

## FICHE OUTIL



**RUBRIQUE** (ex : VII/ physiologie) : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ Physiologie \_\_\_\_\_

**SECTION** (ex : 3/ biologie cellulaire) : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ Biologie cellulaire \_\_\_\_\_

**NUMERO** (ex : a/ techniques) : \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ Technique \_\_\_\_\_

### TITRE : Mesure de la déformabilité érythrocytaire

**Auteur(s) : Connes Philippe, UMR Inserm 763, CHU  
Pointe à Pitre, Guadeloupe. Email : [pconnes@yahoo.fr](mailto:pconnes@yahoo.fr)**

### BASE THEORIQUE

Le globule rouge (encore appelé hématie ou érythrocyte) fait partie des éléments figurés du sang. Le globule rouge mature, chez les mammifères, est dépourvu de noyau. Son cytoplasme est riche en hémoglobine ; ce qui détermine majoritairement la viscosité interne de la cellule. Le globule rouge assure le transport des gaz respiratoires dont le dioxygène (O<sub>2</sub>) et le dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>). Par le passé, le globule rouge a été considéré, à tort, comme un simple sac à hémoglobine mais depuis plusieurs décennies on s'aperçoit que les fonctions hémodynamiques de cette cellule sont impressionnantes de part ses propriétés biophysiques mais aussi enzymatiques/métaboliques. Il est bon de rappeler qu'environ 80% de la chute de la pression sanguine quand on passe du compartiment artériel vers le compartiment veineux se déroule dans la microcirculation. Bien sûr les artérioles jouent un rôle extrêmement important puisque, de part le fait qu'elles sont riches en muscle lisse, elles peuvent moduler leur diamètre. Mais trop souvent est oubliée une propriété fondamentale du globule rouge : son extrême souplesse. En effet, afin de pouvoir pénétrer les plus fins capillaires, le globule rouge va devoir se déformer. Grâce à son excès de surface (si on prend une sphère de même volume que le globule rouge, on s'aperçoit que le globule rouge a un excès de surface), le globule rouge peut se plier en forme de parachute. Ceci est fondamental pour pénétrer des vaisseaux de 4-5 µm de diamètre avec une cellule dont le diamètre se situe à 7-8 µm. Chez le rat, il a été montré qu'une baisse de 15% de la déformabilité des globules rouges augmentait les résistances vasculaires au niveau périphérique de l'ordre de 75%, et ce, malgré le fait que la réserve vasomotrice soit intacte.

### PRE-REQUIS

La déformabilité des globules rouges dépend principalement de trois facteurs :

- l'élasticité membranaire qui est influencée par la composition lipidique de la membrane et l'intégrité (protéique) du cytosquelette.
- la viscosité interne de la cellule, dont la concentration et le type d'hémoglobine (hémoglobine mutée, hémoglobine glycosylée, ect) sont des facteurs majeurs.
- le volume globulaire moyen qui va modifier le rapport optimal surface/volume.

Ces trois facteurs, et donc la déformabilité des globules rouges, peuvent être réduits dans diverses pathologies, mais aussi être à l'origine de diverses complications (facteur important dans les rétinopathies diabétiques, etc.).

Enfin, de part la fonction importante du globule rouge en terme de perfusion adéquate des tissus, la déformabilité des globules rouges semblent jouer un rôle important dans les réponses à l'effort (1, 2). Il est à noter, que cette déformabilité des globules rouges est modifiée par l'exercice physique et le sens de la modification (réduction ou amélioration) est population-dépendante.

## **PRINCIPE**

Il existe plusieurs techniques pour évaluer la déformabilité des globules rouges (3) :

- Techniques de filtration par micropipette : il s'agit d'aspirer les cellules une par une, et l'une après l'autre, avec une pression donnée (et on mesure le temps de transit), où en augmentant la pression de manière croissante, etc. Il existe plusieurs modalités d'utilisation de cette technique et divers indices (élasticité membranaire, viscosité interne, etc.) peuvent être calculés. Bien que cette technique permette de bien caractériser les caractéristiques des globules rouges, elle est très consommatrice de temps et peu appropriée en clinique. Elle est de plus en plus rarement utilisée.
- Techniques de filtration sur filtre micropore : il s'agit de faire passer une suspension de globules rouges à une pression donnée (et on mesure encore une fois le temps de transit) sur des filtres micropores de petit diamètre. Cette technique a été très utilisée mais son inconvénient majeur est que la présence des globules blancs, de diamètre supérieur aux rouges, peut obstruer les micropores et biaiser la mesure.
- Pince optiques : sans rentrer trop dans le détail, il s'agit de coller deux billes de silice sur la membrane du globule rouge, en positions diamétralement opposées. Le globule rouge est alors déformé sous l'effet de l'application sur les billes, par pinces optiques, de deux forces opposées. On mesure surtout les propriétés d'élasticité, liées à la membrane, du globule rouge. Cette technique est importante en hémothéologie fondamentale mais peu utilisée en clinique car très consommatrice de temps et pas assez répandue pour faire des normes cliniques/physiologiques.
- Eckctacytométrie/diffraction laser : c'est la technique la plus répandue et la plus facile à utiliser, que ce soit dans un contexte physiologique, physiopathologique ou fondamental. Une quantité faible de sang total est mélangé à un tampon très visqueux (du Dextran ou du PolyVinylPyrrollidone), dont la valeur de viscosité a été contrôlée. Après homogénéisation, la suspension est glissée dans le système de cisaillement (système couette ou plateau-plateau selon les modèles). La suspension est alors cisillée à des contraintes de cisaillement croissante afin de déformer de plus en plus les globules rouges, et à 37°C. La déformabilité des globules, ainsi obtenue, est mesurée par le traitement de l'image de la diffraction d'un faisceau laser, captée par une camera.

## **OBJECTIF**

Pour l'eckctacytométrie, on évalue la déformabilité des globules rouges pour différentes contraintes de cisaillement, mimant ce qui peut se passer dans divers territoires vasculaires.

En faisant varier l'osmolalité, on peut étudier les anomalies héréditaires de la membrane du globule rouge. Enfin, des tests de fragilité et de fragmentation membranaire sont possibles.

## **MATERIEL REQUIS**

- Tubes de sang (EDTA ou héparine)
- Pipettes et embouts
- Gants
- Eckctacytomètre
- Dextran ou du PolyVinylPyrrollidone (si le tampon est réalisé soit même, il faut un viscosimètre et des tampons assez classiques comme du PBS).
- Eau distillée

## **ETAPES**

Détaillées dans le paragraphe « principe »

Remarques : en fonction des populations étudiées, vous pourrez décider de ré-oxygéner l'échantillon avant de commencer les mesures.

## **INTERPRETATION DES RESULTATS/ANALYSE**

Vous observerez une augmentation de la déformabilité érythrocytaire avec l'augmentation de la contrainte de cisaillement. Vous pourrez comparer vos résultats avec les standards cliniques ou par rapport à une population contrôle. Les valeurs obtenues à faible contrainte de cisaillement renseignent sur l'état de la membrane alors que les valeurs obtenues à cisaillement élevé sont influencées par la viscosité interne des cellules.

## **REFERENCES CITEES**

1. **Connes P, Tripette J, Mukisi-Mukaza M, Baskurt OK, Toth K, Meiselman HJ, Hue O, and Antoine-Jonville S.** Relationships between hemodynamic, hemorheological and metabolic responses during exercise. *Biorheology* 46: 133-143, 2009.
2. **Connes P, Suhr F, Martin C, Shin S, Aufradet E, Sunoo S, Klara B, Raynaud de Mauverger E, Romana M, Messonnier L, Kang J, Varlet-Marie E, Feasson L, Hardy-Dessources MD, Bloch W, and Brun JF.** New fundamental and applied mechanisms in exercise hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc* In press.
3. **Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, Liao F, Hardeman MR, Jung F, Meiselman HJ, Nash G, Nemeth N, Neu B, Sandhagen B, Shin S, Thurston G, and Wautier JL.** New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 42: 75-97, 2009.

## **AUTRES REFERENCES CONSEILLEES**

- Baskurt OK, and Meiselman HJ.** In vivo hemorheology. In: Handbook of Hemorheology and hemodynamics. Baskurt OK, Hardeman PR, Rampling MW and Meiselman HJ. Ed. IOS Press. 322-338, 2007.
- Connes P, and Boisseau MR.** Hémo-rhéologie. *Sang Thromb Vaisseaux* 22: 126-136, 2010.