

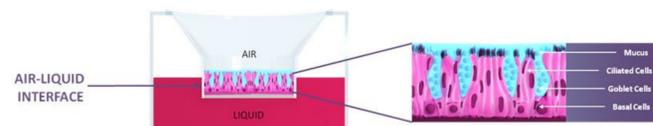
Buts

Dans les maladies muco-obstructives telles que la mucoviscidose, la BPCO ou l'asthme sévère, la difficulté à expectorer est souvent associée à une viscoélasticité anormale du mucus. La rhéologie du sputum est utilisée comme marqueur biophysique pour tester quantitativement la condition des patients et l'efficacité des traitements. Toutefois, l'hétérogénéité des échantillons est à l'origine de nombreux biais de mesure. Nous testons une méthode pour étudier l'influence de cette hétérogénéité en comparant des mesures de rhéologie locale et globale.

Méthodes

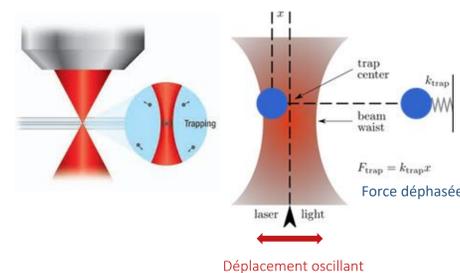
Échantillons

- Produits par des cellules épithéliales issues de pools de 14 donateurs et cultivées en interface air-liquide (MucilAir, Epithelix).
- Collectés par centrifugation douce (2000 rpm, 5 min) et aliquotés.
- Phénotypes : sain (N = 23), mucoviscidose (N = 6), BPCO (N = 2), asthme (N = 3).



Microrhéologie : mesure locale

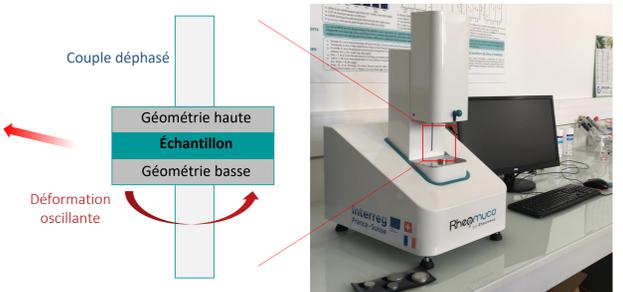
- 1 aliquote pré-ensemencé avec des billes muco-inertes (5 µm)
- Pince optique : laser focalisé qui piège une bille (≈ ressort). Le laser oscille, la bille suit le déplacement amorti et avec retard. On mesure la contrainte à partir de la position de la bille.



- balayage en déformation ou en fréquence : succession de séries d'oscillations d'amplitude ou de fréquence croissante
- petite déformation : réponse du matériau réversible. Modules élastique G' et visqueux G'' (constants) déterminés à partir du rapport contrainte/déformation
- grande déformation : le matériau s'écoule au-delà d'une contrainte seuil σ_c

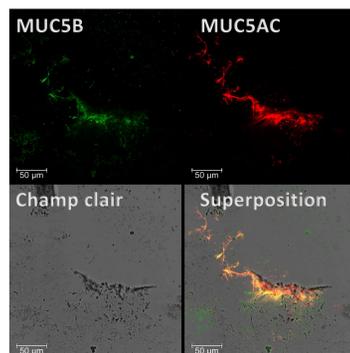
Macrorhéologie : mesure globale

- 1 aliquote déposé sur la géométrie basse du rhéomètre (Rheomuco)
- La géométrie basse oscille, la géométrie haute mesure le couple subi par l'échantillon.



Hétérogénéité spatiale

Hétérogénéité de composition



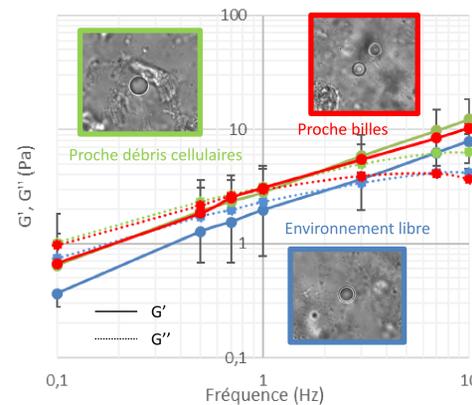
Débris cellulaires



- Forte hétérogénéité à l'échelle de quelques µm à quelques dizaines de µm : réseaux de mucines localement distincts, présence de débris cellulaires, etc.

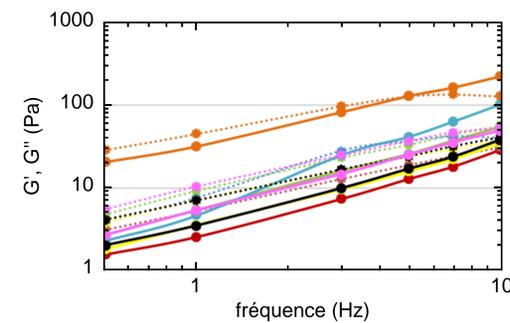
Homogénéité rhéologique

Microenvironnement

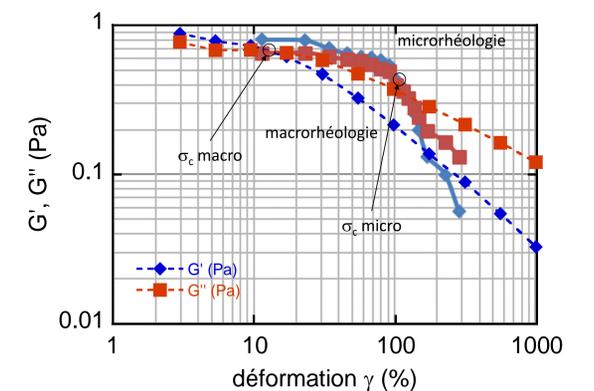


- Pas de différence rhéologique appréciable entre les différents microenvironnements sondés (voisinage d'un débris) ; peu de variation au sein d'un même échantillon
- À confirmer par des mesures simultanées de rhéologie et de composition

Hétérogénéité



Comparaison micro-macrorhéologie



- Même allure des courbes de balayage en déformation
- Valeurs de viscoélasticité comparables pour un même échantillon
- Contrainte seuil locale plus élevée de près d'un ordre de grandeur

Conclusions

Notre étude montre que l'analyse locale permet bien de sonder les propriétés rhéologiques du réseau de mucines. Elle valide ainsi la pertinence de l'approche micro-rhéologique, du moins tant que la taille des particules sondes est plus grande que la taille typique des pores du mucus (quelques centaines de nm). Nous observons également que l'hétérogénéité structurale des échantillons ne se traduit pas par une hétérogénéité des propriétés rhéologiques locales, ce que confirme la similarité des mesures rhéologiques globales (macrorhéologie) et locales (microrhéologie) en viscoélasticité linéaire (marqueur structural). À plus grande déformation, la contrainte seuil peut être localement plus élevée que sa valeur globale, ce qui signifie que les propriétés d'écoulement du réseau peuvent être substantiellement impactées localement par certains composants structuraux. Nous cherchons maintenant à étendre cette approche à des échantillons de sputum, qui présentent des hétérogénéités plus grosses (jusqu'à quelques mm, comparables à l'échelle sondée en macro-rhéologie).

Déclaration de liens d'intérêts

Rheonova conçoit, développe et commercialise des outils de caractérisation rhéologique des sécrétions bronchiques à des fins de diagnostic. Rheonova a commandé la présente étude, fourni le dispositif d'analyse macrorhéologique (Rheomuco) et participé au traitement des résultats.