).

2. La déformabilité des globules rouges permet de fluidifier le sang

Lorsqu'on leur applique une contrainte, les globules rouges réagissent en changeant de forme. Le degré de déformation de l'érythrocyte en réponse à une pression est la « déformabilité ». Elle est fonction du degré et de l'orientation des contraintes subies.

a. La déformabilité des globules rouges dépend de leur composition et de leur morphologie

Dans la microcirculation, le globule rouge doit se déformer pour parcourir les plus petits capillaires. Dans les vaisseaux plus larges, il doit s'orienter selon la direction du flux pour optimiser l'hydrodynamique. Il prend alors des formes variées de parachutes ou de gouttes d'eau selon sa position dans le flux, tout en restant orienté parallèlement à l'axe du vaisseau (figure 6) (Rosselet, 1993).

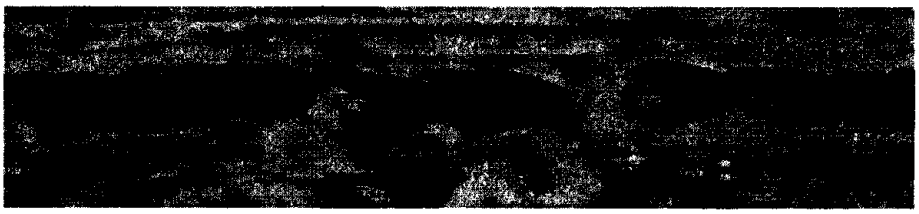


Figure 6 : Orientation des globules rouges dans un flux sanguin allant de gauche à droite Notez la forme de parachute améliorant l'hydrodynamique (Duranteau, en ligne).

Les globules rouges se comportent comme des corps élastiques : leurs déformations sont réversibles lorsque les contraintes sont levées. Ils ont également un comportement visqueux et sont donc considérés comme des corps visco-élastiques. Ces propriétés sont dues à leur bicouche lipidique membranaire, qui leur confère des propriétés visqueuses, et à leur cytosquelette qui permet leur élasticité tout en étant le responsable principal de leur forme de disque biconcave (Mohandas *et al.*, 1983).

La forme biconcave du globule rouge est l'élément essentiel à sa grande capacité de déformation (figure 7). En effet, cette forme lui confère un excès de surface par rapport à son volume.

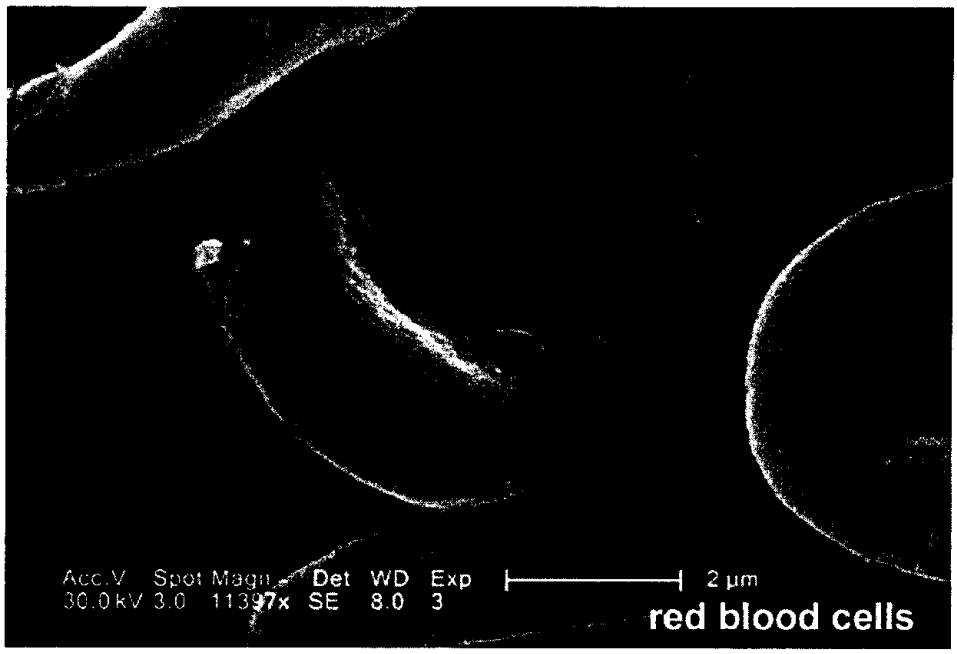


Figure 7 : Globules rouges en microscopie électronique à balayage
Notez la forme caractéristique de disque biconcave (Hill, en ligne).

Or, pour augmenter le volume d'une sphère, on doit augmenter sa surface. Le globule rouge, grâce à cet excès de surface, est très résistant aux augmentations de volume et de surface, autorisant la cellule à se déformer selon de nombreuses géométries (Mohandas & Chasis, 1993).

Les érythrocytes possèdent, en outre, la capacité de se déformer grâce à leur viscosité interne dépendant principalement de leur concentration corpusculaire en hémoglobine. Cette viscosité interne est affectée lorsque le globule rouge est surhydraté ou déshydraté. Dans ces deux cas, la déformabilité est amoindrie (Baskurt & Meiselman, 2003). Une diminution du pH, que l'on observe dans des tissus ischémiques, altère également la déformabilité des érythrocytes s'ils se retrouvent piégés dans ces tissus pendant une période prolongée (Kayar *et al.*, 2001).

Plusieurs études ont montré que des altérations de la composition lipidique membranaire du globule rouge n'avaient que des effets mineurs sur le comportement mécanique des cellules, alors que des altérations affectant les protéines du squelette membranaire entraînaient des conséquences majeures sur ce même comportement (Mohandas *et al.*, 1983 ; Mohandas & Chasis, 1993).

De plus, on observe fréquemment une relation entre l'augmentation de la concentration en calcium dans le cytosol et la diminution de la déformabilité des globules rouges : expérimentalement, on a démontré que le calcium cytosolique affectait la rigidité du cytosquelette et de la membrane (Shiga *et al.*, 1990 ; Friederichs & Meiselman, 1994). Une oxydation peut également induire des liaisons entre protéines de la membrane et jouer un rôle primordial dans la détérioration des propriétés mécaniques du globule rouge. Il a d'ailleurs été démontré qu'un stress oxydant diminuait la déformabilité des globules rouges (Baskurt *et al.* 1998 ; Baskurt & Meiselman, 1999). Par exemple, une oxygénation hyperbare intense provoque une modification de la morphologie des globules rouges (avec la formation d'échinocytes) et une diminution de leur déformabilité (Amin *et al.*, 1995b).

La déformabilité des globules rouges s'exprime au final de façon plus ou moins importante selon le taux de cisaillement, le diamètre du vaisseau parcouru, la viscosité du fluide autour de la cellule, la géométrie de la cellule (sa forme, sa taille et son ratio surface sur volume), son âge, la visco-élasticité de sa membrane et de son cytosquelette, sa viscosité interne (qui est six à huit fois plus élevée que celle de l'eau) et les propriétés physicochimiques de l'hémoglobine (Meiselman, 1981 ; Weiss, 2000 ; Windberger *et al.*, 2003).

b. Des érythrocytes plus rigides rendent le sang plus visqueux

A hauts taux de cisaillement, les agrégats de globules rouges sont détruits. Les érythrocytes s'orientent dans l'axe du flux sanguin et leur cytosquelette se réorganise. La capacité de déformation et d'orientation du globule rouge dans le flux sanguin permet donc, à hauts taux de cisaillement, de réduire les résistances hydrodynamiques et ainsi, la viscosité sanguine. A bas taux de cisaillement, la déformation des globules rouges favorise l'agrégabilité et permet de traverser les plus fins capillaires.

La déformabilité et la viscosité interne des érythrocytes jouent, en effet, un rôle très important dans la viscosité sanguine globale. A l'état normal, la viscosité du sang est déjà plus élevée que celle du plasma, mais en rigidifiant les globules rouges, on constate qu'elle augmente considérablement (Rosselet, 1993), surtout à hauts taux de cisaillement (figure 9).

Une augmentation de la déformabilité des globules rouges, observée par exemple en postopératoire chez l'homme, diminue la viscosité sanguine à hauts taux de cisaillement et augmente l'agrégabilité des globules rouges, donc la viscosité sanguine, à bas taux de cisaillement. Une diminution de la déformabilité des globules rouges va entraîner exactement l'inverse (figure 9) (Amin & Sirs, 1985).

c. Le cheval possède des globules rouges peu flexibles

Amin et Sirs, en 1985, observent que les érythrocytes du cheval sont très flexibles par rapport à ceux d'autres espèces. Les globules rouges du cheval possèdent cependant une concentration corpusculaire en hémoglobine élevée (Windberger *et al.*, 2003), ce qui leur confère une viscosité cytoplasmique importante et pourrait donc limiter leur déformabilité. Et, de fait, plusieurs auteurs ont découvert que les globules rouges équins sont peu flexibles, plus rigides que ceux de l'homme (Dintenfass & Fu-Lung, 1982 ; Baskurt *et al.*, 1997). L'index d'élongation des érythrocytes équins, reflet de leur déformabilité, est d'ailleurs de 10 % inférieur à celui des globules rouges canins (dont l'agrégabilité est moyenne) à hauts taux de cisaillement. En fait, les érythrocytes du cheval commencent à se déformer à des taux de cisaillement plus élevés que ceux du chien ou même du mouton (dont l'agrégabilité est faible) (Plasenzotti *et al.*, 2004). On s'aperçoit donc que la capacité d'agrégation n'est pas seulement liée à la déformabilité.

Les propriétés visco-élastiques du sang sont liées à la forme des globules rouges, à leur taille, à leur viscosité interne et à leur flexibilité qui permettent d'améliorer l'hydrodynamique grâce à une migration axiale dans le vaisseau et une orientation dans l'axe du flux sanguin, sur lesquelles nous reviendrons plus tard (Stone *et al.*, 1968). Ces propriétés mécaniques de l'érythrocyte peuvent être altérées par des affections génétiques (comme la drépanocytose chez l'homme), par un métabolisme tissulaire localisé anormal ou encore par un stress oxydant (Baskurt *et al.*, 1998 ; Baskurt & Meiselman, 1999).

3. L'agrégabilité des globules rouges rend le sang plus visqueux

Les globules rouges s'empilent parfois dans les vaisseaux et forment ce que l'on appelle des rouleaux (figure 8, A et B). Cette capacité à s'agréger s'observe surtout dans la circulation veineuse lorsque la vitesse de cisaillement est faible. Quand la vitesse de

cisaillement augmente, dans la circulation artérielle par exemple, les rouleaux se désagrègent (Chien *et al.*, 1970).

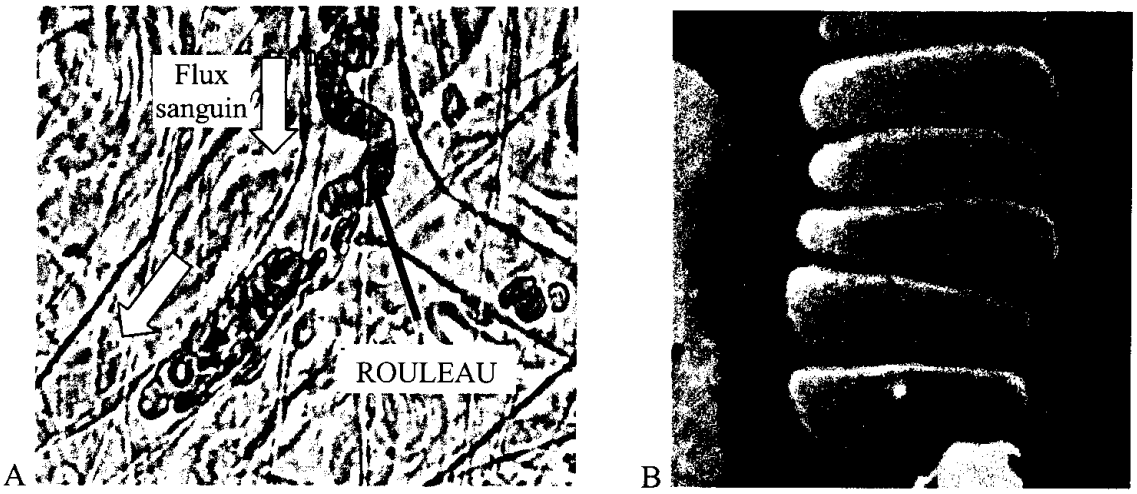


Figure 8 : Globules rouges en rouleau dans un vaisseau sanguin (A), détail (B). Les flèches blanches indiquent le sens du flux sanguin (Microcirculation Laboratory, en ligne)

Ces rouleaux peuvent former dans un second temps de véritables agrégats, dans lesquels on observe du plasma retenu entre les érythrocytes empilés (Rosselet, 1993). L'agrégation des globules rouges peut alors conduire à une pression sanguine élevée dans les capillaires, voire à leur rupture ou à une ischémie tissulaire (Weiss, 2000). Le phénomène est cependant réversible dans des conditions physiologiques et mettrait en jeu la capacité de déformation des érythrocytes et des protéines comme le fibrinogène et les globulines (Quemada *et al.*, 1993).

a. Le mécanisme d'agrégation des globules rouges est encore mal compris

Le processus d'agrégation résulte d'un équilibre entre les forces d'agrégation et de dispersion. Les forces de dispersion incluent les contraintes de cisaillement du fluide, les forces de répulsion électrostatiques entre cellules et l'énergie élastique de la membrane cellulaire. Deux modèles tentent actuellement d'expliquer le phénomène d'agrégation. Le modèle des « ponts » repose sur la présence de forces de liaison dues à l'adsorption de macromolécules par la surface membranaire de cellules adjacentes, forces qui surpasseraient celles de dispersion, notamment la répulsion électrostatique inter-érythrocytes naturelle (Chien *et al.*, 1970). Le modèle d'exclusion, au contraire, se base sur l'absence de

macromolécules à la surface du globule rouge. En s'éloignant des érythrocytes, elles génèreraient un gradient osmotique et un mouvement de fluide, « emportant » du plasma avec elles hors de l'espace intercellulaire et diminuant l'affinité cellules - plasma. Les globules rouges seraient alors attirés les uns vers les autres. Ainsi, on ne connaît pas encore la nature exacte des forces d'agrégation ; le modèle d'exclusion est cependant la théorie retenue par de récentes études (Baskurt *et al.*, 2002).

La concentration en fibrinogène plasmatique semble être le plus important déterminant plasmatique de l'agrégabilité (Chien *et al.*, 1970), mais les études sur la mise en évidence d'une adsorption à la surface des érythrocytes n'ont pas abouti à cause d'artefacts lors des expérimentations. Les propriétés cellulaires des globules rouges jouent aussi un rôle important dans l'agrégation (Baskurt *et al.*, 1997), notamment la déformabilité qui permet aux érythrocytes de s'empiler les uns sur les autres et des facteurs membranaires encore inconnus.

Ainsi, il semble que l'agrégation des globules rouges soit influencée par la vitesse de cisaillement, des facteurs plasmatiques (fibrinogène, dextrans, autres protéines...), des facteurs géométriques (déformabilité et volume des érythrocytes, par exemple), la charge à la surface des globules rouges et la composition de la membrane et du cytosquelette de l'érythrocyte (Windberger *et al.*, 2003). L'agrégabilité des globules rouges peut aussi être perturbée par des modifications des propriétés de leur surface membranaire causées par le vieillissement de la cellule ou par les radicaux libres libérés lors d'un stress oxydant (Baskurt *et al.*, 1998 ; Baskurt & Meiselman, 1999).

b. Une agrégabilité accrue des érythrocytes augmente la viscosité du sang

La capacité des globules rouges à s'agréger est un facteur important de la viscosité apparente car la taille des agrégats d'érythrocytes est inversement proportionnelle à l'importance des forces de cisaillement ; les agrégats sont détruits quand ces dernières augmentent et se reforment lorsque le flux sanguin est lent, voire statique (figure 9). Ainsi, l'agrégabilité des globules rouges affecte la viscosité sanguine principalement dans des régions du système circulatoire soumises à de faibles pressions de cisaillement (Chien *et al.*, 1970).

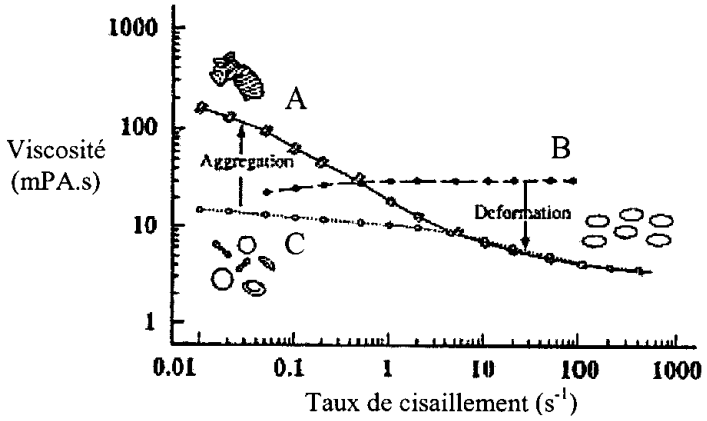


Figure 9 : Viscosité dynamique du sang en fonction du taux de cisaillement et des propriétés érythrocytaires

A : déformabilité et agrégabilité non modifiées ; B : globules rouges rigidifiés, et agrégabilité réduite ; C : déformabilité conservée, mais agrégabilité réduite.

La différence entre les sangs A et C montre l'influence de l'agrégation sur la viscosité sanguine ; celle entre les sangs B et C montre l'impact de la déformation des globules rouges sur la viscosité sanguine. (adapté de Chien *et al.*, 1970)

Les globules rouges agrégés représentent, en effet, une masse peu déformable (ce qui augmente les frottements internes au sang), d'un volume important car une certaine quantité de plasma est piégée entre les érythrocytes empilés. Cette augmentation du volume occupé par les particules entraîne une élévation de la concentration du sang, du degré de turbulences et de frottements dans le fluide. Une hyperagrégation érythrocytaire tend donc à augmenter la viscosité sanguine (*ibid.*).

c. Le cheval possède un sang physiologiquement hyperagrégé

Le sang du cheval montre un taux de sédimentation érythrocytaire physiologiquement plus élevé que chez les autres espèces, résultant de la présence très fréquente de rouleaux dans le sang de cet animal (figure 10) (Kramer, 2000). A taux de cisaillement bas, la viscosité sanguine du cheval pour un hématocrite de 60 % est quatre à cinq fois plus élevée que pour un hématocrite de 40 % ; à taux de cisaillement hauts, elle n'est plus que deux fois plus élevée. L'agrégabilité importante des globules rouges du cheval explique cette observation (Weiss, 2000).

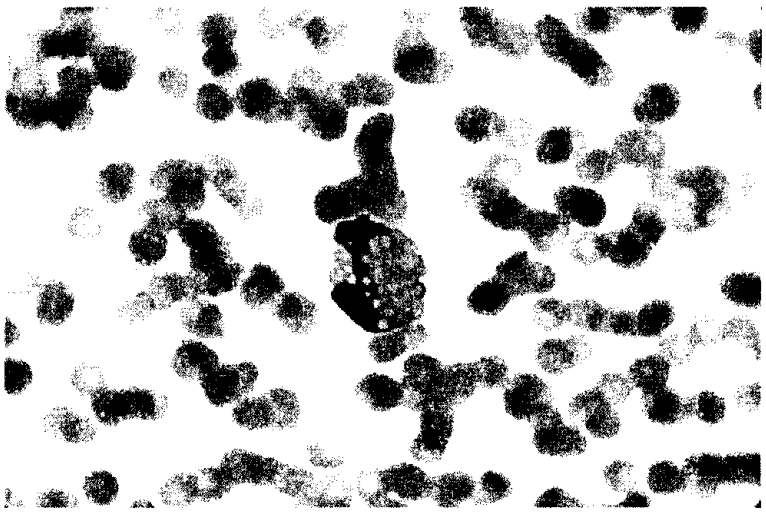


Figure 10 : Frottis sanguin d'un cheval

Coloration Wright-Giemsa, grossissement x100 en immersion : on peut remarquer la présence de très nombreux rouleaux d'érythrocytes, ce qui n'est pas pathologique dans cette espèce. Un éosinophile est présent au centre (Harvey, en ligne).

La formation accrue de rouleaux chez le cheval est encore un phénomène incomplètement compris.

Le fibrinogène, des protéines plasmatiques inconnues et des facteurs membranaires érythrocytaires pourraient être à l'origine de cette agrégabilité importante (Kramer, 2000). En effet, on remarque que le taux de sédimentation érythrocytaire du cheval est proportionnellement lié à la concentration en fibrinogène plasmatique, à la viscosité plasmatique et au taux de globulines totales sériques. La molécule de fibrinogène possède, chez le cheval, une masse 40 % plus importante que chez d'autres espèces comme l'homme, le chien ou les petits ruminants. Cette grande taille de la molécule pourrait expliquer, en partie, la grande capacité d'agrégation des globules rouges chez le cheval (Andrews *et al.*, 1992). Cependant, les valeurs de référence pour la concentration en fibrinogène plasmatique chez le cheval sont en moyenne de 1,5 à 3,3 $g.L^{-1}$, ce qui en fait une espèce possédant une concentration en fibrinogène plasmatique basse. Or, on observe que les espèces dont l'agrégation érythrocytaire est élevée ont une concentration en fibrinogène basse (Windberger *et al.*, 2003). De plus, lors de maladies inflammatoires induisant une élévation notable de la concentration en fibrinogène, le taux de sédimentation érythrocytaire est souvent diminué chez le cheval, alors que, dans les mêmes conditions, il est plutôt augmenté dans le sang des autres espèces. La sédimentation des érythrocytes équins semblerait donc ralentie par l'inflammation (Jain, 1993). Enfin, Baskurt *et al.*, en 1997, ont montré que l'agrégabilité des érythrocytes équins est toujours importante dans un milieu standardisé sans protéines de

l'agrégation. Les protéines plasmatiques et le fibrinogène ne semblent donc pas être les facteurs de l'agrégabilité élevée des globules rouges du cheval.

Amin et Sirs, en 1985, émettaient l'hypothèse que l'agrégation des érythrocytes équins était favorisée par une très bonne déformabilité des globules rouges. Cependant, comme nous l'avons vu plus haut, d'autres auteurs ont montré que les érythrocytes du cheval étaient peu flexibles par rapport aux autres espèces (Dintenfass & Fu-Lung, 1982 ; Baskurt *et al.* 1997). Il reste donc à déterminer clairement les mécanismes et les éléments à l'origine de l'agrégabilité accrue des globules rouges équins.

Comme nous l'avons vu, la déformabilité est, avec la capacité d'empilement, une caractéristique importante intervenant dans la dynamique de l'écoulement sanguin. Or, des études récentes ont établi que des globules rouges oxydés auraient plus tendance à former des agrégats, élevant ainsi la viscosité sanguine à bas taux de cisaillement (Chung *et al.*, 1999) et qu'un stress oxydant augmenterait l'agrégation et diminuerait la déformabilité des érythrocytes du cheval (Baskurt *et al.*, 1998). Un stress oxydant pourrait donc conduire à une hausse de la viscosité sanguine.

4. La concentration en protéines totales influence également la viscosité sanguine

Le plasma est une solution aqueuse contenant en suspension divers sels inorganiques (chlorure de sodium essentiellement) ainsi que des composés organiques (urée, protéines, lipides, glucides...). La nature et la concentration des protéines plasmatiques sont très variables d'un groupe zoologique à l'autre. La viscosité plasmatique dépend principalement de la concentration en protéines dans le plasma.

Une augmentation de la viscosité plasmatique entraîne une hausse de la viscosité sanguine (Windberger *et al.*, 2003). Une forte corrélation existe entre la viscosité sanguine et la concentration en protéines plasmatiques : de hautes concentrations en protéines dans le sang entraînent une forte augmentation de la viscosité sanguine (Andrews *et al.*, 1992).

Cependant, non seulement la concentration en protéines, mais aussi la composition protéique du plasma contribuent à sa viscosité. En effet, la concentration en protéines totales est le facteur principal de la viscosité plasmatique ; toutefois, certaines protéines sont proportionnellement plus influentes que d'autres. Le fibrinogène possède la plus grande

viscosité intrinsèque de toutes les protéines plasmatiques. Les immunoglobulines M, à cause de leur grande taille, ont la plus grande viscosité intrinsèque de toutes les immunoglobulines. Une hyperglobulinémie peut ainsi entraîner une hyperviscosité lors de certaines maladies (Weiss, 2000). L'albumine a, pour sa part, un très faible effet rhéologique (Chien *et al.*, 1970).

La concentration en fibrinogène plasmatique est proportionnellement corrélée à la viscosité sanguine pour un hématocrite haut (60 %), sauf pour de hauts taux de cisaillement, où les agrégats de globules rouges sont dispersés. La viscosité sanguine augmente lorsque la concentration en fibrinogène plasmatique est très élevée (Andrews *et al.*, 1992). Une corrélation entre la viscosité sanguine et, d'une part, la concentration en protéines plasmatiques, d'autre part, la concentration en fibrinogène, a été établie dans plusieurs études, montrant, une fois de plus, les liens qui existent entre la viscosité et les facteurs d'agrégation érythrocytaire que seraient ces protéines (Windberger *et al.*, 2003).

La viscosité plasmatique peut être affectée dans une moindre mesure par la concentration en lipides ou en glucides, ou celle en eau et sels minéraux qui peuvent également modifier les propriétés du globule rouge (Rosselet, 1993).

La concentration en protéines plasmatiques influencerait donc la viscosité sanguine directement, en augmentant la viscosité plasmatique, et indirectement, en augmentant le degré de formation de rouleaux. Toutefois, ce dernier lien, comme nous l'avons vu plus haut, n'est pas encore totalement compris aujourd'hui.

5. Les leucocytes, les plaquettes et les variations de température ont peu d'effets sur la viscosité sanguine dans des conditions physiologiques

Les cellules sanguines autres que les globules rouges, c'est-à-dire les leucocytes et les thrombocytes, n'ont pas d'effets significatifs sur le comportement sanguin dans la macrocirculation, sauf dans certains cas pathologiques où leur nombre est très fortement augmenté. Cependant, dans la microcirculation où les vaisseaux mesurent moins de 100 microns de diamètre, ils peuvent contribuer sensiblement à la résistance à l'écoulement et à l'hydrodynamie du sang (Eppihimer & Lipowsky, 1996).

La température a normalement des effets négligeables sur la viscosité sanguine *in vivo*. Toutefois, on sait que la viscosité sanguine ainsi que l'agrégation érythrocytaire et la viscosité plasmatique (Rosselet, 1993) augmentent lorsque la température diminue. La déformabilité, elle, ne semble pas affectée par la température (Amin & Sirs, 1985).

6. Le sang du cheval présente à bas taux de cisaillement une viscosité plus élevée que celle de nombreuses autres espèces animales

Les différences de viscosité sanguine entre espèces sont liées à des différences dans la déformabilité, capacité nécessaire aux globules rouges pour s'orienter dans le flux sanguin, et dans l'agrégabilité des érythrocytes.

Les érythrocytes équins sont assez peu flexibles mais restent plus capables de former des rouleaux que ceux de beaucoup d'autres espèces comme l'homme, le mouton ou la chèvre. Le sang du cheval est plus visqueux que celui de ces espèces, à bas taux de cisaillement (Andrews *et al.*, 1992). A basses vitesses de cisaillement, le cheval possède, en fait, une viscosité plus élevée que celle des espèces suivantes : homme, rat, chat, chien, cochon, souris, lapin, chameau, chèvre, mouton et vache, ce qui est dû à la capacité d'agrégation prononcée de ses globules rouges. L'index d'agrégation de ses érythrocytes est d'ailleurs beaucoup plus élevé que celui des autres espèces (Amin & Sirs, 1985 ; Windberger *et al.*, 2003). Dans une étude plus récente sur la viscosité sanguine de trente espèces animales, domestiques ou sauvages, le cheval présentait à bas taux de cisaillement la viscosité la plus élevée de tous, léopard excepté (Johnn *et al.*, 1992).

Par contre, pour de hauts taux de cisaillement, les valeurs de la viscosité sanguine de ces espèces deviennent homogènes, même celle du cheval, qui, grâce à la capacité d'orientation de ses globules rouges, possède alors une viscosité sanguine dans la moyenne de celle des autres espèces (Amin & Sirs, 1985 ; Johnn *et al.*, 1992 ; Windberger *et al.*, 2003).

On remarque également que les érythrocytes équins sont particulièrement sensibles à un stress oxydant, montrant des altérations de leur agrégation et de leur déformabilité plus importantes que chez l'homme. Cette particularité du cheval pourrait entraîner des conséquences non négligeables sur la perfusion tissulaire dans des conditions physiologiques ou physiopathologiques (Baskurt & Meiselman, 1999).

En résumé :

La viscosité sanguine dépend principalement de trois facteurs : l'hématocrite, la déformabilité et l'agrégabilité des érythrocytes. Cependant, la prépondérance de ces éléments n'est pas la même selon le taux de cisaillement appliqué qui varie tout au long du système circulatoire. En effet, la déformabilité et la capacité d'orientation des globules rouges sont des facteurs primordiaux à hauts taux de cisaillement, alors que l'agrégabilité devient une propriété déterminante de la viscosité à bas taux de cisaillement.

Pour schématiser, dans la macrocirculation, l'élément majeur de la viscosité sanguine est l'hématocrite, mais la déformabilité des globules rouges affecte également l'écoulement du sang, en permettant une orientation des cellules dans l'axe du flux sanguin. Dans la microcirculation, le flux est lent et les cellules doivent se déformer pour parcourir les capillaires. Dans ce cas, la déformabilité et l'agrégabilité des globules rouges deviennent les principaux facteurs de la viscosité.

Dans des conditions physiologiques, la viscosité plasmatique et les cellules sanguines autres que les érythrocytes affectent la viscosité sanguine dans une moindre mesure.

Le cheval possède une agrégabilité érythrocytaire élevée, bien que ses globules rouges soient peu flexibles. Sa viscosité sanguine est, en conséquence, élevée à bas taux de cisaillement, et dans la moyenne des autres espèces à hauts taux de cisaillement.

On mesure la fluidité sanguine en essayant de recréer artificiellement les contraintes subies dans la circulation avec différents types de viscosimètres. Certains sont plus adaptés à la mesure de la viscosité sanguine, alors que d'autres ne pourront servir qu'à l'étude de la viscosité des fluides newtoniens.

C. La viscosité sanguine se mesure à l'aide de différents types de viscosimètres

1. Viscosimètre rotatif à cylindres coaxiaux ou viscosimètre de type Couette

C'est le viscosimètre le plus adapté à la mesure de la viscosité des fluides non newtoniens, donc du sang. Il est composé d'un cylindre plein (A) ou « plongeur » qui tourne à vitesse constante dans le fluide contenu dans un récipient cylindrique (B) ; celui-ci, mobile autour de son axe de révolution, est entraîné par le liquide soumis à une vitesse de cisaillement déterminée (figure 11). Un ressort, exerçant un couple de torsion après avoir tourné d'un angle α, retient (B) en équilibre (Rosselet, 1993).

On montre que la viscosité dynamique η est proportionnelle à l'angle α.

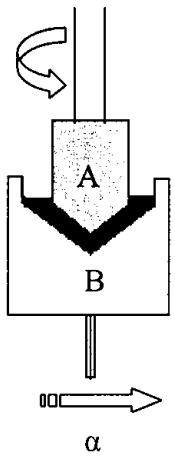


Figure 11 : Viscosimètre rotatif

On pourra alors tracer un rhéogramme, c'est-à-dire une courbe de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement, et apprécier la déformabilité des hématies en appliquant un haut taux de cisaillement et leur agrégabilité à bas taux de cisaillement (*ibid.*).

2. Viscosimètre d'Ostwald

On mesure la durée d'écoulement d'un volume de liquide à travers un tube capillaire, à une température et à une différence de pression définies. On montre que la viscosité cinématique est proportionnelle à la durée d'écoulement.

Ce viscosimètre est utilisé pour mesurer la viscosité des fluides newtoniens et sert donc fréquemment à déterminer la viscosité plasmatique (Baskurt & Meiselman, 2003).

3. Viscosimètre à chute de bille ou viscosimètre d'Hoepler

Le viscosimètre à chute de bille utilise le principe de mesure d'Hoepler. Il permet des mesures simples mais précises de la viscosité cinématique et ainsi, d'en déduire la viscosité dynamique. La viscosité d'un fluide caractérisant sa résistance à l'écoulement, on considère que l'étude du déplacement d'un corps dans un liquide immobile est identique à celle de l'écoulement du fluide autour de ce corps statique. En mesurant la vitesse de chute d'une bille sphérique dans un tube vertical rempli avec le fluide à étudié, il est ainsi possible de déterminer la viscosité cinématique de ce fluide. En effet, pendant la phase du mouvement rectiligne uniforme, les différentes forces qui s'appliquent sur la bille, à savoir la pesanteur, la poussée d'Archimède et la force de traînée liée au frottement visqueux, sont en équilibre.

L'appareil est constitué d'un long tube qui comporte deux traits repères a et b. On y introduit un fluide et une bille de diamètre calibré, un peu inférieur au diamètre du tube (figure 12).

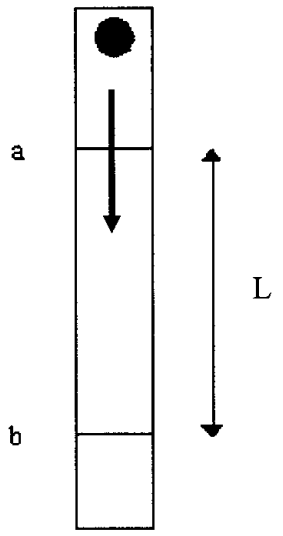


Figure 12 : Viscosimètre à chute de bille

Le tube est muni d'une double enveloppe transparente dans laquelle on peut introduire de l'eau pour conserver une température constante pendant les mesures grâce à un thermomètre de contrôle : on peut ainsi réaliser des expériences à température fixe.
La bille tombe lentement dans le tube renfermant le liquide visqueux. On mesure la durée t que met la bille pour parcourir la distance L. On montre que la viscosité dynamique η est proportionnelle à la durée t selon un facteur défini par les caractéristiques de la bille et du fluide.

Cependant, il faut rappeler que, comme le sang est un fluide non newtonien, sa viscosité ne peut pas être déterminée par une seule valeur : il faut l'étudier à différents taux de cisaillement. Ceci n'est pas possible avec le viscosimètre à chute de bille qui est, en conséquence, principalement utilisé pour étudier des fluides newtoniens. Cet appareil permet cependant de déterminer la viscosité des fluides non newtoniens si le but de l'étude n'est ni de comparer les valeurs obtenues avec celles de la littérature, mesurées selon d'autres méthodes, ni d'évaluer le comportement du fluide à différents taux de cisaillement.

Ainsi, l'usage de ce viscosimètre ne permet pas d'étudier l'impact de l'agrégabilité ou de la déformabilité des érythrocytes sur la viscosité sanguine en faisant varier le taux de cisaillement ; il ne permet pas non plus d'utiliser les résultats obtenus pour déterminer des valeurs usuelles ou pathologiques. Néanmoins, il peut tout à fait servir à comparer des viscosités au sein d'une expérimentation, en gardant à l'esprit que les contraintes et taux de cisaillement appliqués dans le tube de l'appareil sont faibles.

CONCLUSION

Nous avons vu que la viscosité du sang était sous l'influence de nombreux facteurs, dont les plus importants sont l'hématocrite, la déformabilité et l'agrégabilité des globules rouges. Or, les radicaux libres formés lors d'un stress oxydant affectent les propriétés visco-élastiques des érythrocytes. On peut alors se demander quel peut être l'effet d'une hyperoxémie sur la viscosité du sang, cette relation étant encore peu documentée et incertaine.

Une dégradation de la fluidité sanguine peut sensiblement affecter la perfusion tissulaire et engendrer des perturbations fonctionnelles importantes des organes (Baskurt & Meiselman, 2003). Ainsi, une augmentation de la viscosité sanguine peut entraîner une majoration ou une décompensation d'une ischémie préexistante, un risque de thrombose, des manifestations ischémiques diverses sans thrombose manifeste et une diminution d'oxygénation des tissus. Elle pourrait également être la cause des myopathies après exercice chez le cheval (Andrews *et al.*, 1992).

Le cheval possède une viscosité sanguine et une agrégabilité élevées à bas taux de cisaillement ainsi qu'une déformabilité limitée. Ce désavantage hémorhéologique apparent chez le cheval et ses conséquences potentielles sur la perfusion tissulaire sont étonnants au regard des capacités athlétiques de l'animal (Baskurt & Meiselman, 1999), bien qu'une agrégabilité importante soit, il est vrai, caractéristique des espèces athlétiques (Popel *et al.*, 1994). Cette agrégabilité importante serait-elle alors une évolution pour optimiser les capacités de perfusion tissulaire à l'exercice ou la conséquence d'une sensibilité plus élevée des globules rouges de ces espèces au stress oxydant provoqué à l'exercice ? (Baskurt & Meiselman, 1999)

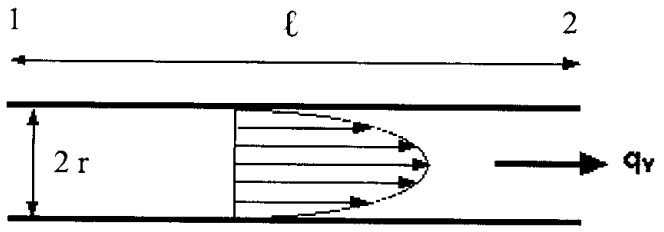
Nous avons rapidement évoqué l'implication des composantes de la viscosité sanguine dans la circulation. Nous allons maintenant détailler le comportement du flux sanguin dans les vaisseaux, ses facteurs de variation et ses conséquences sur la perfusion tissulaire.

II. Des fluctuations de la viscosité sanguine peuvent entraîner des variations de la perfusion tissulaire

A. L'écoulement sanguin dans les vaisseaux dépend en partie de la viscosité du sang

1. La loi de Poiseuille permet de calculer le débit d'un fluide dans un tube en fonction de sa viscosité

La loi de Poiseuille détermine le débit volumique d'un fluide entre deux points d'un tube (figure 13).



$$q_v = \frac{\pi \cdot r^4}{8 \cdot \eta \cdot \ell} \cdot (p_1 - p_2)$$

Figure 13 : Loi de Poiseuille illustrée

avec : q_v : débit volumique ($m^3.s^{-1}$), r : rayon intérieur (m), η : viscosité dynamique du fluide (Pa.s), ℓ : longueur entre les points 1 et 2 (m), p1 et p2 : pression du fluide aux points 1 et 2 (Pa)

La loi de Poiseuille est inexacte lorsqu'elle est appliquée à la circulation sanguine car la température, la viscosité et le pH du sang ne sont pas constants, car les vaisseaux sanguins ne sont pas rigides - la pression appliquée au fluide peut donc fluctuer - et parce que les vaisseaux se ramifient et présentent un diamètre variable. De plus, elle ne s'applique normalement qu'aux fluides newtoniens, ce qui n'est pas le cas du sang, et aux flux laminaires, qu'on ne retrouve pas à tous les niveaux de la circulation sanguine.

Cependant, restant pour l'instant la meilleure modélisation connue, elle est souvent appliquée au flux sanguin dans les vaisseaux et permet d'illustrer, par une formule mathématique, le fait que la viscosité est inversement proportionnelle au débit sanguin (Dalinghaus *et al.*, 1994 ; Tomiyama *et al.*, 2000 ; Baskurt *et al.*, 2004).

2. La nature de l'écoulement d'un fluide est déterminée par le nombre de Reynolds qui tient compte de la viscosité du fluide

Une formule prenant en compte la vitesse du fluide, sa viscosité, sa masse volumique et le diamètre du tube traversé donne un nombre décrivant l'écoulement de ce fluide. Appelé « nombre de Reynolds », il est inversement proportionnel à la viscosité du fluide (figure 14).

$$Re = \frac{\rho V D}{\mu}$$

Figure 14 : Nombre de Reynolds

avec : ρ : masse volumique du fluide ($kg.m^{-3}$), V : vitesse moyenne ($m.s^{-1}$), D : diamètre de la conduite (m), μ : viscosité dynamique du fluide ($Pa.s^{-1}$)

Lorsque le nombre de Reynolds est compris entre 1 et 2000 environ, l'écoulement est « laminaire ». Aux fortes valeurs du nombre de Reynolds (au-delà d'environ 2000), l'écoulement devient « turbulent » (figure 15). Entre les régimes laminaire et turbulent, on parle de régime « transitoire ».

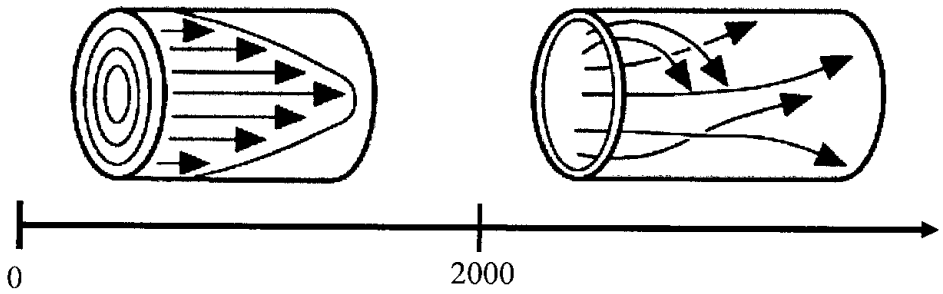


Figure 15 : Evolution de l'écoulement du fluide selon la valeur du nombre de Reynolds

Le type d'écoulement d'un fluide dépend donc de plusieurs facteurs dont sa viscosité, la pression dans la conduite et le diamètre du tube. Dans le cas du sang, il faut également considérer l'importance du diamètre vasculaire par rapport à celui des globules rouges ainsi que les phénomènes vasomoteurs qui peuvent faire varier le diamètre du tube.

Le flux sanguin dans le système vasculaire est normalement régulier. Trois types de flux existent : les flux homogène, laminaire et turbulent. Le flux homogène est présent dans des zones où la vitesse du flux est quasi constante sur tout le diamètre du tube, donnant un

profil des vitesses aplati, comme à l'entrée des vaisseaux. Le flux laminaire se développe plus en aval dans le vaisseau ; il est caractérisé par une vitesse plus rapide au centre du vaisseau, créant une courbe de vitesses parabolique. Le flux sanguin devient turbulent lorsque les vaisseaux forment des coudes, lorsqu'il y a un rétrécissement brutal, une obstruction... (Reef, 1998)

3. Les variations du taux de cisaillement vont affecter la viscosité sanguine, donc l'écoulement du sang

Il faut également se rappeler que le taux de cisaillement, qui permet aux propriétés visco-élastiques du sang de s'exprimer, varie tout au long du système circulatoire (figure 16). Comme nous l'avons déjà évoqué, il est élevé à l'intérieur des artérioles et à l'entrée des capillaires, et faible dans les capillaires et le système veineux.

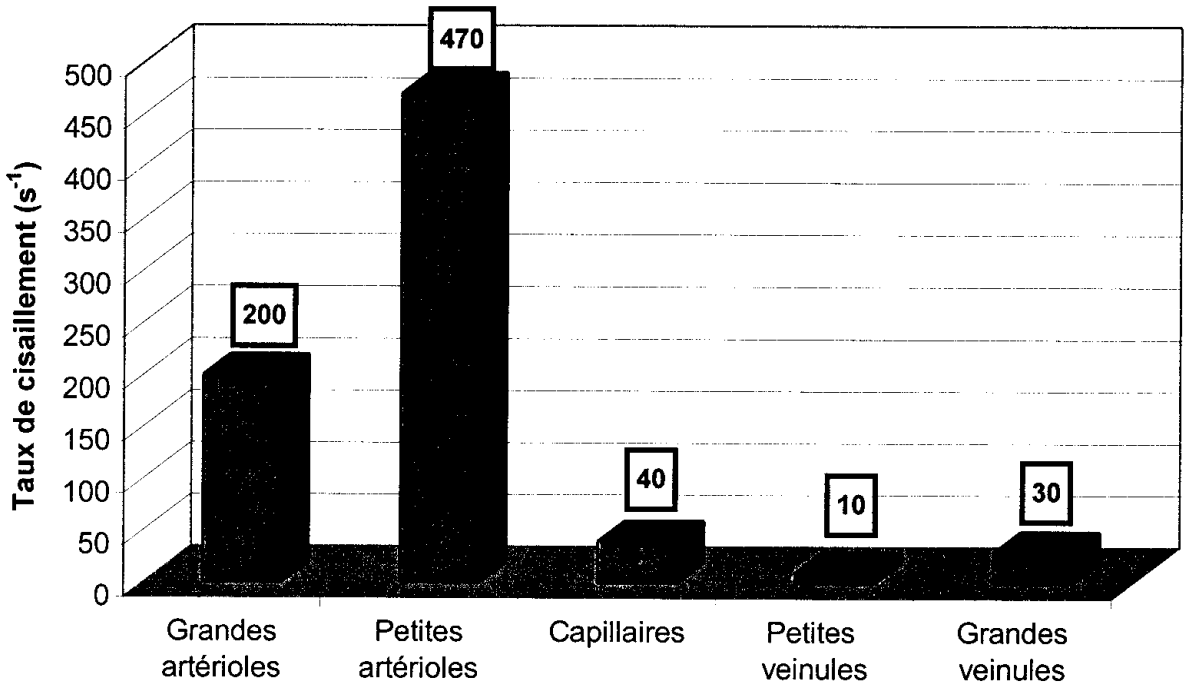


Figure 16 : Variation du taux de cisaillement des grandes artérioles aux grandes veinules (adapté de Popel & Johnson, 2005)

Les globules rouges représentant 98 % du volume total des cellules sanguines, ce sont eux qui déterminent en grande partie les propriétés mécaniques du sang, en réagissant au taux de cisaillement appliqué. Mais cela n'est plus tout à fait vrai dans la microcirculation où, par exemple, un globule blanc peut partiellement obstruer la lumière d'un capillaire (Quemada *et al.*, 1993).

B. La perfusion dans la macrocirculation

Dans les gros vaisseaux, les érythrocytes ont une faible taille relative. Le sang peut alors, à cette échelle, être considéré comme un fluide relativement homogène. Les caractéristiques de son écoulement dépendent alors surtout de la capacité d'orientation des érythrocytes et de la motricité des parois vasculaires. Dans ces larges vaisseaux, les globules rouges, déformables, sont facilement orientés dans le sens du flux (figure 17) et cette orientation permet de réduire la viscosité (Baskurt & Meiselman, 2003).

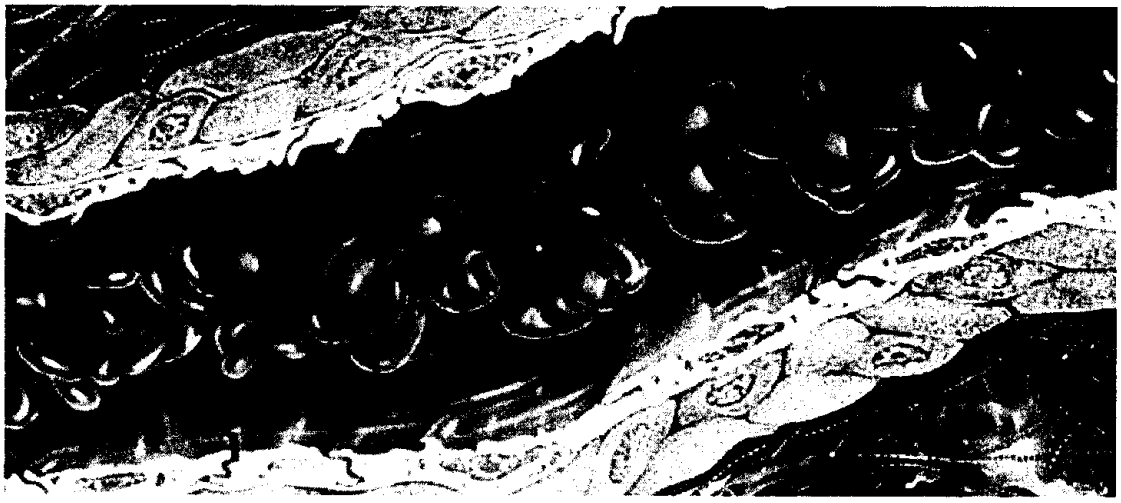


Figure 17 : Représentation du flux sanguin à l'intérieur d'un vaisseau (d'après Baskurt)

1. Le flux sanguin se comporte différemment dans les veines et dans les artères

Les écoulements veineux sont caractérisés par des vitesses relativement faibles et par une pulsatilité inexistante ou réduite. Le caractère stationnaire de ces écoulements et surtout la faible valeur des contraintes de cisaillement associées font que les effets non newtoniens, notamment la capacité d'agrégation des globules rouges, deviennent importants. Le gradient de pression, qui engendrerait un profil parabolique des vitesses pour un fluide newtonien, crée alors un profil aplati, caractéristique de ce comportement.

Les écoulements artériels se font dans un système compliant, en présence de pulsations quasi-périodiques, à pressions élevées. Ainsi, leur caractéristique essentielle est leur aspect propagatif, lié au caractère élastique des parois vasculaires. Lors de cette

propagation, on constate une diminution sensible des vitesses moyennes du fluide liée à l'augmentation notable de la section totale de l'ensemble des artères au fur et à mesure que l'on s'éloigne du cœur. Le caractère non stationnaire de l'écoulement peut aussi s'observer sur la forme des profils des vitesses. Selon que la viscosité est faible ou importante, le type d'écoulement est associé à un profil des vitesses respectivement parabolique ou aplati. Dans la réalité, on observe un type intermédiaire, où les effets de la viscosité se font sentir près des parois (les contraintes de cisaillement y sont plus importantes qu'au centre du vaisseau) (Quemada *et al.*, 1993).

2. Les globules rouges subissent une migration axiale dans les vaisseaux plus petits

A l'échelle intermédiaire (petites artères et veines, artérioles et veinules), deux types d'effets structuraux apparaissent.

D'une part, il se forme des rouleaux de globules rouges, plus ou moins liés entre eux, dans les veinules, par exemple, pouvant parfois entraîner une stase veineuse. Ce phénomène implique qu'à cette échelle, les caractéristiques non newtoniennes du sang prédominent.

D'autre part, il existe une sorte de séparation de phase entre une région centrale du vaisseau, riche en globules rouges, et une couche liquide appauvrie (essentiellement constituée de plasma), proche de la paroi vasculaire (*ibid.*). Lorsqu'on observe l'écoulement du sang dans un tube, on constate que les globules rouges ont tendance à s'accumuler en son centre. Le taux d'hématocrite est donc maximal au centre des vaisseaux et minimal à leur périphérie. De plus, les couches centrales du fluide subissent moins de contraintes de cisaillement et ont ainsi une vitesse plus importante que celles circulant près des parois vasculaires. Nous avons donc un gradient radial d'hématocrite, de vitesse et de viscosité dans le vaisseau. Cette migration axiale permet ainsi de diminuer les résistances à l'écoulement en réduisant la viscosité de la suspension au contact des parois du vaisseau.

Cependant, *in vivo*, nous ne sommes pas sûrs que cette distribution existe dans tous les vaisseaux. En effet, la formation de la couche appauvrie au niveau des parois nécessite du temps, donc un vaisseau long et droit. De plus, l'orientation des vaisseaux dans le corps et par conséquent, l'effet de la gravité sur le sang qu'ils contiennent, sont variables (Baskurt & Meiselman, 2003).

3. Les phénomènes vasomoteurs permettent d'adapter le flux sanguin à la demande tissulaire

Nous avons vu que l'hématocrite du cheval peut rapidement augmenter en cas de stress et qu'un taux d'hématocrite élevé, parce qu'il cause une augmentation de la viscosité sanguine, pouvait compromettre l'efficacité de la perfusion tissulaire. Toutefois, ces modifications de l'hémodynamique du sang sont souvent compensées par des mécanismes vasculaires d'autorégulation du flux, qui entraînent une vasodilatation quand les demandes métaboliques des tissus ne sont pas couvertes. Cependant, cette adaptation ne peut se produire que si aucun autre désordre hémodynamique, comme une pression artérielle faible, n'a déjà induit ce mécanisme d'autorégulation. Si les vaisseaux sont déjà dilatés, permettant ainsi d'augmenter un flux sanguin insuffisant et de rétablir une bonne perfusion tissulaire, une élévation de l'hématocrite, donc de la viscosité sanguine, ne sera pas compensée et pourra significativement altérer la perfusion et la fonction des tissus (*ibid.*).

C. La perfusion dans la microcirculation

1. Le réseau microcirculatoire est composé de vaisseaux dont le diamètre et les capacités d'adaptation au flux varient

Les vaisseaux dont le diamètre est inférieur à 100 microns (artérioles, capillaires et veinules) constituent le réseau microcirculatoire (figure 18). Il contient près de la moitié du volume total sanguin. Il reste un territoire encore peu connu.

Le réseau artériolaire, dont le diamètre est compris entre 10 et 100 microns, est adaptatif, caractérisé par une capacité à modifier la résistance à l'écoulement grâce, d'une part, à la contraction des fibres lisses de la paroi des artérioles et, d'autre part, à la présence de très nombreux sphincters situés juste avant les capillaires (figure 18). Il semble remplir la fonction de système de contrôle de l'irrigation des organes (Quemada *et al.*, 1993).

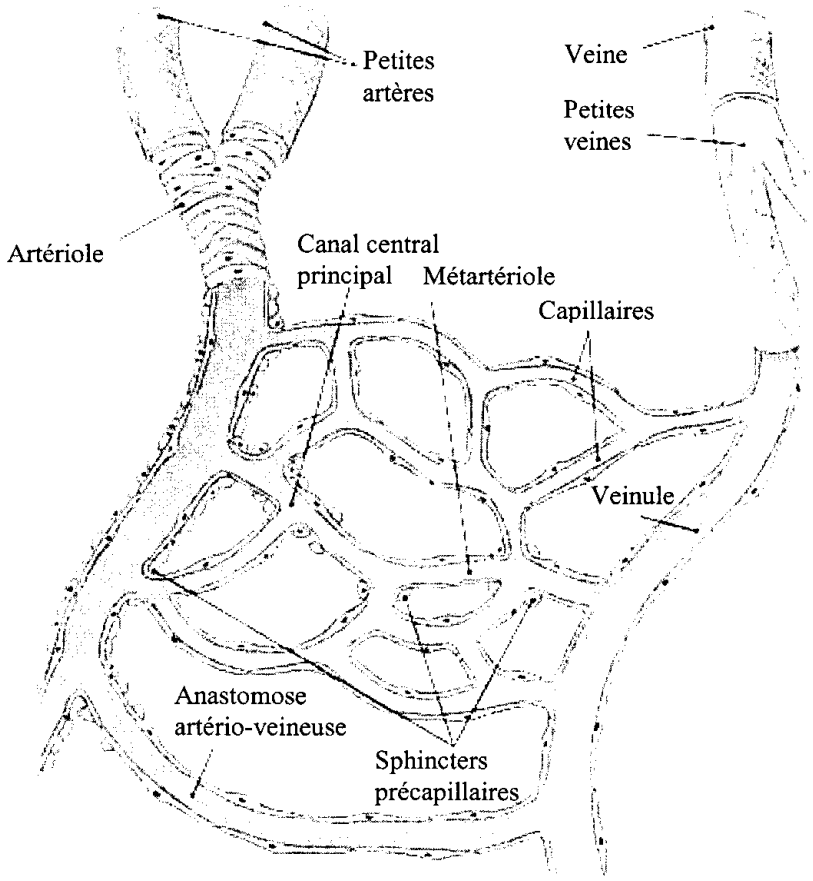


Figure 18 : Architecture du réseau microcirculatoire
(Parker, en ligne)

Le réseau capillaire est extrêmement ramifié mais peu adaptable. La paroi des capillaires étant quasiment limitée à l'endothélium vasculaire, son rôle essentiel est d'assurer les échanges entre le sang et le liquide interstitiel. La vitesse d'écoulement du sang y est très faible (de l'ordre de quelques dizièmes de mm/s) (figure 19) et la pression, minimale (Quemada *et al.*, 1993).

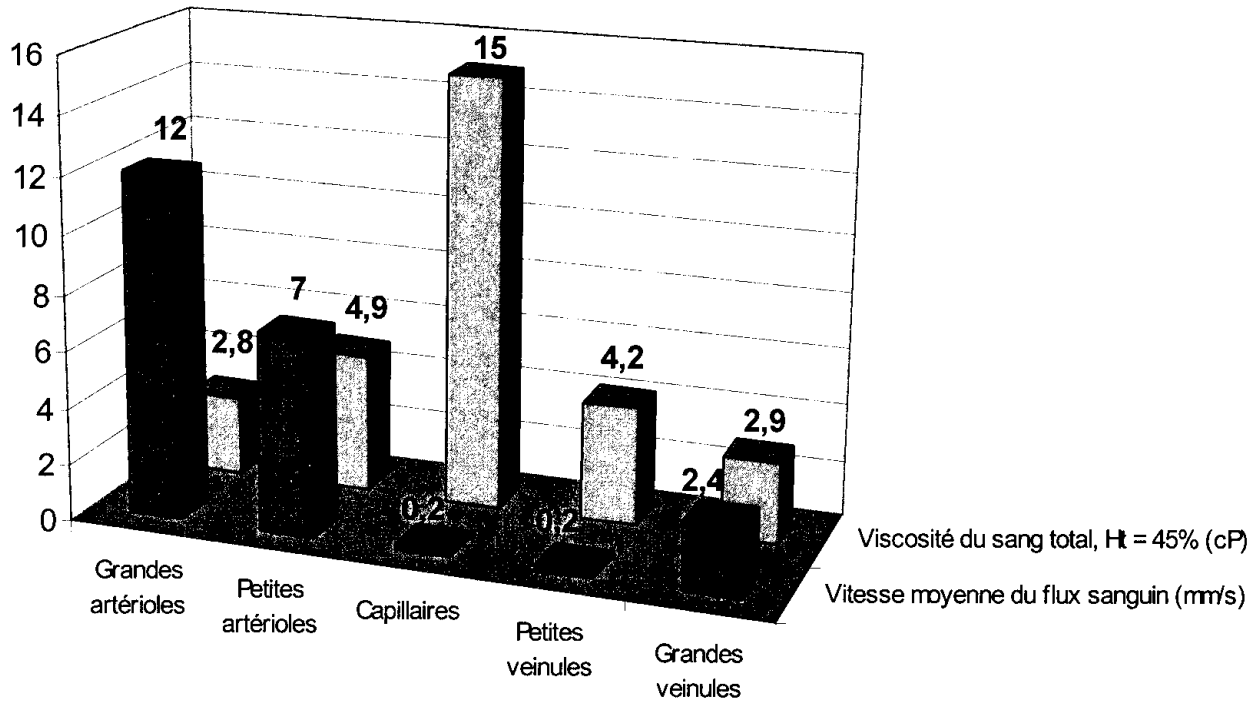


Figure 19 : Variation de la viscosité sanguine et de la vitesse moyenne du flux sanguin dans la circulation sanguine des grandes artérioles aux grandes veinules

(adapté de Popel & Johnson, 2005)

A l'échelle microscopique, dans les vaisseaux capillaires dont le diamètre équivaut à celui du globule rouge, la description de l'écoulement se réduit alors à celle du transport de petites capsules immergées dans un fluide newtonien, le plasma, en présence de parois presque rigides. Dans ces petits capillaires, que le globule rouge doit traverser en se déformant, la déformabilité est le facteur principal de la perfusion (Baskurt & Meiselman, 2003).

2. Les effets Fahraeus et Fahraeus-Lindqvist décrivent une diminution de l'hématocrite et de la viscosité sanguine parallèlement au diamètre vasculaire

L'hématocrite est un facteur important de la viscosité sanguine et de la perfusion tissulaire dans la microcirculation. Dans des capillaires de petits diamètres, peu perfusés, où la pression sanguine et la vitesse du flux sont basses, sa faible valeur permet de maintenir une certaine fluidité. Car la diminution du diamètre des vaisseaux s'accompagne de deux effets primordiaux :

• L'effet Fahraeus décrit une diminution de l'hématocrite parallèlement à la diminution du diamètre du tube. Elle est maximale pour un diamètre vasculaire de 15-20 microns ; dans ce cas, l'hématocrite est alors réduite de 40 à 50 % de sa valeur initiale (figure 20).

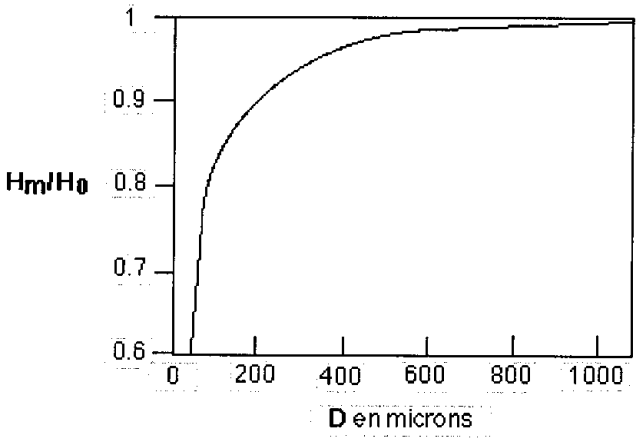


Figure 20 : Evolution de l'hématocrite en fonction du diamètre vasculaire : Effet Fahraeus
Hm : hématocrite moyen pour un diamètre donné, H_0 : hématocrite dans la macrocirculation,
D : diamètre vasculaire (Service d'hémodynamique diagnostique et thérapeutique, en ligne)

• L'effet Fahraeus-Lindqvist démontre, lui, la diminution de la viscosité sanguine lorsque le diamètre du vaisseau diminue (figures 19 et 21). Cependant, lorsque ce dernier mesure environ le diamètre du globule rouge, cet effet s'inverse et la viscosité sanguine augmente fortement, car le globule rouge occupe tout le vaisseau et doit se déformer pour le parcourir (Popel & Johnson, 2005).

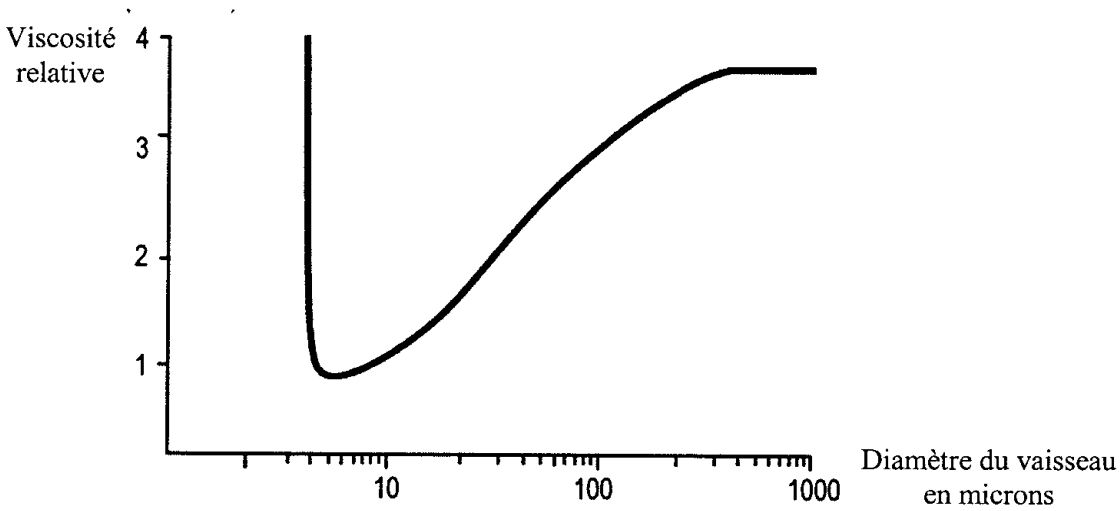


Figure 21 : Evolution de la viscosité relative en fonction du diamètre vasculaire : Effet Fahraeus-Lindqvist (Fleshandbones, en ligne)

Deux hypothèses tentent d'expliquer ce phénomène.

Aux embranchements entre artérioles et capillaires, le flux sanguin est très lent par rapport à celui du vaisseau principal. Ainsi, d'après la première hypothèse, seuls quelques érythrocytes entrent dans ces capillaires faiblement perfusés, alors que les autres continuent à suivre le flux principal. L'hématocrite est alors fortement diminuée dans les plus petits vaisseaux, ce qui permet de conserver une fluidité sanguine suffisante, tandis que les contraintes et le taux de cisaillement diminuent.

La deuxième hypothèse, peut-être la plus probable, suppose que les globules rouges subissent une migration axiale également dans la circulation artériolo-veinulaire et qu'il existe une couche de plasma lubrifiante de faible épaisseur (quelques micromètres) au contact des parois vasculaires. Les couches centrales, riches en érythrocytes, circuleraient donc plus vite que le plasma en périphérie et les globules rouges seraient, en conséquence, statistiquement moins susceptibles de rentrer dans les capillaires que le plasma (figure 22) (Schmid-Schönbein, 1981).

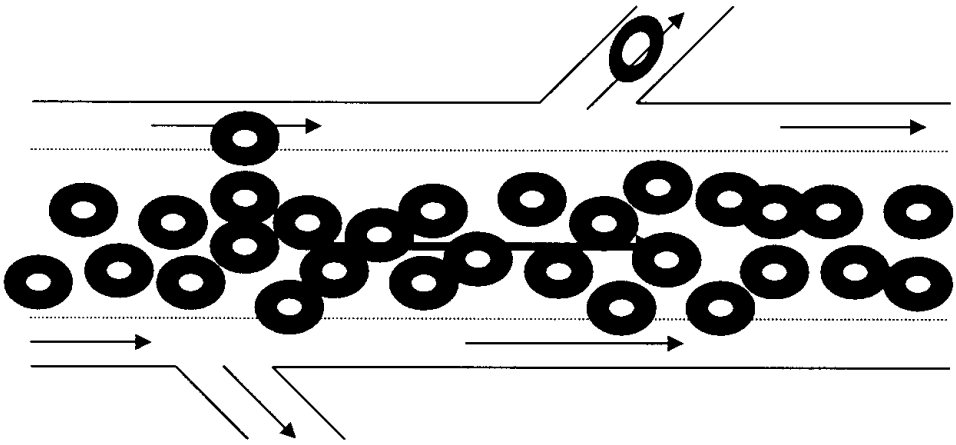


Figure 22 : Schématisation du flux sanguin dans un vaisseau de petit diamètre

On observe une fine couche de plasma au contact des parois vasculaires. La majorité des érythrocytes circule au centre du vaisseau. Peu de globules rouges empruntent les capillaires collatéraux (redessiné d'après Baskurt & Meiselman, 2003).

Une augmentation de l'hématocrite engendrera une élévation moins importante de la viscosité dans les vaisseaux de petite taille que dans la macrocirculation, permettant ainsi de conserver une perfusion tissulaire satisfaisante bien que le sang soit plus concentré et moins fluide (figure 23).

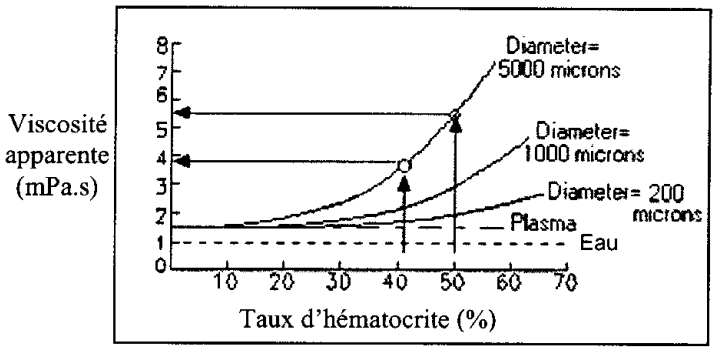


Figure 23 : Evolution de la viscosité apparente du sang en fonction de l'hématocrite dans des vaisseaux de différents diamètres

(Wiedmeier, en ligne)

L'hématocrite capillaire est donc, en moyenne, plus faible de moitié que l'hématocrite des gros vaisseaux, mais ce phénomène n'est pas homogène. En effet, un système de fractionnement du flot entraîne la réduction de l'hématocrite dans certains capillaires, tandis qu'il restera plus élevé dans d'autres, car une résistance précapillaire variable est présente à chaque embranchement (Rosselet, 1993). Dans tous les cas, l'hématocrite tissulaire, c'est-à-dire l'hématocrite moyen du sang dans les vaisseaux d'un tissu, quelle que soit leur taille, est plus faible que l'hématocrite mesuré dans le sang des gros vaisseaux, veines ou artères (Baskurt & Meiselman, 2003).

3. La déformabilité des globules rouges permet la perfusion des capillaires les plus fins

Dans la circulation capillaire, la notion de viscosité n'a plus vraiment de sens puisque le sang ne peut plus, à cette échelle, être considéré comme une suspension homogène. Pour parcourir les vaisseaux de diamètre inférieur au sien et dont les parois sont rigides, le globule rouge doit se déformer. Sous l'effet du cisaillement, comme nous l'avons vu, le globule rouge prend, en général, la forme d'un parachute dont les bords sont séparés de la paroi vasculaire par un espace étroit constitué de plasma. Cette couche lubrifiante lui permet de glisser dans le capillaire sans dommage (Quemada *et al.*, 1993).

Un globule rouge plus rigide met plus de temps à parcourir le capillaire et il faut ainsi plus d'érythrocytes pour apporter la même quantité de dioxygène à l'organe par unité de temps. Une quantité, même faible, de globules rouges anormaux suffit donc à perturber la circulation, voire même à l'interrompre dans les plus fins capillaires (*ibid.*).

Dans les vaisseaux dont le diamètre est inférieur à quelques centaines de microns, la migration axiale et la séparation de phase qu'elle engendre deviennent un mécanisme important pour diminuer la résistance à l'écoulement. La migration axiale est favorisée par la déformabilité des globules rouges et réduite lorsque les érythrocytes deviennent rigides (Baskurt & Meiselman, 2003).

Une augmentation de la viscosité et/ou une diminution de la déformabilité des globules rouges aboutissent donc à une augmentation de la résistance à l'écoulement du sang au niveau de la microcirculation.

4. L'agrégabilité des érythrocytes est un facteur important de la perfusion dans la microcirculation

a. L'agrégabilité est un des mécanismes régulateurs de la microcirculation

Le système microcirculatoire peut répondre à des modifications locales (compression d'un vaisseau ou augmentation des besoins tissulaires en oxygène) grâce à des mécanismes régulateurs et adaptateurs du flux sanguin. Par exemple, l'épaisseur de la couche de plasma lubrifiante dépend de l'agrégation des globules rouges et de la vitesse d'écoulement du sang. Une augmentation momentanée de l'agrégation érythrocytaire permet d'obtenir une épaisseur plus importante de la couche appauvrie au contact des parois, ce qui diminue les résistances à l'écoulement (Popel & Johnson, 2005). Les mécanismes régulateurs du flux pourront également recruter des capillaires inactifs, ouvrir ou fermer des shunts ou faire appel à une vasodilatation ou à une vasoconstriction pour restaurer un débit sanguin adéquat (Quemada *et al.*, 1993). Nous parlerons de ces phénomènes plus longuement dans la troisième partie.

b. L'agrégabilité peut cependant compromettre la perfusion dans la microcirculation

Dans cette partie du réseau sanguin, une agrégation trop importante des globules rouges peut entraîner un arrêt provisoire ou définitif de l'écoulement, par exemple, lorsqu'un agrégat obstrue un vaisseau. Si les forces de cisaillement qui s'exercent au sein du fluide sont insuffisantes pour disloquer cet agrégat, on aboutit à une stase veineuse (figure 24).

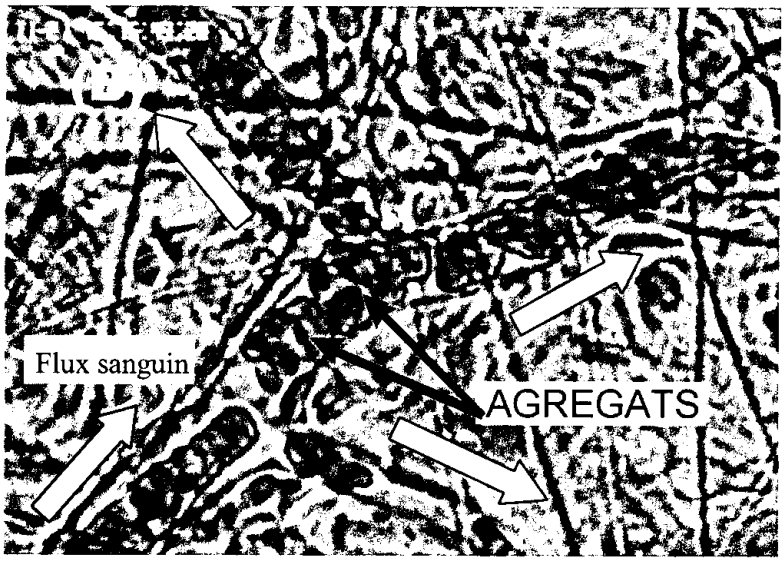


Figure 24 : Agrégats de globules rouges dans des capillaires
Les flèches blanches indiquent le sens du flux sanguin (Microcirculation Laboratory, en ligne).

Les effets d'une augmentation de l'agrégabilité des érythrocytes ne sont pas encore totalement établis. Ils pourraient consister en une augmentation de la résistance dans le flux veineux accompagnée d'une diminution de la vitesse du flux sanguin (Windberger *et al.*, 2003). Des études sur le flux sanguin dans un tube suggèrent que les résistances augmentent dans les vaisseaux larges et diminuent dans les plus petits. Quand le diamètre des vaisseaux diminue, il s'avère nécessaire de disperser les agrégats de globules rouges. Cette dispersion a un coût en énergie et s'ajoute à la résistance hydrodynamique. Une agrégation élevée causerait donc une résistance augmentée à l'écoulement microvasculaire (Baskurt & Meiselman, 2003).

Cependant, d'autres auteurs ont, au contraire, observé une diminution de la résistance dans le flux veineux lors d'une agrégation importante. En effet, on a également montré que, fortement agrégés, les érythrocytes se regroupent au centre du vaisseau de façon plus importante, ce qui diminue les résistances hydrodynamiques et favorise la marginalisation des leucocytes et des plaquettes (Windberger *et al.*, 2003). L'agrégation des globules rouges est un facteur important dans la détermination du degré de séparation de phase et des effets hydrodynamiques qui en découlent. Ainsi, des études sur organes entiers ont rapporté qu'une diminution de l'agrégation augmente ou n'a pas d'effet sur la résistance à l'écoulement.

Actuellement, on pense qu'une élévation modérée de l'agrégation diminue les résistances périphériques, alors qu'une agrégation importante les augmente (Baskurt & Meiselman, 2003). De fait, dans des conditions pathologiques d'hyperagrégation, on a tendance à observer une détérioration de la perfusion périphérique et de la distribution d'oxygène aux tissus (Windberger *et al.*, 2003).

c. La viscosité plasmatique, les leucocytes et les plaquettes peuvent jouer un rôle important dans la perfusion tissulaire

La viscosité plasmatique joue un rôle important dans la perfusion de la microvascularisation. L'hématocrite est très bas dans ces vaisseaux à cause de l'effet Fahraeus-Lindqvist et la viscosité sanguine est alors proche de la viscosité plasmatique. Ainsi, dans la microcirculation, la viscosité plasmatique, avec la pression intraluminale et les caractéristiques du flux, est un facteur important dans l'établissement de la force de cisaillement exercée sur les surfaces endothéliales (*ibid.*). L'augmentation de cette force, comme c'est le cas lors d'hyperviscosité, provoque une augmentation de la pression hydrostatique intravasculaire dans tout le réseau vasculaire, mais principalement dans le réseau microvasculaire (Coyne *et al.*, 1990).

Les leucocytes ont un effet négligeable sur le flux sanguin dans la macrocirculation, car leur concentration et le volume qu'ils occupent dans le sang sont faibles par rapport aux autres cellules. Néanmoins, dans la microcirculation, où les diamètres capillaires équivalent au diamètre des leucocytes, toute cellule a potentiellement la capacité d'influencer le flux sanguin dans le vaisseau qu'elle traverse. Les leucocytes sont plus grands que les globules rouges et mettent donc plus de temps à parcourir les capillaires qu'ils peuvent obstruer transitoirement. Cette obstruction se produit plus particulièrement lors de certains processus pathologiques au cours desquels les neutrophiles sont activés et deviennent plus rigides (Eppihimer & Lipowsky, 1996).

Des agrégats de plaquettes et de leucocytes peuvent parfois se former dans le sang, sans doute après une activation plaquettaire. Ils sont massifs et rigides, augmentent la viscosité sanguine et peuvent obstruer *in vitro* les pores de 5 microns d'une membrane semi-perméable, alors qu'un neutrophile les traversera toujours. Ils semblent ainsi capables de troubler la perfusion tissulaire. Ils ont été observés chez le cheval après un exercice intense et aux tout premiers stades des fourbures alimentaires. Cependant, les conséquences de la formation de ces agrégats sont encore floues (Weiss, 2000).

d. Le cheval, dont la viscosité sanguine est élevée, est pourtant doté d'une importante perfusion tissulaire

Chez le cheval, qui a un sang naturellement « hyperagrégé », on ne met pas en évidence de diminution de la perfusion et de la distribution en oxygène aux tissus quand l'animal à l'exercice voit son hématocrite et sa viscosité augmenter (Windberger *et al.*, 2003).

De nombreux facteurs doivent, en effet, être pris en compte et étudiés pour comprendre les particularités de chaque animal. Les espèces sédentaires semblent présenter des viscosités sanguines plutôt basses. A l'inverse, les espèces athlétiques, auxquelles appartient le cheval, montrent un degré d'agrégation de leurs globules rouges élevé et, par conséquent, une viscosité sanguine importante à bas taux de cisaillement (Popel *et al.*, 1994), alors que le développement d'un travail musculaire intense exige une perfusion tissulaire optimale. Cette hyperagrégation conduirait en fait à une migration axiale des globules rouges plus importante et permettrait un « écrémage » accentué du sang au niveau des plus petits vaisseaux (Baskurt, 2003). Dans ces conditions, la perfusion capillaire, loin d'être compromise, serait augmentée. Une agrégabilité érythrocytaire élevée, en augmentant cet « écrémage » du sang, serait donc une adaptation dépendante du niveau d'activité. Elle faciliterait la progression du flux sanguin à travers les anastomoses artérioveineuses malgré la hausse de l'hématocrite lors de l'exercice et permettrait à une colonne intensément comprimée d'érythrocytes de jouer le rôle d'un grand réservoir d'oxygène (Windberger *et al.*, 2003).

La configuration du réseau vasculaire rentre également en ligne de compte. Elle est différente selon les espèces. La longueur des vaisseaux est primordiale dans la formation d'une migration axiale. L'agrégation érythrocytaire est un phénomène qui demande du temps et une longueur minimum de vaisseau est nécessaire pour produire une couche de plasma périphérique suffisante. Le cheval est une espèce de grande taille qui possède cette configuration vasculaire. Dans le réseau veineux, par contre, la migration axiale est compromise par l'arrivée incessante de sang en provenance des différentes veines dans le courant (*ibid.*).

La perfusion tissulaire est sous l'influence de nombreux facteurs cardiaques, vasculaires et sanguins. Il convient donc de l'étudier grâce à une méthode qui mesure non seulement le débit sanguin, mais aussi le maximum de paramètres associés à sa variation.

D. Le Doppler couleur est une méthode de mesure efficace de la perfusion tissulaire

La perfusion tissulaire peut être étudiée grâce à de nombreuses méthodes. L'exploration vasculaire périphérique peut être menée à l'aide de l'échographie Doppler, du laser Doppler, de la microscopie ou de la thermographie. La perfusion tissulaire microcirculatoire est parfois évaluée par la mesure de la pression transcutanée d'O_2.

La méthode Doppler colorimétrique est encore peu utilisée pour évaluer la perfusion tissulaire car elle nécessite de la rigueur, de l'expérience et du bon matériel, en particulier lorsqu'on aborde l'étude de petits vaisseaux à faibles débits. La fiabilité des mesures dépend principalement de la qualité des couleurs et de leur analyse, ce qui rend l'utilisation d'un échographe récent nécessaire.

Le tonus musculaire lisse des parois artériolaires et des sphincters précapillaires régule la perfusion tissulaire. Cette régulation se traduit par une modification de l'écoulement en amont. L'utilisation de l'échographie Doppler permet l'analyse de courbes de vitesses du flux sanguin et fournit des informations sur les résistances vasculaires distales au vaisseau étudié.

1. Principe de l'effet Doppler

Un faisceau ultra-sonore, émis par une source, traverse des tissus biologiques en rencontrant des interfaces fixes. L'onde ultrasonore qui se déplace d'une source fixe à une cible fixe possède une longueur d'onde $\lambda = c / F$ (c étant la vitesse de l'onde). La fréquence (F) réfléchie par des cibles fixes est identique à la fréquence incidente : il n'y a pas de différence entre la fréquence d'émission (Fo) et la fréquence de réception (Fr). Si l'opérateur ou la source se déplace, F se modifie selon le sens du déplacement : il augmente ou diminue, c'est l'effet Doppler (Powis, 1998).

Dans les vaisseaux sanguins, les globules rouges du sang circulant se déplacent, et correspondent à une cible mobile. Il se produit alors un changement de la fréquence du faisceau réfléchi : $Fr = Fo + \Delta F$ (ΔF est appelé la « fréquence Doppler » ou « glissement de fréquence »).

La différence de fréquence ΔF est positive si la cible se rapproche de la sonde et négative si elle s'en éloigne (figure 25) (Reef, 1998).

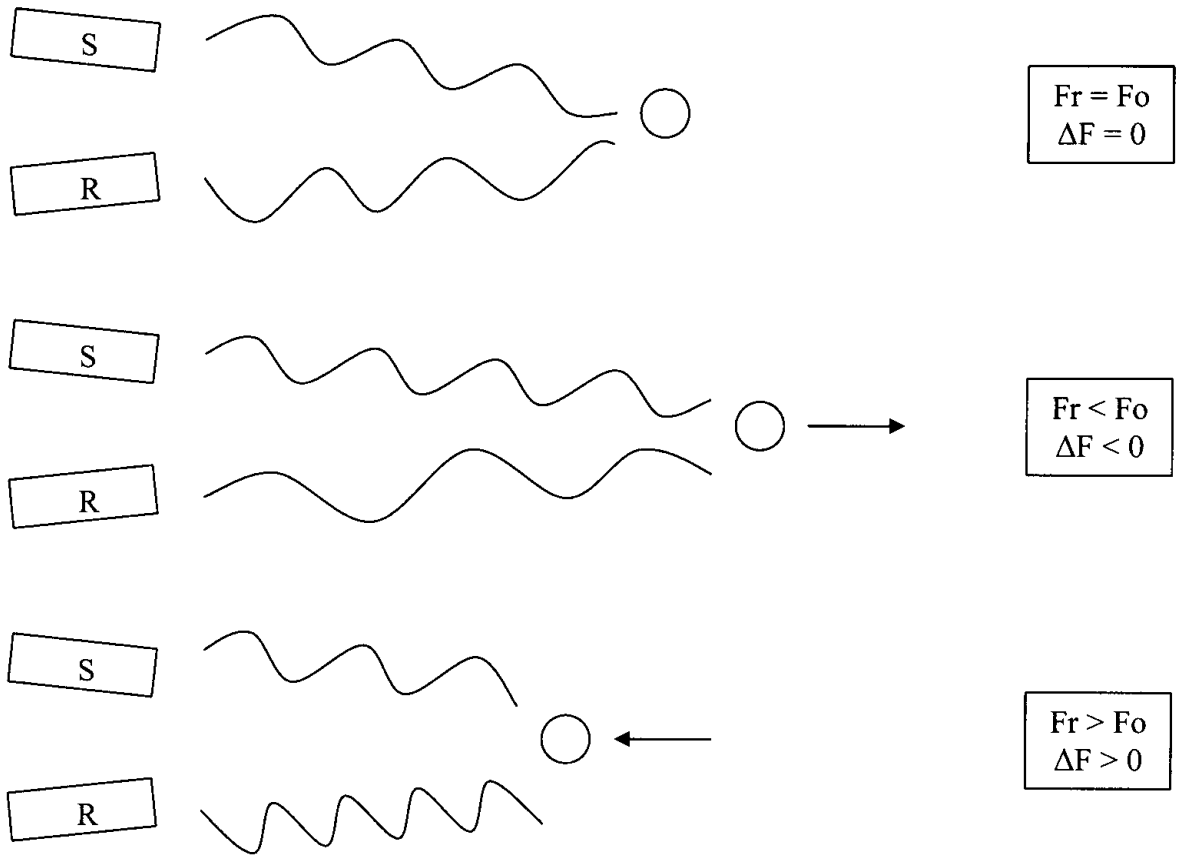


Figure 25 : Schématisation de l'effet Doppler selon le mouvement de la cible

La variation de F dépend de plusieurs paramètres, dont la vitesse de l'élément mobile. Connaître ΔF permet donc d'étudier la direction et la vitesse du mouvement de la cible.

Si la cible est mobile dans l'axe du faisceau d'ultrasons : $\mathbf{\Delta F = 2V \,.\, Fo \,/\, c}$

où V = vitesse de déplacement du globule rouge (cm/s), c = la vitesse de propagation des ultrasons dans les tissus biologiques (constante = 1540 m/s), ΔF et Fo en Hz.

Si la cible est mobile selon un axe différent, la vitesse mesurée est une vitesse relative v, égale à la projection orthogonale du vecteur vitesse V sur l'axe : $v = V \,.\, \cos\theta$

θ est l'angle entre l'axe du faisceau d'ultrasons et l'axe du déplacement de la cible, appelé « angle Doppler ». La valeur de la fréquence Doppler devient alors (figure 26) (Powis, 1998):

$$\mathbf{\Delta F = 2V \,.\, Fo \,.\, \cos\theta \,/c}$$

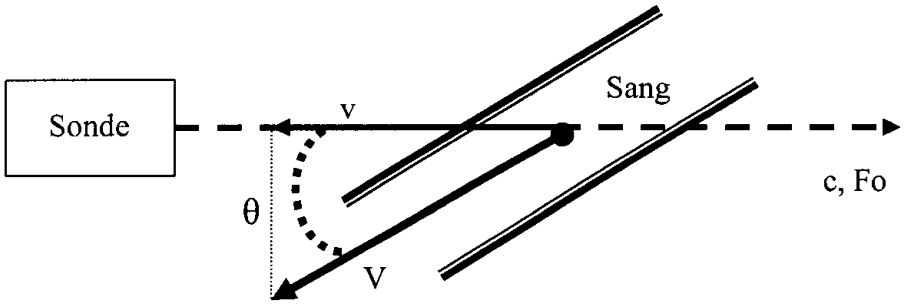


Figure 26 : Schématisation de l'angle Doppler

Pour calculer la vitesse de déplacement de la cible, la formule devient :

$$\mathbf{V = \Delta F \,.\, c \,/\, 2Fo \,.\, \cos\theta}$$

L'appareil exprime donc le déplacement de la cible en terme de décalage de fréquence (ΔF). Ce décalage étant fonction de $V.\cos\theta$, il varie, pour une même vitesse de déplacement, selon la valeur de θ. La détermination de la vitesse de la cible (exprimée en cm/s) impose que l'angle Doppler soit connu. Plus θ augmente, plus la vitesse du flux est sous-estimée. En pratique, θ devrait être compris entre 0° et 20°, pour être le plus possible parallèle au flux. Au contraire, en échographie deux dimensions, pour obtenir les meilleures images, le faisceau doit être perpendiculaire aux structures examinées. Il est donc difficile d'obtenir une bonne image échographique et le meilleur signal doppler. On conseille donc un angle doppler de 30 à 60° afin d'examiner des vaisseaux périphériques, pour lesquels il est très difficile, voire impossible, d'obtenir un angle de 20° ou moins (Reef, 1998).

2. Le Doppler couleur s'appuie sur le principe du Doppler pulsé

a. Principe du Doppler pulsé

Le système de Doppler pulsé est basé sur l'utilisation d'une sonde à cristal unique qui émet un faisceau d'ultrasons jusqu'à une profondeur prédéterminée, puis attend le retour des échos produits, avant de renvoyer une impulsion. Le délai entre deux impulsions est la « fréquence de répétition » ou « PRF » (Pulse Repetition Frequency) (Powis, 1998 ; Reef, 1998). Pendant ce délai, le signal réfléchi est analysé pendant ce que l'on peut appeler la « fenêtre d'écoute ». Le délai entre la fin de l'impulsion et le début de la fenêtre d'écoute détermine la profondeur analysée par le signal Doppler. Le temps d'analyse du signal, c'est-à-

dire la largeur de la fenêtre d'écoute, détermine la taille du volume d'échantillonnage (Reef, 1998).

La PRF détermine la profondeur du champ étudié : pour explorer des champs profonds, elle doit être basse, car il faut attendre le retour des échos plus longtemps ; pour explorer des champs superficiels, on peut l'augmenter. Elle détermine également la « sensibilité aux flux » : l'étude de flux lents nécessite une PRF basse ; cependant, avec une telle PRF, les flux artériels rapides sont détectés mais ne peuvent être quantifiés à cause d'un phénomène d'ambiguïté fréquentielle, ou « aliasing ». L'exploration de flux rapides nécessite donc une PRF élevée car l'écho retourne très vite à la sonde (*ibid.*).

Le Doppler pulsé présente essentiellement l'avantage de bénéficier d'une résolution spatiale qui permet de localiser l'enregistrement Doppler en profondeur. La résolution axiale est déterminée par la longueur de l'impulsion, caractéristique de chaque sonde. La focalisation du faisceau détermine la résolution latérale (elle est maximale dans la zone de focalisation et moindre à distance).
Les limites du Doppler pulsé résident dans sa plus faible sensibilité à détecter les flux très lents, dans le recours nécessaire à l'utilisation d'une plus forte puissance acoustique et dans le risque d'ambiguïtés en fréquence (ou « aliasing ») et en profondeur (Grenier & Claudon, en ligne).

b. Principe du Doppler couleur

Le Doppler couleur permet d'obtenir des informations sur le flux sanguin en temps réel dans un plan. C'est un type de Doppler pulsé avec lequel les informations de l'échographie deux dimensions sont codées en couleur et superposées à l'image échographique. Ce procédé permet d'analyser de multiples volumes d'échantillonnage disposés le long de nombreuses lignes de tir grâce aux trois paramètres du signal ultrasonore : l'amplitude, qui permet de reconstituer l'image en échelle de gris, la phase, qui détermine la direction du déplacement des cibles circulantes, et la fréquence Doppler utilisée pour calculer la vitesse circulatoire (Reef, 1998).

L'encodage couleur est un mode de traitement du signal ultrasonore qui permet de visualiser directement sur l'image la présence d'un écoulement, sa direction et sa vitesse relative. La direction de l'écoulement par rapport à la sonde est fixée par une couleur arbitraire (par convention, rouge pour les flux qui se rapprochent de la sonde et bleue pour ceux qui s'en

éloignent). Chacune de ces couleurs sera d'autant plus saturée vers le blanc que la fréquence Doppler sera élevée (Grenier & Claudon, en ligne).

3. Artefacts et sources d'erreurs

a. Ambiguïté en fréquence : Phénomène d'Aliasing

Ce phénomène constitue une des principales limites du Doppler pulsé, donc du Doppler couleur. Il s'agit d'un codage inversé des fréquences lorsqu'elles deviennent supérieures à un certain seuil. Il apparaît lorsque la fréquence d'échantillonnage, égale à la PRF, est inférieure au double de la fréquence analysée. Il existe donc une fréquence maximale échantillonnable correspondant à la moitié de la PRF. Ce phénomène d'aliasing se traduit par un repliement du spectre sur la courbe et une inversion de la couleur sur l'image.

Pour le supprimer, on peut :

- augmenter la PRF : en diminuant la profondeur du champ ou en élargissant l'échelle des vitesses détectables ;
- diminuer ΔF : en réduisant Fo ou en augmentant l'angle θ, ce qui a pour inconvénient d'amoindrir la précision des mesures de vitesse (*ibid.*).

b. Ambiguïté en profondeur

Cette ambiguïté est reliée à la précédente. Normalement, la valeur de la PRF est adaptée à la profondeur pour que les vaisseaux ne soient pas détectés au-delà de la limite du champ d'exploration. Lorsqu'on utilise une fréquence de tirs élevée, les signaux d'éventuels vaisseaux profonds peuvent arriver à la sonde après le départ de l'impulsion suivante. Les conséquences sont le mélange de signaux correspondant à des vaisseaux profonds et superficiels ou la détection d'un flux superficiel « fantôme » qui correspond, en fait, à un vaisseau profond.

Lorsqu'on suspecte cet artefact, on doit diminuer la PRF ou utiliser une sonde à plus basse fréquence utilisant des PRF sont plus faibles (*ibid.*).

Ces facteurs sont importants à bien connaître pour être maîtrisés, sachant, toutefois, que l'optimisation des paramètres résulte toujours d'un compromis : soit favoriser la résolution spatiale ou la sensibilité aux flux au détriment de la résolution temporelle, soit l'inverse.

4. Applications pratiques : mesures des vitesses et des débits

a. Mesure des vitesses

La mesure directe des vitesses nécessite de visualiser le vaisseau sur une longueur suffisante pour mesurer l'angle Doppler de façon précise. En effet, la fiabilité de la conversion, donc de la mesure, dépend de l'angle Doppler, principale source d'erreur dans le calcul des vitesses. Cela impose de fournir à la machine une valeur de l'angle Doppler soigneusement mesuré (Raisis *et al.*, 2000). D'ailleurs, les appareils les plus récents déterminent eux-mêmes l'angle Doppler, ce qui diminue le pourcentage d'erreur au niveau des calculs de vitesses.

Par contre, le risque d'erreur augmente, comme nous l'avons vu, avec la valeur de l'angle. Un angle de 0° induit une erreur très faible, tandis qu'une augmentation de l'angle entraîne une augmentation exponentielle de l'erreur. Pour des angles inférieurs à 20°, l'erreur est acceptable, inférieure à 6 % (Tableau 1). C'est pourquoi, la valeur de l'angle ne doit pas dépasser 60° pour une prise en compte du résultat (Powis, 1998).

Tableau 1 : Pourcentage d'erreur par degré en fonction de l'angle Doppler (Powis, 1998)

Angle (en °)	0	5	15	20	55	60	65	75	80	85	88	89
% d'erreur / °	0,015	0,167	0,482	0,65	2,5	3	3,8	6,5	9,9	20	50	100

L'insonation incomplète du vaisseau constitue une autre source d'erreur dans le calcul des vitesses (Raisis *et al.*, 2000). En Doppler couleur, il faudra donc veiller à ce que la lumière vasculaire soit entièrement remplie de couleur.

Le diamètre du vaisseau doit, lui aussi, être mesuré avec précision. Il faut obtenir une coupe longitudinale la plus proche possible de l'axe vasculaire pour déterminer le diamètre

réel du vaisseau. Les veines étant elliptiques, les mesures obtenues sur ces vaisseaux seront, de ce fait, souvent fausses (Raisis *et al.*, 2000). Les appareils les plus récents permettent néanmoins une détermination automatique du diamètre des artères, ce qui diminue le risque d'erreurs.

b. Mesure des débits

Grâce à un mode Temps-Mouvement couleur, on peut recueillir les profils d'écoulement dans un vaisseau et leurs variations au cours du cycle cardiaque. Ces profils permettent de tracer les courbes de vitesses du flux sanguin. L'intégration de chaque profil d'écoulement (aire sous la courbe) permet ainsi de mesurer le débit sanguin instantané et un débit moyen sur plusieurs cycles cardiaques.

Ce type de mesure suppose le respect de certaines règles comme le caractère symétrique du flux, l'utilisation d'un axe de tir passant par le plan médian du vaisseau et le choix d'une portion de vaisseau la plus rectiligne possible à distance de toute division. Cela nécessite un apprentissage minimum au terme duquel la variabilité intra-opérateur est habituellement inférieure à 15 % (Grenier & Claudon, en ligne).

Cette mesure de débit est soumise à des risques d'erreur : sur la mesure des vitesses, liée à l'angle, que nous avons évoqués, sur l'estimation de la fréquence moyenne et sur le diamètre du vaisseau, qui peut varier ou être sous-estimé. L'erreur est d'autant plus importante que le vaisseau est petit. Elle augmente quand on s'adresse à des veines dont la section n'est pas circulaire.

De plus, il faut noter que l'interprétation d'une mesure de débit doit tenir compte de différents facteurs comme la pression artérielle, l'élasticité de la paroi du vaisseau, la viscosité du sang et les résistances en aval.

CONCLUSION

La perfusion tissulaire dépend de nombreux facteurs : les paramètres cardiaques, qui ne sont pas l'objet de cette thèse et n'ont pas été développés, les paramètres sanguins, principalement la viscosité sanguine, la déformabilité et l'agrégabilité érythrocytaires et les paramètres vasculaires (diamètre des vaisseaux, élasticité des parois vasculaires et capacités vasomotrices) rentrent tous en ligne de compte pour déterminer la quantité de sang qui parvient aux tissus. Elle peut être évaluée grâce à de nombreuses méthodes, notamment le Doppler couleur.

La régulation de la perfusion tissulaire apparaît très complexe : les différents mécanismes impliqués n'agissant pas aux mêmes niveaux du système circulatoire, son étude s'avère difficile.

Nous allons voir que la perfusion tissulaire conditionne l'oxygénation musculaire, toutes deux étant sous l'influence de la fraction inspirée en oxygène (FiO_2).

III. L'oxygénation musculaire est influencée par les variations de la perfusion et de la FiO_2

La quantité d'oxygène délivrée aux tissus dépend de la quantité d'oxygène inspirée, de l'efficacité de la diffusion des gaz entre les alvéoles et le sang, de la perfusion sanguine tissulaire et de la capacité du sang à transporter l'oxygène (Mensack & Murtaugh, 1999).

La quantité d'oxygène présente dans le sang artériel est donc influencée par la quantité d'oxygène inhalée, elle-même déterminée par le volume courant de gaz inspiré, la fréquence respiratoire (Marieb, 2005) et la concentration en oxygène dans le mélange gazeux inhalé, c'est-à-dire la fraction inspirée en oxygène ou FiO_2. La FiO_2 est de 21 % dans l'air et peut aller jusqu'à 90 ou 100 % dans le mélange gazeux inhalé lors des anesthésies chez le cheval.

A. La perfusion est un facteur déterminant le transport de l'oxygène par les globules rouges vers les tissus

La quantité d'oxygène délivrée aux tissus dépend non seulement du volume sanguin contenu dans le réseau microcirculatoire, mais aussi de la concentration en globules rouges dans le sang capillaire, c'est-à-dire l'hématocrite capillaire. Des études ont montré une relation non linéaire entre la perfusion et l'oxygénation tissulaires. Nous avons vu que l'hématocrite était plus faible dans le réseau capillaire que dans les gros vaisseaux. Une vasodilatation, diminuant les résistances précapillaires, permet d'obtenir un flux sanguin plus important, donc un apport augmenté de globules rouges dans la microcirculation. De plus, ces derniers passent plus facilement dans les vaisseaux dont le diamètre est plus grand. Ainsi, une perfusion plus importante semble se traduire par un apport d'oxygène aux tissus augmenté de façon plus que proportionnelle (Rosselet, 1993).

L'effet exact de l'hématocrite sur le transport de l'oxygène aux tissus est encore peu connu. D'une part, la capacité de transport de l'oxygène par une quantité donnée de sang est directement et linéairement proportionnelle à l'hématocrite. Ainsi, la quantité d'oxygène délivrée aux tissus pour un flux sanguin constant est plus importante si l'hématocrite est haut. D'autre part, une élévation de l'hématocrite engendre une forte augmentation de la viscosité, donc des résistances à l'écoulement, entraînant une diminution du flux sanguin et de la quantité de sang perfusant un tissu donné (Brückner & Messmer, 1990).

De ces deux constats, nous pouvons conclure que l'oxygénation tissulaire maximale est obtenue lorsque l'hématocrite et la perfusion sont toutes deux optimales (figure 27) (Baskurt & Meiselman, 2003).

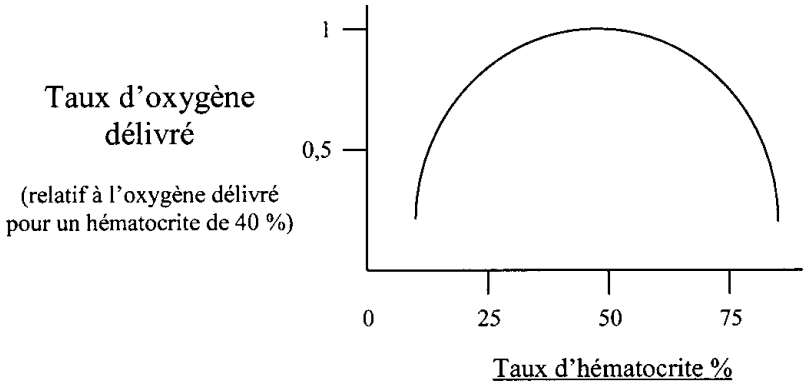


Figure 27 : Relation entre l'hématocrite et la quantité d'oxygène délivrée aux tissus (adapté de Jan, en ligne)

B. Les variations de la FiO_2 influencent l'oxygénation musculaire

1. La FiO_2 et la PaO_2 varient souvent de façon proportionnelle

La pression partielle de l'oxygène dissous dans le sang artériel est la PaO_2, et PaO_2 = FiO_2 x PB où PB est la pression barométrique sur le lieu de mesure. Ainsi, la relation entre PaO_2 et FiO_2 est théoriquement proportionnelle (figure 28).

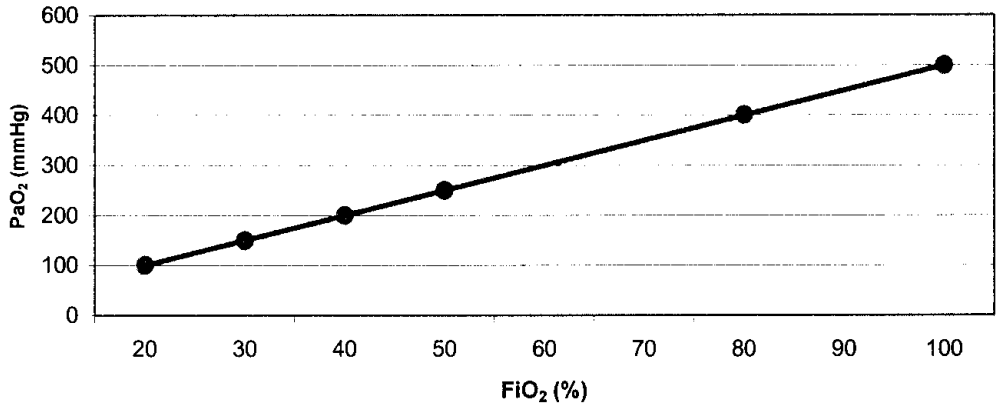


Figure 28 : Evolution de la PaO_2 théorique prévisible en fonction de la FiO_2 (adapté de Portier, 2005)

Lors d'une anesthésie, le fait d'augmenter la fraction inspirée en oxygène permet donc, normalement, d'augmenter la pression partielle en oxygène dans le sang, à moins que la diffusion de l'oxygène des alvéoles au sang soit mauvaise ou qu'il y ait une inadéquation entre la ventilation et la perfusion pulmonaires, ce qui est fréquent chez le cheval anesthésié.

L'oxygène existe sous deux formes dans le sang : sous forme dissoute, directement proportionnelle à la PaO_2, et sous forme combinée à l'hémoglobine : l' « oxyhémoglobine » ou HbO_2. L'oxygène, peu soluble dans le sang, est transporté à 98,5 % par l'hémoglobine (Marieb, 2005). Cependant, l'oxygène dissous dans le plasma diffuse plus facilement dans les tissus (Mensack & Murtaugh, 1999).

2. La PaO_2 est un déterminant de la saturation de l'hémoglobine

L'hémoglobine est composée de quatre chaînes polypeptidiques, chacune étant liée à un groupement hème qui peut fixer réversiblement une molécule d'oxygène par l'intermédiaire d'un atome de fer. La fixation d'une molécule d'oxygène sur l'hémoglobine rend plus aisée la captation des suivantes. De même, la dissociation d'une molécule d'oxygène facilite la libération des autres. La quantité maximale d'oxygène qui peut être combinée avec l'hémoglobine est appelée « capacité en oxygène » (Marieb, 2005).

a. La dissociation de l'hémoglobine dépend de la PaO_2 et de la SpO_2

La saturation de l'hémoglobine en oxygène (SpO_2) est donnée par une formule :

(Oxygène combinée avec l'hémoglobine / Capacité en oxygène) x 100

La saturation du sang artériel pour une PaO_2 de 104 mm Hg est environ égale à 98 %, celle du sang veineux pour une PvO_2 de 40 mmHg est environ égale à 75 %. L'hémoglobine qui n'a pas fixé d'oxygène est appelée « hémoglobine réduite » ou « désoxyhémoglobine » (HHb) (*ibid.*).

La relation hémoglobine-oxygène est particulière car le degré de fixation de l'oxygène par l'hémoglobine n'est pas proportionnel à la pression partielle en dioxygène (PO_2) sanguine. La variation de la saturation de l'hémoglobine en dioxygène en fonction de la PO_2 est représentée par une courbe sigmoïde. La quantité d'oxygène transportée par l'hémoglobine augmente rapidement jusqu'à une PO_2 de 50 mmHg, puis pour une PO_2 plus élevée, la pente de la courbe devient moins importante, pour former un plateau à partir de 70 mmHg. Ainsi,

entre 20 et 60 mmHg de PO_2, une légère variation de la PO_2 entraîne une grande variation de la SpO_2. Ce phénomène explique le maintien d'un transport important d'oxygène même quand la PO_2 diminue, favorisant ainsi l'apport d'oxygène aux tissus (*ibid.*).

La courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine permet de définir la pression de demi-saturation (P_{50}), pression partielle en oxygène à laquelle coexistent 50 % d'hémoglobine sous forme oxygénée et 50 % d'hémoglobine sous forme désoxygénée. Elle se situe normalement vers 24 mmHg chez le cheval, alors que l'homme présente une hémoglobine un peu moins affine avec une P_{50} d'environ 26,6 mmHg (figure 29) (Clerbaux *et al.*, 1986 ; Cambier *et al.*, 2005).

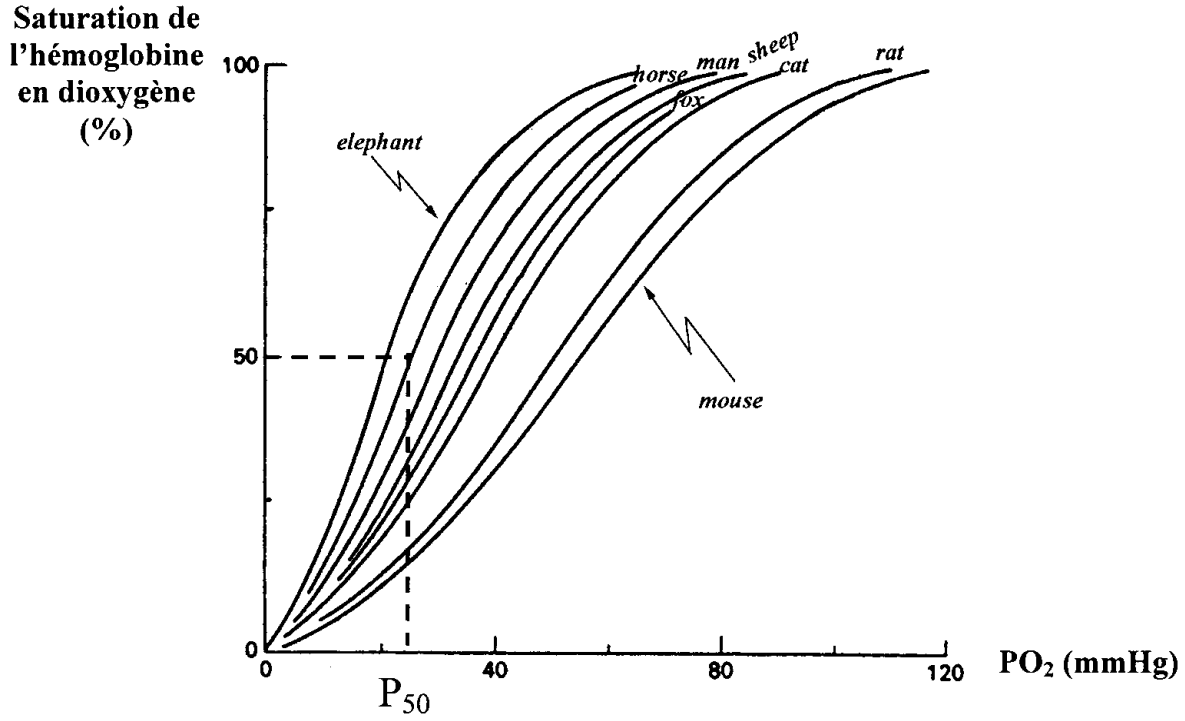


Figure 29 : Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine de différentes espèces
PO_2 : Pression partielle en dioxygène dans le sang ; P_{50} : Pression de demi-saturation
(de gauche à droite : éléphant, cheval, homme, mouton, renard, chat, rat, souris)
(modifié d'après Schmidt-Nielsen, 1970)

Cette courbe peut être déplacée soit vers la droite, soit vers la gauche, selon différents paramètres du milieu : l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène peut donc varier chez un même individu au cours du temps et selon les circonstances.

b. L'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène peut également varier sous l'action d'autres paramètres sanguins

(1) Effet Bohr

Dès le début du XXème siècle, Bohr a montré que des variations de la pression partielle en dioxyde de carbone (PCO_2) provoquaient des déplacements de la courbe de dissociation de l'hémoglobine : pour de fortes PCO_2, l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène est diminuée. Ce phénomène est la conséquence d'une acidification du milieu, responsable d'un déplacement de la courbe de dissociation de l'hémoglobine vers la droite.

L'effet Bohr joue un rôle physiologique important dans les échanges gazeux. Le dioxyde de carbone (CO_2) produit par les tissus diffuse dans le plasma. Puis il est transporté par le sang sous trois formes : 10 % sous forme de gaz dissous dans le plasma, environ 20 % fixés à l'hémoglobine sous forme de carbhémoglobine et 70 % sous forme d'ions bicarbonates HCO_3^- dans le plasma. La plupart des molécules de CO_2 pénètre donc dans les globules rouges où l'anhydrase carbonique catalyse leur transformation en bicarbonates selon la réaction :

$$CO_2 + H_2O \rightarrow HCO_3^- + H^+$$

Les ions bicarbonates formés dans le globule rouge sont très rapidement libérés dans le plasma, échangés contre des ions Cl^- (phénomène de Hamburger). Les protons H^+ abaissent le pH du cytoplasme de l'érythrocyte, ce qui diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène et provoque la libération des molécules d'oxygène.

Ainsi, dans les tissus, où la production de CO_2 est forte, l'acidification du milieu diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, ce qui permet la libération d'une quantité importante d'oxygène.

Dans les poumons, l'élimination du CO_2 favorise la réaction inverse et l'hémoglobine redevient plus affine pour l'oxygène (Marieb, 2005).

(2) Effet du 2,3 diphosphoglycérate

Ce phosphate organique, dont la concentration intra-érythrocytaire est identique à celle de l'hémoglobine, est produit par les globules rouges lors de la glycolyse. Sa production dépend donc de l'état métabolique de la cellule. Le 2,3 diphosphoglycérate (2,3-DPG) diminue l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène en se fixant sur la forme désoxygénée (Marieb, 2005). Chez le cheval, pour déplacer la courbe de dissociation de l'hémoglobine, la

concentration en 2,3-DPG doit atteindre des valeurs extrêmement faibles ou élevées (Clerbaux *et al.*, 1986).

(3) Déplacement de la courbe de dissociation à gauche

La déviation à gauche de la courbe de dissociation (figure 30) entraîne une augmentation de l'affinité de l'hémoglobine pour l'oxygène, avec deux conséquences :

- une baisse de la P_{50},
- une baisse de la quantité d'oxygène délivrée aux tissus.

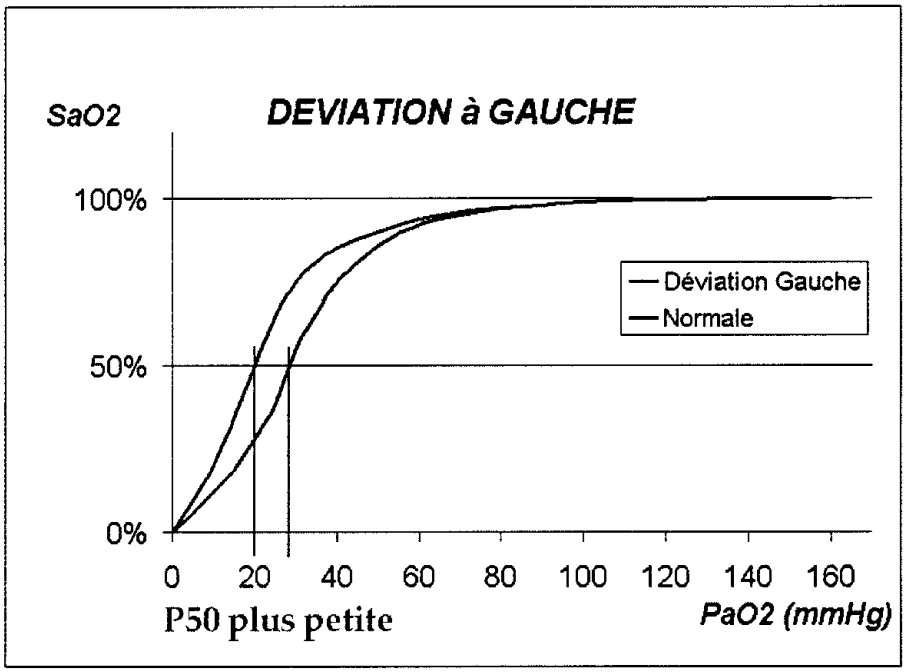


Figure 30 : Déviation à gauche de la courbe de dissociation de l'hémoglobine (Sende, en ligne)

Une déviation à gauche de la courbe de dissociation peut être causée par :

- une baisse de la PCO_2 et/ou une augmentation du pH (effet Bohr),
- une baisse de température,
- une baisse de production du 2,3 DPG et, par conséquent, de sa concentration dans les globules rouges (Mensack & Murtaugh, 1999).

(4) Déplacement de la courbe à droite

La déviation de la courbe de dissociation de l'hémoglobine à droite (figure 31) entraîne un rapprochement du modèle linéaire, donc une affinité moins importante pour l'oxygène, qui se traduit par :

- une augmentation de la P_{50},
- une augmentation de la quantité d'oxygène délivrée aux tissus, mais une baisse d'affinité au niveau des poumons.

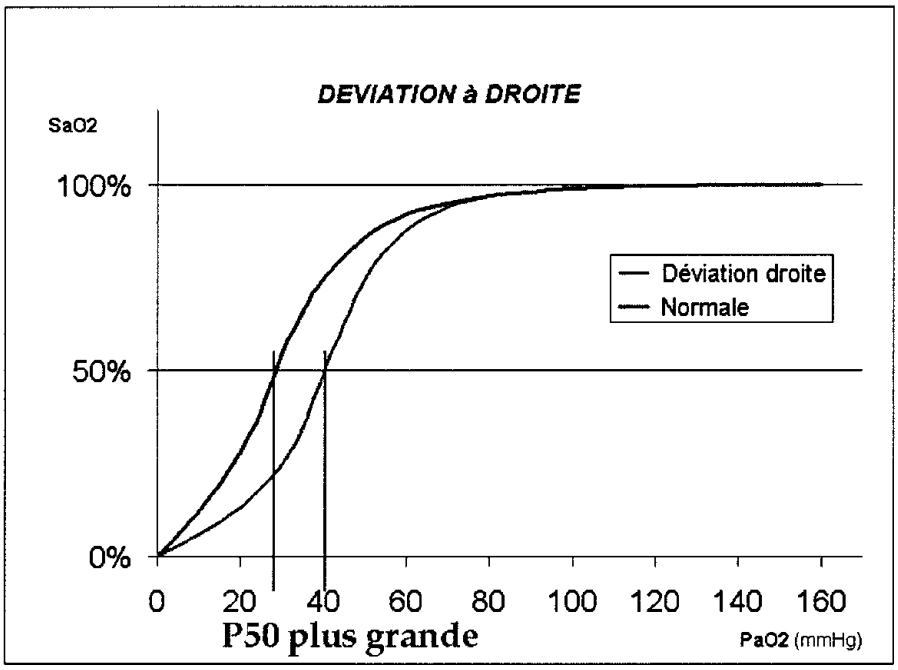


Figure 31 : Déviation à droite de la courbe de dissociation de l'hémoglobine (Sende, en ligne)

Une déviation à droite de la courbe de dissociation peut être due à :

- une augmentation de la PCO_2 et/ou une baisse du pH (effet Bohr),
- une augmentation de température,
- une augmentation de production du 2,3 DPG et, par conséquent, de sa concentration dans les globules rouges (Mensack & Murtaugh, 1999).

La dissociation de l'hémoglobine du cheval semble être affectée par le pH sanguin de façon plus importante que celle de l'homme (Clerbaux *et al.*, 1986 ; Cambier *et al.*, 2005), alors qu'elle est beaucoup moins influencée chez le cheval que chez l'homme par les variations de la PCO_2 (Cambier *et al.*, 2005).

(5) Baisse de la capacité de fixation de l'hémoglobine

Dans certaines conditions, la capacité de fixation est diminuée sans déviation de la courbe de dissociation : lors d'anémie, de methémoglobinémie (le fer de l'hème devenu ferreux ne fixe plus l'oxygène) et d'hémoglobinose S (drépanocytose). Lors d'intoxication au monoxyde de carbone, on observe en outre une déviation à gauche de la courbe de dissociation (Marieb, 2005) (figure 32).

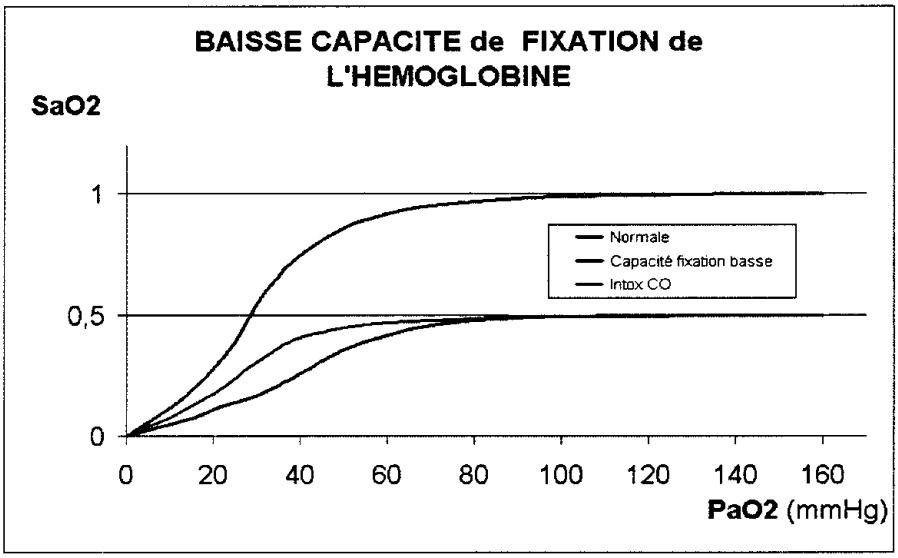


Figure 32 : Baisse de la capacité de fixation de l'hémoglobine (Sende, en ligne)

3. Une hyperoxémie semble conduire à une diminution de la perfusion et, consécutivement, de l'oxygénation tissulaires

Une hypoxémie semble provoquer, dans la majorité des cas, une vasodilatation (Gilmartin *et al.*, 2006), une diminution des résistances vasculaires périphériques (Leuenberger *et al.*, 1999 ; Gilmartin *et al.*, 2006 ; Thomson *et al.*, 2006) et une augmentation de la perfusion sanguine (Rootwelt *et al.*, 1996 ; Leuenberger *et al.*, 1999), permettant de

maintenir une quantité d'oxygène suffisante dans les tissus. De plus, on peut observer une diminution de la consommation d'oxygène par les cellules et une augmentation de l'extraction d'oxygène dans les tissus (Stevens *et al.*, 2007).

De nombreuses études ont montré qu'une hyperoxémie induite par l'inhalation de hautes concentrations d'oxygène (FiO_2 élevée) conduisait à une vasoconstriction périphérique (Bredle *et al.*, 1988 ; Tsai *et al.*, 2003 ; Rossi *et al.*, 2007 ; Rousseau *et al.*, 2007) et à une augmentation des résistances vasculaires périphériques (Crawford *et al.*, 1997 ; Mak *et al.*, 2002 ; Thomson *et al.*, 2006 ; Rossi *et al.*, 2007). En effet, lorsque la PO_2 est identique dans le sang de part et d'autre d'un shunt précapillaire, ce dernier se ferme, car l'apport d'oxygène aux tissus est alors suffisant.

En outre, on pense que l'hyperoxémie entraînerait la formation de radicaux libres qui inactiveraient l'un des facteurs responsables de la vasodilatation : l'oxyde nitrique. Il s'en suivrait une augmentation du tonus vasculaire basal et une diminution de la capacité de vasodilatation dépendante de l'oxyde nitrique (Crawford *et al.*, 1997 ; Mak *et al.*, 2002 ; Waring *et al.*, 2003). C'est pourquoi, un apport important d'oxygène dans le sang semble provoquer une diminution de la perfusion tissulaire (Milone *et al.*, 1999 ; Mak *et al.*, 2002 ; Tsai *et al.*, 2003 ; Rousseau *et al.*, 2005 ; Rossi *et al.*, 2007 ; Rousseau *et al.*, 2007) et une mauvaise distribution du sang dans les tissus (Bredle *et al.*, 1988 ; Tsai *et al.*, 2003) .

La perfusion tissulaire paraissant réduite lors d'hyperoxémie, on peut se demander si l'oxygénation tissulaire est, en conséquence, diminuée par rapport au niveau normoxique ou si elle est toutefois maintenue à un niveau suffisant grâce à la quantité importante d'oxygène présente dans le sang. Il semble, en tous cas, qu'en hyperoxémie, la quantité d'oxygène délivrée aux tissus soit plus élevée qu'en hypoxémie dans certains organes (Rootwelt *et al.*, 1996 ; Haase *et al.*, 2004), mais que le taux d'extraction de l'oxygène par les tissus soit plus faible en hyperoxémie qu'en hypoxémie (Bredle *et al.*, 1988 ; Stevens *et al.*, 2007).

Apparaît ainsi tout l'intérêt de mesurer de façon précise l'oxygénation tissulaire en fonction de l'oxémie de l'individu.

C. L'oxygénation musculaire peut se mesurer grâce à la spectroscopie dans le proche infrarouge

La Spectroscopie dans le Proche InfraRouge (NIRS : Near InfraRed Spectroscopy) est une technique récente. Ces dernières années est apparu un intérêt grandissant pour l'utilisation de la méthode NIRS comme outil de mesure de l'activité métabolique du cerveau et des muscles. Cette mesure est basée sur les variations de concentrations tissulaires en hémoglobine oxygénée ou désoxygénée en réponse à une activation. Ces variations entraînent une modification quantifiable des caractéristiques d'absorption et de diffusion de la lumière par les tissus, les deux types d'hémoglobine ayant des spectres d'absorption différents dans les régions proches de l'infrarouge. Cette technique présente de nombreux avantages : elle est rapide, non invasive, inoffensive et peut être facilement utilisée au chevet du patient ou en peropératoire. De plus, elle fournit des informations dynamiques et peut être aisément réalisée en continu ou plusieurs fois chez le même patient au cours de son suivi.

1. La méthode NIRS s'appuie sur l'absorption par les tissus de la lumière dans le proche infrarouge

La méthode NIRS utilise comme radiation la lumière située dans les régions du spectre proches de l'infrarouge. Cette lumière est émise en un point de la peau, perpendiculairement à sa surface, et, une fois transmise, elle est recueillie à quelques centimètres de distance en un autre point de la surface cutanée. Entre les deux, une partie de la lumière a été absorbée ou dispersée par les tissus sous-jacents. L'absorption de la lumière sur ce trajet dépend de la composition des tissus traversés en molécules absorbantes. Dans le proche infrarouge, il s'agit essentiellement de deux chromatophores : l'hémoglobine oxygénée (HbO_2) et l'hémoglobine désoxygénée (HHb).

Les courbes d'absorption des hémoglobines oxygénée et désoxygénée s'inversent autour de 800 nm. Aux longueurs d'onde proches de l'infrarouge, elles sont donc bien différenciées de part et d'autre de ce point (figure 33). En conséquence, il devient possible de mesurer les concentrations en hémoglobines en utilisant plusieurs longueurs d'onde d'émission.

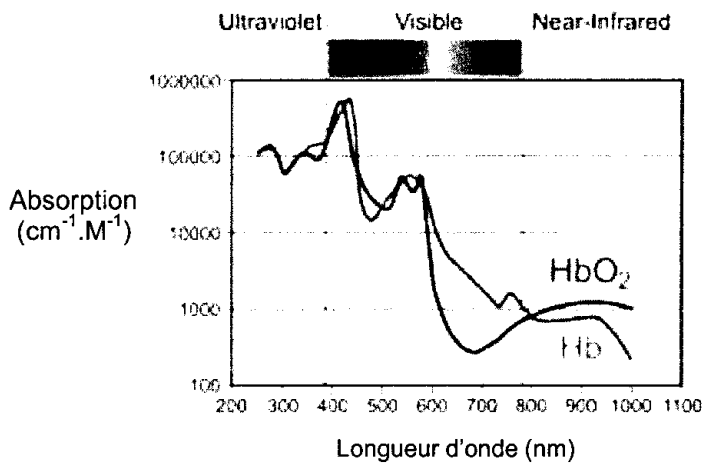


Figure 33 : Spectre d'absorption des hémoglobines oxygénée et désoxygénée en fonction de la longueur d'onde de la lumière utilisée

Aux mêmes longueurs d'onde, les molécules d'eau, qui constituent l'essentiel des tissus vivants, absorbent très peu la lumière : c'est pourquoi la méthode NIRS ne chauffe pas les tissus et s'avère inoffensive.

2. Le principe NIRS repose sur des lois physiques comme la loi de Beer-Lambert

a. Loi de Beer-Lambert

Si on envoie de la lumière dans une solution contenant une molécule ayant son pic d'absorption à la longueur d'onde utilisée et qu'on la détecte à sa sortie, on peut mesurer ce qui a été absorbé (A). La loi de Beer-Lambert permet alors de calculer la concentration de la molécule (c) sur le trajet parcouru par la lumière (d) : $\mathbf{A = \log [I_0/I] = \alpha \cdot c \cdot d}$ (figure 34).

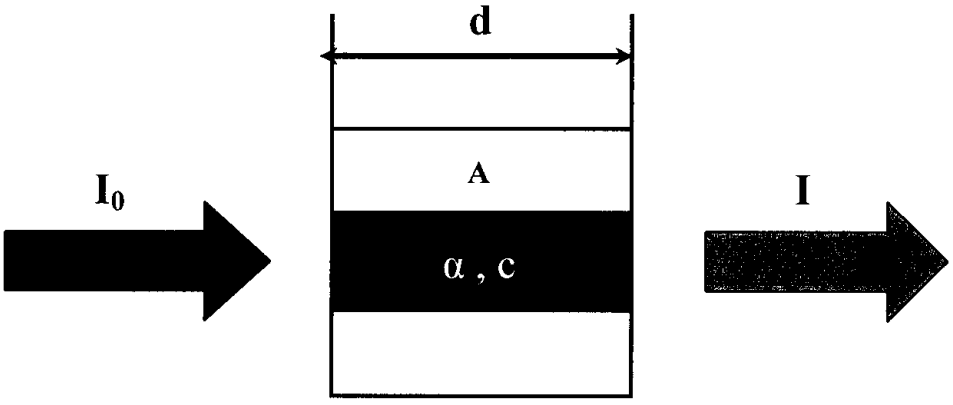


Figure 34 : Schématisation de la traversée d'une solution par une lumière

avec : I_0 = Lumière émise, I = Lumière détectée, A = Absorption, α = Coefficient d'extinction spécifique à la molécule étudiée, c = Concentration de la molécule étudiée, d = Distance entre l'émetteur et le détecteur

En réalité, la loi de Beer-Lambert ne prend en considération que l'absorption de la lumière, mais, lorsqu'elle traverse un milieu, la lumière subit également une dispersion. En chimie, on utilise cette loi pour effectuer des titrages de solutions qui sont très diluées, sur de faibles distances, et qui donc dispersent peu la lumière. Toutefois, dans un milieu dense comme le sont les tissus, la dispersion ne peut plus être négligée : on emploie donc la loi de Beer-Lambert modifée.

b. Loi de Beer-Lambert modifiée

$$\boxed{A = \log [I_0/I] = \alpha \cdot c \cdot d \cdot x + K}$$

Avec :

- x = Distance moyenne parcourue par la lumière détectée (= « Pathlength »)

  Il faut se rappeler que les photons ne suivent pas un chemin en ligne droite dans les tissus. Des photons peuvent être captés par le récepteur alors qu'ils ont été dispersés hors du flux dans un premier temps, puis réintégrés dans le flux dans un second temps. Ils sont considérés par la machine comme des photons transmis sans dispersion. x permet ainsi de corriger le facteur d et de prendre en compte ces photons dont le trajet dans les tissus a été plus long.
- K = Perte de signal dû à la dispersion dans le tissu

  C'est une correction de A due au fait que les photons dispersés hors du flux peuvent, à tort, être considérés comme absorbés par les tissus.

Les facteurs α, x et d sont fixes. On suppose que K ne varie pas dans le temps. Ainsi, seule la concentration de la molécule étudiée peut faire varier l'absorption :

$$\boxed{\Delta A = \Delta c \cdot \alpha \cdot d \cdot x}$$

c. Spatial Resolved Spectroscopy

Cette méthode s'appuie sur la détection de la lumière par deux récepteurs situés à des distances différentes de la source lumineuse. Une lumière d'intensité I_0 est envoyée dans les tissus en un point S et se retrouve atténuée, car en partie absorbée ou dispersée. On détecte la

lumière dispersée d'intensité I_1 en deux points a et b, proches l'un de l'autre. On observe alors que l'intensité lumineuse est plus importante en a qu'en b : a est, en effet, plus proche de la source lumineuse que b. Si la distance d entre la source et les points a et b est faible, la lumière ne subira pas sur son chemin les mêmes pertes dues à l'absorption et à la dispersion entre S et a qu'entre S et b. Dans le cas où d est plus grand (exemple de la distance entre S et les points a' et b'), on observera également une intensité I_1' plus importante en a' qu'en b'. Cependant, on notera à cette distance que les pertes par dispersion deviennent homogènes : ainsi, elles sont considérées comme identiques aux points a' et b' (figure 35).

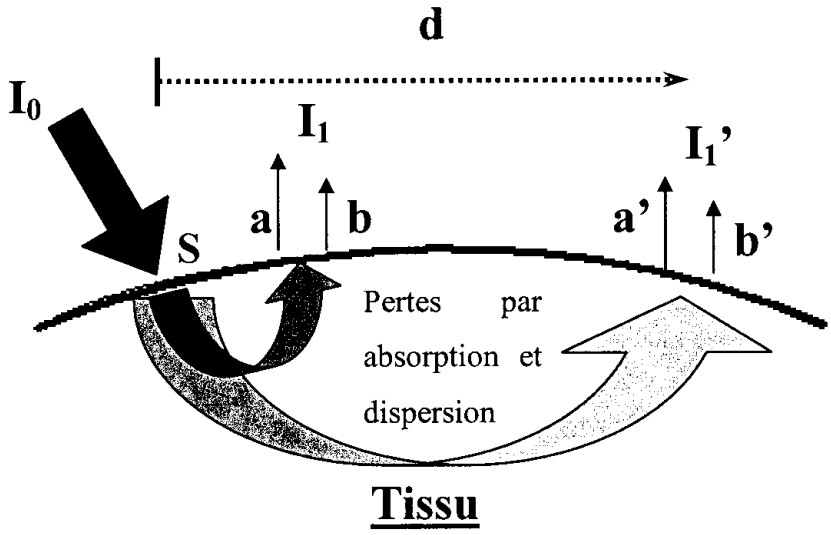


Figure 35 : Détection de la lumière après son parcours dans les tissus par deux récepteurs

Ce phénomène permet donc d'interpréter une différence d'intensité I_1' entre a' et b' comme la différence des pertes par absorption entre [S et a'] et [S et b'] et de conclure que la variation d'absorption locale est fonction de d. La mesure de I_1' par des détecteurs très proches a' et b' (représentant la pente $\partial A/\partial \rho$), éloignés de S par une importante distance ρ, permet de calculer, d'une part, l'index d'oxygénation tissulaire TOI (%) = [k HbO_2 / (k HbO_2 + k HHb)] représentant la saturation tissulaire de l'hémoglobine en oxygène et, d'autre part, l'index d'hémoglobine tissulaire THI (unité arbitraire) = [k HbO_2 + k HHb], reflet du volume sanguin circulant, où k est une constante de dispersion et A, l'atténuation de la lumière. Ces calculs sont basés sur une équation de diffusion des photons. Le TOI doit être différencié de la saturation de l'hémoglobine en oxygène mesurée par oxymètre de pouls ou analyse des gaz du sang artériel. En effet, le TOI prend en compte la saturation globale du tissu, artérielle et veineuse, alors que les deux autres méthodes déterminent la saturation en oxygène du sang artériel seulement.

CONCLUSION

L'oxygénation d'un tissu dépend de la quantité de sang qui lui est délivré et de la teneur de ce sang en oxygène. La fonction pulmonaire, que nous n'avons pas détaillée ici, joue un rôle prépondérant, ainsi que la fonction circulatoire qui amène les globules rouges chargés d'oxygène jusqu'aux tissus. En outre, l'hémoglobine fixe et relargue l'oxygène selon les conditions du milieu. Un défaut dans l'oxygénation tissulaire peut ainsi avoir différentes causes, parfois dépendantes les unes des autres.

La mesure de l'oxygénation musculaire est rendue plus aisée aujourd'hui par la mise en œuvre de nouvelles techniques, non invasives et faciles d'utilisation, comme celles qui utilisent la méthode de spectroscopie dans le proche infrarouge. Grâce à ces technologies, un monitoring continu de la perfusion et de l'oxygénation tissulaires pourrait être envisagé systématiquement dans le futur au cours des interventions chirurgicales. Utilisée dans un contexte expérimental, la spectroscopie dans le proche infrarouge est un outil intéressant pour évaluer, en particulier, les variations de l'oxygénation musculaire en fonction de l'oxémie.

Deuxième partie :

Etude expérimentale

Introduction

Contexte scientifique

Il est démontré qu'un stress oxydant peut modifier le comportement du globule rouge et notamment sa capacité à se déformer. La viscosité sanguine, dont le principal facteur dans la microcirculation est la rhéologie du globule rouge, influe sur la perfusion, donc sur l'oxygénation tissulaires. Or, lors des anesthésies pratiquées sur le cheval, on place souvent l'animal en hyperoxémie pour palier à des défauts de ventilation et de diffusion. Cette situation peut créer un stress oxydant dans le sang et, par effet de cascade, elle est susceptible d'altérer l'oxygénation musculaire et de participer ainsi à l'apparition de myosites postanesthésiques.

Objectif

Nous voulons déterminer les effets de l'hyperoxémie induite pendant une anesthésie volatile sur la viscosité sanguine, la perfusion et l'oxygénation musculaires du cheval.

Principe de l'expérimentation

Il apparaît intéressant de mesurer les conséquences de deux protocoles anesthésiques, l'un sous 21 % d'oxygène (protocole témoin), l'autre sous 100 % d'oxygène et de comparer l'évolution des facteurs de variation de l'oxygénation tissulaire lors de ces deux traitements grâce à l'étude de paramètres comme la viscosité sanguine, le débit sanguin dans le muscle et la concentration en oxyhémoglobine tissulaire.

I. Sujets, matériels et méthodes

Le protocole d'expérimentation détaillé ci-dessous a été approuvé par le comité d'éthique pour l'expérimentation animale (n° 06/32) de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, France.

A. Sujets

Cette étude a été menée sur six chevaux sains hongres de 6,8 ± 1,8 ans, de robe alezane ou baie, pesant 570,0 ± 56,5 kg, issus de la même écurie. Des analyses sanguines - numération-formule, mesure des concentrations en urée, créatinine, gamma glutamyl transférase (GGT), aspartate aminotransférase (AsAT) et phosphatases alcalines (PAL) - et un examen clinique ont été effectués avant le début de l'expérimentation afin de vérifier l'état de santé des sujets. Arrivés trois semaines avant le début du protocole, les animaux ont tous été placés dans un même paddock et nourris exclusivement de foin, ceci jusqu'à la fin de l'étude. Chaque cheval portait un tatouage qui a été utilisé pour le recueil des résultats. Par la suite, nous identifierons les chevaux par leur numéro : 6074, 6169, 6194, 6226, 6227 et 6234.

B. Tirage au sort de l'ordre de passage

Après un tirage au sort qui a déterminé l'ordre de passage des individus (tableau 2), chaque cheval a subi deux anesthésies de deux heures : l'une sous ventilation à l'air (FiO_2 = 21 %) et l'autre sous inhalation d'oxygène pur (FiO_2 = 100 %). Entre les deux anesthésies, les chevaux ont passé trois semaines dans un paddock sans aucune manipulation.

Tableau 2 : Date et ordre de passage des chevaux, tirés au sort
(le chiffre entre parenthèses donne l'ordre de passage dans la matinée)

CHEVAL	FiO_2 = 21 %	FiO_2 = 100 %
6074	23/10/2006 (2)	05/10/2006 (2)
6169	23/10/2006 (1)	06/10/2006 (2)
6194	25/10/2006 (1)	05/10/2006 (1)
6227	04/10/2006 (1)	27/10/2006 (1)
6234	04/10/2006 (2)	25/10/2006 (2)
6226	06/10/2006 (1)	27/10/2006 (2)

C. Matériels et méthodes

1. Protocole anesthésique

L'anesthésie des chevaux a été précédée d'une diète hydrique de douze heures. On a également effectué un examen clinique minutieux de l'animal avant chaque expérimentation.

Le matin de l'anesthésie, quelques minutes après une injection intramusculaire de 0,04 mg/kg d'acépromazine (VETRANQUIL®, Céva Santé Animale, Libourne, France), un cathéter était mis en place au niveau de la veine jugulaire droite des deux chevaux étudiés ce jour-là. Le premier cheval était ensuite conduit dans un box d'induction. La prémédication était alors complétée par une injection intraveineuse de 0,04 mg/kg de romifidine (SEDIVET®, Boehringer Ingelheim, Ingelheim, Allemagne) et l'induction assurée grâce à une injection intraveineuse de 2,2 mg/kg de kétamine (IMALGENE® 1000, Mérial, Lyon, France).

Une fois le cheval couché, il était rapidement intubé avec une sonde endotrachéale, puis positionné en décubitus latéral gauche sur une table matelassée et, enfin, branché à un circuit fermé, sous ventilation à pression positive intermittente. Il inhalait alors de l'air et de l'isoflurane pendant que le monitoring était mis en place. L'entretien de l'anesthésie s'effectuait au moyen de l'isoflurane (10 L/mn), complété, si nécessaire, par des bolus de kétamine. Une perfusion de soluté isotonique (RINGER LACTATE®, Céva Santé Animale, Libourne, France) était branchée sur le cathéter veineux et administrée à hauteur des besoins d'entretien. Une perfusion de dobutamine (DOBUTREX®, Lilly, Suresnes, France) était utilisée si nécessaire.

2. Protocole expérimental

Après une période de stabilisation des paramètres monitorés (pression artérielle, électrocardiogramme (ECG), capnographie...) d'environ 30 minutes sous air, le temps T0 était prononcé : des prises de sang artériel ont alors été effectuées à partir d'un cathéter placé dans l'artère métatarsienne droite ; des mesures et des enregistrements musculaires ont été réalisés au niveau du muscle glutéal médial droit, dans une zone préalablement rasée.

A partir de ce T0, l'anesthésie était poursuivie pendant 1 heure et 30 minutes sous air ou sous 100 % d'oxygène selon le planning préétabli. Un temps T_{100} a été défini à T0 + 10 minutes lors des anesthésies sous oxygène pur, pour visualiser les variations qu'ont subies les animaux après le changement de régime en oxygène.

Au temps T1 = T0 + 90 minutes, les mêmes prélèvements et mesures ont été répétés. L'anesthésie était alors stoppée et le cheval placé dans un box de réveil pour un relevé sans assistance.

3. Paramètres étudiés

a. Paramètres monitorés en continu

Nous avons surveillé en continu des paramètres tels que la fréquence cardiaque, la fréquence respiratoire et la profondeur de l'anesthésie. Pendant toute la durée de l'anesthésie, l'animal était également branché à un électrocardiographe, à un oxymètre de pouls (Moniteur EtCO2 / SpO_2, Novametrix Medical System Inc., Wallingford, Etats-Unis) placé au bout de la langue du cheval et à un capnographe, avec analyse des gaz inspirés et expirés (O_2, ISO, CO_2). La pression artérielle était disponible selon deux méthodes : invasive (SIRECUST® 402, Siemens, Münich, Allemagne) et non invasive (DINAMAP® Critikon, GE Healthcare, Chalfont St Giles, Grande-Bretagne).

b. Etude des paramètres sanguins

A T0 et T1, les prises de sang artériel ont été analysées pour déterminer les gaz sanguins, l'hématocrite et les concentrations en hémoglobine et en protéines totales.

(1) Gaz sanguins

L'opti-CCA®, au moyen d'une cassette Opti CCA, type E-CA® (AVL, Schaffhausen, SUISSE) a été utilisé pour mesurer les gaz du sang artériel sur tube hépariné. Après aspiration automatique de l'échantillon, celui-ci a été analysé par colorimétrie, ce qui nous a permis de déterminer le pH sanguin, la pression partielle en dioxygène et en dioxyde de carbone, la saturation artérielle en oxygène, la concentration en bicarbonates et le base excess.

(2) Hématocrite et protéines totales

Un tube EDTA centrifugé a été utilisé pour une lecture manuelle de l'hématocrite et pour la mesure de la concentration en protéines totales par réfractométrie.

c. *Viscosité sur sang total*

Pour déterminer la viscosité sanguine de nos sujets, nous avons utilisé un viscosimètre type B 3.1 à chute de bille (figure 36). Le paramètre mesuré est le temps de chute d'une bille le long d'un tube cylindrique incliné de 10° (angle vérifié grâce à un niveau à bulle intégré) et rempli du sang étudié. Cette mesure permet ensuite d'obtenir la viscosité dynamique en mPa.s.

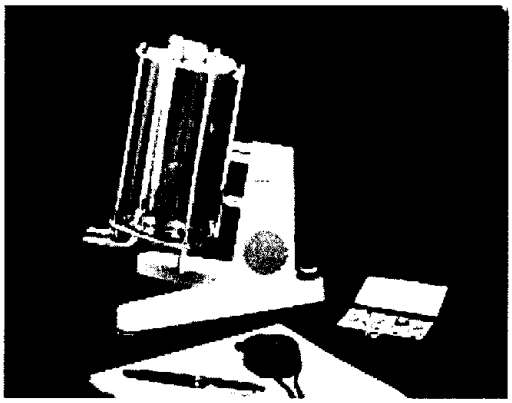


Figure 36 : Viscosimètre à chute de bille B 3.1

Une vitesse de chute élevée peut créer des turbulences dans le tube et perturber les mesures. A l'inverse, un temps de chute trop long peut générer des erreurs dues à la sédimentation du sang. Sur les six billes de différents diamètres et de différentes masses volumiques fournies, la bille de verre n°2 d'un diamètre de 15,63 mm a été choisie lors de tests préliminaires et selon les caractéristiques données par le fabricant.

Le compartiment externe du viscosimètre a été rempli d'une eau à 37°C, contrôlée par un thermomètre fourni avec l'appareil. Ainsi, le sang restait à une température proche de celle de l'organisme, ce qui permettait d'éviter des phénomènes de sédimentation ou d'agrégation artefactuelles qui auraient pu modifier la viscosité lors des mesures.

40 mL de sang artériel ont été prélevés à l'aide d'une seringue contenant 0,1 mL d'héparine (500 UI, soit une concentration de 12,5 UI/mL de sang) avant d'être introduits dans le tube interne de l'appareil. Les compartiments du viscosimètre étaient clos grâce à des bouchons à vis munis de joints d'étanchéité. Ces compartiments peuvent pivoter à 180° par

rapport au socle, ce qui permet de répéter les mesures sans ouvrir l'appareil : une fois la bille parvenue en bas du tube, il suffit de le retourner pour effectuer une nouvelle mesure.

Le temps de chute de la bille était alors relevé 5 fois, entre deux repères distants de 15 cm, toujours par le même opérateur. Une moyenne de ces 5 mesures a été calculée et utilisée dans une formule donnée par le fabricant pour déterminer la viscosité dynamique :

$$\eta = t \times (\rho_1 - \rho_2) \times K$$

où :

η est la viscosité dynamique en mPa.s,

t est le temps de chute de la bille,

ρ_1 est la masse volumique de la balle, donnée par le fabricant, ici 2,22 g/cm^3,

ρ_2 est la masse volumique du sang étudié, déterminée grâce à une balance de précision à deux décimales,

K est la constante de la bille choisie, donnée par le fabricant, ici 0,07 mPa.s.g^{-1}.

d. Perfusion musculaire

Un carré de peau sur la croupe était tondu, rasé, puis nettoyé. Au moyen de l'échographe ALOKA α 10 (Tokyo, Japon) (figure 37) et d'une sonde linéaire de 7,5 MHz, des séries de 5 mesures minimum ont été réalisées au niveau du muscle glutéal médial droit, sur un unique vaisseau d'environ 2 mm de diamètre, en utilisant une méthode Doppler de quantification couleur appelée « flow profile ».

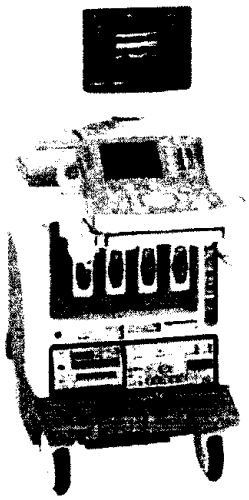


Figure 37 : Aloka® α 10

La vitesse des globules rouges dans le vaisseau varie au cours du cycle cardiaque, donc au cours du temps, et peut être affichée graphiquement en une courbe de vitesses. Cette dernière est intégrée pour calculer un débit sanguin moyen dans le temps. Il faut donc obtenir, au moyen de l'échographe, une coupe longitudinale du vaisseau passant par son diamètre maximal. Pour de bonnes mesures, il est impératif de s'assurer que la lumière vasculaire est entièrement remplie de couleur, sans bruit de fond, et que le flux est unidirectionnel, sans turbulences. On enregistre le flux sanguin sur 2 à 3 battements cardiaques, puis on place des points A et B ([AB] étant perpendiculaire à l'axe du vaisseau) et le curseur de correction de l'angle dans l'axe du flux (figure 38). L'appareil est alors en mesure de déterminer seul l'angle Doppler α, le diamètre du vaisseau et la vitesse du flux. Le débit est ensuite déduit de cette vitesse et de ce diamètre.

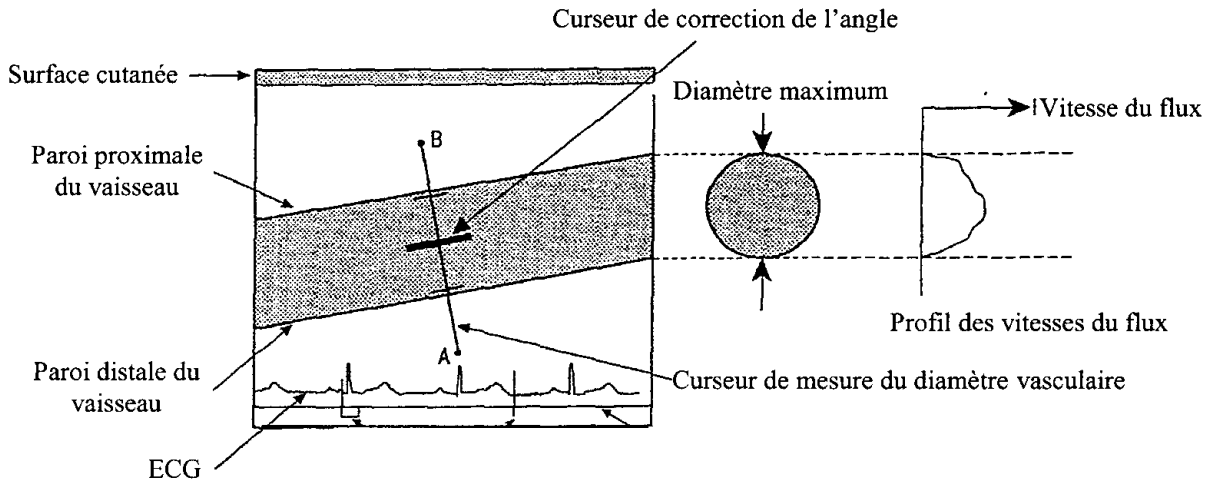


Figure 38 : Positionnement des points A et B sur le vaisseau et profil des vitesses

Nous avons ainsi enregistré les valeurs du diamètre vasculaire en millimètres (mm), du débit en millilitres par minute (mL/min) et de la vitesse du flux sanguin en centimètres par seconde (cm/s) à l'intérieur du vaisseau étudié aux temps T0 et T1 (figure 39). Seules les valeurs dont l'angle Doppler α était inférieur à 60° ont été retenues et interprétées.

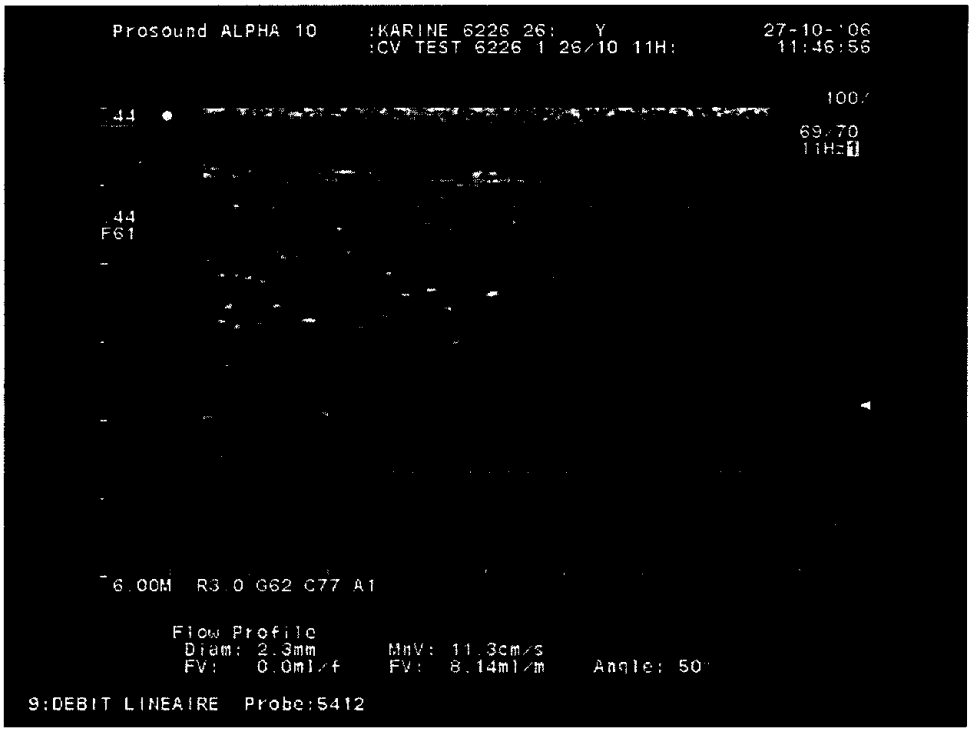


Figure 39 : Exemple d'image obtenue en Doppler couleur lors de l'expérimentation

Le profil des vitesses dans le vaisseau est affiché en vert, en haut à gauche, la pulsatilité est visible sur la courbe en bas.

e. Oxygénation musculaire

Le NIRO-200 (Hamamatsu Photonics, Japon) (figure 40) est un moniteur mesurant, de manière non invasive et quantitative, le niveau d'oxygénation des tissus en utilisant deux méthodes indépendantes de spectroscopie dans le proche infrarouge à trois longueurs d'onde : 750 nm, 820 nm, et 850 nm.

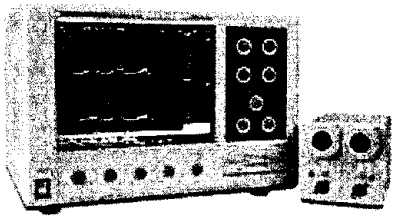


Figure 40 : Moniteur NIRO-200

La loi de Beer-Lambert modifiée permet de déterminer les variations relatives des hémoglobines oxygénée, réduite et totale : delta HbO_2, delta HHb and delta cHb en microMolaire (µM : 10^{-6} mole par litre).

Le NIRO-200 utilise également une méthode de spectroscopie "spatial resolved" (SRS) qui a permis d'obtenir des mesures quantitatives de l'index d'oxygénation tissulaire (tissue oxygenation index : TOI = HbO_2 / (HbO_2+HHb) * 100%) en pourcentage et de l'index d'hémoglobine tissulaire (tissue hemoglobin index : THI = HbO_2+HHb) selon une unité arbitraire. Ce dernier index peut également être affiché en tant que THI normalisé (nTHI) représentant la variation du pourcentage d'hémoglobine totale. L'utilisation simultanée des méthodes SRS et Beer-Lambert donne ainsi une description précise du statut hémodynamique du sujet et permet de vérifier l'exactitude et la corrélation de résultats obtenus grâce à deux méthodes indépendantes.

Les optodes du NIRO-200 sont composées d'un émetteur de 8 mm de diamètre et, 4 cm plus loin, de deux récepteurs distants de 2 mm. L'émetteur et les récepteurs sont fixés dans une coque en plastique fournie avec l'appareil (figure 41).

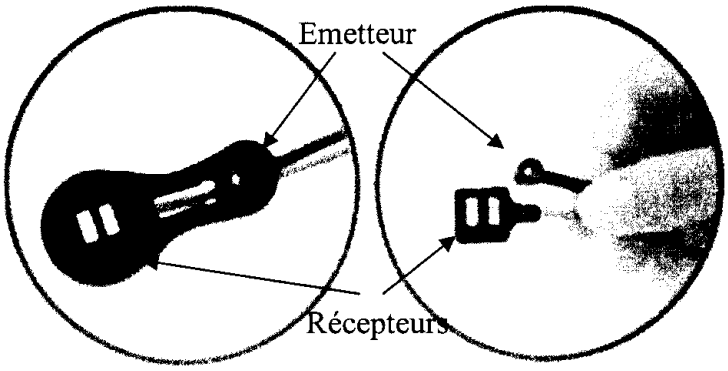


Figure 41 : Optodes du NIRO-200
(à gauche dans leur coque en plastique, à droite libres)

Maintenu par un adhésif double face fourni par le fabricant sur la zone rasée, préalablement utilisée pour les mesures Doppler, l'ensemble a été recouvert d'un épais tissu pour éviter toute lumière parasite au niveau du récepteur.

L'appareil envoie la lumière via une fibre optique jusqu'à l'optode émettrice. L'optode réceptrice permet la mesure de la lumière qui a traversé les tissus. L'unité centrale intègre les données et autorise une visualisation en temps réel des variations des concentrations en oxy- et en désoxyhémoglobine, de l'hémoglobine totale et des index TOI et THI. Un simple ordinateur portable enregistre les mesures. Leur fréquence est décidée par l'opérateur : nous avons choisi d'effectuer une mesure par seconde. La longueur parcourue par la lumière (pathlength) a été fixée à 24 : 4 (distance entre émetteur et récepteur) x 6 (pour le muscle glutéal du cheval) (Pringle *et al.*, 1999). Grâce à la vérification en temps réel des conditions de mesure par l'appareil et à l'utilisation simultanée de deux méthodes, les données que reçoit l'appareil sont contrôlées en continu et apparaissent donc plus fiables. Nous avons ainsi obtenu un enregistrement continu des paramètres pendant 1 heure et demie, de T0 à T1 (figure 42).

3. Analyses statistiques

Les résultats de l'expérience ont été analysés à l'aide du logiciel de statistiques R© (http://cran.cict.fr/). Nous avons tout d'abord vérifié que les valeurs de chaque paramètre étudié obéissaient à la loi normale grâce à un test de Shapiro-Wilk. Puis les données ont été analysées en comparant l'évolution des paramètres pour chaque FiO_2 aux différents temps (T0, T_{100} et T1) et les pourcentages de variation observés entre les deux traitements (21% et 100%) en utilisant un test de Student sur séries appariées. Les différences ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0,05$. Les résultats ont été exprimés en moyenne +/- écart-type.

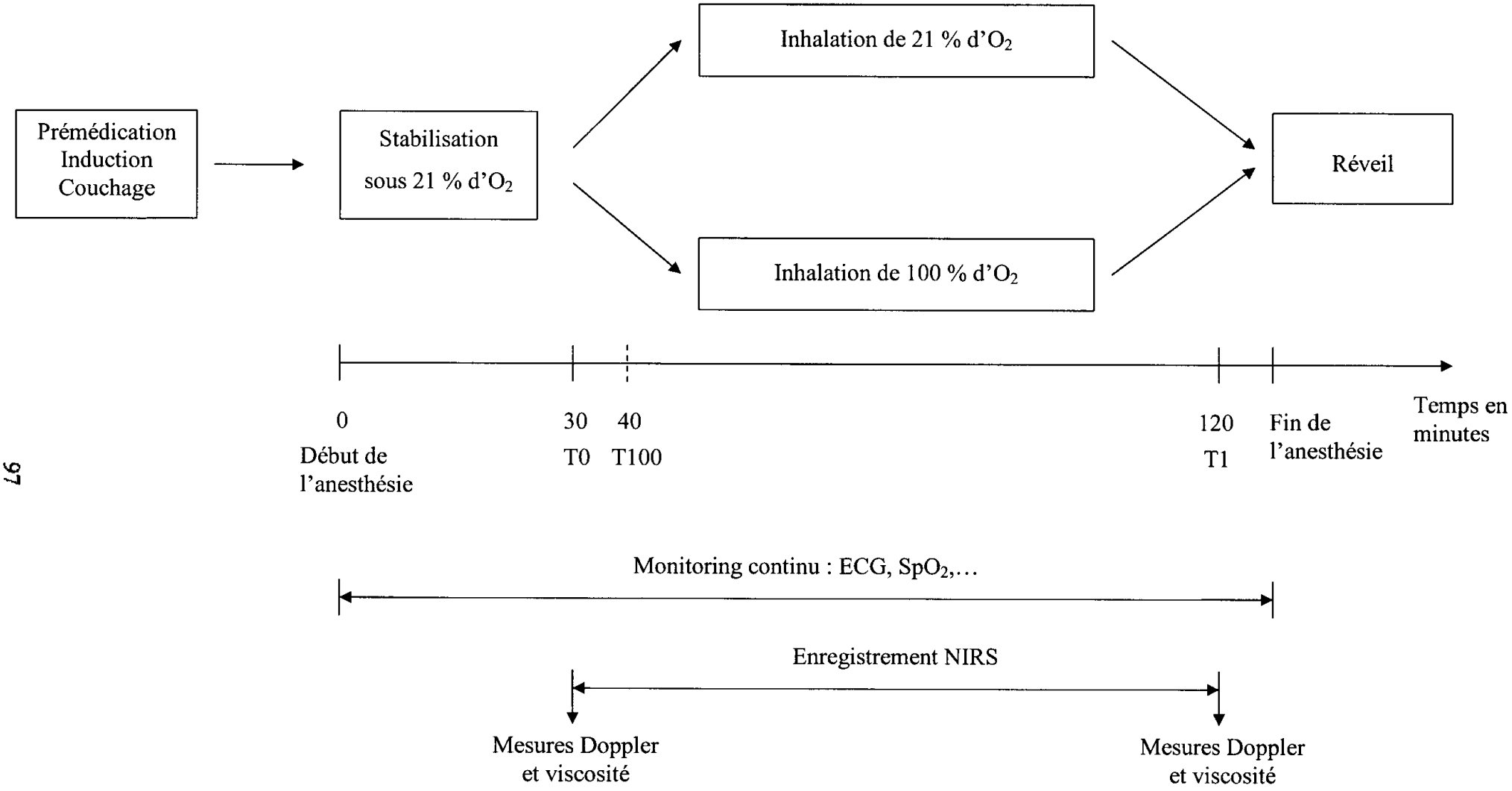


Figure 42 : Protocole expérimental schématisé

II. Résultats

Nous avons analysé les résultats en comparant les valeurs obtenues pour chaque paramètre aux différents temps de l'expérimentation : T0 et T1 lors de l'inhalation de 21 % d'oxygène, et T0, T_{100} et T1 lors de l'inhalation de 100 % d'oxygène.

La comparaison des valeurs obtenues à T0 (FiO_2 = 0,21) et à T0 (FiO_2 = 1) nous a permis de vérifier que les conditions à T0, après la période de stabilisation, étaient bien semblables pour tous les chevaux étudiés.
L'analyse des résultats aux temps T1 a permis de comparer le statut des chevaux à la fin des anesthésies, selon le taux d'oxygène qu'ils avaient inhalé.

Nous avons enfin étudié les résultats au sein de chaque groupe en calculant les pourcentages de variation observés au cours des anesthésies pour chaque FiO_2, afin de comparer les effets de chaque traitement.

A. Paramètres sanguins de contrôle

1. Pression partielle en dioxygène dans le sang artériel (PaO_2)

Les valeurs de la pression partielle en dioxygène dans le sang artériel des chevaux à T0, quelle qu'ait été la FiO_2, ont été statistiquement semblables (tableau 3).
De plus, elles n'ont pas significativement évolué entre T0 (50,0 +/- 15,2 mmHg) et T1 (60,8 +/- 10,0 mmHg) lors de l'inhalation de 21 % d'oxygène.

En revanche, nous avons observé une augmentation significative de la PaO_2 pour une FiO_2 de 100 % entre T0 (54,0 +/- 4,9 mmHg) et T1 (236,5 +/- 78,9 mmHg) ($p < 0,01$) et une différence significative entre T1(21%) et T1(100%) ($p < 0,01$). La comparaison des pourcentages de variation entre T0 et T1 de chaque traitement a été statistiquement significative ($p < 0,001$) (figure 43).

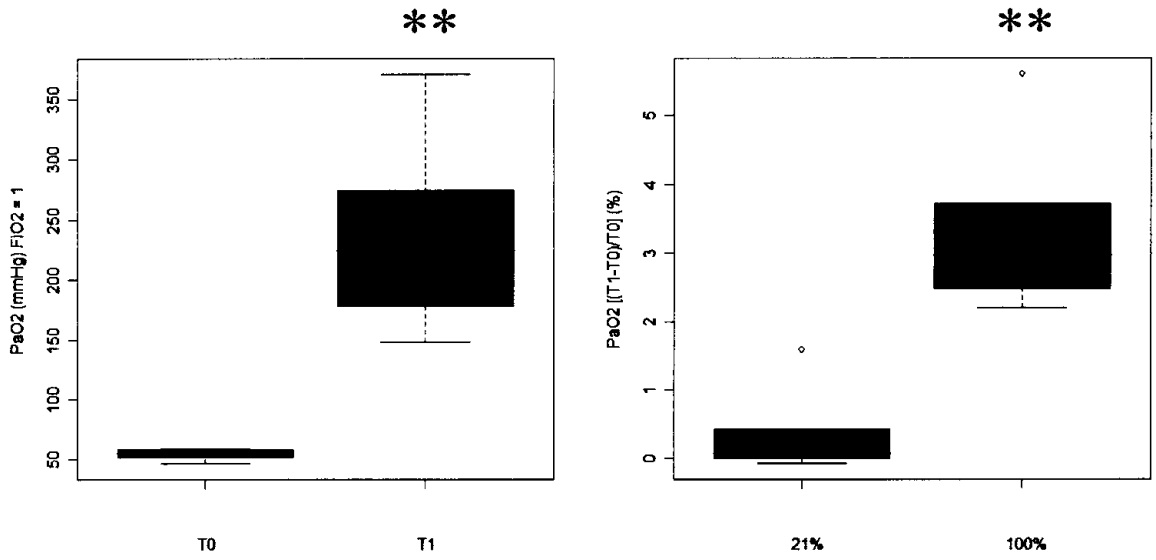


Figure 43 : Evolution de la PaO_2

(: $p < 0,01$)**

A gauche : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 1 A droite : pourcentages de variation à 21 % et à 100 %

Ainsi, lorsque le pourcentage d'oxygène inhalé a été augmenté, la pression partielle en dioxygène dans le sang artériel s'est élevée de manière significative.

2. Saturation artérielle de l'hémoglobine en dioxygène (SpO_2)

La saturation artérielle de l'hémoglobine en dioxygène a évolué de façon similaire à la PaO_2. Nous n'avons pas observé de différence significative entre T0 (21%) et T0 (100%) ou entre T0 (86,8 +/- 5,9 %) et T1 (88,8 +/- 5,0 %) à 21% (tableau 3).

En revanche, elle a augmenté entre T0 (88,2 +/- 3,7 %) et T1 (99,7 +/- 0,5 %) à 100 % ($p < 0,001$) et une différence significative a été notée entre T1 (21%) et T1 (100%) ($p < 0,01$) et entre les variations (T1-T0) ($p < 0,05$) (figure 44).

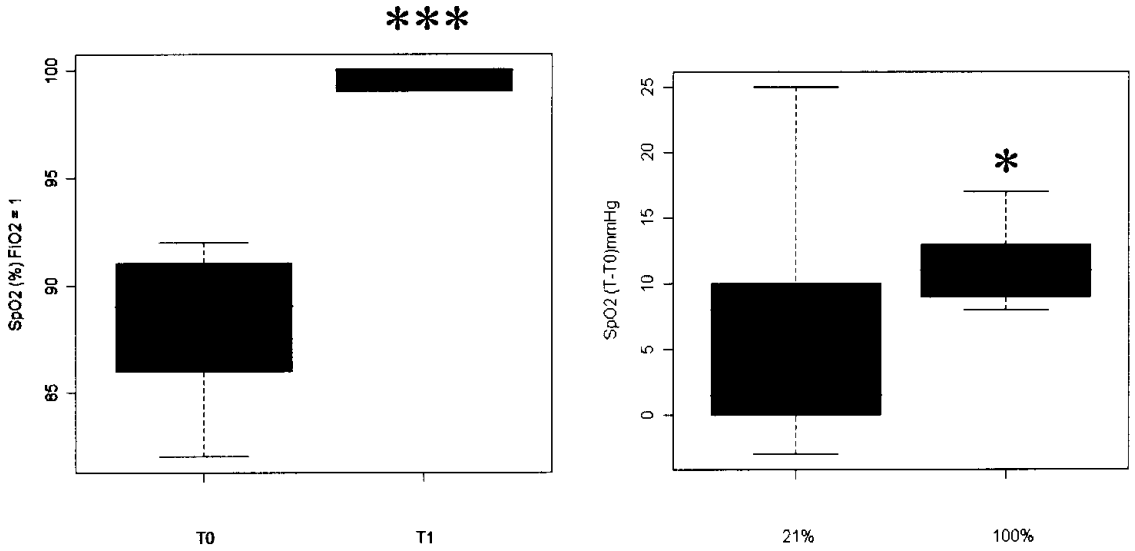


Figure 44 : Evolution de la SpO_2

(* : $p < 0,05$, *** : $p < 0,001$)

A gauche : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 1 **A droite : différence (T1 – T0) à 21% et à 100%**

Donc, la saturation artérielle de l'hémoglobine en dioxygène s'est élevée lorsque le taux de dioxygène inhalé a augmenté.

3. Pression partielle artérielle en dioxyde de carbone ($PaCO_2$)

Nous avons observé une différence significative entre T0 (21%) et T0 (100%) ($p < 0,01$) et une augmentation significative de la teneur du sang artériel en dioxyde de carbone entre T0 et T1, quelle qu'ait été la FiO_2 considérée ($p < 0,05$) (figure 45).

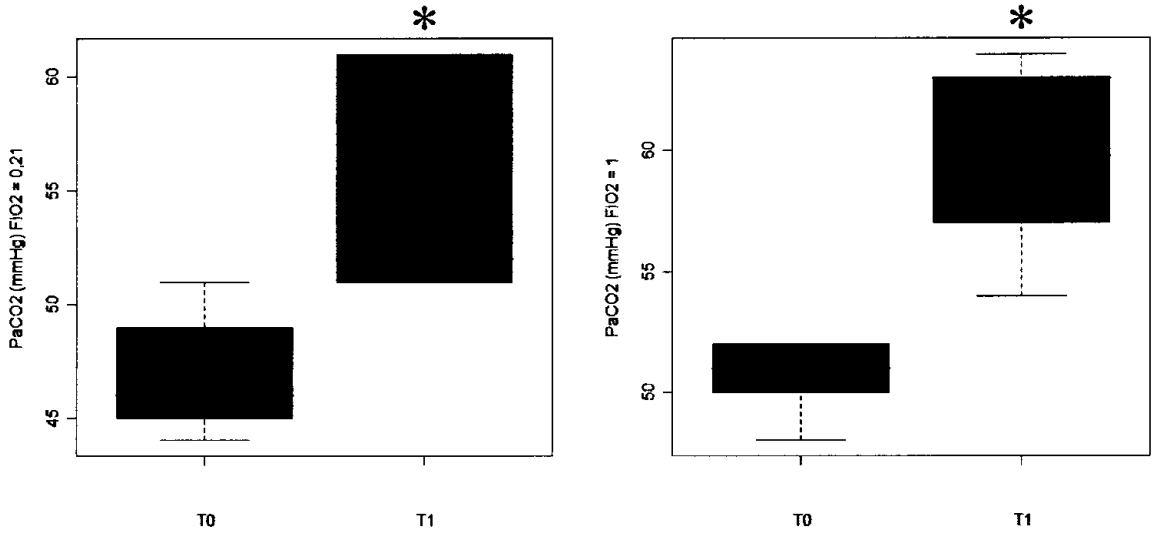


Figure 45 : Evolution de la $PaCO_2$

(* : $p < 0,05$)

A gauche : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 0,21 **A droite : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 1**

Ainsi, la variation de la $PaCO_2$ a été statistiquement similaire à 21 % et à 100 % et les valeurs à T1 (21%) et à T1 (100%) n'ont pas été significativement différentes (tableau 3).

Une hypercapnie a été observée à T1, quelle qu'ait été la FiO_2 considérée. La pression partielle en dioxyde de carbone dans le sang artériel a donc augmenté au cours de l'anesthésie, même sous 100 % d'oxygène.

4. Taux d'hématocrite et concentration en hémoglobine

Bien que l'on ait remarqué une légère diminution du taux d'hématocrite et de la concentration en hémoglobine chez la plupart des chevaux entre T0 et T1, et quelle qu'ait été la FiO_2, nous n'avons obtenu aucune variation statistiquement significative en comparant les temps d'expérimentation et les traitements (tableau 3).

Ainsi, l'hématocrite et le taux d'hémoglobine sont restés statistiquement similaires tout au long des anesthésies, quelle qu'ait été la FiO_2.

5. Pression artérielle moyenne (PA)

Les valeurs à T0 (21%) et à T0 (100%) n'ont pas été statistiquement différentes.

Nous avons observé une augmentation significative de la pression artérielle moyenne entre T0 (65,17 mmHg +/- 4,83) et T1 (74,5 mmHg +/- 2,66) à 100 % ($p < 0,01$) (figure 46), alors que son augmentation à 21 % n'a pas été significative (tableau 3), bien que les valeurs aient été proches.

La comparaison entre 21 % et 100 % des pourcentages de variation a d'ailleurs montré que les augmentations n'ont pas été statistiquement différentes.

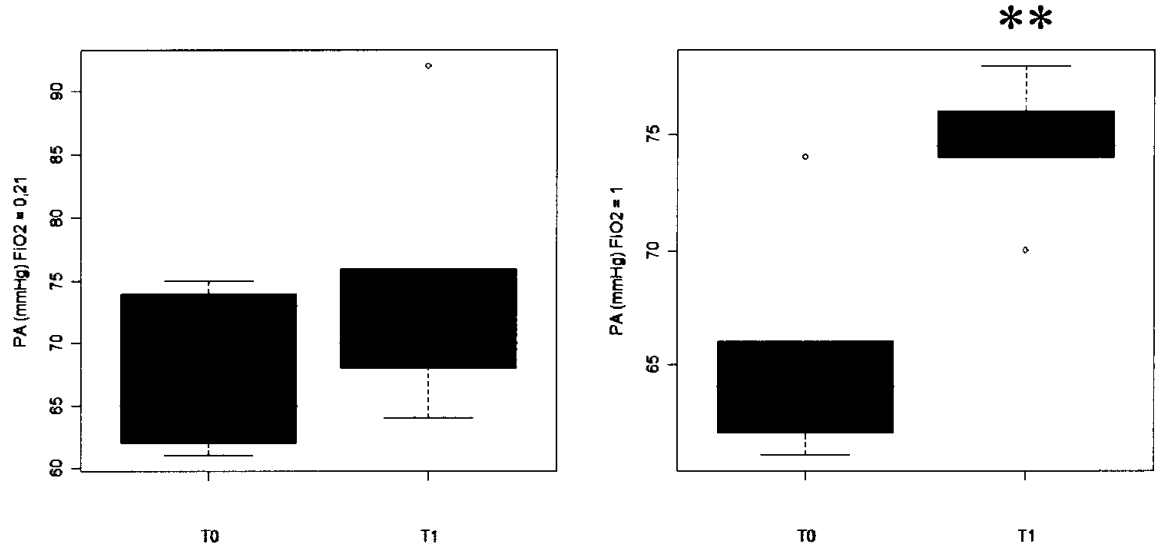


Figure 46 : Evolution de la pression artérielle entre T0 et T1

(: p < 0,01)**

A gauche : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 0,21 **A droite : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 1**

Nous n'avons observé aucune différence significative dans l'évolution de la pression artérielle moyenne entre les différents taux d'oxygène inhalé. Cependant, une augmentation significative a été notée lors de l'inhalation d'oxygène pur.

6. Concentration en protéines totales (PT)

La variation de la concentration en protéines totales dans le sang a été similaire sous 21 % et sous 100 % d'oxygène inhalé (tableau 3) : en effet, nous avons observé une diminution significative entre T0 et T1, quelle qu'ait été la FiO_2 ($p < 0,01$) (figure 47).

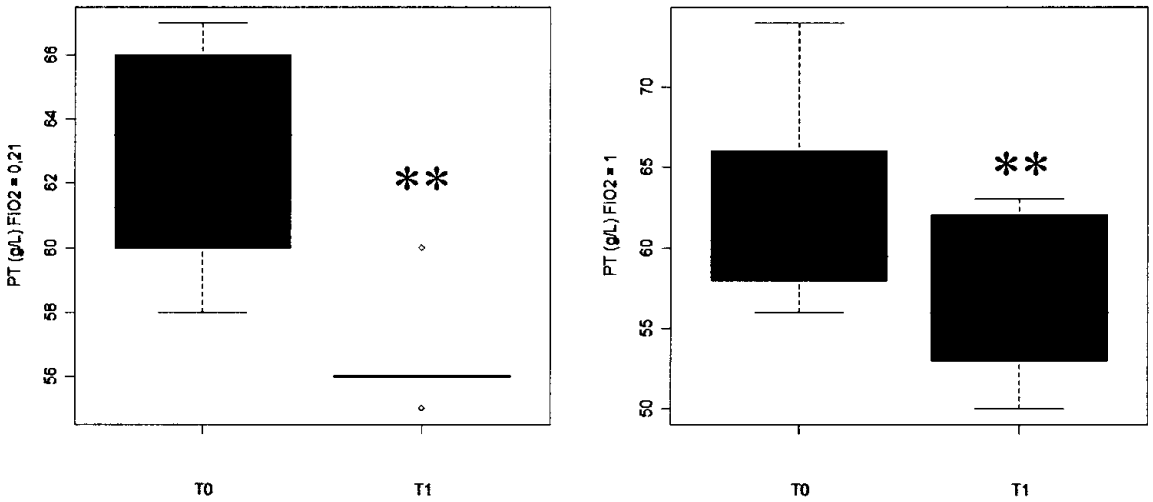


Figure 47 : Evolution de la concentration en protéines totales

(: p < 0,01)**

A gauche : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 0,21 **A droite : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 1**

La comparaison des valeurs à T0 ou à T1 entre les deux traitements n'a pas été statistiquement différente (tableau 3).

La concentration en protéines totales dans le sang a donc significativement diminué au cours des anesthésies, quel qu'ait été le taux de dioxygène inhalé.

B. Viscosité sanguine

Nous n'avons constaté aucune différence significative entre les variations de la viscosité du sang artériel à 21 % et à 100 %, ainsi qu'entre T0 et T1 à 21 % (tableau 3). Nous avons seulement observé une tendance non significative à la diminution entre T0 et T1 à 100% (figure 48).

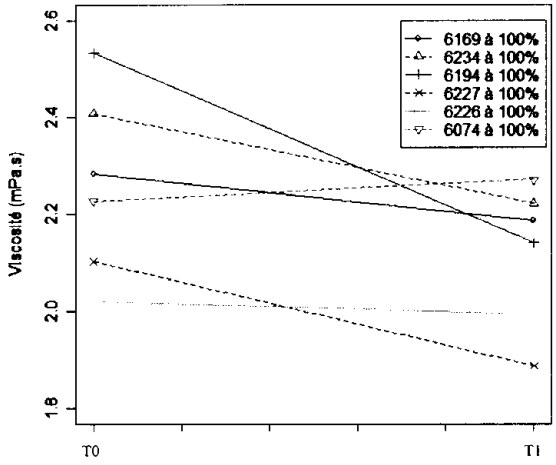


Figure 48 : Evolution de la viscosité sanguine entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 1

La viscosité du sang artériel total n'a donc pas significativement varié au cours des différents traitements.

Tableau 3 : Récapitulatif des moyennes et écarts-types des paramètres sanguins étudiés à T0 et T1

Résultats statistiquement différents :

a : entre T0 et T1 de la même FiO_2 ; b : entre les T1 ; c : entre les T0

	$FiO_2 = 0,21$		$FiO_2 = 1$	
	T0	**T1**	**T0**	**T1**
PaO_2 (mmHg)	50 +/- 15,2	60,83 +/- 9,99	54 +/- 4,86	236,5 +/- 78,85[ab]
SpO_2 (mmHg)	86,8 +/- 5,93	88,8 +/- 5,02	88,17 +/- 3,66	99,67 +/- 0,52[ab]
$PaCO_2$ (mmHg)	46,83 +/- 2,71[c]	54,67 +/- 4,97[a]	50,6 +/- 1,67[c]	60,2 +/- 4,44[a]
Hématocrite (%)	31,33 +/- 4,97	32,5 +/- 5,09	33 +/- 3,41	31,67 +/- 2,42
Hémoglobine (g/dL)	10,28 +/- 1,91	10,15 +/- 2,48	10,57 +/- 1,3	9,85 +/- 1,47
PA (mmHg)	67 +/- 6,03	73,33 +/- 9,93	65,17 +/- 4,83	74,5 +/- 2,66[a]
PT (g/L)	63 +/- 3,58	56,5 +/- 1,76[a]	62,17 +/- 6,77	56,67 +/- 5,2[a]
Viscosité sanguine (mPa.s)	2,1 +/- 0,37	2,17 +/- 0,36	2,26 +/- 0,19	2,12 +/- 0,15

C. Perfusion musculaire

1. Diamètre de l'artériole

Aucune variation statistiquement significative du diamètre de l'artériole échographiée n'a été détectée entre 21 % et 100 % ainsi qu'entre T0 et T1, à 21 % ou à 100 % (tableau 4).

Tableau 4 : Evolution du diamètre du vaisseau sanguin étudié entre T0 et T1

	Diamètre (mm)			
	FiO_2 = 0,21		FiO_2 = 1	
	T0	T1	T0	T1
Moyenne	2,14	2,04	2,03	2,26
Ecart-type	0,25789533	0,52276814	0,27909974	0,26192397

Aucune variation significative du diamètre de l'artériole étudiée n'a été observée lors des anesthésies.

2. Vitesse du flux sanguin

Ce paramètre n'a montré aucune différence statistiquement significative entre 21 % et 100 %. La vitesse du flux sanguin dans l'artériole a semblé augmenter à 21 % et diminuer à 100 % (tableau 5), mais les analyses statistiques n'ont révélé aucune variation significative, quelle qu'ait été la FiO_2 considérée.

Tableau 5 : Evolution de la vitesse du flux sanguin dans l'artériole étudiée entre T0 et T1

	Vitesse du flux sanguin (cm/s)			
	FiO_2 = 0,21		FiO_2 = 1	
	T0	T1	T0	T1
Moyenne	11,93	15,07	10,46	9,9
Ecart-type	4,09138322	6,54187314	5,44630027	6,14158103

La vitesse du flux sanguin dans l'artériole étudiée n'a pas significativement varié au cours des différentes anesthésies.

3. Débit sanguin

De même, le débit sanguin dans l'artériole étudiée n'a pas significativement varié selon la FiO_2 ou entre T0 et T1 (tableau 6).

Tableau 6 : Evolution du débit sanguin dans l'artériole étudiée entre T0 et T1

	Débit sanguin (mL/min)			
	FiO_2 = 0,21		FiO_2 = 1	
	T0	T1	T0	T1
Moyenne	9,93	15,49	10,46	11,51
Ecart-type	4,33450161	13,1511834	9,65044127	9,86529358

Le débit sanguin à l'intérieur du vaisseau étudié n'a pas semblé avoir été affecté par les différents traitements.

D. Oxygénation musculaire

Avant toute mesure, l'appareil commence une initialisation des paramètres qu'il place arbitrairement à une valeur basale de 0 pour les hémoglobines et 1 pour le THI. Le TOI, lui, ne possède pas de valeur basale.

Ainsi, en ce qui concerne les hémoglobines et le THI, on ne peut pas comparer statistiquement des valeurs entre les individus, mais seulement les pourcentages de variation. Pour un individu et une anesthésie donnés, on peut cependant comparer les valeurs obtenues. A l'inverse, les valeurs du TOI peuvent être comparées entre individus à chaque temps de l'expérimentation.

1. Hémoglobines oxygénée, désoxygénée et totale

a. Pour une FiO_2 = 0,21

Lorsque le cheval a inhalé 21% d'oxygène, la concentration en hémoglobine oxygénée HbO_2 a significativement diminué entre T0 et T1 ($p < 0,05$), tandis que, dans le même temps, la concentration en hémoglobine désoxygénée HHb augmentait significativement ($p < 0,01$) (figures 49 et 50). La concentration en hémoglobine totale cHb n'a subi, elle, aucune variation significative entre T0 (0,85 +/- 2,08 µM) et T1 (1,32 +/- 2,71 µM) (figures 50 et 54).

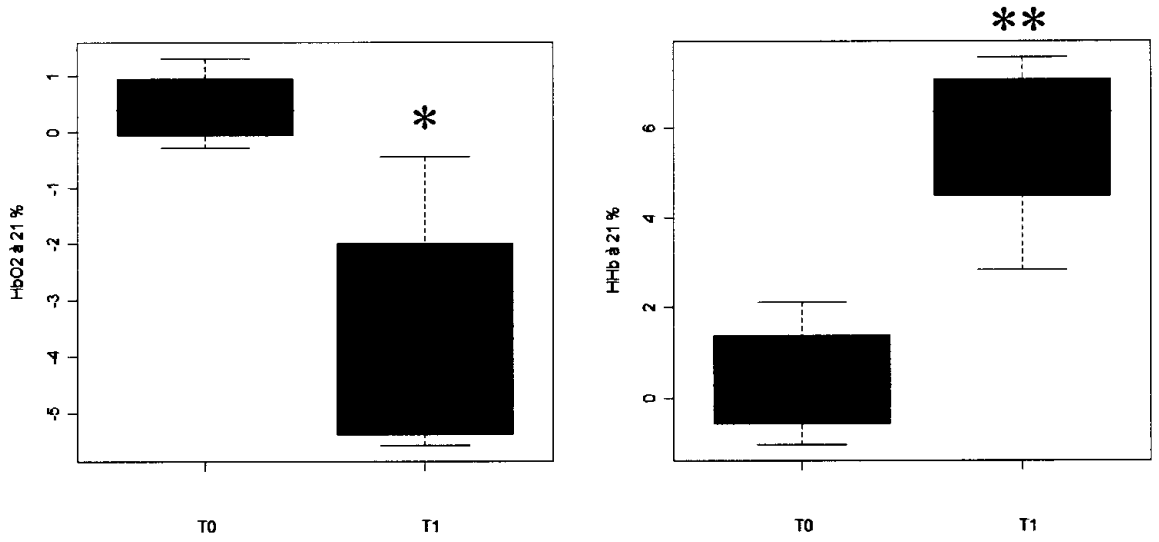


Figure 49 : Evolution des concentrations tissulaires en oxy- et désoxyhémoglobine (en µM) entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 0,21

(* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$)

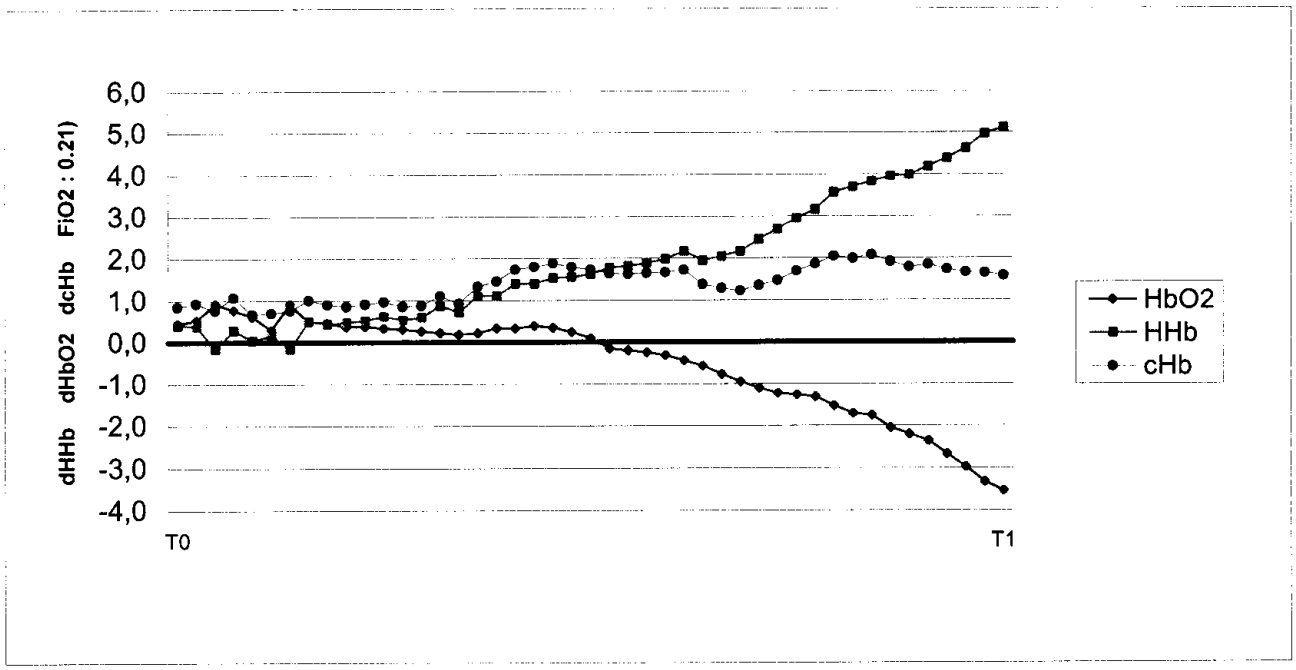


Figure 50 : Moyennes des valeurs d'HbO_2, HHb et cHb (en µM) relevées en continu pendant 1 heure et demie chez les 6 sujets lors de l'anesthésie sous 21 % d'oxygène

Ainsi, l'oxygénation tissulaire a été réduite au cours de l'anesthésie sous 21 % d'oxygène.

b. Pour une $FiO_2 = 1$

Sous une FiO_2 de 1, nous avons tout d'abord observé une augmentation significative ($p < 0,05$) de la concentration en hémoglobine oxygénée HbO_2 entre T0 et T_{100}, parallèlement à une diminution significative ($p < 0,05$) de la concentration en hémoglobine désoxygénée HHb (figure 51).

Puis, entre T_{100} et T1, la tendance s'est inversée, montrant une diminution nette, bien que non significative, de la concentration en hémoglobine oxygénée, alors que la concentration en hémoglobine désoxygénée augmentait sensiblement ($p < 0,01$) (figures 51 et 52).

Ainsi, les valeurs de la concentration en hémoglobine oxygénée à T0 et à T1 n'ont pas été statistiquement différentes. La concentration en hémoglobine désoxygénée ayant, par contre, nettement augmenté entre T_{100} et T1, la différence entre les valeurs de HHb à T0 et à T1 a été, elle, statistiquement significative ($p < 0,01$) (figure 51).

La concentration en hémoglobine totale n'a pas significativement varié au cours des mesures bien qu'une augmentation soit visible sur la courbe des moyennes (figure 52).

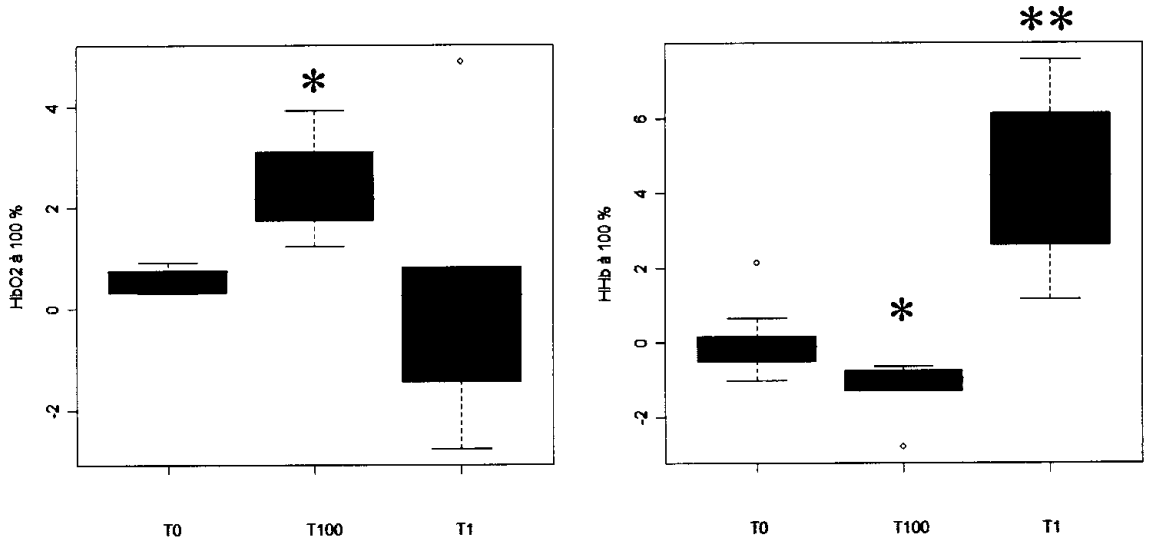


Figure 51 : Evolution des concentrations tissulaires en oxy- et désoxyhémoglobine (en µM) entre T0, T_{100} et T1 pour une FiO_2 de 1

(* : p < 0,05 ; ** : p < 0,01)

Nous avons donc observé une augmentation significative de l'oxygénation tissulaire après le passage sous 100 % d'oxygène inhalé, suivie d'une forte diminution au cours de l'anesthésie, pour revenir à T1 aux environs du niveau d'oxygénation basal du T0 (figures 51, 52 et 56).

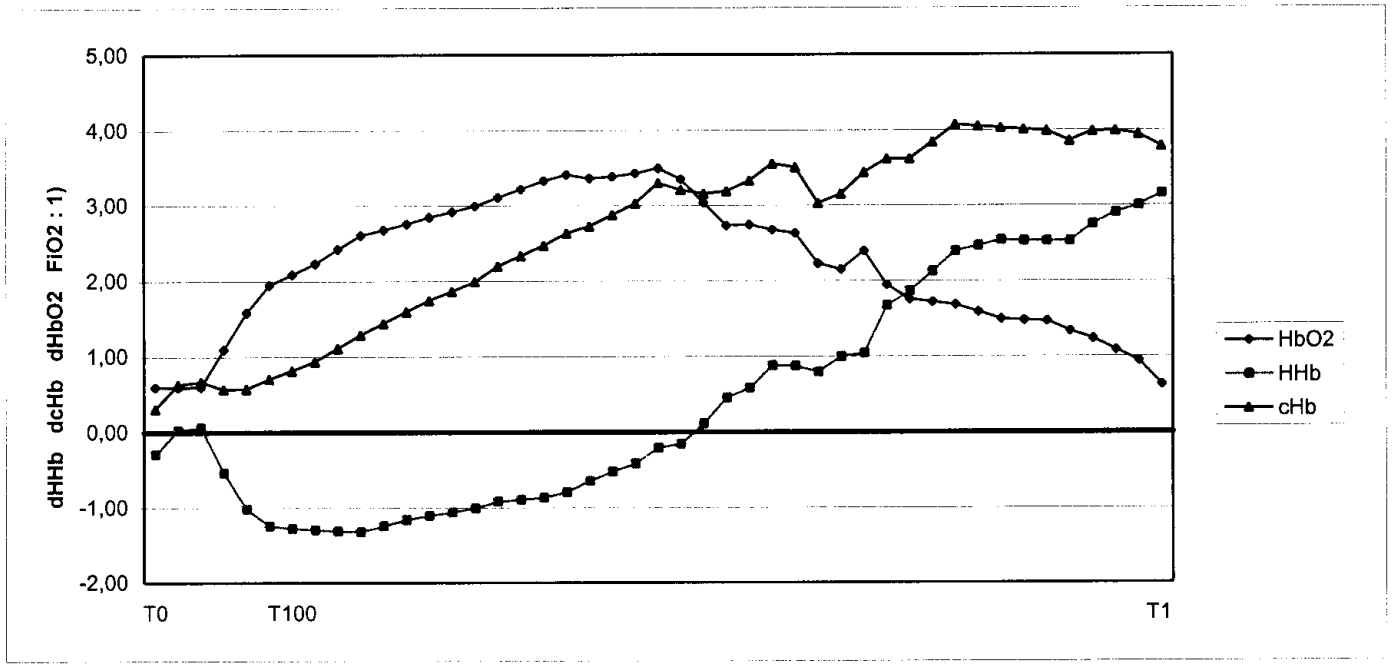


Figure 52 : Moyennes des valeurs d'HbO_2, HHb et cHb (en µM) relevées en continu pendant 1 heure et demie chez les 6 sujets lors de l'anesthésie sous 100 % d'oxygène

Une augmentation de l'oxygénation musculaire sous 100% d'oxygène a été observée au début du protocole. Elle a été suivie d'une diminution de l'hémoglobine oxygénée, ramenant sa valeur à T1 au niveau basal de T0.

c. Comparaison entre les deux traitements

Aucune différence significative entre les pourcentages de variation entre T0 et T1 à 21 et 100 % n'a été notée.

L'oxygénation musculaire à T1 n'a donc pas été statistiquement différente lors des deux protocoles.

2. TOI

En comparant les pourcentages d'évolution du TOI des deux protocoles, nous n'avons pas montré de différence significative entre leurs valeurs à T0 et à T1.

En revanche, il a nettement diminué entre T0 et T1 à 21% ($p < 0,01$). A 100%, il a d'abord significativement augmenté entre T0 et T_{100} ($p < 0,05$), puis diminué entre T_{100} et T1 ($p < 0,01$) (figures 53 et 54), la différence entre T0 et T1 n'étant pas significative ($p = 0,051$).

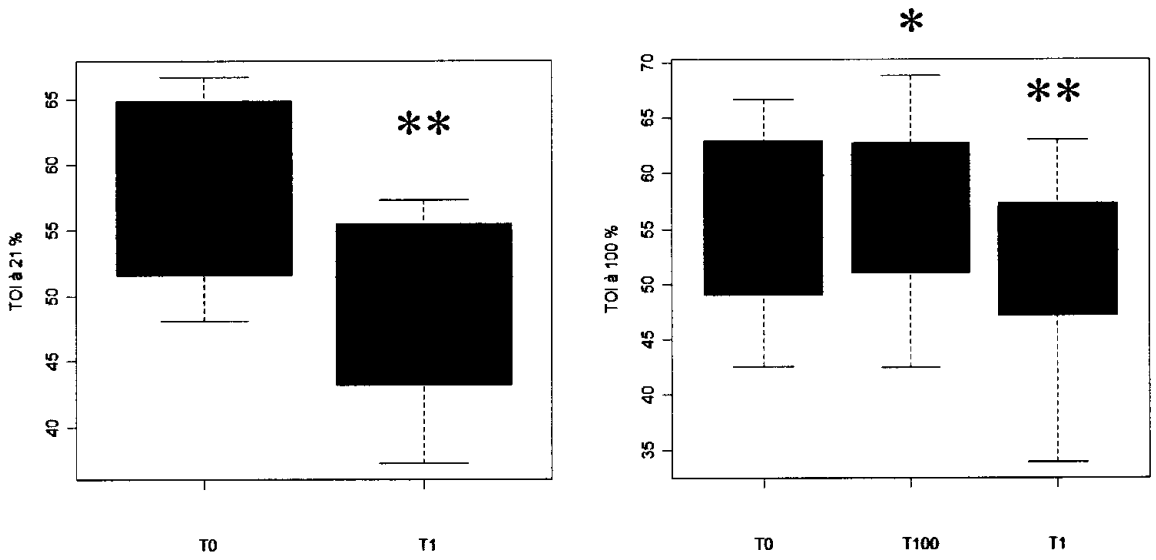


Figure 53 : Evolution du TOI (en %)

(* : $p < 0,05$; ** : $p < 0,01$)

A gauche : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 0,21 A droite : entre T0, T_{100} et T1 pour une FiO_2 de 1

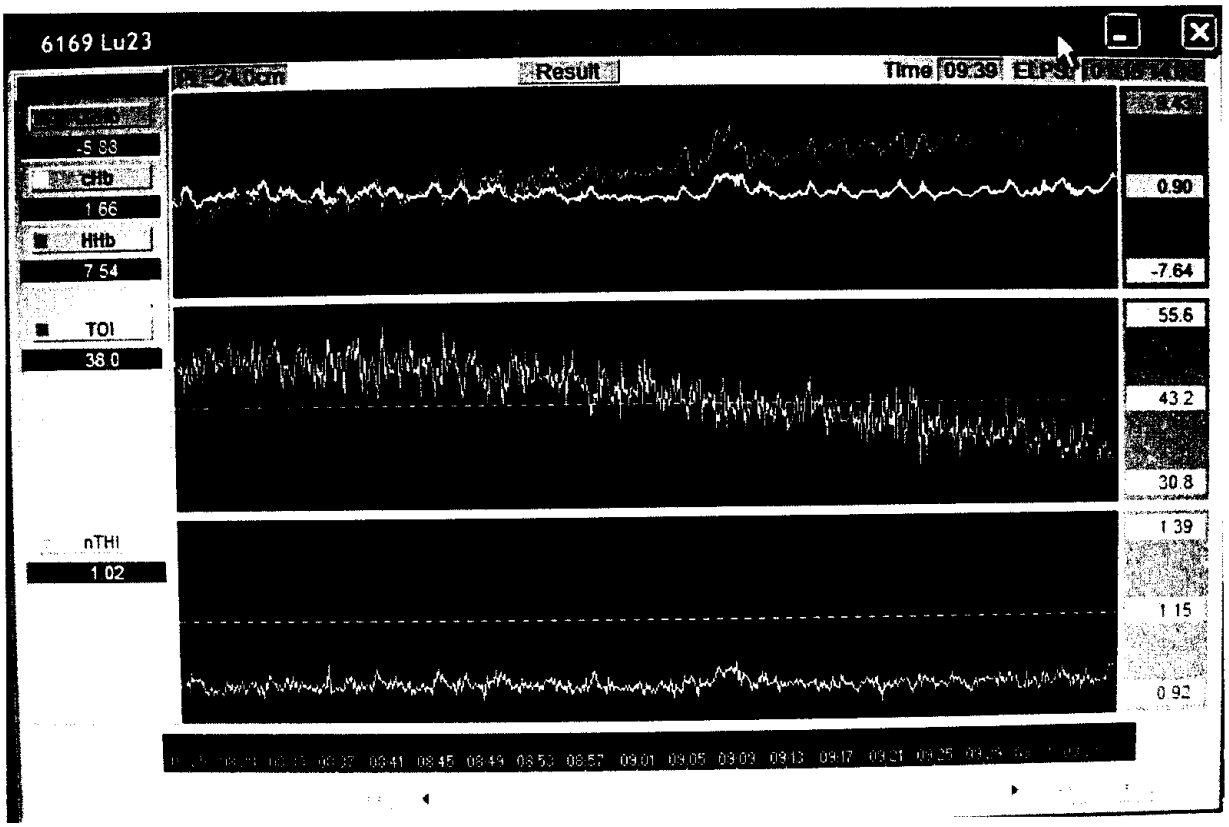


Figure 54 : Exemple de tracé obtenu lors d'une anesthésie sous 21 % d'oxygène (cheval 6169)

L'index d'oxygénation tissulaire a donc été réduit lors de l'inhalation de 21 % d'oxygène. Sous oxygène pur, il a d'abord augmenté pour revenir ensuite à sa valeur basale en fin d'anesthésie.

3. THI

Aucune différence significative n'a été notée entre les valeurs de l'index de la concentration en hémoglobine, quels qu'aient été la FiO_2 ou les temps de l'expérimentation considérés. Cependant, sous 21 % d'oxygène, nous avons pu observer une tendance à l'augmentation de cet index et, sous 100 % d'oxygène, une tendance à la diminution (figures 55 et 56).

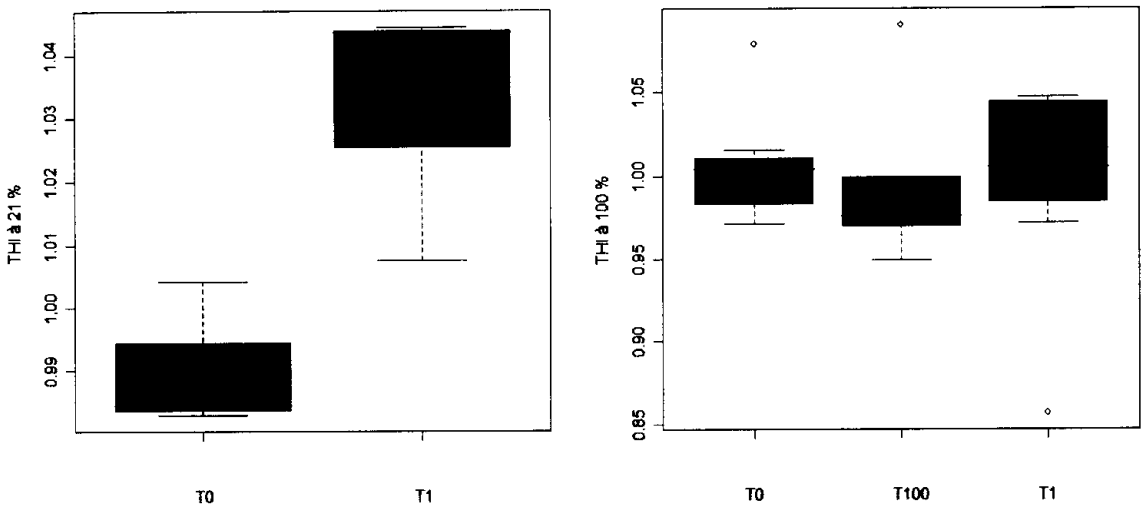


Figure 55 : Evolution du THI (unité arbitraire)

A gauche : entre T0 et T1 pour une FiO_2 de 0,21 A droite : entre T0, T_{100} et T1 pour une FiO_2 de 1

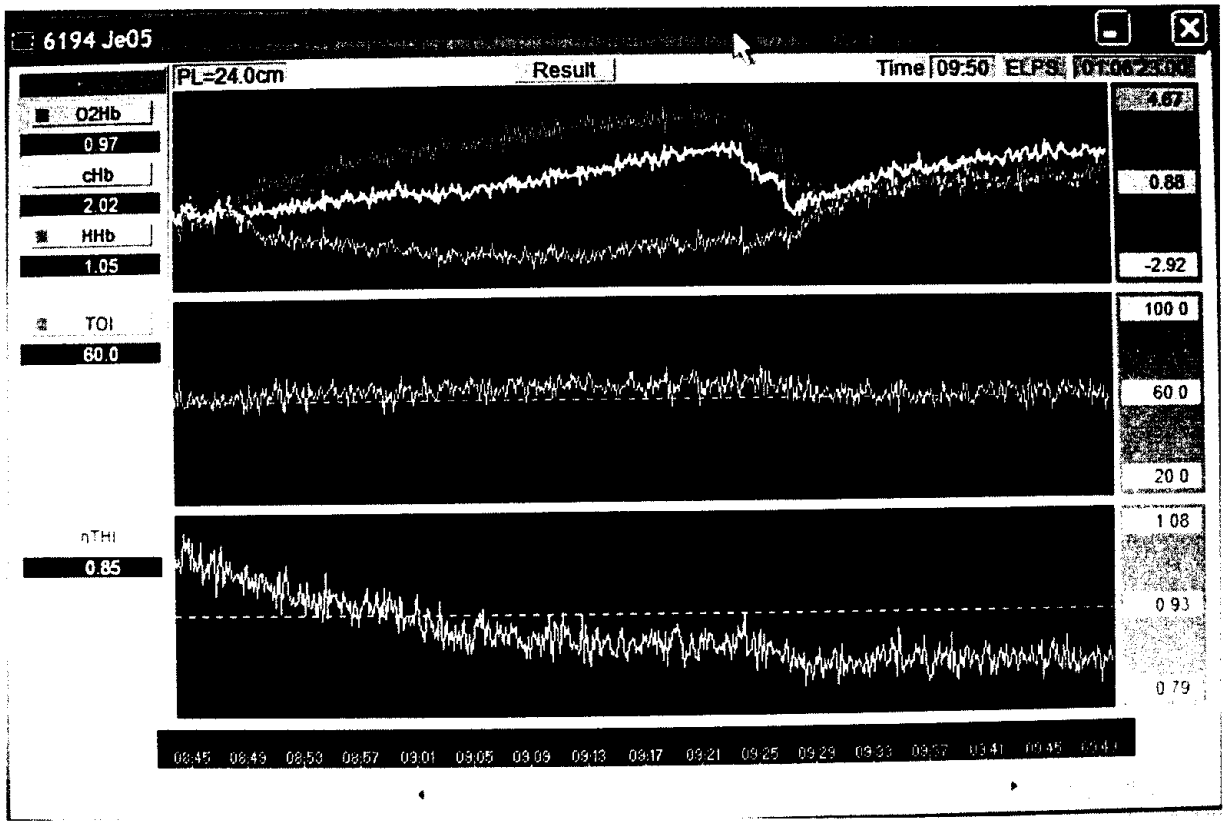


Figure 56 : Exemple de tracé obtenu lors d'une anesthésie sous 100 % d'oxygène (cheval 6194)

III. Discussion des résultats

Notre expérimentation constitue une étude préliminaire de l'effet du taux d'oxygène inhalé sur l'hémodynamique et l'oxygénation musculaire du cheval anesthésié. Malgré un nombre de sujets réduit et des écarts-types parfois importants, cette étude a néanmoins permis de mettre en avant des résultats significatifs ou des tendances qui ouvrent des pistes de recherche prometteuses.

Nous avons surveillé, lors des anesthésies, l'évolution de paramètres de contrôle tels que la fréquence cardiaque, la fréquence respiratoire ou le pH sanguin, qui n'ont pas montré de variation statistiquement significative. Leur stabilité lors des expérimentations nous permet d'interpréter les résultats obtenus.

Comme attendu, les mesures de la PaO_2 ont révélé que les chevaux étaient hypoxémiques sous 21% d'oxygène, et hyperoxémiques sous oxygène pur.

A. Viscosité sanguine

Le viscosimètre à chute de bille utilisé a donné des mesures répétables et fiables et des résultats comparables au sein de l'étude. Nous ne pouvons toutefois pas les mettre en perspective avec les résultats d'autres études sur la viscosité du cheval, car nous ne pouvions pas faire varier le taux de cisaillement.

C'est pourquoi, nous nous sommes permis d'ajouter au sang étudié de l'héparine, ce qui diminuait les risques d'erreur sur les mesures sans compromettre l'interprétation des résultats.

Notre hypothèse de départ consistait en l'apparition possible d'un stress oxydant (suite à l'inhalation d'oxygène pur), affectant les propriétés visco-élastiques des globules rouges. En effet, des érythrocytes oxydés sont plus susceptibles de former des agrégats et semblent augmenter la viscosité du sang à bas taux de cisaillement (Chung *et al.*, 1999). Nous pensions observer, en conséquence, une variation de la viscosité sanguine à la fin de l'anesthésie sous 100 % d'oxygène inhalé.

Notre étude n'a cependant montré aucune variation significative de la viscosité du sang total ni de l'hématocrite chez le cheval en hyperoxémie comme en hypoxémie. La légère hémodilution survenue au cours de l'expérimentation, comme en témoigne la diminution de la concentration en protéines plasmatiques, peut être attribuée à la perfusion continue de Ringer Lactate® reçue par les chevaux. Néanmoins, elle n'est pas confirmée par une diminution associée de l'hématocrite et n'a pas eu de répercussion sur la viscosité sanguine. Toutefois, la concentration en protéines plasmatiques n'est pas un facteur majeur de la fluidité sanguine, contrairement à l'hématocrite. La déformabilité et l'agrégabilité des globules rouges n'ont pas pu être étudiées lors de notre expérimentation, mais il aurait été intéressant de déterminer leurs variations potentielles lors des différents traitements.

L'utilisation d'oxygène pur en réanimation et en anesthésie est courante. De plus, il est largement admis que la viscosité sanguine influence largement la perfusion et l'oxygénation tissulaires. Pourtant, il nous a été difficile de trouver des références dans la littérature sur l'effet de l'hyperoxémie sur la viscosité sanguine : quelques études seulement ont été menées sur cette relation.

L'une d'elles (Amin *et al.*, 1995a) a déterminé l'effet d'une exposition intense et prolongée à une oxygénation hyperbare sur certains paramètres sanguins. Alors que l'oxygénation hyperbare thérapeutique semble faire diminuer l'hématocrite et la viscosité sanguine, les auteurs de cette étude ont observé une augmentation de la viscosité (en parallèle à une élévation de l'hématocrite), surtout pour des taux de cisaillement importants. La viscosité plasmatique et celle des globules rouges en suspension n'étaient pas modifiées, permettant d'émettre l'hypothèse que les propriétés érythrocytaires n'avaient pas été affectées.

Une autre étude (Ajmani *et al.*, 2003) a tenté d'observer les conséquences hémorhéologiques d'un stress oxydant induit par un exercice intense chez l'homme. Le stress oxydant provoqué semble avoir diminué les capacités de déformabilité et d'agrégabilité des érythrocytes et augmenté la viscosité sanguine. Cependant, l'exercice a également induit une augmentation de l'hématocrite et de la viscosité plasmatique.

B. Perfusion musculaire

La perfusion a été mesurée par une méthode de Doppler couleur récente. Cette technique présente l'avantage d'être non invasive et quantitative. Elle permet de mesurer les variations des résistances vasculaires périphériques dans le flux sanguin en aval du vaisseau étudié.

L'inconvénient réside dans l'impossibilité de laisser la sonde à une place fixe dans le temps. De ce fait, on augmente malheureusement le risque d'erreur en repositionnant la sonde lors de mesures répétées (Raisis, 2005). Cependant, avec une méthode standardisée, le Doppler permet d'obtenir une bonne répétabilité et une faible variabilité lors de mesures répétées sur un même animal durant une anesthésie. Cette variabilité est, en revanche, beaucoup plus importante lors d'épisodes anesthésiques séparés, due principalement aux erreurs de mesures (Raisis *et al.*, 2000).

Toutefois, en mesurant l'angle Doppler par lui-même, l'appareil que nous avons utilisé diminue le risque d'erreur lié à la technique de mesure. Il faut simplement veiller à obtenir le plus grand diamètre du vaisseau, une longueur vasculaire suffisante et un remplissage homogène et maximal de la lumière. Sur deux à trois cycles cardiaques seulement, la machine est alors capable de déterminer les paramètres du flux sanguin et le diamètre vasculaire. Les angles Doppler inférieurs à 20° et supérieurs à 60° n'ont pas été retenus. La plupart du temps, les vaisseaux sont étudiés à des angles de 45° à 60° (Walker, 1986).

Nous avons étudié la perfusion musculaire en mesurant le flux sanguin d'une petite artère d'environ 2 millimètres. Il est rapporté que l'anesthésie diminue la perfusion musculaire chez le cheval, la durée de l'anesthésie n'étant toutefois pas en corrélation avec cette diminution (Weaver *et al.*, 1984 ; Manohar *et al.*, 1987). Dans notre étude, nous n'avons pas observé d'effet de la durée de l'anesthésie sur la perfusion musculaire, puisqu'aucune variation significative n'a été notée entre T0 et T1, c'est-à-dire après 1 heure et demie d'anesthésie, quelle qu'ait été la FiO_2.

Nous pensions observer les effets d'une vasodilatation sous 21 % d'oxygène, et d'une vasoconstriction et/ou d'une augmentation de la viscosité sanguine capillaire sous 100 % d'oxygène. Dans cette étude, nous n'avons pas observé de variation du diamètre de l'artère au cours des différents traitements ni de la vitesse ou du débit sanguin dans sa lumière, alors que

nous nous attendions à observer les conséquences d'une modification des résistances vasculaires en aval. La pression artérielle moyenne a augmenté lors des deux traitements, probablement suite à l'administration de dobutamine que l'hypotension a rendue nécessaire. Que cette augmentation soit la conséquence d'une élévation des résistances vasculaires périphériques est moins vraisemblable, notamment sous 21 % d'oxygène.

La perfusion musculaire ne semble donc pas avoir été affectée par les différents taux d'oxygène inhalé dans notre étude, contrairement à certaines données de la littérature.

En hypoxémie, on observe classiquement une augmentation de la perfusion tissulaire à la suite d'une vasodilatation et d'une diminution des résistances vasculaires périphériques (Leuenberger *et al.*, 1999 ; Gilmartin *et al.*, 2006 ; Thomson *et al.*, 2006).

De nombreux auteurs ont observé qu'en hyperoxémie, au contraire, les résistances à l'écoulement du sang augmentent (Thomson *et al.*, 2006) à cause d'une vasoconstriction (Rossi & Boussuges, 2005) et d'une rigidité plus importante des artères (Waring *et al.*, 2003) et que la perfusion tissulaire diminue (Sullivan & Johnson, 1981 ; Rossi & Boussuges, 2005 ; Rousseau *et al.*, 2005). Certains ont même découvert une baisse de la densité capillaire fonctionnelle (Tsai *et al.*, 2003 ; Kamler *et al.*, 2004). Néanmoins d'autres études, comme la nôtre, ne mettent pas en évidence de variation significative des résistances vasculaires ou du débit sanguin lors d'une hyperoxémie (Manohar *et al.*, 1987 ; Kuttila, 1990 ; Knight *et al.*, 1993 ; Rootwelt *et al.*, 1996).

La méthode de spectroscopie dans le proche infrarouge, que nous discuterons dans le prochain paragraphe, a permis, en parallèle, de mesurer un index de l'hémoglobine tissulaire (THI), qui est le reflet de la perfusion tissulaire au niveau des optodes. Le THI n'a pas montré de différences statistiquement significatives au cours des anesthésies ; nous avons toutefois noté une tendance à l'augmentation sous 21 % d'oxygène et à la diminution sous 100 % d'oxygène. Ces résultats indiquent que les résistances à l'écoulement ont pu être légèrement modifiées au niveau tissulaire, sans affecter l'hémodynamique en amont, mais ne permettent pas d'affirmer que le taux d'oxygène inhalé a exercé une influence sur la perfusion musculaire du cheval.

C. Oxygénation musculaire

La spectroscopie dans le proche infrarouge est aujourd'hui une méthode validée pour l'étude de la perfusion et de l'oxygénation musculaires (Mancini *et al.*, 1994). Elle permet de détecter les variations des paramètres de l'hémodynamique et du statut d'oxygénation de l'hémoglobine au niveau d'un tissu.

Son utilisation chez le cheval pose encore certains problèmes. Tout d'abord, la pigmentation de l'animal peut réduire l'intensité du signal, surtout si la peau n'est pas rasée, car la mélanine absorbe la lumière infrarouge (Pringle *et al.*, 1999). L'appareil NIRO-200 lance une séquence d'initialisation avant toute mesure pour savoir si la réception du signal est satisfaisante, puis, tout au long de l'enregistrement, il signale par un message d'erreur tout problème d'émission ou de réception. Il suffit souvent de replacer les optodes correctement pour que le message d'erreur disparaisse après une nouvelle initialisation. Cette fonction nous a permis de vérifier la validité des mesures. Bien que certains chevaux aient eu la peau sombre, le signal a toujours semblé traverser les tissus sans problème.

Ensuite, la valeur de la longueur parcourue par la lumière dans les tissus (pathlength) constitue la seconde source d'incertitude chez le cheval. Nous avons choisi d'utiliser une valeur de 24, composée du facteur « distance entre émetteur et récepteur » égal à 4, multiplié par 6 pour le facteur du muscle glutéal du cheval, qui est une moyenne des mesures effectuées par Pringle *et al.* en 1999. Cependant, cette distance parcourue dans les tissus est soumise à des variations dépendant du tissu et de l'individu étudiés, ainsi que de la longueur d'onde de la lumière utilisée. La quantité de graisse qui couvre le muscle est, par exemple, un facteur important de cette variation (Pringle *et al.*, 1999).

Enfin, la profondeur de tissus pris en compte par le signal n'est pas connue. Le volume de tissu que l'on étudie est de quelques centimètres cube, mais nous ne possédons pas de valeurs précises. Ainsi, selon l'épaisseur du tissu adipeux sous-cutané, l'exploration de l'oxygénation musculaire pourrait varier.

Les premières recherches utilisant la méthode NIRS ont, en revanche, prouvé que la myoglobine n'était prise en compte par le signal que de façon négligeable, et que des variations de perfusion au niveau cutané n'affectaient pas les résultats (Mancini *et al.*, 1994).

Les valeurs de la PaO_2 montrent que les chevaux ont été hypoxémiques sous 21 % d'oxygène inhalé. Les résultats obtenus grâce au NIRO-200 ont dévoilé que, pour une FiO_2 de 0,21, la concentration en hémoglobine oxygénée diminuait tout au long de l'anesthésie,

proportionnellement à l'augmentation de la concentration en hémoglobine désoxygénée, la concentration en hémoglobine totale ne variant pas. Ces résultats sont en accord avec ceux de Pringle *et al.* de 2000, obtenus sur des chevaux anesthésiés hypoxémiques. Ils peuvent être expliqués par une perfusion inadéquate du tissu, due à une obstruction veineuse ou à une concentration importante de désoxyhémoglobine dans le sang artériel, conséquence d'une hypoxémie (Raisis, 2005), ou encore à une consommation accrue de l'oxygène par les cellules. La concentration en hémoglobine totale n'ayant pas augmenté, il est peu probable qu'une obstruction veineuse se soit produite. Les muscles étant au repos total, il serait surprenant que la consommation en oxygène par les cellules ait augmenté. Cependant, il semblerait que l'extraction d'oxygène dans les tissus soit augmentée par l'hypoxémie (Stevens *et al.*, 2007), ce qui pourrait expliquer nos résultats à 21 %. Peltonen *et al.* ont obtenu en 2007 des courbes HbO_2, HHb et TOI similaires aux nôtres en travaillant sur une hypoxie progressive au niveau cérébral. Ils en concluent qu'il y a eu inadéquation entre l'oxygène délivré et l'oxygène utilisé par les tissus. Toutefois, les mêmes mesures réalisées au niveau musculaire ne montrent pas de variation significative de ces paramètres, contrairement à nos résultats. Cette différence réside peut-être dans la durée de l'hypoxie : 10 minutes seulement dans l'étude de Peltonen *et al.* (2007).

Sous 100 % d'oxygène inhalé, nous avons observé une hyperoxémie, avec, cependant, des valeurs de la PaO_2 plus faibles que les valeurs théoriques prévisibles. Ce résultat peut s'expliquer par la mise en jeu fréquente de shunts pulmonaires droite-gauche chez le cheval sous anesthésie générale.

La spectroscopie dans le proche infrarouge montre, dans un premier temps, une nette augmentation de la concentration en oxyhémoglobine accompagnée d'une diminution de la désoxyhémoglobine dès le passage de 21 % à 100 % d'oxygène inhalé. Ceci peut être la conséquence d'un flux sanguin artériel augmenté, mais nous avons vu que la perfusion musculaire n'avait pas ou très peu varié et nous n'avons pas observé d'augmentation significative de la concentration en hémoglobine totale au cours de l'anesthésie. L'explication la plus probable est une augmentation de la saturation en oxygène de l'hémoglobine (la SpO_2 et le TOI ont en effet augmenté) causant une élévation de la concentration en oxyhémoglobine dans le sang. Cette élévation de la saturation en oxygène peut s'expliquer par la PaO_2 élevée, par une baisse de la consommation en oxygène par les cellules ou encore par une déviation à gauche de la courbe de dissociation de l'hémoglobine. Les valeurs de la $PaCO_2$ et du pH ne sont pas en faveur de la dernière hypothèse que nous ne pouvons, cependant, pas totalement

exclure. Néanmoins, l'explication la plus simple et la plus plausible reste que l'hyperoxémie a engendré une hausse de la saturation de l'hémoglobine en oxygène et de la concentration en oxyhémoglobine dans le tissu musculaire.

Nous avons ensuite observé une inversion progressive des courbes des hémoglobines oxygénée et désoxygénée (baisse de la concentration en HbO_2 associée à une hausse de la concentration en HHb). Selon les chevaux, elle s'est produite plus ou moins tôt au cours de l'anesthésie et était d'amplitude variable. La concentration en oxyhémoglobine a cependant toujours atteint à T1 un niveau similaire, voire inférieur, à la valeur basale du T0, pendant que la concentration en désoxyhémoglobine parvenait à dépasser à T1 sa valeur basale. La PaO_2 et la SpO_2 ayant augmenté entre T0 et T1, on ne se trouve pas devant une situation d'hypoxémie qui pourrait expliquer la baisse de l'HbO_2. Les chevaux étant anesthésiés, nous ne pensons pas non plus que cette inversion des courbes soit consécutive à une augmentation de la consommation en oxygène par les cellules musculaires. De plus, il semble que la consommation d'oxygène par les cellules n'augmente pas en hyperoxémie (Rousseau *et al.*, 2005), même à l'exercice, en comparaison avec un traitement sous air ambiant (Welch *et al.*, 1977). Le pH sanguin, malgré une légère diminution non significative au cours des anesthésies, n'a pas montré de signe d'acidose chez les chevaux. L'hypothèse retenue est que la $PaCO_2$, ayant augmenté durant l'anesthésie, a pu provoquer un déplacement à droite de la courbe de dissociation de l'hémoglobine, selon l'effet Bohr (libération d'oxygène par l'hémoglobine quand la $PaCO_2$ augmente). Néanmoins, Cambier *et al.* en 2005 ont montré que l'hémoglobine du cheval était moins sensible aux variations de la $PaCO_2$ que l'hémoglobine humaine. Nous ne savons pas si l'élévation de la $PaCO_2$ dans les proportions de notre étude pourrait provoquer une si massive désaturation de l'hémoglobine dans les tissus, sachant que la SpO_2 est restée très élevée (entre 99 et 100% à T1) dans le sang artériel.

Au final, on peut s'interroger sur le bénéfice d'une anesthésie sous oxygène pur pour l'oxygénation tissulaire. Selon l'étude de Rootwelt *et al.* (1996), le taux d'oxygène délivré aux tissus semble être plus important lors d'une ventilation à l'oxygène pur, mais la différence avec une ventilation à l'air n'est pas significative. Dans une autre étude, chez l'homme à l'exercice, il a été montré que l'apport d'oxygène aux tissus était identique sous air ambiant et sous oxygène pur (Welch *et al.*, 1977). Lors d'une oxygénation hyperbare, il peut même être diminué par rapport au témoin (Amin *et al.*, 1995a). Toutefois, en règle générale, la quantité d'oxygène dans le sang est si importante que, malgré une vasoconstriction, la capacité en

oxygène dans le sang artériel et le taux d'oxygène délivré aux tissus sont augmentés (Knight *et al.*, 1993 ; Bergo & Tyssebotn, 1999).

Cependant, dans certains muscles dont la perfusion est faible, on peut voir apparaître un phénomène d'échange d'oxygène à contre-courant entre les grosses artérioles et les veinules : le taux d'oxygène dans le sang capillaire devient alors plus faible que dans le sang veineux, ce qui aboutit à une perte d'oxygène pour les tissus. Ce phénomène est plus marqué lorsque la perfusion est faible car le sang passe plus de temps dans ces vaisseaux d'échange à contre-courant (Manohar *et al.*, 1987). Cette hypothèse, qui permettrait d'expliquer la baisse de la concentration en HbO_2 au cours des anesthésies sous oxygène pur, ne peut donc être exclue de notre étude.

Conclusion

L'effet d'une hyperoxémie *in vivo* sur les propriétés érythrocytaires et les facteurs de la viscosité sanguine dans leur ensemble reste donc encore à définir, et, malgré la difficulté résidant dans l'étude de la rhéologie du sang *in vivo*, d'autres études sont indispensables pour connaître ses conséquences réelles sur la fluidité du sang, puis sur la perfusion et l'oxygénation musculaires.

Nous avons cependant montré qu'en hyperoxémie, l'oxygénation musculaire peut être inadéquate et aussi limitée qu'en hypoxémie. Ces observations n'ont pas pu être expliquées car de nombreux phénomènes peuvent en être la cause. D'autres études seront donc nécessaires à la compréhension des mécanismes à l'origine de cette oxygénation musculaire limitée chez le cheval anesthésié. Il reste notamment à relier clairement l'hyperoxémie et l'apparition possible d'un stress oxydant lors d'une anesthésie volatile chez le cheval, et leurs effets sur les propriétés visco-élastiques du sang.

CONCLUSION

En raison de ses particularités anatomiques et physiologiques, le cheval nécessite, lors d'une anesthésie volatile, un apport important d'oxygène pour prévenir une hypoxémie. C'est pourquoi de fortes concentrations d'oxygène sont parfois utilisées dans le mélange gazeux anesthésique. Cependant, les conséquences d'une hyperoxémie induite par l'inhalation d'un taux d'oxygène élevé sont encore largement méconnues chez le cheval, notamment les effets délétères d'un stress oxydant qu'elle peut provoquer.

Ce travail expérimental consistait à évaluer et comparer sur six chevaux les effets de l'inhalation d'un mélange à 21 % d'oxygène et d'oxygène pur sur la viscosité sanguine, la perfusion et l'oxygénation musculaires. Nous n'avons pas observé de variation significative de la viscosité sanguine ou de la perfusion musculaire lors de cette étude. Néanmoins, la mesure de l'oxygénation musculaire a révélé une désaturation de l'hémoglobine au niveau tissulaire lors des deux traitements. Il apparaît donc que le muscle n'est pas mieux oxygéné lorsque le cheval inhale de l'oxygène pur, et alors que la pression partielle artérielle en dioxygène est élevée. Les causes exactes de cette oxygénation limitée au niveau musculaire restent toutefois à définir.

Cependant, ce résultat amène à douter du bénéfice d'une ventilation à 100 % d'oxygène, quand on sait que la production de radicaux libres est augmentée dans de telles conditions. En médecine humaine, d'ailleurs, on remet en question depuis quelques années la réanimation sous oxygène pur, car elle semble avoir des conséquences néfastes non négligeables, pour une efficacité identique à la réanimation sous air ambiant. La médecine vétérinaire n'a pas encore réellement abordé ce problème qui offre de nombreuses pistes à explorer.

Le Professeur responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Le Président de la thèse

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le 06 SEP. 2007

Vu : Le Directeur
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Pour le Directeur et par délégation,
LA DIRECTRICE DE L'ENSEIGNEMENT

Professeur Françoise GRAIN

Pour Le Président de l'Université
Le Président du Comité de Coordination
Des Etudes Médicales

Professeur F.N GILLY

BIBLIOGRAPHIE

AJMANI R.S., FLEG J.L., DEMEHIN A.A., WRIGHT J.G., O'CONNOR F., HEIM J.M., TARIEN E., RIFKIND J.M. (2003)
Oxidative stress and hemorheological changes induced by acute treadmill exercise
Clin. Hemorheol. Microcirc., 28 (1), pp. 29-40.

AMIN T.M., SIRS J.A. (1985)
The blood rheology of man and various animal species
Q. J. Exp. Physiol., 70 (1), pp. 37-49.

AMIN H.M., HAKIM T.S., CAMPORESI E.M. (1995)
Hematological alterations after acute exposure to hyperbaric oxygen in rats
Clin. Exp. Pharmacol. Physiol., 22 (1), pp. 21-27.

AMIN H.M., KANIEWSKI W.S., COHEN D., CAMPORESI E.M., HAKIM T.S. (1995)
Effects of acute exposure to hyperbaric oxygen on the rheology and morphology of the red blood cells in the rat
Microvasc. Res., 50 (3), pp. 417-428.

ANDREWS F.M., KORENEK N.L., SANDERS W.L., HAMLIN R.L. (1992)
Viscosity and rheologic properties of blood from clinically normal horses
Am. J. Vet. Res., 53 (6), pp. 966-970.

BASKURT O.K., FARLEY R.A., MEISELMAN H.J. (1997)
Erythrocyte aggregation tendency and cellular properties in horse, human and rat: a comparative study
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 273 (6 Pt 2), pp. H2604-H2612.

BASKURT O.K., TEMIZ A., MEISELMAN H.J. (1998)
Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties
Free Radic. Biol. Med., 24 (1), pp. 102-110.

BASKURT O.K., MEISELMAN H.J. (1999)
Susceptibility of equine erythrocyte to oxidant-induced rheologic alterations
Am. J. Vet. Res., 60 (10), pp. 1301-1306.

BASKURT O.K., TUGRAL E., NEU B., MEISELMAN H.J. (2002)
Particle electrophoresis as a tool to understand the aggregation behavior of red blood cells
Electrophoresis, 23 (13), pp. 2103-2109.

BASKURT O.K. (2003)
Pathophysiological significance of blood rheology
Turk. J. Med. Sci., 33, 347-355.

BASKURT O.K., MEISELMAN H.J. (2003)
Blood rheology and hemodynamics
Semin. Thromb. Hemost., 29 (5), pp. 435-450.

BASKURT O.K., YALCIN O., MEISELMAN H.J. (2004)
Hemorheology and vascular control mechanisms
Clin. Hemorheol. Microcirc., 30 (3-4), pp. 169-178.

BERGO G.W., TYSSEBOTN I. (1999)
Cardiovascular effects of hyperbaric oxygen with and without addition of carbon dioxide
Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol., 80 (4), pp. 264-275.

BREDLE D.L., BRADLEY W.E., CHAPLER C.K., CAIN S.M. (1988)
Muscle perfusion and oxygenation during local hyperoxia
J. Appl. Physiol., 65 (5), pp. 2057-2062.

BRÜCKNER U.B., MESSMER K. (1990)
Blood rheology and systemic oxygen transport
Biorheology, 27 (6), pp. 903-912.

CAMBIER C., DI PASSIO N., CLERBAUX T., AMORY H., MARVILLE V., DETRY B., FRANS A., GUSTIN P. (2005)
Blood-oxygen binding in healthy Standardbred horses
Vet. J., 169 (2), pp. 251-256.

CHIEN S., USAMI S., DELLENBACK R.J., GREGERSEN M.I. (1970)
Shear-dependent interaction of plasma proteins with erythrocytes in blood rheology
Am. J. Physiol., 219 (1), pp. 143-153.

CHUNG T.W., HO C.P. (1999)
Changes in viscosity of low shear rates and viscoelastic properties of oxidative erythrocyte suspensions
Clin. Hemorheol. Microcirc., 21 (2), pp. 99-103.

CLERBAUX T., SERTEYN D., WILLEMS E., BRASSEUR L. (1986)
Détermination de la courbe de dissociation standard de l'oxyhémoglobine du cheval et influence, sur cette courbe, de la température, du pH et du diphosphoglycérate
Can. J. Vet. Res., 50 (2), pp. 188-192.

COYNE C.P., CARLSON G.P., SPENSLEY M.S., SMITH J. (1990)
Preliminary investigation of alterations in blood viscosity, cellular composition, and electrophoresis plasma protein fraction profile after competitive racing activity in Thoroughbred horses
Am. J. Vet. Res., 51 (12), pp. 1956-1963.

CRAWFORD P., GOOD P.A., GUTIERREZ E., FEINBERG J.H., BOEHMER J.P., SILBER D.H., SINOWAY L.I. (1997)
Effects of supplemental oxygen on forearm vasodilatation in humans
J. Appl. Physiol., 82 (5), pp. 1601-1606.

DALINGHAUS M., KNOESTER H., GRATAMA J.W., VAN DER MEER J., ZIJLSTRA W.G., KUIPERS J.R. (1994)
Effect of increased whole blood viscosity on regional blood flows in chronically hypoxemic lambs
Am. J. Physiol., 267 (2 Pt 2), pp. H471-H476.

DINTENFASS L., FU-LUNG L. (1982)
Plasma and blood viscosities, and aggregation of red cells in racehorses
Clin. Phys. Physiol. Meas., 3 (4), pp. 293-301.

DURANTEAU J. (Page consultée le 25 juin 2007)
Déterminants de l'oxygénation tissulaire [en ligne]
Adresse URL : http://www.anesthesiste.org/sf/IMG/ppt/TISS_OXYG_05.ppt

EPPIHIMER M.J., LIPOWSKY H.H. (1996)
Effects of leucocyte-capillary plugging on the resistance to flow in the microvasculature of cremaster muscle for normal and activated leukocytes
Microvasc. Res., 51 (2), pp. 187-201.

FLESHANDBONES (Page consultée le 22 juin 2007)
Image Bank [en ligne]
Adresse URL : http://www.fleshandbones.com/imagebank/default.cfm

FOKKELMAN K., HAASE E., STEVENS J., IDIKIO H., KORBUTT G., BIGAM D., CHEUNG PY. (2007)
Tissue-specific changes in glutathione content of hypoxic newborn pigs reoxygenated with 21% or 100% oxygen
Eur. J. Pharmacol., 562 (1-2), pp. 132-137.

FRIEDERICHS E., MEISELMAN H.J. (1994)
Effects of calcium permeabilization on RBC rheologic behavior
Biorheology, 31 (2), pp. 207-215.

GILMARTIN G., TAMISIER R., ANAND A., CUNNINGTON D., WEISS J.W. (2006)
Evidence of impaired hypoxic vasodilatation after intermediate-duration hypoxic exposure in humans
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 291 (5), pp. H2173-H2180.

GRENIER N., CLAUDON M., Université de Médecine René Descartes, Paris (Page consultée le 20 février 2007)
Bases physiques du Doppler [en ligne]
Adresse URL : http://naxos.biomedicale.univ-paris5.fr/diue/Poly-Bases-Physiques.htm

HAASE E., BIGAM D.L., NAKONECHNY Q.B., JEWELL L.D., KORBUTT G., CHEUNG P. (2004)
Resuscitation With 100% Oxygen Causes Intestinal Glutathione Oxidation and Reoxygenation Injury in Asphyxiated Newborn Piglets
Ann. Surg., 240 (2), pp. 364-373.

HARVEY J.W., The Merck Veterinary Manual (Page consultée le 24 mars 2007)
Hematopoietic system introduction : red blood cells [en ligne]
Adresse URL : http://www.merckvetmanual.com/mvm/htm/bc/cirin12.htm

HILL M., University of New South Wales (Page consultée le 15 juin 2007)
Cardiovascular system – Blood [en ligne]
Adresse URL : http://embryology.med.unsw.edu.au/Notes/heart20.htm

JAIN N.C. (1993)
Chapitre 2 : Comparative hematology of common domestic animals
in : Essentials of Veterinary Hematology, Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 19-53.

JAN KM., Columbia University of New York (Page consultée le 2 juin 2007)
Factors regulating arterial pressure, cardiac output and peripheral resistance [en ligne]
Adresse URL : http://www.columbia.edu/~kj3/Chapter3.htm

JOHNN H., PHIPPS C., GASCOYNE S., HAWKEY C., RAMPLING M.W. (1992)
A comparison of the viscometric properties of the blood from a wide range of mammals
Clin. Hemorheol., 12, pp. 639-647.

KAMLER M., WENDT D., PIZANIS N., MILEKHIN V., SCHADE U., JAKOB H. (2004)
Deleterious effects of oxygen during extracorporeal circulation for the microcirculation in vivo
Eur. J. Cardiothorac. Surg., 26 (3), pp. 564-570.

KAYAR E., MAT F., MEISELMAN H.J., BASKURT O.K. (2001)
Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury
Biorheology, 38 (5-6), pp. 405-414.

KLABUNDE R.E. (Page consultée le 10 mai 2007)
Cardiovascular physiology concepts [en ligne]
Adresse URL : http://www.cvphysiology.com/Hemodynamics/H011.htm

KNIGHT D.R., SCHAFFARTZIK W., POOLE D.C., HOGAN M.C., BEBOUT D.E., WAGNER P.D. (1993)
Effects of hyperoxia on maximal leg O_2 supply and utilization in men
J. Appl. Physiol., 75 (6), pp. 2586-2594.

KRAMER J.W. (2000)
Chapitre 165 : Normal hematology of the horse
in : FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. (eds), Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 1069-1074.

KUTTILA K. (1990)
Response of tissue oxygenation to systemic hyperoxia after cardiac surgery
Crit. Care Med., 18 (4), pp. 369-372.

LEUENBERGER U.A., GRAY K., HERR M.D. (1999)
Adenosine contributes to hypoxia-induced forearm vasodilation in humans
J. Appl. Physiol., 87 (6), pp. 2218-2224.

MAK S., EGRI Z., TANNA G., COLMAN R., NEWTON G.E. (2002)
Vitamin C prevents hyperoxia-mediated vasoconstriction and impairment of endothelium-dependent vasodilation
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 282 (6), pp. H2414-H2421.

MANCINI D.M., BOLINGER L., LI H., KENDRICK K., CHANCE B., WILSON J.R. (1994)
Validation of near-infrared spectroscopy in humans
J. Appl. Physiol., 77 (6), pp. 2740-2747.

MANOHAR M., GUSTAFSON R., NGANWA D. (1987)
Skeletal muscle perfusion during prolonged 2,03% end-tidal isoflurane-O_2 anesthesia in isocapnic ponies
Am. J. Vet. Res., 48 (6), pp. 946-951.

MARIEB E.N. (2005)
Chapitre 22 : Le système respiratoire
in : Anatomie et physiologie humaines, Adaptation de la 6ème édition américaine, Editions du Renouveau Pédagogique Inc., Saint-Laurent, pp. 853-904.

MEISELMAN H.J. (1981)
Morphological determinants of red cell deformability
Scand. J. Clin. Lab. Invest. Suppl., 156, pp. 27-34.

MENSACK S., MURTAUGH R. (1999)
Oxygen Toxicity
Compend. Contin. Educ. Pract. Vet., 21 (4), pp. 341-351.

MICROCIRCULATION LABORATORY, Penn State, Department of Bioengineering (page consultée le 2 mai 2007)
Microcirculation Laboratory [en ligne]
Adresse URL : http://www.bioe.psu.edu/labs/microcirc.html

MILONE S.D., NEWTON G.E., PARKER J.D. (1999)
Hemodynamic and biochemical effects of 100% oxygen breathing in humans
Can. J. Physiol. Pharmacol., 77 (2), pp. 124-130.

MOHANDAS N., CHASIS J.A., SHOHET S.B. (1983)
The influence of membrane skeleton on red cell deformability, membrane material properties, and shape
Semin. Hematol., 20 (3), pp. 225-242.

MOHANDAS N., CHASIS J.A. (1993)
Red blood cell deformability, membrane material properties and shape : regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids
Semin. Hematol., 30 (3), pp. 171-192.

MORENA M., MARTIN-MATEO M., CRISTOL JP., CANAUD B. (2002)
Stress oxydant, hémo-incompatibilité et complications de la dialyse au long cours
Néphrologie, 23 (5), pp. 201-208.

PARKER K.H., Imperial College of London (Page consultée le 5 juin 2007)
Notes for cardiovascular fluid mechanics [en ligne]
Adresse URL : http://www.bg.ic.ac.uk/Staff/khparker/homepage/BSc_lectures/2002/_ Cardiovascular_Mechanics.html

PELTONEN J.E., KOWALCHUK J.M., PATERSON D.H., DELOREY D.S., DUMANOIR G.R., PETRELLA R.J., SHOEMAKER J.K. (2007)
Cerebral and muscle tissue oxygenation in acute hypoxic ventilatory response test
Resp. Physiol. Neurobiol., 155 (1), pp. 71-81.

PHILLIPS M., CATANEO R.N., GREENBERG J., GRODMAN R., GUNAWARDENA R., NAIDU A. (2003)
Effect of oxygen on breath markers of oxidative stress
Eur. Respir. J., 21 (1), pp. 48-51.

PLASENZOTTI R., STOIBER B., POSCH M., WINDBERGER U. (2004)
Red blood cell deformability and aggregation behaviour in different animal species
Clin. Hemorheol. Microcirc., 31 (2), pp. 105-111.

POPEL A.S., JOHNSON P.C., KAMENEVA M.V., WILD M.A. (1994)
Capacity for red blood cell aggregation is higher in athletic mammalian species than in sedentary species
J. Appl. Physiol., 77 (4), pp. 1790-1794.

POPEL A.S., JOHNSON P.C. (2005)
Microcirculation and hemorheology
Annu. Rev. Fluid Mech., 37, pp. 43- 69.

PORTIER K. (2005)
Analyse des gaz du sang chez le chien et le chat : Déséquilibres acido-basiques d'origine respiratoire
Point Vét., 36 (257), pp. 24-28.

POWIS R.L. (1998)
Ultrasound science for the veterinarian
in : RANTANEN N.W., McKINNON A.O. (eds.), Equine Diagnostic Ultrasonography, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 1-18.

PRINGLE J., ROBERTS C., KHOL M., LEKEUX P. (1999)
Near infared spectroscopy in large animals : optical pathlenght and influence of hair covering and epidermal pigmentation
Vet. J., 158 (1), pp. 48-52.

PRINGLE J., ROBERTS C., ART T., LEKEUX P. (2000)
Assessment of muscle oxygenation in the horse by near infrared spectroscopy
Equine Vet. J., 32 (1), pp. 59-64.

QUEMADA D., DUFAUX J., FLAUD P. (1993)
L'hydrodynamique du sang
Recherche, 24 (254), pp. 585-590.

RAISIS A.L., YOUNG L.E., MEIRE H., WALSH K., TAYLOR P.M., LEKEUX P. (2000)
Repeatability of Doppler ultrasound measurements of hindlimb blood flow in halothane anaesthetised horses
Equine Vet. J., 32 (3), pp. 239-246.

RAISIS A.L. (2005)
Skeletal muscle blood flow in anaesthetized horses. Part I : measurements techniques
Vet. Anaesth. Analg., 32 (6), pp. 324-330.

REEF V.B. (1998)
Physics and instrumentation
in : Equine Diagnostic Ultrasound, Saunders W.B., Philadelphie, pp. 1-23.

ROOTWELT T., ODDEN JP., HALL C., SAUGSTAD O.D. (1996)
Regional blood flow during severe hypoxemia and resuscitation with 21% or 100% O_2 in newborn pigs
J. Perinat. Med., 24 (3), pp. 227-236.

ROSSELET P. (1993)
Erythrocyte et rhéologie sanguine
Thèse de Doctorat Vétérinaire, Toulouse : Université Paul Sabatier, 70 p.

ROSSI P., BOUSSUGES A. (2005)
Hyperoxia-induced arterial compliance decrease in healthy man
Clin. Physiol. Funct. Imaging, 25 (1), pp. 10-15.

ROSSI P., TAUZIN L., WEISS M., ROSTAIN J.C., SAINTY J.M., BOUSSUGES A. (2007)
Could hyperoxic ventilation impair oxygen delivery in septic patients ?
Clin. Physiol. Funct. Imaging, 27 (3), pp. 180-184.

ROUSSEAU A., BAK Z., JANEROT-SJÖBERG B., SJÖBERG F. (2005)
Acute hyperoxaemia-induced effects on regional blood flow, oxygen consumption and central circulation in man
Acta. Physiol. Scand., 183 (3), pp. 231-240.

ROUSSEAU A., STEINWALL I., WOODSON R.D., SJÖBERG F. (2007)
Hyperoxia decreases cutaneous blood flow in high-perfusion areas
Microvasc. Res., 74 (1), pp. 15-22.

SCHMID-SCHÖNBEIN H. (1981)
Blood rheology and physiology of microcirculation
Ric. Clin. Lab., 11 (Suppl. 1), pp. 13-33.

SCHMIDT-NIELSEN K. (1970)
Energy metabolism, body size, and problems of scaling
Fed. Proc., 29 (4), pp. 1524-1532.

SCICLUNA C. (1995)
Principes en anesthésie équine
Rec. Méd. Vét., 171 (10/11), pp. 625-631.

SENDE J. (Page consultée le 17 mai 2007)
Gaz du sang artériel : l'hémoglobine et l'oxygène [en ligne]
Adresse URL : http://www.ednes.com/gds/po5.htm

SERVICE D'HEMODYNAMIQUE DIAGNOSTIQUE ET THERAPEUTIQUE, Hôpital cardiovasculaire et pneumologique, Lyon (Page consultée le 14 juin 2007)
Biomécanique Cœur – Vaisseaux [en ligne]
Adresse URL : http://imagerie-cv.univ- lyon1.fr/WEB_CARDIO/documents/Documents_ references/poly-biomeca/biomec07.htm

SHIGA T., MAEDA N., KON K. (1990)
Erythrocyte rheology
Crit. Rev. Oncol. Hematol., 10 (1), pp. 9-48.

STEVENS J.P., HAASE E., CHURCHILL T., BIGAM D.L., CHEUNG P.Y. (2007)
Resuscitation with 21% or 100% oxygen is equally effective in restoring perfusion and oxygen metabolism in the liver of hypoxic newborn piglets
Shock, 27 (6), pp. 657-662.

STONE H.O., THOMPSON H.K. Jr., SCHMIDT-NIELSEN K. (1968)
Influence of erythrocytes on blood viscosity
Am. J. Physiol., 214 (4), pp. 913-918.

SULLIVAN S.M., JOHNSON P.C. (1981)
Effect of oxygen on blood flow autoregulation in cat sartorius muscle
Am. J. Physiol., 241 (6), pp. H807-H815.

THOMSON A.J., DRUMMOND G.B., WARING W.S., WEBB D.J., MAXWELL S.R. (2006)
Effects of short-term isocapnic hyperoxia and hypoxia on cardiovascular function
J. Appl. Physiol., 101 (3), pp. 809-816.

TOMIYAMA Y., BRIAN J.E. Jr., TODD M.M. (2000)
Plasma viscosity and cerebral blood flow
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 279 (4), pp. H1949-H1954.

TSAI A.G., CABRALES P., WINSLOW R.M., INTAGLIETTA M. (2003)
Microvascular oxygen distribution in awake hamster window chamber model during hyperoxia
Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol., 285 (4), pp. H1537-H1545.

VENTO M., ASENSI M., SASTRE J., LLORET A., GARCIA-SALA F., MINANA J.B., VINA J. (2002)
Hyperoxemia caused by resuscitation with pure oxygen may alter intracellular redox status by increasing oxidized glutathione in asphyxiated newly born infants
Sem. Perinat., 26 (6), pp. 406-410.

WARING W.S., THOMSON A.J., ADWANI S.H., ROSSEEL A.J., POTTER J.F., WEBB D.J., MAXWELL S.R.J. (2003)
Cardiovascular effects of acute oxygen administration in healthy adults
J. Cardiovasc. Pharmacol., 42 (2), pp. 245-250.

WEAVER B.M.Q., LUNN C.E.M., STADDON G.E. (1984)
Muscle perfusion in the horse
Equine Vet. J., 16 (1), pp. 66-68.

WEISS DJ. (2000)
Chapitre 10 : Clinical hemorrheology
in : FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. (eds), Schalm's Veterinary Hematology, 5th ed., Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, pp. 57-60.

WELCH H.G., BONDE-PETERSEN F., GRAHAM T., KLAUSEN K., SECHER N. (1977)
Effects of hyperoxia on leg blood flow and metabolism during exercise
J. Appl. Physiol. : Respirat. Environ. Exercise Physiol., 42 (3), pp. 385-390.

WIEDMEIER V.T., Medical College of Georgia, bibliothèque (Page consultée le 7 mai 2007)
Factors controlling blood flow ; Hemodynamics [en ligne]
Adresse URL : http://www.lib.mcg.edu/edu/eshuphysio/program/section3/3ch6/s3ch6_14.htm

WIKIPEDIA, The Free Encyclopedia (Page consultée le 24 avril 2007)
Viscosity [en ligne]
Adresse URL : http://en.wikipedia.org/wiki/Viscosity

WINDBERGER U., BARTHOLOVITSCH A., PLASENZOTTI R., KORAK K.J., HEINZE G. (2003)
Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species : reference values and comparison of data
Exp. Physiol., 88 (3), pp. 431-440.

DUCIMETIÈRE, Isabelle

Effet du pourcentage d'oxygène inhalé sur la viscosité sanguine, la perfusion et l'oxygénation musculaires du cheval sous anesthésie volatile

Thèse Vétérinaire : Lyon , *le 28 Septembre 2007*

RÉSUMÉ :

Après avoir décrit les relations existant entre la viscosité sanguine, la perfusion et l'oxygénation musculaires dans une première partie, cette thèse expose les résultats d'une étude menée sur les effets du pourcentage d'oxygène inhalé par le cheval sous anesthésie volatile sur ces trois paramètres. En comparant les conséquences de l'inhalation de 21 % et de 100 % d'oxygène, nous n'avons pas observé de variation significative de la viscosité sanguine ou de la perfusion musculaire. Cependant, la mesure de l'oxygénation musculaire a révélé une désaturation de l'hémoglobine au niveau tissulaire lors des deux traitements. Il semblerait donc que le muscle ne soit pas mieux oxygéné lorsque la pression partielle en dioxygène est élevée dans le sang artériel.

MOTS CLÉS :
- **Viscosité sanguine**
- **Perfusion musculaire**
- **Oxygénation musculaire**
- **Cheval**
- **Oxygène**

JURY :

Président :	Monsieur le Professeur Claude GHARIB
1er Assesseur :	Madame le Docteur Jeanne-Marie BONNET
2ème Assesseur :	Monsieur le Professeur Jean-Luc CADORÉ
Membre invité :	Madame le Docteur Karine PORTIER

DATE DE SOUTENANCE : 28 Septembre 2007

ADRESSE DE L'AUTEUR : 308, rue de la Canne
74 140 LOISIN, France