

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

	PREX	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 M.L. DELIGNETTE K. CHALVET-MONFRAY			
DEPARTEMENT ANIMAUX DE COMPAGNIE							
Anatomie			T. ROGER	S. SAWAYA	C. BOULOCHER ME DIJLOS		
Chirurgie et Anesthésiologie		J.P. 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 D. WATRELOT-VIRIEUX (MCC)		
Hématologie		C. FOURNEL					
Médecine interne		J.L. CADORE		L. CHERRINNE F. PONCE M. HUGONNARD C. ESCIBOU			I. BUBLOT
Imagerie Médicale					J. SONET (MCC)		
DEPARTEMENT PRODUCTIONS ANIMALES							
Zootéchnie, 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. ALOGNINOIWA	R. FRIKHA M.A. ARCANGIOLI D. LE GRAND			G. LESOBRE P. DEBARNOT D. LAURENT
DEPARTEMENT SCIENCES BIOLOGIQUES							
Physiologie/Thérapeutique				J.J. THEBAULT 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		J.L. 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. <i>Viscosité apparente ou dynamique</i>	24
b. <i>Viscosité cinématique</i>	25
c. <i>Viscosité relative</i>	25
4. Le sang est un fluide non newtonien dont la viscosité diminue avec le taux de cisaillement.....	25
a. <i>Le flux sanguin peut être modélisé comme un flux laminaire</i>	25
b. <i>Le sang est un fluide non newtonien</i>	26
c. <i>Le sang est un fluide rhéofluidifiant</i>	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. <i>Le taux d'hématocrite est directement corrélé à la viscosité sanguine</i>	28
b. <i>Le taux d'hématocrite du cheval est parfois élevé</i>	29
2. La déformabilité des globules rouges permet de fluidifier le sang.....	30
a. <i>La déformabilité des globules rouges dépend de leur composition et de leur morphologie</i>	31
b. <i>Des érythrocytes plus rigides rendent le sang plus visqueux</i>	33
c. <i>Le cheval possède des globules rouges peu flexibles</i>	34
3. L'agrégabilité des globules rouges rend le sang plus visqueux.....	34
a. <i>Le mécanisme d'agrégation des globules rouges est encore mal compris</i>	35
b. <i>Une agrégabilité accrue des érythrocytes augmente la viscosité du sang</i>	36
c. <i>Le cheval possède un sang physiologiquement hyperagrégé</i>	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. <i>L'agrégabilité est un des mécanismes régulateurs de la microcirculation.....</i>	<i>58</i>
b. <i>L'agrégabilité peut cependant compromettre la perfusion dans la microcirculation</i>	<i>58</i>
c. <i>La viscosité plasmatique, les leucocytes et les plaquettes peuvent jouer un rôle important dans la perfusion tissulaire</i>	<i>60</i>
d. <i>Le cheval, dont la viscosité sanguine est élevée, est pourtant doté d'une importante perfusion tissulaire.....</i>	<i>61</i>

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
<i>a. Paramètres monitorés en continu</i>	90
<i>b. Etude des paramètres sanguins</i>	90
(1) Gaz sanguins	90
(2) Hématocrite et protéines totales	90
<i>c. Viscosité sur sang total</i>	91
<i>d. Perfusion musculaire</i>	92
<i>e. Oxygénation musculaire</i>	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

<i>Figure 1 : Création d'un cisaillement au sein d'un fluide entre deux plaques</i>	<i>23</i>
<i>Figure 2 : Courbe parabolique des vitesses dans un tube.....</i>	<i>25</i>
<i>Figure 3 : Effet du taux de cisaillement sur la viscosité dynamique des fluides</i>	<i>26</i>
<i>Figure 4 : Comportement des différentes classes de fluides en fonction du cisaillement</i>	<i>27</i>
<i>Figure 5 : Viscosité relative du sang total et du plasma en fonction de l'hématocrite</i>	<i>29</i>
<i>Figure 6 : Orientation des globules rouges dans un flux sanguin allant de gauche à droite .</i>	<i>31</i>
<i>Figure 7 : Globules rouges en microscopie électronique à balayage</i>	<i>32</i>
<i>Figure 8 : Globules rouges en rouleau dans un vaisseau sanguin (A), détail (B).</i>	<i>35</i>
<i>Figure 9 : Viscosité dynamique du sang en fonction du taux de cisaillement et des propriétés érythrocytaires</i>	<i>37</i>
<i>Figure 10 : Frottis sanguin d'un cheval.....</i>	<i>38</i>
<i>Figure 11 : Viscosimètre rotatif.....</i>	<i>43</i>
<i>Figure 12 : Viscosimètre à chute de bille</i>	<i>44</i>
<i>Figure 13 : Loi de Poiseuille illustrée</i>	<i>47</i>
<i>Figure 14 : Nombre de Reynolds</i>	<i>48</i>
<i>Figure 15 : Evolution de l'écoulement du fluide selon la valeur du nombre de Reynolds.....</i>	<i>48</i>
<i>Figure 16 : Variation du taux de cisaillement des grandes artérioles aux grandes veinules..</i>	<i>49</i>
<i>Figure 17 : Représentation du flux sanguin à l'intérieur d'un vaisseau.....</i>	<i>50</i>
<i>Figure 18 : Architecture du réseau microcirculatoire.....</i>	<i>53</i>
<i>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</i>	<i>54</i>
<i>Figure 20 : Evolution de l'hématocrite en fonction du diamètre vasculaire : Effet Fahraeus</i>	<i>55</i>
<i>Figure 21 : Evolution de la viscosité relative en fonction du diamètre vasculaire : Effet Fahraeus-Lindqvist.....</i>	<i>55</i>

<i>Figure 22 : Schématisation du flux sanguin dans un vaisseau de petit diamètre.....</i>	<i>56</i>
<i>Figure 23 : Evolution de la viscosité apparente du sang en fonction de l'hématocrite dans des vaisseaux de différents diamètres</i>	<i>57</i>
<i>Figure 24 : Agrégats de globules rouges dans des capillaires.....</i>	<i>59</i>
<i>Figure 25 : Schématisation de l'effet Doppler selon le mouvement de la cible</i>	<i>63</i>
<i>Figure 26 : Schématisation de l'angle Doppler</i>	<i>64</i>
<i>Figure 27 : Relation entre l'hématocrite et la quantité d'oxygène délivrée aux tissus.....</i>	<i>71</i>
<i>Figure 28 : Evolution de la PaO₂ théorique prévisible en fonction de la FiO₂.....</i>	<i>71</i>
<i>Figure 29 : Courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine de différentes espèces.....</i>	<i>73</i>
<i>Figure 30 : Déviation à gauche de la courbe de dissociation de l'hémoglobine</i>	<i>75</i>
<i>Figure 31 : Déviation à droite de la courbe de dissociation de l'hémoglobine</i>	<i>76</i>
<i>Figure 32 : Baisse de la capacité de fixation de l'hémoglobine.....</i>	<i>77</i>
<i>Figure 33 : Spectre d'absorption des hémoglobines oxygénée et désoxygénée en fonction de la longueur d'onde de la lumière utilisée</i>	<i>80</i>
<i>Figure 34 : Schématisation de la traversée d'une solution par une lumière.....</i>	<i>80</i>
<i>Figure 35 : Détection de la lumière après son parcours dans les tissus par deux récepteurs</i>	<i>82</i>
<i>Figure 36 : Viscosimètre à chute de bille B 3.1.....</i>	<i>91</i>
<i>Figure 37 : Aloka® α 10.....</i>	<i>92</i>
<i>Figure 38 : Positionnement des points A et B sur le vaisseau et profil des vitesses.....</i>	<i>93</i>
<i>Figure 39 : Exemple d'image obtenue en Doppler couleur lors de l'expérimentation.....</i>	<i>94</i>
<i>Figure 40 : Moniteur NIRO-200.....</i>	<i>94</i>
<i>Figure 41 : Optodes du NIRO-200</i>	<i>95</i>
<i>Figure 42 : Protocole expérimental schématisé.....</i>	<i>97</i>
<i>Figure 43 : Evolution de la PaO₂.....</i>	<i>99</i>
<i>Figure 44 : Evolution de la SpO₂.....</i>	<i>100</i>
<i>Figure 45 : Evolution de la PaCO₂.....</i>	<i>100</i>

<i>Figure 46 : Evolution de la pression artérielle entre T0 et T1</i>	102
<i>Figure 47 : Evolution de la concentration en protéines totales</i>	102
<i>Figure 48 : Evolution de la viscosité sanguine entre T0 et T1 pour une FiO₂ de 1</i>	103
<i>Figure 49 : Evolution des concentrations tissulaires en oxy- et désoxyhémoglobine (en μM) entre T0 et T1 pour une FiO₂ de 0,21</i>	107
<i>Figure 50 : Moyennes des valeurs d'HbO₂, 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</i>	108
<i>Figure 51 : Evolution des concentrations tissulaires en oxy- et désoxyhémoglobine (en micromolaires) entre T0, T100 et T1 pour une FiO₂ de 1</i>	109
<i>Figure 52 : Moyennes des valeurs d'HbO₂, 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</i>	109
<i>Figure 53 : Evolution du TOI (en %)</i>	110
<i>Figure 54 : Exemple de tracé obtenu lors d'une anesthésie sous 21 % d'oxygène (cheval 6169)</i>	111
<i>Figure 55 : Evolution du THI (unité arbitraire)</i>	112
<i>Figure 56 : Exemple de tracé obtenu lors d'une anesthésie sous 100 % d'oxygène (cheval 6194)</i>	112

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1 : Pourcentage d'erreur par degré en fonction de l'angle Doppler</i>	<i>67</i>
<i>Tableau 2 : Date et ordre de passage des chevaux, tirés au sort</i>	<i>88</i>
<i>Tableau 3 : Récapitulatif des moyennes et écarts-types des paramètres sanguins étudiés à T0 et T1</i>	<i>104</i>
<i>Tableau 4 : Evolution du diamètre du vaisseau sanguin étudié entre T0 et T1.....</i>	<i>105</i>
<i>Tableau 5 : Evolution de la vitesse du flux sanguin dans l'artériole étudiée entre T0 et T1</i>	<i>106</i>
<i>Tableau 6 : Evolution du débit sanguin dans l'artériole étudiée entre T0 et T1.....</i>	<i>106</i>

ABRÉVIATIONS

2,3-DPG : 2,3 diphosphoglycérate

cHb : concentration en hémoglobine totale

CO₂ : dioxyde de carbone

cP : centipoise

ΔF : fréquence Doppler

ECG : électrocardiogramme

FiO₂ : fraction inspirée en oxygène

Fo : fréquence d'émission

Fr : fréquence de réception

HbO₂ : concentration en hémoglobine oxygénée

HHb : concentration en hémoglobine désoxygénée

mPa.s : milliPascal seconde

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

P₅₀ : pression de demi-saturation

PaO₂ : pression partielle artérielle en oxygène

PaCO₂ : pression partielle artérielle en dioxyde de carbone

PCO₂ : pression partielle en dioxyde de carbone

PO₂ : pression partielle en oxygène

PRF : Pulse Repetition Frequency = Fréquence de répétition

PvO₂ : pression partielle veineuse en oxygène

SpO₂ : 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 (Sciicluna, 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 interpréterons 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).

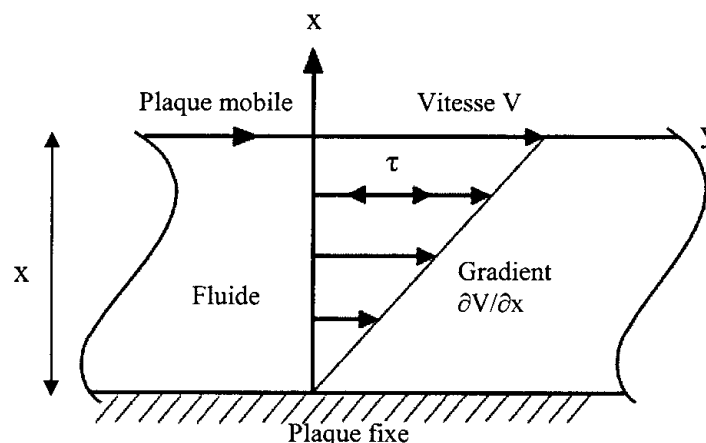


Figure 1 : Création d'un cisaillement au sein d'un fluide entre deux plaques
(adapté de Wikipedia, en ligne)

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.*) :

$$\tau = \eta \cdot (\partial V/\partial x)$$

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 $\partial V/\partial x$:

$$\eta = \tau / (\partial V/\partial x)$$

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 1 mPa.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) :

$$\nu = \eta/\rho$$

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).

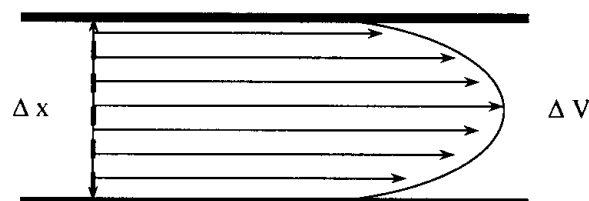


Figure 2 : Courbe parabolique des vitesses dans un tube

(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).

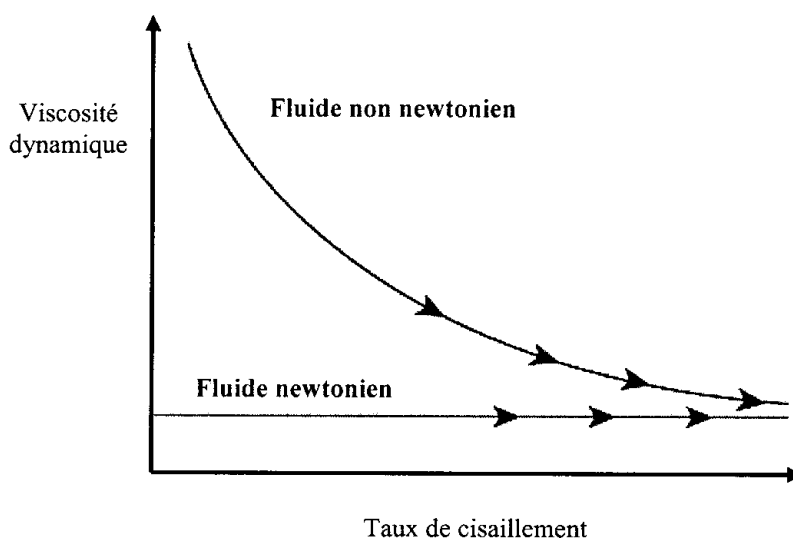


Figure 3 : Effet du taux de cisaillement sur la viscosité dynamique des fluides

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).

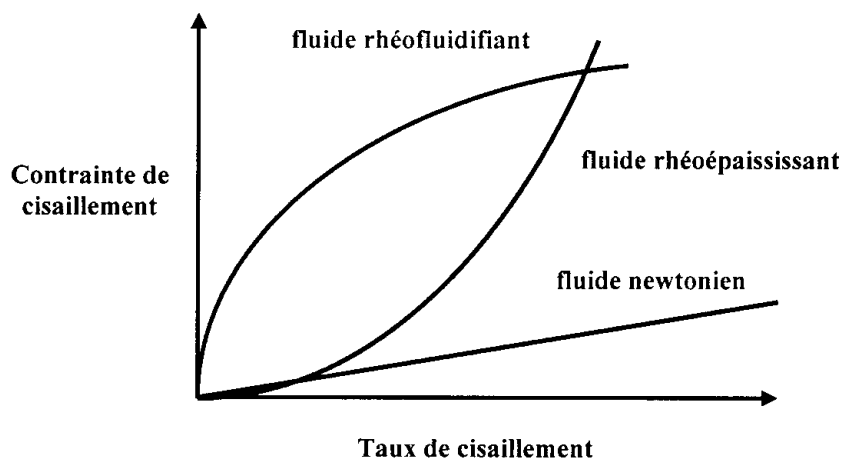


Figure 4 : Comportement des différentes classes de fluides en fonction du cisaillement

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 XX^{ème} 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).

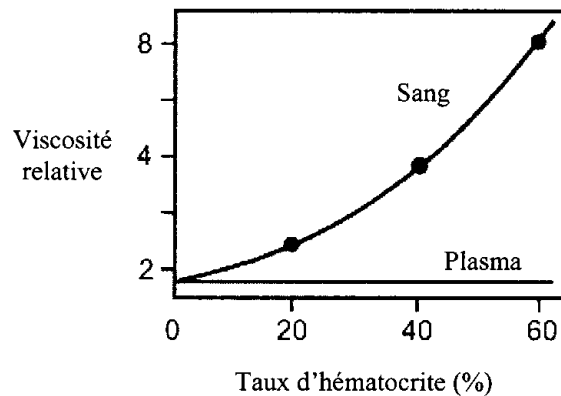


Figure 5 : Viscosité relative du sang total et du plasma en fonction de l'hématocrite (Klabunde, en ligne)

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.

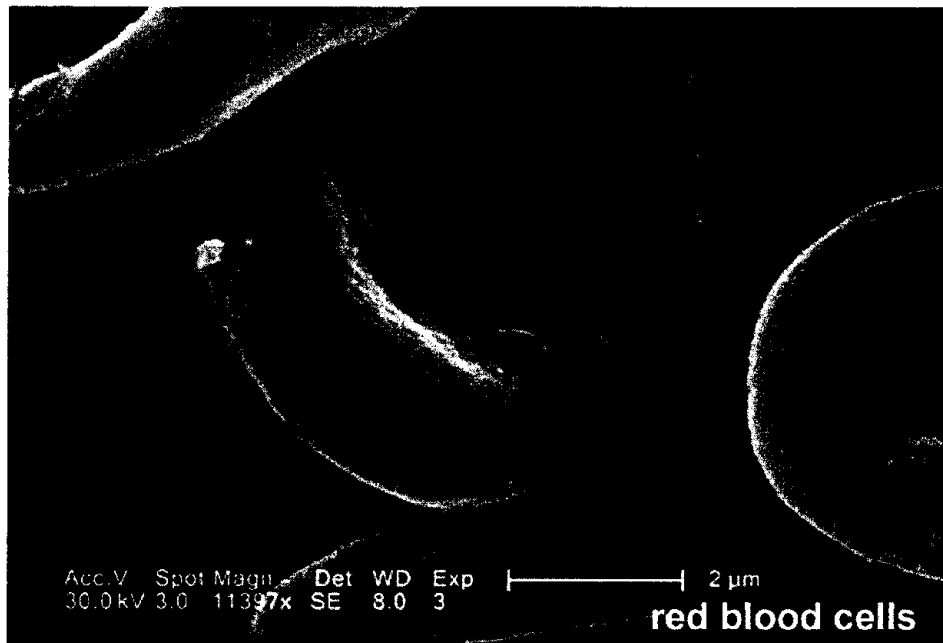


Figure 7 : Globules rouges en microscopie électronique à balayage
Notez la forme caractéristique de disque biconcave (Hill, en ligne).

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).

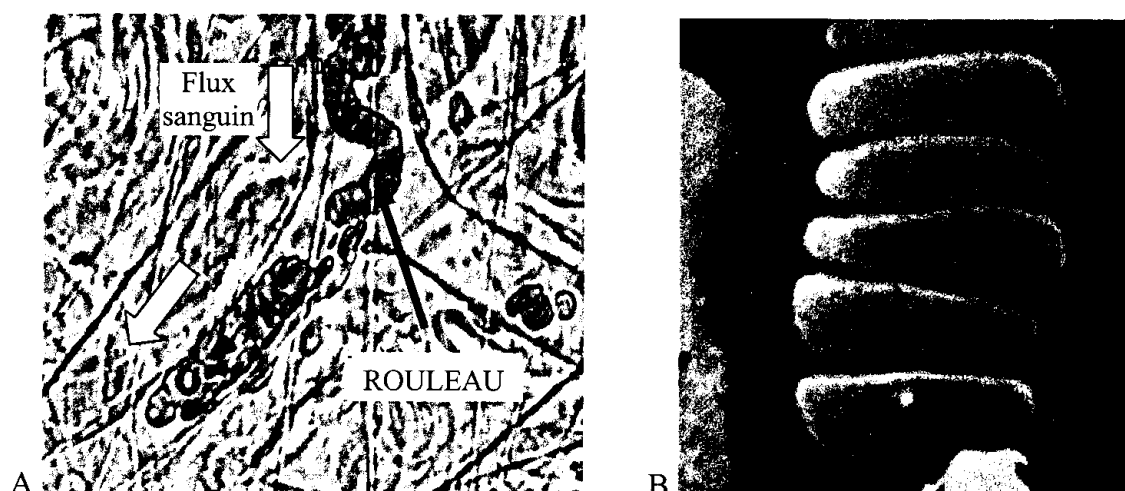


Figure 8 : Globules rouges en rouleau dans un vaisseau sanguin (A), détail (B).

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

