



Université  
de Toulouse

# THÈSE

En vue de l'obtention du

## DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

**Délivré par :**

Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP)

**Discipline ou spécialité :**

Dynamique des Fluides

---

**Présentée et soutenue par :**

M. JULES DICHAMP

le lundi 2 juillet 2018

**Titre :**

De l'imagerie tissu entier à la modélisation in silico du réseau vasculaire du  
tissu adipeux

---

**Ecole doctorale :**

Mécanique, Energétique, Génie civil, Procédés (MEGeP)

**Unité de recherche :**

Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse (I.M.F.T.)

**Directeur(s) de Thèse :**

M. FRANCK PLOURABOUE

M. LOUIS CASTEILLA

**Rapporteurs :**

M. DANIEL TARTAKOVSKY, STANFORD UNIVERSITY

Mme IRENE VIGNON-CLEMENTEL, INRIA

**Membre(s) du jury :**

M. ALAIN GADEAU, INSERM NOUVELLE-AQUITAINE, Président

M. FRANCK PLOURABOUE, CNRS TOULOUSE, Membre

M. LOUIS CASTEILLA, INSERM OCCITANIE PYRENEES, Membre

Mme FREDERIQUE CHARLES, UNIVERSITE PARIS 6, Membre



# Table des matières

<b>Table des matières</b>	<b>iii</b>
<b>Liste des figures</b>	<b>v</b>
<b>1 Introduction générale</b>	<b>7</b>
1.1 Motivation	7
1.2 Différents types de tissus adipeux et leurs localisations	8
1.3 Organisation et développement du tissu adipeux	8
1.4 Rôle fonctionnel	9
1.5 Les cellules spécialisées des tissus adipeux	10
1.5.1 Les adipocytes	10
1.5.2 Adipocytes bruns, adipocytes blancs et le phénomène de browning	10
1.5.3 Hypertrophie, hyperplasie	11
1.6 La circulation sanguine dans le tissu adipeux	11
1.7 Modélisation des écoulements sanguins	13
1.8 Modélisation des transferts thermiques dans des contextes biologiques	14
1.9 Positionnement du travail	15
1.10 Références	15
<b>2 Analyse structurale du tissu adipeux à partir d'imagerie</b>	<b>23</b>
2.1 Introduction à la méthode de segmentation	23
2.2 Résumé des résultats de l'article	26
2.2.1 Avantages et limites de la méthode	27
2.3 Références	28
2.4 Article soumis	28
<b>3 Écoulements sanguins dans le tissu adipeux</b>	<b>69</b>
3.1 Écoulements sanguins micro-vasculaires	69
3.1.1 Rhéologie du sang et modélisation	69
3.1.2 Effet Fåhræus	71
3.1.3 Effet Fåhræus-Lindqvist	74
3.1.4 Séparation de phase	75
3.1.5 Hypothèses retenues pour la modélisation	78
3.2 Méthode numérique	78
3.2.1 Système linéaire à résoudre	78
3.2.2 Conditions aux limites	80
3.3 Clustering	81
3.4 Résumé de l'article	82
3.5 Références	84
3.6 Article en cours de soumission	90

<b>4</b>	<b>Transferts thermiques entre vaisseaux</b>	<b>119</b>
4.1	Introduction	119
4.2	Échanges de chaleur dans les tissus et vaisseaux thermiquement significatifs	120
4.3	Contexte méthodologique	120
4.3.1	Les échangeurs thermiques	120
4.3.2	Équation constitutive et terme source métabolique	122
4.3.3	Approche théorique et numérique	124
4.4	Résultats de l'article et remise en contexte biologique	126
4.4.1	Trois régimes distincts d'efficacité	127
4.4.2	Transfert ou échanges ?	128
4.5	Évaluation de vaisseaux thermiquement significatifs	129
4.5.1	Quantités évaluées	129
4.5.2	Variation des rapports d'aspects des vaisseaux	129
4.5.3	Variation des distances entre les vaisseaux	131
4.6	Modèles moyens et paramètres effectifs	134
4.6.1	Méthode	134
4.6.2	Validation des paramètres évalués	135
4.6.3	Erreurs relatives sur les valeurs propres	136
4.7	Vers une prise en compte d'un terme source homogène dans le tissu	138
4.8	Références	139
4.9	Article publié dans la revue <i>International Journal of Heat and Mass Transfer</i>	141
<b>5</b>	<b>Discussion, conclusion et perspectives</b>	<b>157</b>
5.1	Discussion des résultats biologiques	157
5.2	Conclusions et perspectives	159

# Liste des figures

1.1	Image 2D par imagerie confocale de lobules du tissu adipeux inguinal de souris. Extrait de <b>BARREAU et collab. [2016]</b> . . . . .	8
1.2	Image 2D par imagerie confocale du tissu adipeux inguinal entier de souris. La zone contenant des lobules est encadré en pointillés. Extrait de <b>BARREAU et collab. [2016]</b> . . . . .	9
1.3	Acquisition de tissu adipeux par imagerie confocale. Les adipocytes sont en jaune, les cellules endothéliales en rouge et les nucleus en bleu. Extrait de <b>ETO et collab. [2009]</b> . . . . .	12
2.1	Image d'origine (à gauche), image filtrée (au centre) et image binarisée/nettoyée (à droite). . . . .	24
2.2	Image nettoyée après filtrage (à gauche), gradient de l'image nettoyée (en haut, à droite) et carte des distances de l'image nettoyée (en bas, à droite). . . . .	25
2.3	Gradient de l'image nettoyée (en haut, à gauche), composantes connexes (en bas, à gauche) et watershed (à droite). . . . .	25
2.4	Image d'origine binarisée (en haut, à gauche), watershed (en bas, à gauche), multiplication des deux images (centre) et résultat de la fusion de graphe (à droite) . . . . .	26
3.1	Effet Fåhareus <i>in vitro</i> (sang humain) dans des tubes de 4,7 et 17 $\mu$ m de diamètres. Le sang s'écoule de gauche à droite. Extrait de <b>TUMA et collab. [2002]</b> . . . . .	72
3.2	Effet Fåhareus <i>in vivo</i> dans le mésentère du rat pour des vaisseaux de 7, 12 et 16 $\mu$ m de diamètres .Le sang s'écoule de gauche à droite. Extrait de <b>TUMA et collab. [2002]</b> . . . . .	73
3.3	Viscosités apparentes <i>in vitro</i> (lignes fines) et <i>in vivo</i> (lignes épaisses) pour plusieurs valeurs d'hématocrite systémique. Extrait de <b>PRIES et SECOMB [2005]</b> . . . . .	76
3.4	Répartition de globules rouges à une bifurcation avant (figure du haut) et après occlusion (figure du bas) du vaisseau en haut à droite. Les flèches indiquent le sens de l'écoulement. Extrait de <b>PRIES et collab. [1989]</b> . . . . .	77
3.5	Schéma d'une bifurcation dans le réseau vasculaire. Les $p_i$ sont les pressions aux nœuds du graphe vasculaire, les $C_i^{hy}$ les conductances hydrauliques et les $Q_i$ les débits sur les liens du graphe vasculaire. Les flèches indiquent le sens de l'écoulement. . . . .	79
4.1	Schémas 3D et d'une coupe 2D de l'échangeur thermique avec des conditions de type Robin sur les bords latéraux de l'échangeur, $\mathcal{C}^E \times [0, L]$ . . . . .	121
4.2	Schéma d'une coupe 2D de l'échangeur thermique avec des conditions périodiques sur les bord latéraux de l'échangeur . . . . .	122

4.3	Ratio $l_{eq}/L^*$ contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports d'aspects des vaisseaux ( $L^* = 5, 10, 20, 50$ ) et différents Péclets veineux et rapports de distances entre vaisseaux : <b>a)</b> $Pe_v = 5, \alpha = 0.2$ , <b>b)</b> $Pe_v = 10, \alpha = 0.2$ , <b>c)</b> $Pe_v = 5, \alpha = 0.5$ , <b>d)</b> $Pe_v = 10, \alpha = 0.5$ . . . . .	131
4.4	Efficacité artérielle contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports d'aspects des vaisseaux ( $L^* = 5, 10, 20, 50$ ) et différents Péclets veineux et rapports de distances entre vaisseaux : <b>a)</b> $Pe_v = 5, \alpha = 0.2$ , <b>b)</b> $Pe_v = 10, \alpha = 0.2$ , <b>c)</b> $Pe_v = 5, \alpha = 0.5$ , <b>d)</b> $Pe_v = 10, \alpha = 0.5$ . . . . .	132
4.5	Ratio $l_{eq}/L^*$ contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports de distances entre vaisseaux ( $\alpha = 0.2, 0.3, 0.5, 0.6$ ) et différents Péclets veineux et rapports d'aspects des vaisseaux : <b>a)</b> $Pe_v = 5, L^* = 5$ , <b>b)</b> $Pe_v = 10, L^* = 5$ , <b>c)</b> $Pe_v = 5, L^* = 20$ , <b>d)</b> $Pe_v = 10, L^* = 20$ . . . . .	133
4.6	Efficacité artérielle $\epsilon_a$ contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports de distances entre vaisseaux ( $\alpha = 0.2, 0.3, 0.5, 0.6$ ) et différents Péclets veineux et rapports d'aspects des vaisseaux : <b>a)</b> $Pe_v = 5, L^* = 5$ , <b>b)</b> $Pe_v = 10, L^* = 5$ , <b>c)</b> $Pe_v = 5, L^* = 20$ , <b>d)</b> $Pe_v = 10, L^* = 20$ . . . . .	134
4.7	Erreurs <b>a)</b> absolues pour la première valeur propre et <b>b)</b> relatives pour la seconde valeur propre . . . . .	136
4.8	Erreurs <b>a)</b> absolues pour la première valeur propre et <b>b)</b> relatives pour la seconde valeur propre . . . . .	137

# Résumé

Le tissu adipeux est traditionnellement décrit comme étant constitué de lobules : des entités de formes ovoïdales composées de cellules et de vaisseaux et faiblement connectées entre elles. Récemment, il a été montré qu'un potentiel métabolique spécifique (le browning) co-localise avec cette organisation en lobules au sein d'un même tissu. Dans ce travail de thèse, nous nous intéressons à décrire plus précisément l'organisation structurelle et fonctionnelle du tissu adipeux selon plusieurs aspects. Dans un premier temps, on s'attache à segmenter les lobules du tissu adipeux en utilisant une méthode de traitement d'image originale. Nous mettons en évidence une organisation 3D complexe et suivant plusieurs échelles. En particulier, il semble que le potentiel de browning soit également lié à une organisation structurelle particulière en clusters de lobules. Dans un second temps, à partir d'imagerie 3D, nous reconstruisons le réseau vasculaire entier du tissu adipeux et réalisons une simulation d'écoulements sanguins micro-vasculaires. Plusieurs hétérogénéités structurelles et fonctionnelles sont alors mises en valeur à l'aide d'une analyse en communautés qui composent le tissu adipeux (par algorithme de clustering). Ces résultats confirment l'existence d'une zone centrale fortement vascularisée et qui se démarque également comme étant le lieu d'une perfusion sanguine d'intensité différente. Dans une dernière partie, nous abordons la question de transferts thermiques entre vaisseaux sanguins suivant des géométries simples mais pertinentes. Nous réalisons une étude systématique des paramètres adimensionnels clés du problème et mettons en évidence un invariant des échanges de chaleur : un optimum à faible nombre de Péclet (convection de même ordre que la diffusion). Nous introduisons également une méthode de calibration de paramètres effectifs dans le contexte des modèles homogénéisés de température à travers des tissus vascularisés.





# Abstract

Adipose tissue is traditionally described as consisting of lobules: ovoid-shaped entities composed of cells and vessels and weakly connected to each other. Recently, it has been shown that a specific metabolic potential (browning) colocalize with this organization in lobules within the same tissue. In this thesis work, we are interested in describing more precisely the structural and functional organization of adipose tissue from several aspects. We first perform a segmentation of adipose tissue lobules using an original image processing method. We highlight a complex 3D organization and relevant on several scales. In particular, it seems that browning potential is also linked to a particular structural organisation in clusters of lobules. In a second step, using 3D imaging, we reconstruct the entire vascular network of adipose tissue and simulate micro-vascular blood flow. Several structural and functional heterogeneities are then highlighted using an analysis in communities among adipose tissue (by clustering algorithm). These results confirm the existence of a highly vascularized central area that also stands out as the site of a more marked blood perfusion. In a last part, we approach the question of heat transfers between blood vessels following simple but relevant geometries. We carry out a systematic study of the key dimensionless parameters of the problem and highlight an invariant of heat exchanges: an optimum at low Péclet number (convection of the same order as diffusion). We also introduce a method of calibrating effective parameters in the context of homogenized temperature models across vascularized tissues.



# Remerciements

Les différents travaux contenus dans ce manuscrit ont été réalisés à l'Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse (IMFT) en collaboration avec le laboratoire STROMALab dans le cadre d'une bourse de thèse régionale ainsi qu'un financement d'ATER. Dans cette partie, je souhaiterais remercier les différents collaborateurs avec qui j'ai eu l'occasion d'échanger.

Merci tout d'abord à mes directeurs de thèse, Franck Plouraboué et Louis Casteilla pour la confiance qu'ils ont porté à mon travail ainsi que pour la qualité de la collaboration que nous avons pu mener à la frontière entre deux domaines scientifiques de cultures différentes. Plus spécifiquement, je tiens à remercier Louis pour la pertinence de ses remarques et commentaires tout le long de cette thèse qui m'ont aidé à prendre de la hauteur sur le travail fourni : *'en biologie il n'y a pas de noir ou de blanc, il n'y a que du gris'*. Un énorme merci à Franck qui m'a grandement soutenu, en particulier dans les moments de doutes, et qui a toujours su me remettre sur la bonne voie. Merci également pour le soucis de partage de son expérience qu'il a eu, que ce soit sur les aspects scientifiques ou les aspects pragmatiques et humains.

Je souhaite également remercier Daniel Tartakovsky et Irène Vignon-Clementel d'avoir accepté de rapporter ce travail ainsi que pour les remarques qui ont permis son amélioration. Je remercie Frédérique Charles et Alain-Pierre Gadeau d'avoir accepté d'évaluer ce travail de thèse.

Merci ensuite à tous les collaborateurs de ce travail : Audrey Carrière, Corinne Barreau, Anne Lorsignol, Xavier Descombes, Jacques Rouquett et Lise Teyssedre. Une mention spéciale pour Pol Kennel, sans qui rien n'aurait été possible, pour son travail effectué pendant son postdoctorat au laboratoire et les moments partagés.

Je salue les thésards et postdoctorants du laboratoire avec qui j'ai pu partager des moments agréables. Merci également aux curieux personnages du 1er étage pour leur accueil chaleureux et leur conseils en tout genre : Romain Guibert, Pierre Horgue, Jacques Franc et Gérald Debenest.

Enfin, je souhaite remercier ma famille et mes amis qui m'ont toujours encouragés et su être compréhensifs de mes indisponibilités dans les moments difficiles. Mes derniers remerciements vont à ma compagne, Aurélie, qui me supporte depuis bientôt 4 ans. Merci pour tout, et le reste.



# Chapitre 1

## Introduction générale

### 1.1 Motivation

Le tissu adipeux présente une activité métabolique et endocrine (sécrétion d'hormones dans la circulation sanguine) particulièrement riche chez les mammifères. Longtemps considéré comme un tissu de simple stockage et de libération de l'énergie, plusieurs découvertes ont considérablement modifié son statut et ses fonctions au sein de l'organisme. Il est d'ailleurs plus juste aujourd'hui de considérer des tissus adipeux, le pluriel indiquant à la fois les différents dépôts présents chez les mammifères et également les diverses fonctions qu'ils assurent. Ainsi, on oppose en général les tissus adipeux sous-cutanés et profonds (au sein de la cavité péritonéale) en décrivant deux types principaux de tissu adipeux : le tissu blanc et le tissu brun. Ces deux tissus associés à des fonctions distinctes existent chez les mammifères bien que leur importance varie selon l'espèce et l'âge (nous détaillerons leurs fonctions plus loin). Cependant, quelles que soient leurs localisations ou leurs fonctions, les tissus adipeux sont de plus en plus étudiés pour leur implication dans les pathologies métaboliques dont l'obésité et le diabète, pour lesquelles une véritable épidémie au niveau mondial est décrite.

Ainsi, l'obésité (et les désordres et maladies métaboliques associées) se trouve aujourd'hui plus répandue que la malnutrition : 1.1 milliards d'adultes ont été considérés obèses en 2005 [HASLAM \[2005\]](#). Plusieurs axes de recherches existent depuis l'étude de stratégies alimentaires pour réduire l'obésité (par exemple, le jeûne [TANG et collab. \[2017\]](#)) aux thérapies moléculaires pour provoquer des mécanismes de dissipation d'énergie dans les tissus [CANNON et NEDERGAARD \[2004\]](#).

Par ailleurs, le caractère "plastique" de certains de ces tissus (un tissu blanc peut en effet devenir localement brun) est en partie lié au caractère multipotent des cellules qui les composent correspondant à la capacité de certaines cellules immatures de se différencier en plusieurs phénotypes terminaux. Cette propriété a motivé un nombre important de recherches cliniques dans le cadre de thérapies régénératives [BURA et collab. \[2014\]](#); [GIMBLE et collab. \[2007\]](#); [KONDO et collab. \[2009\]](#); [LABIT \[2016\]](#) parmi lesquelles le laboratoire STROMALab a été précurseur.

Enfin, parallèlement à ces intérêts appliqués, de récents travaux du laboratoire STROMALab montrent que ce tissu peut être un excellent modèle d'étude chez le mammifère adulte de l'homéostasie tissulaire et des processus de maintien de son intégrité.

La compréhension plus approfondie des tissus adipeux et de leurs activités semble donc primordiale à la fois sur le plan de la santé humaine, en lien avec des questions directement cliniques, mais aussi du point de vue de la biologie. Nous abordons ci-dessous de nombreux aspects cruciaux des tissus adipeux.

## 1.2 Différents types de tissus adipeux et leurs localisations

Comme évoqué précédemment, on distingue traditionnellement deux types de tissus adipeux selon leurs localisations : le tissu adipeux sous-cutané et le tissu adipeux viscéral. Cette distinction est en réalité plus compliquée puisque il existe également des différences parmi les tissus adipeux viscéraux entre eux [ROSEN et SPIEGELMAN \[2014\]](#). De plus, un tissu adipeux chez la souris n'a pas toujours d'équivalent chez l'Homme, ce qui rend évidemment les comparaisons compliquées. Quoi qu'il en soit, il existe une grande variabilité de la population cellulaire entre les tissus adipeux [TCHKONIA et collab. \[2013\]](#). Il semblerait que le tissu adipeux viscéral soit positivement associé aux maladies métaboliques alors que le tissu adipeux sous-cutané est inversement corrélé avec le risque de maladie [LEE et collab. \[2013\]](#); [RUTKOWSKI et collab. \[2009\]](#). Plus intéressant encore, l'implantation de tissu viscéral dans un tissu sous-cutané n'a pas d'influence, alors que l'inverse a un effet bénéfique sur le métabolisme (réduction d'adiposité entre autre) [FOSTER et collab. \[2011\]](#); [TRAN et KAHN \[2010\]](#).

Au sein des dépôts de tissu sous-cutané, il y a également des différences de degré et de nature. Par exemple, chez l'Homme, le potentiel de brunissement (browning en anglais) est différent entre les dépôts abdominaux et mésentériques ([TCHKONIA et collab. \[2013\]](#)). Il y a également des différences en terme de potentiels d'adipogenèse, c'est-à-dire de créations de cellules du tissu adipeux entre les dépôts [TCHKONIA et collab. \[2013\]](#).

## 1.3 Organisation et développement du tissu adipeux

Les tissus adipeux se mettent en place pendant la gestation mais se développent principalement après la naissance. Les tissus adipeux, que ce soit chez la souris ou l'humain sont organisés en agrégats denses de cellules séparés par du tissu conjonctif que l'on appelle lobules ou "îlots du tissu adipeux" en référence aux lobules du foie [WASSERMANN \[1965\]](#). Les lobules apparaissent en forme d'ovoïdes ou de manière plus imagée en "grains de riz". Une représentation est fournie en Figure 1.1.

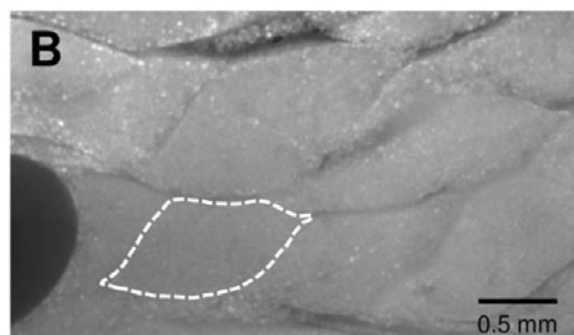


Figure 1.1 – Image 2D par imagerie confocale de lobules du tissu adipeux inguinal de souris. Extrait de [BARREAU et collab. \[2016\]](#)

Dans les études préliminaires du tissu adipeux, les lobules étaient considérés comme provenant du tissu conjonctif (tissu indifférencié) dans leur développement et mise en place. En réalité, ils sont fortement corrélés au développement vasculaire capillaire (qui forme aussi des agrégats), qui est connecté localement au tissu conjonctif. À la question de savoir si la mise en place vasculaire précède la mise en place cellulaire, il n'existe pas encore aujourd'hui de réponse claire. Peu de travaux ont été consacrés à cette question.

Chez l'Homme, il semblerait que la phase d'angiogenèse précède la phase de lobules primitifs [POISSONNET et collab. \[1983\]](#); [POISSONNET \[1988\]](#). Le rôle fonctionnel de ces lobules n'a d'ailleurs pas été développé dans la littérature bien que Wasserman suggérait dès 1965 que les lobules du tissu adipeux devraient être considérés comme des "organes du gras" [WASSERMANN \[1965\]](#). Plus récemment, les progrès de l'imagerie ont permis une nouvelle description structurelle du tissu adipeux, [BARREAU et collab. \[2016\]](#) qui a montré que deux zones distinctes co-existent au sein du tissu adipeux inguinal : une zone comprenant des lobules et une zone qui en est dépourvue (voir Figure 1.2). Il semblerait donc que l'organisation à l'échelle du tissu entier soit plus compliquée qu'initialement imaginé. Enfin, pour être exhaustif sur les travaux antérieurs s'intéressant à la genèse des structures observées au sein du tissu adipeux, un modèle mathématique construit à partir d'interactions de fibres a été proposé et semble correctement reproduire la forme et l'organisation générale des lobules du tissu adipeux [PEURICHARD \[2015\]](#); [PEURICHARD et collab. \[2017\]](#).

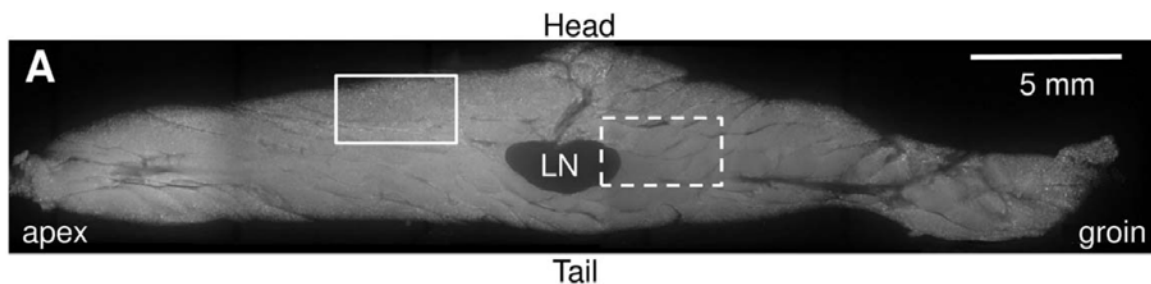


Figure 1.2 – Image 2D par imagerie confocale du tissu adipeux inguinal entier de souris. La zone contenant des lobules est encadré en pointillés. Extrait de [BARREAU et collab. \[2016\]](#)

## 1.4 Rôle fonctionnel

Depuis longtemps, il a été montré que le tissu adipeux joue un rôle essentiel dans la régulation de la balance énergétique et des mécanismes d'homéostasie énergétique. Parallèlement à cette fonction très connue et étudiée, il présente une très forte activité endocrine. Ces deux aspects seront développés dans la suite de ce chapitre. Parallèlement à ces fonctions biologiques, d'autres fonctions de ce tissu proviennent de ses propriétés physiques qu'elles soient mécaniques, et protègent des organes sensibles (œil) ou des zones soumises à des hauts niveaux de contraintes mécaniques (talon, orteils), ou isolantes ce qui est très utile aux saisons froides pour de nombreux mammifères [POND \[1992\]](#). Ces éléments ne seront plus discutés ultérieurement.

D'un point de vue énergétique, le mécanisme de stockage d'énergie sous la forme de lipides, par la capture ou la synthèse d'acides gras (la lipogenèse), est réalisé par les adipocytes blancs qui sont les cellules principales constitutives du tissu adipeux [DUNCAN et collab. \[2007\]](#); [ROSEN et SPIEGELMAN \[2014\]](#). Ce mécanisme intervient en situation d'excès d'énergie. Ces calories seront ensuite libérées dans la circulation sanguine pour servir de source d'énergie à d'autres tissus dont les muscles cardiaques et squelettiques. Ce mécanisme de dégradation des lipides par oxydation des acides gras estérifiés et libérés par la lipolyse, peut faire intervenir jusqu'à 70% de la consommation d'oxygène et correspondre à 60% de la production d'énergie quotidienne chez l'Homme [BALLARD \[1978\]](#); [CARLSON et collab. \[1965\]](#).

D'un point de vue endocrine, la leptine (une hormone sécrétée principalement par le tissu adipeux blanc [BRENNAN et MANTZOROS \[2006\]](#)) dont l'existence a été mise en évidence pour la première fois en 1994 [ZHANG et PROENCA \[1994\]](#), a changé considérablement la vision du tissu adipeux [ROSEN et SPIEGELMAN \[2014\]](#). L'injection de leptine chez des souris en sous-cutané produit une diminution massive du poids liée à un arrêt de la prise alimentaire, démontrant son influence sur le sentiment de satiété et les différents comportements d'accès à la nourriture [FRIEDMAN et HALAAS \[1998\]](#). La leptine génère un signal moléculaire complexe au niveau des centres régulateurs de la prise alimentaire situé au niveau de l'hypothalamus, la zone du cerveau chargée de moduler l'ingestion de nourriture et la dépense énergétique [BRENNAN et MANTZOROS \[2006\]](#). Ces découvertes ont en grande partie motivé le changement conceptuel à l'égard du tissu adipeux, désormais considéré comme un organe endocrine, c'est-à-dire comme participant activement à la libération d'hormones dans la circulation sanguine. Ce tissu est ainsi en relation constante avec les autres organes et participe activement à des fonctions essentielles de l'organisme [KERSHAW et FLIER \[2004\]](#); [WOZNIAK et collab. \[2009\]](#). Par exemple, dans un modèle de souris, le blocage d'une hormone (la leptine) limite le développement des fonctions reproductives et à l'inverse, la restauration à des niveaux de concentration normaux conduit à l'apparition de la puberté et de la fertilité ([MICHALAKIS et collab. \[2013\]](#)).

## 1.5 Les cellules spécialisées des tissus adipeux

### 1.5.1 Les adipocytes

Les cellules spécialisées de ce tissu, les adipocytes, sont peu différenciées. Elles résident pour la plupart sous la forme de cellules multipotentes qui vont se spécialiser en adipocytes en fonction de la demande en métabolisation de lipides ou des signaux hormonaux tels que l'insuline [TCHKONIA et collab. \[2013\]](#). On se réfère à ces cellules comme des pré-adipocytes ou cellules souches/stromales des tissus adipeux (ASC pour Adipose derived Stroma/Stem Cells, en anglais) dont au moins deux types existent chez l'Homme et le rat [PRUNET-MARCASSUS et collab. \[2006\]](#) : ceux qui vont devenir des adipocytes blancs et ceux qui vont donner des adipocytes bruns. Il existe également des adipocytes beiges dont il n'est pas encore clairement su s'ils partagent un précurseur commun aux blancs ou s'ils proviennent d'une trans-différentiation d'un adipocyte blanc [ROSEN et SPIEGELMAN \[2014\]](#). On va dans la prochaine section s'attarder sur les adipocytes beiges et bruns qui ont un rôle fonctionnel spécifique dans le tissu adipeux.

### 1.5.2 Adipocytes bruns, adipocytes blancs et le phénomène de browning

Si le rôle des adipocytes blancs est de stocker les lipides et de les relâcher dans le corps, les adipocytes bruns en ont un autre bien différent. Ce sont des cellules très spécialisées qui dissipent l'énergie chimique sous forme de chaleur. Ce procédé, appelé thermogenèse, est un des mécanismes principaux dans la régulation de chaleur chez le nouveau-né et les rongeurs [CEREIJO et collab. \[2015\]](#). Cette dissipation d'énergie sous forme de chaleur peut être induite par le froid [COUSIN et collab. \[1992\]](#); [KLINGENSPOR \[2003\]](#); [YOUNG et collab. \[1984\]](#) ou après la stimulation d'un signal adrénérgique qui active dans le même temps la lipolyse [COUSIN et collab. \[1992\]](#). Ce phénomène est une réponse homéostatique pour contrôler et réguler la température corporelle, paramètre vital chez les mammifères. Toutefois, il a également été montré que ce procédé peut intervenir suivant des conditions



de régime particulières (diète) [ROTHWELL et STOCK \[1981\]](#). Chez l'humain adulte bien que la quantité de tissus bruns diminue, ce tissu existe, par exemple, au niveau de la nuque [CYPRESS et collab. \[2013\]](#). La mise au froid chronique peut également entraîner une augmentation des tissus bruns existant [HUTTUNEN et collab. \[1981\]](#).

Chez le rongeur soumis au froid, il a été montré que des tissus blancs pouvaient se transformer localement en tissu de type brun. Ces cellules brunes apparaissant dans le tissu blanc sont appelées cellules beiges. Elles ont longtemps été considérées comme des adipocytes bruns avant qu'il ne soit montré qu'elles diffèrent dans l'expression supplémentaire de marqueurs [WU et collab. \[2012\]](#). Il a alors été suggéré que les cellules beiges joueraient un rôle intermédiaire entre le blanc et le brun et se différencieraient suivant les besoins métaboliques et énergétiques. Cette hypothèse est appuyée de manière indirecte par le fait que l'ablation de tissu brun implique une augmentation de la population d'adipocytes beiges et une régulation de la température [SCHULZ et collab. \[2013\]](#). Enfin, récemment, le laboratoire STROMALab a montré que la capacité à brunir des cellules beiges dans un tissu adipeux inguinal de souris dépend de la localisation au sein même du tissu. Cette hétérogénéité intra-tissu au browning pose diverses questions sur la cause de ces hétérogénéités [BARREAU et collab. \[2016\]](#). Récemment encore, le rôle de l'innervation a été mis en exergue comme potentiel élément contrôlant celle-ci [CHI et collab. \[2018\]](#).

### 1.5.3 Hypertrophie, hyperplasie

Un des attributs unique du tissu adipeux est son incroyable plasticité. Sa formidable capacité à changer de taille (augmenter ou diminuer de volume) [ROSEN et SPIEGELMAN \[2014\]](#) est un constat familier dont il faut réaliser l'étonnante singularité. Les mécanismes liés à cette plasticité sont de deux natures : une augmentation du nombre d'adipocytes (hyperplasie) et une augmentation de leur taille (hypertrophie). Dans le cas d'une sur-nutrition, les dépôts augmentent de taille dans un premier temps par hypertrophie, jusqu'à que des signaux soient délivrés et entraînent une prolifération et une différenciation des préadipocytes en adipocytes, c'est-à-dire par hyperplasie apparente [KROTKIEWSKI et collab. \[1983\]](#). Chez l'Homme, le nombre d'adipocytes serait fixe à partir des débuts de l'âge adulte. Les personnes obèses atteignent en général un plus haut seuil [SPALDING et collab. \[2008\]](#). Toujours chez l'Homme, la sur-nutrition sur une durée de plusieurs mois conduit à l'hypertrophie dans certains dépôts et une hyperplasie dans d'autres [TCHOUKALOVA et collab. \[2010\]](#). La nature du mécanisme entre l'hyperplasie et l'hypertrophie des adipocytes qui est prévalent dans l'augmentation de taille des tissus n'est pas encore très claire. Des rongeurs peuvent en effet alterner entre des cycles d'hypertrophie et d'hyperplasie au cours de l'augmentation de l'obésité [MACKELLAR et collab. \[2010\]](#). La diminution du poids n'implique pas une diminution du nombre d'adipocytes mais plutôt de leur taille [BJORN-TORP et LARSSON \[1975\]](#); [KRAL et collab. \[1977\]](#). Ceci suggère qu'une sur-nutrition après une perte de poids significative entraînera une obésité ultérieure plus rapide, l'hyperplasie ayant déjà été réalisée.

## 1.6 La circulation sanguine dans le tissu adipeux

La circulation du tissu adipeux est assez classique et similaire à d'autres organes : la perfusion est faite par le réseau artériel et le sang est drainé par le réseau veineux [FRAYN et KARPE \[2014\]](#). Le lit capillaire est typiquement décrit comme suivant de près les adipocytes. On trouve souvent la description selon laquelle un capillaire est en contact avec un adipocyte [ETO et collab. \[2009\]](#); [FRAYN et KARPE \[2014\]](#), comme illustré en figure 1.3.

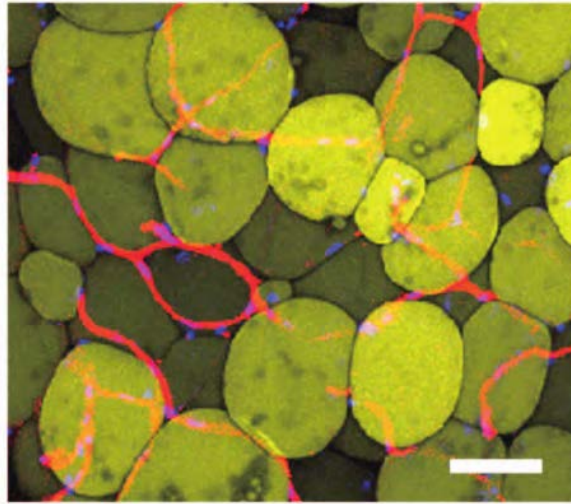


Figure 1.3 – Acquisition de tissu adipeux par imagerie confocale. Les adipocytes sont en jaune, les cellules endothéliales en rouge et les noyaux en bleu. Extrait de [ETO et collab. \[2009\]](#)

La plasticité tissulaire décrite précédemment est donc associée à des processus de remodelage vasculaire dont des phénomènes d'angiogenèse (*i.e.* création de nouveaux vaisseaux sanguins) [ROSEN et SPIEGELMAN \[2014\]](#) pour permettre une oxygénation des nouveaux adipocytes créés par hyperplasie. Concernant l'hypertrophie, il n'est pas pour autant évident que l'augmentation de taille des adipocytes par hypertrophie implique une hypoxie locale. Bien que le diamètre des adipocytes hypertrophiés soit plus grand que la distance de diffusion de l'oxygène, le centre des adipocytes ne nécessite pas d'oxygénation puisqu'il ne contient que des lipides [BLÜHER \[2009\]](#) ; les unités fonctionnelles intra-cellulaires (noyau, réticulum endoplasmique) étant reléguées à la périphérie de la cellule. La demande en oxygène ne serait donc pas grandement modifiée et l'hypothèse selon laquelle l'obésité induirait une hypoxie locale est encore débattue [FRAYN et KARPE \[2014\]](#); [RUTKOWSKI et collab. \[2009\]](#).

Le réseau vasculaire permet également l'apport de substrats aux adipocytes pour réaliser la lipogenèse et inversement, le transport des produits de la lipolyse au reste des organes qui ont des besoins énergétiques. Ceci se fait par une régulation rapide du flux sanguin dans divers contextes (de l'ordre de la demi-heure) au travers de régulations locales nerveuses et/ou métaboliques comme systémiques par l'effet de certaines hormones circulantes. Le flux sanguin du tissu adipeux semble augmenter lorsqu'il y a une augmentation de la lipolyse ou de la lipogenèse après ingestion d'un repas chez l'Homme [COPPACK et collab. \[1992\]](#); [SUMMERS et collab. \[1996\]](#). En revanche, la raison de cette augmentation n'est pas encore très claire puisqu'elle se produit également lorsqu'il n'y a pas de graisses alimentaires dans la circulation (ingestion de glucose pure) [FRAYN et KARPE \[2014\]](#). Dans le cas de personnes obèses, la régulation du flux sanguin après ingestion de nourriture est très faible voire absente [COPPACK et collab. \[1992\]](#) et serait liée à une diminution de la réponse à l'adrénaline [ARDILOUZE et collab. \[2011\]](#). De manière plus générale, il y a une forte corrélation inverse entre l'indice de masse corporelle et le flux sanguin dans le tissu adipeux [FRAYN et HUMPHREYS \[2012\]](#).

Un deuxième cas de régulation du flux sanguin apparaît lors d'un exercice physique. Dans ce contexte, les muscles actifs ont besoin d'un apport énergétique et donc une activation de la lipolyse et du flux sanguin [FRAYN et KARPE \[2014\]](#). En effet, l'activité

cellulaire liée à la contraction entraîne la libération de molécules vasodilatatrices qui vont induire une augmentation locale de l'afflux de sang. Cette augmentation de l'afflux a pour conséquence une augmentation de la vitesse d'écoulement, avec la mise en place de forces de frottement qui, en stimulant des mécanismes de relâchement de la paroi, amplifient la vasodilatation. Par ailleurs, cet écoulement local diminue la pression du sang sur la paroi, ce qui diminue les tensions induites sur cette paroi. Cette diminution à son tour, stimule un relâchement supplémentaire ce qui augmente d'autant plus la vasodilatation. Ainsi, de proche en proche sur le versant amont de l'activité métabolique, la pression locale diminue jusqu'à être décelée par des détecteurs "systémiques" qui déclenchent une réponse contre-régulatrice (accélération de la fréquence de la pompe cardiaque et vasoconstriction hormis sur le terrain de l'activité) sur l'ensemble du réseau pour maintenir la pression. Enfin, l'augmentation du flux sanguin dans le tissu adipeux serait dépendante de l'intensité de l'effort physique [HEINONEN et collab. \[2012\]](#).

Plusieurs études ont également été menées sur diverses populations d'animaux et dans plusieurs dépôts. Ainsi, chez des lapins de différents poids, il y a augmentation du flux sanguin avec la taille des adipocytes [DIGIROLAMO et ESPOSITO \[1975\]](#). Plus précisément, il y a diminution du flux sanguin par unité de masse en fonction du volume des cellules mais augmentation lorsque le flux est normalisé par le nombre de cellules. Ceci indique que lorsque le volume des cellules augmente, il y a augmentation du débit par cellule. En revanche, on trouve l'inverse chez le rat [BALLARD \[1978\]](#). Chez le chien il n'y a pas d'influence du volume des cellules [DIGIROLAMO et collab. \[1971\]](#). De plus, il y a également une grande variation de débit d'un dépôt à l'autre et également une légère influence de l'âge, par exemple chez le rat [CRANDALL et collab. \[1984\]](#). Le jeûne chez le rat a par ailleurs pour effet d'augmenter le flux sanguin, probablement par l'effet de la lipolyse [MAYERLE et HAVEL \[1969\]](#). Enfin, l'étude de l'influence d'exercices physiques chez le chien a également montré l'augmentation du flux sanguin associé [BÜLOW et TØNDEVOLD \[1982\]](#).

## 1.7 Modélisation des écoulements sanguins

Il n'y a, à notre connaissance, pas de travaux qui se soient intéressés à la modélisation des écoulements sanguins (micro ou macro circulatoires) dans le tissu adipeux. En revanche, dans d'autres contextes, il y a eu quantité d'études avec différentes méthodologies comme dans le mésentère du rat [PRIES et collab. \[1989\]](#), ou dans le cerveau [BLINDER et collab. \[2013\]](#). Les hypothèses physiques de modélisation et les aspects méthodologiques de la micro-circulation sanguine seront développés dans le chapitre 3.

La modélisation de la circulation sanguine macro-circulatoire a fait l'objet de très nombreux travaux au vu des enjeux cliniques importants. Par exemple, on peut citer le contexte des maladies cardio-vasculaires pour lesquelles les simulations sont souvent importantes pour apporter des éléments quantitatifs décisifs à une décision clinique. Bien que la granularité du sang (due à la présence des cellules en suspension, principalement des globules rouges) conduit au comportement non-newtonien de ce fluide, la résistance liée à cette caractéristique dans les artères est faible [FUNG \[1997\]](#) (ceci doit être nuancé aux bifurcations). Ainsi, le caractère non-newtonien du sang est généralement négligé en macro-circulation et l'on attribue au sang une viscosité newtonienne équivalente qui a été bien documentée en fonction des conditions physiologiques. De plus, du fait de leur large diamètre, les vaisseaux principaux des mammifères sont parcourus par des écoulements non-stationnaires, sensibles aux pulsations cardiaques. Ensuite, de nombreux travaux existent sur l'influence de la déformation visco-élastique des artères [SECOMB \[2016\]](#). Pour prendre en compte la visco-élasticité des parois des vaisseaux, on procède généralement

en considérant l'équation de Navier pour la déformation de la paroi. Des conditions aux limites de continuité du cisaillement et de la vitesse sont également imposées à l'interface fluide/solide [FUNG \[1997\]](#).

Dans le cas de la micro-circulation, le diamètre des globules rouges peut parfois être plus faible que celui des capillaires. Il en résulte qu'il est difficile de continuer à décrire le sang comme un milieu continu. La sensibilité du comportement rhéologique à la granularité du sang (à la présence locale de cellules) doit donc être prise en compte. Nous détaillerons les différentes approches proposées pour décrire les lois de comportement de la perfusion micro-circulatoire dans le chapitre 3. Enfin, contrairement à ce qui est d'usage en macro-circulation, les parois des vaisseaux sont considérées comme rigides en micro-circulation. C'est le plus souvent une bonne hypothèse, eu égard à la rigidité relative des parois endothéliales comparés aux parois des globules rouges. De même, les niveaux de contraintes mécaniques justifient aussi l'absence de déformation des capillaires sanguins, et sont confirmées par des observations expérimentales directes [SMAJE et collab. \[1980\]](#). Ces considérations sont générales à la plupart des tissus sauf dans le poumon où des parois élastiques sont le plus souvent décrites [FUNG \[1997\]](#).

## 1.8 Modélisation des transferts thermiques dans des contextes biologiques

De la même manière que pour les écoulements sanguins micro-vasculaires, il n'y a eu, à notre connaissance, aucune étude de modélisation de transferts thermiques dans le contexte du tissu adipeux (du moins prenant en compte des éléments précis de sa micro-structure). Pourtant, la thermogenèse associée au phénomène de browning précédemment évoqué est un mécanisme non-trivial qui a une influence sur la régulation de la chaleur au sein des organismes. Du fait du grand nombre de facteurs potentiels d'influence (*i.e* organisation du réseau vasculaire, des clusters de cellules en lobules, perfusion, réactions biochimiques, etc.), et des impossibilités de mesures *in vivo*, une modélisation des transferts thermiques au sein des tissus est pertinente pour mieux comprendre cette régulation. Cette question difficile nécessite le développement de méthodes et d'outils élaborés à différents niveaux : modélisation 3D du transfert par convection-diffusion en géométrie complexe, modélisation des couplages réactionnels, méthodes de changement d'échelle, etc. et dépasse largement les objectifs de ce travail de thèse. Ainsi, nous avons choisi de nous concentrer sur quelques aspects élémentaires mais non-triviaux (densité vasculaire, rapports d'aspects, intensité du terme convectif, etc.) permettant de mieux comprendre les couplages entre transferts thermiques et perfusion entre vaisseaux sanguins dans des géométries idéalisées.

Nous allons maintenant présenter les modèles principaux qui ont été développés dans la littérature. Le modèle de "bio-chaleur" fondateur a été proposé par Pennes en 1948 [PENNES \[1948\]](#) posant ainsi les bases idéalisées de la modélisation de la température dans les tissus tenant compte de la température artérielle. Ce modèle est encore utilisé dans de nombreuses applications telles que la détection de tumeurs [BOUSSELHAM et collab. \[2018\]](#) ou les thérapies thermiques [HUANG et collab. \[2013\]](#); [OKAJIMA et collab. \[2009\]](#). Wulff en 1974 [WULFF \[1974\]](#) identifie plusieurs points faibles aux hypothèses faites par Pennes et propose une équation de conservation de l'énergie qui tient compte de l'orientation de l'écoulement. Il suppose alors que les températures du tissu et du sang sont à l'équilibre (ce qui n'est pourtant pas le cas partout). [CHEN et HOLMES \[1980\]](#) proposent un modèle qui prend en compte deux échelles distinctes : celle du tissu et les capillaires et celle des gros

vaisseaux (artères et veines). CHEN et HOLMES [1980] apportent également le concept de vaisseaux thermiquement significatifs, c'est-à-dire ceux dont la longueur est semblable à la longueur d'équilibre thermique, définie comme la longueur sur laquelle la différence de température entre le vaisseau et le tissu adjacent décroît comme un facteur exponentiel de la température initiale. Weinbaum et Jiji JIJI et collab. [1984]; WEINBAUM et collab. [1984] ont proposé un modèle à trois couches qui prend en compte les différentes structures du réseau vasculaire dans un tissu sous-cutané. Ce modèle a été revu et simplifié en considérant que les contributions principales aux échanges de chaleur sont les échanges dus aux vaisseaux à circulation contre-courant (artère-veine) thermiquement significatifs WEINBAUM et JIJI [1985]. Enfin, une approche "milieu poreux" par homogénéisation a été développée par Roetzl et Xuan ROETZEL et YIMIN [1998] qui introduit deux équations (une pour le fluide et une pour le solide, i.e. le tissu) et les paramètres effectifs associés, puis par NAKAYAMA et KUWAHARA [2008] qui considèrent trois équations pour l'artère, la veine et le tissu.

Notre contribution se situera au niveau de la modélisation des transferts. À partir de solutions numériques semi-analytiques, nous tenterons de quantifier les paramètres effectifs associés au transfert et à l'analyse des vaisseaux thermiquement significatifs.

## 1.9 Positionnement du travail

Nous avons vu que la biologie du tissu adipeux est très hétérogène d'un tissu à l'autre, d'un animal à l'autre, et ceci, quelle que soit la "modalité" métabolique que l'on considère. En particulier, les travaux récents de BARREAU et collab. [2016] ont montré pour la première fois un type de méso-structures (les lobules, i.e. agrégats de cellules) co-localisés à une hétérogénéité de fonction (potentiel de browning) au sein d'un même tissu inguinal de souris. Ce résultat suggère qu'un aspect assez peu étudié, à savoir l'organisation en lobules du tissu adipeux, serait lié à une activité métabolique spécifique. Ceci éclaire sous un autre jour les mécanismes d'induction du browning, qui ne sont toujours pas complètement élucidés. Par ailleurs, si des travaux sur la circulation et la micro-circulation ont été réalisés dans la littérature, ceci a toujours été fait localement et sans tenir compte des spécificités structurelles sus-citées.

On se propose donc de contribuer aux problématiques suivantes :

- Quelle est l'organisation structurelle précise du tissu adipeux ?
- Comment cette dernière influence-t-elle la perfusion sanguine ?

Pour ce faire, nous allons dans un premier temps, utiliser des outils de traitement d'image (procédure de segmentation) et dans un second temps des outils de modélisation de micro-circulation sanguine (de type réseau "0D") ce qui fera respectivement l'objet des chapitres 2 et 3. Enfin, nous développerons l'analyse des transferts thermiques dans des géométries modèles afin d'identifier les paramètres principaux (grandeurs sans dimensions) du problème, et comprendre leur influence dans le chapitre 4.

## 1.10 Références

ARDILOUZE, J., R. SOTORNÍK, L. DENNIS, B. FIELDING, K. FRAYN et F. KARPE. 2011, «Failure to increase postprandial blood flow in subcutaneous adipose tissue is associated with tissue resistance to adrenergic stimulation», *Diabetes Metab.*, vol. 38, n° 1, p. 1–88. 12

- BALLARD, K. W. 1978, «Functional characteristics of the microcirculation in white adipose tissue.», *Microvascular research*, vol. 16, n° 1, doi:10.1016/0026-2862(78)90041-9, p. 1–18, ISSN 00262862. [9](#), [13](#)
- BARREAU, C., E. LABIT, C. GUISSARD, J. ROUQUETTE, M. L. BOIZEAU, S. GANI KOUMASSI, A. CARRIÈRE, Y. JEANSON, S. BERGER-MÜLLER, C. DROMARD, F. PLOURABOUÉ, L. CASTEILLA et A. LORSIGNOL. 2016, «Regionalization of browning revealed by whole subcutaneous adipose tissue imaging», *Obesity*, vol. 24, n° 5, doi:10.1002/oby.21455, p. 1081–1089, ISSN 1930739X. [v](#), [8](#), [9](#), [11](#), [15](#)
- BJORNTORP, P. et B. LARSSON. 1975, «Effect of an energy-reduced in relation to adipose tissue cellularity in obese women», *The American Journal of Clinical Nutrition*, vol. 28, p. 445–452. [11](#)
- BLINDER, P., P. S. TSAI, J. P. KAUFHOLD, P. M. KNUTSEN, H. SUHL et D. KLEINFELD. 2013, «The cortical angiome: an interconnected vascular network with noncolumnar patterns of blood flow», *Nature Neuroscience*, vol. 16, n° 7, doi:10.1038/nn.3426, p. 889–897, ISSN 1097-6256. URL <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nn.3426>. [13](#)
- BLÜHER, M. 2009, «Adipose tissue dysfunction in obesity», *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, vol. 117, n° 6, doi:10.1055/s-0029-1192044, p. 241–250, ISSN 09477349. [12](#)
- BOUSSELHAM, A., O. BOUATTANE, M. YOUSSEFI et A. RAIHANI. 2018, «3D brain tumor localization and parameter estimation using thermographic approach on GPU», *Journal of Thermal Biology*, vol. 71, n° May 2017, doi:10.1016/j.jtherbio.2017.10.014, p. 52–61, ISSN 18790992. [14](#)
- BRENNAN, A. M. et C. S. MANTZOROS. 2006, «Drug Insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology—emerging clinical applications», *Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism*, vol. 2, n° 6, doi:10.1038/ncpendmet0196, p. 318–327, ISSN 1745-8366. URL <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/ncpendmet0196>. [10](#)
- BÜLOW, J. et E. TØNDEVOLD. 1982, «Blood flow in different adipose tissue depots during prolonged exercise in dogs», *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, vol. 392, n° 3, doi:10.1007/BF00584302, p. 235–238, ISSN 00316768. [13](#)
- BURA, A., V. PLANAT-BENARD, P. BOURIN, J. S. SILVESTRE, F. GROSS, J. L. GROLLEAU, B. SAINT-LEBESE, J. A. PEYRAFITTE, S. FLEURY, M. GADELORGE, M. TAURAND, S. DUPUIS-CORONAS, B. LEOBON et L. CASTEILLA. 2014, «Phase I trial: The use of autologous cultured adipose-derived stroma/stem cells to treat patients with non-revascularizable critical limb ischemia», *Cytotherapy*, vol. 16, doi:10.1016/j.jcyt.2013.11.011, ISSN 14653249. [7](#)
- CANNON, B. et J. A. N. NEDERGAARD. 2004, «Brown Adipose Tissue: Function and Physiological Significance», *Physiological Reviews*, vol. 84, p. 277–359. [7](#)
- CARLSON, L. A., J. BODERG et B. HÖGSTEDT. 1965, «Some physiological and clinical implications of lipid mobilization», dans *Handbook of Physiology, Adipose Tissue*, supplement éd., chap. 63, p. 625–644. [9](#)
- CEREIJO, R., M. GIRALT et F. VILLARROYA. 2015, «Thermogenic brown and beige/brite adipogenesis in humans», *Annals of Medicine*, vol. 47, n° 2, doi:10.3109/07853890.2014.952328, p. 169–177, ISSN 13652060. [10](#)

- CHEN, M. M. et K. R. HOLMES. 1980, «Microvascular contributions in tissue heat transfer», *Annals of the new york academy of sciences*, vol. 335, p. 137–150. [14](#), [15](#)
- CHI, J., Z. WU, C. H. J. CHOI, L. NGUYEN, S. TEGEGNE, S. E. ACKERMAN, A. CRANE, F. MARCHILDON, M. TESSIER-LAVIGNE et P. COHEN. 2018, «Three-Dimensional Adipose Tissue Imaging Reveals Regional Variation in Beige Fat Biogenesis and PRDM16-Dependent Sympathetic Neurite Density», *Cell Metabolism*, vol. 27, n° 1, doi:10.1016/j.cmet.2017.12.011, p. 226–236, ISSN 15504131. URL <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1550413117307246>. [11](#)
- COPPACK, S. W., R. D. EVANS, R. M. FISHER, K. N. FRAYN, G. F. GIBBONS, S. M. HUMPHREYS, M. L. KIRK, J. L. POTTS et T. D. HOCKADAY. 1992, «Adipose tissue metabolism in obesity: Lipase action in vivo before and after a mixed meal», *Metabolism*, vol. 41, n° 3, doi: 10.1016/0026-0495(92)90269-G, p. 264–272, ISSN 00260495. [12](#)
- COUSIN, B., S. CINTI, M. MORRONI, S. RAIMBAULT, D. RICQUIER et L. PÉNICAUD. 1992, «Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization.», *Journal of Cell Science*, vol. 103, n° Pt 4, p. 931–942, ISSN 0021-9533. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1362571>. [10](#)
- CRANDALL, D. L., B. M. GOLDSTEIN, F. HUGGINS et P. CERVONI. 1984, «Adipocyte blood flow: influence of age, anatomic location, and dietary manipulation.», *The American journal of physiology*, vol. 247, n° 1 Pt 2, p. R46–R51, ISSN 0002-9513. [13](#)
- CYPESS, A. M., A. P. WHITE, C. VERNOCHET, T. J. SCHULZ, R. XUE, C. A. SASS, T. L. HUANG, C. ROBERTS-TOLER, L. S. WEINER, C. SZE, A. T. CHACKO, L. N. DESCHAMPS, L. M. HERDER, N. TRUCHAN, A. L. GLASGOW, A. R. HOLMAN, A. GAVRILA, P. O. HASSELGREN, M. A. MORI, M. MOLLA et Y. H. TSENG. 2013, «Anatomical localization, gene expression profiling and functional characterization of adult human neck brown fat», *Nature Medicine*, vol. 19, n° 5, doi:10.1038/nm.3112, p. 635–639, ISSN 10788956. URL <http://dx.doi.org/10.1038/nm.3112>. [11](#)
- DIGIROLAMO, M. et J. ESPOSITO. 1975, «Adipose tissue blood flow and cellularity in the growing rabbit», *American Journal of physiology*, vol. 229, n° 1. [13](#)
- DIGIROLAMO, M., N. S. SKINNER, J. H. G. HANLEY et R. G. GREGORY. 1971, «Relationship of adipose tissue blood flow to fat cell size and number», *American Journal of physiology*, vol. 220, n° 4, p. 932–937. [13](#)
- DUNCAN, R. E., M. AHMADIAN, K. JAWORSKI, E. SARKADI-NAGY et H. S. SUL. 2007, «Regulation of Lipolysis in Adipocytes», *Annual Review of Nutrition*, vol. 27, n° 1, doi:10.1146/annurev.nutr.27.061406.093734, p. 79–101, ISSN 0199-9885. URL <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev.nutr.27.061406.093734>. [9](#)
- ETO, H., H. SUGA, D. MATSUMOTO, K. INOUE, N. AOI, H. KATO, J. ARAKI et K. YOSHIMURA. 2009, «Characterization of Structure and Cellular Components of Aspirated and Excised Adipose Tissue», *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 124, n° 4, doi:10.1097/PRS.0b013e3181b5a3f1, p. 1087–1097, ISSN 0032-1052. URL <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00006534-200910000-00011>. [v](#), [11](#), [12](#)

- FOSTER, M. T., H. SHI, S. SOFTIC, R. KOHLI, R. J. SEELEY et S. C. WOODS. 2011, «Transplantation of non-visceral fat to the visceral cavity improves glucose tolerance in mice: Investigation of hepatic lipids and insulin sensitivity», *Diabetologia*, vol. 54, n° 11, doi:10.1007/s00125-011-2259-5, p. 2890–2899, ISSN 0012186X. 8
- FRAYN, K. N. et S. M. HUMPHREYS. 2012, «Metabolic characteristics of human subcutaneous abdominal adipose tissue after overnight fast», *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, vol. 302, n° 4, doi:10.1152/ajpendo.00527.2011, p. E468–E475, ISSN 0193-1849. URL <http://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00527.2011>. 12
- FRAYN, K. N. et F. KARPE. 2014, «Regulation of human subcutaneous adipose tissue blood flow.», *International journal of obesity*, vol. 38, doi:10.1038/ijo.2013.200, p. 1019–1026, ISSN 1476-5497. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24166067>. 11, 12
- FRIEDMAN, J. M. et J. L. HALAAS. 1998, «Leptin and the regulation of body weight in mammals», *Nature*, vol. 395, n° 6704, doi:10.1038/27376, p. 763–770, ISSN 00280836. 10
- FUNG, Y. C. 1997, *Biomechanics Circulation*, ISBN 9781441928429. 13, 14
- GIMBLE, J. M., A. J. KATZ et B. A. BUNNELL. 2007, «Adipose-derived stem cells for regenerative medicine», *Circulation Research*, vol. 100, n° 9, doi:10.1161/01.RES.0000265074.83288.09, p. 1249–1260, ISSN 00097330. 7
- HASLAM, D. W. 2005, «Obesity», *Lancet*, vol. 336, p. 1197–1209. 7
- HEINONEN, I., M. BUCCI, J. KEMPPAINEN, J. KNUUTI, P. NUUTILA, R. BOUSHEL et K. K. KALLIOKOSKI. 2012, «Regulation of subcutaneous adipose tissue blood flow during exercise in humans», *Journal of Applied Physiology*, vol. 112, n° 6, doi:10.1152/jappphysiol.00732.2011, p. 1059–1063, ISSN 8750-7587. URL <http://jap.physiology.org/cgi/doi/10.1152/jappphysiol.00732.2011>. 13
- HUANG, H. W., C. T. LIAUH, T. L. HORNG, T. C. SHIH, C. F. CHIANG et W. L. LIN. 2013, «Effective heating for tumors with thermally significant blood vessels during hyperthermia treatment», *Applied Thermal Engineering*, vol. 50, n° 1, doi:10.1016/j.applthermaleng.2012.07.018, p. 837–847, ISSN 13594311. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2012.07.018>. 14
- HUTTUNEN, P., J. HIRVONEN et V. KINNULA. 1981, «The occurrence of brown adipose tissue in outdoor workers», *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, vol. 46, n° 4, doi:10.1007/BF00422121, p. 339–345, ISSN 03015548. 11
- JIJI, L., S. WEINBAUM et D. E. LEMONS. 1984, «Theory and Experiment for the Effect of Vascular Microstructure on Surface Tissue Heat Transfer—Part II: Model Formulation and Solution», *Journal of Biomechanical Engineering*, vol. 106, p. 331–341. 15
- KERSHAW, E. E. et J. S. FLIER. 2004, «Adipose tissue as an endocrine organ», *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 89, n° 6, doi:10.1210/jc.2004-0395, p. 2548–2556, ISSN 0021972X. 10
- KLINGENSPOR, M. 2003, «Cold-induced recruitment of brown adipose tissue thermogenesis», *Experimental Physiology*, vol. 88, n° 1, doi:10.1113/eph8802508, p. 141–148, ISSN 09580670. 10



- KONDO, K., S. SHINTANI, R. SHIBATA, H. MURAKAMI, R. MURAKAMI, M. IMAIZUMI, Y. KITAGAWA et T. MUROHARA. 2009, «Implantation of adipose-derived regenerative cells enhances ischemia-induced angiogenesis», *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, vol. 29, n° 1, doi:10.1161/ATVBAHA.108.166496, p. 61–66, ISSN 10795642. 7
- KRAL, J. G., P. BJÖRNTORP, T. SCHERSTÉN et L. SJÖSTRÖM. 1977, «Body composition and adipose tissue cellularity before and after jejunum-ileostomy in severely obese subjects», *European Journal of Clinical Investigation*, vol. 7, n° 5, doi:10.1111/j.1365-2362.1977.tb01628.x, p. 413–419, ISSN 13652362. 11
- KROTKIEWSKI, M., P. BJORNTORP, L. SJOSTROM et U. SMITH. 1983, «Impact of obesity on metabolism in men and women. Importance of regional adipose tissue distribution», *Journal of Clinical Investigation*, vol. 72, n° 3, doi:10.1172/JCI111040, p. 1150–1162, ISSN 00219738. 11
- LABIT, E. 2016, *Le tissu adipeux : Tissu modèle pour étudier le lien entre organisation et fonction ainsi que la régénération tissulaire*, thèse de doctorat, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse, France. 7
- LEE, M. J., Y. WU et S. K. FRIED. 2013, «Adipose tissue heterogeneity: Implication of depot differences in adipose tissue for obesity complications», *Molecular Aspects of Medicine*, vol. 34, n° 1, doi:10.1016/j.mam.2012.10.001, p. 1–11, ISSN 00982997. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.001>. 8
- MACKELLAR, J., S. W. CUSHMAN et V. PERIWAL. 2010, «Waves of adipose tissue growth in the genetically obese Zucker fatty rat», *PLoS ONE*, vol. 5, n° 1, doi:10.1371/journal.pone.0008197, p. 1–9, ISSN 19326203. 11
- MAYERLE, J. A. et R. J. HAVEL. 1969, «Nutritional effects on blood flow in adipose tissue of unanesthetized rats», *American Journal of physiology*, vol. 217, n° 6, p. 1694–1698. 13
- MICHALAKIS, K., G. MINTZIORI, A. KAPRARA, B. C. TARLATZIS et D. G. GOULIS. 2013, «The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: A narrative review», *Metabolism: Clinical and Experimental*, vol. 62, n° 4, doi:10.1016/j.metabol.2012.08.012, p. 457–478, ISSN 00260495. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2012.08.012>. 10
- NAKAYAMA, A. et F. KUWAHARA. 2008, «A general bioheat transfer model based on the theory of porous media», *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 51, n° 11-12, doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2007.05.030, p. 3190–3199, ISSN 00179310. 15
- OKAJIMA, J., S. MARUYAMA, H. TAKEDA et A. KOMIYA. 2009, «Dimensionless solutions and general characteristics of bioheat transfer during thermal therapy», *Journal of Thermal Biology*, vol. 34, n° 8, doi:10.1016/j.jtherbio.2009.08.001, p. 377–384, ISSN 03064565. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtherbio.2009.08.001>. 14
- PENNES, H. H. 1948, «Analysis of Tissue and Arterial Blood Temperatures in the Resting Human Forearm», *Journal of Applied Physiology*, vol. 1, n° 2, doi:10.1136/bmj.39546.498796.34, p. 267–274. 14
- PEURICHARD, D. 2015, *MODELISATION MATHEMATIQUE DES SYSTEMES BIOLOGIQUES ET DERIVATION DE MODELES MACROSCOPIQUES*, thèse de doctorat, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse, France. 9

- PEURICHARD, D., F. DELEBECQUE, A. LORSIGNOL, C. BARREAU, J. ROUQUETTE, X. DESCOMBES, L. CASTEILLA et P. DEGOND. 2017, «Simple mechanical cues could explain adipose tissue morphology», *Journal of Theoretical Biology*, vol. 429, doi:10.1016/j.jtbi.2017.06.030, p. 61–81, ISSN 10958541. [9](#)
- POISSONNET, C., A. BURDI et F. BOOKSTEIN. 1983, «Growth and development of human adipose tissue during early gestation.», *Early Human Development*, vol. 8, n° 1, p. 1–11. [9](#)
- POISSONNET, C. M. 1988, «Growth and development of adipose tissue», *The journal of Pediatrics*, vol. 113, n° 1, p. 1–9. [9](#)
- POND, C. M. 1992, «An evolutionary and functional view of mammalian adipose tissue», *Proceedings of the Nutrition Society*, vol. 51, n° 03, doi:10.1079/PNS19920050, p. 367–377, ISSN 0029-6651. URL [http://www.journals.cambridge.org/abstract/\\_jS0029665192000521](http://www.journals.cambridge.org/abstract/_jS0029665192000521). [9](#)
- PRIES, A. R., K. LEY, M. CLAASSEN et P. GAEHTGENS. 1989, «Red cell distribution at microvascular bifurcations», *Microvascular Research*, vol. 38, n° 1, doi:10.1016/0026-2862(89)90018-6, p. 81–101, ISSN 10959319. [13](#)
- PRUNET-MARCASSUS, B., B. COUSIN, D. CATON, M. ANDRÉ, L. PÉNICAUD et L. CASTEILLA. 2006, «From heterogeneity to plasticity in adipose tissues: Site-specific differences», *Experimental Cell Research*, vol. 312, n° 6, doi:10.1016/j.yexcr.2005.11.021, p. 727–736, ISSN 00144827. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexcr.2005.11.021>. [10](#)
- ROETZEL, W. et X. YIMIN. 1998, «Transient response of the human limb to an external stimulus», *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 41, n° 1, p. 229–239. [15](#)
- ROSEN, E. D. et B. M. SPIEGELMAN. 2014, «What we talk about when we talk about fat», *Cell*, vol. 156, n° 1-2, doi:10.1016/j.cell.2013.12.012, p. 20–44, ISSN 00928674. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.012>. [8](#), [9](#), [10](#), [11](#), [12](#)
- ROTHWELL, N. J. et M. J. STOCK. 1981, «Regulation of Energy Balance», *Annual Review of Nutrition*, vol. 1, n° 1, doi:10.1038/nm.2207.Hypothalamic, p. 411–33. [11](#)
- RUTKOWSKI, J. M., K. E. DAVIS et P. E. SCHERER. 2009, «Mechanisms of obesity and related pathologies: The macro- and microcirculation of adipose tissue», *FEBS Journal*, vol. 276, n° 20, doi:10.1111/j.1742-4658.2009.07303.x, p. 5738–5746, ISSN 1742464X. [8](#), [12](#)
- SCHULZ, T. J., P. HUANG, T. L. HUANG, R. XUE, L. E. MCDUGALL, K. L. TOWNSEND, A. M. CYPESS, Y. MISHINA, E. GUSSONI et Y. H. TSENG. 2013, «Brown-fat paucity due to impaired BMP signalling induces compensatory browning of white fat», *Nature*, vol. 495, n° 7441, doi:10.1038/nature11943, p. 379–383, ISSN 00280836. URL <http://dx.doi.org/10.1038/nature11943>. [11](#)
- SECOMB, T. W. 2016, «Hemodynamics», *Comprehensive Physiology*, vol. 6, n° 2, doi:10.1002/cphy.c150038, p. 975–1003. URL <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.c150038>. [13](#)
- SMAJE, L. H., P. A. FRASER et G. CLOUGH. 1980, «The distensibility of single capillaries and venules in the cat mesentery», *Microvascular Research*, vol. 20, n° 3, doi:10.1016/0026-2862(80)90064-3, p. 358–370, ISSN 00262862. [14](#)

- SPALDING, K. L., E. ARNER, P. O. WESTERMARK, S. BERNARD, B. A. BUCHHOLZ, O. BERGMANN, L. BLOMQUIST, J. HOFFSTEDT, E. NÄSLUND, T. BRITTON, H. CONCHA, M. HASSAN, M. RYDÉN, J. FRISÉN et P. ARNER. 2008, «Dynamics of fat cell turnover in humans», *Nature*, vol. 453, n° 7196, doi:10.1038/nature06902, p. 783–787, ISSN 14764687. 11
- SUMMERS, L. K., J. S. SAMRA, S. M. HUMPHREYS, R. J. MORRIS et K. N. FRAYN. 1996, «Subcutaneous abdominal adipose tissue blood flow: variation within and between subjects and relationship to obesity», *Clinical science (London, England : 1979)*, vol. 91, n° 6, p. 679–683, ISSN 0143-5221; 0143-5221. 12
- TANG, H.-N., C.-Y. TANG, X.-F. MAN, S.-W. TAN, Y. GUO, J. TANG, C.-L. ZHOU et H.-D. ZHOU. 2017, «Plasticity of adipose tissue in response to fasting and refeeding in male mice», *Nutrition & Metabolism*, vol. 14, n° 1, doi:10.1186/s12986-016-0159-x, p. 3, ISSN 1743-7075. URL <http://nutritionandmetabolism.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12986-016-0159-x>. 7
- TCHKONIA, T., T. THOMOU, Y. ZHU, I. KARAGIANNIDES, C. POTHOUKAKIS, M. D. JENSEN et J. L. KIRKLAND. 2013, «Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots», *Cell Metabolism*, vol. 17, n° 5, doi:10.1016/j.cmet.2013.03.008, p. 644–656, ISSN 15504131. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.cmet.2013.03.008>. 8, 10
- TCHOUKALOVA, Y. D., S. B. VOTRUBA, T. TCHKONIA, N. GIORGADZE, J. L. KIRKLAND et M. D. JENSEN. 2010, «Regional differences in cellular mechanisms of adipose tissue gain with overfeeding», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 107, n° 42, doi: 10.1073/pnas.1005259107, p. 18 226–18 231, ISSN 0027-8424. URL <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1005259107>. 11
- TRAN, T. T. et C. R. KAHN. 2010, «Transplantation of adipose tissue and stem cells: Role in metabolism and disease», *Nature Reviews Endocrinology*, vol. 6, n° 4, doi: 10.1038/nrendo.2010.20, p. 195–213, ISSN 17595029. URL <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2010.20>. 8
- WASSERMANN, F. 1965, «The development of adipose tissue», dans *Handbook of Physiology, Adipose Tissue*, chap. 10, ISBN 9780470650714, p. 87–100, doi:10.1002/cphy.cp050110. URL <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.cp050110>. 8, 9
- WEINBAUM, S., L. JIJI et L. LEMONS. 1984, «Theory and Experiment for the Effect of Vascular Microstructure on Surface Tissue Heat Transfer — Part I : Anatomical Foundation and Model Conceptualization», *J Biomech Eng*, vol. 106, n° 4, doi:10.1115/1.3138502, p. 321–330, ISSN 0148-0731. 15
- WEINBAUM, S. et L. M. JIJI. 1985, «A New Simplified Bioheat Equation for the Effect of Blood Flow on Local Average Tissue Temperature», vol. 107, n° 2, p. 131–139. 15
- WOZNIAK, S. E., L. L. GEE, M. S. WACHTEL et E. E. FREZZA. 2009, «Adipose tissue: The new endocrine organ? a review article», *Digestive Diseases and Sciences*, vol. 54, n° 9, doi:10.1007/s10620-008-0585-3, p. 1847–1856, ISSN 01632116. 10
- WU, J., P. BOSTRÖM, L. M. SPARKS, L. YE, J. H. CHOI, A. H. GIANG, M. KHANDEKAR, K. A. VIRTANEN, P. NUUTILA, G. SCHAART, K. HUANG, H. TU, W. D. VAN MARKEN LICHTENBELT, J. HOEKS, S. ENERBÄCK, P. SCHRAUWEN et B. M. SPIEGELMAN. 2012, «Beige adipocytes

are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human», *Cell*, vol. 150, n° 2, doi:10.1016/j.cell.2012.05.016, p. 366–376, ISSN 00928674. [11](#)

WULFF, W. 1974, «The Energy Conservation Equation for Living Tissue», *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, vol. BME-21, n° 6, doi:10.1109/TBME.1974.324342, p. 494–495, ISSN 15582531. [14](#)

YOUNG, P., J. R. ARCH et M. ASHWELL. 1984, «Brown adipose tissue in the parametrial fat pad of the mouse», *FEBS Letters*, vol. 167, n° 1, doi:10.1016/0014-5793(84)80822-4, p. 10–14, ISSN 00145793. [10](#)

ZHANG, Y. et R. PROENCA. 1994, «Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue», *Nature*, vol. 375, n° 6505, p. 425–432. [10](#)

## Chapitre 2

# Analyse structurale du tissu adipeux à partir d'imagerie

### 2.1 Introduction à la méthode de segmentation

Dans ce chapitre nous avons cherché à décrire l'organisation structurale des lobules et le lien entre leur spatialisation et leur éventuel rôle fonctionnel. Nous avons couplé l'imagerie par microscopie confocale de la fluorescence associée à des marqueurs immuno-fonctionnels spécifiques avec l'élaboration d'une procédure semi-automatique de traitement d'image pour la segmentation des unités. Bien que le travail, dans le cadre de ce chapitre, ait été spécifiquement associé à l'élaboration des procédures de traitement des images, il a aussi nécessité de nombreuses interactions (pluri-disciplinaires) avec les autres étapes, à savoir, les procédures d'imageries (résolution spatiale, échantillonnage, qualité du rapport signal sur bruit) et les motivations biologiques (nature des marquages, nature des échantillons, tests sur différents organes). Ces interactions ont été réalisées avec nos collaborateurs de l'équipe STROMALab. Nous n'aborderons pas les détails de ces différentes étapes et essais qui ont émaillé l'élaboration de ce travail, et présentons plutôt ce qui nous semble être sa synthèse dans un article en cours de soumission. Cependant, nous souhaitons donner quelques éléments techniques et conceptuels pour guider le lecteur. Bien que les différentes étapes de la procédure de traitement d'image prises indépendamment soient relativement classiques, l'originalité provient du rassemblement de ces différentes étapes dans une même procédure. Certaines étapes de la procédure sont semi-automatiques dans le sens où il est nécessaire de fixer un paramètre (par exemple le choix du seuil dans les étapes de binarisation). A chaque fois, plusieurs paramètres ont été choisis et leur influence évaluée qualitativement pour n'en garder qu'un seul. La quasi-totalité de la procédure a été pensée d'après un *a priori* sur la structure des lobules à savoir : des entités homogènes et denses composées d'adipocytes (à l'échelle cellulaire) ou de vaisseaux (à l'échelle vasculaire) et faiblement connectées les unes aux autres. C'est cette représentation typique qui a été faite du tissu adipeux dans les travaux initiaux de Wassermann [WASSERMANN \[1965\]](#) ainsi que plus tard dans des études sur le développement du tissu et la formation des lobules chez l'humain [POISSONNET et collab. \[1983\]](#); [POISSONNET \[1988\]](#) et plus récemment par [BARREAU et collab. \[2016\]](#). D'un point de vue traitement d'image nous nous sommes appuyés sur le contraste qui provient des séparations entre les entités et avons cherché à le renforcer.

Nous allons à présent décrire rapidement les principales étapes et donner quelques éléments bibliographiques concernant les étapes de traitement d'image utilisées dans la méthode que nous avons développée. Après avoir défini 2 grandes zones au sein du

tissu caractérisées par leur « homogénéité » structurale, l'étape préliminaire a consisté à dégager une zone dite lobulisable (Segmentable Lobule Area, SLA) d'une zone non-lobulisable (Non-Segmentable Lobule Area, NSLA) **BARREAU et collab. [2016]**. Du fait de la plus forte vascularisation (pour un marquage vasculaire) ou de la plus forte concentration en adipocytes (marquage cellulaire), le signal moyen au sein de cette zone centrale du tissu et proche du ganglion est plus fort. Pour cette raison, nous avons utilisé un filtre moyen **JÄHNE [2005]** de taille suffisamment grande pour masquer les contrastes des hétérogénéités structurales locales et faire ressortir le contraste moyen de ces deux zones qui conduit à une binarisation **DOUGHERTY [2009]** avec un seuil choisi de manière à séparer une seule zone centrale connexe. Le choix de ce seuil a une influence sur la taille finale du masque de la SLA mais la gamme des paramètres admissibles, c'est à dire qui permettent de découper une zone connexe plus contrastée au centre du tissu, est assez faible. Par ailleurs, pour corriger cet effet ainsi que la forme sinueuse qu'il peut prendre, nous avons calculé l'enveloppe convexe de cette zone ce qui nous donne le masque final de la SLA. En multipliant point à point ce masque à l'image d'origine nous avons obtenu une sous-image qui contient les entités à segmenter. Une fois le masque de la SLA définie, nous avons élaboré une stratégie de segmentation des lobules qui suit les étapes suivantes.

La première étape (Figure 2.1) qui fait suite à la définition des domaines SLA et NSLA a consisté à homogénéiser les sous-unités que l'on souhaite segmenter tout en préservant dans une certaine mesure les faibles zones de contact entre elles. Nous avons adapté un filtre de type Kuwahara **SCHULZE et PEARCE [1994]**. Le principe de ces filtres est le suivant : pour chaque pixel, on définit une boîte de taille  $L = L_x \times L_y \times L_z$  que l'on va séparer en un ensemble de sous-boîtes de nombre  $N_x, N_y, N_z$  et de taille  $w_x, w_y, w_z$ . Nous avons ensuite calculé une quantité (moyenne, médiane, variance) dans chaque sous-boîte et on transforme le résultat suivant une certaine modalité (moyenne, médiane, variance des sous-boîtes) dans le pixel central. Après avoir testé plusieurs variantes, nous avons identifié un ensemble de paramètres considéré comme optimal (toutes images confondues) qui était le suivant : calcul de la moyenne dans les sous-boîtes puis calcul de la médiane des moyennes pour le pixel central avec  $(L_x \times L_y \times L_z) = 9 \times 9 \times 3$ ,  $(w_x, w_y, w_z) = (3, 3, 3)$  et  $(N_x, N_y, N_z) = (3, 3, 1)$ . L'intérêt de ce filtre provient du fait qu'il ne va pas simplement délimiter les bords des sous-entités mais préserver et renforcer des connexions même lorsque celles-ci sont faibles tout en homogénéisant les parties centrales des sous-entités. Le résultat de ce filtre est illustré en Figure 2.1 (centre). Nous avons ensuite traité cette image filtrée avec une binarisation par seuil et un nettoyage des sous-entités par repérage et remplissage des trous (Figure 2.1 droite). Précisons que la méthode automatique d'Otsu **DOUGHERTY [2009]**, dont l'avantage est qu'elle n'introduit pas de paramètre (le seuil de la binarisation), a été testée mais donnait de mauvais résultats.

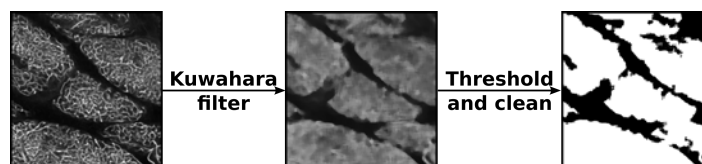


Figure 2.1 – Image d'origine (à gauche), image filtrée (au centre) et image binarisée/nettoyée (à droite).

Pour la seconde étape (Figure 2.2), à partir de l'image binarisée et nettoyée, nous avons calculé d'une part le gradient de l'image par différences finies par la méthode de Sobel **FORSYTH et PONCE [2011]** (Figure 2.2 droite, haut), qui sert à repérer les bords des sous-

entités et de l'autre la carte des distances DOUGHERTY [2009] (Figure 2.2 droite, bas). Le calcul de la carte des distances a été suivi d'un autre seuillage afin de réduire les connexions surestimées lors du filtrage initial entre les sous-unités.

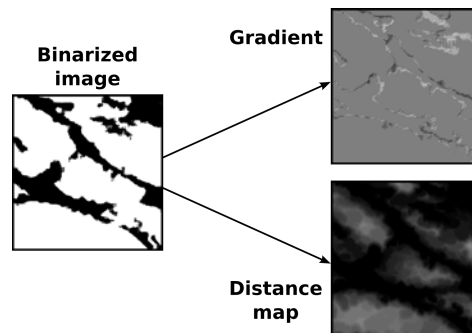


Figure 2.2 – Image nettoyée après filtrage (à gauche), gradient de l'image nettoyée (en haut, à droite) et carte des distances de l'image nettoyée (en bas, à droite).

Pour la troisième étape (Figure 2.3), nous avons d'abord repéré les composantes connexes de cette image qui constituent les éléments fondamentaux de segmentation des sous-unités, dont le résultat est illustré en Figure 2.3 gauche, bas. En utilisant par ailleurs le gradient de l'image pré-nettoyée comme bords et les composantes connexes comme graines nous avons utilisé l'algorithme de watershed qui s'étend dans les limites autorisées par le gradient de l'image DOUGHERTY [2009]. Le fait de ne pas calculer le gradient et les composantes connexes sur la même image est important. En calculant le gradient sur une image moins "découpée", les limites épousent mieux la forme des entités à segmenter quitte à devoir en fusionner certaines en post-traitement. Le résultat du watershed est illustré en Figure 2.3 droite.

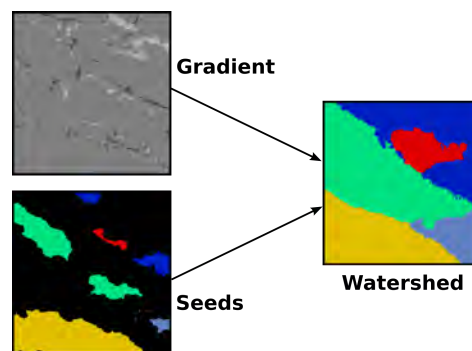


Figure 2.3 – Gradient de l'image nettoyée (en haut, à gauche), composantes connexes (en bas, à gauche) et watershed (à droite).

La quatrième et dernière étape (Figure 2.4) a consisté d'abord en une binarisation de l'image d'origine (Figure 2.4 gauche, haut). Cette image a ensuite été multipliée point à point au résultat du watershed (Figure 2.4 gauche, bas), pour obtenir une première pré-segmentation des entités (Figure 2.4 centre). En intégrant l'information de l'image d'origine dans la segmentation du watershed, les surfaces de contact que l'on a correspondent aux véritables frontières de l'image d'origine. Il reste ensuite un post-traitement final qui a consisté en une fusion des entités "sur-segmentées", comme on peut le voir sur la Figure 2.4 centre où une entité segmentée rouge est très fortement connectée à l'entité bleue.

Nous avons choisi comme critère de fusion le ratio entre la surface de contact entre deux entités segmentées et la surface moyenne des entités. La valeur du seuil est une quantité interne à l'image qui est un quantile (paramètre variable) des surfaces adimensionnées. Le résultat final de la segmentation est illustrée en Figure 2.4 droite.

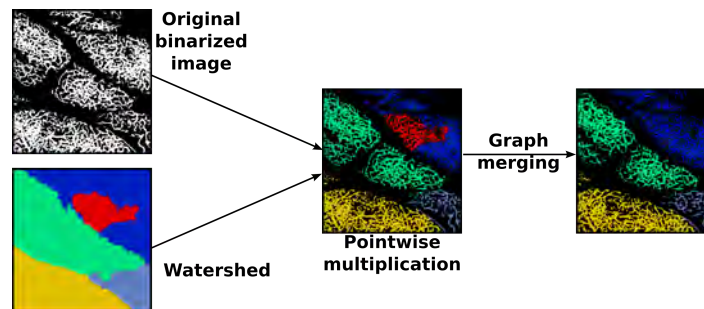


Figure 2.4 – Image d'origine binarisée (en haut, à gauche), watershed (en bas, à gauche), multiplication des deux images (centre) et résultat de la fusion de graphe (à droite)

## 2.2 Résumé des résultats de l'article

Le premier résultat immédiat qui est apparu à l'issue des segmentations est le caractère intrinsèquement 3D des lobules. En effet, si, sur un plan donné on peut repérer des entités 2D faiblement connectées, la connectivité en 3D en "doigts" fait que deux entités séparées dans un même plan peuvent se retrouver connectées dans la profondeur du tissu. La représentation classique 2D associée à une vision en "compartiments" du tissu avec des unités fonctionnelles indépendantes semble donc contredite. Ceci ouvre des questions importantes sur le rôle fonctionnel de ces unités et leurs interactions. On peut décrire à présent le tissu en "sous-unités poly-lobulées" (Poly-Lobular Sub-units, abrégé PLS en anglais), dont les sous-unités sont les lobules classiquement décrits [WASSERMANN \[1965\]](#). On peut voir cette description comme appartenant à une deuxième échelle de représentation. Le premier niveau étant celui décrit par [WASSERMANN \[1965\]](#).

Nous avons ensuite tenté d'apporter des éléments de réponses concernant les interactions et l'organisation de ces nouvelles unités. Nous nous sommes d'abord intéressés à l'organisation du tissu selon l'échelle PLS avec un formalisme de graphe où les nœuds du graphe sont les PLS, les liens du graphe sont les surfaces de contacts normalisées entre les PLS et leur position spatiale correspond à leur barycentre projeté dans le plan  $(x, y)$ . Deux tissus sur trois présentent une organisation très proche avec un PLS central et deux clusters de plusieurs PLS aux deux extrémités de la SLA. Dans le troisième échantillon, nous n'avons pas retrouvé le PLS central, en revanche il y a deux PLS très fortement connectés dans la même zone où les PLS centraux se situent pour les deux autres échantillons. On peut donc considérer une troisième échelle de représentation du tissu en deux clusters de PLS séparés par un faible nombre d'entités.

La question naturelle que l'on peut se poser avec de telles observations est de savoir si cette organisation structurale est liée à une activité biologique spécifique ; sachant qu'il a déjà été mis en évidence une différence de browning entre les zones SLA et NSLA [BARREAU et collab. \[2016\]](#). Pour répondre à cette question, nous avons cherché à surimposer sur la structure que nous avons décrite une activité spécifique en terme de browning dont les mécanismes ont été expliqués en introduction générale 1. Le marqueur des cellules beiges (ayant un potentiel de browning) est un marqueur UCP1 couramment utilisé. Nous



avons montré qu'il y a trois niveaux de marquage d'UCP1 dans trois zones distinctes : un marquage très fort dans le cluster de PLS proche du ganglion, un marquage intermédiaire dans le cluster à l'autre extrémité de la SLA et un marquage quasi inexistant en dehors de la SLA. Il semble donc que l'on puisse corréler une activité métabolique d'intensité différente avec une localisation dans le tissu dans deux zones qui se trouvent organisées structurellement de manière non-triviale.

Un autre élément semble corréler avec le marquage UCP1 : il s'agit de la densité vasculaire. En effet, à partir du signal lectine qui a été acquis, nous avons pu calculer des densités vasculaires à des endroits spécifiques du tissu. En découpant des zones d'intérêt à partir de l'image 3D, dans des régions qui correspondent aux deux clusters de PLS, on observe que les densités vasculaires suivent les mêmes tendances à savoir qu'elles présentent trois niveaux différents d'intensité. Il y a donc une activité métabolique qui semble corréler avec une organisation structurelle et une intensité de vascularisation. Nous pouvons donc nous interroger si le mécanisme de browning n'est pas activé par la perfusion sanguine ou, à l'inverse, si la différenciation des cellules beiges n'est pas liée à un signal d'angiogénèse.

### 2.2.1 Avantages et limites de la méthode

D'autres méthodes auraient pu être utilisées, comme par exemple des méthodes level-set [AND JOHN C. GORE \[2011\]](#), des méthodes de contour actif [DOUGHERTY \[2009\]](#); [KASS et collab. \[1987\]](#) ou encore des approches par deep-learning [BENTAIEB et HAMARNEH \[2016\]](#). Nous avons choisi de développer une procédure de traitement d'image utilisant des briques de base relativement simples. Contrairement à une méthode automatique, les paramètres doivent être choisis "au mieux" et introduisent donc un arbitraire dans les segmentations. Une méthode semi-automatique présente l'avantage de pouvoir étudier l'influence de chacun des paramètres et revenir sur certaines de nos décisions. C'est pour cette raison que nous avons privilégié ce type de méthode qui permet d'avoir une grande souplesse dans les différentes étapes de segmentation.

Dans notre analyse, l'arbitraire est également présent dans la validation des segmentations qui ne peut être que visuelle et qualitative. Le principal problème provient du fait qu'il n'y a pas de vérité-terrain (la notion de 'ground truth' est fondamentale dans le domaine de la segmentation d'image). Plus précisément, il n'y a pas de définition réellement détaillée de ce qu'est un lobule en 3D, par conséquent on ne peut pas savoir à quel point nos segmentations sont proches d'un "réel biologique". Cependant, un travail important d'analyse tissulaire a été effectué par le laboratoire STROMALab, (décrit en détail dans l'article ci-dessous) permettant, en utilisant une technique de micro-dissection, de corroborer certains éléments de segmentation.

A minima on peut penser que la structure en petites unités denses et homogènes faiblement connectées est simpliste mais ceci ne donne pas pour autant un critère de validité de segmentation des plus grosses structures. Il est très difficile en parcourant les images d'origine non traitées de savoir où s'arrête et où commence une entité, à cause de l'organisation complexe en 3D. Ainsi dans nos segmentations, on a fait varier les paramètres pour que les entités segmentées que l'on obtient soient plus connectées en leur sein qu'entre elles, critère qui n'est bien entendu que qualitatif.

Soulignons également que certains éléments des résultats de segmentation semblent relativement robustes. Par exemple la distribution des volumes des PLS normalisés est similaire sur les trois tissus segmentés avec le même signal. La structuration en deux clusters principaux semble également assez robuste. Il ne s'agit pas de validation au sens

critique mais d'éléments indirects qui laissent entendre que les résultats reproduisent un certain niveau d'organisation du tissu. Il est probable qu'en jouant sur les paramètres on aurait des PLS de volumes différents mais cela ne changerait pas le caractère éminemment 3D des entités.

## 2.3 Références

- AND JOHN C. GORE, R. H. C. L. Z. D. J. C. G. D. N. M. 2011, «A Level Set Method for Image Segmentation in the Presence of Intensity Inhomogeneities with Application to MRI», *IEEE Transactions on Image Processing*, vol. 20, n° 7, doi:10.1109/TIP.2011.2146190, p. 2007–2016, ISSN 10577149. 27
- BARREAU, C., E. LABIT, C. GUISSARD, J. ROUQUETTE, M. L. BOIZEAU, S. GANI KOUMASSI, A. CARRIÈRE, Y. JEANSON, S. BERGER-MÜLLER, C. DROMARD, F. PLOURABOUÉ, L. CASTEILLA et A. LORSIGNOL. 2016, «Regionalization of browning revealed by whole subcutaneous adipose tissue imaging», *Obesity*, vol. 24, n° 5, doi:10.1002/oby.21455, p. 1081–1089, ISSN 1930739X. 23, 24, 26
- BENTAIEB, A. et G. HAMARNEH. 2016, «Topology Aware Fully Convolutional Networks For Histology Gland Segmentation», dans *Lecture Notes in Computer Science, Medical Image Computing and Computer-Assisted Intervention (MICCAI)*, ISBN 9783319467238, p. 460–468, doi:10.1007/978-3-319-46723-8. 27
- DOUGHERTY, G. 2009, *Digital Image Processing for Medical Applications*, Cambridge University Press. 24, 25, 27
- FORSYTH, D. A. et J. PONCE. 2011, *Computer Vision: A Modern Approach*, 2<sup>e</sup> éd.. 24
- JÄHNE, B. 2005, *Digital Image Processing*, 6<sup>e</sup> éd., Springer-Verlag Berlin Heidelberg, ISBN 9783540240358. 24
- KASS, M., A. WITKIN et D. TERZOPOULOS. 1987, «Snakes: Active contour models», *International Journal of Computer Vision*, vol. 1, n° 4, doi:10.1007/BF00133570, p. 321–331, ISSN 09205691. 27
- POISSONNET, C., A. BURDI et F. BOOKSTEIN. 1983, «Growth and development of human adipose tissue during early gestation.», *Early Human Development*, vol. 8, n° 1, p. 1–11. 23
- POISSONNET, C. M. 1988, «Growth and development of adipose tissue», *The journal of Pediatrics*, vol. 113, n° 1, p. 1–9. 23
- SCHULZE, M. A. et J. A. PEARCE. 1994, «A MORPHOLOGY-BASED FILTER STRUCTURE FOR EDGE-ENHANCING SMOOTHING», dans *Proceedings of the 1994 IEEE International Conference on Image Processing*, p. 530–534. 24
- WASSERMANN, F. 1965, «The development of adipose tissue», dans *Handbook of Physiology, Adipose Tissue*, chap. 10, ISBN 9780470650714, p. 87–100, doi:10.1002/cphy.cp050110. URL <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.cp050110>. 23, 26

## 2.4 Article soumis

3D analysis of network of adipose lobules in the whole fat pad reveals vasculature  
heterogeneity predictive of browning ability

Dichamp Jules<sup>1</sup>, Barreau Corinne<sup>2</sup>, Guissard Christophe<sup>2</sup>, Carrière Audrey<sup>2</sup>, Martinez  
Yves<sup>3</sup>, Descombes Xavier<sup>4</sup>, Rouquette Jacques<sup>5</sup>, Casteilla Louis<sup>2</sup>, Plouraboué Franck<sup>1</sup>,  
Lorsignol Anne<sup>2</sup>

1. IMFT, Université de Toulouse, CNRS, INPT, UPS, Toulouse, France

2. STROMALab, Université de Toulouse, CNRS ERL 5311, EFS, INP-ENVT, Inserm  
U1031, UPS, Toulouse, France

3. FRAIB, CNRS - FR 3450, Castanet-Tolosan, France.

4. Université Côte d'Azur, INRIA, I3S, Nice, France

5. ITAV, Université de Toulouse, CNRS USR 3505, Toulouse, France

\* Corresponding author: Lorsignol Anne

## **Abstract**

Adipose tissues, as the main energy stores and also through their endocrine activity, are interconnected with all physiological functions. They play a fundamental role in energy homeostasis and in the development of metabolic disorders. Up to now, this tissue has been analysed as a pool of different cell types with very little attention paid to the organization and putative partitioning of cells. Considering the absence of a complete picture of the intimate architecture of this large soft tissue, we decided to develop a method that combined tissue clearing, acquisition of autofluorescence or lectin signals by confocal microscopy, segmentation procedures based on contrast enhancement, and a new semi-automatic image analysis process, allowing fine and quantitative characterization of the whole 3D fat pad organization. This approach revealed the unexpected anatomic complexity of the murine subcutaneous fat pad. Although the classical picture of adipose tissue corresponds to a superposition of simple ellipsoidal lobules of adipose cells separated by mesenchymal spans, our results show that segmented lobules display complex 3D poly-lobular shapes and heterogeneous vascular densities correlating with metabolic features and browning abilities. Finally, despite differences in shape and size, the number and interconnectivity of these polylobular subunits are similar from one fat pad to another. This innovative procedure reveals that subcutaneous adipose tissue exhibits a subtle functional heterogeneity with partitioned areas, and opens a new perspective towards understanding its functioning and plasticity.

## Introduction

A small but growing amount of data suggests that tissues/organs should be seen as sophisticated ecosystems depending on highly complex but structured interactions between different, organized sets of cells and their micro-environments <sup>1</sup>. Increasing knowledge of precise 3D tissue architecture/structure with cell resolution is now mandatory to progress in the understanding of tissue-organ physiology and pathology. One emblematic tissue is the liver, where the description of the architecture and vascularization of hepatic lobules allowed an understanding to be gained of how different metabolic functions are assumed by their partitioning <sup>2,3</sup>. More recently, studies on pituitary gland revealed an organization in multiple, intermingled networks of major physio-pathological relevance <sup>4</sup>.

Because of the explosive worldwide development of obesity associated with metabolic disorders and the pivotal role played by adipose tissues in such diseases, understanding their biology appears crucial <sup>5,6</sup>. Adipose tissue is well known for its involvement in multiple physiological functions, as a metabolic-endocrine-immune organ <sup>7-9</sup>. Up to now, most of the studies on adipose tissues have focused on the cellular or the molecular scale. In addition, whilst a large number of studies have demonstrated that adipose depots differ from each other in terms of “adipocyte biology” <sup>6,10-13</sup>, there has been no in-depth investigation of the whole 3D anatomy with cell resolution and putative organized partitioning of cellular and functional heterogeneity within a single fat depot. Since Wassermann’s work in 1960, which described the “lobular” structure of adipose tissue using classical 2D photonic microscopy images <sup>14</sup>, very few studies have investigated the architecture of adipose tissues in depth <sup>15-18</sup>. This is largely due to the technological obstacles encountered when attempting to image a whole tissue and manipulate large datasets.

Recently, we made some initial progress in this field with up-to-date imaging that highlighted the existence of two large, distinct areas within the murine subcutaneous fat

pad <sup>17</sup>. The first one, located in the core of the pad, contains fat subunits with lobule-like shapes and has inducible brown-like adipocytes or beige adipocytes, able to express the uncoupling protein-1 (UCP1) after cold exposure <sup>19,20</sup>. The second one, at the periphery of the tissue, does not exhibit any identifiable subunits and is refractory to cold-induced browning. Unfortunately, in this study, automatic 3D segmentation of lobules was unsuccessful with commercially available software. This meant that systematic analysis of several samples was not possible and the 3D structures of the subunits and their interconnectivity was set aside.

In the work reported here, we therefore developed a new semi-automated method of segmenting structural subunits, based on contrast enhancement, and applied it to 3D imaging of the whole subcutaneous fat pad once it had been cleared. Whatever the fluorescent signals used for imaging (high-resolution autofluorescence or vascularization signals), our combination of in-depth imaging and computation revealed that subcutaneous adipose tissue presented a more complex 3D anatomy and greater heterogeneity than previously thought. The 3D subunits that had been identified as ellipsoidal lobules in 2D, displayed a shape resembling the fingers of a glove. Moreover, our results show that a change of the size of the whole fat pad is accompanied by modification of the size of each subunit with no change in the number of these subunits or their inter-connections. Finally, by using laser capture microdissection, we showed that these polylobular subunits had heterogeneous metabolic and vascular characteristics depending on their location within the subunit network.

## Results

*Segmentation of 3D autofluorescence images reveals existence of complex subunits in the core of the fat pad.*

We decided to image 3 fat pads of quite different sizes in order to take account of a putative variability in our analysis. For each sample, autofluorescence signal acquisition revealed two large regions with macroscopic features as already described with another strategy <sup>17</sup>. Subunits could be segmented in the core of the tissue, while no segmentation was possible at the periphery. So, in order to limit the volume of calculations, a first segmentation step was used to separate two large regions: with and without lobular organization. Volume quantification of both regions of the fat pad revealed that the proportion corresponding to the core (named SLA, for Segmentable Lobule Area) was similar in all samples ( $20.1 \pm 1.9$  % of the total volume of the fat pad) with a mean volume of  $19.5 \pm 7.96$  mm<sup>3</sup> (Table 1) (n=3).

The segmentation procedure described in Figure 1 and applied to SLA, allowed 15 to 21 fat subunits to be identified (Table 1). Their size varied from less than 0.04 to more than 8 mm<sup>3</sup> depending on the volume of the sample (Table 1) but, strikingly, after normalization to the volume of the whole fat pad, no significant difference was observed in the subunit relative volume (Figure 2).

Qualitatively, our segmentation revealed complex shapes for the subunits identified. This is in contrast with the classical 2D view of adipose tissue, which shows a superposition of simple ellipsoidal lobules. From the analysis of various slices in the z direction, Figure 3 illustrates the 3D connection between apparently individual, small lobular subunits leading to wider, more complex, multi-lobular subunits. The green mono-lobular subunit surrounded by the dotted line in Figure 3a splits into two and then three distinct subunits when different slices are observed (Figure 3b and 3c). Similarly, the two grey subunits with continuous contours in Figure 3a are closer together in Figure 3b, and merge into a single

subunit in Figure 3c. The shapes of these inter-digitated Poly-Lobular Subunits (PLS) were distinct from one other (supplementary movies 1 and 2) but always with a preferential direction in the X-Y plane (supplementary movie 3). For the rest of the manuscript, the abbreviation PLS is used to refer to these poly-lobular subunits identified by the segmentation procedure.

*Investigation of location and inter-connection of PLS suggests two macro-domains inside the SLA*

A direct consequence of highlighting these complex PLS structures was that their volumes were seen to be bigger than those suggested by classical 2D images as illustrated in Figure 4A, where only 13 subunits can be observed (represented by distinct colours and white stars), distributed inside the core region of the fat pad. Furthermore, neither regular patterns, nor any size succession arrangement could be found. Large PLS were not found close to small ones, nor were elongated ones close to broad ones. However, at a larger scale, a preferential alignment of segmented PLS from the left to the right sides (corresponding to the apical-to-groin axis of the fat pad) could be observed in the vicinity of the lymph node (Figure 4A).

The 3D structure and inter-connection of all the PLS was analysed in greater detail using an unbiased automated computation of the 3D connections of each PLS from image analysis. Functional links between PLS were quantified by considering that the number of common voxels at the frontier of two distinct segmented subunits indicated the presence of neighbouring cells that were able to exchange biological signals and molecules from one entity to the other. The graph of the resulting links for fat pad number 2 is shown in Figure 4B. This graph not only illustrates the heterogeneity of PLS volumes, since each circle is proportional to the volume of the corresponding subunit, but also describes how these subunits are connected to each other in 3D. Figure 4B clearly shows that, near the lymph



node (represented by the violet dotted circle consistently with the violet colour used in Figure 4A), PLS are closely connected, forming a “cluster” of well-connected PLS. Furthermore, four subunits well connected into a second, smaller cluster can be observed on the right (near the groin). This specific architecture of connections (two well-connected PLS clusters) is again found in fat pad number 3 (supplementary figure S1A). In sample 1, the six PLS located on the right are more strongly connected to each other (illustrated by larger links) than with the other PLS (supplementary figure S1B). Taken as a whole, the analysis of these 3D connections revealed another scale of the tissue anatomy, with a spatial organization of PLS in two macro-domains, one including  $12 \pm 2$  PLS located near the lymph node and the other composed of  $5 \pm 1$  PLS located at the extremity of the fat pad. The boundary between these two macro-domains was located 3.7 to 4 mm from the lymph node, obviously depending on the specific size of the core region - which varied (Table 1).

*The two clusters of well-connected PLS revealed by the graph representation display distinct biological phenotypes.*

As recently demonstrated [17](#), the core region of the inguinal fat pad has great browning ability compared to the periphery. To investigate whether the two previously identified PLS clusters could delineate domains with distinct molecular signatures related to metabolism and browning, we laser-microdissected several small pieces of adipose tissue near the lymph node (area 1, corresponding to the largest PLS cluster) or near the groin extremity (area 2, corresponding to the second PLS cluster). As controls, laser micro-dissections were also performed outside these PLS clusters, i.e. at the periphery of the fat pad (area 3) (Figure 5A). Figure 5B shows that marked areas were efficiently micro-dissected from the inguinal fat pad and captured. Real-time quantitative PCR analysis performed on RNA extracted from the different micro-dissected areas of inguinal depots harvested from

C57Bl6 mice maintained at 22 °C showed that *Ucp1* and *Cidea* mRNA levels, encoding two proteins specifically expressed by brown-like adipocytes, were significantly enriched in area 1, close to the lymph node, compared to area 2 (Figure 5C). The opposite trend was observed for *leptin*, a marker of white adipocytes. As expected, area 3, captured from the periphery (Figure 5A) and containing adipocytes refractory to the browning process, <sup>17</sup> showed the lowest levels of thermogenic gene expression and the highest levels of *leptin*. Expression of adipogenic genes non-specific to white or brown-like adipogenesis, such as *Cd36*, *Pparg2* and *Fabp4* was not significantly different among the three micro-dissected areas.

Brown-like adipocytes are characterized by large number of mitochondria, which support their thermogenic properties and are closely dependent on vascularization to ensure a sufficient supply of nutrients and oxygen and to handle heat export. We thus estimated mitochondrial equipment with TOM20 immunostaining and observed a heterogeneous distribution of mitochondria through the SLA region, with a clear enrichment of mitochondria in area 1 (Figure 6A). To investigate vascularization, we labelled vessels with *in vivo* lectin injection and applied an automatic segmentation procedure similar to the one used with the auto-fluorescence signal. Supplementary figure 2 shows a comparison between the segmentation obtained on a given tissue sample, with the two distinct signals. A clear analogy can be found between segmented subunits. Computation of the vascular density on specific regions of interest revealed higher vascular density in area 1 than in area 2 ( $0.52 \pm 0.11$  and  $0.31 \pm 0.10$  respectively,  $p < 0.05$ ) and the periphery showed the lowest values (area 3,  $0.16 \pm 0.04$ ,  $p < 0.005$  vs area 1) (Figure 6B).

To determine whether the distinct molecular profiles, the mitochondrial apparatus and the vascular density were predictive of browning abilities under noradrenergic stimulus, C57Bl6 mice were exposed to 4 °C for 48 hours and UCP1 expression was assessed by real-time quantitative PCR and immunofluorescence experiments. Figure 6C shows that

area 1 contained higher *Ucp1* mRNA levels than areas 2 and 3 after cold exposure. This was associated with many more UCP1-expressing adipocytes in area 1 than in area 2, area 3 being devoid of brown-like adipocytes (Figure 6D).

## Discussion

Altogether, our results show that the whole subcutaneous fat pad possesses a complex spatial and functional organization. In our previous study, we demonstrated that this depot was spatially organized in two large regions with sub-domains associated with a compartmentalization of browning ability [17](#). However, the computational approach used in that study did not allow complete identification of lobules, which were classically seen as ellipsoidal clusters of adipocytes. Therefore, here, we developed a dedicated and original 3D tissue-scale image analysis workflow in order to provide objective segmentation of tissue organization. This workflow, albeit based upon classical image analysis tools, has specific and highly technical features, leading to a customized and efficient C++ code. It permits semi-automatic treatment of a mosaic of 3D images containing several hundred blocks, while keeping memory use low thanks to an adequate pyramid strategy. Furthermore, the parametrization of several steps of the workflow (e.g. the filtering steps) has undergone time-consuming calibration tests and procedures so as to be able to deliver robust and satisfactory segmentation results. The resulting segmentation strategy allows semi-automated treatment to be achieved for large-scale 3D tissue images, which would not have been possible with manual handling. Applying this segmentation procedure to 3D images of a whole inguinal fat pad confirmed that fat subunits are only present in the core region, and also revealed that these subunits display complex and unexpected 3D interdigitated polylobular shapes. In contrast to other lobular structures found in the liver [21](#) or pancreas [22](#), where single but repetitive structural patterns have been described, our 3D analysis of the whole pad revealed different shapes and volumes for the segmented subunits of fat, suggesting that structural heterogeneity may support functional heterogeneity.

Despite differences in shape and size, the number and inter-connectivity of PLS were

similar from one fat pad to another. Around twenty subunits were segmented in three fat pads and a graph representing their connection revealed two sub-domains of well-connected PLS: a large one near the lymph node, and a smaller one near the groin. Laser microdissection and immunolabelling of mitochondria revealed different expression levels of browning genes and mitochondrial apparatus in these two sub-domains as in the periphery. As expected, a high expression of leptin with almost no expression of *Ucp1* or *Cidea* was observed at the periphery of the inguinal fat pad, while the situation was reversed in the core of the tissue <sup>17</sup>. Microdissection inside the two sub-domains revealed that the well-connected PLS cluster closer to the lymph node displayed higher *Ucp1* and *Cidea* mRNA levels and a greater number of mitochondria than the more distant one. Consistently with these results, the highest browning process in response to cold challenge was observed around the lymph node, further highlighting the existence of an inter-PLS cluster heterogeneity. Finally, an apparent parallel between vascular density and browning ability could be observed not only between NSLA and SLA areas but also inside the SLA, between the identified subdomains. This suggests that the vasculature in an area could be predictive of its browning ability. A recent study also revealed heterogeneity of sympathetic innervation of the subcutaneous fat pad <sup>18</sup>. Knowing the involvement of the autonomic nervous system in the browning process <sup>23</sup> and the topological relationship between blood vessels and nerves, we can speculate that the networks of PLS identified in the present study overlap vascular and nervous networks.

A graph representation of the spatial organization was used to decipher the relationship between functional subunits. Although such representations are widely used in many areas, not only for describing web and social networks but also for complex urban and geographical spatial structures, they are rarely used in the context of soft-tissue structural analysis <sup>24-26</sup>. They overcome the limitations of 2D imaging to identify and illustrate the true

connection between two 3D subunits, and highlight some specific, non-regular, organization levels, such as preferential couplings. This type of graphic representation, when applied to segmented PLS revealing two clusters of well-connected PLS, opens up the question of the physiological relevance of this architecture. Less attention has been focused on the role of cell communication networks within organ functions, except in the brain <sup>27</sup>. Nevertheless, network organization seems to be common to endocrine tissues such as the pancreas, pituitary gland or more diffuse endocrine organs such as the gut <sup>28-30</sup>. In these cases, the specific cell organization plays a key role in the control of hormone secretion <sup>4,31</sup>. Since the browning areas are located along the main vasculature <sup>17</sup>, we can speculate that these regions are perfused faster than the periphery, thus questioning the partitioning of the substrate flux among the different domains, including the NSLA. Unfortunately, this question cannot be addressed with the present segmentation and further efforts are needed to model vasculature and its flow.

Finally, it is noteworthy that the automatic segmentation procedure developed here can be applied to different fluorescence signals; the segmentation results provided by either auto-fluorescence or lectin labelling are quite similar. Although the precise frontier of each individual segmented subunit can differ from place to place, most patterns are indeed recovered with one signal or the other.

Taken together, our segmentation procedure reveals invariant meso-anatomy features of the inguinal fat pad, including the number of subunits and the geography of the network linking all of them. This observation is encouraging for the extension of the proposed approach to a more systematic investigation of how these patterns appear during development or re-organize in different physiological or pathological conditions. We can speculate that the peculiar and complex 3D anatomy of fat pads described in this study controls the numerous endocrine secretions of this tissue <sup>7,8</sup> as well as nutrient

delivery to and heat dissipation from the tissue. The fact that segmented fat subunits are not biologically equivalent emphasizes the need to better characterize the fine physiological and physio-pathological anatomical and structural organization of adipose tissue. Investigations restricted to core versus peripheral regions of the inguinal fat pad is now not sufficient to understand the precise physiology of this depot (and its probable impairment in a pathological context) and thus cooperation among cells within the tissue. Thus it is now mandatory to study fat subunits and the functional links between them. Since a microvascular network is likely to support these functional connections between fat subunits, investigation of blood vessel architecture and perfusion should be helpful in this field.

## Materials and Methods

### Animals

All experiments were carried out in compliance with European Community Guidelines (2010/63/UE) and approved by the French ethics committee. Experiments were performed on 6- to 8-week-old male C57BL/6J mice (Harlan Laboratories), housed in a controlled environment (12 h light/dark cycle at 22 °C or 4 °C). Mice were group-housed (3 or 4 per cage) with free access to food and water. Cold exposure lasted 48 hours.

### Whole Tissue imaging

Mice were anaesthetized by intraperitoneal injection of ketamine/xylazine mix and submitted to intra-cardiac perfusion with 4% paraformaldehyde solution. To visualize the vasculature, Rhodamine labelled Griffonia (Bandeiraea) Simplicifolia Lectin I (Eurobio Abcys) was injected into the orbital sinus before sacrifice. Inguinal fat pads were removed, oriented (apex versus groin), post-fixed at 4 °C overnight and kept in PBS at 4 °C. Tissues were then embedded in 1% agarose before being dehydrated by graded series of ethanol incubations and then cleared by incubation in benzyl alcohol-benzyl benzoate solution (BABB, 1:2 vol:vol ratio Sigma Aldrich) as already described <sup>17</sup>. Imaging of cleared tissues was performed using a Confocal Laser Scanning microscope (LSM510 NLO - Carl Zeiss, Jena, Germany) as previously reported <sup>17</sup>. Because of the size of the sample, multiple positions were acquired with an overlap of 10% and a z-stack was performed. Final images were obtained by stitching all the acquired positions using image metadata Grid/collection stitching plugins of Fiji software <sup>32</sup>. Autofluorescence and rhodamine signals were collected with 500-530 nm and 560-615 nm band-pass filters respectively. Standardized conditions for pinhole size, and for gain and offset (brightness and contrast), were used for image capture.



### **3D Image processing**

A preliminary step was used to separate regions with (Segmentable Lobule Area or SLA) and without (Non-Segmentable Lobule Area or NSLA) lobular organization as already suggested [17](#). A custom C++ code was developed to segment lobules in 3D images from the autofluorescence signal. The procedure is described in Figure 1 and details are provided in the appendix. Here, we present a summary of the segmentation procedure. Firstly, the dense entities were homogenized and their frontiers preserved using a non-linear mask. Then, the image was binarized and small holes were filled. In order to obtain separated entities, the distance map of the binarized image was computed followed by a binarization and a computation of connected components. In parallel, the gradient of the binarized image was computed to set the borders of the segmented subunits. We then used a watershed algorithm (using seeds from connected components and borders from the gradient) We then pointwise multiplied the original grayscale image by a watershed algorithm (using seeds from connected components and borders from the gradient), leading to a pre-segmented image illustrated in figure 1h. Finally, to correct artefacts from holes in the gradient borders, the pre-segmented entities were merged, based on their contact surface to total surface ratio. It should be pointed out that this procedure is semi-automatic and parameters must be chosen accordingly. All parameters are reported in the appendix.

### **Post-processing quantifications**

Once the 3D images had been processed, the volume of each segmented lobule was defined by computing the total number of voxels of the watershed mask, which was translated into a physical volume. The contact surface between each pair of segmented lobules was also computed as the voxels having a distinct label from their neighbours and whose labels corresponded to those of the pair of lobules considered.

Since lectin labelling was localized in vessel walls, we further quantified the average grayscale density in this modality as it provided quantitative information on vessel density in various regions and could be considered as a proxy variable for the vascular density. This was evaluated in both the non-segmented (NSLA) and the segmented (SLA) region after subtraction of the lymph node. We also computed the proxy of the vascular density on specific regions of interest as, in this case, the volume is a 3D crop of the tissue.

### **Immunohistochemistry**

The inguinal fat pad was fixed in paraformaldehyde 4% overnight before being cut into 300 µm sections using a vibratome (Campden). Sections were incubated in blocking solution (2% normal horse serum and 0.2% triton X-100 in PBS) at room temperature before being incubated for 24 h at room temperature with primary UCP1 (1:5000, kindly provided by D. Ricquier) or TOM20 (1:400, Santa Cruz, sc-11415) antibodies. After overnight incubation at 4 °C with Alexa 488- or Alexa 555-conjugated secondary antibodies (Life Technology), imaging was performed using a confocal laser scanning microscope (LSM510 NLO, Carl Zeiss).

### **Laser capture microdissection (LCM) and gene expression analysis.**

Inguinal fat pad fixed in methanol (-20 °C, overnight) was placed in a plastic Cryomold filled with tissue freezing compound (Tissue-Tek® OCT), frozen in isopentane and stored at -80 °C before being sliced into 50 µm sections using a cryostat (MICROM HM 560V). Sections were placed on membrane coated slides and immersed in chilled 70% ethanol for 30 sec, then rinsed in water for 15 sec. Slides were then immediately immersed in graded series of ethanol (70, 95 and 100%, for 30 sec). Tissue sections were cleared in xylene for 2 min and air dried for 5 min. All steps were performed in RNase free conditions. LCM was carried out under 10X magnification microscopic visualization using the ARCTURUS XT

apparatus (ArcturusXT™ microscope system). Dissected cells were collected in the collecting tube cap filled with 50 µl of lysis buffer (Arcturus™ PicoPure™ RNA isolation Kit). Total RNA was extracted according to the manufacturer's instructions. After the control of RNA quality using an Agilent 2100 Bioanalyzer, 30 ng of total RNA was reverse-transcribed using the Superscript Vilo cDNA synthesis kit (Life technology). Quantitative real-time PCR was performed using SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystem) and 0.3 mM primers on a Vii7™ (Applied Biosystem) instrument. Relative gene expression was determined using the 2- $\Delta$ CT method and normalized to 18s. The primers are listed in Table 2.

### **Statistical analysis.**

All results are expressed as means  $\pm$  S.E.M. A non-parametric test (Mann-Whitney) was used to calculate final *P*-values using GraphPad Prism software. Differences among groups were considered significant at *P*<0.05.

## References

- 1 Thomas, F. *et al.* Evolutionary Ecology of Organs: A Missing Link in Cancer Development? *Trends in cancer* **2**, 409-415, doi:10.1016/j.trecan.2016.06.009 (2016).
- 2 Gebhardt, R. & Matz-Soja, M. Liver zonation: Novel aspects of its regulation and its impact on homeostasis. *World journal of gastroenterology* **20**, 8491-8504, doi:10.3748/wjg.v20.i26.8491 (2014).
- 3 Jungermann, K. & Kietzmann, T. Oxygen: modulator of metabolic zonation and disease of the liver. *Hepatology* **31**, 255-260, doi:10.1002/hep.510310201 (2000).
- 4 Le Tissier, P. *et al.* An updated view of hypothalamic-vascular-pituitary unit function and plasticity. *Nature reviews. Endocrinology* **13**, 257-267, doi:10.1038/nrendo.2016.193 (2017).
- 5 Vegiopoulos, A., Rohm, M. & Herzig, S. Adipose tissue: between the extremes. *The EMBO journal* **36**, 1999-2017, doi:10.15252/embj.201696206 (2017).
- 6 Rosen, E. D. & Spiegelman, B. M. What we talk about when we talk about fat. *Cell* **156**, 20-44, doi:10.1016/j.cell.2013.12.012 (2014).
- 7 Booth, A., Magnuson, A., Fouts, J. & Foster, M. T. Adipose tissue: an endocrine organ playing a role in metabolic regulation. *Hormone molecular biology and clinical investigation* **26**, 25-42, doi:10.1515/hmbci-2015-0073 (2016).
- 8 Ailhaud, G. Adipose tissue as a secretory organ: from adipogenesis to the metabolic syndrome. *Comptes rendus biologiques* **329**, 570-577; discussion 653-575, doi:10.1016/j.crvi.2005.12.012 (2006).
- 9 Grant, R. W. & Dixit, V. D. Adipose tissue as an immunological organ. *Obesity* **23**, 512-518, doi:10.1002/oby.21003 (2015).
- 10 Lynes, M. D. & Tseng, Y. H. Deciphering adipose tissue heterogeneity. *Annals of the New York Academy of Sciences* **1411**, 5-20, doi:10.1111/nyas.13398 (2018).
- 11 Yamamoto, Y. *et al.* Adipose depots possess unique developmental gene signatures. *Obesity* **18**, 872-878, doi:10.1038/oby.2009.512 (2010).
- 12 Tchkonja, T. *et al.* Mechanisms and metabolic implications of regional differences among fat depots. *Cell metabolism* **17**, 644-656, doi:10.1016/j.cmet.2013.03.008 (2013).
- 13 Fried, S. K., Lee, M. J. & Karastergiou, K. Shaping fat distribution: New insights into the molecular determinants of depot- and sex-dependent adipose biology. *Obesity* **23**, 1345-1352, doi:10.1002/oby.21133 (2015).
- 14 Wassermann, F. in *Compr Physiol. 2011, supplement 15: Handbook of physiology Adipose tissue* 87-100 (1965).
- 15 Kelley, D. E., Thaete, F. L., Troost, F., Huwe, T. & Goodpaster, B. H. Subdivisions of subcutaneous abdominal adipose tissue and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* **278**, E941-948, doi:10.1152/ajpendo.2000.278.5.E941 (2000).
- 16 Walker, G. E. *et al.* Subcutaneous abdominal adipose tissue subcompartments: potential role in rosiglitazone effects. *Obesity* **16**, 1983-1991, doi:10.1038/oby.2008.326 (2008).
- 17 Barreau, C. *et al.* Regionalization of browning revealed by whole subcutaneous adipose tissue imaging. *Obesity* **24**, 1081-1089, doi:10.1002/oby.21455 (2016).
- 18 Chi, J. *et al.* Three-Dimensional Adipose Tissue Imaging Reveals Regional Variation in Beige Fat Biogenesis and PRDM16-Dependent Sympathetic Neurite Density. *Cell metabolism* **27**, 226-236 e223, doi:10.1016/j.cmet.2017.12.011 (2018).
- 19 Loncar, D. Convertible adipose tissue in mice. *Cell and tissue research* **266**, 149-161 (1991).
- 20 Cereijo, R., Giralt, M. & Villarroya, F. Thermogenic brown and beige/brite adipogenesis in humans. *Annals of medicine*, 1-9, doi:10.3109/07853890.2014.952328 (2014).

- 21 Tsukada, K. *et al.* Hypoxia-inducible factor-1 is a determinant of lobular structure and oxygen consumption in the liver. *Microcirculation* **20**, 385-393, doi:10.1111/micc.12033 (2013).
- 22 Parween, S. *et al.* Intra-islet lesions and lobular variations in beta-cell mass expansion in ob/ob mice revealed by 3D imaging of intact pancreas. *Scientific reports* **6**, 34885, doi:10.1038/srep34885 (2016).
- 23 Cousin, B. *et al.* Occurrence of brown adipocytes in rat white adipose tissue: molecular and morphological characterization. *Journal of cell science* **103 ( Pt 4)**, 931-942 (1992).
- 24 Blinder, P. *et al.* The cortical angiome: an interconnected vascular network with noncolumnar patterns of blood flow. *Nature neuroscience* **16**, 889-897, doi:10.1038/nn.3426 (2013).
- 25 Tsou, C. H., Lor, K. L., Chang, Y. C. & Chen, C. M. Anatomy packing with hierarchical segments: an algorithm for segmentation of pulmonary nodules in CT images. *Biomedical engineering online* **14**, 42, doi:10.1186/s12938-015-0043-3 (2015).
- 26 Linguraru, M. G., Pura, J. A., Pamulapati, V. & Summers, R. M. Statistical 4D graphs for multi-organ abdominal segmentation from multiphase CT. *Medical image analysis* **16**, 904-914, doi:10.1016/j.media.2012.02.001 (2012).
- 27 Rubinov, M. & Sporns, O. Complex network measures of brain connectivity: uses and interpretations. *NeuroImage* **52**, 1059-1069, doi:10.1016/j.neuroimage.2009.10.003 (2010).
- 28 Jaques, F. *et al.* Dual effect of cell-cell contact disruption on cytosolic calcium and insulin secretion. *Endocrinology* **149**, 2494-2505, doi:10.1210/en.2007-0974 (2008).
- 29 Champaneria, M. C., Modlin, I. M., Kidd, M. & Eick, G. N. Friedrich Feyrter: a precise intellect in a diffuse system. *Neuroendocrinology* **83**, 394-404, doi:10.1159/000096050 (2006).
- 30 Le Tissier, P. R. *et al.* Anterior pituitary cell networks. *Frontiers in neuroendocrinology* **33**, 252-266, doi:10.1016/j.yfrne.2012.08.002 (2012).
- 31 Schaeffer, M., Hodson, D. J., Lafont, C. & Mollard, P. Endocrine cells and blood vessels work in tandem to generate hormone pulses. *Journal of molecular endocrinology* **47**, R59-66, doi:10.1530/JME-11-0035 (2011).
- 32 Preibisch, S., Saalfeld, S. & Tomancak, P. Globally optimal stitching of tiled 3D microscopic image acquisitions. *Bioinformatics* **25**, 1463-1465, doi:10.1093/bioinformatics/btp184 (2009).
- 33 Risser, L., Plouraboué, F. & Descombes, X. Gap Filling of 3-D Microvascular Networks by Tensor Voting. *IEEE transactions on medical imaging* **27**, 674-687, doi:10.1109/TMI.2007.913248 (2008).
- 34 Schindelin, J. *et al.* Fiji: an open-source platform for biological-image analysis. *Nature methods* **9**, 676-682, doi:10.1038/nmeth.2019 (2012).
- 35 Jiang, M. Chan Tony F, Shen Jianhong (Jackie): Image Processing and Analysis: Variational, PDE, Wavelet, and Stochastic Methods. *Biomedical engineering online* **5**, 38, doi:10.1186/1475-925x-5-38 (2006).
- 36 Kuwahara, M., Hachimura, K., Eiho, S. & Kinoshita, M. *Processing of RI-Angiocardigraphic Images*. (1976).
- 37 Schulze, M. A. & Pearce, J. A. in *Proceedings of the 1994 IEEE International Conference on Image Processing (ICIP-94)*. 530-534.
- 38 Vadiveloo, M., Abdullah, R. & Rajeswari, M. in *Seventh International Conference on Graphic and Image Processing*. 9 (SPIE).
- 39 Blaffert, T., Renisch, S., Schadewaldt, N., Schulz, H. & Wiemker, R. in *SPIE Medical Imaging*. 9 (SPIE).

## **Acknowledgements**

This work was financially supported through grants from the Midi-Pyrénées Region of France (DES/12052900 and DESR/14050455) and from the Société Française de Nutrition (Prix de recherche 2016 obtained by Carrière A.).

We are indebted to Mireille André and Emmanuelle Arnaud for their technical help. We thank Grégoire Malandain for his advice concerning the segmentation workflow and Luc Pénicaud and Pol Kennel for their helpful discussions and insightful comments. The authors thank i) the Institut des Techniques Avancées du Vivant (ITAV, USR3505) for tissue imaging and ii) the FRAIB micro-dissection platform (Genotoul TRI)

## **Author contributions**

J.D. developed the image analysis C++/python code, performed the data treatment, provided the statistical analysis, the results of the segmentation together with the corresponding illustrations and helped in the writing of the manuscript.

A.C. designed and performed laser microdissection experiments, analysed the data and drafted the manuscript.

C.B. and C.G. designed and performed imaging experiments on adipose fat pad.

J.R. gave technical support and conceptual advice on the autofluorescence and lectin imaging.

Y.M. gave technical support and conceptual advice on laser microdissection experiments.

X.D. helped in the design and test of the image analysis workflow, and the segmentation procedure.

L.C., F.P. and A.L. conceived and designed the study, supervised the experiments and drafted the manuscript.

## **COMPETING FINANCIAL INTERESTS STATEMENT**

The authors declare no competing financial interests.

## Figure legends:

**Figure 1: Schematic illustration of the 3D image post-treatment work-flow.** Each sub-figure represents the result of one step of the algorithm. The links between them describe the operations needed to pursue one step after another. (a) Original image downscaled, (b1) Image filtered using a customized Kuwahara filter (each pixel is replaced with the mean of the means/variances ratio evaluated at neighbouring boxes), (b2) Downscaled original image binarized using a simple threshold, (c) Filtered image binarized using a simple threshold and cleaned using mathematical morphology closure treatments to fill gaps and remove smallest "islands", (d1) Result of distance map, (d2) Gradient image using Sobel method, (e) Binarized image using simple threshold, (f) Seeds for watershed obtained by computing connected components, (g) Watershed image obtained using flooding method, (h) Pre-segmented image obtained from original downscaled binarized image and watershed image by point-wise multiplication (result from (b2) and (g)), (i) Segmented image after a graph merging method based on evaluation of contact surface between relative to mean total surface for every pair of pre-segmented subunits.

**Figure 2: Whatever the size of the fat pad, number and relative volume of subunits are similar.** For the three samples, the volume of each segmented subunit was normalized to the volume of whole fat pad.

**Figure 3: Illustration of misleading 2D slicing on subunit identification.** Left panel provides the schematic representation of three different slices (a,b,c) chosen along the z direction. Right panel illustrates tissue cross-section chosen at three z positions: (a)  $z = 436.5 \mu\text{m}$ , (b)  $z = 487.05 \mu\text{m}$ , (c)  $z = 536.65 \mu\text{m}$ . The right panel colour codes the 3D segmented subunits given by the image post-treatment procedure explained in the



Materials and Methods section. The external contour of two different subunits is delineated with white (respectively dotted and continuous) lines. It can be seen that, depending on the chosen slice (a,b,c), the 2D cross-section of each subunit could appear disconnected whereas they are, in fact, fully connected in 3D.

**Figure 4: Segmentation reveals two networks of interconnected polylobular subunits (PLS).** A) Representation of a segmented autofluorescence signal image for one slice. The image has been cropped to focus on the zone where PLS are identifiable. The large violet ovoid structure is the lymph node (LN). Each white star corresponds to one segmented PLS. B) Graph representation of the PLS locations, connections and sizes in the segmented zone. The (x, y) coordinates indicate the position in the slice shown in (A). The positions of the nodes of the graph, i.e. the centre of each coloured circle, are those of the barycentres of the PLS. The radius of the circle is proportional to the volume of the PLS. Colour of each subunit is the same as in the colour map chosen in (A). The links between two nodes are computed as the ratio of the contact surface between two PLS to their mean total surface. Thus, the larger the link is, the stronger is the connection between the two PLS. Note that the pink subunit in the graph corresponds to a small subunit that does not appear on the slice shown in A.

**Figure 5: The two clusters of well-connected segmented subunits display distinct molecular signatures.** A) Sketch illustrating where laser capture microdissection was performed. B) Example of Laser Capture Microdissection (LCM) of area 1 of inguinal fat pad. Scale bar corresponds to 100  $\mu\text{m}$ . Left panel: Selection of the area to be cut by LCM. Right panel top: Dissected area captured on the cap. Right panel bottom: Tissue section after the cut elements have been dissected. C) Gene expression analysis in areas 1, 2 and 3 (shown in the sketch) of inguinal fat pad of C57Bl6 mice exposed to temperature of

22 °C. After LCM, total RNA was isolated from each area and assayed for mRNA levels of *Ucp1*, *Cidea*, *Leptin*, *Cd36*, *Pparg2* and *Fabp4* by RT-QPCR. (n=7, 3 and 5). \*P < 0.05 and \*\*P < 0.01 compared to area 1.

**Figure 6: The two clusters of well-connected segmented subunits present distinct metabolic features and browning abilities.** A) Immunostaining of TOM20 (red) performed on areas 1, 2 and 3 of inguinal fat pad sections of C57Bl6 mice exposed to 22 °C. LN, lymph node. Scale bar corresponds to 100 µm. B) Quantification of vascular density in areas 1, 2 and 3. C) UCP1 expression analysis in areas 1, 2 and 3 of inguinal fat pad of C57Bl6 mice (n=3 animals) exposed to 22 °C and 4 °C. D) Immunostaining of UCP1 (green) and acquisition of lectin signal (red) performed on areas 1, 2 and 3 of inguinal fat pad sections of C57Bl6 mice exposed to 4 °C. LN, lymph node. Scale bar corresponds to 100 µm.

**Table 1: morphometric parameters of the three mouse inguinal fat pads.**

	inguinal fat pad n°1	inguinal fat pad n°2	inguinal fat pad n°3	Mean ± SEM
Fat pad volume (mm <sup>3</sup> )	38.58	95.89	145.54	93.34 ± 30.94
NSLA volume (mm <sup>3</sup> )	31	79.55	110.97	73.48 ± 23.29
SLA volume (mm <sup>3</sup> )	7.58	16.34	34.57	19.50 ± 7.96
ratio SLA/fat pad volume (%)	19.6	17	23.8	20.1 ± 1.9
number of segmented subunits	20	15	21	
min volume of subunits (mm <sup>3</sup> )	0.038	0.042	0.093	
max volume of subunits (mm <sup>3</sup> )	1.052	3.825	8.196	
mean volume of subunits (mm <sup>3</sup> )	0.361 ± 0.28	1.021 ± 1.11	1.57 ± 1.78	

**Table 2: List and sequences of primers**

Target name	Forward Primer	Reverse Primer
<i>18s</i>	AGTCCCTGCCCTTTGTACACA	CGATCCGAGGGCCTCACTA
<i>Ucp1</i>	GACCGACGGCCTTTTTCAA	AAAGCACACAAACATGATGACGTT
<i>Cidea</i>	CTAGCACCAAAGGCTGGTTC	CACGCAGTTCACACACTC
<i>Leptin</i>	ACCATTGTCACCAGGATCAA	ACCCTCTGCTTGGCGGATA
<i>Pparg2</i>	AGTGTGAATTACAGCAAATCTCTGTTTT	GCACCATGCTCTGGGTCAA
<i>Fabp4</i>	GATGCCTTTGTGGGAACCTG	GCCATGCCTGCCACTTTC
<i>Cd36</i>	GATGTGGAACCCATAACTGGATTCAC	GGTCCCAGTCTCATTAGCCACAGTA

## **Additional Information**

### **Supplementary figures:**

**Supplementary Movies 1 and 2: Different morphologies of two segmented polylobular subunits of the fat pad.** Smoothed polylobular subunits (PLS) are obtained by applying a mean filter followed by several successive dilatation and erosion steps. Movie 1 illustrates the elongated dark green PLS located below and to the right of the lymph node on Figure 4A. Movie 2 illustrates the cyan PLS connected to 7 other PLS (two blue, two pink, one violet, one dark green and one light green) in Figure S1B.

**Supplementary Movie 3: Preferential alignment of segmented subunits.** This movie shows a skeleton superimposed on smoothed PLS shown in Movie 1. A. The skeleton was computed using the method reported by Risser et al. <sup>33</sup> and then simplified by removing smallest segments.

**Supplementary figure S1: Graph representation of the polylobular subunit (PLS) locations, connections and sizes in the segmented zone for samples n°3 (A) and n°1 (B).** The (x,y) coordinates indicate the position on a slice. The positions of the nodes of the graph, i.e. the centre of each circle, are those of the barycentres of the PLS. The radius of the circle is proportional to the volume of the PLS. The links between two nodes are computed as the ratio of the contact surface between two PLS to their mean total surface. Thus, the larger the link is, the stronger is the connection between two PLS. Circles in dotted lines represent the lymph node.

**Supplementary figure S2: The segmentation procedure gives similar results with**

**two different signals, i.e. autofluorescence (a) and lectin signal (b) in one tissue sample.** A) The images have been aligned around the lymph node, which is the rounded purple shape, the correspondence of which between the two images is sketched with the white dotted line. To illustrate the similarities between subunit segmentations, we have used the same colour label on PLS that are qualitatively similar. B) Quantification of the volumes of the different PLS identified by the acquisition of the autofluorescence (left panel) and lectin (right panel) signals. Histograms represent the number of PLS displaying equivalent volumes (from the smallest, i.e.  $<2\text{mm}^3$  to the largest, i.e.  $>5\text{mm}^3$ ) identified by the two segmentation procedures.

#### **Supplementary information about the segmentation procedure:**

The stitched image mosaic of an entire tissue acquisition can be as large as  $12000 \times 12000 \times 300$  pixels, leading to images of several tens of gigabytes. Each elementary acquisition volume ranges between  $256 \times 256 \times 300$  and  $1024 \times 1024 \times 300$  voxels and many hundreds are assembled within a mosaic. For this reason, the automatic treatment of the image is much more easily handled with a customized and scriptable home-made C++ code, which we developed using the Cimg library (<http://cimg.sourceforge.net/index.shtml>). We first segmented the two tissue regions where there was no “lobular organization” as opposed to the one where lobules could be segmented <sup>17</sup>. A mean 3D filter from Fiji software was set up, whose size could vary depending on the sample. The mean 3D filter was chosen to be significantly larger in the x and y directions than in the z direction to take account of the anisotropy of the tissue in the z direction. Then, a simple thresholding of the graylevel was performed. Since the signal was much lower in peripheral regions than in the core region it was accentuated by using the 3D filter. After this thresholding-segmentation step, the smallest connected components were removed. Finally a convex-hull algorithm using the 3D mesh voxelizer program binvox

(<http://www.patrickmin.com/binvox/>) was used to delineate the core region inside which the lobule segmentation was to be performed.

In order to objectively identify the organization of the 3D lobules, we designed a specific work-flow consisting of the eight steps outlined in Figure 1

a) The stitching was performed with free software <sup>32,34</sup> with a 10% overlap between the adjacent volume of the mosaic and based upon maximum correlation. A pyramid of images with three hierarchical levels was also created so as to save memory allocation in some parts of the work-flow.

b) This step was decomposed into b1 and b2. In b1) the filtering step was adapted. Because of the large heterogeneity of the image texture within each lobule (see Figure 1a) which, in many cases, is as large as the amplitude of the background noise, there was a need to find an adapted filter which, on one the hand, would smooth graylevels inside the lobules, while, on the other hand, preserving or even improving the contrast at their edges, so as to help their further segmentation. For these reasons, step b1) is crucial, with the additional requirement that image inhomogeneity associated with the background illumination is dealt with. Various methods such as variational or level-set methods and texture filtering could have been used in this first step <sup>35</sup>. We used an adapted Kuwahara texture filter, which allowed local edges to be preserved in the smoothing of lobules <sup>36,37</sup>. For each pixel, this approach considers a current cubic window of size  $L = L_x \times L_y \times L_z$ , centred on the current voxel. This window is composed of  $N_x \times N_y \times N_z$  sub-windows, of size  $S_x \times S_y \times S_z$  (in voxels). On each sub-window, the average grayscale texture is computed and then the central voxel is set to the value of the median of all means. For algorithmic optimality, when performing the computation in one pixel, the benefit of the previous computations is kept for its neighbour. Thus only the contribution of each new surface within each cubic-window is evaluated, whilst disregarding the contribution of lost surfaces, as is usual in sliding window methods. The algorithmic cost is thus  $O(N_x N_y N_z L^3)$

with  $N_x$ ,  $N_y$  and  $N_z$  corresponding to the image dimensions in the x, y, and z directions. Varying the size of the window, the number of sub-windows and their sizes showed that  $N_x \times N_y \times N_z = 3 \times 3 \times 1$ ,  $S_x \times S_y \times S_z = 3 \times 3 \times 3$ , so  $L = L_x \times L_y \times L_z = 9 \times 9 \times 3$  gave the best results for edge preservations and graylevel smoothing within the lobules. In b2) the image was thresholded for further use in the work-flow. Various threshold values were tested.

c) A simple threshold was used in order to binarize the filtered lobules (Figure 1c).

d) Then the Euclidean distance map to the binarized lobules was computed so as to be able to separate the various entities by a simple thresholding on the distance map (Figure 1d1). This procedure is similar to a mathematical morphology closure but permits elongated throats and bridges to be cut while preserving the shape of the lobules. Step 1d2) is the computation of the gradient of the thresholded lobules using the classical Sobel method.

e) We proceeded with the thresholding of the distance map, cleaning the smallest islands labelling the connected components and evaluating each connected component barycentre, to be used as a seed in step f).

f) Seeding step.

g) Finally, we combined the seeding step (f) with identified non-overlapping territories for each lobule and the gradient step (d2) Each connected component was associated with a colour-coded representation of the label.

h) A simple thresholding of the original grayscale image (b2) which was then multiplied (pointwise multiplication) by the watershed mask (g), was used to illustrate the quality of the labelling in Figure 1h. In this figure, it can be seen that very small imperfections in the frontier of watershed domains can result in small multi-coloured sets of points at lobule edges. A final correction step to eliminate residual over-segmented watershed regions was performed using a graph merging procedure. Each segmented region was described as the node of a graph, and was connected with other nodes when

the watershed regions were neighbours. The edges of the resulting graph were weighted by the number of neighbouring pixels normalized by the average surface of the two lobules

in contact (  $\frac{S_{contact}^{i,j}}{(S_i+S_j)/2}$  for two lobules having labels i and j). The graph-merging procedure

consisted of merging two edges when their edge weight was larger than a threshold. This threshold was selected as a quartile of all edge weights. The result is illustrated Figure 1i where the small isolated red watershed region inside the blue region visible in Figure 1h has been merged. Similar ideas of merging areas by a graph representation have already been used in various contexts (<sup>38,39</sup>). The final result of the lobule segmentation seems to be improved by this last step, the main interest of which is to eliminate over-connected segmented lobules. The gradient procedure that defines the walls for the watershed might still have some “holes” separating entities that would not be disconnected otherwise.

In the following table, we provide the list of parameters adjusted for the four segmentations (3 with autofluorescence signal and one with lectin signal):

Work-flow step	Inguinal fat pad n°1	Inguinal fat pad n°2	Inguinal fat pad n°3
SLA mean-filter (x, y, z)	35x35x15	35x35x20	50x35x15
B2 (threshold)	100	90	70
B1 (Kuwahara-like mask) number of windows (x, y, z) size of window (x, y, z)	3x3x1 3x3x3	3x3x1 3x3x3	3x3x1 3x3x3
C (threshold)	50	120	70
C (fill holes)	400	200	125
E (threshold)	70	100	50
F (size of smallest connected components removed)	2500	2500	1500
I (percentage of merged lobules)	80%	90%	80%



### **Supplementary table S1: Parameters of the segmentation workflow.**

Let us finally discuss the limitation of the study associated with the lobule segmentation procedure. It must be pointed out that, since several arbitrary parameters (such as the binary thresholds) were used through the work-flow, the results might be different if other parameters were chosen. Due to the lack of benchmark and/or ground truth for segmented lobules, image analysis validation used an expert's visual segmentation. Another limitation of the method concerns the previously described border artefacts of the watershed, which are generic. Since the segmented structures are complex and heterogeneous, the watershed can over-connect some of them, which will thus not stop at the precise frontier of the "real" lobule. The segmentation of the "core-region", the filtering, and the graph merging were implemented to reduce the spread of the watershed, but some artefacts might still persist, resulting in spurious, hopefully limited, very small subunits.

	inguinal fat pad n°1	inguinal fat pad n°2	inguinal fat pad n°3	Mean $\pm$ SEM
Fat pad volume (mm <sup>3</sup> )	38,58	95,89	145,54	93,34 $\pm$ 30,94
NSLA volume (mm <sup>3</sup> )	31	79,55	110,97	73,48 $\pm$ 23,29
SLA volume (mm <sup>3</sup> )	7,58	16,34	34,57	19,50 $\pm$ 7,96
ratio SLA/fat pad volume (%)	19,6	17	23,8	20,1 $\pm$ 1,9
number of segmented subunits	20	15	21	
min volume of subunits (mm <sup>3</sup> )	0,038	0,042	0,093	
max volume of subunits (mm <sup>3</sup> )	1,052	3,825	8,196	
mean volume of subunits (mm <sup>3</sup> )	0,361 $\pm$ 0,28	1,021 $\pm$ 1,11	1,57 $\pm$ 1,78	

Figure 1

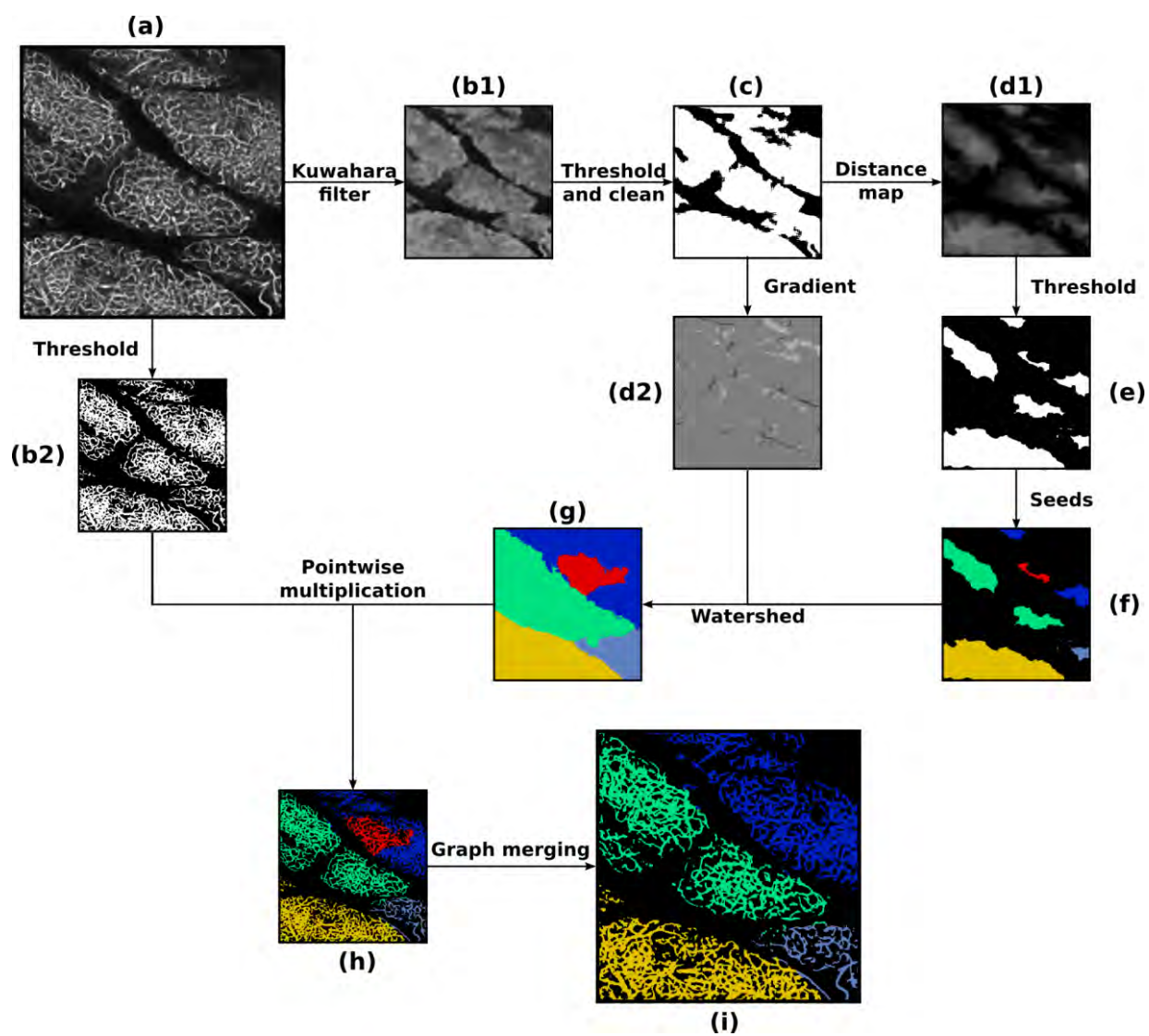


Figure 2

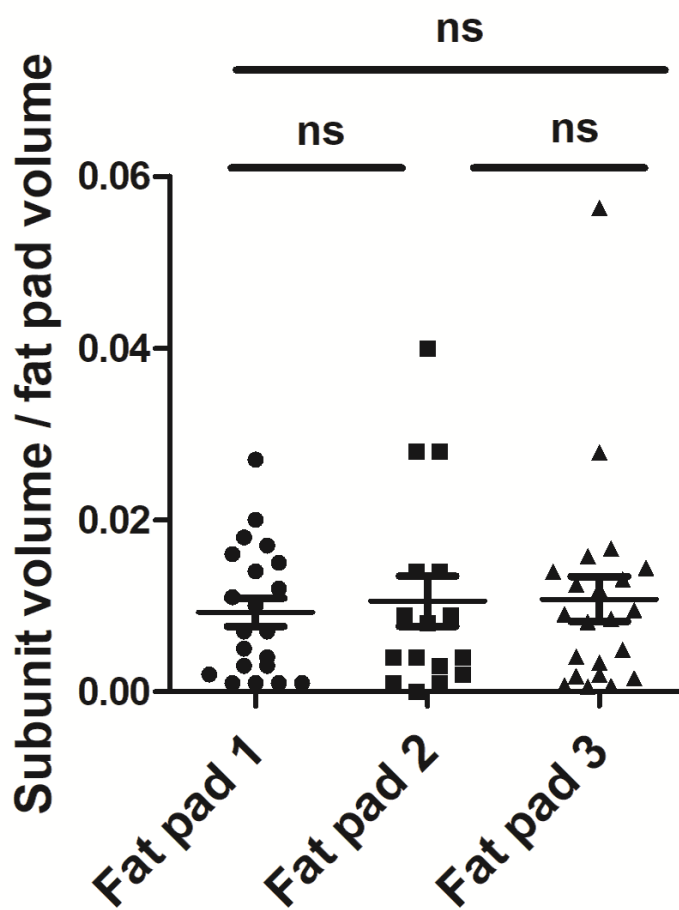


Figure 3

Dichamp J. *et al.*

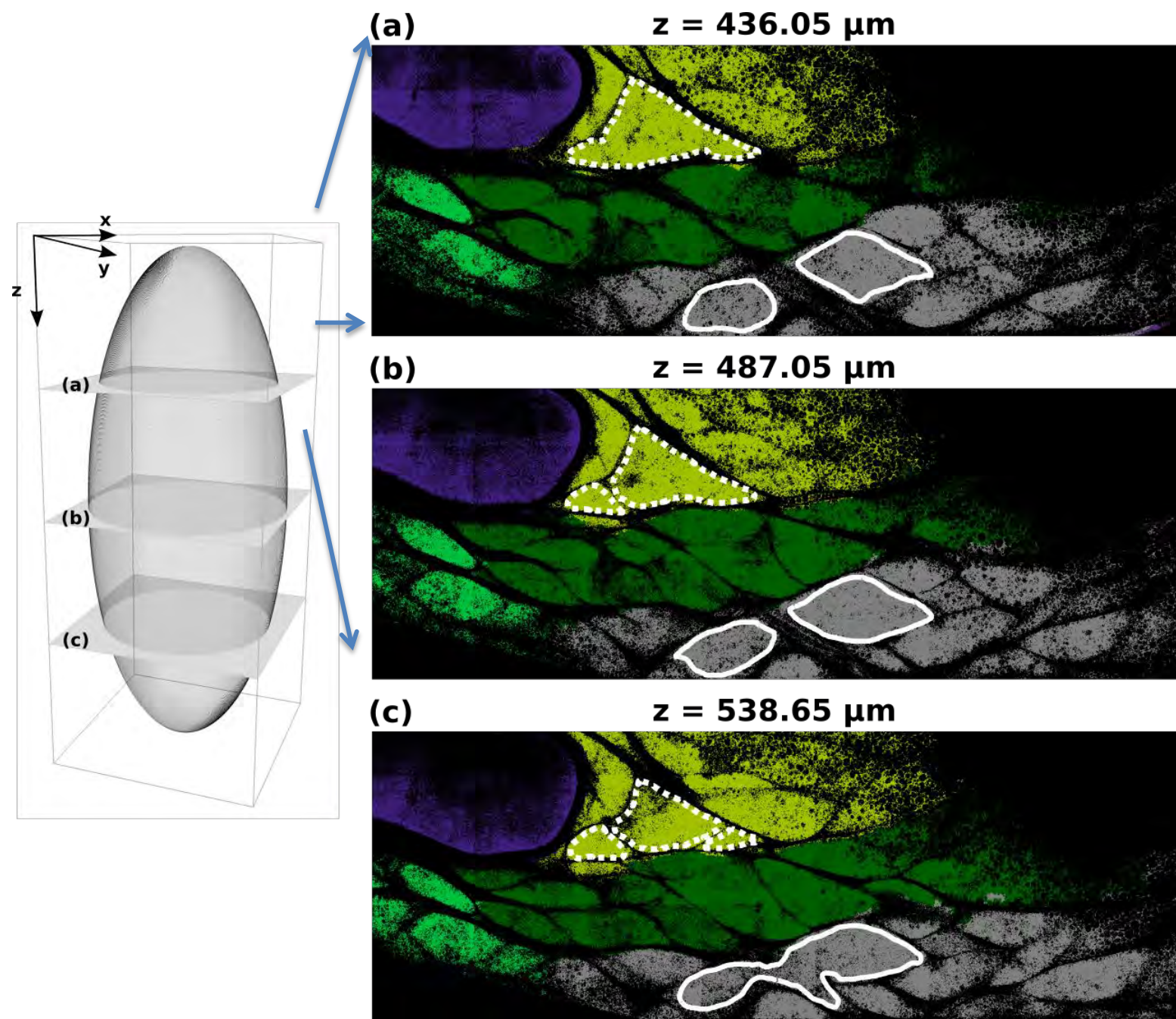
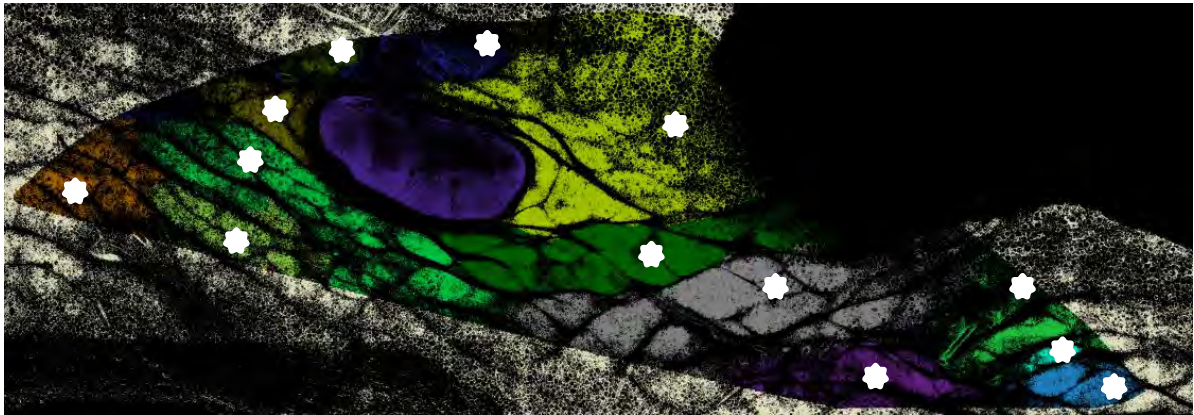


Figure 4

Dichamp J. *et al.*

A.



B.

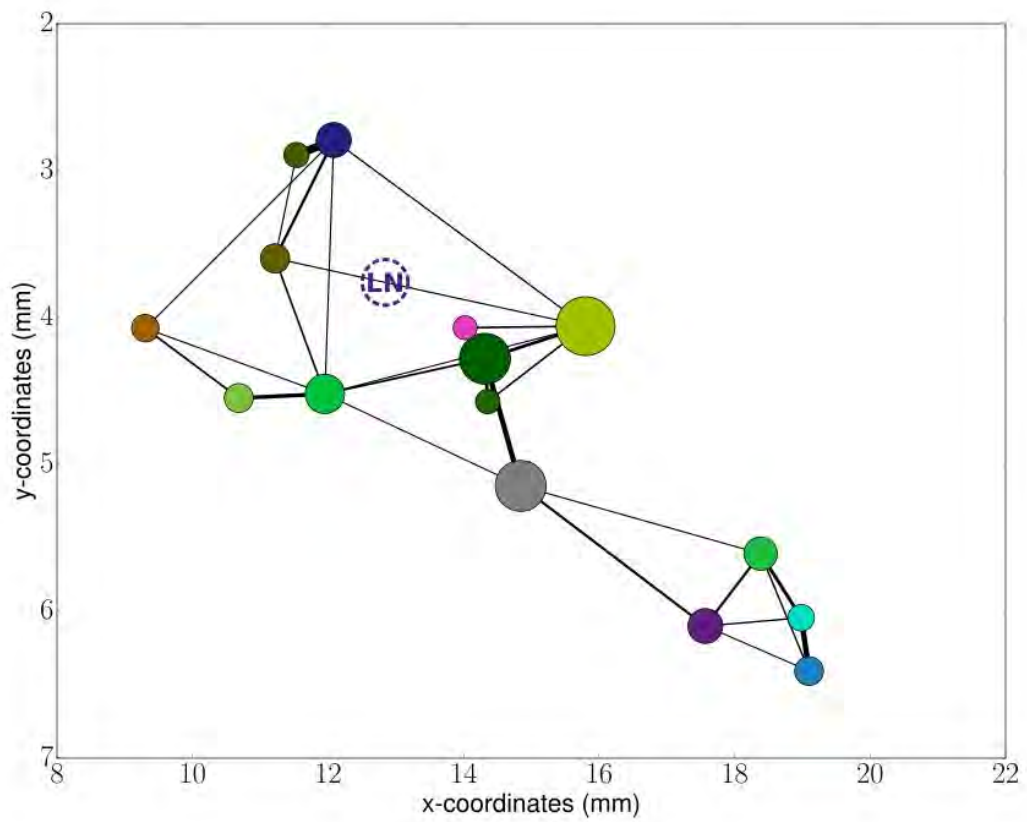


Figure 5

Dichamp J. *et al.*

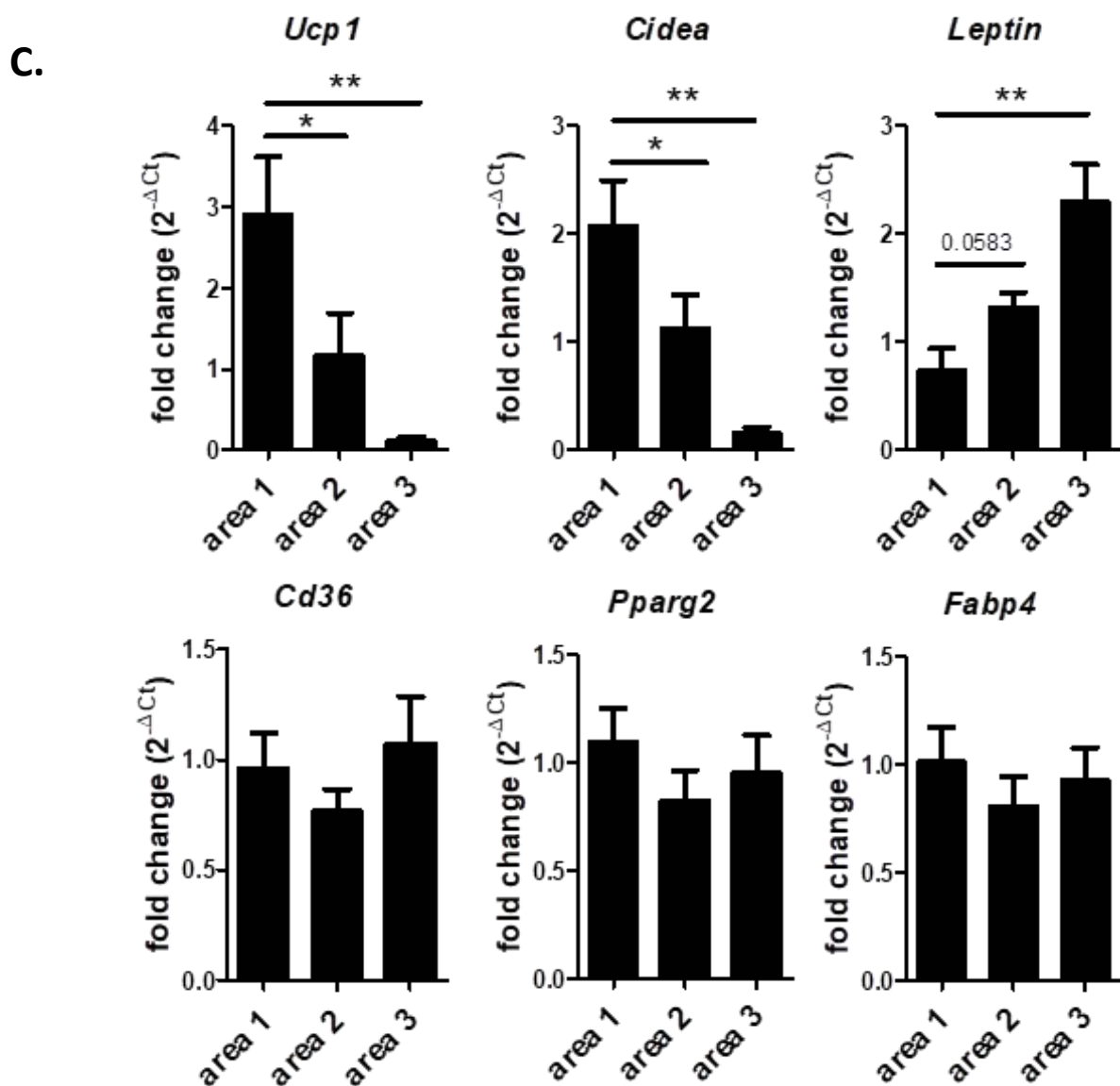
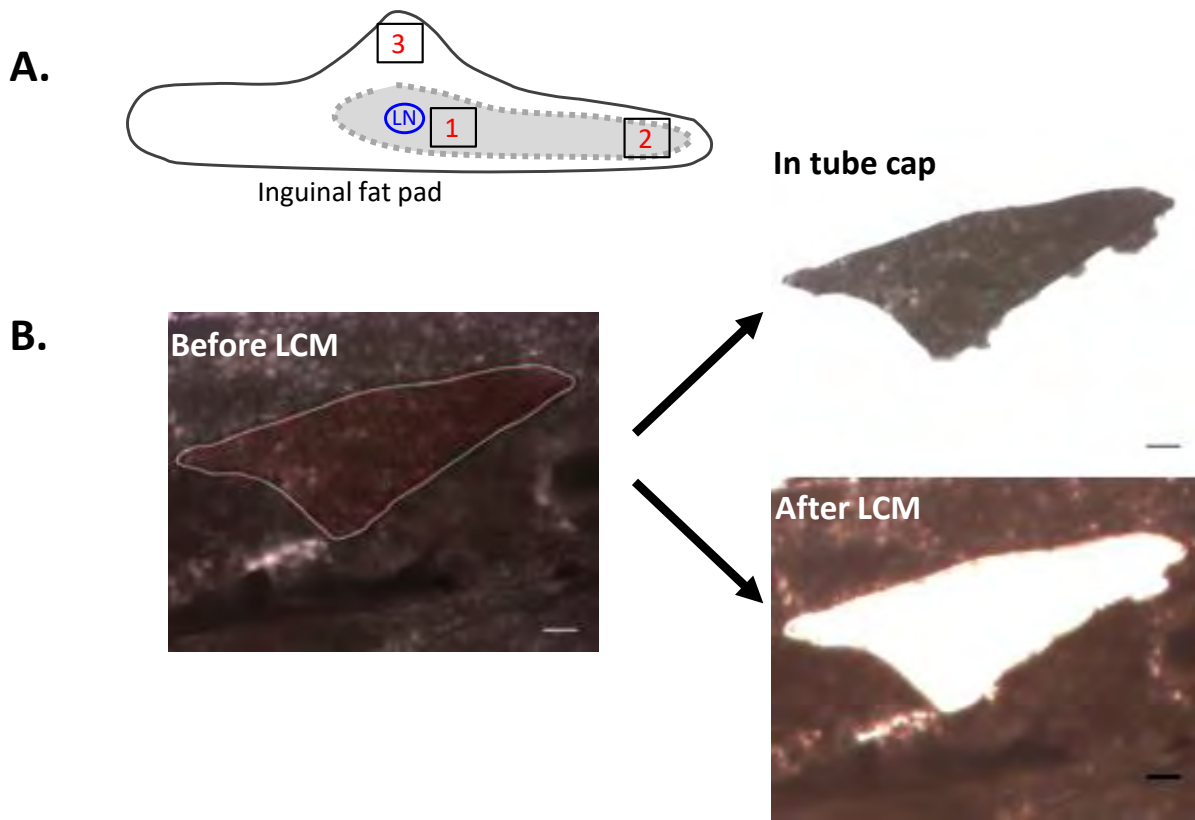
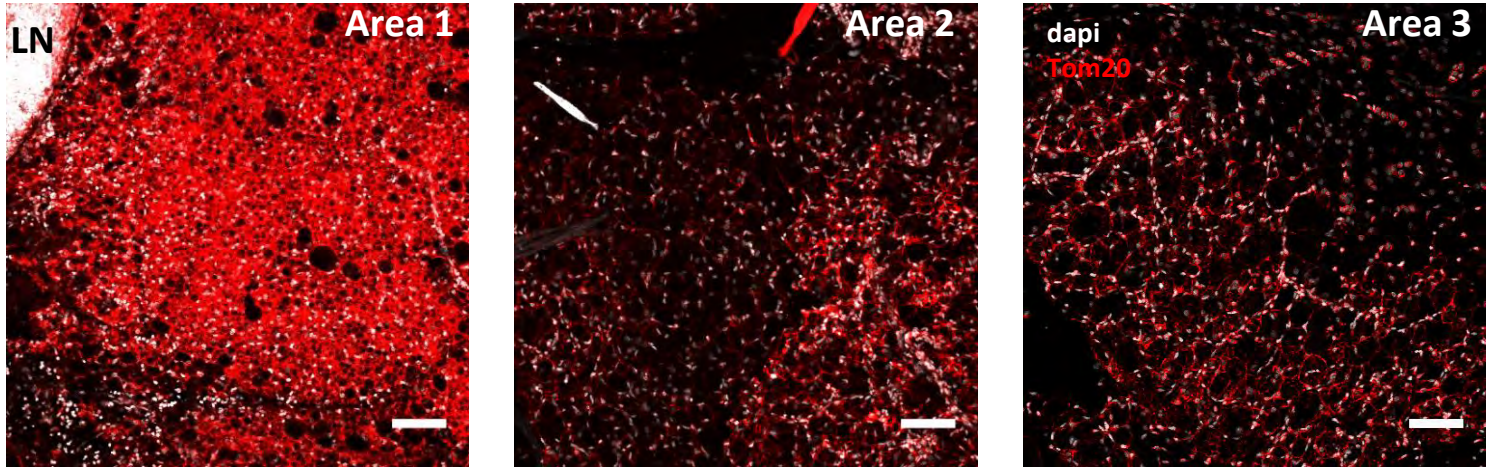


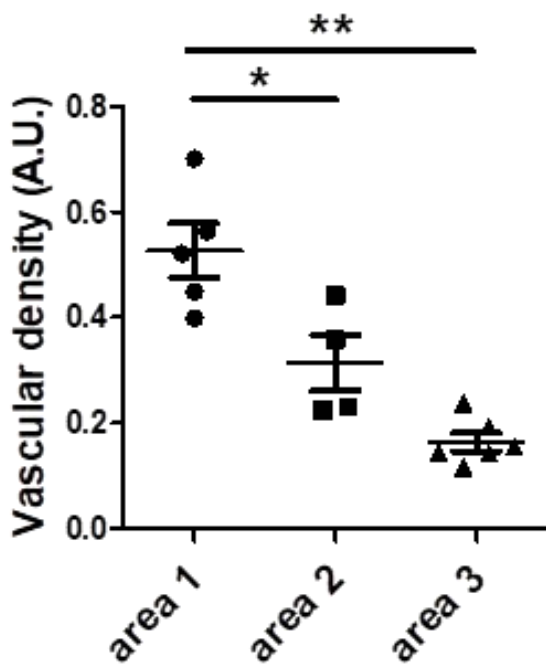
Figure 6

Dichamp J. *et al.*

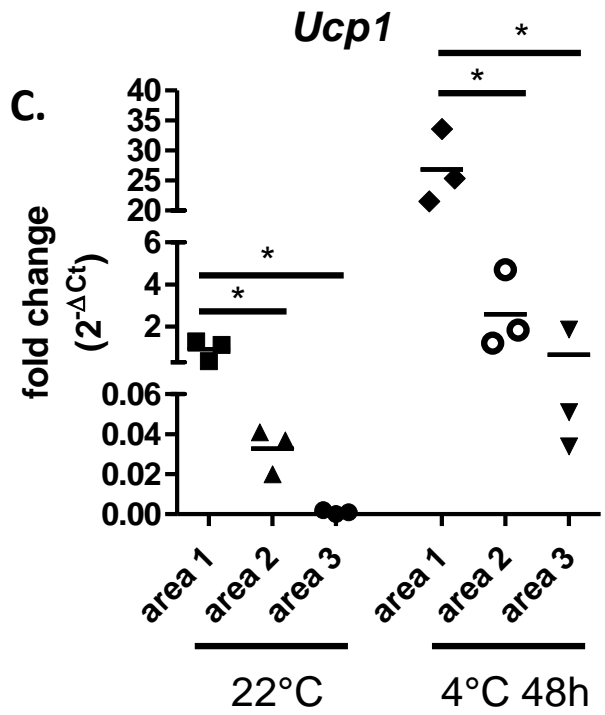
A.



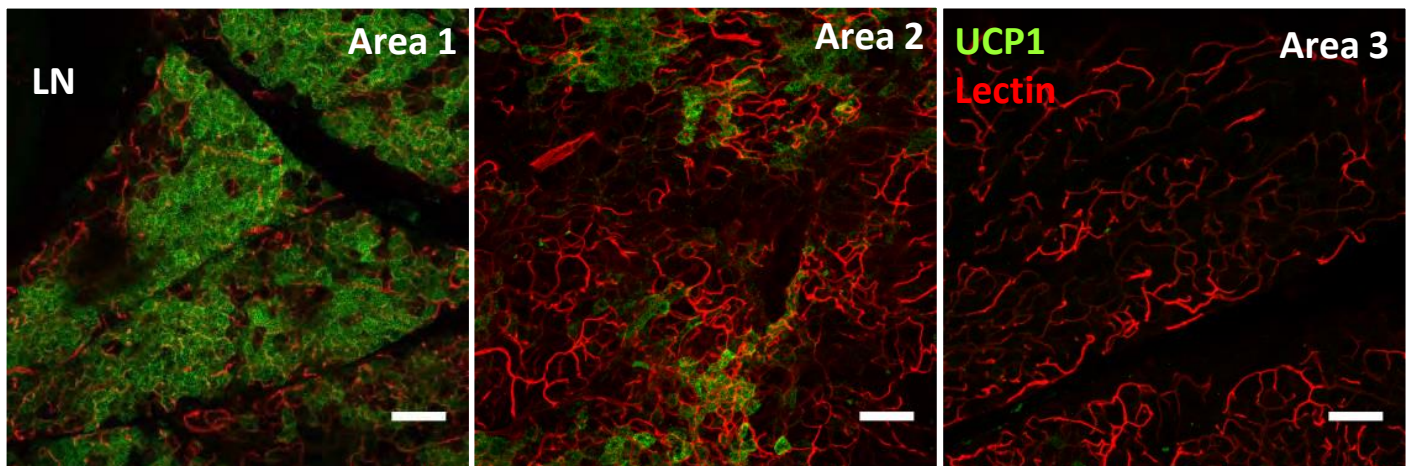
B.



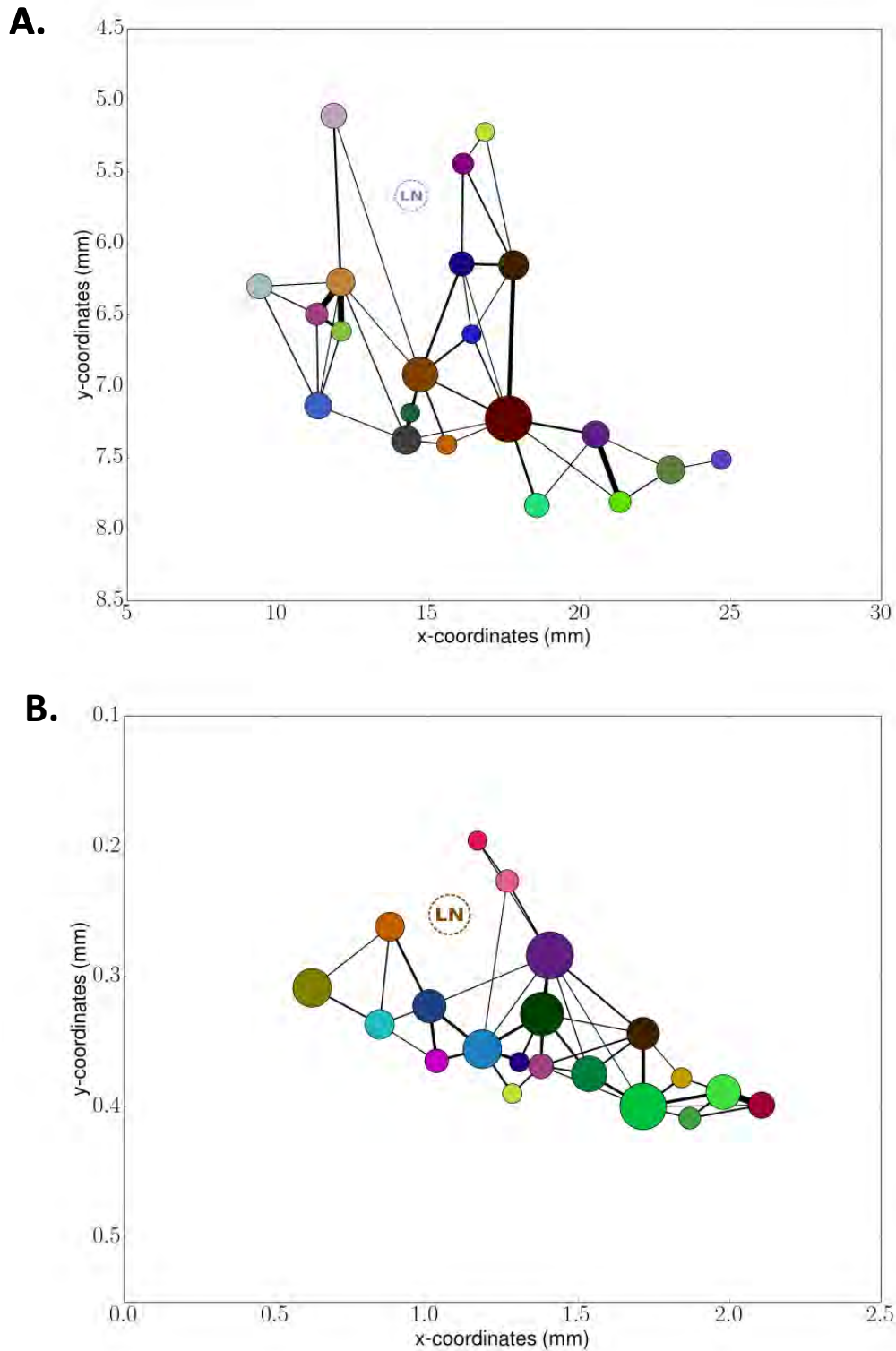
C.



D.

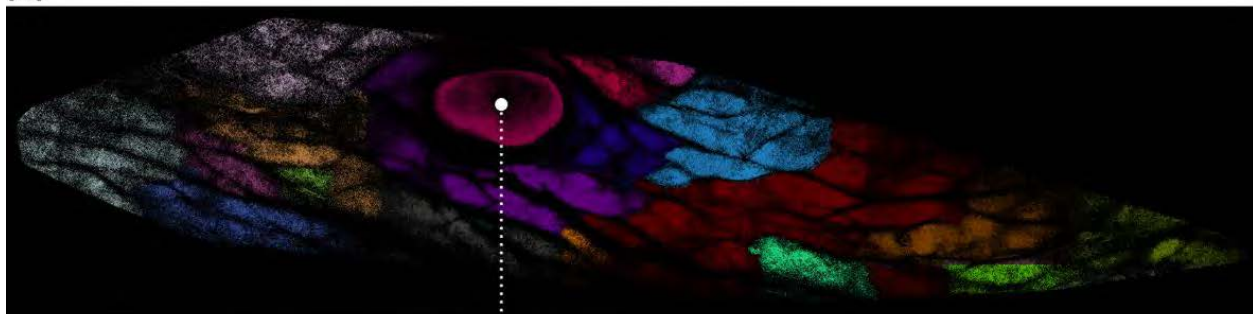




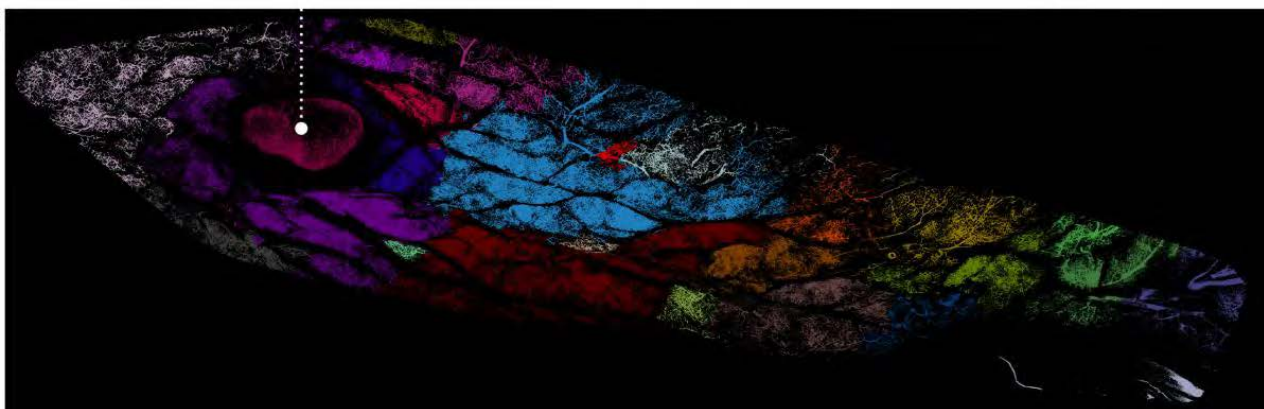


**Supplementary figure 1: Graph representation of the polylobular subunits (PLS) location, connection and size in the segmented zone for the samples n°3 (A) and n°1 (B).** The (x,y) coordinates stands for the position on a slice . The position of the nodes of the graph, i.e the center of each circle, is those of the barycenter of the PLS. The circle radius is proportional to the volume of the PLS. The links between two nodes are computed as the ratio of the contact surface between two PLS over their mean total surface. Thus, the larger the links is, the stronger the connection between two PLS is. Circles in dotted lines represent the lymph node.

A. (a)

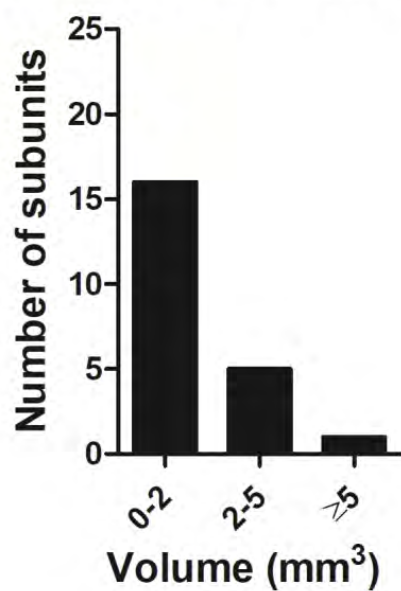


(b)

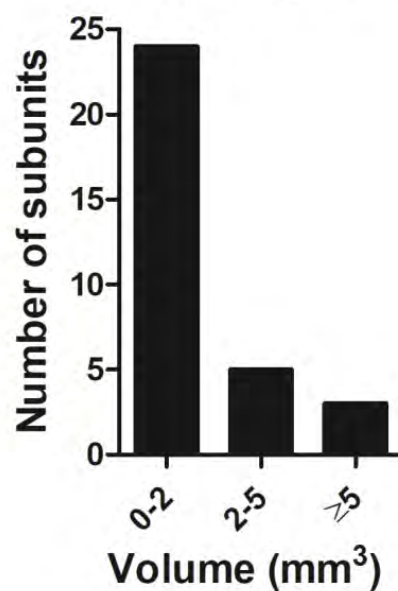


B.

Autofluorescence signal



Lectin signal



# Chapitre 3

## Écoulements sanguins dans le tissu adipeux

### 3.1 Écoulements sanguins micro-vasculaires

Dans cette partie nous nous intéressons à décrire les différents effets physiques et mécaniques les plus significatifs associés au contexte de la micro-circulation sanguine, afin d'apporter quelques éléments bibliographiques au lecteur non-spécialiste. Nous allons dans un premier temps aborder les approches de modélisation à différentes échelles (sous-section 3.1.1), puis dans un second temps nous détaillerons les différents effets hydrodynamiques qui résultent de la nature granulaire du sang qui se produisent à l'échelle de la micro-circulation et qui fondent l'approche numérique développée par la suite : effet Fåhræus (sous-section 3.1.2), effet Fåhræus-Lindqvist (sous-section 3.1.3), séparation de phase (sous-section 3.1.4). Nous terminerons par un résumé des hypothèses employées dans la modélisation des écoulements micro-vasculaires (sous-section 3.1.5)

#### 3.1.1 Rhéologie du sang et modélisation

Les capillaires sanguins possèdent un diamètre comparable aux plus petites dimensions d'un globule rouge (environ de 6 – 8 $\mu\text{m}$  [POPEL et JOHNSON \[2005\]](#)). Ainsi, une grande part des effets physiques présents dans la micro-circulation vont être directement dépendants de la nature 'granulaire' (ou discrète) du sang dont 99% des cellules sont des globules rouges. Cependant, eu égard à l'extrême complexité des écoulements tissulaires, il est important de se rendre compte de la difficulté à modéliser la perfusion à l'échelle de chaque cellule autour de laquelle les interactions hydrodynamiques couplées (entre cellules et avec les parois des vaisseaux) sont finement résolues. De nombreux travaux utilisent des modèles 3D pour décrire à la fois la dynamique des globules rouges et le couplage avec le fluide [FREUND et ORESCANIN \[2011\]](#); [MCWHIRTER et collab. \[2009\]](#) dans des configurations simplifiées. Des modèles 2D arrivent également à reproduire qualitativement la déformation des globules rouges [SECOMB et collab. \[2007\]](#); [SUN et MUNN \[2005\]](#) mais sont limités par nature, puisque les configurations réelles sont intrinsèquement 3D. Sans entrer dans les détails de la modélisation, il faut comprendre que la prise en compte des cellules individuelles sanguines dans la modélisation produit des difficultés très importantes car il faut alors traiter le problème de l'interaction entre le fluide plasmatique et la mécanique de déformation de la membrane (ce que l'on appelle un problème d'interaction fluide-structure). Certains auteurs se contentent parfois de résoudre l'écoulement plasmatique à l'échelle continue mais résolvent à l'échelle individuelle la dynamique des globules rouges

(BARBER et collab. [2008]). Ces modèles permettent de reproduire, qualitativement et quantitativement, certains effets qu'on détaillera par la suite comme par exemple la présence d'une couche plasmotique au bord des vaisseaux FEDOSOV et collab. [2010]. Les réseaux vasculaires considérés par ce type d'approche ne dépassent pas la dizaine de vaisseaux et demandent déjà des ressources en calcul très importantes, bien que la pertinence de ce dernier point tende à diminuer avec le progrès de la parallélisation des codes dédiés et des super calculateurs GOMPPER et FEDOSOV [2015].

Un premier obstacle à la modélisation dans des réseaux vasculaires comprenant des centaines de milliers de vaisseaux est donc la contrainte numérique : de telles approches détaillées à l'échelle individuelle des cellules n'étant pas encore possibles à mettre en œuvre. Cependant, même si elles étaient possibles, il est important de comprendre que cela ne résoudrait pas un second obstacle à la modélisation : la mauvaise connaissance des paramètres et leur extrême variabilité biologique, difficulté majeure et inhérente à toute modélisation biologique (propriétés élastiques, viscosité intérieure, volume de la cellule, forces de contacts FREUND [2014]). Les modèles peuvent se révéler sensibles à ces paramètres, comme plusieurs auteurs l'ont montré FREUND [2014]; KOUMOUSAKOS [2005]. Une approche Bayésienne a été proposée, dans le cas de simulations par Dissipative Particles Dynamics (DPD) pour évaluer l'erreur commise sur ces paramètres ECONOMIDES et collab. [2017]; HADJIDOUKAS et collab. [2015]. Ainsi, si on souhaite considérer, comme c'est notre cas ici, la circulation sanguine dans un réseau plus proche de la réalité biologique, c'est-à-dire de plusieurs centaines de vaisseaux jusqu'à un organe entier, il paraît impossible, aujourd'hui, de rester à une échelle discrète pour la modélisation. On va donc faire intervenir une description continue du sang en passant par la fraction volumique de globule rouge. Au vu des travaux précédemment décrits, cette approche pourrait sembler grossière, mais nous verrons qu'il est possible de prendre en compte la nature multiphasique du sang à l'aide de relations et modèles empiriques sur les effets physiques qui en découlent à l'échelle continue. Plus précisément, nous verrons que la nature granulaire du sang produit des effets dynamiques dont on peut rendre compte avec une approche par milieu continu.

De telles approches que l'on nomme '0D' puisqu'elles intègrent les propriétés effectives du sang au sein de chaque vaisseau, ont aussi été beaucoup utilisées dans le cadre de la modélisation micro-vasculaire PRIES et collab. [1990]; REICHHOLD et collab. [2009]. On peut aussi les enrichir au travers de la prise en compte de la structure locale des vaisseaux en intégrant les propriétés rhéologiques le long de la ligne centrale des vaisseaux (en tenant compte de la variation des diamètres GUIBERT et collab. [2010b] que l'on appelle des modèles '1D-0D'. Enfin, certains auteurs utilisent aussi une approche d'enrichissement des modèles '0D' vers des modèles '1D' en prenant en compte le déplacement de cellules (supposées rigides) au sein des vaisseaux, en adaptant localement les paramètres des modèles SCHMID et collab. [2015].

On supposera donc dans la suite que le sang est un fluide composé de particules en suspensions décrites par une quantité continue de fraction volumique de globules rouges, que l'on appelle aussi hématoците, et que l'on notera  $\theta$  par la suite. Du fait du fort rapport d'aspect des vaisseaux RISSER et collab. [2009] ( $R/L \approx 1/10$  avec  $R$  le rayon du vaisseau et  $L$  la longueur du tube) et du faible nombre de Reynolds, on se place dans le cadre des hypothèses simplificatrices de lubrification GUIBERT et collab. [2010b]; LEAL [1992]; POP et collab. [2007], ce qui donne l'équation constitutive suivante pour chaque vaisseau :

$$\frac{\partial u(r, t)}{\partial t} = -\frac{1}{\rho_0} \frac{\partial p}{\partial z} + \nu_0 \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left( r \frac{\partial u}{\partial r} \right) \quad (3.1)$$

Où  $\rho_0$  est la densité du fluide et  $\nu_0 = \frac{\mu_0}{\rho_0}$  la viscosité cinématique. À laquelle s'ajoute la condition d'incompressibilité

$$\operatorname{div} \mathbf{u} = 0 \quad (3.2)$$

En réalisant les adimensionnements suivants :

$$\begin{aligned} r &= r^* \cdot R \\ z &= z^* \cdot L \\ u &= u^* \cdot \frac{R^2}{LT} \\ t &= t^* \cdot T \\ p &= p^* \cdot \frac{\mu_0}{T} \end{aligned} \quad (3.3)$$

On obtient alors l'équation faisant apparaître le nombre de Womersley  $W = \frac{R}{\sqrt{\nu_0 T}}$  qui caractérise le rapport entre un temps caractéristique de forçage divisé par le temps de relaxation visqueuse  $t_v = \frac{R^2}{\nu}$ .

$$W^2 \frac{\partial u^*}{\partial t^*} = \frac{\partial p^*}{\partial z^*} + \frac{1}{r^*} \frac{\partial}{\partial r^*} \left( r^* \frac{\partial u^*}{\partial r^*} \right) \quad (3.4)$$

Ce nombre est très petit dans le cadre de la micro-circulation. En effet, l'influence de la fréquence cardiaque par le cœur se produit à une échelle de temps de l'ordre de  $T = 1 - 10s$  [KLEINFELD et collab. \[1998\]](#). De plus les temps caractéristiques de régulation vasculaire (par vasodilatation ou vasoconstriction) sont aussi lents, de l'ordre de  $T = 3 - 10s$  [DEVOR et collab. \[2008\]](#). Comparé au diamètre moyen des vaisseaux capillaires que l'on peut considérer de l'ordre de dix microns dans lesquels la diffusion visqueuse est rapide de l'ordre de  $t_v \sim 10^{-4}s$ , on obtient des nombres de Womersley de l'ordre de  $10^{-1}$  à  $10^{-2}$ , soit un pré-facteur de l'ordre de  $10^{-2}$  à  $10^{-4}$  devant la dérivée en temps dans l'équation 3.4.

On peut donc se ramener à une équation de Poiseuille (en revenant aux variables dimensionnelles) où la variation de pression le long de la ligne centrale du vaisseau dépend de la résistance hydraulique  $R_{hy}$  de ce dernier ainsi que du débit.

$$-\frac{\partial p}{\partial z} = R_{hy}(z)Q = \frac{\pi}{128} \frac{\mu(s)}{D^4(z)} Q \quad (3.5)$$

Il est important de noter que, dans cette approche, on néglige également les effets de Stokes aux bifurcations. En effet dans le voisinage des bifurcations, des effets géométriques 3D se produisent, qui modifient le champ de vitesse sur une échelle de l'ordre de quelques diamètres dans chaque segment vasculaire. Ces effets locaux, intégrés le long de chaque segment vasculaires, produisent une correction de l'ordre de  $R/L$  sur l'estimation de la perte de pression, c'est pourquoi on peut les négliger [GUIBERT et collab. \[2010a\]](#).

### 3.1.2 Effet Fåhræus

Nous allons à présent nous attacher à décrire les effets hydrodynamiques spécifiques de la micro-circulation sanguine. Nous allons décrire d'une part, les mécanismes à l'échelle de la cellule qui produisent cet effet et d'autre part, les modèles empiriques permettant d'en rendre compte à l'échelle continue. Le premier effet notable est l'effet Fåhæus, découvert en 1929 [FÅHRAEUS \[1929\]](#), qui consiste essentiellement en une diminution de l'hématocrite de tube  $H_T$  par rapport à l'hématocrite systémique, en sortie du tube  $H_D$ . On définit l'hématocrite de tube comme la fraction volumique de globules rouges dans

une section du tube et l'hématocrite systémique comme la fraction volumique de globules rouges sortant du tube par unité de temps :

$$H_T(z, t) = \frac{2\pi}{R^2} \int_0^R \theta(r, z, t) v(r) r dr \quad (3.6)$$

et

$$H_D(z, t) = \frac{2\pi}{Q} \int_0^R \theta(r, z, t) r dr \quad (3.7)$$

avec  $r$  et  $z$  les directions respectivement radiales et longitudinales du vaisseau,  $R$  le rayon du tube considéré,  $v$  la vitesse du sang et  $Q = 2\pi \int_0^R v(r) r dr$  le débit volumique du sang.

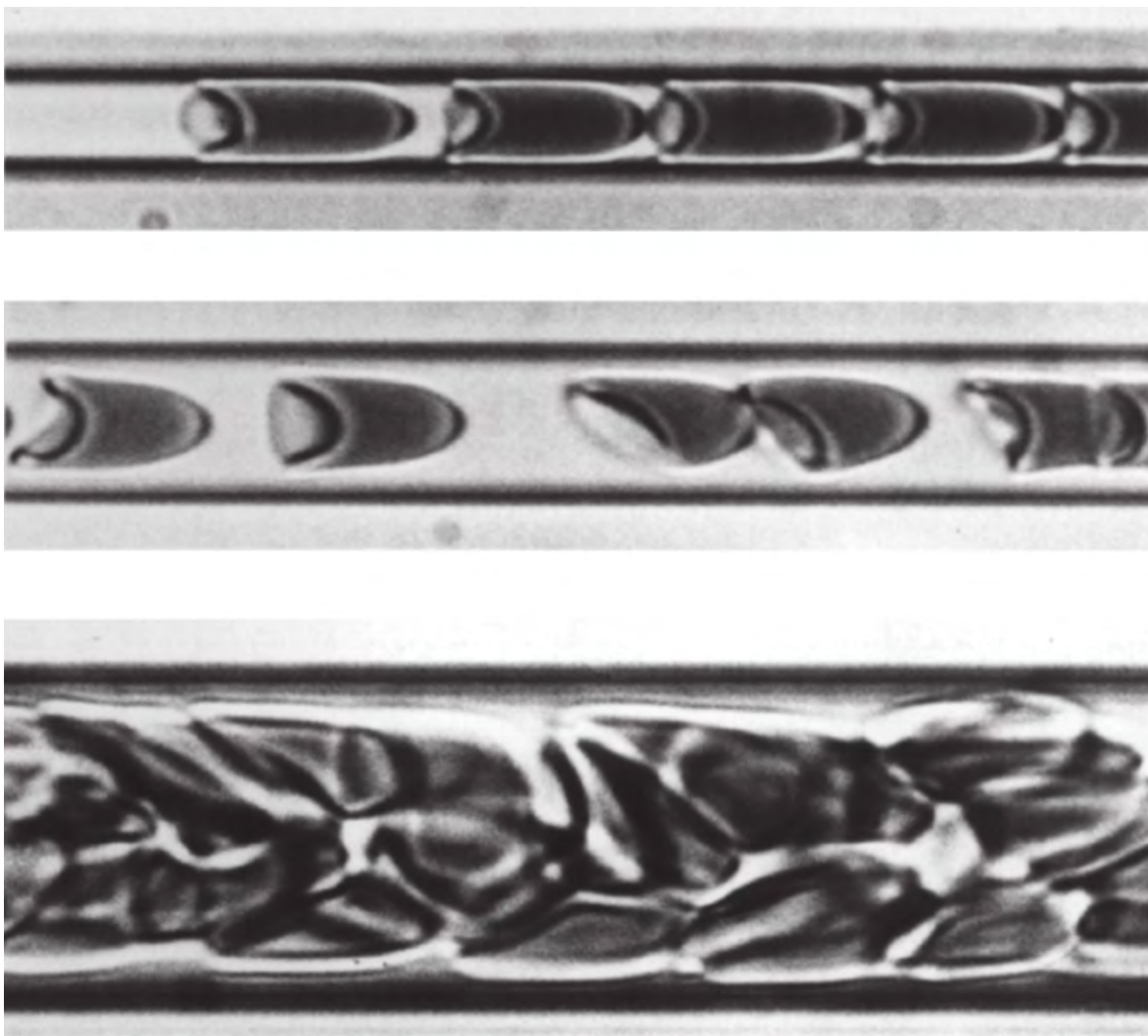


Figure 3.1 – Effet Fåhræus *in vitro* (sang humain) dans des tubes de 4, 7 et 17 µm de diamètres. Le sang s'écoule de gauche à droite. Extrait de **TUMA et collab.** [2002]

Cet effet, vérifié d'abord *in vitro* **FÅHRÆUS** [1929] (voir Figure 3.1) puis *in vivo* **LIPOWSKY et collab.** [1980] (voir Figure 3.2) provient du fait que les globules rouges se déplacent en moyenne plus rapidement que le plasma dans lequel ils sont plongés car s'alignant sur la ligne centrale du tube. Ainsi, une couche de quelques micromètres sur le bord du vaisseau ne contient quasiment aucun globule rouge. Il est à noter que l'épaisseur de cette couche

plasmatique est dépendante du taux de cisaillement dans l'écoulement **KATANOV et collab. [2015]**.

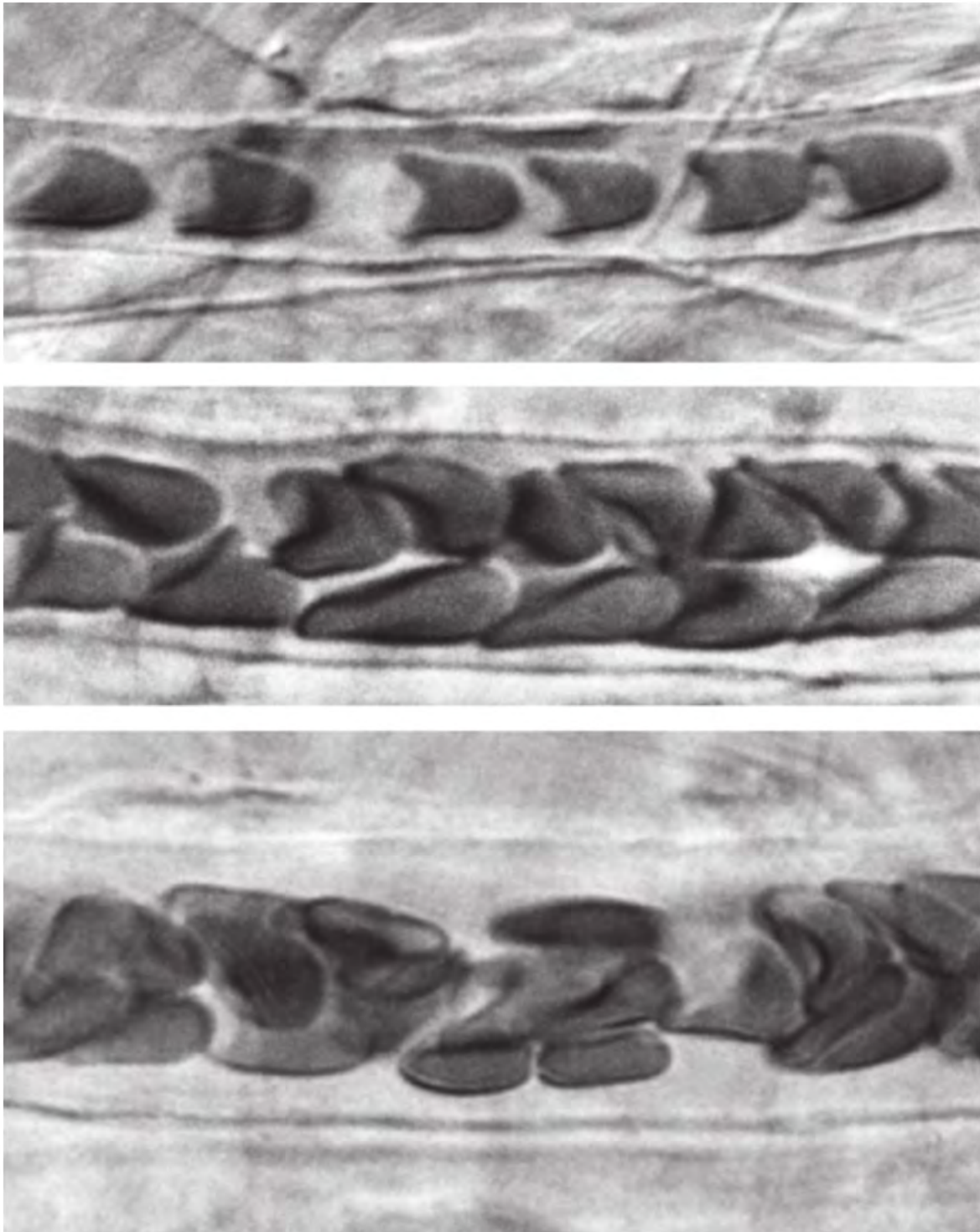


Figure 3.2 – Effet Fåhræus *in vivo* dans le mésentère du rat pour des vaisseaux de 7, 12 et 16  $\mu\text{m}$  de diamètres .Le sang s'écoule de gauche à droite. Extrait de **TUMA et collab. [2002]**

Plusieurs effets expliquent cette migration vers le centre du tube à savoir : la margination des particules (autres que les globules rouges) vers les parois, la diffusion induite par les collisions entre les particules et une force de décollement qui provient des interactions hydrodynamiques des globules rouges avec les parois du vaisseau et qui les conduisent à s'aligner sur la ligne centrale du vaisseau. La margination des particules s'explique en

partie par les collisions entre les globules rouges et les autres particules. KUMAR et GRAHAM [2011, 2012a,b] ont montré que la tendance des particules à 'marginer' provient de leur nature plus ou moins rigide. En particulier, les déplacements moyens les plus importants des particules proviennent des collisions entre particules rigides et molles. Autrement dit, dans le cas du sang, ce sont les collisions des globules rouges avec les globules blancs et les plaquettes qui vont déplacer ces deux dernières vers les parois. Il est intéressant de noter que dans un contexte pathologique comme la malaria ou la drépanocytose qui implique respectivement une augmentation de la rigidité de la membrane et une forme en "faucille", ces cellules infectées vont avoir plus tendance à se retrouver proche de la paroi HOU et collab. [2010]. La force de portance ou lift-force décrite précédemment a été étudiée dans le cas de vésicules où il a été montré que leur décollement de la paroi est lié à une contrainte de cisaillement critique et à un effet purement visqueux CANTAT et MISBAH [1999]; COUPIER et collab. [2008]. Plus récemment, des expériences en micro-gravité ont confirmé l'existence et quantifié l'intensité de cette force sur des globules rouges GRAND-CHAMP et collab. [2013]. L'effet Fåhreaus a des conséquences importantes immédiates en ce qui concerne la séparation de phase, c'est-à-dire la répartition des globules rouges à une bifurcation de la branche mère vers les branches filles. En effet, l'accumulation des globules rouges sur la ligne centrale du vaisseau implique potentiellement que pour des bifurcations avec deux vaisseaux fils de diamètres différents, l'un reçoit moins, voire aucun globule rouge. L'intensité de cet effet a également une forte influence sur la résistance hydraulique de l'écoulement du sang KATANOV et collab. [2015]. D'un point de vue plus formel il a été montré la relation suivante entre l'hématocrite de tube, l'hématocrite systémique, la vitesse moyenne des globules rouges  $V_{rbc}$  et la vitesse moyenne du fluide  $V_{bulk}$  SUTERA et collab. [1970]:

$$\frac{H_T}{H_D} = V_{bulk}/V_{rbc} \quad (3.8)$$

Ainsi l'effet Fåhreaus se traduit par la relation suivante :  $V_{bulk} < V_{rbc}$ . Une estimation empirique de ce ratio a par ailleurs été obtenue *in vitro* suite à une série de mesures expérimentales PRIES et collab. [1992] :

$$\frac{H_T}{H_D} = H_D + (1 - H_D) \cdot (1 + 1.7e^{-0.35D} - 0.6e^{-0.01D}) \quad (3.9)$$

Cette relation implique que le ratio hématocrite de tube sur hématocrite systémique est proche de 1 pour des vaisseaux de diamètres inférieurs à 3 micromètres et tend vers 1 pour des plus grands diamètres. Le minimum est atteint pour un diamètre de 13 micromètres.

### 3.1.3 Effet Fåhreaus-Lindqvist

Le second effet de l'hydrodynamique en micro-circulation est l'effet Fåhreaus-Lindqvist qui traduit le fait que la viscosité apparente  $\mu_{app}$  décroît avec le diamètre du vaisseau à partir d'un diamètre de 300 micromètres jusqu'à un diamètre d'environ 7 micromètres (*in vitro*) avant de croître brusquement. Ceci a d'abord été mis en évidence par FÅHRAEUS et LINDQVIST [1930] et a été étudié intensivement par la suite PRIES et collab. [1992, 1990]. Cet effet provient de la nature non-continue du sang et en particulier de l'effet Fåhreaus du fait de la présence d'une fine couche plasmatique précédemment évoquée sur le bord des vaisseaux. Cette dernière a une action lubrifiante et réduit l'influence des globules rouges sur la viscosité apparente tant qu'elle est significative par rapport au diamètre du vaisseau. Lorsque le diamètre diminue, la couche plasmatique s'amenuise et la région centrale



devient significative menant à une augmentation de la viscosité relative [GOLDSMITH et collab. \[1989\]](#); [SECOMB \[2016\]](#). Lorsque le diamètre des vaisseaux atteint environ  $7\mu\text{m}$  et plus bas, c'est-à-dire une taille comparable avec les dimensions des globules rouges, la couche plasmatique est réduite (voire inexistante) et la viscosité augmente de nouveau. On peut considérer que le sang se comporte comme un fluide bi-phasique de viscosités différentes [COKELET et GOLDSMITH \[1991\]](#) et des modèles simples basés sur cette idée permettent de reproduire dans une certaine mesure l'effet Fåhrus-Lindqvist (jusqu'à des diamètres de  $30\mu\text{m}$ ) [SECOMB \[2016\]](#). Notons qu'expérimentalement on mesure la viscosité apparente du sang à partir d'un différentiel de pression d'un bout à l'autre du vaisseau et de la loi de Poiseuille 3.5 modifiée de la manière suivante :

$$\mu_{app} = \frac{\pi}{128} \frac{\Delta p D^4}{LQ} \quad (3.10)$$

Ainsi, par définition, la viscosité apparente est la viscosité telle que le ratio entre le gradient de pression et le débit est constant. Basé sur des expériences dans des tubes *in vitro* [KIANI et HUDETZ \[1991\]](#) ont proposé un modèle empirique ainsi que [PRIES et collab. \[1992\]](#). Ce dernier étant basé sur une compilation exhaustive des données de la littérature. Les deux modèles prévoient des viscosités similaires pour des hémocrites systémiques faibles voire intermédiaire (*i.e*  $H_s \leq 0.6$ ), les différences apparaissant pour de plus grandes valeurs d'hématocrite. Les expériences *in vivo* [PRIES et collab. \[1994, 1997\]](#) ont montré par la suite un décalage significatif avec les mesures *in vitro*, comme illustré en Figure 3.3. Un modèle de viscosité empirique a été proposé en comparant des mesures *in vivo* à des résultats de simulations [PRIES et collab. \[1994\]](#). Plusieurs hypothèses ont alors été proposées pour expliquer cette différence : des variations locales du diamètre au sein des vaisseaux [KIM et collab. \[2007\]](#); [MAEDA et collab. \[1996\]](#), l'influence du réseau sur la répartition du sang dans un vaisseau après une bifurcation et enfin la présence d'une couche endothéliale sur le bord des vaisseaux [VINK et DULING \[1996\]](#). C'est cette dernière qui a vraisemblablement le plus d'effet sur la résistance du sang, puisqu'elle agit comme une réduction effective du diamètre du vaisseau (son épaisseur peut aller jusqu'à  $1.5\mu\text{m}$ ) [PRIES et collab. \[2000\]](#); [YEN et collab. \[2012\]](#).

[PRIES et SECOMB \[2005\]](#) ont alors proposé un modèle empirique calé de manière à minimiser l'écart aux mesures pour tenir compte de la variation de diamètre effectif résultant de cette surface. [GUIBERT et collab. \[2010b\]](#) ont montré qu'il s'agissait du modèle ayant le plus d'influence sur la distribution de la pression et du débit dans des réseaux modèles numériques reconstruits à partir d'images 3D de cerveaux de primate. Notons également que, dans un contexte de modélisation '0D-1D', la prise en compte de la tortuosité des vaisseaux dans le calcul de la viscosité a tout de même une influence relative moyenne de 10% sur la pression dans le réseau [GUIBERT et collab. \[2010b\]](#).

### 3.1.4 Séparation de phase

Le troisième et dernier effet notable de l'hydrodynamique sanguine en micro-circulation est le phénomène de séparation de phase, illustré *in vivo* en Figure 3.4. On pourrait penser naïvement qu'à une bifurcation divergente, la fraction volumique de globules rouges qui ira dans une des branches filles sera proportionnelle au ratio de débit sortant/entrant. Ce n'est pas forcément le cas en réalité. On peut même observer une inversion de cette tendance naïve pour des faibles taux d'hématocrite [SHEN et collab. \[2016\]](#). Des bifurcations dont les deux branches filles sont traversées par un même débit, vont recevoir une quantité différente de globules rouge si les diamètres ne sont pas les mêmes [LI et collab. \[2012\]](#).

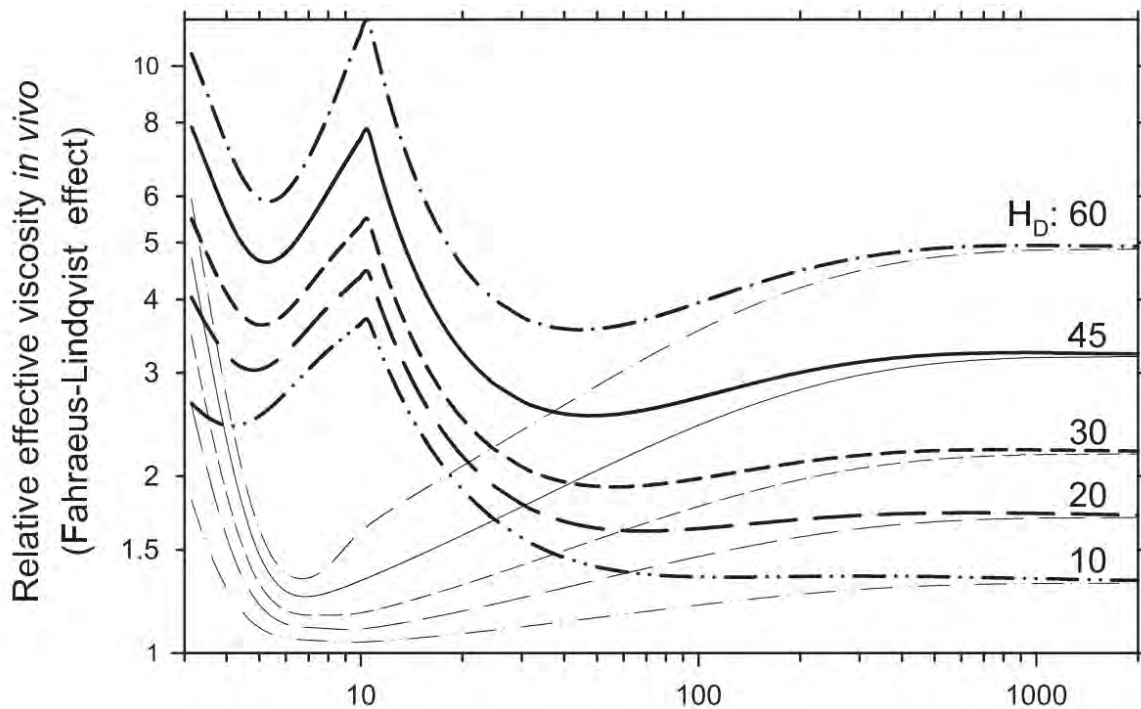


Figure 3.3 – Viscosités apparentes *in vitro* (lignes fines) et *in vivo* (lignes épaisses) pour plusieurs valeurs d'hématocrite systémique. Extrait de [PRIES et SECOMB \[2005\]](#)

Cette question est cruciale car susceptible d'influencer fortement la distribution d'oxygène dans les tissus [GOULD et LINNINGER \[2015\]](#).

En réalité, de nombreux effets se produisent à ces bifurcations, des plus simples aux plus compliqués : effets de Stokes 3D déjà mentionnés dans la section précédente, qui conduisent ici à des trajectoires (dite Lagrangienne) différentielle, des globules rouges initialement décentrés de la ligne centrale entre les branches filles, interactions hydrodynamiques entre les globules rouges et le fluide, ou éventuellement même collisions ou des agrégations qui peuvent influencer la répartition en globules rouges. Le premier des effets sus-mentionnés, lié à la déformation des lignes de courant par la géométrie 3D locale de la bifurcation, a été testé expérimentalement sur des géométries modèles, et semble permettre de donner des lois de séparation de phase consistant avec les observations [DOYEUX et collab. \[2011\]](#).

Dans des géométries réelles complexes, il est difficile de prendre en compte les spécificités locales des bifurcations, c'est pourquoi différentes lois empiriques de séparation de phase ont été proposées pour rendre compte de cet effet sur la distribution de l'hématocrite aux bifurcations. Le premier modèle en loi puissance basé sur des observations *in vitro* a été proposé par Dellimore [DELLIMORE et collab. \[1983\]](#). [FENTON et collab. \[1985a,b\]](#) ont ensuite proposé un modèle *in vitro* basé sur l'approche de fluide bi-phasique et prenant en compte la couche plasmatisque. Enfin, [PRIES et collab. \[1989, 1990\]](#) ont proposé un modèle basé sur des observations *in vivo*. C'est sans doute ce dernier modèle qui est le plus utilisé dans la littérature. Ces trois modèles vérifient la conservation de la masse  $H_M = H_\alpha + H_\beta$  où  $H_M$  est l'hématocrite de la branche mère et  $H_\alpha, H_\beta$  les hématocrites des branches filles. Ils se basent également sur une hypothèse sous-jacente qui est la localité du phénomène de répartition d'hématocrite. [GUIBERT et collab. \[2010a\]](#) ont proposé un modèle de répartition global, c'est-à-dire dont la répartition en globules rouges va dépendre de la répartition des branches précédentes. Ils définissent un hématocrite de nœud défini par rapport à l'hématocrite de lien comme la différence aux extrémités du vaisseau et construisent

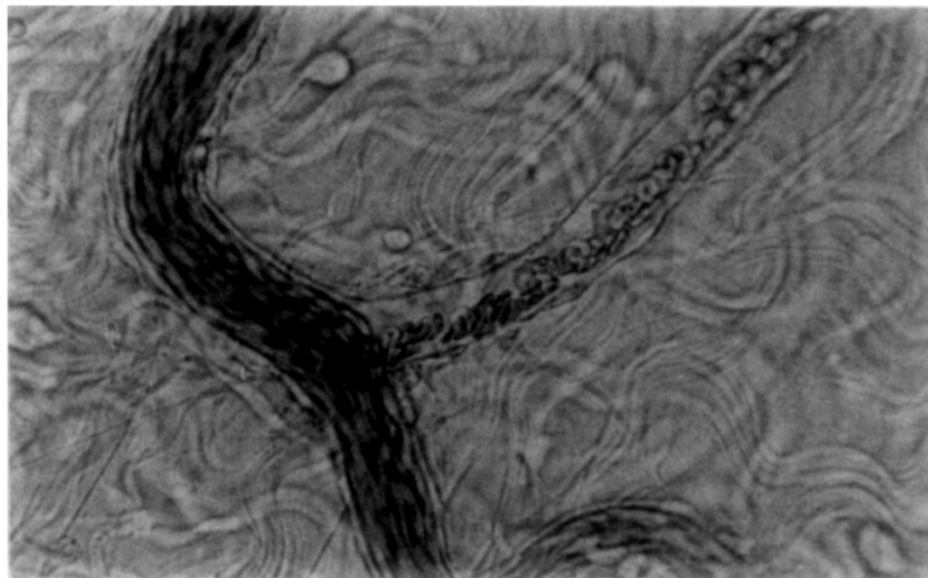
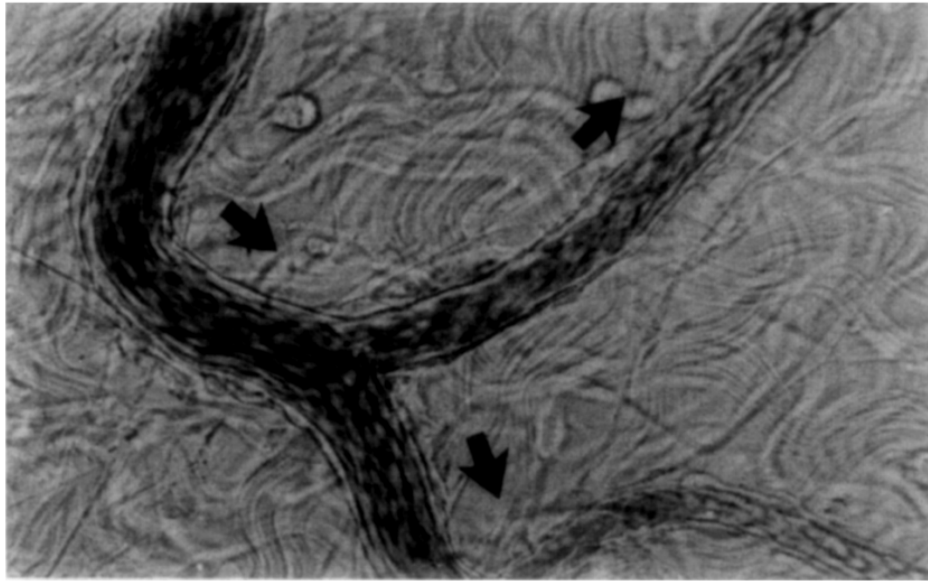


Figure 3.4 – Répartition de globules rouges à une bifurcation avant (figure du haut) et après occlusion (figure du bas) du vaisseau en haut à droite. Les flèches indiquent le sens de l’écoulement. Extrait de [PRIES et collab. \[1989\]](#)

un système linéaire à partir de ces nouvelles inconnues. [GOULD et LINNINGER \[2015\]](#) ont montré que ce modèle prévoyait des valeurs extrêmes d’hématocrite non vérifiées expérimentalement. Ces auteurs ont également proposé un modèle très simple et l’ont comparé au modèle de [GUIBERT et collab. \[2010a\]](#) et [PRIES et collab. \[1990\]](#). Récemment [MERLO et collab. \[2017\]](#) ont montré dans des expériences *in vitro* que la distribution de globules rouge à l’entrée du réseau était le facteur déterminant de la distribution dans tout le reste du système. Ceci a mené à un modèle semi-empirique qui laisse entendre que le mécanisme de séparation de phase se produirait à une échelle globale. La validation expérimentale et physiologique de ces modèles est très compliquée. La question de savoir si ceux-ci sont tissu voire animal spécifique est bien sûr encore ouverte. Bien que la séparation de phase soit importante à considérer pour la répartition de l’hématocrite dans le réseau vasculaire, [GUIBERT et collab. \[2010b\]](#) ont montré que leur influence sur la distri-

bution des flux est minime. L'élément déterminant dans la modélisation de la pression et des débits est en fait le modèle de viscosité empirique. On peut donc raisonnablement ignorer l'influence de la séparation de phase sur la répartition de ces modèles et considérer un hémocrite systémique de 45%, le plus courant dans des contextes physiologiques [LIPOWSKY et collab. \[1980\]](#), ce qui est notre approche par la suite.

### 3.1.5 Hypothèses retenues pour la modélisation

Au vu des trois effets décrits précédemment, on peut dresser une liste des différents choix et hypothèses associés à la modélisation à l'échelle d'un tissu adipeux entier de souris.

- Faible rapport d'aspect des vaisseaux  $R/L \ll 1$  [RISSER et collab. \[2009\]](#) (voir sous-section [3.1.1](#))
- Effets de Stokes aux bifurcations négligeables ( $R/L \ll 1$ ) [GUIBERT et collab. \[2010b\]](#) (voir sous-section [3.1.1](#))
- Faible nombre de Womersley  $W = R/\sqrt{\nu_0 T} \ll 1$  [DEVOR et collab. \[2008\]](#); [KLEINFELD et collab. \[1998\]](#) (voir sous-section [3.1.1](#))
- Modèle de viscosité empirique calé sur des mesures *in vivo* et tenant compte de la couche endothéliale [PRIES et SECOMB \[2005\]](#) (voir sous-section [3.1.3](#))
- Pas de séparation de phase (car peu d'influence sur la perfusion [GUIBERT et collab. \[2010b\]](#)) (voir sous-section [3.1.4](#))

## 3.2 Méthode numérique

### 3.2.1 Système linéaire à résoudre

Comme on l'a vu précédemment, l'approximation du flux sanguin par un débit de Poiseuille dans un vaisseau à l'échelle micro constitue une assez bonne approximation. On peut généraliser cette approche d'un point de vue réseau (ou graphe) pour établir un ensemble de relations qui décrivent l'évolution de la pression à tous les nœuds du réseau. Par pédagogie, et pour rendre plus claire la modélisation pour le lecteur non-averti, on va s'intéresser à un réseau simplifié à trois vaisseaux pour introduire les notations et la construction du système linéaire. En particulier, à une intersection, d'après la loi de conservation du débit, on a la relation suivante avec les notations du schéma en [Figure 3.5](#) :

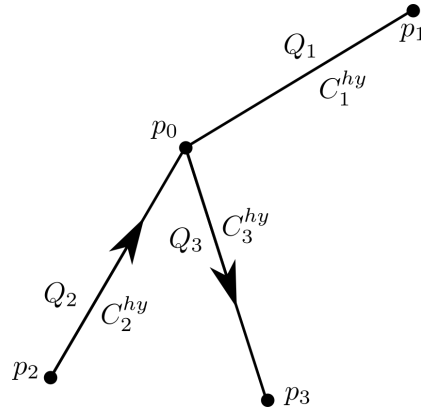


Figure 3.5 – Schéma d'une bifurcation dans le réseau vasculaire. Les  $p_i$  sont les pressions aux nœuds du graphe vasculaire, les  $C_i^{hy}$  les conductances hydrauliques et les  $Q_i$  les débits sur les liens du graphe vasculaire. Les flèches indiquent le sens de l'écoulement.

$$Q_1 + Q_2 + Q_3 = 0 \quad (3.11)$$

Ce qui, en suivant la relation entre débit et pression présentée précédemment, mène à l'équation suivante :

$$C_1^{hy} (p_0 - p_1) + C_2^{hy} (p_0 - p_2) + C_3^{hy} (p_0 - p_3) = 0 \quad (3.12)$$

Et en introduisant la notation  $\overline{C_0^{hy}} = C_1^{hy} + C_2^{hy} + C_3^{hy}$  qui correspond à la somme des conductances à l'intersection d'indice 0 :

$$-\overline{C_0^{hy}} p_0 + C_1 p_1 + C_2 p_2 + C_3 p_3 = 0 \quad (3.13)$$

Pour traduire ces relations dans un formalisme de graphe, on définit A la matrice d'adjacence associée aux nœuds du graphe d'indices 0, 1, 2 et 3 et avec les conductances hydrauliques comme poids sur les liens ( $C_1^{hy}$  entre les nœuds 0 et 1,  $C_2^{hy}$  entre les nœuds 2 et 0 et  $C_3^{hy}$  entre les nœuds 0 et 3). Nous avons également besoin de définir D, la matrice des degrés, c'est à dire la matrice diagonale qui contient la somme des lignes de la matrice d'adjacence. Ces matrices ont la forme suivante :

$$A = \begin{pmatrix} 0 & C_1^{hy} & C_2^{hy} & C_3^{hy} \\ C_1^{hy} & 0 & 0 & 0 \\ C_2^{hy} & 0 & 0 & 0 \\ C_3^{hy} & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \quad \text{et} \quad D = \begin{pmatrix} \overline{C_0^{hy}} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & C_1^{hy} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & C_2^{hy} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & C_3^{hy} \end{pmatrix} \quad (3.14)$$

Définissons ensuite le vecteur des inconnues du système, à savoir les pressions au nœud du graphe  $x = (p_0, p_1, p_2, p_3)$  et le second membre du système linéaire  $b = (0, 0, 0, 0)$ . Le système à résoudre s'écrit alors  $M \cdot x = b$  avec  $M = A - D$  :

$$M = \begin{pmatrix} -\overline{C_0^{hy}} & C_1^{hy} & C_2^{hy} & C_3^{hy} \\ C_1^{hy} & -C_1^{hy} & 0 & 0 \\ C_2^{hy} & 0 & -C_2^{hy} & 0 \\ C_3^{hy} & 0 & 0 & -C_3^{hy} \end{pmatrix}$$

En l'état, du fait que nous n'avons pas imposé de conditions aux limites, la matrice  $M$  est de noyau nul et la solution triviale est donc  $x = (0, 0, 0, 0)$ . Avec les conditions aux limites suivantes : condition de flux nul (Neumann homogène) en  $p_1$ , condition d'entrée (Dirichlet) en  $p_2 = 1$  et condition de sortie (Dirichlet) en  $p_3 = 0$ , on modifie la matrice  $M$  et le second membre  $b$  tels que :

$$M = \begin{pmatrix} -\overline{C_0^{hy}} & C_1^{hy} & C_2^{hy} & C_3^{hy} \\ C_1^{hy} & -C_1^{hy} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix} \quad \text{et} \quad b = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (3.15)$$

De manière générale pour un nombre  $N$  total de nœuds du graphe, un nombre  $n_{int}$  de nœuds intérieurs, i.e. sans condition de Dirichlet mais pouvant porter une condition de Neumann homogène comme vu dans l'exemple et un nombre  $n_{bords}$  notées  $p_i^{bords}$  de conditions au bord tels que  $N = n_{int} + n_{bords}$ , la matrice du système linéaire à résoudre se définit comme :

$$(M)_{i,j} = \begin{cases} (A-D)_{i,j} & \text{si } 1 \leq i \leq n_{int} \quad \text{et} \quad 1 \leq j \leq N \\ Id_{i,j} & \text{si } n_{int} < i \leq N \quad \text{et} \quad 1 \leq j \leq N \end{cases} \quad (3.16)$$

et le second membre est défini par :

$$b_i = \begin{cases} 0 & \text{si } 1 \leq i \leq n_{int} \\ p_i^{bords} & \text{si } n_{int} < i \leq N \end{cases} \quad (3.17)$$

Notons que par souci de notation/visibilité on a supposé que les indices des nœuds aux bords sont indicés de  $n_{int} + 1$  à  $N$ . Dans tous les cas, on peut toujours se ramener à la forme de la matrice  $M$  de l'équation 3.16, aux permutations près.

### 3.2.2 Conditions aux limites

La question des conditions aux limites dans le problème qui nous occupe a fait l'objet d'assez peu d'étude. À notre connaissance deux équipes ont tenté de proposer une méthode pour pouvoir fixer des conditions réalistes. Pourtant, cette question est centrale pour représenter correctement la perfusion dans les tissus. Dans le cas du cerveau, des conditions de flux nul peuvent résulter en une sous-estimation des débits et des variations de pressions au sein du réseau [LORTHOIS et collab. \[2011a,b\]](#). Cependant, si ces conditions de flux nul sont appliquées sur des volumes de grande taille ou bien plongés dans un réseau capillaire modèle entourant le volume d'étude [SCHMID et collab. \[2017\]](#), on peut montrer qu'elles ont peu d'effet sur la distribution de pression locale au sein du domaine considéré. Pour compléter des conditions aux limites inconnues quelques propositions ont été faites dans la littérature. La première [FRY et collab. \[2012\]](#) procède par la minimisation d'une fonctionnelle où les conditions limites sont à fixer par rapport à des mesures de référence. Les résultats sont discutables étant donné que la quantification principale de la méthode tient sur le sens de circulation et non pas sur les valeurs de pression ou de flux en elles-même. La deuxième est une méthode bayésienne par maximum de vraisemblance [RASMUSSEN et collab. \[2016\]](#).

Dans le contexte de ce travail, à l'opposé de ce qui a été fait dans d'autres contextes, le réseau micro-vasculaire est quasi-intégralement reconstruit, les conditions aux limites dans le réseau capillaire coupé ne sont pas à spécifier. Seuls persistent bien entendu les extrémités libres, dans lesquelles des conditions de flux nul sont alors imposées. En revanche, à l'opposé de ce qui a été fait dans le cerveau, où les conditions macro-circulatoire

peuvent être considérées comme bien connues, elles le sont mal dans notre cas. Pour les vaisseaux coupés sur les bords du tissu appartenant à la macro-circulation, nous imposons des conditions de Dirichlet. Nous avons identifié dans le tissu une artère principale dont les biologistes savent, d'après leur expérience, qu'elle est entrante dans le tissu. Cette artère est associée à une veine principale sortante que l'on fixe en pression adimensionnelle, respectivement à 1 et 0. Les autres entrées/sorties à l'échelle de la macro-circulation seront donc, par construction, des artères sortantes et des veines entrantes. Bien que l'objet d'étude soit le tissu entier et que les conditions d'entrée/sortie à fixer ne concernent que les vaisseaux d'échelle macro, nous devons fixer des pressions pour des artères et veines traversantes (24 conditions au total). Cette problématique n'est pas triviale en soi, car des valeurs mal choisies peuvent produire un mauvais sens de perfusion (artère secondaire entrante ou veine secondaire sortante) et des domaines de perfusions veineux non physiologiques. Pour limiter le nombre de paramètres dans la modélisation, nous avons fixé une valeur unique de pression pour toutes les veines entrantes ( $p = \alpha$ ) et une valeur unique de pression pour toutes les artères sortantes ( $p = \beta$ ). Nous avons ensuite parcouru l'espace de ces paramètres de manière exhaustive et choisi le couple  $(\alpha, \beta)$  donnant le ratio de volume perfusé par l'artère divisé par l'ensemble du volume perfusé par les veines le plus important. Ce critère permet de réduire le choix du couple de paramètres qui réduise l'influence de la perfusion veineuse. Pour quantifier les volumes de perfusion nous avons utilisé les concepts de domaines de perfusions préférentiels développés dans [GUIBERT et collab. \[2012\]](#).

### 3.3 Clustering

Dans cette section nous donnons quelques éléments contextuels et bibliographiques aux méthodes de clustering que nous avons utilisés pour analyser le réseau de perfusion. L'analyse des réseaux, au sens général de l'analyse des graphes est un sujet très prolifique et qui a donné lieu à quantité de concepts et d'outils applicables à des domaines très différents. Un sous-domaine d'outils d'analyse des graphes concerne les algorithmes de clustering qui visent à réaliser une partition objective (un découpage) d'un graphe suivant un ensemble de critères. Ainsi, plusieurs algorithmes de clustering donneront des partitions différentes. Notons que le clustering n'est pas spécifique aux graphes [FORTUNATO \[2010\]](#) mais peut également être appliqué en traitement d'image [GONZALES-BARRON et BUTLER \[2006\]](#); [KANUNGO et collab. \[2002\]](#) ou encore la détection de similarités dans le génome [EISEN et collab. \[1998\]](#). Plusieurs contraintes doivent être gardées à l'esprit avec ces algorithmes : la complexité, les critères de partition, le temps de calcul, le nombre de clusters. Sur ce dernier point, il paraît naturel de ne pas se donner un nombre *a priori* de clusters et exiger de l'algorithme qu'il converge vers un nombre optimal. Pourtant de nombreuses méthodes nécessitent de spécifier un nombre de clusters à trouver si l'on veut de bons résultats [FORTUNATO \[2010\]](#). Dans notre cas, notre objet d'étude est le graphe vasculaire du réseau et nous avons choisi la méthode de [BLONDEL et collab. \[2008\]](#), déjà utilisée pour analyser le réseau vasculaire cérébral par [BLINDER et collab. \[2013\]](#) ce qui nous permet également d'avoir des éléments de comparaison entre deux tissus différents. Le seul paramètre à fixer dans l'algorithme dit de Louvin est le poids sur les liens du graphe vasculaire, on verra dans la section suivante quels poids nous avons choisis et quelles sont les implications des différents partitionnements que l'on obtient.

### 3.4 Résumé de l'article

Nous allons à présent résumer brièvement l'article soumis reproduit dans la section suivante. Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à caractériser l'organisation structurelle et fonctionnelle du réseau vasculaire d'un tissu adipeux inguinal entier de souris. Précisons dès à présent que l'on parlera d'action ou d'activité "fonctionnelle" lorsque les quantités que l'on mesure sont liées à l'écoulement du sang ou sa capacité à s'écouler. Nous avons en effet supposé ici que la perfusion sanguine est un des ingrédients majeurs de la répartition des nutriments, de l'oxygène, etc.. dans le réseau et a donc un rôle fondamental pour la régulation de l'activité métabolique du tissu.

À partir de l'acquisition de l'image 3D par MacroSPIM nous avons extrait le réseau suivant une procédure de traitement d'image non détaillée dans cette section mais présentée dans l'article. Disons simplement que l'acquisition par MacroSPIM fonctionne sur le principe d'une feuille de lumière et permet l'acquisition rapide d'une quantité importante de données. La résolution qui a été utilisée est de l'ordre du micron ce qui garantit de décrire la section des capillaires par environ huit pixels. A partir de ce réseau vectorisé nous avons modélisé l'écoulement sanguin suivant les hypothèses et conditions aux limites décrites respectivement aux sections 3.2.2 et 3.1.5. Pour s'abstenir de considérations de segmentation dont on a vu la complexité au chapitre précédent, nous avons souhaité *a minima* pouvoir reproduire les variations structurelles des sous-unités qui composent les PLS (Poly-Lobular Subunits, voir chapitre 2). Pour ce faire nous avons utilisé un algorithme de clustering largement utilisé dans le domaine des réseaux sociaux ou du web en général, qui découpe le réseau en communautés suivant leur modularité [BLONDEL et collab. \[2008\]](#). La modularité, qui dépend en partie des connections entre les nœuds relativement à leur poids, représente l'homogénéité des liens qui composent une communauté relativement aux liens qui la relient aux autres communautés. Le seul paramètre de l'algorithme est le poids que l'on choisit sur le graphe vasculaire. Nous avons identifié deux familles de poids : les poids structuraux (pure topologie  $w_0$ , distance euclidienne  $w_1$  et distance géodésique  $w_2$  entre deux bifurcations) et les poids fonctionnels, liés à l'écoulement ( $w_3$  la résistance hydraulique et  $w_4$  la conductance hydraulique). [BLINDER et collab. \[2013\]](#) ont déjà appliqué cette méthode au cerveau avec la résistance hydraulique comme poids mais avec un modèle empirique pour la viscosité différent du notre.

Nous avons d'abord montré des hétérogénéités à l'échelle du réseau entier. Comme on pourrait s'y attendre au vu du chapitre 2, la densité vasculaire n'est pas homogène dans le tissu et dépend de la taille de la boîte sur laquelle on la mesure. D'un point de vue plus fonctionnel, au delà d'une certaine distance entre deux points du réseau, la résistance hydraulique sature. Nous pouvons observer plusieurs paliers associés à plusieurs distances de saturation ce qui est un deuxième indice d'hétérogénéité, mais qui, cette fois, dépendent de considérations hydrodynamiques (i.e. fonctionnelles). Enfin, la répartition des pressions suit des homogénéités locales spatiales et également une distribution générale sur plusieurs modes qui dénotent de l'hétérogénéité dans la perfusion. Ces différents éléments permettent de mettre en évidence à l'échelle du réseau vasculaire entier du tissu des hétérogénéités de différentes natures à la fois structurelles et fonctionnelles.

L'étude des différentes communautés en fonction du poids choisi pour réaliser la partition a apporté un niveau d'information d'une autre échelle. Les poids fonctionnels vont découper le réseau en des communautés plus petites, plus denses (en terme de densité vasculaire) et plus indépendantes. En particulier, la connectivité des communautés montre clairement deux tendances : des communautés fortes (i.e. faiblement connectées) associées aux poids structuraux et des communautés très fortes (i.e. très faiblement



connectées). Ceci révèle que le réseau vasculaire est composé de plusieurs échelles de connectivités différentes et en particulier que cette connectivité est d'autant plus faible que la partition est réalisée avec l'information fonctionnelle. Cela laisse entendre qu'il y a un sous-niveau d'organisation au sein des sous-unités qui composent les PLS. Notons également que dans le réseau vasculaire du cerveau les communautés obtenues après clustering avec la résistance (avec un autre modèle de viscosité empirique) sont faibles [BLINDER et collab. \[2013\]](#), ce qui témoigne de la spécificité de la structure du tissu adipeux à cette échelle.

Pour la suite, nous nous sommes consacrés au résultat de partition d'un poids structural ( $w_2$ , distance géodésique) car ce poids permet de mieux représenter les hétérogénéités structurelles en sous-unités des PLS (les lobules "classiques") que nous avons trouvé dans le chapitre deux, comme visible sur la figure 3 de l'article reproduit à la section suivante.

Nous avons ensuite appliqué des métriques de graphe, classiques dans les réseaux sociaux, qui quantifient les nœuds dominants vers lesquels les "connexions" sont majoritaires (relativement aux poids des liens). Sur le graphe structurel des communautés, c'est-à-dire construit avec un poids lié à la structure du réseau (nombre de vaisseaux connectant deux communautés), la métrique dite "d'autorité" (Cf [KLEINBERG \[1999\]](#) pour sa définition) fait fortement ressortir une zone centrale au sein du tissu. Cette zone co-localise avec le lieu des communautés de plus fortes densités vasculaires. À partir de la simulation d'écoulement réalisée sur le réseau entier on peut faire remonter cette information à l'échelle des clusters en calculant des débits totaux échangés entre les communautés. On calcule alors la même métrique d'autorité mais en considérant cette fois le poids fonctionnel des débits. La même zone centrale ressort mais avec une intensité supérieure. Cela signifie que cette zone n'est pas d'importance uniquement pour des raisons liées à la topologie du réseau mais également en lien avec la perfusion du tissu.

Si l'on poursuit sur ce dernier graphe des communautés fonctionnelles, on s'aperçoit que les communautés échangent préférentiellement le long du réseau artériel d'une part mais également dans la zone précédemment décrite. La distribution des débits au sein de cette zone est en effet très différente de ce qu'elle est en dehors. A partir de l'écoulement sur le réseau entier on peut remonter à un temps de parcours par vaisseau, qui, une fois propagé depuis toutes les entrées, nous donne un temps de parcours global pour chaque vaisseau. On peut ramener ce temps à l'échelle des communautés avec, d'une part un temps d'arrivée et d'autre part, un temps de remplissage par communauté. Les premières communautés desservies par la perfusion sont encore une fois (en partie) les communautés qui composent la zone précédente. La périphérie de cette zone étant desservie bien plus tard. A l'inverse les temps de remplissage paraissent aussi hétérogènes dans cette zone qu'en dehors ce qui n'est pas trivial : on pourrait s'attendre à ce qu'une zone desservie rapidement puisse être constituée des communautés possédant des temps de remplissage plus courts pour pouvoir alimenter tout aussi rapidement les communautés voisines. Ceci confirme une nouvelle fois de manière indirecte de grandes hétérogénéités dans la perfusion du tissu liées à son organisation structurelle.

Dans ce travail, nous avons montré la pertinence de l'approche tissu entier et de la modélisation d'écoulements sanguins dans la mise en évidence d'hétérogénéités structurelles et fonctionnelles. La question de savoir si ces hétérogénéités sont liées à une activité métabolique demandera de reproduire la méthode développée ici sur un plus grand nombre d'échantillons et dans différents contextes physiologiques (jeûne, obésité, souris mise au froid).

Une telle extension nécessitera aussi la capacité à automatiser l'ensemble des procédures d'acquisition, de traitement, de segmentation, de modélisation qui sont pour

l'instant partiellement automatisées. Sur de tels volumes de données une telle perspective reste encore un challenge.

### 3.5 Références

- BARBER, J. O., J. P. ALBERDING, J. M. RESTREPO et T. W. SECOMB. 2008, «Simulated Two-Dimensional Red Blood Cell Motion, Deformation, and Partitioning in Microvessel Bifurcations», *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 36, n° 10, doi:10.1007/s10439-008-9546-4.Simulated, p. 1690–1698. 70
- BLINDER, P., P. S. TSAI, J. P. KAUFHOLD, P. M. KNUTSEN, H. SUHL et D. KLEINFELD. 2013, «The cortical angiome: an interconnected vascular network with noncolumnar patterns of blood flow», *Nature Neuroscience*, vol. 16, n° 7, doi:10.1038/nn.3426, p. 889–897, ISSN 1097-6256. URL <http://www.nature.com/doifinder/10.1038/nn.3426>. 81, 82, 83
- BLONDEL, V. D., J.-L. GUILLAUME, R. LAMBIOTTE et E. LEFEBVRE. 2008, «Fast unfolding of communities in large networks», *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, vol. 10, doi:10.1088/1742-5468/2008/10/P10008, ISSN 1742-5468. URL <http://arxiv.org/abs/0803.0476>{%}0A<http://dx.doi.org/10.1088/1742-5468/2008/10/P10008>. 81, 82
- CANTAT, I. et C. MISBAH. 1999, «Lift Force and Dynamical Unbinding of Adhering Vesicles under Shear Flow», *Physical Review Letters*, vol. 83, n° 4, doi:10.1103/PhysRevLett.83.880, p. 880–883, ISSN 0031-9007. URL <http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevLett.83.880>. 74
- COKELET, G. R. et H. L. GOLDSMITH. 1991, «Decreased Hydrodynamic Resistance in the Two-Phase Flow of Blood Through Small Vertical Tubes at Low Flow Rates», *Circulation Research*, vol. 68, n° 1, doi:10.1227/01.NEU.0000335789.61773.C5, p. 1—17. 75
- COUPIER, G., B. KAOUÏ, T. PODGORSKI et C. MISBAH. 2008, «Noninertial lateral migration of vesicles in bounded Poiseuille flow», *Physics of Fluids*, vol. 20, n° 11, doi:10.1063/1.3023159, ISSN 10706631. 74
- DELLIMORE, J. W., M. J. DUNLOP et P. B. CANHAM. 1983, «Ratio of cells and plasma in blood flowing past branches in small plastic channels.», *The American journal of physiology*, vol. 244, n° 5, p. H635–43, ISSN 0002-9513. 76
- DEVOR, A., E. M. C. HILLMAN, P. TIAN, C. WAEBER, I. C. TENG, L. RUVINSKAYA, M. H. SHALINSKY, H. ZHU, R. H. HASLINGER, S. N. NARAYANAN, I. ULBERT, A. K. DUNN, E. H. LO, B. R. ROSEN, A. M. DALE, D. KLEINFELD et D. A. BOAS. 2008, «Stimulus-Induced Changes in Blood Flow and 2-Deoxyglucose Uptake Dissociate in Ipsilateral Somatosensory Cortex», *Journal of Neuroscience*, vol. 28, n° 53, doi:10.1523/JNEUROSCI.4307-08.2008, p. 14 347–14 357, ISSN 0270-6474. URL <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.4307-08.2008>. 71, 78
- DOYEUX, V., T. PODGORSKI, S. PEPONAS, M. ISMAIL et G. COUPIER. 2011, «Spheres in the vicinity of a bifurcation: Elucidating the Zweifach-Fung effect», *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 674, doi:10.1017/S0022112010006567, p. 359–388, ISSN 00221120. 76

- ECONOMIDES, A., L. AMOUDRUZ, S. LITVINOV, D. ALEXEEV, S. NIZZERO, P. HADJIDOUKAS, D. ROSSINELLI et P. KOUMOUTSAKOS. 2017, «Towards the virtual rheometer: High performance computing for the red blood cell microstructure», dans *PASC 2017 - Proceedings of the Platform for Advanced Scientific Computing Conference*, ACM, ISBN 9781450350624, p. 1–13, doi:10.1145/3093172.3093226. 70
- EISEN, M. B., P. T. SPELLMAN, P. O. BROWN et D. BOTSTEIN. 1998, «Cluster analysis and display of genome-wide expression patterns», *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 95, n° 25, p. 12 930–12 933. 81
- FÄHRAEUS, R. 1929, «THE SUSPENSION STABILITY OF THE BLOOD», *Physiological Reviews*, vol. IX, n° 3, p. 399–431. 71, 72
- FÄHRAEUS, R. et T. LINDQVIST. 1930, «THE VISCOSITY OF THE BLOOD IN NARROW CAPILLARY TUBES», *American Journal of physiology*, vol. 96, n° 3, p. 562–568. 74
- FEDOSOV, D. A., B. CASWELL, A. S. POPEL et G. E. KARNIADAKIS. 2010, «Blood Flow and Cell-Free Layer in Microvessels», *Microcirculation*, vol. 17, n° 8, doi:10.1111/j.1549-8719.2010.00056.x.Blood, p. 615–628. 70
- FENTON, B. M., R. T. CARR et G. R. COKELET. 1985a, «Nonuniform red cell distribution in 20 to 100 micrometers bifurcations.», *Microvascular research*, vol. 29, n° 1, p. 103–126, ISSN 0026-2862. 76
- FENTON, B. M., D. W. WILSON et G. R. COKELET. 1985b, «Analysis of the effects of measured white blood cell entrance times on hemodynamics in a computer model of a microvascular bed», *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, vol. 403, n° 4, doi:10.1007/BF00589252, p. 396–401, ISSN 14322013. 76
- FORTUNATO, S. 2010, «Community detection in graphs», *Physics Reports*, vol. 486, n° 3-5, doi:10.1016/j.physrep.2009.11.002, p. 75–174, ISSN 03701573. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.physrep.2009.11.002>. 81
- FREUND, J. B. 2014, «Numerical Simulation of Flowing Blood Cells», *Annual Review of Fluid Mechanics*, vol. 46, n° 1, doi:10.1146/annurev-fluid-010313-141349, p. 67–95, ISSN 0066-4189. URL <http://www.annualreviews.org/doi/10.1146/annurev-fluid-010313-141349>. 70
- FREUND, J. B. et M. M. ORESCANIN. 2011, «Cellular flow in a small blood vessel», *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 671, doi:10.1017/S0022112010005835, p. 466–490, ISSN 00221120. 69
- FRY, B. C., J. LEE, N. P. SMITH et T. W. SECOMB. 2012, «Estimation of Blood Flow Rates in Large Microvascular Networks», *Microcirculation*, vol. 19, n° 6, doi:10.1111/j.1549-8719.2012.00184.x, p. 530–538, ISSN 10739688. 80
- GOLDSMITH, H. L., G. R. COKELET et P. GAEHTGENS. 1989, «Robin Fåhræus: evolution of his concepts in cardiovascular physiology.», *The American journal of physiology*, vol. 257, n° 3 Pt 2, p. H1005–H1015, ISSN 0002-9513. 75
- GOMPPER, G. et D. A. FEDOSOV. 2015, «Modeling microcirculatory blood flow: current state and future perspectives», *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine*, doi:10.1002/wsbm.1326, ISSN 19395094. 70

- GONZALES-BARRON, U. et F. BUTLER. 2006, «A comparison of seven thresholding techniques with the k-means clustering algorithm for measurement of bread-crumbs features by digital image analysis», *Journal of Food Engineering*, vol. 74, n° 2, doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.03.007, p. 268–278, ISSN 02608774. 81
- GOULD, I. G. et A. A. LINNINGER. 2015, «Hematocrit distribution and tissue oxygenation in large microcirculatory networks», *Microcirculation*, vol. 22, n° 1, doi:10.1111/micc.12156, p. 1–18, ISSN 15498719. 76, 77
- GRANDCHAMP, X., G. COUPIER, A. SRIVASTAV, C. MINETTI et T. PODGORSKI. 2013, «Lift and down-gradient shear-induced diffusion in red blood cell suspensions», *Physical Review Letters*, vol. 110, n° 10, doi:10.1103/PhysRevLett.110.108101, p. 1–5, ISSN 00319007. 74
- GUIBERT, R., . C. FONTA et F. PLOURABOUÉ. 2010a, «A New Approach to Model Confined Suspensions Flows in Complex Networks: Application to Blood Flow», *Transp Porous Med*, vol. 83, n° 1, doi:10.1007/s11242-009-9492-0, p. 171–194. 71, 76, 77
- GUIBERT, R., C. FONTA et F. PLOURABOUÉ. 2010b, «Cerebral blood flow modeling in primate cortex», *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, vol. 30, n° 11, doi:10.1038/jcbfm.2010.105, p. 1860–1873. 70, 75, 77, 78
- GUIBERT, R., C. FONTA, L. RISSER et F. PLOURABOUÉ. 2012, «Coupling and robustness of intra-cortical vascular territories», *NeuroImage*, vol. 62, n° 1, doi:10.1016/j.neuroimage.2012.04.030, p. 408–417, ISSN 1095-9572. 81
- HADJIDOUKAS, P. E., P. ANGELIKOPOULOS, C. PAPADIMITRIOU et P. KOUMOUTSAKOS. 2015, «II4U: A high performance computing framework for Bayesian uncertainty quantification of complex models», *Journal of Computational Physics*, vol. 284, doi:10.1016/j.jcp.2014.12.006, p. 1–21, ISSN 10902716. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcp.2014.12.006>. 70
- HOU, H. W., A. A. S. BHAGAT, A. G. LIN CHONG, P. MAO, K. S. WEI TAN, J. HAN et C. T. LIM. 2010, «Deformability based cell margination—A simple microfluidic design for malaria-infected erythrocyte separation», *Lab on a Chip*, vol. 10, n° 19, doi:10.1039/c003873c, p. 2605, ISSN 1473-0197. URL <http://xlink.rsc.org/?DOI=c003873c>. 74
- KANUNGO, T., D. MOUNT, N. NETANYAHU, C. PIATKO, R. SILVERMAN et A. WU. 2002, «An efficient k-means clustering algorithm: analysis and implementation», *IEEE Transactions on Pattern Analysis and Machine Intelligence*, vol. 24, n° 7, doi:10.1109/TPAMI.2002.1017616, p. 881–892, ISSN 0162-8828. 81
- KATANOV, D., G. GOMPPER et D. A. FEDOSOV. 2015, «Microvascular blood flow resistance: Role of red blood cell migration and dispersion», *Microvascular Research*, vol. 99, doi:10.1016/j.mvr.2015.02.006, p. 57–66, ISSN 10959319. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2015.02.006>. 73, 74
- KIANI, M. F. et A. G. HUDETZ. 1991, «A semi-empirical model of apparent blood viscosity as a function of vessel diameter and discharge hematocrit», *Biorheology*, vol. 28, n° 1-2, p. 65–73. 75
- KIM, S., R. L. KONG, A. S. POPEL, M. INTAGLIETTA et P. C. JOHNSON. 2007, «Temporal and spatial variations of cell-free layer width in arterioles», *AJP: Heart and Circulatory Physiology*, vol. 293, n° 3, doi:10.1152/ajpheart.01090.2006, p. H1526–H1535, ISSN

- 0363-6135. URL <http://ajpheart.physiology.org/cgi/doi/10.1152/ajpheart.01090.2006>. 75
- KLEINBERG, J. M. 1999, «Authoritative sources in a hyperlinked environment», *Journal of the ACM*, vol. 46, n° 5, doi:10.1145/324133.324140, p. 604–632, ISSN 00045411. URL <http://portal.acm.org/citation.cfm?doid=324133.324140>. 83
- KLEINFELD, D., P. P. MITRA, F. HELMCHEN et W. DENK. 1998, «Fluctuations and stimulus-induced changes in blood flow observed in individual capillaries in layers 2 through 4 of rat neocortex», *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 95, p. 15 741–15 746. 71, 78
- KOUMOUTSAKOS, P. 2005, «MULTISCALE FLOW SIMULATIONS USING PARTICLES», *Annual Review of Fluid Mechanics*, vol. 37, doi:10.1146/annurev.fluid.37.061903.175753, p. 457–487, ISSN 0066-4189. 70
- KUMAR, A. et M. D. GRAHAM. 2011, «Segregation by membrane rigidity in flowing binary suspensions of elastic capsules», *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, vol. 84, n° 6, doi:10.1103/PhysRevE.84.066316, p. 1–17, ISSN 15393755. 74
- KUMAR, A. et M. D. GRAHAM. 2012a, «Margination and segregation in confined flows of blood and other multicomponent suspensions», *Soft Matter*, vol. 8, doi:10.1039/c2sm25943e, p. 10 536–10 548. 74
- KUMAR, A. et M. D. GRAHAM. 2012b, «Mechanism of margination in confined flows of blood and other multicomponent suspensions», *Physical Review Letters*, vol. 109, n° 10, doi:10.1103/PhysRevLett.109.108102, ISSN 00319007. 74
- LEAL, L. G. 1992, *Laminar Flow and Convective Transport Processes*, Heinemann, Boston, ISBN 0750691174, 743 p.. 70
- LI, X., A. S. POPEL et G. E. KARNIADAKIS. 2012, «Bloodplasma separation in Y-shaped bifurcating microfluidic channels: A dissipative particle dynamics simulation study», *Physical Biology*, vol. 9, n° 2, doi:10.1088/1478-3975/9/2/026010, ISSN 14783967. 75
- LIPOWSKY, H. H., S. USAMI et S. CHIEN. 1980, «In vivo measurements of "apparent viscosity" and microvessel hematocrit in the mesentery of the cat», *Microvascular Research*, vol. 19, n° 3, doi:10.1016/0026-2862(80)90050-3, p. 297–319, ISSN 10959319. 72, 78
- LORTHOIS, S., F. CASSOT et F. LAUWERS. 2011a, «Simulation study of brain blood flow regulation by intra-cortical arterioles in an anatomically accurate large human vascular network: Part I: Methodology and baseline flow», *NeuroImage*, vol. 54, n° 2, doi:10.1016/j.neuroimage.2010.09.032, p. 1031–1042, ISSN 10538119. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.09.032>. 80
- LORTHOIS, S., F. CASSOT et F. LAUWERS. 2011b, «Simulation study of brain blood flow regulation by intra-cortical arterioles in an anatomically accurate large human vascular network. Part II: Flow variations induced by global or localized modifications of arteriolar diameters», *NeuroImage*, vol. 54, n° 4, doi:10.1016/j.neuroimage.2010.10.040, p. 2840–2853, ISSN 10538119. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2010.10.040>. 80

- MAEDA, N., Y. SUZUKI, J. TANAKA et N. TATEISHI. 1996, «Erythrocyte by marginal flow and elasticity of microvessels cell-free layer and flow resistance evaluated», *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, vol. 271, n° 6, p. 2454—2461. 75
- MCWHIRTER, J. L., H. NOGUCHI et G. GOMPPER. 2009, «Flow-induced clustering and alignment of vesicles and red blood cells in microcapillaries», *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 106, n° 15, doi:10.1073/pnas.0811484106, p. 6039–6043, ISSN 0027-8424. URL <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0811484106>. 69
- MERLO, A., M. BERG, P. DURU et S. LORTHOIS. 2017, «An in vitro study of highly confined blood flows: From single bifurcations to 2d-networks», URL <http://oatao.univ-toulouse.fr/18634/>, no full-text document attached to this repository. 77
- POP, S. R., G. RICHARDSON, S. L. WATERS et O. E. JENSEN. 2007, «Shock formation and non-linear dispersion in a microvascular capillary network», *Mathematical Medicine and Biology*, vol. 24, n° 4, doi:10.1093/imamm/dqm007, p. 379–400, ISSN 14778599. 70
- PEPEL, A. S. et P. C. JOHNSON. 2005, «Microcirculation and Hemorheology.», *Annual review of fluid mechanics*, vol. 37, doi:10.1146/annurev.fluid.37.042604.133933, p. 43–69, ISSN 0066-4189. URL </pmc/articles/PMC3000688/?report=abstract%}0Ahttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21151769%}0Ahttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3000688>. 69
- PRIES, A., T. SECOMB, T. GESSNER, M. SPERANDIO, J. GROSS et P. GAEHTGENS. 1994, «Resistance to Blood Flow in Microvessels In Vivo», *Circulation Research*, vol. 75, p. 904–915. 75
- PRIES, A. R., K. LEY, M. CLAASSEN et P. GAEHTGENS. 1989, «Red cell distribution at microvascular bifurcations», *Microvascular Research*, vol. 38, n° 1, doi:10.1016/0026-2862(89)90018-6, p. 81–101, ISSN 10959319. v, 76, 77
- PRIES, A. R., D. NEUHAUS et P. GAEHTGENS. 1992, «Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit.», *The American journal of physiology*, vol. 263, n° 6 Pt 2, p. H1770–H1778, ISSN 0002-9513. 74, 75
- PRIES, A. R., D. SCHÖNFELD, P. GAEHTGENS, M. F. KIANI et G. R. COKELET. 1997, «Diameter variability and microvascular flow resistance.», *The American journal of physiology*, vol. 272, n° 6 Pt 2, p. H2716–25, ISSN 0002-9513. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9227551>. 75
- PRIES, A. R. et T. W. SECOMB. 2005, «Microvascular blood viscosity in vivo and the endothelial surface layer», *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, vol. 289, n° 6, p. H2567–2664. v, 75, 76, 78
- PRIES, A. R., T. W. SECOMB et P. GAEHTGENS. 2000, «The endothelial surface layer.», *Pflugers Archiv : European journal of physiology*, vol. 440, n° 5, doi:10.1007/s004240000307, p. 653–666, ISSN 0031-6768. 75
- PRIES, A. R., T. W. SECOMB, P. GAEHTGENS et J. F. GROSS. 1990, «Blood Flow in Microvascular Networks Experiments and Simulation», *Circulation Research*, vol. 67, n° 4, p. 826–834. 70, 74, 76, 77

- RASMUSSEN, P. M., A. F. SMITH, S. SAKADŽIĆ, D. A. BOAS, A. R. PRIES, T. W. SECOMB et L. ØSTERGAARD. 2016, «Model based inference from microvascular measurements: Combining experimental measurements and model predictions using a Bayesian probabilistic approach», *Microcirculation*, vol. 24, n° 4, doi:10.1111/micc.12343, p. 1–16, ISSN 10739688. URL <http://doi.wiley.com/10.1111/micc.12343>. 80
- REICHOLD, J., M. STAMPANONI, A. L. KELLER, A. BUCK, P. JENNY et B. WEBER. 2009, «Vascular graph model to simulate the cerebral blood flow in realistic vascular networks.», *Journal of cerebral blood flow and metabolism*, vol. 29, n° 8, doi:10.1038/jcbfm.2009.58, p. 1429–1443, ISSN 0271-678X. URL <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2009.58>. 70
- RISSE, L., F. PLOURABOUÉ, P. CLOETENS et C. FONTA. 2009, «A 3D-investigation shows that angiogenesis in primate cerebral cortex mainly occurs at capillary level», *International Journal of Developmental Neuroscience*, vol. 27, n° 2, doi:10.1016/j.ijdevneu.2008.10.006, p. 185–196, ISSN 07365748. 70, 78
- SCHMID, F., D. KLEINFELD, P. BLINDER, P. JENNY et B. WEBER. 2017, «Depth-dependent flow and pressure characteristics in cortical microvascular networks», *Plos computational biology*, vol. 13, n° 2, doi:10.1371/journal.pcbi.1005392, ISSN 1553-7358. URL <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005392>. 80
- SCHMID, F., J. REICHOLD, B. WEBER et P. JENNY. 2015, «The impact of capillary dilation on the distribution of red blood cells in artificial networks», *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, vol. 308, n° 7, doi:10.1152/ajpheart.00335.2014, p. H733–H742, ISSN 0363-6135. URL <http://ajpheart.physiology.org/content/ajpheart/308/7/H733.full.pdf>. 70
- SECOMB, T. W. 2016, «Hemodynamics», *Comprehensive Physiology*, vol. 6, n° 2, doi:10.1002/cphy.c150038, p. 975–1003. URL <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.c150038>. 75
- SECOMB, T. W., B. STYP-REKOWSKA et A. R. PRIES. 2007, «Two-dimensional simulation of red blood cell deformation and lateral migration in microvessels», *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 35, n° 5, doi:10.1007/s10439-007-9275-0, p. 755–765, ISSN 00906964. 69
- SHEN, Z., G. COUPIER, B. KAOUI, B. POLACK, J. HARTING, C. MISBAH et T. PODGORSKI. 2016, «Inversion of hematocrit partition at microfluidic bifurcations», *Microvascular Research*, vol. 105, doi:10.1016/j.mvr.2015.12.009, p. 40–46, ISSN 10959319. 75
- SUN, C. et L. L. MUNN. 2005, «Particulate nature of blood determines macroscopic rheology: A 2-D lattice Boltzmann analysis», *Biophysical Journal*, vol. 88, n° 3, doi:10.1529/biophysj.104.051151, p. 1635–1645, ISSN 00063495. URL <http://dx.doi.org/10.1529/biophysj.104.051151>. 69
- SUTERA, S. P., V. SESHADRI, P. A. CROCE et R. M. HOCHMUTH. 1970, «Capillary blood flow. II. Deformable model cells in tube flow», *Microvascular Research*, vol. 2, n° 4, doi:10.1016/0026-2862(70)90035-X, p. 420–433, ISSN 10959319. 74
- TUMA, R. F., W. N. DURAN et K. LEY. 2002, *Handbook of Physiology – Microcirculation*, 2<sup>e</sup> éd., ISBN 978-0-12-374530-9. v, 72, 73
- VINK, H. et B. R. DULING. 1996, «Identification of Distinct Luminal Domains for Macromolecules, Erythrocytes, and Leukocytes Within Mammalian Capillaries», *Circulation Research*, vol. 79, n° 3, doi:10.1161/01.RES.29.5.437, p. 581–589, ISSN 00097330. 75

YEN, W. Y., B. CAI, M. ZENG, J. M. TARBELL et B. M. FU. 2012, «Quantification of the endothelial surface glycocalyx on rat and mouse blood vessels», *Microvascular Research*, vol. 83, n° 3, doi:10.1016/j.mvr.2012.02.005, p. 337–346, ISSN 00262862. URL <http://dx.doi.org/10.1016/j.mvr.2012.02.005>. 75

### **3.6 Article en cours de soumission**



# From whole-organ imaging to in-silico blood flow modeling : a new multi-scale network analysis to revisit tissue functional anatomy

August 3, 2018

Pol Kennel<sup>1†</sup>, Jules Dichamp<sup>1†</sup>, Corinne Barreau<sup>4</sup>, Christophe Guissard<sup>4</sup>, Lise Teyssedre<sup>2</sup>, Jacques Rouquette<sup>2</sup>, Julien Colombelli<sup>3</sup>, Anne Lorsignol<sup>4</sup>, Franck Plouraboué<sup>1\*</sup>, Louis Casteilla<sup>4</sup>

(1) Institute of Fluid Mechanics of Toulouse (IMFT), Toulouse University, CNRS, INPT, UPS, Toulouse, France.

(2) ITAV, USR3505 CNRS, Toulouse, France.

(3) Core Facilities & Advanced Digital Microscopy (ADM), Barcelona, Spain.

(4) CNRS 5273; UMR STROMALab, BP 84225, F-31 432 Toulouse Cedex 4, France.

(†) Both authors equally contributed

(\*) Corresponding author: franck.plouraboue@imft.fr

## Abstract

We present a multi-disciplinary image-based blood flow perfusion modeling of a whole organ vascular network to analyze both its structural and functional properties. We show how the use of Light-Sheet Fluorescence Microscopy (LSFM) permits whole organ micro-vascular imaging. Using adapted image post-treatments workflow, we have been able to segment, vectorize and reconstruct the entire micro-vascular network composed of 1.7 millions vessels, from tissue-scale, inside a  $\sim 25 \times 5 \times 1 = 125\text{mm}^3$  volume of mouse fat pad, hundred time larger than previous studies, down to cellular scale at micron resolution, into which the entire blood perfusion is modeled. Adapted network analysis reveals a new, impredesently rich picture of meso-scale tissue structural and functional organization into strongly connected communities of vessels. These communities share out a distinct heterogeneous core region and a more homogeneous peripheral one, consistently with known biological functions of fat tissue. Graph clustering analysis also displays two distincts robust meso-scale typical sizes, providing, for the first time, strongly connected functional communities, as a signature of heterogeneous micro-environments.

# 1 Introduction

A better understanding of organs functions and dysfunctions requires a better knowledge of multiple, complex, dynamic and spatially organized cell interactions inside the whole organ. These interactions are largely dependent of the local oxygen tension and the supply of substrates brought by microvasculature. All these elements define a set of interacting heterogeneous microenvironments most often poorly characterized. If numerous progresses have been described using imaging to identify and define such microenvironment individually, the global map of these subsets at the scale of a whole organ is most often lacking. This is due to several technological locks from imaging to the treatment of large set of data. Indeed, to achieve the description at the scale of a whole organ, this required the ability to image the whole tissue in its depth with a cell resolution, then to digitalize and vectorize the large set of data corresponding to the image and finally to find a way to manage the set of data in order to draw the map and model of its functioning.

Optical imaging of micro-vasculature has recently shown considerable progress with the use of various microscopy techniques [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8] and opens the door to reconsider functional anatomy of large tissue volume. Indeed vascular structures provide non-local (graph-based) structural informations, directly relevant to perfusion and metabolic exchanges, for which an *in silico* tissue-scale analysis can bring significant understanding to tissue functions. Large tissue imaging has been the purpose of various studies, particularly in the context of brain perfusion analysis [9, 3, 10, 11, 12, 5, 4]. Furthermore, large-scale organization analysis has already been pursued in the context of brain connectivity [13] with the aim of mapping functional couplings between various areas. These studies infer structure/function properties of a given tissue from the combination of cellular and micro-vascular imaging as well as perfusion modeling.

The impressive and recent developments of tissue preparation for LSM, *i.e.* clearing, staining, labeling [14, 15, 16, 17], is now offering new prospects for deciphering supra-cellular organizations in tissues and revisiting vasculature and functional anatomy of large tissue volume and the ability to segment, detect, and quantify biologically relevant structures and patterns, especially vessels [18, 19, 20, 9]. These recent developments also raise new challenge for being able to digitalize and treat massive 3D data. A first but limited step was done by Kelch et al. [2] that analyzed the lymph nodes from a dedicated and precise imaging of its micro-vascular structure as well as its topological organization. In order to go further to take up the challenge of whole tissue, inguinal fat pad is a very convenient and relevant and a major subject of biomedical interest. Beside the easiness of its accessibility, it can be cleared to image the whole tissue and its key role in physiopathology of metabolic disorders invading worldwide depends on the crucial role of perfusion in metabolic regulation and energy storage [21, 22]. Our study describes very significant steps forward into three directions: (i) we describe how an entire micro-vascular network of tissue can be imaged, segmented and reconstructed, over a volume hundred time larger than the ones examined in previous studies[3, 11], (ii) we examine the functional role of micro-vascular perfusion from using blood flow modeling in the resulting network having 1.7 million of vessels, (iii) we analyze the structural and functional organization of the tissue using network clustering techniques adapted to this biomedical context.

## 2 Results

### 2.1 Tissue organization both at the macro and micro-circulatory scales

The extracted macro-vascular network (Fig. 1a) follows the known main anatomical architecture of the tissue: a principal longitudinal (apex-groin) axis, bifurcating nearby the lymph node into a 'T' shape leads to the major arterial and veinular pair [23]. The main macro-vascular artery inlet, associated with a main vein outlet, is located on the left of the tissue and are responsible for the main perfusion. Image acquisition of the whole tissue, (Fig. 1d), and segmentation of its entire vascular network (Fig. 1e) allows quantifying micro-vascular networks with their associated local parameters (diameter, segment length, orientation, density, etc... Fig. 1b & Fig.2) at micron scale resolution. The aspect ratio (radius, i.e half-diameter, divided by length) of vessels is, in average small ( $\simeq 1/8$ , Fig. 2b), so as to justify the use of lubrication based discrete network approach (material and methods section 4.7). The segment's orientation distribution at bifurcations given in Fig. 2a displays two predominant configurations, a T-shape associated with quasi-aligned daughter and parent branch (first mode of  $\varphi_1$  distribution and second shouldering of  $\varphi_2$  one), and a Y-shape family one (second mode of  $\varphi_1$  distribution, first mode of  $\varphi_2$ ).

Furthermore, these structural local parameters permit to define vascular graph (Fig. 1c) and vessel's density (Fig. 2c). In the contrast to many other contexts the structure of the local graph  $G_v$  of micro-vascular networks is very simple: almost all bifurcations result from the connection of two distinct vessels into a single one or vice-versa (Fig. 1h, i), but for one for inlets/outlets and/or dead-end nodes or sprouts. The vascular graph can be manipulated by associating different graph weight  $w_i$  (e.g  $w_0$  in Fig. 1c), i.e. the quantity associated with the edge between each connected nodes, which is provided in order to consider different relationships between elementary nodes.

The evaluation of the vascular density inside boxes of varying sizes (from  $100\mu\text{m}$  to  $400\mu\text{m}$ , Cf Fig. 2c as done in [24]) produces variable density distributions without the emergence of an homogeneous lengthscale and thus reveals a strong heterogeneity. Similarly, the hydraulic resistance (section 4 and SI Fig. 8d) and the pressure distribution inside the vascular network (Fig. 8a, b, c) display various heterogeneous scales. Various vascular characteristic scales thus surface from our analysis, the presence of which highly suggest a meso-scale organization that we would now like to subsequently investigate.

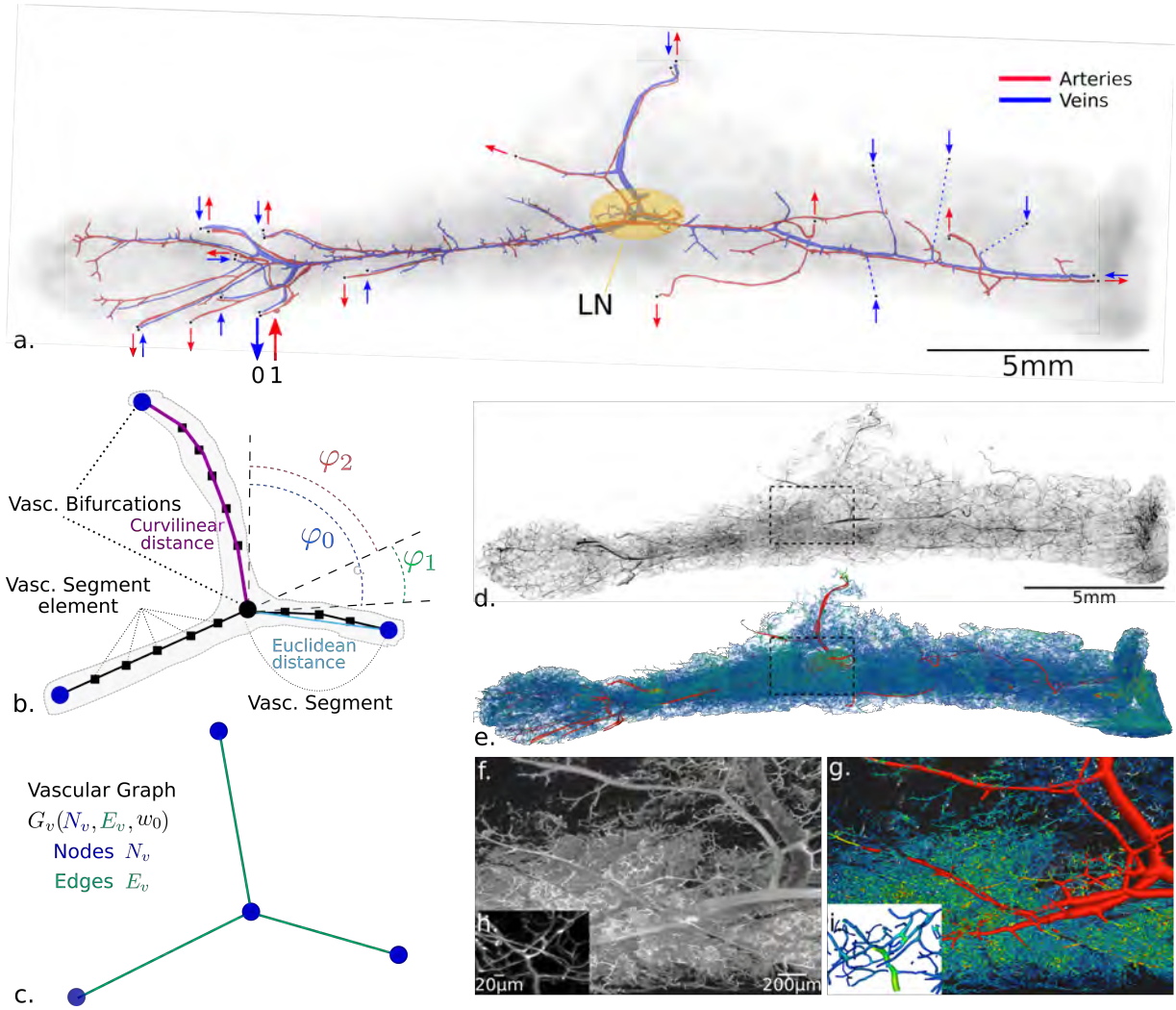


Figure 1: **Original image and reconstructed network visualization.** (a) Schematic representation of the macro-circulation : arteries (in red) and veins (in blue). Large red arrows indicates the flow directions associated with the main feeding artery inlet into which (dimensionless)  $p = 1$  pressure is applied. The nearby large blue arrow also indicates the main draining vein outlet where (dimensionless) pressure is set to  $p = 0$ . All others secondary vein inlets and artery outlets of the network are indicated with smaller arrows. The location of the central lymph node (LN), is illustrated by the yellow ellipse. Details on boundary conditions can be found in SI. (b) Schematic representation of the vascular network with angle conventions and (c) of the vascular graph with common key concepts in both cases. (d) Maximum Intensity Projection (MIP) of the full fat tissue imaged with LSFM, the volume of which is  $\sim 25 \times 5 \times 1 \text{ mm}^3$ . (e) The vascular network extracted from the image (a) based on image deconvolution, segmentation and vectorization. The vascular graph is composed of  $\sim 1.7 \cdot 10^6$  edges and  $\sim 1.2 \cdot 10^6$  nodes. (f) Volume rendering of a small extent highlighted in (a) for a small range of slices (for a total of  $\sim 250 \mu\text{m}$  width) with in (g) the corresponding reconstructed vascular graph. (h) and (i) higher zoom levels of (f) and (g) highlighting the high resolution ( $0.96 \mu\text{m}$  voxels width) needed for micro-capillaries segmentation.

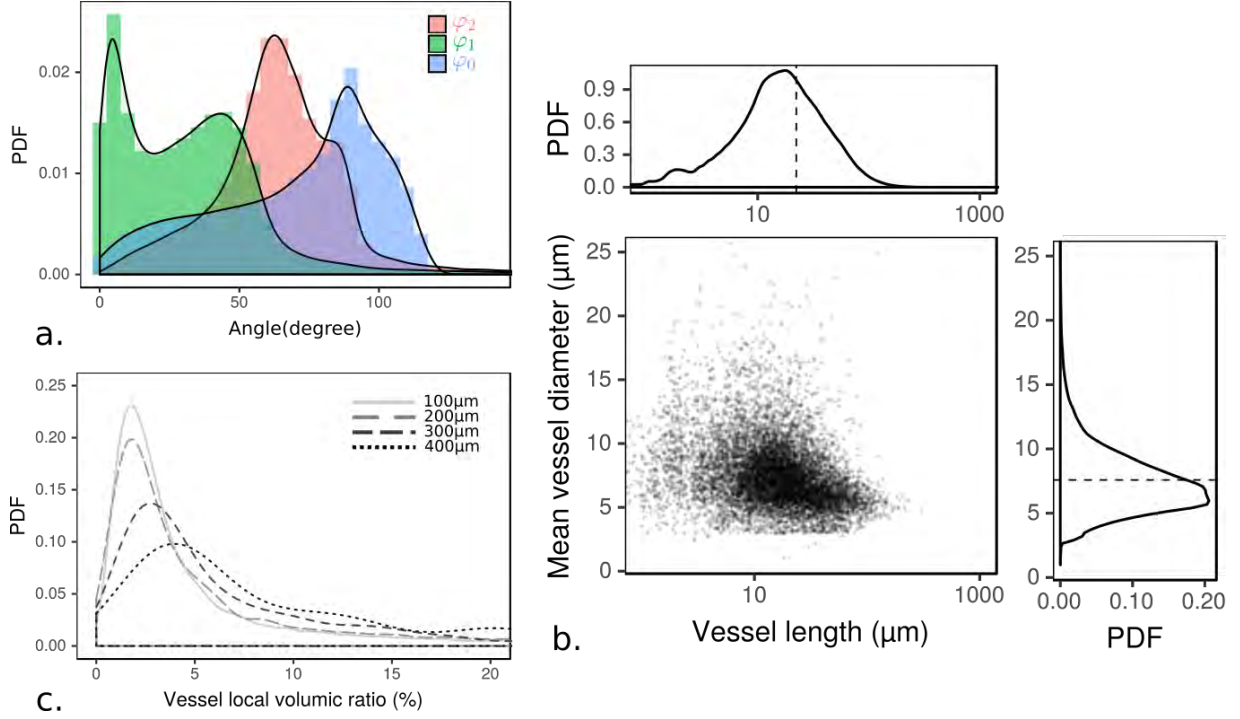


Figure 2: **Vascular network statistics.** (a) Histogram distribution of bifurcation angles (Cf Fig. 1(b) for angle conventions). (b) Vessel statistics regarding vessel length and diameter. The average aspect ratio is found equal to  $D/2L \simeq 1/8$ . (c) Local vascular density (volumetric ratio) distribution measured in whole network according to four elementary box sizes width from  $100\mu\text{m}$  to  $400\mu\text{m}$ .

## 2.2 Structural units emerging from clustering analysis

Meso-scale vascular organization results from clusters of vessels related by a close proximity (either from structural or functional relations). Graph clustering is an established technique mostly used in computer science for application in web network, social networks, etc..., which permits to decipher preferential information transfer between meso-scale entities that we adapt here for vascular network as in [3]. The minimum unit of vascular graphs is a simple local tree (Fig. 1h, i), the structural interest of which appears more complex than thought at a broader scale (Fig. 1f, g). We will now refer to the result of the clustering as communities.

Here we consider two classes of geometry and perfusion based family for weights  $w_i$  associated with vascular segment edges (i) a structural relationship, either associated with  $w_0, w_1, w_2$  for topological connection (e.g Fig.1c), Euclidian distance (Fig. 1b) or curvilinear (Fig.1b) respectively, (ii) a perfusion related relationship either associated with  $w_3, w_4$  for vessel's resistance or conductance respectively. For each weight a different set of communities is obtained, with one result for weight  $w_0$  exemplified in Fig. 3a, b, c, d. Before discussing in detail the differences obtained with these various weights, let us first focus on the results obtained with the simplest one  $w_0$ , for which the relation between entities is binary (1 for a connection, 0 else).

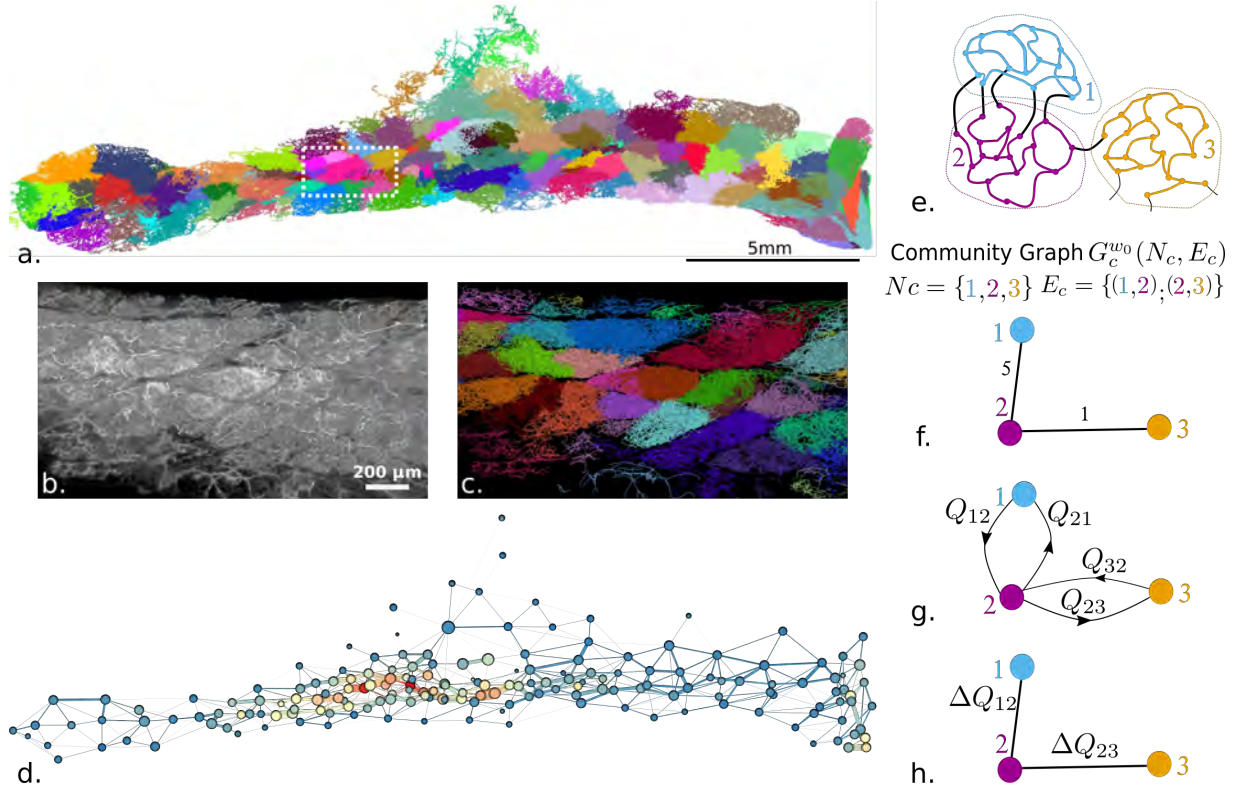


Figure 3: **Vascular graph clustering.** (a) Illustration of the community clustering applied on the vascular network using unweighted vascular graph representation  $w_0$ . Color codes for community membership. (b) and (c) illustrate respectively the image volume rendering of the original image and the vascular graph segmentation of a subvolume ( $\sim 100\mu\text{m}$  width) extracted in a dense and modular area of the tissue near the central lymph node (white dotted rectangle depicted in (a)). (d) Graph representation of the communities : the circles are located in communities centers projected in the  $(x, y)$  plane whereas their sizes code for their volumes and color for their vascular density (volumic ratio from 0% to 20%) illustrated with a cold-to-warm color scale. Schematic illustration of (e) vascular communities, (f) structural community graph with the number of vessels connecting two communities as edges weights (5 and 1 here), (g) bi-functional community graph with in/out fluxes  $Q_{ij}$  as edges weights, (h) functional community graph with the in/out fluxes absolute difference  $\Delta Q_{ij} = |Q_{ij} - Q_{ji}|$  between two communities as edges weights

Fig. 3 illustrates the spatial extent of the communities, all having vascular segments with homogeneous color. A zoom inside a sub-domain of the 3D volume depicted in Fig. 3b shows structural entities which can be visually identified from vascular densities contrast. The resulting graph communities spatially mapped into the vascular network with color codes (Fig. 3c) closely follow the shape of these visible structures. This observation illustrates and validates the relevance and interest of community clustering to be able to detect and isolate vascular structural entities. Community of vessels (Fig 3e) can be schematically represented as a graph where adjacent communities are linked by an edge coding the number of vessels (structural community graph Fig 3f) or in/out fluxes (bi-functional community graph Fig 3g). Such a structural community graph is illustrated in Fig. 3d, in which distance between communities, volumes, as well as vascular density are also coded, revealing spatial heterogeneity of the vascular density distribution inside the tissue. The important vascular density variations already revealed from the wide distribution of the vascular densities histogram of Fig. 2c can now be much more precisely attributed to the presence of structural entities, the spatial distribution of which is neither regular nor patterned. A clear structural trend emerges from Fig. 3d: highest vascular densities (red and oranges

circles) are found in a core region, nearby the trajectory of the main feeding artery (shown on Fig. 1a). Fig. 4 shows the comparison of clustering results associated with various graph weights.

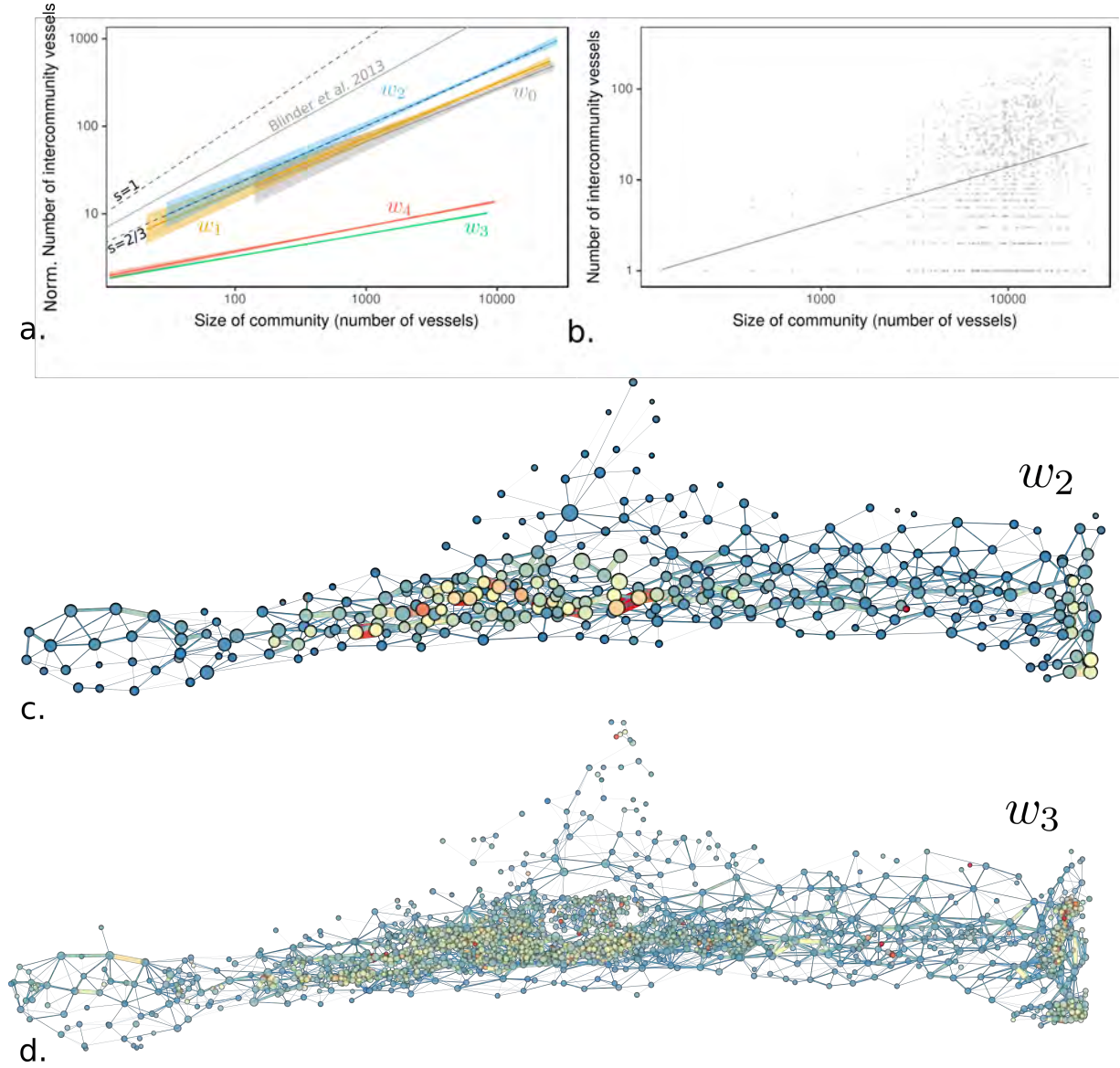


Figure 4: **Community strength comparison.** (a) Linear regressions of the scatter plot of the number of vessels between each pair of communities versus the number of vessels in the community (e.g. for each community of Fig. 3(e), number of colored edges versus number of black edges). Full lines are the linear regressions for each clustering weight  $w_i$ :  $w_0$  no weight (slope  $s=0.61$ ),  $w_1$  Euclidean distance (Cf Fig. 1b) ( $s = 0.62$ ),  $w_2$  curvilinear distance (Cf Fig. 1b) ( $s = 0.66$ ),  $w_3$  hydraulic resistance (Cf SI) ( $s = 0.25$ ),  $w_4$ : hydraulic conductance (Cf SI) ( $s = 0.28$ ). The gray curve is the result of Blinder et al. [3] with  $s = 0.83$ . Dashed lines delimit the boundaries of weak communities (hence having strong connections between units) with slopes  $s = 2/3$  and  $s = 1$ . Shaded areas are the standard errors associated to each regression. The linear regressions are normalized to have a zero offset at the origin. (b) Non-normalized scatter plot for weight  $w_0$  with the associated linear regression in solid line. All other non-normalized data are provided on SI 5.2.(c resp. d) Graph representation of the communities obtained from clustering with different weights ( $w_2$  resp.  $w_3$ ). The circles are located in communities centers projected in the  $(x, y)$  plane whereas their sizes code for their volumes and color for their vascular density (volumic ratio from 0% to 20%) illustrated with a cold-to-warm color scale.



In order to evaluate connectivity of communities, we compute for each pair the number of external connecting vessels  $N_{ev}$  (e.g. for communities of Fig. 3e, number of black edges) and plot it against the number of internal vessels  $N_{iv}$  (e.g. for community #1 of Fig. 3e, number of blue edges). From the power law scaling of  $N_{ev}$  against  $N_{iv}$ , such a representation allows to delineate a zone of weak communities when the slope of the scaling is between 2/3 and 1 (larger than a surface to volume ratio). Additionally, strong communities are found when the slope of the scaling is less than 2/3. An example of clustering result from weight  $w_0$  is displayed in Fig. 3b. Considering the first family weights (i) ( $w_0, w_1, w_2$ ), we observe in Fig. 4a that the number of vessels connected with external ones are indeed found to scale similarly with the number of internal links  $N_{iv}$  of the cluster, so that, in this case,  $N_{ev} \sim N_{iv}^{0.63 \pm 0.03}$ . The lower bound scaling for weakly connected units, being a 2/3 power law, our results indicate that structural clustering results in already quite strongly connected units. Considering the second class (ii) of weights  $w_3, w_4$ , an even more significantly different scaling is found  $N_{ev} \sim N_{iv}^{0.27 \pm 0.01}$  revealing strongly connected perfusion communities. This very distinct behavior shows that clustering using structural weights (i) ( $w_0, w_1, w_2$ ) or functional weights (ii) ( $w_3$  &  $w_4$ ) identifies vascular structural units that display quite distinct vascular densities and sizes (SI Fig. 10a, b & e, f).

Furthermore, the number of connected vessels associated with the edge sizes of Fig. 4, show more heterogeneous couplings between structural communities (Fig. 4c) as compared to smaller and more homogeneous ones for functional communities (Fig. 4d). Whatever the family weight  $w_i$  the cluster distribution is spatially heterogeneous with stronger connections in the core region (confirmed by several metrics in SI Fig. 11). We now investigate how these structural communities are functionally coupled.

### 2.3 Vessel-communities perfusion coupling map

Here we consider functional perfusion distribution between communities. We focus our analysis toward the clustering results obtained from one structural weight (i.e.  $w_2$  associated with the curvilinear distance defined in Fig. 1b) since structural weights provide most anatomical relevant (compared to [23]) partitioning of vascular entities based on qualitative visualization as illustrated in Fig. 3b,c. We analyze the total perfusion exchange fluxes between any given pair of communities (as commercial exchanges between countries, Cf Fig. 3g) denoting  $Q_{c_i, c_j}$  the total flux from community  $c_i$  to  $c_j$  i.e.  $Q_{c_i, c_j} = \sum_{k \in K_{c_i, c_j}} Q_k$ , where  $K_{c_i, c_j}$  is the set of vessels connecting communities  $c_i$  and  $c_j$ , flux  $Q_k$  being directed from  $c_i$  to  $c_j$  ( $Q_{c_j, c_i}$  is defined vice-versa).

Computation graph authority (Cf Section 4.6 for definitions) associated with functional graph features (Fig. 5a,b) reinforces the identification of a core region previously found for structural properties (Cf Fig. 4c,d). Blood perfusion thus confirms the spatial organization of the graph communities (Hub graph feature gives similar results, not shown here).

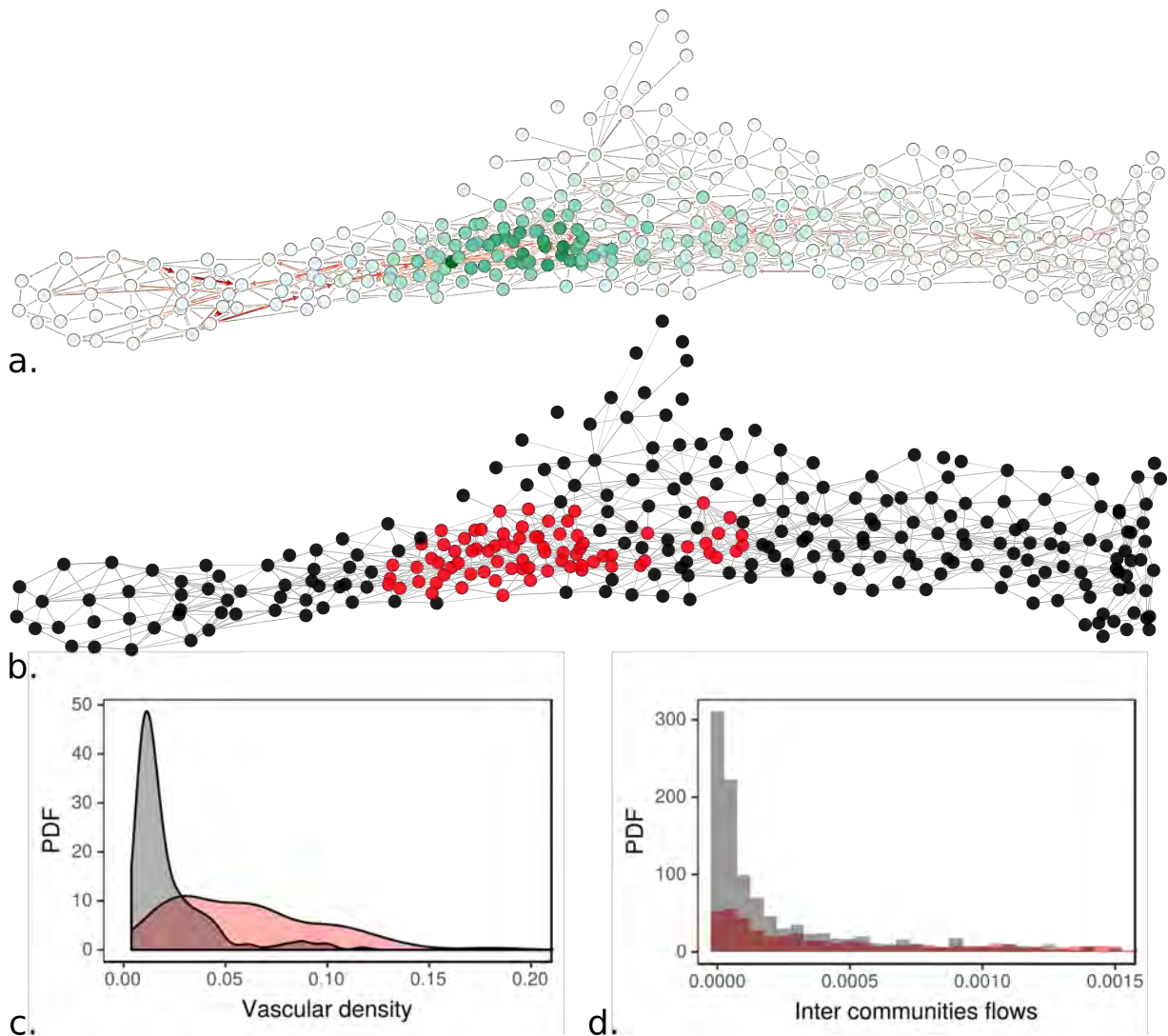


Figure 5: **Communities network analysis by graph authority feature.** (a) Graph authority feature on the bi-functional (Cf Fig.3g) communities graph. (b) Identification of central area by selecting nodes with the authority graph feature ( $> 0.04$ ) core in red, peripheral in black. (c) Histogram distribution of vascular densities ( mean vascular densities equals 0.06 for red, 0.02 for black), Kruskal-Wallis rank sum test: p-value  $< 2.2e-16$ . (d) Inter communities flows. Mean flow inside (red): 0.0079, outside (black): 0.0212, Kruskal-Wallis rank sum test: p-value  $< 2.2e-16$ .

Furthermore, Fig. 6a shows that the core region strongly co-localizes with largest perfusion exchanges where macro-circulation vessels illustrated in Fig. 1a are also present.

Finally, the perfusion dynamics (Cf SI for more details & movie) permits to re-inforce the core region prerogatives since Fig. 6b shows that these central communities are fed first, but also have heterogeneous filling times. Similar heterogeneities of filling times are also observed outside the core region.

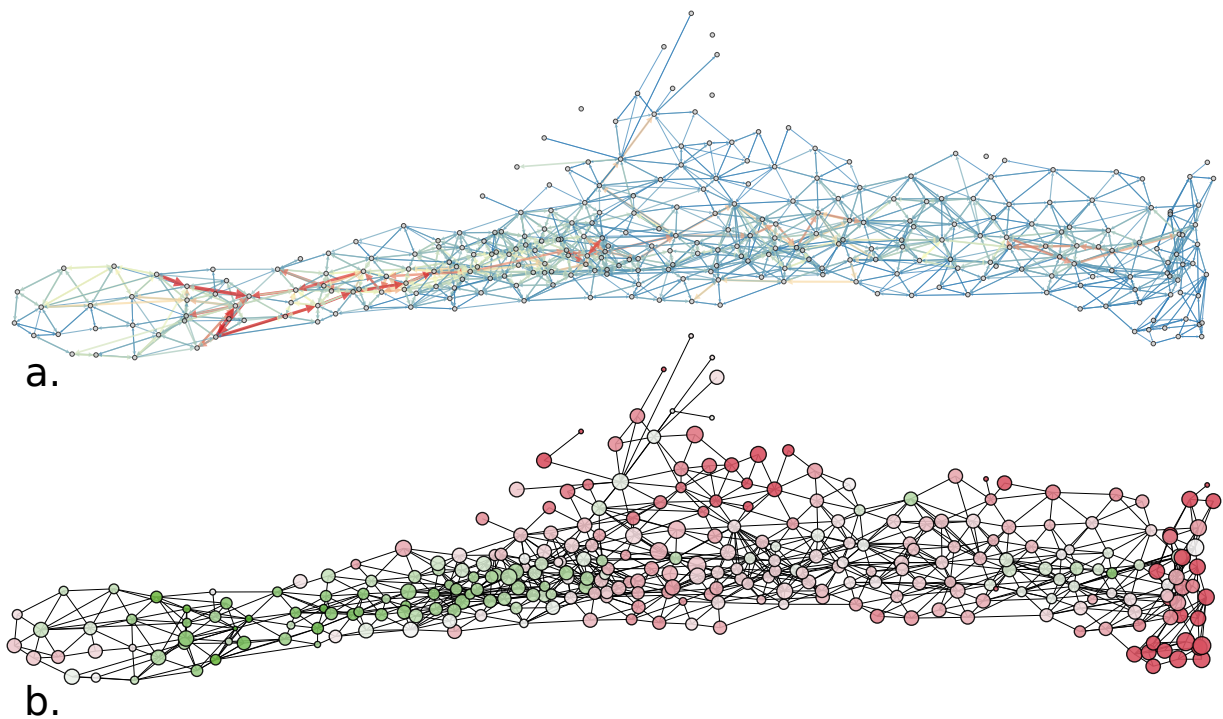


Figure 6: **Integration of flow functional properties in graph representation.** (a) Bi-functional community graph (as defined in Fig. 3(g)) with edges colored and sized by the perfusion fluxes (two arrows per edges for in/out fluxes not always visible from fluxes asymetry) (b) Dynamics of perfusion at communities scale. The nodes are sized according to the relative filling time of each community and are colored according to the fluid global time arrival (with a green-to-red scale), meaning green nodes are fed first and red ones last.

### 3 Discussion

Organ-scale supra-cellular coupling and exchanges represents crucial complex systems the study of which has been poorly addressed. In this contribution, we show that a sensible step forward in this direction can be performed for the extensive analysis of detailed perfusion at tissue scale. Indeed, micro-vascular imaging, post-processing and modeling present many challenges, associated with combining together high-image quality, huge data processing, and dedicated modelling issues. In this paper we showcase that these challenges can be overcome to provide an emerging picture of tissue structural and functional anatomy. First, combining specific tissue preparation techniques (clearing and sample positioning) with a dedicated large-scale LSFM set-up permits to achieve high quality images, the mosaic of which reach altogether, close to Tera-octet memory size. Second, we apply (parallel) image processing tools and pipelines (stitching, registration, deconvolution, binarization, skeletonization) to this massive volume of data so as to segment and vectorize vessels, resulting in a huge memory saving for the manipulation and analysis of micro-vascular networks having 1.7 million vessels.

The use of such pipelines in previous section (Fig. 1 and Fig. 2) provides sensible structural measurements about vessel's geometries and shape: vascular density, vessel lengths, orientations, micro/macro separation, spatial location, arterial and venular territories, providing an unprecedentedly precise picture of local heterogeneities and couplings. Third, we present how vessel's graph can be sparsely manipulated within network clustering analysis techniques so as to bring to the fore both structural and functional (i.e. blood flow related) units.

Turning to the biological significance of the results, two distinct, structural and functional family of graph weights  $w$  have been chosen that provide two family of homogeneous results (Fig. 9). Structural clustering provides about two hundred clusters, the largest being also the more connected inside the center of the tissue, in the proximity of the principal feeding artery. The average volume of these clusters corresponds typically to seventy adipocytes cells (having around twenty microns in diameters). Functional clustering provides about ten times more clusters, the size of which are smaller and denser in the central region having very rich inter-connexions, and larger cluster in the periphery, much less connected one-another. The average volume of these clusters corresponds typically to eight adipocyte cells.

Regarding the results associated with structural clustering, we find that proximity between vessels permits to confirm the presence of large, well-connected structural units. These 'anatomical/structural' clusters are heterogeneous, but located in the vicinity of the principal arterial trunc and the lymph node. Similar structural entities have been previously described [23] using different imaging modality (i.e. confocal microscopy and epifluorescent immuno-staining). These entities have been found to concentrate adipocytes having discriminant browning potential [23]. On the contrary to a central region located nearby the lymph node where structural entities have been found and identified, a peripheral region having no particular structural units have also been previously described [23]. Both central and peripheral regions are recovered in the clustering analysis described in previous section and some explicit example of clustering segmentation have permitted to distinguish central and peripheral clusters, as illustrated Fig. 5. Furthermore, various structural graph properties (such as centrality and authority in Fig. 11) clearly strongly correlate with local anatomical features (vascular density, vessels connections in Fig. 1) as well as functional ones (total blood perfusion and exchange flux in Fig. 6, perfusion time in Fig. 6). Hence, there is a body of evidence for the existence of a central, well-perfused, strongly connected, highly coupled region as opposed to a more unstructured, poorly connected, peripheral organisation of fat tissue. Even if a similar conclusion was raised earlier [23], our study provides a significantly more quantitative, objective and functional signature of it. Furthermore it is interesting to mention that this distinct structural regionalization is not obtained from a direct visualization of a targeted cellular function but emerges from a non-biased structural analysis of the micro-vascular organization itself. It thus reflects an emergent structural property of the network. Since both local cellular functions and vascular structural organization provide very similar qualitative patterns of organization, their biological and metabolic relevance is thus strengthened. These new results also demonstrate that the vascular density of clusters located nearby the central feeding macro-vessels is much larger than in the periphery, the vessel volume being able to reach values as large as 20% of the total volume inside some clusters. Compared with other organs such as brain (where grey matter vascular density display an average 2-3% in primate or rodent (Cf [24, 25] and references therein), such large vascular density is very significant. Only few specific organs such as kidney or spleen, can reach similar vascular density. Hence, it emphasizes

the relevance of micro-vascularization in the metabolic and endocrine role of fat tissue.

In a broader context, the relevance of graph-based analysis associated with tissue-scale vascular networks offers great potentials for deciphering the presence of micro-environment in tissues, as well as inter-compartments exchanges. It has previously been investigated in the brain in the search for micro-vascular units [3], as possible echos of neuronal units, such as barrels in somatosensory cortex. Nevertheless, [3] did not found strongly connected vascular communities in the cortex, i.e no 'graph-based vascular barrels'. This negative result might result from finite sample edges influence reconstructed from cutted samples. Being able to analyze the reconstructed vascular network inside an entire tissue permits to reconsider this issue with a new light. In fat tissue, we show that strongly connected vascular units are indeed emerging from this analysis, also displaying heterogeneous functional couplings. Many endocrines organs exhibit strongly localized specific metabolic functions, the detailed coupling of which by perfusion is very poorly known. The hereby developped graph-based vascular approach offers great potentials to better estimate fonctionnal couplings and heterogeneities in these organs.

Now turning to the community clustering results associated with perfusion oriented weight, we found similarities and differences with structural weights. As compared with results obtained in the brain, [3] where no strong communities have been found this result is significantly different. It shows the presence of vascular communities the structure of which is strongly correlated with perfusion modeling.

It is nevertheless important to mention that the reported results of [3] in Fig. 4a considering a weight based upon the hydraulic resistance with a different empirical viscosity model. On the contrary to structural weights, functional weights bring to the fore new small-scale fonctionnal entities associated with a much smaller volume . Furthermore, these small clusters are much strongly intra-connected, as shown in Fig. 4. This observation might have implication in the future, since this might be related to tissue remodeling scenarios. Indeed, small-scale perfusion units could be versatile and flexible to structural changes for angiogenesis. The fact that such small scale units is much more numerous inside the large central clusters might be the consequence of preferential remodelling capability consistent with their attested browning potential. A parallel remark could similarly be raised in the peripheral region where small scale clusters are much less dense and numerous, whereas no browning potential were observed there [23]. The paradigm of isolated lobules [23, 26] as autonomous and disjoint metabolic functional entities in adipose tissue is clearly to be revised. Our analysis rather suggests various scales of communities, which are clearly spatially and fonctionnally distincts but strongly coupled.

Now considering the perfusion map estimated from modelling in the previous section and analyzed within the structural clustering family, various comments and conclusion can be drawn. First, the total perfusion fluxes entering or leaving any cluster entity (the input flow exactly equals the output flow because of blood incompressibility) provides a first estimate of the metabolic dynamism of each entity. To our knowledge, our study provide for the first time a very refined distribution and regionalized perfusion fluxes into the tissue.

As expected, we found that the central units associated with community class are indeed the ones for which largest fluxes are observed. More objectively, considering structural topological parameters (centrality) in order to distinguish the center from periphery, we found significantly different perfusion rates in central region than in periphery (cf. SI). This observation is not so surprising since the central clusters are indeed located in the proximity of the main feeding artery so that some clusters are directly provided for. Nevertheless, this is not the case for every one of them, so that, more complex flow patterns are responsible for the strong perfusion found in various places of central region. Indeed, flow modeling also reveals important visible local heterogeneities that have not been reported elsewhere. We also analyze the metabolic coupling between clusters (i) from considering the perfusion flux between them. In this case, we did not found a significant difference of perfusion exchanges in the central region as in the peripheral one. This might be due to the strong heterogeneity in perfusion exchanges in both regions. Finally when considering the perfusion time, i.e. the time for the blood to either reach or fill a given cluster, Fig. 6 (as well as SI movie) clearly shows that the central region is first fed by the principal arterial trunk.

In conclusion, our study has demonstrated the interest of new imaging and segmentation tools for analyzing structural and functional organization in tissue. We believe the presented methods as well as their technical improvements will be useful in many biological and biomedical, tissue oriented, future studies.

## 4 Material and Methods

### 4.1 Tissu preparation

The mice under study was anesthetized by intraperitoneal injection of ketamine/xylazine mix. Then an in-vivo retro-orbital lectin injection was performed so as to achieve a proper vessels labelling. Before tissues removal, animals were perfused intracardially with 4% paraformaldehyde solution. Tissue was then removed, oriented and post-fixed overnight, sunk in phosphate buffer saline. Afterward, tissue was embedded in 1% agarose before being dehydrated by ethanol then cleared by incubation in benzyl alcohol-benzyl benzoate solution (BABB, 1:2 vol:vol ratio) (Sigma Aldrich). The sample is illustrated in Fig. 7.a. All experiments were carried out in compliance with European Community Guidelines (2010/63/UE) and approved by the French ethics committee. Experiments were performed on 6- to 8-week-old male C57BL/6J mice (Harlan Laboratories) on a 12h light/dark cycle with free access to food and water.

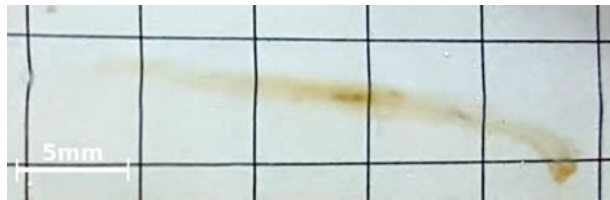


Figure 7: Photography of the cleared mice inguinal adipose tissue.

### 4.2 Light-sheet Fluorescence Imaging

Cleared sample was imaged on a custom Single Plane Illumination Microscope (SPIM) based on cylindrical lens illumination with 488 and 561nm lasers (Oxxius, France), and a horizontal macroscope detection. The lens for the formation of the light-sheet was a  $f=50\text{mm}$  cylindrical lens coupled with a slit aperture of max. 7mm opening to control the thickness and flatness of the illumination beam. The resulting thickness of the light-sheet at the waist varies from  $5\mu\text{m}$  to  $50\mu\text{m}$  according to the slit aperture. The thickness  $T$  was set to  $T = 35\mu\text{m}$  to fit the largest Field of View at the lowest magnification (i.e. 1.2X). The macroscope is a Nikon AZ100M macroscope with an air lens of 2x magnification, providing a 8-fold zoom factor. Imaging in clearing media was done through a 2mm Glass wall of a polished cuvette. Rotation of the sample was performed from below the sample, acting on the agarose block embedding the sample, with a driving rotation stage (M116-DGH, Physik Instrumente, Karlsruhe, Germany). Detection was performed with 50nm band-pass filters mounted in a filter wheel (LB10, Sutter Instruments, Novato, CA-USA) and a CCD camera (ORCA-R2, Hamamatsu, Japan). Fig. 1d illustrates the resulting typical image of vascular network with voxel size of  $0.967 \times 0.967 \times 2\mu\text{m}$ . The full tissue acquisition consists of 28 tiles images of  $1500 \times 2048$  XY voxels resolution with variable depth (Z dimensions) from 400 to 1500 voxels for a total  $\sim 120\text{GB}$  raw/16bits data. These tiles are stitched using the method described in [27].

### 4.3 Network extraction

First, tiles images are interpolated in Z direction with cubic splines so that voxels match an isotropic dimension of  $0.967\mu\text{m}$  width and are then subdivided in  $256^3$  voxels blocs which can be processed simultaneously. Image deconvolution is then applied. Richardson-Lucy (RL) algorithm is already used to remove artifacts from light microscopy (e.g. [28]) and has proven appropriate and accurate for LSM deconvolution [29, 30] even though computationally challenging. Without the use of beads the efficient estimate of the Point Spread Function (PSF) becomes challenging especially when its shape varies for spatially inhomogeneous light-sheet depth. Since we chose a large light-sheet depth and FOV, we consider a spatially homogeneous PSF designed with a Gaussian shape for which its standard deviation  $\sigma(z) = 11\mu\text{m}$  is related to the light-sheet depth (cf. section 4.2). We set  $\sigma(z) \simeq T/3$ , so that 95% of the light-sheet intensity Gaussian profile is recovered. We then used the RL iteration updates with a Total Variation (TV) regularization.

Deconvoluted images are then simply thresholded and the resulting binary images are then used for network extraction. The spatial graph representing the vascular network is built-up according to the vectorization of the binary image as described in [31]. Vessels center lines are extracted with an appropriate homotopy preserving skeletonization method [31]. The graph  $G_v = (V_v, E_v)$  is then created where  $V_v$ , the set of nodes, is extracted from branching-voxel and end-voxel, and  $E_v$ , the set of edges, is extracted between connected node-voxels of the vessel skeleton. An edge is composed of a chain of center line voxels comprised between two nodes. Vessel radii are estimated following [25]: for each segment-element and node (illustrated in Fig. 1b), a sphere is expanded until 10% of its volume is left outside the vessel shape in the binary image. Fig. 1e illustrates the network extracted from Fig. 1d with tubular-like visualization in Avizo (©FEI) software. Once each of the  $256^3$  voxels blocks have been vectorized, networks are stitched according to global coordinates found in the previous section and merged with a simple coupling procedure to obtain the full network.

The above-described image processing is effective only on capillary vessels but not on macro arteries and veins since they present different morphologies and responses to the lectin labelling. Capillary vessels ( $<50\mu\text{m}$ ) appear as filled near tubular structures where arteries and veins appear as non tubular empty structures. Even if few studies tackled the particular case of automatic segmentation of such structures (e.g. [32, 33]), we have chosen to manually segment these macro vessels so as to insure reliable vascular tree and geometries which are essential for realistic flow simulations. Finally, the macro vascular network (illustrated in Fig. 1) is merged with the micro vascular network by adding junction vessel using tensor voting method [31] as shown in Fig. 1e, g, i.

From the fully reconstructed network we can also describe vessels orientations by considering three different angles between a mother vessel and two daughter vessels (Fig. 1b). Mother and daughter vessels are chosen relatively to their diameter differences, the largest being the mother's one. Then, angles are defined between the lines linking the two first segment element starting from the bifurcation node. This results in the following angles  $\varphi_1$ : angle between the first daughter vessel and mother vessel,  $\varphi_2$ : angle between the second daughter vessel and the mother vessel,  $\varphi_0$ : angle between the two daughter vessels.

Let us also define various notations from the graph  $G_v$ . We denote its adjacency matrix  $\mathbf{A}$ , its degree matrix  $\mathbf{D}_{ii} = \sum_{j=1}^N \mathbf{A}_{ij}$  and the laplacian matrix  $\mathbf{L} = \mathbf{D} - \mathbf{A}$ .

#### 4.4 Edge and network resistance

The aspect ratio (radius divided by length) of vessels is, in average small ( $\simeq 1/8$ ), so as to justify the use of lubrication based discrete network approach (Cf section 4.4). The previously described vectorized network allows us to compute the hydrodynamic resistance of each vessel which is defined as the ratio of the flow rate over the pressure drop applied in the vessel. This is formally the analog of the resistance in electric circuits. The Hagen-Poiseuille law provides the relation between the resistance  $R$ , the flow rate  $Q$  and the pressure drop  $\Delta p$  where the resistance is a function of the viscosity  $\mu$ , the diameter  $D$

$$-\frac{\partial p}{\partial s} = R(s)Q = \frac{\pi}{128} \frac{\mu(s)}{D^4(s)} Q \quad (1)$$

In order to account for the influence of red blood cells to blood rheology, empirical models have been proposed to describe blood viscosity, first *in vitro* [34, 35], then *in vivo* [36] and more recently *in vivo* which takes into account the influence of the endothelial surface layer [37]. In this work we will use the last one as it was shown in a comparative study to have the most relative influence on resistance, pressure distribution and flow rate [11]. We will also use an integrated formula of the resistance as it considers the local shape variations of the vessel. Resistance in each vessel is thus defined as

$$R = \frac{128}{\pi} \left( \int \frac{\mu(s)}{D^4(s)} ds \right) \quad (2)$$

The expression for viscosity  $\mu$  in given in SI. Given the resistance on each edge of the vascular network, one can define the network resistance between every pair of vertices. Based on [38], the resistance  $R_{ij}$  between two vertices of indices  $i$  and  $j$  writes as,

$$R_{ij} = \sum_{k=2}^N \frac{1}{\lambda_k} |\psi_{k,i} - \psi_{k,j}|^2 \quad (3)$$

where  $\lambda_k$  and  $\psi_k$  are respectively the eigenvalues and eigenvectors of the laplacian  $\mathbf{L}$  of the graph  $G_v$  for which the adjacency matrix  $\mathbf{A}$  is weighted by vessel conductances.

## 4.5 Graph clustering

Graph clustering, also called community partitioning, aim to regionalize networks [39]. We use a previously described method optimized for large network [40]. The method maximizes the communarity features reflects the density of edges between vertices inside communities as compared to edges between vertices in different communities. Considering vascular networks, clustering can be applied to the unweighted graph  $G_v$  denoted  $G_v = (V_v, E_v, w_0)$  as defined in section 4.3, as well as an edge weighted versions of  $G_v$  denoted  $G_v = (V_v, E_v, w_i)$  where  $w_i$  is the weight function. We investigated four different edge weights, that could be of interest for vascular graph analysis:  $w_1$  the Euclidian distance between the two vertices connected by an edge,  $w_2$  the geodesic distance between the two vertices connected by an edge,  $w_3$  the hydrodynamic resistance of an edge and  $w_4$  the hydrodynamic conductance. Once the vascular graph  $G_v$  is clustered, we define a new abstraction level of the vascular network denoted  $G_c^{w_i} = (V_c, E_c)$  as the adjacency graph of the communities found from  $G_v$  with the weight function  $w_i$ .  $V_c$  are thus the communities and  $E_c$  the connections between communities.

## 4.6 Graph features

Graph theory is widely used to characterize structured network in technological and transportation infrastructures, social relations, or biological systems (e.g [13]). We focus here on characterizing the influence of communities inside graphs  $G_c^{w_i}$  defined in section 4.5. We use two features: (i) the eigenvector centrality which is a modified version of the betweenness centrality [41] which gives high scores for vertices playing most central role, i.e. those with the smallest farness from others, (ii) the Authority/Hub features designed in [42] to discover authoritative and hub web pages on the World Wide Web concerning a topic search.

## 4.7 Flow modelling

The adopted discrete perfusion network is based upon previously proposed micro-circulation models [43, 44]. These frameworks have already been used to model blood perfusion from image-based network extraction [11, 10, 3]. We describe here the main steps and modeling issues.

The flux conservation applied at any vertex  $i$  with the set of its neighbour vertices denoted  $J$

$$\sum_{j \in J} Q_{ij} = 0 \quad (4)$$

where  $Q_{ij}$  is the flow on an edge connecting vertices of  $i$  and  $j$ . From considering an integrated local lubrication approximation ([11]for more details as well as reference therein), one can provide a relation between the pressures at every vertex which are is not associated with boundary conditions

$$\sum_{j \in J} C_{ij}(p_i - p_j) = 0 \quad (5)$$

where  $C_{ij}$  is the conductance of edge connecting vertices  $i$  and  $j$  and  $p_i$  (resp.  $p_j$ ) the pressure on vertex of indice  $i$  (resp.  $j$ ). For every other vertex, a Dirichlet boundary condition is imposed whose values will be discussed later.

Applying these relation on every vertex of the graph gives the following system

$$\mathbf{L}\mathbf{p} = \mathbf{b}_{\mathcal{D}} \quad (6)$$

where  $\mathbf{L}$  is the laplacian matrix of the vascular graph  $G_v$  with hydrodynamic conductance as a weight,  $\mathbf{p}$  is the vector of pressures to solve and  $\mathbf{b}_{\mathcal{D}}$  is the vector of applied boundary condition which is zero whenever the indice is an internal vertex and  $p_{\mathcal{D}} \cdot C_{ij}$  whenever the indice is a boundary condition.

The common framework for blood flow network simulations considers also the variation of hematocrit. Since, the hydraulic conductance (or resistance) is a function of hematocrit, this results in a coupled system of equations. For converging bifurcation, the mass conservation law gives a set of equation and for diverging bifurcations, empirical models give the fraction of hematocrit that will be transported in



both daughter vessels. It has been shown in [45] that hematocrit variation has a small influence on blood perfusion. Thus we will consider a constant hematocrit throughout the network with a value of 45

A pressure Dirichlet boundary condition is associated with any identified vertex corresponding to a cut macro vessel edge. A careful analysis of the network architecture permits to exhibit a total of twenty six macro-vascular vessels entering and leaving the tissue. This produces twenty six boundary conditions to be set for the flow modeling (see section 4.7 for details). We found a total of 26 macro-vessel edges, as illustrated in Figure 1a. Expert knowledge on the macrocirculation of adipose tissue determines that only one main inlet artery perfuses the tissue, the location of which is known in this tissue (large red arrow in Fig. 1a). Similarly, since the feeding and draining vessels are associated in pairs, the corresponding vein is hereby located (Large blue arrow in Fig. 1a). The dimensionless pressures associated with these two main inlet/outlet are defined to be 1 and 0. Then every other boundary condition is considered either as a secondary outlet artery and secondary inlet vein, as shown in Fig. 1a. This feature is generic to whole organ imaging since, there are always various macro-vessels in a given tissue, invariably cut. In order to reduce the problem complexity, we imposed the same inlet vein boundary condition (noted  $\alpha$ ) and outlet artery boundary condition (noted  $\beta$ ) to every secondary pressure boundary condition. To reduce the impact of perfusing inlet veins, we computed the relative perfusion volume (relative to the perfusion domain) of the main inlet artery over the sum of all perfusion volumes of every inlet vein. We chose the  $\alpha$  and  $\beta$  values so as to maximize this ratio, i.e. we found  $\alpha = 0.35$  and  $\beta = 0.3125$  (more details are given in Supplementary Information Fig. 12). For details concerning the definition and computation of perfusion domains we refer to [12].

## References

- [1] Dickie R, Bachoo RM, Rupnick MA, Dallabrida SM, DeLoid GM, Lai J, et al. Three-dimensional visualization of microvessel architecture of whole-mount tissue by confocal microscopy. *Microvascular Research*. 2006;72(1-2):20–26.
- [2] Kelch ID, Bogle G, Sands GB, Phillips ARJ, LeGrice IJ, Dunbar PR. Organ-wide 3D-imaging and topological analysis of the continuous microvascular network in a murine lymph node. *Scientific reports*. 2015;5(August):16534. Available from: <http://www.nature.com/globalproxy.cvt.dk/srep/2015/151116/srep16534/full/srep16534.html>.
- [3] Blinder P, Tsai PS, Kaufhold JP, Knutsen PM, Suhl H, Kleinfeld D. The cortical angiome: an interconnected vascular network with noncolumnar patterns of blood flow. *Nature neuroscience*. 2013;16(7):889–97. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23749145>.
- [4] Gould IG, Tsai P, Kleinfeld D, Linninger A. The capillary bed offers the largest hemodynamic resistance to the cortical blood supply. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2017;37(1):52–68. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0271678X16671146>.
- [5] Schmid F, Kleinfeld D, Blinder P, Jenny P, Weber B. Depth-dependent flow and pressure characteristics in cortical microvascular networks. *Plos computational biology*. 2016;p. 1–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005392>.
- [6] Jährling N, Becker K, Dodt Hu. 3D-reconstruction of blood vessels by ultramicroscopy. *Organogenesis*. 2009;5(4):227–230. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2878751&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- [7] Susaki EA, Ueda HR. Whole-body and Whole-Organ Clearing and Imaging Techniques with Single-Cell Resolution: Toward Organism-Level Systems Biology in Mammals. *Cell Chemical Biology*. 2016;23(1):137–157. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chembiol.2015.11.009>.
- [8] Lugo-hernandez E, Squire A, Hagemann N, Brenzel A, Sardari M, Schlechter J, et al. 3D visualization and quantification of microvessels in the whole ischemic mouse brain using solvent-based clearing and light sheet microscopy. 2017;.
- [9] Dobosz M, Ntziachristos V, Scheuer W, Strobel S. Multispectral Fluorescence Ultramicroscopy: Three-Dimensional Visualization and Automatic Quantification of Tumor Morphology, Drug Penetration, and Antiangiogenic Treatment Response. *Neoplasia*. 2014;16(1):1–13, W1–W7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1593/neo.131848>.
- [10] Reichold J, Stampanoni M, Keller AL, Buck A, Jenny P, Weber B. Vascular graph model to simulate the cerebral blood flow in realistic vascular networks. *Journal of cerebral blood flow and metabolism*. 2009;29(8):1429–1443. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/jcbfm.2009.58>.
- [11] Guibert R, Fonta C, Plouraboue F, Plouraboué F. Cerebral blood flow modeling in primate cortex. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*. 2010;30(11):1860–1873. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/jcbfm.2010.105> [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list\\_uids=20648040](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20648040).
- [12] Guibert R, Fonta C, Risser L, Plouraboué F. Coupling and robustness of intra-cortical vascular territories. *NeuroImage*. 2012;62(1):408–417.
- [13] Rubinov M, Sporns O. Complex network measures of brain connectivity: Uses and interpretations. *NeuroImage*. 2010;52(3):1059–1069. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.10.003>.

- [14] Belle M, Godefroy D, Dominici C, Heitz-Marchaland C, Zelina P, Hellal F, et al. A Simple Method for 3D Analysis of Immunolabeled Axonal Tracts in a Transparent Nervous System. *Cell Reports*. 2014;9(4):1191–1201.
- [15] Pan C, Cai R, Quacquarelli FP, Ghasemigharagoz A, Loubopoulos A, Matryba P, et al. Shrinkage-mediated imaging of entire organs and organisms using uDISCO. *Nature Methods*. 2016;13(10):859–867. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nmeth.3964>.
- [16] Vigouroux RJ, Belle M, Chédotal A. Neuroscience in the third dimension: shedding new light on the brain with tissue clearing. *Molecular Brain*. 2017;10(1):33. Available from: <http://molecularbrain.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13041-017-0314-y>.
- [17] Glaser AK, Reder NP, Chen Y, McCarty EF, Yin C, Wei L, et al. Light-sheet microscopy for slide-free non-destructive pathology of large clinical specimens. *Nature Biomedical Engineering*. 2017;1(7):0084. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41551-017-0084>.
- [18] Tanaka N, Kanatani S, Tomer R, Sahlgren C, Kronqvist P, Kaczynska D, et al. Whole-tissue biopsy phenotyping of three-dimensional tumours reveals patterns of cancer heterogeneity. *Nature Biomedical Engineering*. 2017;p. 1. Available from: <http://www.nature.com/articles/s41551-017-0139-0>.
- [19] Paolo A, Giovanna D, Silvestri L, Müllenbroich MC, Allegra AL, Sacconi L, et al. High-Resolution Reconstruction of Whole Mouse Brain Vasculature with Light-Sheet Microscopy. *Biomedical Optics Congress*. 2016;2016(Figure 1):12–14.
- [20] Hägerling R, Ueda H, Simon D, Yang J, Ariel P, Tessier-Lavigne M, et al. VIPAR, a quantitative approach to 3D histopathology applied to lymphatic malformations. *Embo J*. 2017;32(5):629–644. Available from: <http://insight.jci.org/articles/view/93424>.
- [21] Rosen ED, Spiegelman BM. What we talk about when we talk about fat. *Cell*. 2014;156(1-2):20–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.12.012>.
- [22] Frayn KN, Karpe F. Regulation of human subcutaneous adipose tissue blood flow. *International journal of obesity (2005)*. 2013;38(October):1–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24166067>.
- [23] Barreau C, Labit E, Guissard C, Rouquette J, Boizeau ML, Gani Koumassi S, et al. Regionalization of browning revealed by whole subcutaneous adipose tissue imaging. *Obesity*. 2016;24(5):1081–1089.
- [24] Kennel P, Fonta C, Guibert R, Plouraboué F. Analysis of vascular homogeneity and anisotropy on high-resolution primate brain imaging. *Human Brain Mapping*. 2017;5777(February):5756–5777. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/hbm.23766>.
- [25] Risser L, Plouraboué F, Cloetens P, Fonta C. A 3D-investigation shows that angiogenesis in primate cerebral cortex mainly occurs at capillary level. *International Journal of Developmental Neuroscience*. 2009;27(2):185–196.
- [26] Wassermann F. The development of adipose tissue. In: *Handbook of Physiology, Adipose Tissue*; 1965. p. 87–100. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/cphy.cp050110>.
- [27] Preibisch S, Saalfeld S, Tomancak P. Globally optimal stitching of tiled 3D microscopic image acquisitions. *Bioinformatics*. 2009;25(11):1463–1465.
- [28] Laasmaa M, Vendelin M, Peterson P. Application of regularized Richardson-Lucy algorithm for deconvolution of confocal microscopy images. *J Microsc*. 2011;243(2):124–140.
- [29] Preibisch S, Amat F, Stamataki E, Sarov M, Singer RH, Myers E, et al. Efficient Bayesian-based multiview deconvolution. *Nature methods*. 2014;11(6):645–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.2929>.

- [30] Chhetri RK, Amat F, Wan Y, Höckendorf B, Lemon WC, Keller PJ. Whole-animal functional and developmental imaging with isotropic spatial resolution. *Nature Methods*. 2015;12(12):1171–1178. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nmeth.3632><http://www.nature.com/doi/10.1038/nmeth.3632>.
- [31] Risser L, Plouraboué F, Descombes X. Gap filling of 3-D microvascular networks by tensor voting. *IEEE Transactions on Medical Imaging*. 2008;27(5):674–687.
- [32] Narayanaswamy A, Dwarakapuram S, Bjornsson CS, Cutler BM, Shain W, Roysam B. Robust adaptive 3-D segmentation of vessel laminae from fluorescence confocal microscope images and parallel GPU implementation. *IEEE Transactions on Medical Imaging*. 2010;29(3):583–597.
- [33] Ukwatta E, Yuan J, Qiu W, Rajchl M, Chiu B, Fenster A. Joint segmentation of lumen and outer wall from femoral artery MR images: Towards 3D imaging measurements of peripheral arterial disease. *Medical Image Analysis*. 2015;26(1):120–132. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.media.2015.08.004>.
- [34] Kiani MF, Hudetz AG. A semi-empirical model of apparent blood viscosity as a function of vessel diameter and discharge hematocrit. *Biorheology*. 1991;28:65–73.
- [35] Pries AR, Neuhaus D, Gaehtgens P. Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *The American journal of physiology*. 1992;263(6 Pt 2):H1770–H1778.
- [36] Pries AR, Secomb TW, Geßner T, Sperandio MB, Gross JF, Gaehtgens P. Resistance to Blood Flow in Microvessels In Vivo. *Circulation Research*. 1994;75:904–915.
- [37] Pries AR, Secomb TW. Microvascular blood viscosity in vivo and the endothelial surface layer. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2005;289:2657–2664.
- [38] Wu FY. Theory of resistor networks: The two-point resistance. *Journal of Physics A: Mathematical and General*. 2004;37:6653–6673. Available from: <http://arxiv.org/abs/math-ph/0402038><http://dx.doi.org/10.1088/0305-4470/37/26/004>.
- [39] Fortunato S. Community detection in graphs. *Physics Reports*. 2010;486(3-5):75–174. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.physrep.2009.11.002>.
- [40] Blondel VD, Guillaume JL, Lambiotte R, Lefebvre E. Fast unfolding of communities in large networks. 2008;(April). Available from: <http://arxiv.org/abs/0803.0476><http://dx.doi.org/10.1088/1742-5468/2008/10/P10008>.
- [41] Freeman LC. Centrality in Social Networks. *Social Networks*. 1978;1(1968):215–239.
- [42] Kleinberg JM. Authoritative sources in a hyperlinked environment. *Journal of the ACM*. 1999;46(5):604–632. Available from: <http://portal.acm.org/citation.cfm?doid=324133.324140>.
- [43] Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P, Gross JF. Blood Flow in Microvascular Networks Experiments and Simulation. *Circulation Research*. 1990;67:826–834.
- [44] Pries AR, Secomb TW, Gaehtgens P. Biophysical aspects of blood flow in the microvasculature. *Circulation Research ELSEVIER Cardiovascular Research*. 1996;32:654–667.
- [45] Guibert R, Fonta C, Plouraboué F. Cerebral blood flow modeling in primate cortex. *Journal of cerebral blood flow and metabolism : official journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*. 2010;30(11):1860–1873.

## **Acknowledgments**

The authors thank P. Weiss, L. Risser, R. Guibert, for helpful discussions. This work was performed using HPC resources from CALMIP (Grant 2016-[P16050]). This work was supported by Region Occitanie (Grant 2016-[14050455]).

## **Authors contribution**

P. K. has performed the image post-treatment, J. D. has performed the perfusion modelisation. P. K. and J. D. carried out the community analysis and contributed to the manuscript. C. G., C. B. prepared the tissue and L. T., J. R. and J. C. realized the image acquisition. A. L., F. P. and L. C. conceived the project and contributed to the manuscript.

## 5 Supplementary informations

### 5.1 Functional related heterogeneities on full vascular graph

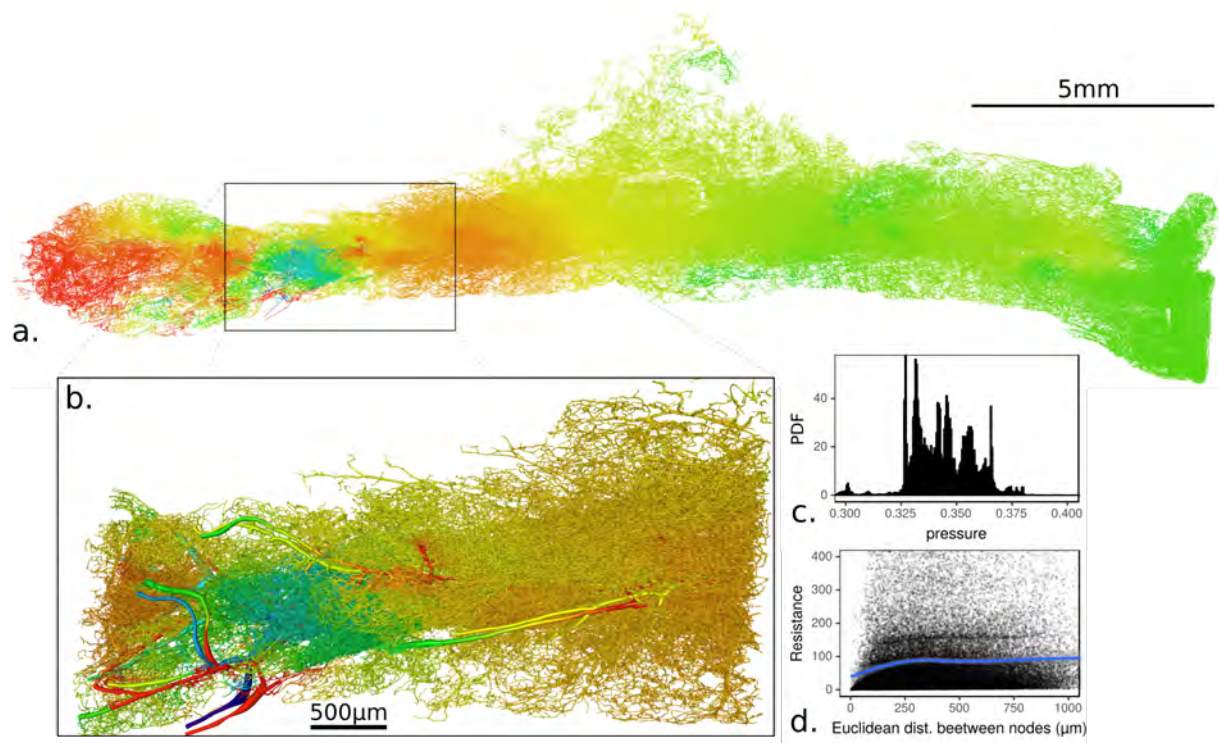


Figure 8: **Pressure distribution visualization.** (a) Local pressure visualization from flow modeling into the vascular network. The pressure is color-coded with cold-to-warm scale (from 0.3 to 0.4). (b) Zoom on main inlets/outlets localized in (a) and in Fig. 1(a). (c) Distribution of pressures at network's nodes. (d) Resistance versus euclidean distance with mean displayed in blue and standard error in gray.

## 5.2 Detailed results for all clustering weights

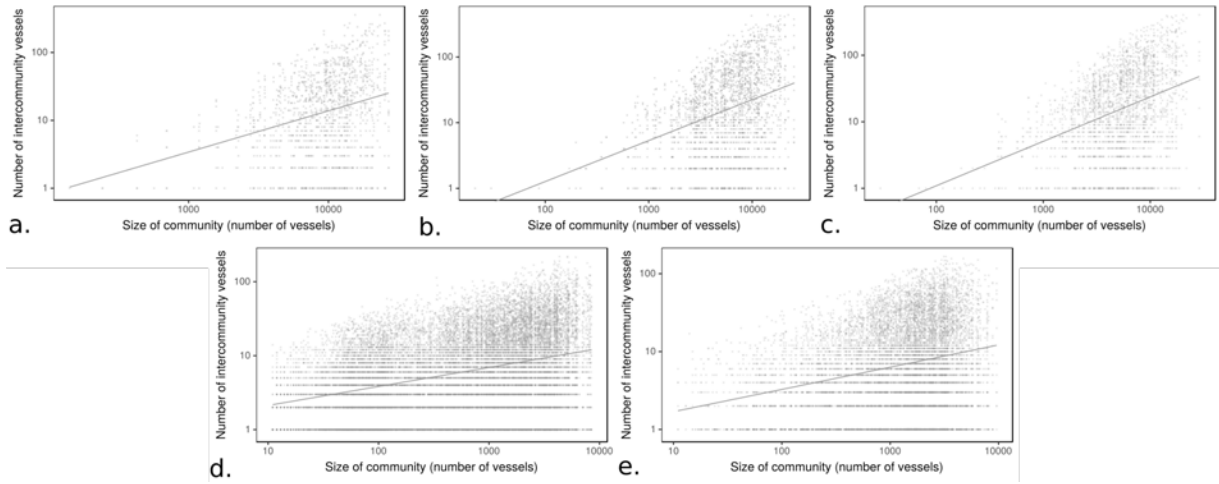


Figure 9: **Community strength comparisons without normalization.** Gray filled area represents the strong communities region between lines of slope  $2/3$  and  $1$ . Dotted line is the linear regression of the scatter plot (gray points) of the number of vessels between each pair of communities versus the number of vessels in the community, for every clustering weight  $w_i$ : (a)  $w_0$  no weight (slope  $s=0.61$ ), (b)  $w_1$  euclidean distance ( $s=0.62$ ), (c)  $w_2$  geodesic distance ( $s=0.66$ ), (d)  $w_3$  hydraulic resistance ( $s=0.25$ ), (e)  $w_4$  hydraulic conductance ( $s=0.28$ ).

### 5.3 Communities statistics

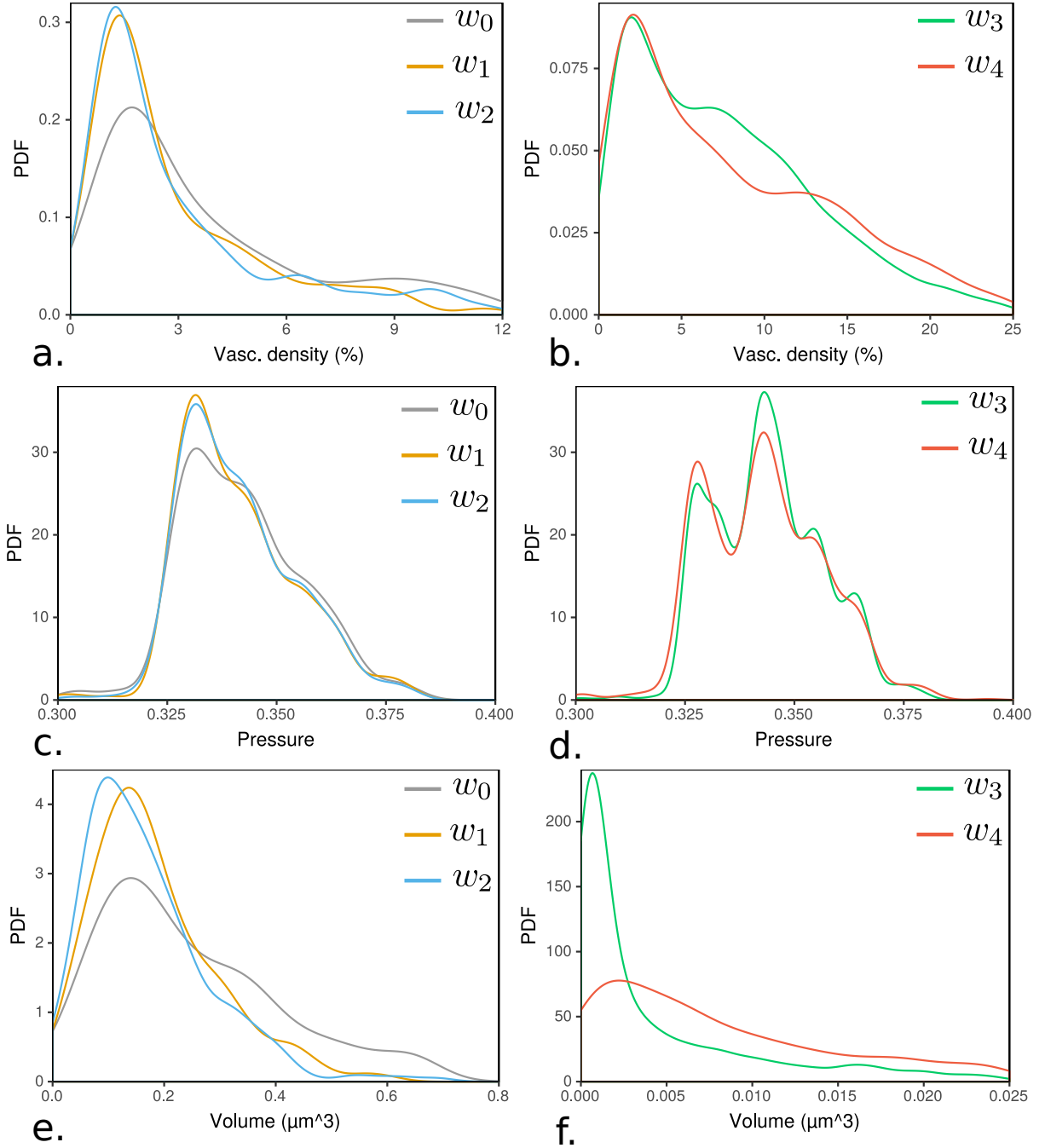


Figure 10: **Geometric and hydrodynamic statistics in vessel communities found by network clustering.** (a) vascular densities, (b) mean pressures and (c, d) volumes measured inside communities resulting from clustering of vascular graph  $G_v(V_v, E_v, w_i)$  with  $w_i$  the edge weight function:  $w_0$  topological (unweighted) edges,  $w_1$  Euclidian distance separating vessel extremities,  $w_2$  geodesic distance separating vessel extremities,  $w_3$  vessel hydraulic resistance,  $w_4$  vessel hydraulic conductance.



## 5.4 Graph metrics with structural communities graph

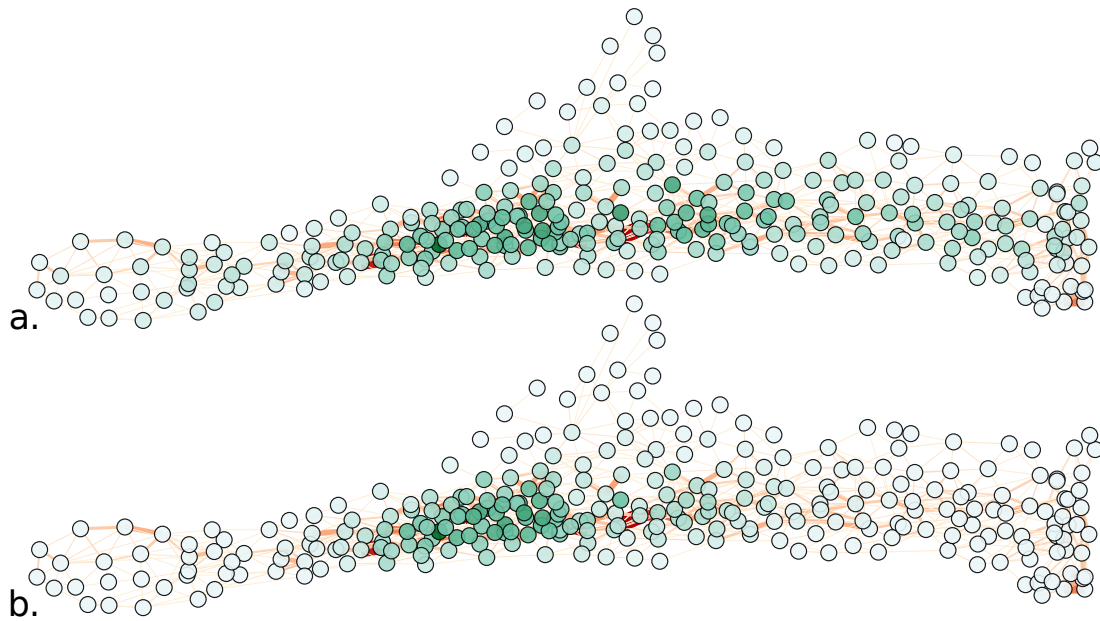


Figure 11: **Graph theory features extracted from the community adjacency graph  $G_c^{w_2}$ .** The graph edges are sized according to the number of vessels connecting two adjacent neighbor communities and the nodes are colored (with a white-to-green scale) according to: (a) the centrality feature and (b) the authority feature.

## 5.5 Centrality graph feature with functional communities graph

## 5.6 Details on flow modeling

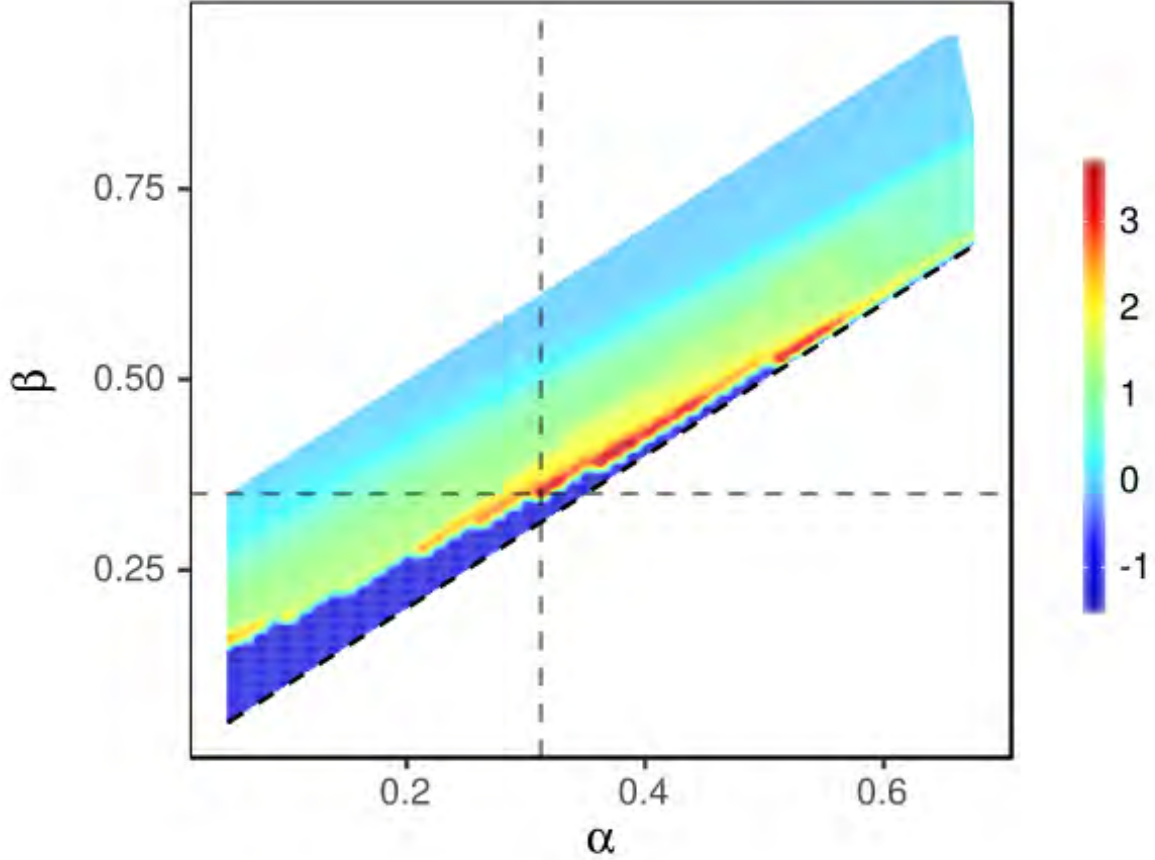


Figure 12: **Ratio of volumes perfused by the main inlet artery over all secondary inlet veins.** The x-axis is the set of secondary outlet artery pressures, denoted  $\alpha$  and the y-axis is the set of secondary inlet vein pressures, denote  $\beta$ . Displayed volumes ratio are interpolated for visualisations purposes on a cold to warm scale.  $-1$  represent parameters where the pair  $(\alpha, \beta)$  resulted in one of the secondary inlet/outlet did not follow the prescribed entering/leaving way. The set of parameters such that  $\alpha < \beta$  always resulted in this configuration (not displayed here). The bold dotted line is the separation line  $\alpha = \beta$ . The shaded dotted lines cross at the maximum volume ratio found:  $(\alpha, \beta) = (0.35, 0.3125)$ .

## 5.7 Kinetics computation

Although the perfusion problem is stationary one can compute the time taken to flow through a vessel by knowing the flow rate and the length of the vessel. The formula writes as

$$t_v^{loc} = \sum_{i=1}^{N_v^{el}} \frac{l_i S_i}{Q} \quad (7)$$

In order to get global times for each vessel, we then perform a breadth first search like algorithm from

every inlet (following the pressure gradient) and increment the local time of the current vessel to the previous global time.

---

**Algorithm 1** Global times computation

---

```
1: for every inlet do
2:   Tag all vertices as non-crossed
3:   Create queue
4:   Enqueue inlet vertex
5:   Compute global time of first edge
6:   Tag inlet vertex as crossed
7:   while queue is not empty do
8:      $s = \text{queue.dequeue}()$ 
9:     for every neighbor  $u$  of  $s$  do
10:      Compute global time on edge  $(s, u) : t_{(s,u)}^{glob}$ 
11:      if  $u$  is a converging bifurcation then
12:        Get other vertex  $v$  that converges towards  $u$ 
13:        Tag  $u$  as crossed
14:        if  $t_{(v,u)}^{glob} < t_{(s,u)}^{glob}$  then
15:          Enqueue  $u$ 
16:        else
17:          Enqueue  $v$ 
18:        end if
19:      else if  $u$  is a diverging bifurcation then
20:        Tag  $u$  as crossed
21:        Enqueue  $u$ 
22:
23:      end if
24:    end for
25:  end while
26: end for
```

---



# Chapitre 4

## Transferts thermiques entre vaisseaux

### 4.1 Introduction

Comme nous l'avons abordé en introduction générale 1, la modélisation des transferts dans les tissus adipeux tenant compte de l'ensemble de sa structure vasculaire déborde largement du cadre de cette thèse. Cependant, dans des géométries simplifiées, il est intéressant de tenter d'analyser en détail des aspects plus fondamentaux et génériques des transferts thermiques entre vaisseaux sanguins idéalisés. Il est important de noter que même si les géométries étudiées sont idéalisées, elles ne sont pas pour autant simplistes et conservent de nombreux aspects cruciaux d'un point de vue physiologique/thermique. Il est intéressant de noter en premier lieu qu'à l'échelle de la macro-circulation, comme on l'a vu sur la figure dédiée dans l'article soumis au chapitre précédent, l'approximation de vaisseaux parallèles est en grande partie acceptable. En second lieu, les géométries étudiées que l'on retrouve dans de nombreux contextes consistent en un "compartiment" artério-veineux, dans lequel la sortie veineuse est proche de l'entrée artérielle.

Notre modélisation se place dans un cadre assez large, à savoir une équation de conservation d'énergie 3D avec des conditions aux limites physiologiquement raisonnables (conditions de Robin ou périodique, voir section 4.3.2). De plus, la rhéologie du sang (du fluide) est supposée ne pas dépendre des variations de la température, ce qui est acceptable dans les gammes de variations de température en conditions physiologiques VALANT et collab. [2011]. Concernant les conditions thermiques d'entrée dans le tissu, qui sont souvent un point délicat de la modélisation, on utilisera l'approche déjà élaborée par PIERRE et collab. [2014] dans laquelle le tissu est perfusé par des vaisseaux dont on ne spécifie les conditions thermiques qu'à l'infini (loin du tissu) et les conditions de raccord (en flux et en température) avec les vaisseaux d'entrée sont pris en compte avec précision.

Concernant la prise en compte des termes sources métaboliques dans le tissu, nous allons voir d'une part pourquoi ils peuvent être négligés dans un premier temps (à la fin de la section 4.3) et d'autre part comment ils pourraient être pris en compte dans un second temps dans le cadre d'une modélisation précise (section 4.7)

Ce chapitre est organisé de la manière suivante : on s'attachera d'abord à définir le concept de vaisseaux thermiquement significatifs et sa pertinence pour des applications physiologiques (section 4.2), puis on abordera le contexte méthodologique dans lequel ce travail se situe (section 4.3), on resituera ensuite les résultats de l'article publié et reproduit en fin de chapitre (section 4.4). On présentera ensuite des travaux supplémentaires qui d'une part abordent plus directement le problème de l'évaluation de vaisseaux thermiquement significatifs (section 4.5.1) et d'autre part proposent une méthode pour évaluer des paramètres effectifs dans le contexte de modèles moyennés (section 4.6). Enfin, on pro-

posera une piste vers une méthode numérique pour la prise en compte d'un terme source métabolique homogène dans le contexte méthodologique qui nous occupe ici (section 4.7)

## 4.2 Échanges de chaleur dans les tissus et vaisseaux thermiquement significatifs

La régulation de la température au sein des tissus est un mécanisme fondamentale d'homéostasie. Le réseau vasculaire qui transporte un liquide chaud (le sang) à  $37 \pm 0.5$  degrés Celsius va participer à la régularisation de la température au sein des tissus par des échanges de chaleur entre le tissu et les vaisseaux. Plusieurs contextes physiologiques peuvent être étudiés par exemple, l'hypothermie où le sang va réchauffer le tissu ou l'hyperthermie où le tissu va produire de la chaleur qui doit être évacuée par le réseau vasculaire par convection thermique.

Afin de simplifier la complexité du problème des transferts à l'échelle d'un organe, CHEN et HOLMES [1980] ont proposé le concept de vaisseaux thermiquement significatifs, supposés être les vaisseaux ayant la plus grande influence dans les transferts thermiques à travers les tissus. Ils définissent un vaisseau comme étant thermiquement significatif si sa longueur est proche de la longueur thermique d'équilibre, c'est à dire la longueur sur laquelle la température entre un vaisseau sanguin et le tissu local diminue d'un facteur exponentiel. D'autres auteurs ont utilisé la même définition dans d'autres travaux ou des définitions proches de la température thermique d'équilibre comme la distance sur laquelle la température dans le tissu seulement diminue d'un facteur exponentiel ZHU et collab. [1996] ou la distance sur laquelle la différence entre la température du sang et le bord du tissu diminue d'un facteur exponentiel KOTTE et collab. [1996]; VAN LEEUWEN et collab. [1997]. Comme l'identifient SHRIVASTAVA et ROEMER [2006], deux autres définitions peuvent être utilisées pour caractériser un vaisseau thermiquement significatif : si la température de sortie du vaisseau n'est pas proche de la température locale du tissu BAISH [1994]; BRINCK et WERNER [1994]; CHATO [1980]; HE [2002]; LEMONS et collab. [1987] et si l'énergie thermique totale échangée entre des vaisseaux d'un certain diamètre et le tissu est comparable à celle d'autres vaisseaux de diamètres différents BAISH [1994]; HUANG et collab. [1996]; VAN LEEUWEN et collab. [2000]. Dans leurs contributions SHRIVASTAVA et ROEMER [2006] montrent en utilisant cette dernière définition, qu'en réalité dans un réseau synthétique avec différentes générations de vaisseaux de différents diamètres, les échanges thermiques par les vaisseaux de plus petits diamètres sont loin d'être négligeables du fait de leur répartition spatiale et de leur surface totale (puisqu'en plus grands nombres).

Eu égard à la variété des définitions du concept de vaisseau thermiquement significatif, il nous est apparu intéressant d'analyser différents critères sur des géométries identiques modèles et leur sensibilité aux différents paramètres physiologiques pertinents. Nous allons maintenant présenter les différentes configurations étudiées ainsi que la méthode de résolution numérique adoptée.

## 4.3 Contexte méthodologique

### 4.3.1 Les échangeurs thermiques

Nous avons réalisé des études paramétriques dans deux classes de géométries. La première consiste en une configuration contre-courant à deux vaisseaux avec un couplage avec une condition aux limites extérieures, illustrée en Figure 4.1. Les tubes ont un rayon noté R et

on fixe le rayon de l'échangeur  $R_E$ . la compacité de notre échangeur exprimée en  $[1/m]$  définie par le rapport entre la surface d'échange et volume de l'échangeur, vaut  $\frac{4R}{R_E^2}$

De nombreuses notations sont également introduites dans la figure 4.1. En particulier, le symbole H réfère aux tubes "chauds" et les symboles C aux tubes "froids". Ces deux qualificatifs provenant des températures d'entrées que l'on impose en -l'infini dans le tube "chaud"  $T_H^{-\infty}$  et le tube "froid"  $T_C^{+\infty}$  avec  $T_H^{-\infty} > T_C^{+\infty}$ . Les deux températures  $T_H^{+\infty}$  et  $T_C^{-\infty}$  sont des inconnues du problème et vont servir à quantifier les échanges entre les tubes chauds et froids.

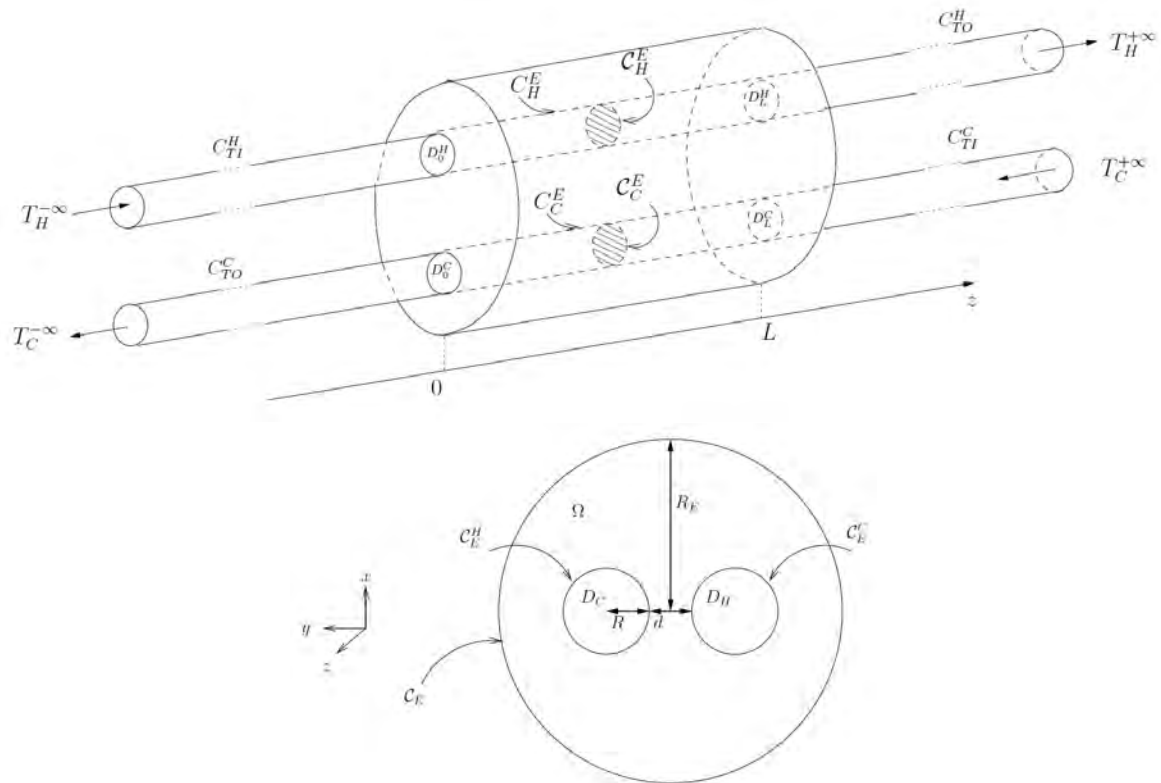


Figure 4.1 – Schémas 3D et d'une coupe 2D de l'échangeur thermique avec des conditions de type Robin sur les bords latéraux de l'échangeur,  $\mathcal{C}^E \times [0, L]$

La seconde classe de géométries étudiées consiste en un réseau infini de tubes pour lesquels on suppose que les conditions aux limites externes n'ont pas d'influence sur les transferts. Dans ce cadre, on considèrera des cellules périodiques du type de celle illustrée en Figure 4.2 associé à des configurations d'écoulement contre-courant symbolisé par les symboles + et - au niveau des cercles. On réduit ainsi l'étude d'un tissu complet à un compartiment d'échange au sein du tissu.

Le rapport surface fluide/solide est défini par  $\phi = \frac{4\pi R^2}{L_c^2 - 4\pi R^2}$  et représente, dans le cadre d'écoulements sanguins, la densité vasculaire du compartiment. On définit  $\alpha = R/R_0$  le ratio entre le rayon des tubes et la distance du centre d'un tube au centre de l'échangeur. D'après les longueurs indiquées sur la figure on peut en ramener ce ratio à la densité vasculaire définie précédemment. En effet,  $L_c = 2\sqrt{2}R_0$  et il vient donc  $\phi(\alpha) = \frac{\pi\alpha^2}{2-\pi\alpha^2}$ .

Dans la suite on fera varier le paramètre géométrique de longueur adimensionnée  $L^* = L/R$ . Ainsi, pour des grandes valeurs de  $L^*$  on sera dans le domaine des échangeurs compacts d'après ce qui précède (en supposant une longueur  $L$  constante). On fera

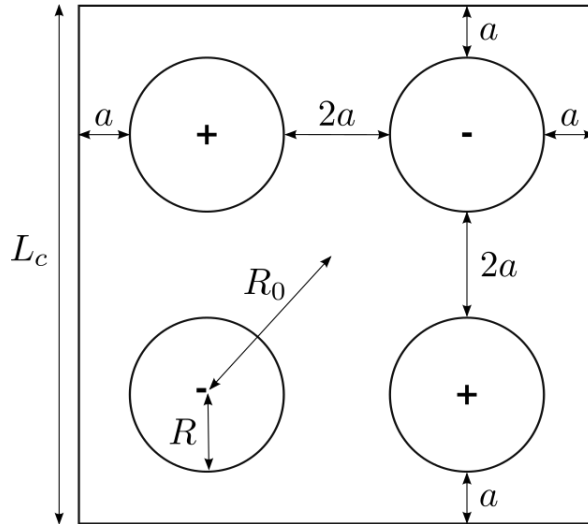


Figure 4.2 – Schéma d'une coupe 2D de l'échangeur thermique avec des conditions périodiques sur les bord latéraux de l'échangeur

également varier le paramètre  $\alpha$  qui, en plus d'être lié à la densité vasculaire, régit la distance entre les vaisseaux relativement à leur rayon. Les vaisseaux seront en contact pour  $\alpha = \sqrt{2}/2$

### 4.3.2 Équation constitutive et terme source métabolique

Dans un premier temps nous ignorons la présence de termes sources métaboliques dans le tissu qui sera considéré un peu plus loin. Dans cette partie nous présentons la généralisation du problème de Graetz qui permet d'introduire un certain nombre de concepts clés du cas simplifié de notre étude.

#### Problème de Graetz étendu et équation constitutive

Dans le cas de la modélisation des échanges tissu-vaisseaux, le problème de Graetz étendu qui prend en compte la partie solide et la partie fluide, ne néglige plus la conduction longitudinale ni dans le fluide ni dans la partie solide et s'écrit

$$\begin{aligned} \rho c_p v(x, y) \partial_z T - k^F (\partial_x^2 + \partial_y^2 + \partial_z^2) T &= 0 \quad \text{dans le fluide} \\ k^S (\partial_x^2 + \partial_y^2 + \partial_z^2) T &= 0 \quad \text{dans le solide} \end{aligned} \quad (4.1)$$

avec les conditions de continuité fluide/solide :

$$\begin{aligned} T|_{\partial\Omega_F} &= T|_{\partial\Omega_S} \quad \text{à l'interface fluide/solide} \\ k^F \partial_n T|_{\partial\Omega_F} &= k^S \partial_n T|_{\partial\Omega_S} \quad \text{à l'interface fluide/solide} \end{aligned} \quad (4.2)$$

À partir des adimensionnements suivants, que l'on notera systématiquement avec le symbole  $\star$ ,

$$\begin{aligned} x &= x^\star \cdot R \\ y &= y^\star \cdot R \\ z &= z^\star \cdot R \\ v &= 2\bar{v} v^\star \\ T &= \frac{1}{2} (T^\star \cdot (T_H^{-\infty} - T_C^{+\infty}) + T_H^{-\infty} + T_C^{+\infty}) \end{aligned} \quad (4.3)$$



les deux équations couplées deviennent, avec  $\xi^* = (x^*, y^*)$

$$\begin{aligned} Pe_{H,C} \nu^* (\xi^*) \partial_{z^*} T^* - (\partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2 + \partial_{z^*}^2) T^* &= 0 \quad \text{dans le fluide} \\ (\partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2 + \partial_{z^*}^2) T^* &= 0 \quad \text{dans le solide} \end{aligned} \quad (4.4)$$

où  $Pe_{a,v}$  désigne les nombres de Péclet artériel et veineux, avec les conditions adimensionnelles à l'interface fluide/solide :

$$\begin{aligned} T^*|_{\partial\Omega_F^*} &= T^*|_{\partial\Omega_S^*} \quad \text{à l'interface fluide/solide} \\ k^F \partial_n T^*|_{\partial\Omega_F^*} &= k^S \partial_n T^*|_{\partial\Omega_S^*} \quad \text{à l'interface fluide/solide} \end{aligned} \quad (4.5)$$

Dans le cadre des géométries de première classe, la condition au bord de Robin adimensionnelle s'exprime par

$$-\partial_{n^*} T^* = Bi (T^* - T_{ext}^*) \quad (4.6)$$

avec  $Bi = hR/k_S$  le nombre de Biot qui quantifie le rapport entre le transfert thermique à la surface et à l'intérieur du tissu.  $h$  est ici le coefficient de transfert thermique (avec le milieu extérieur).

### Influence du terme source homogène dans le tissu

La présence d'un terme source métabolique homogène dans le tissu se traduit par l'équation suivante [SHRIVASTAVA et ROEMER \[2006\]](#) :

$$-\nabla \cdot (k_t \nabla T_t) = P_{meta}^{ap} \quad (4.7)$$

avec  $P_{meta}^{ap}$  la puissance volumétrique appliquée dans le tissu d'origine métabolique. Avec les adimensionnements précédents, cette équation se transforme en notant le terme source métabolique adimensionnel  $P^*$

$$-\Delta^* T_t^* = \frac{P_{meta}^{ap} R^2}{k_t (T_H^{-\infty} - T_C^{+\infty})} = P^* \quad (4.8)$$

En prenant par exemple les données de [SHRIVASTAVA et ROEMER \[2006\]](#) dans le cas du muscle :  $k_t = 0.5 \text{ W} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{m}^{-1}$ ,  $R = 500 \mu\text{m}$ ,  $T_H^{-\infty} = 37^\circ\text{C}$  et en supposant par exemple que la température de sortie veineuse est à  $T_C^{+\infty} = 35^\circ\text{C}$ , pour des cas hypothermie  $P_{meta}^{ap} = 675 \text{ W} \cdot \text{m}^{-3}$  et d'hyperthermie  $P_{meta}^{ap} = 97000 \text{ W} \cdot \text{m}^{-3}$  on obtient des valeurs du terme source adimensionnel respectivement  $P^* = 1.7 \cdot 10^{-4}$  et  $P^* = 2.4 \cdot 10^{-2}$ .

Les perturbations induites par la présence d'un terme source dans ces contextes physiologiques seront donc de l'ordre de  $10^{-2}$  à  $10^{-4}$ . On peut donc raisonnablement négliger l'influence de ce terme source, comme cela sera fait par la suite.

### Synthèse des paramètres adimensionnels du problème

Nous allons dresser une liste des paramètres adimensionnels du problème ainsi que les notations associées. D'abord, pour les paramètres liés à l'écoulement, nous considérons deux nombres de Péclets, un artériel et un veineux notés respectivement  $Pe_a$  et  $Pe_v$ . Lorsque ces nombres sont égaux, on est dans ce qu'on appelle une configuration équilibrée et on note simplement  $Pe$  indifféremment pour l'artère ou la veine. Précisons que dans la deuxième classe de géométrie on a quatre vaisseaux (deux artères et deux veines) et donc normalement quatre nombres de Péclet. Pour réduire le nombre de paramètres et rester

dans des configurations périodiques d'un point de vue hydrodynamique, nous considérons les mêmes nombres de Péclet dans les deux artères et les deux veines. On a donc toujours un Péclet artériel et un Péclet veineux.

Ensuite, pour les paramètres géométriques, nous considérons le rapport d'aspect des vaisseaux  $L^* = L/R$  et le rapport entre le rayon des tubes et la distance entre les tubes  $\alpha = R/R_0$ .

Enfin, pour les paramètres thermiques, nous avons le rapport des conductivités fluide/solide  $k_S/k_F$ , en supposant la même conductivité fluide dans l'artère et dans la veine et une conductivité homogène dans le tissu, le nombre de Biot  $Bi = hR/k_S$  et le terme source métabolique adimensionnel  $P^*$ .

Pour évaluer les échanges artério-veineux on définit l'efficacité (chaude ou froide suivant que l'on considère l'artère ou la veine)

$$\begin{aligned} \epsilon_H &= \frac{T_H^{*, -\infty} - T_H^{*, +\infty}}{T_H^{*, -\infty} - T_C^{*, +\infty}} \\ \epsilon_C &= \frac{T_C^{*, +\infty} - T_C^{*, -\infty}}{T_H^{*, -\infty} - T_C^{*, +\infty}} \end{aligned} \quad (4.9)$$

et pour évaluer les transferts vaisseau-tissu on définit le nombre de Nusselt global :

$$Nu_{H,C} = 2 \int_0^{L^*} dz^* \int_{C_{H,C}^E} \partial_{n^*} T^* dC_{H,C}^E \quad (4.10)$$

On y reviendra par la suite avec des définitions plus rigoureuses, mais précisons pour être exhaustif sur les paramètres adimensionnels, que pour traiter la question des vaisseaux thermiquement significatifs nous considérons deux autres quantités : le rapport entre la distance d'équilibre thermique et le rapport d'aspect des vaisseaux  $l_{eq}/L^*$  et l'efficacité artérielle  $\epsilon_a$ .

On voit donc que le nombre de paramètres adimensionnels est conséquent, c'est pourquoi on cherche à simplifier ce nombre dans des cas limites simplifiés et intéressants.

### 4.3.3 Approche théorique et numérique

#### Solution analytique du problème de Graetz étendu

Récemment, plusieurs travaux ont permis la résolution du problème de Graetz étendu à la fois mathématiquement [BOUYSSIER \[2012\]](#); [BOUYSSIER et collab. \[2013\]](#); [FEHRENBACH et collab. \[2012\]](#); [PIERRE et PLOURABOUÉ \[2009\]](#) et numériquement [PIERRE et collab. \[2014\]](#). On se propose dans la suite d'exposer succinctement les principes de la résolution mathématique ainsi que la méthode numérique qu'on utilisera pour étudier les transferts thermiques entre vaisseaux sanguins. Nous nous placerons dans le contexte de l'article publié reproduit en fin de section qui correspond également à la géométrie décrite en section [4.3.1](#).

La résolution du problème de Graetz étendu [4.4](#) passe par la reformulation du problème en une équation différentielle ordinaire :

$$\partial_{z^*} \begin{pmatrix} \partial_{z^*} T^* \\ T^* \end{pmatrix} = A \begin{pmatrix} \partial_{z^*} T^* \\ T^* \end{pmatrix} \text{ sur } \Omega \times I \quad (4.11)$$

avec :

$$A = \begin{pmatrix} Pe v^* & -(\partial_{x^*} + \partial_{y^*}^2) \\ 1 & 0 \end{pmatrix}$$

Les idées principales pour la formulation mathématique de ce problème sont les suivantes :

- Construire un produit scalaire sur les bons espaces fonctionnels qui prend en compte les conditions au bord latéral  $C_E \times [0, L]$  comme illustré sur la Figure 4.1 (ex : Dirichlet, Neumann, Robin, périodique).
- Montrer que l'opérateur  $A^{-1}$  (ou sa restriction sous différentes conditions limites) est auto-adjoint et compact et donc obtenir une décomposition spectrale unique.
- Utiliser la décomposition en valeurs propres et vecteurs propres de l'opérateur  $A$  pour obtenir une solution analytique de l'équation 4.11.
- Projeter les conditions d'entrée/sortie (en  $z^* = 0$  et  $z^* = L^*$ ) pour obtenir les amplitudes des modes.

Cette approche a d'abord été utilisée dans le cas d'échangeurs de longueurs infinies avec des conditions latérales de Dirichlet **PIERRE et PLOURABOUÉ [2009]**. Les auteurs montrent en particulier que des modes positifs et négatifs (associés à des valeurs propres positives et négatives) apparaissent dans la décomposition du champ de température. Le cas d'échangeurs finis (de taille  $L^*$ ) est ensuite abordé par **FEHRENBACH et collab. [2012]** où il est montré qu'une solution unique existe pour peu qu'on procure des conditions en entrée ( $T_{z^*=0}^*$ ) et en sortie ( $T_{z^*=L^*}^*$ ) de l'échangeur. Finalement, **BOUYSSIER et collab. [2013]** traitent le cas d'échangeurs convectifs parallèles pour des conditions latérales de Dirichlet et de Neumann. **BOUYSSIER et collab. [2013]** considèrent en particulier le cas d'échangeurs équilibrés, c'est-à-dire où le débit total sur une section de l'échangeur est nul. Ceci correspond au cas, dans notre géométrie, où le débit artériel est égal au débit veineux mais parcouru dans le sens contraire.

Le cas d'échangeurs équilibrés avec une condition latérale de Neumann est loin d'être évident puisque dans ce cas, le kernel de l'opérateur  $A$  est non nul et un élément non trivial apparaît. En effet, si l'on pose  $\phi = (u, s)$  avec  $u$  et  $s$  appartenant aux "bons" espaces fonctionnels, c'est-à-dire tels que suffisamment régulières  $u \in H^1(\Omega)/\mathbb{R}$  (espace de Sobolev quotienté) et  $s \in H^1(\Omega)$  vérifiant les conditions au bord de Neumann, alors  $\phi$  appartient au kernel de  $A$  si

$$\begin{aligned} Pe v^* u - (\partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2) s &= 0 \\ u &= 0 \text{ dans } H^1(\Omega)/\mathbb{R} \end{aligned} \quad (4.12)$$

Ce qui donne par intégration suivi du théorème de la divergence et de la définition de l'égalité sur un espace quotient.

$$\begin{aligned} \int_{\partial\Omega} \nabla s \cdot \mathbf{n} &= Pe \int_{\Omega} v^* u \\ u &= 1 \text{ à une renormalisation près} \end{aligned} \quad (4.13)$$

$s$  vérifie les conditions au bord de Neumann et dans le cas équilibré  $\int_{\Omega} v^* = 0$  donc l'équation ci-dessus est vérifiée. On a donc un élément en plus dans la base des vecteurs propres  $\phi_i$  de  $A$  dans ce cas :  $\phi_0 = (1, \Delta_{\perp}^{-1}(Pe v^*))$  avec  $\Delta_{\perp}^{-1}$  l'opérateur laplacien inverse dans le plan  $\xi^* = (x^*, y^*)$ .

Enfin, pour finir sur les résultats théoriques, un papier en cours de soumission traite également le cas de conditions au bord de Robin et périodiques **DEBARNOT et collab. [2018]**. Le cas périodique fait également apparaître une valeur propre nulle et dans le cas périodique et équilibré on aura donc deux valeurs propres nulles dans le spectre des valeurs propres.

## Méthode numérique et prise en compte des conditions entrée/sortie

La méthode numérique que l'on emploie a été développée dans [PIERRE et collab. \[2014\]](#) pour des conditions latérales de l'échangeur de type Neumann et Dirichlet sur le bord de l'échangeur, nous présentons ici rapidement son extension à des conditions aux bords de type Robin. On cherche donc ici à résoudre numériquement le problème de l'échangeur avec 4 tubes (deux entrants et deux sortants). Les champs de température des 4 tubes extérieurs peuvent être décomposés dans deux bases de modes de Graetz suivant des modes négatifs ou positifs correspondant au sens de l'écoulement. Le champ de température peut être décomposé en modes de Graetz conjugués avec des modes positifs et négatifs. Ces différentes décompositions s'expriment de la manière suivante :

$$\begin{aligned}
 T^*(\xi^*, z^*) &= \sum_{\mathbb{N}^*} x_n^+ T_n^+(\xi^*) e^{\lambda_n^+ z^*} + x_n^- T_n^-(\xi^*) e^{\lambda_n^-(z^* - L^*)} && \text{échangeur } z^* \in [0, L^*] \\
 T^*(\xi^*, z^*) &= x_0^H + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n t_n^+(\xi^*) e^{\mu_n^+(z^* - L^*)} && \text{tube de sortie chaud } z^* \geq L^* \\
 T^*(\xi^*, z^*) &= x_0^C + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n u_n^-(\xi^*) e^{\gamma_n^- z^*} && \text{tube de sortie froid } z^* \leq 0 \\
 T^*(\xi^*, z^*) &= T_H^{*-\infty} + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n t_n^-(\xi^*) e^{\mu_n^-(z^* - L^*)} && \text{tube d'entrée chaud } z^* \leq 0 \\
 T^*(\xi^*, z^*) &= T_C^{*+\infty} + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n u_n^+(\xi^*) e^{\gamma_n^+(z^* - L^*)} && \text{tube d'entrée froid } z^* \geq L^*
 \end{aligned} \tag{4.14}$$

avec  $x_n^\pm$  les amplitudes des modes,  $T_n^\pm$ ,  $t_n^\pm$  et  $u_n^\pm$  les vecteurs propres,  $\lambda_n^\pm$ ,  $\mu_n^\pm$  et  $\gamma_n^\pm$  les valeurs propres respectivement : de la base de modes de l'échangeur, du domaine fluide chaud et du domaine fluide froid.

Afin de fixer les amplitudes  $x_n^\pm$  des modes, on construit une fonctionnelle de "recollement" dont la minimisation va garantir (sous forme variationnelle) la continuité de la température et de sa dérivée aux liaisons entre les vaisseaux entrée/sortie et l'échangeur (sur les domaines fluides). Cette fonctionnelle s'exprime de la manière suivante

$$J_{\mathcal{L}_2}(T^*) = \int_{D_{0,L^*}^{H,C}} |T_g^* - T_d^*|^2 ds + \int_{D_{0,L^*}^{H,C}} |\partial_z T_g^* - \partial_z T_d^*|^2 ds \tag{4.15}$$

avec

$$\begin{aligned}
 T_g^* &= T_d^* && \text{sur } D_{0,L^*}^{H,C} \\
 \partial_{z^*} T_g^* &= \partial_{z^*} T_d^* && \text{sur } D_{0,L^*}^{H,C}
 \end{aligned} \tag{4.16}$$

Les décompositions 4.14 tronquées à un nombre fini de modes, permettent alors de transformer le problème 4.16 en un système linéaire à inverser :

$$\mathbf{M}_{\mathcal{L}_2} \mathbf{x} = \mathbf{b} \tag{4.17}$$

avec  $\mathbf{x}$  le vecteur des amplitudes inconnues  $x_n^\pm$ . Pour plus de détails sur la construction du système linéaire voir [PIERRE et collab. \[2014\]](#).

## 4.4 Résultats de l'article et remise en contexte biologique

Dans cette section nous allons revenir sur les résultats de l'article publié en fin de chapitre afin de les replacer dans un contexte biologique. En effet, si l'approche utilisée n'est pas spécifique à des échanges entre vaisseaux sanguins mais générale aux échangeurs thermiques, il nous semble possible de dégager des éléments également pertinents physiologiquement parlant. On considérera donc par la suite, que la partie solide de l'échangeur

correspond au tissu, les tubes "chauds" aux artères et les tubes "froids" aux veines. Dans ce travail, nous avons réalisé une analyse systématique des paramètres adimensionnels clés identifiés, d'abord pour des configurations équilibrées : le Péclet ( $Pe$ ), le nombre de Biot ( $Bi$ ), la longueur de l'échangeur ( $L^* = L/R$ ), le rapport de conductivité solide/fluide ( $k^S/k^F$ ). Nous avons également regardé des cas non-équilibrés et pour différentes conditions aux bords de Robin. Dans chaque cas on a quantifié l'influence de ces paramètres sur l'efficacité de l'échangeur.

#### 4.4.1 Trois régimes distincts d'efficacité

Nous nous intéresserons principalement ici à discuter les résultats dans la limite des très faibles nombres de Biot, c'est-à-dire des conditions sur le bord de l'échangeur quasi-adiabatique. Le résultat principal de ce travail tient dans la robustesse du comportement de l'efficacité en fonction du Péclet sous la variation des autres paramètres adimensionnels. En effet, nous avons identifié 3 régimes distincts (voir Figure 4 de l'article) : (i) une augmentation de l'efficacité à faible Péclet, (ii) une efficacité optimale à des Péclet modérés et (iii) une décroissance monotone de l'efficacité. Regardons ce qui se produit qualitativement sur le champ de température pour le vaisseau "chaud". Le premier régime correspond au régime de faible convection devant l'intensité de la diffusion. En augmentant progressivement la convection, on permet d'autant plus la diffusion transverse entre les vaisseaux, ce qui augmente les échanges. À partir d'un Péclet optimal, un pic d'efficacité est atteint où la convection est suffisamment forte pour permettre une diffusion transverse importante et donc un échange optimal. Au delà de ce Péclet optimal, l'efficacité décroît puisque l'effet convectif de la veine (le tube "froid") est suffisamment fort pour contrebalancer l'échange par diffusion transverse de l'artère vers la sortie veineuse. En augmentant encore plus le Péclet, on se trouve dans ce que nous avons appelé le régime des "fuites convectives" où la convection est tellement forte que la sortie artérielle est très proche de sa valeur d'entrée. Dans un contexte biologique, avec par exemple un couple de vaisseaux artère-veine, l'efficacité va traduire à quel point l'artère réchauffe la veine par la diffusion à travers le tissu. En supposant que la variation du Péclet sur les différentes gammes exposées correspond à différents contextes physiologiques (le Péclet étant sensible au diamètre des vaisseaux et à la vitesse moyenne) ou différentes générations de paires artères-veines, alors nos résultats suggèrent une régulation de la température significativement différente suivant les contextes. En particulier, la chaleur transférée par l'artère à la veine sera maximale sur des gammes de Péclet modérées.

Il est également intéressant de noter que le rapport d'aspect des vaisseaux  $L^*$  a une influence significative sur la valeur de l'optimum d'efficacité : plus  $L^*$  est grand, plus les échanges sont importants (voir Figure 4 de l'article). Dans un contexte biologique ce rapport peut correspondre aux différentes générations de vaisseaux et nos résultats suggèrent donc que, dans le réseau, les vaisseaux aux plus grands rapports d'aspects, c'est-à-dire les premières générations, sont ceux qui échangent le plus de chaleur.

Un autre élément qu'il peut être pertinent de considérer dans un contexte biologique est l'intensité du rapport conductivité solide/fluide. On montre que l'efficacité est d'autant plus importante que ce rapport est grand, jusqu'à une valeur limite de saturation (voir Figure 5 de l'article) : le solide se comportant alors comme un conducteur parfait. D'après [MCINTOSH et ANDERSON \[2010\]](#), ce ratio est plutôt d'ordre 1 dans de nombreux tissus. Il en résulte que le solide ne se comporte pas comme un conducteur parfait dans les tissus. Notons tout de même qu'aux grands Péclet, le passage d'un rapport de conductivité de 1 à 10 se traduit par une augmentation de l'efficacité de 100%.

Nos résultats montrent aussi une faible sensibilité du Péclet optimum aux paramètres. En explorant différents rapports d'aspects des vaisseaux, différents rapports de conductivités ou même différents nombres de Biot, le Péclet optimum se situe dans une gamme restreinte entre 5 et 12. Les échanges optimaux se situent donc dans une gamme très restreinte et sont donc nécessairement associés à des conditions physiologiques très particulières. Par exemple, même entre deux tissus ayant des conductivités thermiques différentes, l'optimal d'échange se situe dans un régime de convection très similaire.

#### 4.4.2 Transfert ou échanges ?

Nous discutons ici une partie des résultats de l'article qui concernent le transfert thermique entre les vaisseaux et le tissu, caractérisé par le nombre de Nusselt. Notre étude montre un comportement différent pour le Nusselt de l'efficacité, qui est aussi plus intuitif, à savoir : une augmentation monotone avec le Péclet (voir Figure 9 de l'article). Autrement dit, plus la convection est importante devant la diffusion dans le fluide plus le transfert de chaleur entre le tissu et les vaisseaux est important. Évidemment, plus les rapports d'aspect des vaisseaux sont importants, plus le transfert est fort. On retrouve également ce comportement en augmentant le rapport de conductivité solide/fluide  $k_s/k_f$  jusqu'à la limite de conducteur parfait pour  $k_s/k_f \gg 1$ .

Nous avons donc deux nombres adimensionnels, l'efficacité et le Nusselt, qui se comportent différemment en fonction du nombre de Péclet et des autres nombres adimensionnels caractéristiques (qu'ils soient géométriques ou thermiques). Lequel de ces deux paramètres est physiologiquement pertinent ? Cela dépend du contexte physiologique.

Si l'on se place dans un contexte où le sang transporté dans les vaisseaux réchauffe le tissu, le nombre de Nusselt est le plus pertinent physiologiquement puisqu'il quantifie exactement la quantité de chaleur transférée du sang dans les vaisseaux vers le tissu. Les conclusions sont donc plutôt simples à ce niveau : les géométries et contextes hydrodynamiques qui se placent dans la gamme des grands Péclets ( $Pe > 200$ ), avec des vaisseaux aux forts rapports d'aspects et des rapports de conductivité solide/fluide les plus grands, seront ceux qui maximisent le transfert.

Si l'on se place en revanche dans un contexte où le sang transporté dans l'artère réchauffe celui transporté par la veine, alors l'efficacité est le nombre le plus pertinent. En effet, si on prend comme exemple la patte du canard, mais qu'on peut étendre à tout système biologique vascularisé ayant des extrémités exposées au froid : lorsque le canard nage, sa nageoire est plongée dans l'eau et donc soumise à une température plus faible, ce qui devrait générer une perte de chaleur plus importante. Pourtant, on observe que ces pertes ne constituent que 5% du total du corps [KILGORE et SCHMIDT-NIELSEN \[1975\]](#). Ceci s'explique par un mécanisme de régulation à contre-courant [MIDTGÅRD \[1981\]](#). Avant de pénétrer dans l'eau, le sang artériel chaud est refroidi par les échanges en contre-courant du sang veineux qui est plus froid, puisque provenant de la patte immergée. Lorsque le sang artériel refroidi pénètre la patte immergée, il est plus proche de la température de l'eau et il y a donc moins de perte de chaleur par transfert vers le milieu extérieur. Conjointement, le sang veineux plus froid lorsqu'il sort de la patte immergée, est réchauffé par le sang artériel ce qui garantit qu'il ne refroidira pas le reste de l'organisme. Dans ce type de contexte, l'efficacité est une bonne métrique pour évaluer dans quelle mesure le compartiment artério-veineux échange le plus de chaleur. Ainsi, on voit que les paramètres de quantification d'efficacité des échanges doivent être appliqués à des situations physiologiques différentes.

Une adaptation des paramètres pertinents suivant le contexte physiologique est égale-

ment intéressante à considérer dans le cadre des vaisseaux thermiquement significatifs que l'on a introduit en début de chapitre. Comme on vient de le voir, les vaisseaux participant le plus aux échanges ne sont pas nécessairement ceux qui participent le plus au transfert. Ainsi, il peut être compliqué d'avoir un critère général qui fonctionnerait dans tous les contextes physiologiques. Dans la section suivante nous allons étudier plus précisément ce concept suivant deux des définitions classiques qui ont été données dans la littérature.

## 4.5 Évaluation de vaisseaux thermiquement significatifs

### 4.5.1 Quantités évaluées

Cette section considère des conditions périodiques au bord du tissu afin d'appréhender la modélisation des transferts artério-veineux sans influence des conditions de bord. Il s'agit donc de la deuxième classe de géométrie présentée en 4.3.1. Nous avons évalué deux quantités (évoquées en section 4.2 et en fin de sous-section 4.3.1) qui définissent des vaisseaux comme thermiquement significatifs sur plusieurs gammes de rapport de Péclet artériel sur veineux ( $Pe_a/Pe_v$ ) et ce pour plusieurs Péclets veineux, plusieurs rapports d'aspects des vaisseaux et plusieurs rapports de distance entre les vaisseaux sur le rayon ( $\alpha = R/R_0$ ). La première quantité est la longueur d'équilibre thermique qui doit être proche de la longueur du vaisseau pour que ce dernier soit considéré comme thermiquement significatif. Plus précisément nous avons choisi comme définition, la distance à partir de laquelle la température moyenne dans le tissu diminue d'un facteur exponentiel soit la distance notée  $l_{eq}$  qui vérifie :

$$\overline{T}_t^*(l_{eq}) = (1 - e^{-1})\overline{T}_t^*(L^*) \quad (4.18)$$

en gardant à l'esprit que la coordonnée  $z^* = L^*$  correspond à l'entrée artérielle et la sortie veineuse.

On considérera que des vaisseaux sont thermiquement significatifs si le rapport  $l_{eq}/L^* \geq 1/2$ .

Concernant la seconde quantité associée aux vaisseaux thermiquement significatifs, on définit l'efficacité artérielle  $\epsilon_a$  qui est la différence entre la température moyenne de sortie artérielle (au bord de l'échangeur) et la température moyenne du tissu sur ce même bord relativement à la différence totale de température imposée :

$$\begin{aligned} \epsilon_a &= \frac{\overline{T}_a(z^*=0) - \overline{T}_t(z^*=0)}{T_a^{*,+\infty} - T_v^{*,-\infty}} \\ &= \frac{\overline{T}_a(z^*=0) - \overline{T}_t(z^*=0)}{2} \end{aligned} \quad (4.19)$$

et en gardant à l'esprit que  $z^* = 0$  correspond à la sortie artérielle.

Les vaisseaux seront considérés comme thermiquement significatifs lorsque cette efficacité est grande, c'est-à-dire lorsque la température moyenne de sortie artérielle n'est pas proche de la température moyenne locale dans le tissu.

Ces quantités sont définies ici afin de préciser/adapter des concepts déjà discutés dans la littérature (voir section 4.2).

### 4.5.2 Variation des rapports d'aspects des vaisseaux

Étudions comment varient nos deux quantités pour des longueurs de vaisseaux différentes. Sur la Figure 4.3 on a reproduit la longueur thermique d'équilibre en fonction du rapport

$Pe_a/Pe_v$  pour quatre rapports d'aspects  $L^* = 5, 10, 20, 50$ , deux Péclets veineux  $Pe_v = 5, 10$  et deux rapports de distances entre les vaisseaux  $\alpha = 0.2, 0.5$ . À partir de ces figures, on définit également le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit} = Pe_a/Pe_v$  pour lequel le ratio  $l_{eq}/L^* = 1/2$ . Autrement dit, pour tout autre ratio tel que  $Pe_a/Pe_v > Pe_{a/v}^{crit}$  les vaisseaux sont thermiquement significatifs. La Figure 4.4 reproduit l'efficacité artérielle pour les mêmes paramètres.

Pour la longueur thermique d'équilibre, on remarque :

- Le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  à partir desquels les vaisseaux peuvent être considérés comme thermiquement significatifs est plutôt modéré :  $Pe_{a/v}^{crit} \simeq 5$ .
- Les vaisseaux sont d'autant plus thermiquement significatifs que le rapport  $Pe_a/Pe_v$  est grand.
- Lorsque le Péclet veineux est plus grand, le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  augmente (jusqu'à un facteur 2 par exemple pour  $L^* = 5, Pe_v = 10, \alpha = 0.5$ , Figure 4.3 d).
- Lorsque les vaisseaux sont proches ( $\alpha = 0.5$ ), le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  décroît de manière monotone avec le rapport d'aspect des vaisseaux (Figure 4.3 c) et d)). Comme on pouvait s'y attendre, puisque la longueur des vaisseaux est grande vis à vis de la distance entre les vaisseaux, la décroissance de la température longitudinale est essentiellement contrôlée par le rapport des Péclet.
- En revanche, lorsque les vaisseaux sont éloignés ( $\alpha = 0.2$ ), le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  ne varie pas de manière monotone avec le rapport d'aspect des vaisseaux (Figure 4.3 a) et b)). Dans ce cas, on observe qu'il existe une gamme de longueurs de vaisseaux (autour de  $L^* = 10, 20$ ) pour lesquels les vaisseaux sont les moins thermiquement significatifs et celle-ci doit être contrôlée par la distance entre les vaisseaux. De plus, pour le vaisseau de plus faible rapport d'aspect ( $L^* = 5$ ), le comportement n'est pas asymptotique, puisqu'à partir d'un certain rapport de Péclet, la longueur d'équilibre n'est pas atteinte (points qui ne sont donc pas reproduits). Il s'agit donc du rapport d'aspect le plus optimal dans ce cas

Considérons maintenant le second critère, associé à l'efficacité artérielle. Dans ce cas, les conclusions sont moins affirmées. Cependant, on note les points saillants suivants :

- Les vaisseaux sont d'autant plus thermiquement significatifs que le rapport  $Pe_a/Pe_v$  est grand.
- L'efficacité artérielle sature pour  $Pe_a/Pe_v \geq 10$ .
- Le Péclet veineux influence peu l'efficacité artérielle (< 20%).
- Lorsque les vaisseaux sont éloignés ( $\alpha = 0.2$ ), l'efficacité artérielle est meilleure quand le rapport d'aspect des vaisseaux est petit. On voit notamment une nette différence pour le plus petit rapport d'aspect étudié ici  $L^* = 5$  (Figure 4.4 a) et b)).
- Enfin, lorsque les vaisseaux sont proches ( $\alpha = 0.5$ ), le rapport d'aspect des vaisseaux n'influence plus l'efficacité artérielle (Figure 4.4 c) et d))

Ces deux derniers points indiquent que l'efficacité artérielle ne dépend de la longueur des vaisseaux que lorsque ceux-ci sont éloignés. Par ailleurs, l'efficacité artérielle croît de manière monotone avec le rapport  $Pe_a/Pe_v$  comme on pouvait s'y attendre, jusqu'à saturation.



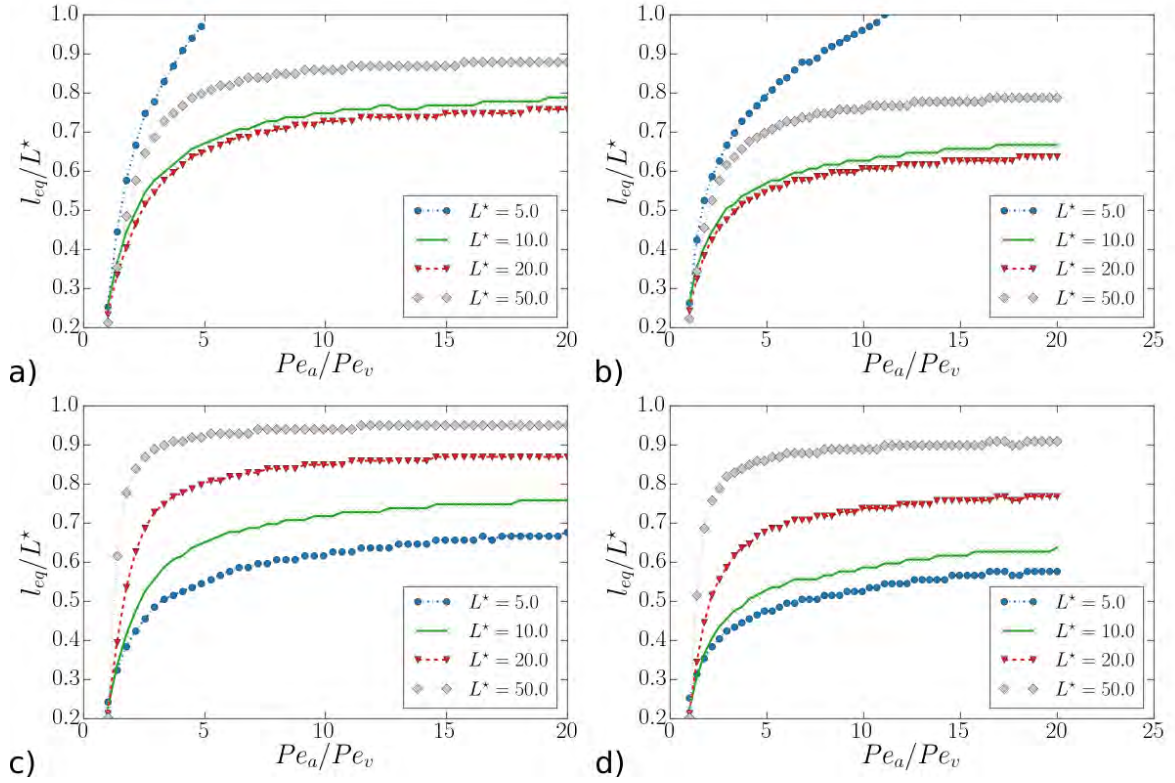


Figure 4.3 – Ratio  $l_{eq}/L^*$  contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports d'aspects des vaisseaux ( $L^* = 5, 10, 20, 50$ ) et différents Péclets veineux et rapports de distances entre vaisseaux : **a)**  $Pe_v = 5, \alpha = 0.2$ , **b)**  $Pe_v = 10, \alpha = 0.2$ , **c)**  $Pe_v = 5, \alpha = 0.5$ , **d)**  $Pe_v = 10, \alpha = 0.5$

Lorsqu'on compare les résultats obtenus avec les deux critères  $l_{eq}/L^*$  et  $\epsilon_a$ , on s'aperçoit que les tendances en rapport de Péclet artériel sur veineux sont très similaires : une augmentation monotone avec (presque toujours) un régime asymptotique de saturation. Pour la longueur thermique d'équilibre, les ratios modérés  $Pe_a/Pe_v$  suffisent (avec notre critère  $l_{eq}/L^* \geq 50$ ), mais les vaisseaux seront d'autant plus thermiquement significatifs que le ratio est grand. Dans les deux cas on s'aperçoit que seules les conditions où les vaisseaux sont éloignés ( $\alpha = 0.2$ ) montrent une sensibilité avec le rapport d'aspect des vaisseaux  $L^*$ . Celles-ci semblent atteindre un optimum (ou maximum) lorsque  $L^* \simeq 2\alpha$  qui est la distance entre deux vaisseaux co-courant. Un dernier point commun concerne l'influence du Péclet veineux, qui augmente dans chaque cas les quantités  $l_{eq}/L^*$  et  $\epsilon_a$ .

#### 4.5.3 Variation des distances entre les vaisseaux

Regardons à présent l'influence des distances entre les vaisseaux sur le rapport  $l_{eq}/L^*$  et l'efficacité artérielle  $\epsilon_a$ . Dans le cas de la longueur thermique d'équilibre, un certain nombre d'observations sont proches de celles faites précédemment, on note que :

- Le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  à partir desquels les vaisseaux peuvent être considérés comme thermiquement significatifs, est plutôt modéré :  $Pe_{a/v}^{crit} < 7$ .
- Lorsque le Péclet veineux est plus grand, le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  augmente.
- Lorsque les vaisseaux ont un rapport d'aspect élevé ( $L^* = 20$ ), le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  diminue de manière monotone avec la distance entre les vaisseaux (Figure 4.5 c) et d)).

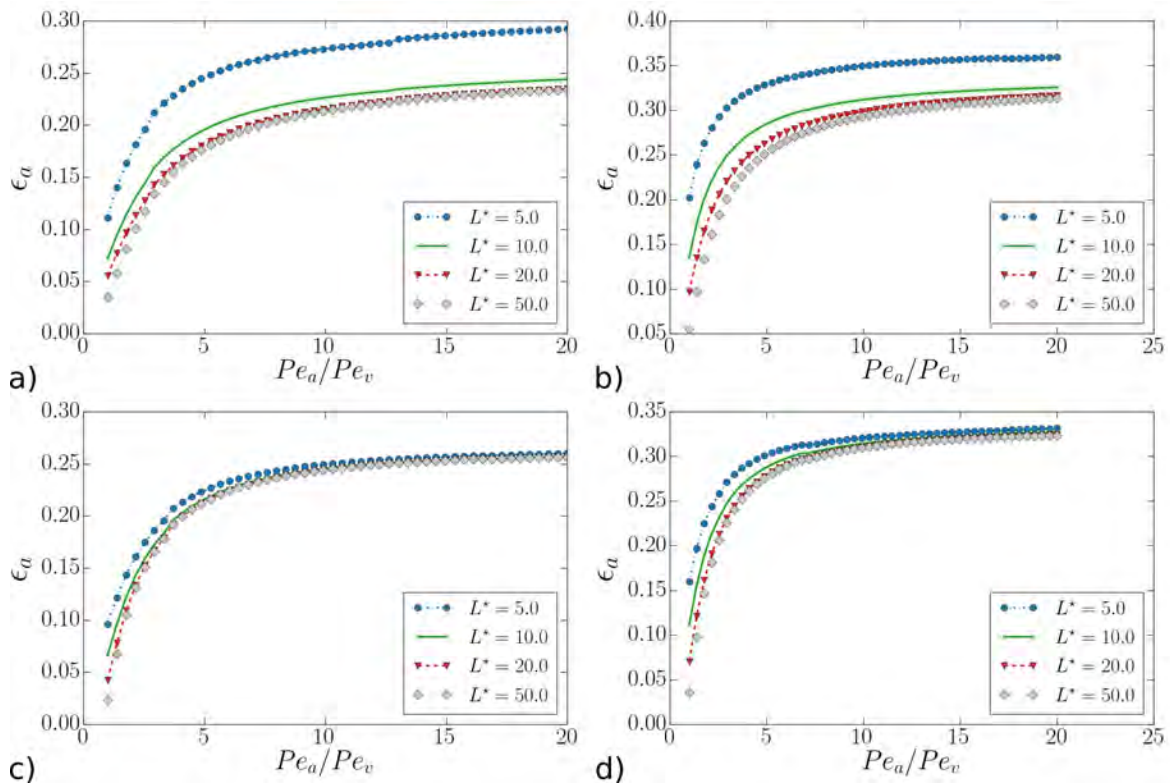


Figure 4.4 – Efficacité artérielle contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports d’aspects des vaisseaux ( $L^* = 5, 10, 20, 50$ ) et différents Péclets veineux et rapports de distances entre vaisseaux : **a)**  $Pe_v = 5, \alpha = 0.2$ , **b)**  $Pe_v = 10, \alpha = 0.2$ , **c)**  $Pe_v = 5, \alpha = 0.5$ , **d)**  $Pe_v = 10, \alpha = 0.5$

- En revanche, lorsque les vaisseaux ont un faible rapport d’aspect ( $L^* = 5$ ), le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  ne varie pas de manière monotone avec la distance entre les vaisseaux (Figure 4.5 a) et b)). Dans ce cas, on observe qu’il existe une distance entre les vaisseaux optimale pour la longueur d’échange efficace et celle-ci doit être contrôlée par la longueur des vaisseaux. En effet, le ratio critique  $Pe_{a/v}^{crit}$  optimal est obtenu pour une distance entre les tubes de  $2/\alpha$  qui est proche de  $L^*$ .

Pour le second critère, c’est-à-dire l’efficacité artérielle, on observe que :

- Les vaisseaux sont d’autant plus thermiquement significatifs que le rapport  $Pe_a/Pe_v$  est grand
- L’efficacité artérielle sature pour  $Pe_a/Pe_v \geq 10$ .
- Le Péclet veineux influence peu l’efficacité artérielle (< 20%).
- Lorsque les vaisseaux sont de faible rapport d’aspect ( $L^* = 5$ ), plusieurs niveaux distincts d’efficacité artérielle  $\epsilon_a$  apparaissent pour les plus grands rapports  $Pe_a/Pe_v$  en fonction de la distance entre les vaisseaux. En particulier, plus les vaisseaux sont éloignés plus, l’efficacité artérielle est importante (Figure 4.6 a) et b)).
- En revanche, la différence est moins marquée lorsque le rapport d’aspect est modéré ( $L^* = 20$ , Figure 4.6 c) et d))

La comparaison de ces résultats mettent de nouveau en évidence des tendances similaires entre les des deux quantités évaluées en fonction du rapport  $Pe_a/Pe_v$ . Toutefois, pour la longueur thermique d’équilibre, les ratios modérés  $Pe_a/Pe_v$  suffisent. Seuls les

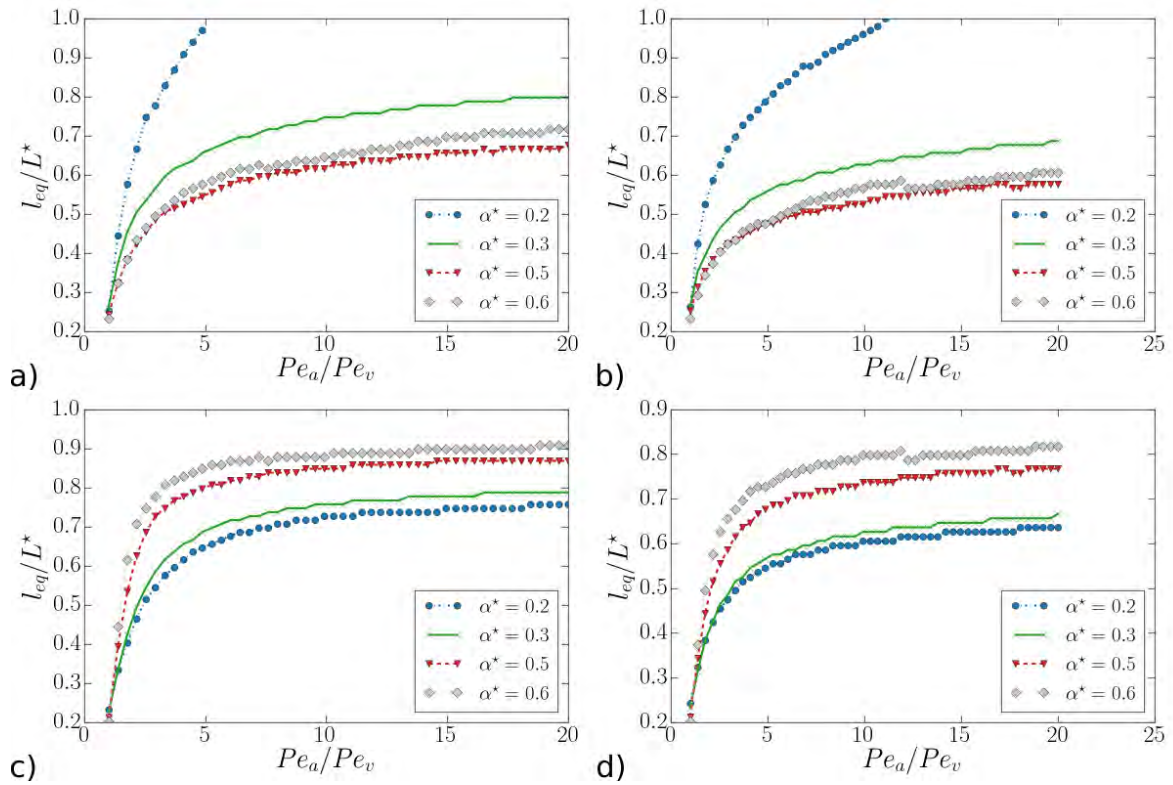


Figure 4.5 – Ratio  $l_{eq}/L^*$  contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports de distances entre vaisseaux ( $\alpha = 0.2, 0.3, 0.5, 0.6$ ) et différents Péclets veineux et rapports d'aspects des vaisseaux : **a)**  $Pe_v = 5, L^* = 5$ , **b)**  $Pe_v = 10, L^* = 5$ , **c)**  $Pe_v = 5, L^* = 20$ , **d)**  $Pe_v = 10, L^* = 20$

vaisseaux de faible rapport d'aspect montrent une sensibilité non monotone au rapport des Péclet  $Pe_a/Pe_v$ . On retrouve également une faible influence du Péclet veineux sur les deux quantités pour toutes les distances entre les vaisseaux.

L'ensemble de ces résultats montrent une action conjointe de deux paramètres géométriques : la distance entre les vaisseaux et le rapport d'aspect des vaisseaux dans la caractérisation de la significativité thermique des vaisseaux. On trouve en particulier des variations non-monotones lorsque les rapports d'aspects sont faibles et les vaisseaux sont éloignés et un optimum de significativité thermique semble apparaître dans ce cas. En revanche, il est important de noter que pour les plus grands rapports de Péclet artériel sur veineux, la variation en fonction des paramètres géométriques de la longueur d'équilibre thermique et bien plus grande que l'efficacité artérielle. Cette dernière quantité est de manière générale bien plus sensible au rapport des Péclet qu'aux autres paramètres.

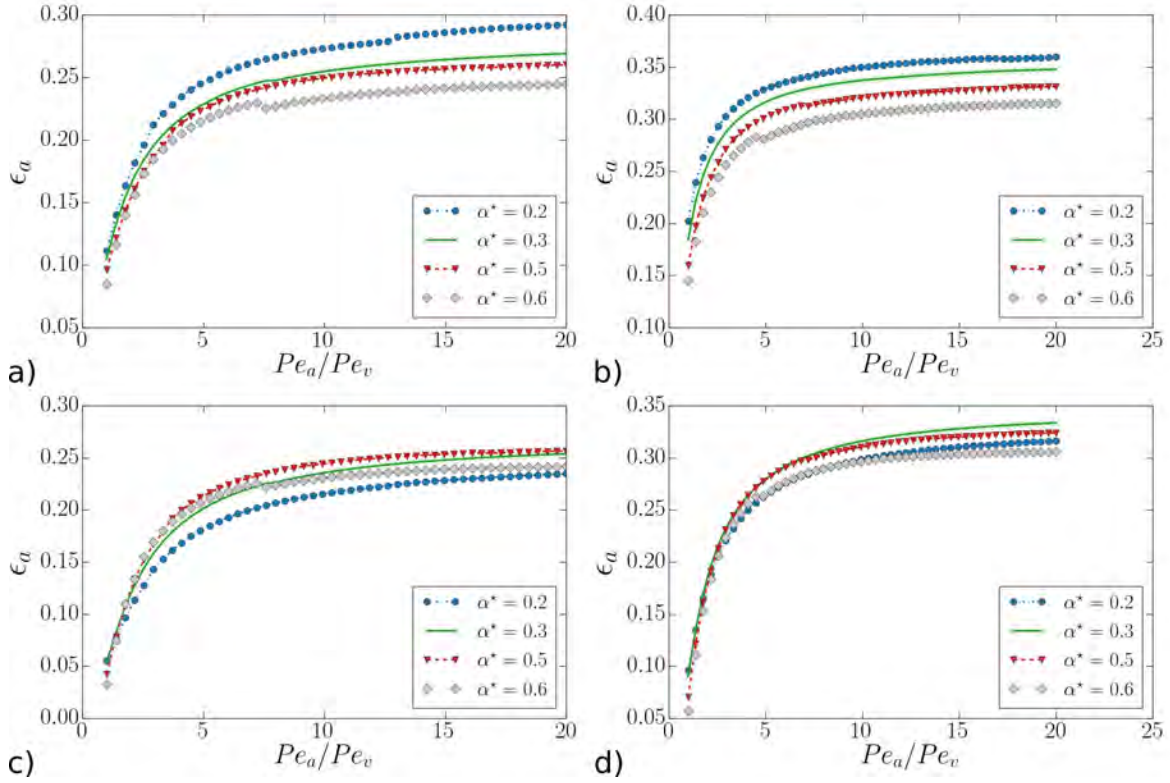


Figure 4.6 – Efficacité artérielle  $\epsilon_a$  contre le rapport Péclet artériel sur veineux pour plusieurs rapports de distances entre vaisseaux ( $\alpha = 0.2, 0.3, 0.5, 0.6$ ) et différents Péclets veineux et rapports d'aspects des vaisseaux : **a)**  $Pe_v = 5, L^* = 5$ , **b)**  $Pe_v = 10, L^* = 5$ , **c)**  $Pe_v = 5, L^* = 20$ , **d)**  $Pe_v = 10, L^* = 20$

## 4.6 Modèles moyens et paramètres effectifs

### 4.6.1 Méthode

Comme évoqué en introduction générale 1, un certain nombre de modèles de transfert de chaleur entre vaisseaux sanguins utilisent des approches par prise de moyenne volumique au sens par exemple de WHITAKER [1999] où, pour une fonction  $\phi$ , et un volume de contrôle  $V_c$  la moyenne volumique est définie comme :

$$\langle \phi \rangle^c = \frac{1}{V_c} \int_{V_c} \phi \, dV_c \quad (4.20)$$

À l'instar de NAKAYAMA et KUWAHARA [2008], nous allons considérer un modèle à trois équations moyennées : deux équations dans le fluide (une pour l'artère et une pour la veine) avec un terme de diffusion, un terme de convection et des termes de couplage artère/tissu et artère/veine et une équation pour le tissu sans terme de convection et avec des termes similaires de couplage. Ces modèles s'écrivent sous la forme suivante :

$$\begin{aligned} \partial_{z^*}(\tilde{k}_a \partial_{z^*} T_a^*) &= \tilde{d} Pe \bar{U} \partial_{z^*} T_a^* + \tilde{a} (T_a^* - T_v^*) + \tilde{b} (T_a^* - T_t^*) && \text{pour l'artère} \\ \partial_{z^*}(\tilde{k}_v \partial_{z^*} T_v^*) &= \tilde{e} Pe \bar{U} \partial_{z^*} T_v^* + \tilde{a} (T_v^* - T_a^*) + \tilde{c} (T_v^* - T_t^*) && \text{pour la veine} \\ \partial_{z^*}(\tilde{k}_t \partial_{z^*} T_t^*) &= \tilde{b} (T_t^* - T_a^*) + \tilde{c} (T_t^* - T_v^*) && \text{pour le tissu} \end{aligned} \quad (4.21)$$

avec  $T_a$  et  $T_v$  les températures moyennées respectivement sur les domaines fluides artériels et veineux et  $T_t$  la température moyenne dans le domaine solide (i.e. dans le tissu). Les paramètres effectifs sont les suivants :  $\tilde{a}, \tilde{b}, \tilde{c}, \tilde{d}, \tilde{e}, \tilde{k}_a, \tilde{k}_v$ . On considérera que la conductivité effective dans le tissu n'est pas une inconnue et est donnée par  $\tilde{k}_t = k_t \cdot (1 - \epsilon)$  avec  $\epsilon = \epsilon_a + \epsilon_v$  la porosité totale des domaines fluides artériels et veineux.

En moyennant la solution semi-analytique 3D micro et en l'injectant dans les équations 4.21, nous allons construire une fonctionnelle à minimiser de manière à ce que les paramètres soient calés au mieux. Définissons d'abord les fonctions suivantes :

$$\begin{aligned}
f_a(z) &= \partial_{z^*}(\tilde{k}_a \partial_{z^*} T_a^*) - \tilde{d} Pe_a \overline{U}_a \partial_{z^*} T_a^* + \tilde{a} (T_a^* - T_v^*) + \tilde{b} (T_a^* - T_t^*) && \text{pour l'artère} \\
f_v(z) &= \partial_{z^*}(\tilde{k}_v \partial_{z^*} T_v^*) - \tilde{e} Pe_v \overline{U}_v \partial_{z^*} T_v^* + \tilde{a} (T_v^* - T_a^*) + \tilde{c} (T_v^* - T_t^*) && \text{pour la veine} \\
f_t(z) &= \partial_{z^*}(\tilde{k}_t \partial_{z^*} T_t^*) - && + \tilde{b} (T_t^* - T_a^*) + \tilde{c} (T_t^* - T_v^*) && \text{pour le tissu}
\end{aligned} \tag{4.22}$$

qui doivent être nulles pour tout  $z^*$  de manière à ce que le modèle moyen soit valide. Pour avoir une fonction à minimiser à valeurs dans  $\mathbb{R}$ , on va se contenter de chercher les paramètres tels qu'en moyenne les fonctions  $f_a, f_v, f_t$  seront proches de zéro.

Avec  $\theta = (\tilde{a}, \tilde{b}, \tilde{c}, \tilde{d}, \tilde{e}, \tilde{k}_a, \tilde{k}_v)$  le vecteur des paramètres et  $J_a, J_v, J_t$ , on définit les fonctionnelles suivantes :

$$\begin{aligned}
J_a &= \|f_a(z)\|_{L^2([0, L^*])}^2 \\
J_v &= \|f_v(z)\|_{L^2([0, L^*])}^2 \\
J_t &= \|f_t(z)\|_{L^2([0, L^*])}^2
\end{aligned} \tag{4.23}$$

et le problème d'optimisation s'écrit comme :

$$\min_{\theta \in \mathbb{R}^7} J = J_a + J_v + J_t \tag{4.24}$$

On peut noter dès maintenant que les fonctionnelles  $J_a, J_v$  et  $J_t$  sont quadratiques en  $\theta$  et donc que la condition nécessaire d'optimalité  $\nabla J = 0$  est équivalente à un système linéaire  $M\theta = b$ . En effet, par exemple pour la fonctionnelle  $J_a$  l'application de la norme  $L^2$  à la fonction  $f_a$ , fait apparaître des doubles produits de tous les termes de  $f_a$  et donc des produits des coefficients  $\tilde{k}_a, \tilde{d}, \tilde{a}, \tilde{b}$ .

## 4.6.2 Validation des paramètres évalués

Pour valider les paramètres calculés précédemment, on va chercher des quantités analytiques issues de la résolution du système 4.21 et regarder l'erreur relativement à celle calculée avec le modèle complet 3D. On note que le système d'équations 4.21 peut s'écrire sous forme matricielle :

$$\mathbf{T}'' = \mathbf{B} \mathbf{T}' + \mathbf{A} \mathbf{T} \tag{4.25}$$

avec :

$$\mathbf{B} = \begin{pmatrix} \frac{Pe_a \overline{U}_a \tilde{d}}{\tilde{k}_a} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{Pe_v \overline{U}_v \tilde{e}}{\tilde{k}_v} & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}, \mathbf{A} = \begin{pmatrix} \frac{\tilde{a} + \tilde{b}}{\tilde{k}_a} & \frac{-\tilde{a}}{\tilde{k}_a} & \frac{-\tilde{b}}{\tilde{k}_a} \\ \frac{-\tilde{a}}{\tilde{k}_v} & \frac{\tilde{a} + \tilde{c}}{\tilde{k}_v} & \frac{-\tilde{c}}{\tilde{k}_v} \\ \frac{-\tilde{b}}{\tilde{k}_t} & \frac{-\tilde{c}}{\tilde{k}_t} & \frac{\tilde{a} + \tilde{c}}{\tilde{k}_t} \end{pmatrix} \text{ et } \overline{\mathbf{T}} = \begin{pmatrix} T_a^* \\ T_v^* \\ T_t^* \end{pmatrix}$$

Et on peut ramener ce système à un système du premier ordre

$$\mathbf{U} = \begin{pmatrix} \partial_{z^*} T_a^* \\ \partial_{z^*} T_v^* \\ \partial_{z^*} T_t^* \end{pmatrix}$$

On peut à présent écrire le problème comme un système du premier ordre :

$$\mathbf{Y}' = \mathbf{M} \mathbf{Y} \tag{4.26}$$

avec

$$\mathbf{Y} = \begin{pmatrix} \mathbf{T} \\ \mathbf{U} \end{pmatrix} \text{ et } \mathbf{M} = \begin{pmatrix} 0 & \mathbf{I} \\ \mathbf{A} & \mathbf{B} \end{pmatrix} \quad (4.27)$$

La solution analytique de ce problème dépend des valeurs propres de la matrice  $\mathbf{M}$ . Pour valider les paramètres évalués nous allons analyser les erreurs commises sur les deux premières valeurs propres, qui sont les plus déterminantes pour reconstruire le champ moyen de température, par rapport aux valeurs propres du problème de Graetz complet. Précisons que, comme la première valeur propre est nulle dans le problème de Graetz complet, on considérera plutôt des erreurs absolues. De même, pour la seconde valeur propre, le cas équilibré  $Pe_a = Pe_v$  fait apparaître une valeur propre nulle, on calculera donc une erreur absolue dans ce cas précis également.

### 4.6.3 Erreurs relatives sur les valeurs propres

Nous avons donc calculé ces erreurs sur plusieurs gammes de rapport de Péclet artériels sur veineux ( $Pe_a/Pe_v$ ) pour un Péclet veineux  $Pe_v = 10$  et en supposant que le Péclet artériel est toujours plus fort que le Péclet veineux. Nous avons également fait varier le rapport d'aspect des vaisseaux  $L^*$  sur une gamme de 5 à 50. Ces erreurs sont reproduites en Figure 4.7. Bien que ces résultats soient encore préliminaires et nécessiteraient de plus longs développements (par exemple en étudiant l'influence de la distance entre les vaisseaux), il apparaît quelques points qu'il nous semble intéressant de commenter.

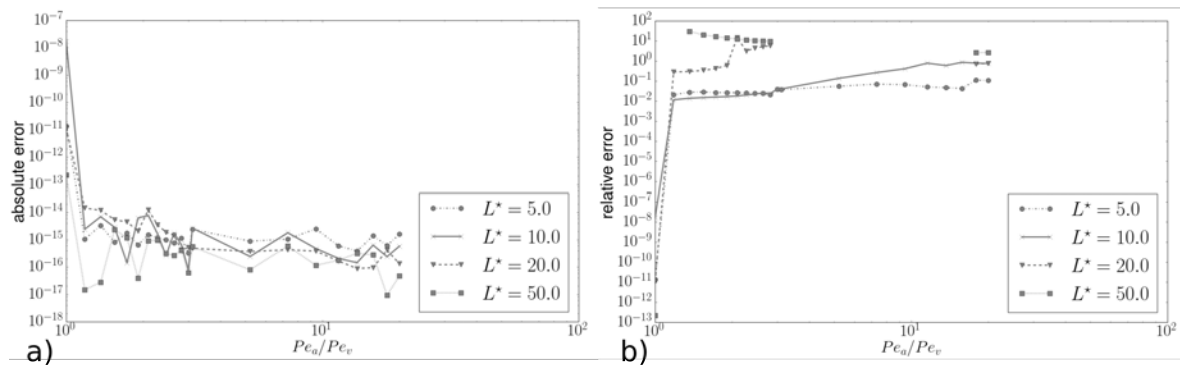


Figure 4.7 – Erreurs **a)** absolues pour la première valeur propre et **b)** relatives pour la seconde valeur propre

Pour la première valeur propre et du fait que le rang de la matrice  $\mathbf{M}$  soit égal à 5, on a toujours une valeur propre nulle qui correspond donc à la valeur propre nulle du problème complet, qui, pour rappel, provient des conditions aux bords périodiques. La méthode de calage des paramètres que nous proposons ici capte donc parfaitement ce mode. Les erreurs sur cette valeur propre sont reproduites en Figure 4.7 a). Précisons que pour des rapports de Péclet  $Pe_a/Pe_v$  proches de 1, dans le cas du problème complet, la contribution de ce mode correspond déjà à une bonne approximation du champ de température moyen.

Pour la seconde valeur propre, c'est-à-dire la première valeur propre négative et dont les erreurs sont reproduites en Figure 4.7 b), plusieurs points sont à considérer. D'abord pour le cas équilibré ( $Pe_a = Pe_v$ ), on retrouve pour les quatre rapports d'aspects des vaisseaux la valeur propre nulle du problème de Graetz complet avec des erreurs inférieures à  $10^{-7}$ . Au delà ( $Pe_a > Pe_v$ ), trois cas se distinguent :

- Les très faibles rapports d'aspects  $L^* = 5$  sur toutes les gammes de ratio  $Pe_a/Pe_v$  avec des erreurs relatives  $< 11\%$

- Les faibles rapports d'aspects  $L^* = 5, 10$  et à faibles ratios  $Pe_a/Pe_v < 7$  avec des erreurs relatives  $< 15\%$
- Les forts rapports d'aspects  $L^* = 20, 50$  pour toutes les gammes de Péclet avec des erreurs relatives  $> 75\%$

Pour les plus forts rapports d'aspect, il y a des valeurs de ratio  $Pe_a/Pe_v$  où la matrice  $M$  ne possède plus de valeur propre négative réelle. Dans ce cas, elles ne sont donc pas reproduites sur la figure.

Ces résultats semblent donc pointer vers une gamme de validité des modèles moyennés relativement réduites à savoir : des rapports d'aspects des vaisseaux faibles sur de larges gammes de ratio de Péclet ou des rapports d'aspects de vaisseaux modérés sur des gammes de rapport de Péclet modérées.

La figure 4.8 illustre l'évolution des conductivités effectives suivant le nombre de Péclet artériel et pour un rapport d'aspect  $L^* = 5$ . Il semble que les gammes de Péclet artériel sur lesquelles les paramètres effectifs sont correctement évalués est encore plus faible qu'envisagé par l'erreur sur les valeurs propres. En effet, à partir d'un Péclet artériel  $Pe_a = 73.33$ , la conductivité effective associée à l'artère est négative, ce qui n'est évidemment pas physique. Ce début d'analyse mériterait bien entendu des extensions pour mieux comprendre les limites de la modélisation par paramètres effectifs moyens, et l'estimation d'autres propositions de leurs estimations.

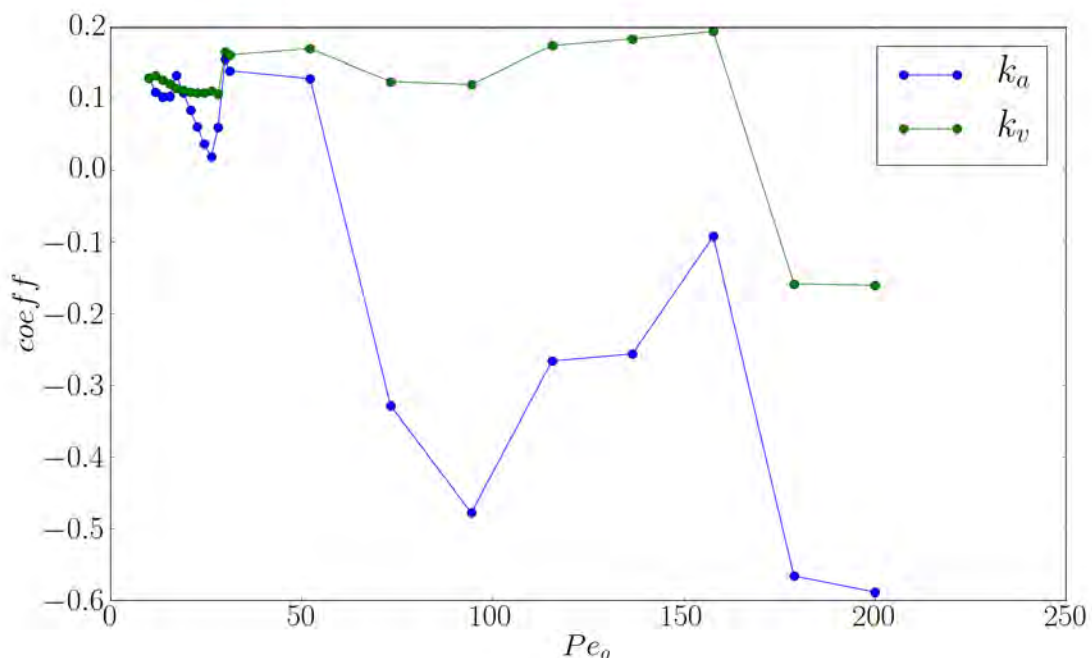


Figure 4.8 – Erreurs **a)** absolues pour la première valeur propre et **b)** relatives pour la seconde valeur propre

## 4.7 Vers une prise en compte d'un terme source homogène dans le tissu

Nous avons vu que dans certains contextes physiologiques, l'influence d'un terme source métabolique homogène dans le tissu peut être considéré comme négligeable ou de faible influence. Dans le cas de processus de browning, et bien que celle-ci soit difficilement estimable, l'intensité de ce terme source pourrait être importante sur l'influence quantitative des transferts thermiques entre vaisseaux. Il est à noter que la présence d'un terme source ne changera probablement pas les caractères qualitatifs des transferts de chaleurs que nous avons mis en évidence dans ce chapitre (présence d'un optimum à petit Péclet, saturation du transfert à grand Péclet). Pour conclure ce chapitre, nous souhaitons donner les grandes lignes d'une méthode prenant en compte un terme source homogène dans le tissu dans le contexte méthodologique des problèmes de Graetz généralisés.

Avec les adimensionnements déjà présentés, le problème de Graetz généralisé (dans l'échangeur) avec terme source devient :

$$\begin{aligned} Pe v^*(x^*, y^*) \partial_z^* T^* - (\partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2 + \partial_{z^*}^2) T^* &= 0, \quad \text{dans le fluide} \\ (\partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2 + \partial_{z^*}^2) T^* &= P^*, \quad \text{dans le solide} \end{aligned} \quad (4.28)$$

On doit donc trouver la solution du problème homogène, qui est en fait la solution présentée précédemment de l'équation 4.4 qu'on notera  $T_h^*$ , et une solution particulière qu'on notera  $T_p^*$ . On choisit une solution particulière invariante en  $z^*$  et on se ramène au problème suivant :

$$\begin{aligned} (\partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2) T_p^* &= 0, \quad \text{dans le fluide} \\ (\partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2) T_p^* &= P^*, \quad \text{dans le solide} \end{aligned} \quad (4.29)$$

qu'on peut résoudre numériquement par une formulation élément fini par exemple (il s'agit d'une équation de la chaleur avec un terme source discontinu). La solution du problème de l'échangeur est donnée alors par  $T^* = T_h^* + T_p^*$ . Il faut à présent "recoller" en 3D la solution de l'échangeur aux solutions des vaisseaux entrant/sortant de l'échangeur, *i. e.* les solutions des problèmes de Graetz classique. On propose d'adapter la méthode de [PIERRE et collab. \[2014\]](#) en décomposant dans la fonctionnelle de recollement sur la partie fluide les faces entrantes/sortantes de l'échangeur. Sur la partie solide des faces entrantes/sortantes de l'échangeur, on aura (en gardant à l'esprit que la solution particulière est invariante en  $z^*$ ) les conditions aux limites suivantes :

$$\nabla T \cdot \vec{n} = 0 \text{ sur } \Omega_s^0 \text{ et } \Omega_s^{L^*} \quad (4.30)$$

c'est-à-dire des conditions de Neumann homogène sur les domaines solides en  $z^* = 0$  et  $z^* = L^*$ . Les conditions à imposer sur les domaines fluides entre l'échangeur et les vaisseaux sont les même que dans [PIERRE et collab. \[2014\]](#)

$$\begin{aligned} T_g^* &= T_d^* \quad \text{sur } D_{0,L^*}^{H,C} \\ \partial_{z^*} T_g^* &= \partial_{z^*} T_d^* \quad \text{sur } D_{0,L^*}^{H,C} \end{aligned} \quad (4.31)$$

avec  $T_d^*$  et  $T_g^*$  respectivement les températures "droite" et "gauche" au sens du passage à la limite sur les bords de l'échangeur en  $z^* = 0$  et  $z^* = L^*$ . Pour faciliter la lecture, on donnera la fonctionnelle pour un seul vaisseau entrant en  $z^* = 0$

$$J_{\mathcal{L}_2}(T^*) = \int_{D_0^H} |T_g^* - T_{h,d}^* - T_{p,d}^*|^2 ds + \int_{D_0^H} |\partial_z T_g^* - \partial_z T_{h,d}^*|^2 ds \quad (4.32)$$



On note à présent que si l'on projette la solution particulière  $T_p$  sur la base des vecteurs propres du problème de l'échangeur comme  $T_p = \sum \langle T_p, T_n \rangle T_n = \sum a_n T_n$ , on obtient une décomposition avec des coefficients  $a_n$  connus. On peut donc suivre la méthode de [PIERRE et collab. \[2014\]](#) et on obtiendra un système linéaire de la forme :

$$(\mathbf{M}_{\mathcal{L}_2} + \mathbf{M}_p)\mathbf{x} = \mathbf{b} + \mathbf{b}_p \quad (4.33)$$

avec  $\mathbf{M}_p$  et  $\mathbf{b}_p$  la matrice et le vecteur second membre issus de la solution particulière.

## 4.8 Références

- BAISH, J. W. 1994, «Formulation of a Statistical Model of Heat Transfer in Perfused Tissue», *Journal of Biomechanical Engineering*, vol. 116, n° 4, p. 521–527. [120](#)
- BOUYSSIER, J. 2012, *Transports couplés en géométries complexes*, thèse de doctorat, Université Toulouse 3 Paul Sabatier, Toulouse, France. [124](#)
- BOUYSSIER, J., C. PIERRE et F. PLOURABOUE. 2013, «MATHEMATICAL ANALYSIS OF PARALLEL CONVECTIVE EXCHANGERS WITH GENERAL LATERAL BOUNDARY CONDITIONS USING GENERALIZED GRAETZ MODES», *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, vol. 24, n° 4, doi:10.1142/S0218202513500620, p. 1–39. [124](#), [125](#)
- BRINCK, H. et J. WERNER. 1994, «Estimation of the Thermal Effect of Blood Flow in a Branching Countercurrent Network Using a Three-Dimensional Vascular Model», *Journal of biomechanical engineering*, vol. 116, n° 3, p. 324–330. [120](#)
- CHATO, J. C. 1980, «Heat transfer to blood vessels.», *Journal of biomechanical engineering*, vol. 102, n° 2, doi:10.1115/1.3138205, p. 110–118, ISSN 01480731. [120](#)
- CHEN, M. M. et K. R. HOLMES. 1980, «Microvascular contributions in tissue heat transfer», *Annals of the new york academy of sciences*, vol. 335, p. 137–150. [120](#)
- DEBARNOT, V., J. FEHRENBACH, F. DE GOURNAY et L. MARTIRE. 2018, «The case of Neumann, Robin and periodic lateral condition for the semi infinite generalized Graetz problem and applications», URL <http://arxiv.org/abs/1803.00834>. [125](#)
- FEHRENBACH, J., F. DE GOURNAY, C. PIERRE et F. PLOURABOUÉ. 2012, «The Generalized Graetz Problem in Finite Domains», *SIAM Journal on Applied Mathematics*, vol. 72, n° 1, doi:10.1137/11082542X, p. 19–123, ISSN 0036-1399. [124](#), [125](#)
- HE, Q. 2002, «Experimental Measurements of the Temperature Variation Along Artery-Vein Pairs from 200 to 1000  $\mu\text{m}$  Diameter in Rat Hind Limb», *Journal of Biomechanical Engineering*, vol. 124, n° 6, doi:10.1115/1.1517061, p. 656–661, ISSN 0148-0731. URL <http://biomechanical.asmedigitalcollection.asme.org/article.aspx?doi=10.1115/1.1517061>. [120](#)
- HUANG, H. W., Z. P. CHEN et R. B. ROEMER. 1996, «A Countercurrent vascular network model of heat transfer in tissues.», *Journal of biomechanical engineering*, vol. 118, n° 1, doi:10.1115/1.2795937, p. 120–129, ISSN 01480731. [120](#)
- KILGORE, D. et K. SCHMIDT-NIELSEN. 1975, «Heat loss from ducks' feet immersed in cold water», *The Condor*, vol. 77, n° 4, doi:10.2307/1366094, p. 475–478, ISSN 00105422. URL <http://www.jstor.org/stable/1366094>. [128](#)

- KOTTE, A., G. VAN LEEUWEN, J. DE BREE, J. VAN DER KOIJK, H. CREZEE et J. LAGENDIJK. 1996, «A description of discrete vessel segments in thermal modelling of tissues», *Physics in Medicine and Biology*, vol. 41, n° 5, doi:10.1088/0031-9155/41/5/004, p. 865–884, ISSN 00319155. [120](#)
- LEMONS, D. E., S. CHIEN, L. I. CRAWSHAW, S. WEINBAUM et L. M. JIJI. 1987, «Significance of vessel size and type in vascular heat transfer», *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, vol. 253, n° 1, p. R128–R135, ISSN 0363-6119. [120](#)
- MCINTOSH, R. L. et V. ANDERSON. 2010, «A COMPREHENSIVE TISSUE PROPERTIES DATABASE PROVIDED FOR THE THERMAL ASSESSMENT OF A HUMAN AT REST"», *Biophysical Reviews and Letters*, vol. 5, n° 3, doi:10.1142/S179304801392001X, p. 129–151, ISSN 1793-0480. URL <http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S179304801392001X>. [127](#)
- MIDTGÅRD, U. 1981, «The Rete tibiotarsale and Arterio-venous Association in the Hind Limb of Birds: A comparative Morphological study on Counter-current Heat Exchange Systems», *Acta Zoologica*, vol. 62, n° 2, p. 67–87. [128](#)
- NAKAYAMA, A. et F. KUWAHARA. 2008, «A general bioheat transfer model based on the theory of porous media», *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 51, n° 11-12, doi:10.1016/j.ijheatmasstransfer.2007.05.030, p. 3190–3199, ISSN 00179310. [134](#)
- PIERRE, C., J. BOUYSSIER, F. DE GOURNAY et F. PLOURABOUÉ. 2014, «Numerical computation of 3D heat transfer in complex parallel heat exchangers using generalized Graetz modes», *Journal of Computational Physics*, vol. 268, n° 1, doi:10.1016/j.jcp.2014.02.037, p. 84–105, ISSN 00219991. [119](#), [124](#), [126](#), [138](#), [139](#)
- PIERRE, C. et F. PLOURABOUÉ. 2009, «Numerical Analysis of a New Mixed Formulation for Eigenvalue Convection-Diffusion Problems», *SIAM Journal on Applied Mathematics*, vol. 70, n° 3, doi:10.1137/080736442, p. 658–676, ISSN 0036-1399. [124](#), [125](#)
- SHRIVASTAVA, D. et R. B. ROEMER. 2006, «Readdressing the issue of thermally significant blood vessels using a countercurrent vessel network.», *Journal of biomechanical engineering*, vol. 128, n° 2, doi:10.1115/1.2165693, p. 210–6, ISSN 0148-0731. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16524332>. [120](#), [123](#)
- VALANT, A. Z., L. ŽIBERNA, Y. PAPAHRILAOU, A. ANAYIOTOS et G. C. GEORGIU. 2011, «The influence of temperature on rheological properties of blood mixtures with different volume expanders-implications in numerical arterial hemodynamics simulations», *Rheologica Acta*, vol. 50, n° 4, doi:10.1007/s00397-010-0518-x, p. 389–402, ISSN 00354511. [119](#)
- VAN LEEUWEN, G. M., A. N. KOTTE, J. DE BREE, J. F. VAN DER KOIJK, J. CREZEE et J. J. LAGENDIJK. 1997, «Accuracy of geometrical modelling of heat transfer from tissue to blood vessels.», *Physics in medicine and biology*, vol. 42, n° 7, p. 1451–60, ISSN 0031-9155. URL <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9253052>. [120](#)
- VAN LEEUWEN, G. M. J., A. N. T. J. KOTTE, B. W. RAAYMAKERS et J. J. W. LAGENDIJK. 2000, «Temperature simulations in tissue with a realistic computer generated vessel network», *Physics in Medicine and Biology*, vol. 45, n° 4, doi:10.1088/0031-9155/45/4/317, p. 1035–1049, ISSN 00319155. [120](#)

WHITAKER, S. 1999, *The Method of Volume Averaging*, vol. 13, ISBN 0792354869, 219 p., doi: 10.1007/978-94-017-3389-2. URL <http://books.google.com/books?hl=fr&lr=&id=x7mQCEokSCAC&pgis=1>. 134

ZHU, L., D. E. LEMONS et S. WEINBAUM. 1996, «Microvascular thermal equilibration in rat cremaster muscle», *Annals of Biomedical Engineering*, vol. 27, n° 1, doi:10.1114/1.148, p. 56–66, ISSN 00906964. 120

#### **4.9 Article publié dans la revue *International Journal of Heat and Mass Transfer***



# Theoretical and numerical analysis of counter-flow parallel convective exchangers considering axial diffusion



J. Dichamp<sup>a</sup>, F. De Gournay<sup>b</sup>, F. Plouraboué<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse, UMR CNRS-INPT/UPS No. 5502, France

<sup>b</sup> Institut de Mathématiques de Toulouse, CNRS and Université Paul Sabatier, Toulouse, France

## ARTICLE INFO

### Article history:

Received 15 December 2015

Received in revised form 29 August 2016

Accepted 6 September 2016

Available online 19 November 2016

### Keywords:

Generalized Graetz decomposition

Convective exchangers

Heat and mass transfer

Micro-exchangers

Compact heat exchangers

## ABSTRACT

We perform a systematic analysis of heat transfer in a counter-current three dimensional convective exchanger, when the inlet/outlet influence is fully taken into account. The analysis, carried out for constant fluid properties, considers the various influences of the fluid/solid conductivity, the imposed convection, inlet/outlet far-field conditions, and lateral boundary conditions. Using a generalized Graetz mode decomposition which permits to consider, both transverse and longitudinal diffusion influence in the exchanger as well as in the inlets/outlets, we put forward several salient generic features of convection/conduction heat transfer.

In all cases we found an optimal Péclet number for the cold or hot effectiveness. Even if, as expected, the larger the Péclet the larger the Nusselt number, high transfer performances are found to be poorly efficient and/or to necessitate non-compact elongated exchangers. Performance degradation arising at high Péclet number are found to be related to “convective leaks” taking place within outlets. A fully developed regime occurs at large Péclet and/or for long exchangers, which is fully determined by the first eigenvalue of the generalized Graetz mode decomposition, which is an extension of classical Graetz analysis. Numerical results are found consistent with a generalized linear relation between effectiveness and the number of heat transfer units asymptotically established in the convection dominated regime. This study opens new perspectives for micro-heat exchangers where moderate convection provides the best effectiveness and compactness. This contribution is also useful for giving reference solutions to counter-flow exchangers with realistic inlet/outlet boundary conditions.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Conjugate counter-flow heat-exchangers are widely used in thermal and building energy, chemistry, and many other industrial applications [30]. Albeit such exchangers are of low technological content, they support important energetic functions so that proposing new tools to address their optimal use is an important technological issue. In those applied contexts, most of the exchangers are designed with the help of lumped methods, such as the traditional Log Mean Temperature Difference (LMTD) method, compartmental or transverse average approximations, in order to predict and elaborate dedicated look-up tables and graphs for each precise configuration [30,1].

At a more fundamental level, much progress have also been made in the understanding of simple geometry exchangers, e.g.

parallel or axi-symmetrical configurations (e.g. [23,18,19,21,22,38,40,39,41,35,36,28] to cite only a few) during the last four decades from studying conjugated Graetz problems. In this specific context, for constant fluids properties, the convection–diffusion problem is linear and amenable to a close solution based on eigenfunction expansions. In counter-flow configurations, these solutions involve sets of real, positive and negative, eigenvalues associated with exponential longitudinal decay, upstream and downstream. Many features of those solutions can be generalized to complex fluids (e.g [29,9]).

More recently, new mathematical analysis have shown that the concept of generalized Graetz modes can be resolved when simultaneously fully taking into account longitudinal conduction and for any general tubular exchanger configuration [26,7,25]. This new framework shows that, indeed, all temperature profiles (except for the very special case of balanced, adiabatic counter-current exchanger) are varying exponentially in the longitudinal direction, in tubular exchangers. This mathematical result is indeed consistent with the LMTD method. In fact, generalized

\* Corresponding author.

E-mail addresses: [jules.dichamp@imft.fr](mailto:jules.dichamp@imft.fr) (J. Dichamp), [frederic.de-gournay@insa-toulouse.fr](mailto:frederic.de-gournay@insa-toulouse.fr) (F. De Gournay), [franck.plouraboue@imft.fr](mailto:franck.plouraboue@imft.fr) (F. Plouraboué).

**Nomenclature**

$Bi \equiv \frac{hR}{k_s}$	Biot number	$k^F$	fluid thermal conductivity
$C_C^E$	cold base circle in exchanger	$k^S$	solid thermal conductivity
$C_H^E$	hot base circle in exchanger	$L$	exchanger length
$C^E$	external exchanger cylindrical frontier	$L^* = L/R$	dimensionless exchanger length
$C_C^E$	cold cylinder in exchanger	$Nu_{H,C}$	Nusselt number in hot/cold tube
$C_H^E$	hot cylinder in exchanger	$Nu_{H,C}^{loc}$	local Nusselt number in hot/cold tube
$C_{TI}^C$	input cold tube	$Ntu_H \equiv Nu_H/Gr \equiv Nu_H L^*/Pe$	number of heat transfer units
$C_{TI}^H$	input hot tube	$Pe \equiv \frac{\rho c V (2R)}{k^F}$	Péclet number (balanced configuration)
$C_{TO}^C$	output cold tube	$Pe_C$	Péclet number in cold tube
$C_{TO}^H$	output hot tube	$Pe_H$	Péclet number in hot tube
$D_0^C$	cold tube disk at $z = 0$	$Pe^o$	optimal Péclet number
$D_0^H$	hot tube disk at $z = 0$	$Q_{H,C}$	flux in hot or cold tubes
$D^C$	cold tube disk	$Q_{H,C}^*$	dimensionless flux in hot or cold tubes
$D^H$	hot tube disk	$Q^*$	total dimensionless flux
$D_L^C$	cold tube disk at $z = L$	$R$	tube radius
$D_L^H$	hot tube disk at $z = L$	$R_E$	exchanger radius
$\epsilon_C \equiv \frac{T_C^- - T_C^+}{T_H^- - T_C^+}$	cold effectiveness	$T$	temperature field
$\epsilon_H \equiv \frac{T_H^- - T_H^+}{T_H^- - T_C^+}$	hot effectiveness	$T_a$	reference temperature in the air
$Gr$	Graetz number $Gr \equiv Pe/L^*$	$T_C^-$	temperature at exchanger input in cold tube
$h$	convective heat transfer coefficient (Robin/Fourier parameter)	$T_C^+$	temperature at exchanger output in cold tube
		$T_H^-$	temperature at exchanger input in hot tube
		$T_H^+$	temperature at exchanger output in hot tube
		$T_w$	constant wall temperature

Graetz modes analysis provides a solid theoretical foundation, as well as a clear framework for this known empirical method to be sound. It turns out that the generalized Graetz eigenfunction expansions is also useful to compute complex exchangers properties [25,24] since they permit to map a 3D problem into a 2D one (in the transverse direction). Furthermore, it is important to take into account longitudinal conduction in regions where convective effects are not dominant. Indeed, longitudinal diffusion effects were found significant for Péclet numbers as large as 100 in tubes [33,17]. But this is even more crucial inside the solid domain of an exchanger, since, in the solid part longitudinal and transverse conduction are of similar magnitude. This is especially true in configurations where solid walls are not thin, as opposed to fin exchangers, where a simple thermal resistance model to couple inlet and outlet fluid compartments with solid diffusion is not precise enough.

In the recent years, growing efforts have been dedicated to elaborate micro-heat exchangers for the design of micro-cooling systems associated with high power density micro-chips [3,13,5,6]. Compactness, effectiveness, and performance are indeed all-together crucial in many contexts and different strategies have been proposed to search for optimal designs (e.g. [34,2,43,11,8]).

Furthermore, in the context of bio-heat transfer modeling of tissue convection within parallel vessels has been considered in many contributions, e.g. [42,44,16,32].

Since, generically, the local transfer rate from the fluid into the solid is found to abruptly decay from the inlet along the longitudinal direction [6,37], a strong emphasis has to be made upon the influence of the inlet and outlet conditions. To be more specific, in many cases a fully developed thermal boundary outlet condition is chosen [39,41,35,36,28,37] to model downstream convection. This is consistent with convective dominated situations with very large Péclet numbers. For more moderate Péclet numbers, a more elaborate coupling of the exchanger with the inlet/outlet is needed

to properly take into account the influence of the convection leak inside the outlet, as well as the possible upstream back-conduction in the inlet.

The aim of this contribution is to further explore the influence of inlet/outlet coupling and longitudinal diffusion onto a counter-current exchanger both in the balanced and unbalanced configuration. Whilst it is now easy to perform specific full-3D direct numerical computation with finite volume/finite element/finite differences methods (e.g [6,37]) for a given set of parameters and geometry, it is not yet simple to fully explore the parameter space influence as well as the coupling with inlets/outlets. The latter is especially true since highly convective situations are associated with downstream stretched-out longitudinal temperature gradients inside the outlets, scaling linearly with the Péclet number, so that a full discretization of this compartment is just not worth considering. In this contribution, since we use a generalized Graetz-mode decomposition, all the longitudinal variations are analytically known and do not necessitate any numerical discretization. Solving a two-dimensional numerical problem only and mapping it to a three dimensional one, offers a powerful tool to explore parameter space. Most of the numerical method used in this paper has been detailed in a previous contribution [24]. Hence we will not repeat the method's technical details here in order to lighten the reading of the manuscript. We will rather concentrate on discussing the significance and interest of the obtained results from a physical viewpoint. Most technical aspects related to the mathematical formulation are given in Appendix A.1. The mathematical justification of the method in the context of Robin–Fourier (convective) lateral boundary condition on the exchanger will be worth considering in the future. In this contribution we provide a complete and accurate parameter exploration of counter-current exchangers coupled with their inlet/outlets at very moderate numerical cost, in order to extract the most salient features of the transfer.

In Section 2 the set of governing equations and their dimensionless formulation are provided. Some insights about the Graetz mode decomposition, and the boundary condition issue are discussed. In Section 3 the effectiveness and transfer estimate are discussed as well as a detailed description of the exchanger geometry under study. Section 4 describes the analysis of the exchanger performance from considering dimensionless Nusselt number and effectiveness ratio on balanced counter-current configuration when varying the Biot number, a dimensionless Péclet number, conductivity ratio, and exchanger length. Some unbalanced cases are also analyzed at the end of this section. In Section 5 we discuss the obtained results in the light of fully developed Graetz mode analysis, and provide simple generic behavior of convective dominated exchangers.

**2. Governing problem and dimensionless formulation**

**2.1. Exchanger geometry**

We consider laminar convection–diffusion arising in a fluid having constant properties. In the following we assume that the hot and cold tubes are filled with the same fluid, although this simplifying assumption is not a restriction of the proposed approach. Fully developed solutions of Navier–Stokes momentum equations in cylindrical tubes oriented along direction  $z$  are given by the Poiseuille longitudinal velocity  $\mathbf{v}_H = v_H(r) \mathbf{e}_z = 2V_H(1 - (r/R)^2) \mathbf{e}_z$  and  $\mathbf{v}_C = v_C(r) \mathbf{e}_z = -2V_C(1 - (r/R)^2) \mathbf{e}_z$  where  $V_H$  – respectively  $V_C$  – stands for the average velocity in the hot – respectively cold – tube, where  $R$  is the tube radius and  $\mathbf{e}_z$  is the unit vector along  $z$  direction. The hot tube refers to the tube with homogeneous inlet temperature at minus infinity  $T_H^{-\infty}$  and the cold tube refers to the tube with homogeneous inlet temperature at plus infinity  $T_C^{+\infty}$  as represented on Fig. 2.

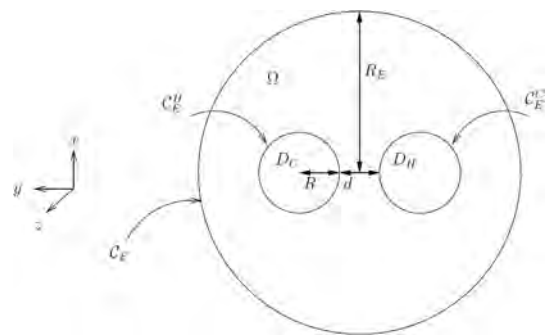
In most of the following we will consider the special case of a balanced counter-current configuration where longitudinal velocities are identical  $V_H = V_C = V$  whilst using the same fluid in the hot and cold tubes. But, we also explore the case of an unbalanced exchanger where the fluxes and velocities are different, as detailed in forthcoming sections. For any aspect of the proposed approach one could have chosen any tube shape as explained in [24]. Here,

we study the special case of cylindrical sections of the inlet/outlets but we will qualitatively comment in Section 5 about the generalization of the obtained results to other shapes.

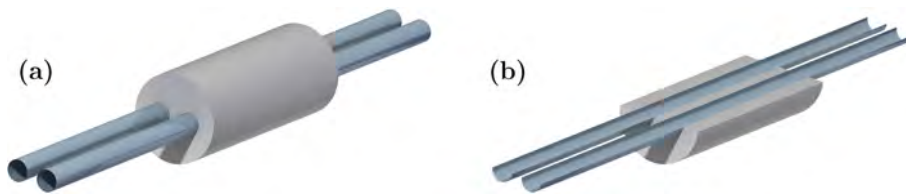
Studying the influence of exchanger geometry on transfer performance has been the object of intense research especially in the context of compact micro-exchangers or bio-heat transfer in tissues where counter-flow configurations are also relevant to many bio-heat problems. Quoting [31], ‘since a considerable fraction of blood vessels are found in pairs vessel–vessel heat transfer has generally been postulated as one of the most important heat transfer mechanisms involved in determining the tissue temperature distributions’ [20,14,45].

Since this study focused on into the analysis of the influence of physical, thermal and hydraulic parameters, which already represent six independent dimensionless parameters, we shall not study the influence of the geometry on transfer. We arbitrarily set-up a simple tubular shape geometry as described in Figs. 1–3. Two counter flow tubes separated by a distance  $d = R$ . The radius of the exchanger is  $R_E = 4R$  where  $R$  is also the radius of the flow tubes. This configuration is very similar with the ones considered in [4,44,31,16,10] where parallel tubes in counter-current vessels within tissue are considered.

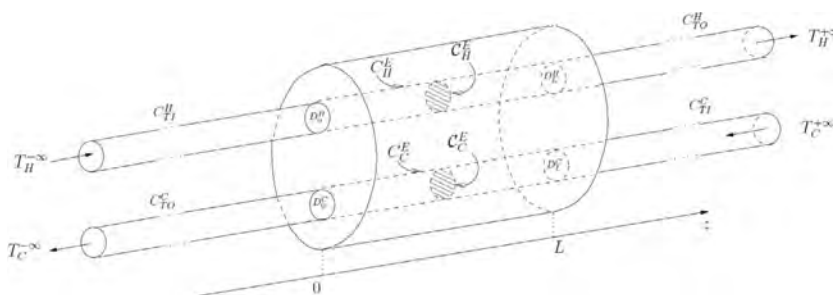
It is interesting to mention that the surface to volume ratio of our exchanger is  $2(2\pi R)/\pi(4R)^2 = 1/4R$  whilst the surface ratio between fluid and solid is  $2\pi R^2/\pi(4R)^2 = 1/8$ . Hence even though the solid surface represents eight times the fluid one, the



**Fig. 3.** Schematic layout of the transverse section of the heat exchanger. We have set  $R_E = 4R$  and  $R = d$ .



**Fig. 1.** Perspective view using real size of (a) full exchanger (b) opened half-exchanger where the fluid tubes inside the exchanger are visible.



**Fig. 2.** Schematic layout of the exchanger geometry defining the various notations associated with the interface between tubes and exchangers, as well as the edges of the various components.

compactness (surface to volume ratio) can reach high values as tube diameters are decreased. For millimeter radius inlet tubes this ratio reaches value close to 250 m<sup>-1</sup>, and for one tens millimeter radius 2500 m<sup>-1</sup>, which are to be compared with what is usually considered as 'compact' exchangers for where the ratio is 700 m<sup>-1</sup> [30].

Changing the radius not only increases the compactness but it also decreases the Péclet number. We will see in the following that this turns-out to be very interesting for effectiveness.

### 2.2. Governing problem

We write the stationary thermal energy balance in three dimensions as

$$\begin{aligned} \rho c \mathbf{v} \cdot \nabla T - k^F \Delta T &= 0 \text{ in Fluid} \\ k^S \Delta T &= 0 \text{ in Solid} \end{aligned} \quad (1)$$

with  $k^F$  &  $k^S$  being the Fluid and Solid thermal conductivity,  $\rho$  the fluid density and  $c$  the heat capacity; the above problem reads more explicitly for longitudinally invariant velocity convection  $\mathbf{v} = v(x, y) \mathbf{e}_z$  as

$$\begin{aligned} \rho c v(x, y) \partial_z T - k^F (\partial_x^2 + \partial_y^2 + \partial_z^2) T &= 0, \text{ in Fluid} \\ k^S (\partial_x^2 + \partial_y^2 + \partial_z^2) T &= 0, \text{ in Solid} \end{aligned} \quad (2)$$

We denote  $C^E$ , the lateral surface of the exchanger, and  $C_H^E$  &  $C_C^E$  the hot & cold tube surface inside the exchanger.  $C^E$ ,  $C_H^E$  and  $C_C^E$  are all cylinders localized in the longitudinal direction between 0 and  $L$ . We consider a Robin-Fourier convective lateral boundary condition, on cylinder  $C^E$  whose base is circle  $C^E$ ,  $C^E = C^E \times [0, L]$ ,

$$-k_S \partial_n T|_{C^E} = h(T|_{C^E} - T_a), \quad (3)$$

where  $T_a$  is the reference temperature in the air and  $h$  the heat transfer coefficient. We define the continuity condition inside the exchanger between the solid and the fluids interfaces  $C_H^E$  and  $C_C^E$ . Let us define  $\partial\Omega_F = C_H^E \cup C_C^E$  and  $\partial\Omega_S = \partial\Omega/C^E$  where  $\partial\Omega$  is the full frontier of the solid domain and  $C^E$  is the exchanger cylinder (lateral frontier between the ambient air and the solid). Then continuity of temperature and fluxes read as

$$\begin{aligned} T|_{\partial\Omega_F} &= T|_{\partial\Omega_S} \\ k^F \partial_n T|_{\partial\Omega_F} &= k^S \partial_n T|_{\partial\Omega_S} \end{aligned} \quad (4)$$

where, at inlet and outlet tubes external boundaries  $C_n^C$ ,  $C_n^H$ ,  $C_{T0}^C$  and  $C_{T0}^H$  we consider homogeneous adiabatic Neumann boundary conditions for lateral edges,

$$\partial_n T|_{C_n^C, C_n^H, C_{T0}^C, C_{T0}^H} = 0. \quad (5)$$

At infinity, in the inlets the cold and hot sources temperatures are imposed

$$\begin{aligned} T|_{D^H}(x, y, z \rightarrow -\infty) &= T_H^{-\infty} \\ T|_{D^C}(x, y, z \rightarrow +\infty) &= T_C^{+\infty}, \end{aligned} \quad (6)$$

where  $D^H$  and  $D^C$  denote the disk on hot and cold tubes.

### 2.3. Dimensionless formulation

Following previous studies (e.g. [28]), let us now use dimensionless variables with  $\star$  index defined as  $x = Rx^\star$ ,  $y = Ry^\star$ ,  $z = Rz^\star$ ,  $L = L^\star R$ ,  $v_H = 2V_H v_H^\star$ ,  $v_C = 2V_C v_C^\star$ , and

$$T^\star = \frac{T - T_H^{-\infty}}{T_H^{-\infty} - T_C^{+\infty}} + \frac{T - T_C^{+\infty}}{T_H^{-\infty} - T_C^{+\infty}}. \quad (7)$$

Now, using the dimensionless position  $\xi^\star = (x^\star, y^\star)$  in the  $(x, y)$  plane (2) reads

$$\begin{aligned} Pe_{H,C} v^\star(\xi^\star) \partial_{z^\star} T^\star - (\partial_{x^\star}^2 + \partial_{y^\star}^2 + \partial_{z^\star}^2) T^\star &= 0, \text{ in Fluid} \\ (\partial_{x^\star}^2 + \partial_{y^\star}^2 + \partial_{z^\star}^2) T^\star &= 0, \text{ in Solid} \end{aligned} \quad (8)$$

At the lateral exchanger external interface with air, one has the following boundary condition

$$-\partial_{n^\star} T^\star = Bi(T^\star - T_a), \quad (9)$$

where we have now introduced an effective external dimensionless reference temperature

$$T_a^\star = \frac{T_a - T_H^{-\infty} - T_C^{+\infty}}{T_H^{-\infty} - T_C^{+\infty}}, \quad (10)$$

introducing the usual Biot number  $Bi = hR/k_S$ . Let us precise that all domains will be denoted with a star due to the nondimensionalization of space variables  $x^\star$ ,  $y^\star$ ,  $z^\star$ . At the interface  $C_H^{E^\star}$  &  $C_C^{E^\star}$  between the hot and cold fluid tubes and the solid inside the exchanger, one has continuity of temperature and fluxes

$$\begin{aligned} T^\star|_{\partial\Omega_F^\star} &= T^\star|_{\partial\Omega_S^\star} \\ k^F \partial_n T^\star|_{\partial\Omega_F^\star} &= k^S \partial_n T^\star|_{\partial\Omega_S^\star}. \end{aligned} \quad (11)$$

Due to the choice of dimensionless temperature the imposed cold and hot sources verify

$$\begin{aligned} T^\star|_{D^{H^\star}}(\xi^\star, z^\star \rightarrow -\infty) &= T_H^{\star-\infty} = 1, \text{ in Hot inlet} \\ T^\star|_{D^{C^\star}}(\xi^\star, z^\star \rightarrow +\infty) &= T_C^{\star+\infty} = -1, \text{ in Cold inlet,} \end{aligned} \quad (12)$$

Dimensionless formulation thus brings six different dimensionless parameters: two hot and cold Péclet numbers  $Pe_{H,C} = 2\rho c V_{H,C} R/k_F$ , the Biot number  $Bi$ , the conductivity ratio between the solid and the fluid  $k^S/k^F$ , the effective external dimensionless reference temperature  $T_a^\star$  defined in (10), and the exchanger aspect ratio  $L^\star = L/R$ . In the following we will mainly focus on the situation of balanced counter-flow exchanger for which  $Pe_H = Pe_C = Pe$  and systematically study the influence of the Biot parameter  $Bi$ , the exchanger aspect ratio  $L^\star$  and conductivity ratio  $k^S/k^F$ .

### 2.4. General comments on the formulation and numerical method

It is important to mention that the outlet temperature in hot or cold tubes are not known a priori because convection-diffusion exchanger problems do not prescribe the outlet conditions. This is a very important point since, in the general case of arbitrary (and possibly moderately convective situations) Péclet number regime, outlet conditions at the exchanger frontier,  $D_L^H$  &  $D_O^C$ , are needed for the problem to present a closed form, and thus to get a proper numerical solution. In most of the previous literature on the subject, since most investigators were interested in the convective limit for which convection dominates over diffusion, the outlet boundary conditions where not necessary for the problem to be solved. Since most exchangers designed for practical applications where considered in the  $Pe \gg 1$  regime, for which the Nusselt number is the largest, this approximation was consistent.

Here, we wish to analyze the general problem associated with any Péclet number, and thus some outlet conditions are necessary to get a solution.

It was shown and discussed in detail in [25,24] that the exchanger outlet conditions can not be decoupled from the tube outlet temperature field, and that all inlet-outlet-exchanger compartments are to be solved together in order to find a proper solution.

Even though considering a coupled problem which includes inlet and outlet drastically simplifies the question concerning the outlet condition, since at infinity the outlet temperature field is uniform within  $D^C$  &  $D^H$ , so that only two constants  $T_C^{\star-\infty}$  &  $T_H^{\star+\infty}$  are to be found, (for balanced counter-flow exchangers only one constant is enough), these constants are still missing! Hence, these constants need to be settled as unknowns of the problem and solved together with it. This is what is done here following [24], so that we do not develop further the detailed numerical formulation. Since this paper does not focus on the method, but rather on the obtained results, the interested reader should get a more precise description of the numerical method used in [24]. Nevertheless, Appendix B presents a brief description of the numerical implementation of the method. Following [24] the numerical solution is based upon a generalized Graetz mode decomposition of the problem in each compartment

$$T^*(\xi^*, z^*) = \sum_{N^+} x_n^+ T_n^+(\xi^*) e^{\lambda_n^+ z^*} + x_n^- T_n^-(\xi^*) e^{\lambda_n^- (z^* - L^*)}$$

exchanger  $z^* \in [0, L^*]$

$$T^*(\xi^*, z^*) = x_0^H + \sum_{N^+} x_n t_n^+(\xi^*) e^{\mu_n^+ (z^* - L^*)}$$

hot outlet tube  $z^* \geq L^*$

$$T^*(\xi^*, z^*) = x_0^C + \sum_{N^+} x_n t_n^-(\xi^*) e^{\mu_n^- z^*}$$

cold outlet tube  $z^* \leq 0$

$$T^*(\xi^*, z^*) = T_H^{\star-\infty} + \sum_{N^+} x_n t_n^-(\xi^*) e^{\mu_n^- z^*}$$

hot inlet tube  $z^* \leq 0$

$$T^*(\xi^*, z^*) = T_C^{\star+\infty} + \sum_{N^+} x_n t_n^+(\xi^*) e^{\mu_n^+ (z^* - L^*)}$$

cold inlet tube  $z^* \geq L^*$

where  $x_n^\pm$  are the amplitudes of the generalized Graetz modes,  $T_n^\pm$  are the upstream and downstream exchanger Graetz modes,  $\lambda_n^+ < 0$  are the upstream Graetz eigenvalues and  $\lambda_n^- > 0$  are the downstream eigenvalues.  $t_n^\pm$  are the upstream and downstream Graetz modes in the inlet and outlet tubes,  $\mu_n^+ < 0$  are downstream Graetz eigenvalues in outlet tubes  $\mu_n^- > 0$  are upstream Graetz eigenvalues in inlet tubes.

From knowing in each compartment, the inlet, outlet and the exchanger, that the solutions can be decomposed into a family of orthogonal modes, we are able to set the coupling conditions for these compartments to provide the proper matching of temperature and fluxes at their interfaces  $D_0^H, D_0^C, D_L^H, D_L^C$ . Using flux and temperature differences at interfaces  $D_0^H, D_0^C, D_L^H, D_L^C$  to be minimized as a cost functional, we are able to set a linear system for the generalized Graetz mode amplitude to be solved. This linear system includes the outlet modes amplitude which are, in fact, the two constants  $T_C^{\star-\infty}$  &  $T_H^{\star+\infty}$ .

These constants are important since they define the effectiveness of the exchanger that we now recall.

### 3. Exchangers performances

#### 3.1. Effectiveness

First we study the heat effectiveness of the transfer from considering

$$\epsilon_H = \frac{T_H^{\star-\infty} - T_H^{\star+\infty}}{T_H^{\star-\infty} - T_C^{\star+\infty}} \tag{14}$$

$$\epsilon_C = \frac{T_C^{\star-\infty} - T_C^{\star+\infty}}{T_H^{\star-\infty} - T_C^{\star+\infty}},$$

the usual hot and cold heat extraction dimensionless estimate. In the case of a balanced counter-flow configuration, those two quantities are exactly equal. This necessitates balancing Péclet numbers (when the fluids properties are identical in the hot and the cold tubes, the Péclet numbers are identical) inside both inlet and outlet tubes in the case of a lateral Robin-Fourier boundary condition as is considered here. It is interesting to note that when constant temperature  $T_w$  is applied at the lateral boundary which is equivalent to the limiting case of infinite Biot number  $Bi \rightarrow \infty$  one can use a simple linear transformation of the temperature field relative to the imposed  $T_w$  at the boundary (i.e  $T - T_w / (T_H^\infty - T_C^\infty)$ ) to obtain a balanced exchanger, for which the hot and cold efficiencies are identical, as previously considered in [24]. In the following we will only consider transformation (7) which permits to map any inlet thermal condition onto a balanced one.

#### 3.2. Transfer

We mainly evaluate the transfer performance of the exchanger through the total hot –resp. cold– Nusselt number which is based upon the dimensionless total heat transfer from the hot –resp. cold– tube into the solid inside the exchanger integrated along the tube surface, and the dimensionless inlet’s temperature difference

$$Nu_{H,C}^{loc} = \frac{2R h_{H,C}}{k^F} \text{ with } h_{H,C} = \frac{-k^F \nabla T|_{c_{H,C}^E} \cdot \mathbf{n}}{T_H^\infty - T_C^\infty} \tag{15}$$

which leads to the dimensionless formulation of the Nusselt number

$$Nu_{H,C}^{loc} = |-2 \partial_{n^*} T^*| \tag{16}$$

One can then define the global Nusselt number by integrating over the hot –resp cold– tube,

$$Nu_{H,C} = 2 \int_0^{L^*} dz^* \int_{c_{H,C}^E} \partial_{n^*} T^* d c_{H,C}^E. \tag{17}$$

Obviously, in the zero Biot number limit, since the problem is anti-symmetric,  $Nu_H = Nu_C$ . From using the generalized Graetz mode decomposition for the temperature field in the exchanger given in (13) one is able to analytically integrate along the longitudinal direction to obtain the Nusselt number versus some average quantities from using governing Eq. (8) and divergence theorem, so as to obtain

$$Nu_{H,C} = 2 Pe \int_{\mathcal{D}^{H,C}} v^*(\xi^*) [T^*(\xi^*, L^*) - T^*(\xi^*, 0)] d\xi^* - \int_{\mathcal{D}^{H,C}} [\partial_z T^*(\xi^*, L^*) - \partial_z T^*(\xi, 0)] d\xi \tag{18}$$

We will use later on this expression in order to get a simplified expression of the Nusselt number in the fully developed limit in Section 4.3.

### 4. Results

We mainly consider cases where the ambient temperature is much smaller than the hot source so we set  $T_a^* = 0$ . We should stress that this limit should rather be considered in the light of dimensionless convective boundary condition (9) where one can



realize that the approximation is relevant when  $T_a^* \ll 1$ . Nevertheless, this limit is not a limitation of the presented approach but is useful to shorten the parameter space and some example of order one  $T_a^*$  configurations are studied in Section 4.2.

4.1. Effectiveness of balanced counter-flow exchanger

We first consider the situation where  $Pe_H = Pe_C = Pe$  so that the exchanger experiences a balanced counter-flow regime. We recall that due to the dimensionless temperature chosen, the dimensionless hot and cold sources temperatures are anti-symmetric and verify  $\frac{T_H^* - \infty}{T_C^* - \infty} = -1$ . We will discuss at the end of the next section that the deviations from balanced prediction for the effectiveness resulting from non-symmetrical inlet conditions, at finite Biot number are of order  $O(Bi)$ . Such corrections to the adiabatic limit  $Bi = 0$  are not trivial since non-linear higher order corrections are in fact expected. This comes from the fact that, for balanced configurations, a regular asymptotic expansion of the temperature solution of the form

$$T^* = T^{(0)*} + \sqrt{Bi}T^{(1)*} + BiT^{(2)*} + Bi^{3/2}T^{(3)*} + \dots \tag{19}$$

is indeed expected, where  $T^{(0)*}$  is the temperature solution associated with the adiabatic limit, for which the associated effectiveness is  $\epsilon^0$ . This expansion is more precisely justified in Appendix A.2, where it is also shown that, for balanced configurations, each generalized Graetz mode and eigenvalue also reads

$$\begin{aligned} T_n &= T_n^{(0)} + \sqrt{Bi}T_n^{(1)} + BiT_n^{(2)} + Bi^{3/2}T_n^{(3)} + \dots \\ \lambda_n &= \lambda_n^{(0)} + \sqrt{Bi}\lambda_n^{(1)} + Bi\lambda_n^{(2)} + Bi^{3/2}\lambda_n^{(3)} + \dots \end{aligned} \tag{20}$$

Following this regular asymptotic expansion of the temperature, the effectiveness also admits a similar non trivial regular expansion, such that,

$$\epsilon = \epsilon^0 + \sqrt{Bi}\epsilon^1 + Bi\epsilon^2 + Bi^{3/2}\epsilon^3 + \dots$$

It turns out that the leading order correction to  $\epsilon^0$  is indeed  $\epsilon^2$ , for  $\epsilon^1$  to be zero. Furthermore, the above mentioned  $O(Bi)$  correction to the effectiveness is only the leading order, so that, if needed, one could also evaluate each consecutive term of the sequence to find the resulting polynomial corrections to the effectiveness. In the following we will compute numerically the effectiveness, but consistently verify it fits within this asymptotic framework. Since deviations from balanced prediction are small when  $Bi \ll 1$ , we mainly focus our interest to the symmetrical inlet conditions in this section. Incidentally, as a side technical remark, it is interesting to mention that anti-symmetry of upstream and downstream generalized Graetz eigenvalues is only determined by the convective ratio condition  $Pe_H = Pe_C = Pe$  and not by the imposed inlet thermal conditions defined by  $T_a^*$  which can be set arbitrarily without indeed changing the symmetry of the eigenmodes.

Hence, we first concentrate here on the influence of the Péclet number  $Pe$ , the conductivity parameter  $k^S/k^F$ , the Biot number  $Bi$  and the exchanger dimensionless length  $L^*$ .

Let us consider the adiabatic limit for a very small Biot number. It is first interesting to emphasize that the reason for considering a very small Biot number (e.g as small as  $Bi = 10^{-6}$ ) rather than the limit  $Bi = 0$  is to properly approach the adiabatic limit numerically. Indeed the limit  $Bi \rightarrow 0$  is problematic since the two  $n = 0 \pm$  eigenmodes goes to zero, i.e  $\lambda_0^\pm \rightarrow 0$ , at this point so that the linear system (B.6) becomes singular. One possible way to circumvent this issue should be to remove those modes from the analysis, as done in singular value decomposition inversion methods. Nevertheless these two  $n = 0$  modes do matter, since the transfer properties

are controlled by them! Hence, the adiabatic limit is safely approached numerically from considering a small Biot number.

Fig. 4a shows the exchanger effectiveness when the Péclet number is varied for various dimensionless length  $L^*$ . All effectiveness curves display a similar behavior, with three distinct regimes: (i) a small increase at low Péclet numbers followed by (ii) an optimal effectiveness arising at moderate Péclet, and (iii) a monotonous decrease arising at large Péclet. It is worth mentioning that, as expected, the effectiveness improves as dimensionless length  $L^*$  increases, as shown in Fig. 4b, since the longer the exchanger, the better the transfer. Nevertheless, it is obvious that reaching  $L^*$  values larger than one hundred does not present good practical perspectives, for obvious cost and caliber limitations. Considering the moderately elongated exchanger where  $L^* = 10$ , it is striking to observe how poorly efficient such an exchanger can be for Péclet numbers not larger than one hundred, whilst in most practical situations the Péclet reaches much larger values (as large as several thousand at least). This statement has to be tempered with the fact that the hereby chosen exchanger geometry is obviously very far from the most efficient one. Obviously the larger the Péclet the larger the exchanges as later-on examined from the analysis of the

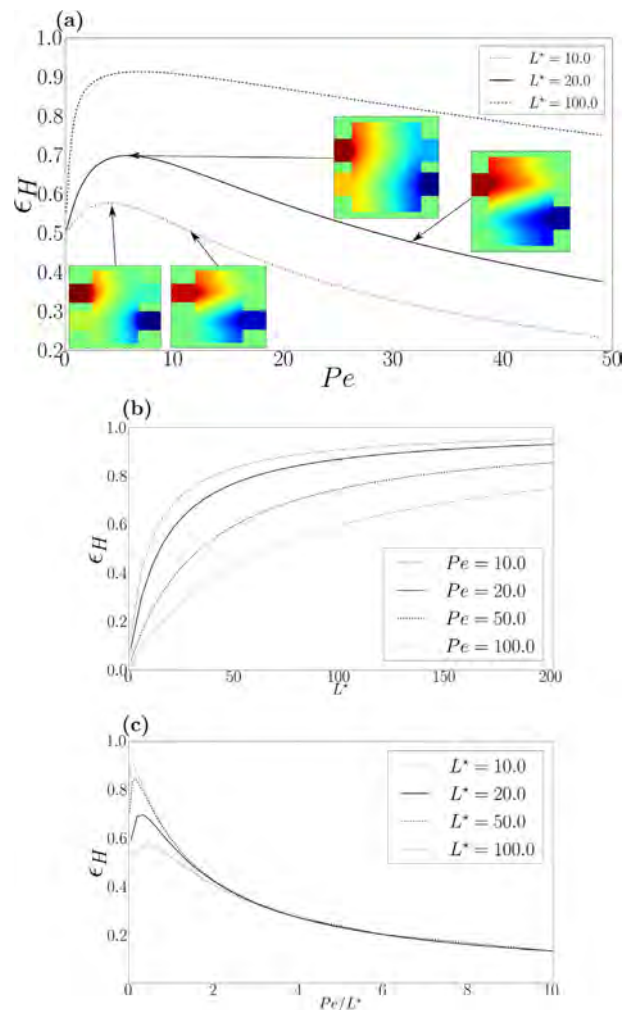


Fig. 4. In the three figures  $Bi \ll 1$ ,  $\frac{k^S}{k^F} = 1$ . (a)  $\epsilon_H$  against Péclet for  $L^* = 10, 20, 100$ . Inset figures represent the computed longitudinal temperature fields at the maximum hot effectiveness as well as when the convective leak is starting to rise. It is important to stress that the aspect ratio of the figure is not the actual one for obvious caliber constraints. We have re-scaled the horizontal  $z^*$  axis in order the inset figures to reach a 1:1 aspect ratio, (b)  $\epsilon_H$  against  $L^*$  for  $Pe = 10, 20, 50, 100$ , (c)  $\epsilon_H$  against Péclet re-scaled by  $L^*$  for  $L^* = 10, 20, 50, 100$ .

Nusselt number. Fig. 4c also provides some interesting insets representing the temperature field in the  $(y^*, z^*)$  plane (rescaled along the  $z^*$  direction to keep with a 1:1 aspect ratio of the insets) illustrating the origin of the effectiveness collapse. As the Péclet is increased, a larger fraction of the initial hot inlet temperature is progressively converted toward the outlet, without having the chance to be transferred into the cold one through conduction within the solid. This convective heat-leakage across outlets is the mechanism by which the exchanger effectiveness is inevitably degraded as one increases convection for raising total heat transfer. Furthermore, for the range under study, the effectiveness curves of various exchanger designs having different aspect ratios  $L^*$  are found to collapse at large Péclet as illustrated in Fig. 4a from using the classical Graetz re-scaling  $Gr = Pe/L^*$ . We will further discuss this collapse in Section 4.3 from reaching the fully developed limit.

Fig. 5a–d illustrate the influence of the conductivity ratio when the solid has either comparable or larger diffusivity compared to the convected liquid. In most applications (e.g. using solid metals), the solid is indeed a better heat conductor than fluid. The observed transverse heat profile at the exchanger longitudinal middle plane ( $z^* = L^*/2$ ) shows distinct regimes. For identical conductive properties in the fluid and the solid, i.e.  $k^S/k^F = 1$ , the observed transverse gradients are spread all around the fluids tube inside the

solid (with anti-symmetric shape in the  $(x^*, y^*)$  plane in this balanced configuration). This illustrates that transverse diffusion in the solid arises, in this case, with transverse variation along distances of the order of the tube diameters. On the contrary, in Fig. 5b–d as  $k^S/k^F$  increases, the transverse conduction gradients in the solid shortens its typical length-scale variations to become more and more localized in the vicinity of the tubes frontiers  $C_{H,C}^E$ , leaving an almost iso-thermal temperature field within all the solid. Fig. 5e then shows that the optimal effectiveness is reached in the limit of large  $k^S/k^F$ . The small difference which is observed for the effectiveness curve between the case  $k^S/k^F = 10^2$  and  $k^S/k^F = 10^3$  indicates that there is an asymptotic maximum effectiveness associated with the limit  $k^S/k^F \rightarrow \infty$ . Both the iso-thermal behavior in the solid and the increasing effectiveness with increasing  $k^S/k^F$  ratio where to be expected. The more conductive the solid, the better the heat exchange between the fluids. It is worth mentioning that Maranzana et al. [12], found a conductivity ratio with optimal efficiency in a parallel plane convective exchanger. However, their study only investigates the single Péclet  $Pe = 33$  value and also neglects longitudinal diffusion in the fluid which might explain their results. Furthermore, the configuration under study in [12] was different from ours since the solid domain was larger than the fluid one. In our configuration, even for extremely large  $k^S/k^F$  ratios, the three regimes (i,ii,iii) are also recovered in Fig. 5e. This indicated that even though the solid is an extremely good conductor, the convective conditions (associated with  $Pe$  number) and the exchanger aspect ratio  $L^*$  are

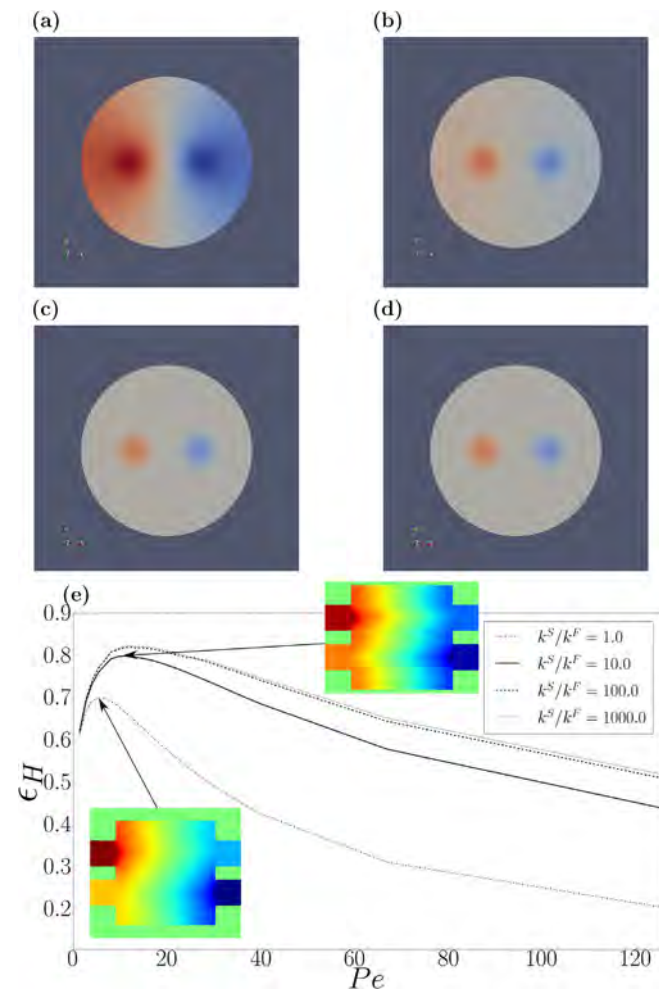


Fig. 5. Transverse temperature fields in exchanger at  $z^* = \frac{L^*}{2}$  for  $L^* = 20$ ,  $Bi = 10^{-6}$  and (a)  $k^S/k^F = 1$ , (b)  $k^S/k^F = 10$ , (c)  $k^S/k^F = 10^3$ , (d)  $k^S/k^F = 10^4$ . (e)  $\epsilon_H$  against Péclet for  $k^S/k^F = 1, 10, 100, 1000$  and  $L^* = 20$ ,  $Bi = 10^{-6}$ . Longitudinal temperature fields have been computed at the maximum hot effectiveness.  $z^*$  axis has been re-scaled in order for the inset figures to reach a 1:1 aspect ratio

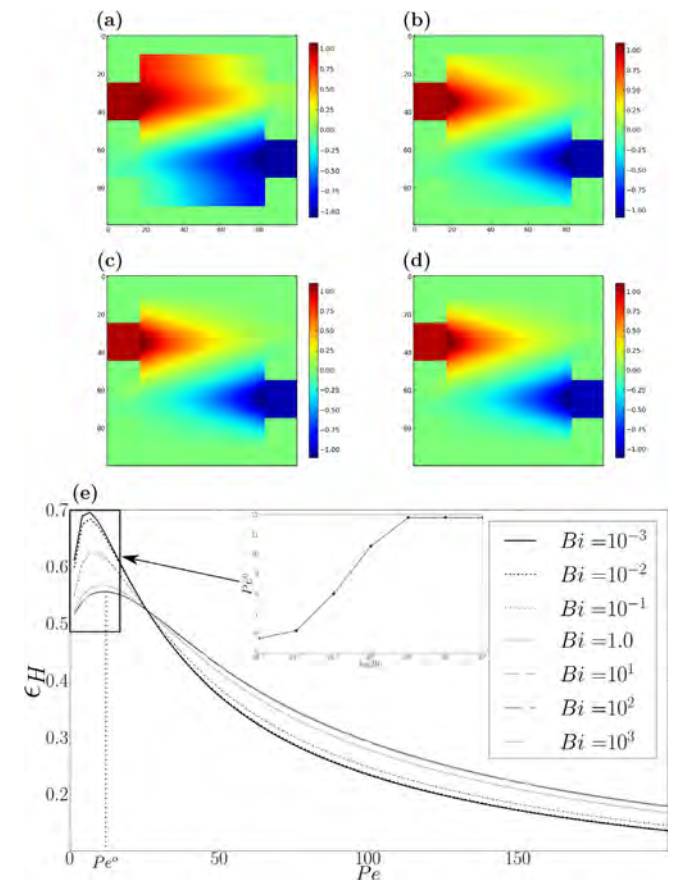


Fig. 6. Longitudinal temperature fields at  $Pe = 25$ ,  $L^* = 20$ ,  $k^S/k^F = 1$  for (a)  $Bi = 10^{-3}$ , (b)  $Bi = 1$ , (c)  $Bi = 10$ , (d)  $Bi = 10^3$ . (e)  $\epsilon_H$  against Péclet for  $L^* = 20$  and  $Bi = 10^{-3}, 10^{-2}, 10^{-1}, 1, 10^1, 10^2, 10^3$ . Inset figure is Péclet at maximum hot effectiveness against  $\log(Bi)$ .

driving the effectiveness. Furthermore it is very interesting to observe that the optimal effectiveness arising at moderate  $Pe$  number is almost insensitive to the conductivity ratio parameter.

Turning to the analysis of larger Biot number, we found a very weak influence of convective boundary on the previous heat-transfer regimes (i,ii,iii). In this paragraph, we first consider the case  $T_a^* = 0$ . Fig. 6a–d illustrate the influence of the convective parameter  $Bi$  for an elongated exchanger  $L^* = 20$ , with moderate convection  $Pe = 25$  where one can observe that, in the vicinity of the external exchanger boundary  $C^E$  the temperature profile displays distinct regimes (here again the temperatures profiles have been re-scaled along the  $z^*$  direction to keep with a 1:1 aspect ratio of the figure).

At low Biot number  $Bi \ll 1$ , in Fig. 6a displays an adiabatic (homogeneous Neumann) behavior where the temperature iso-values are perpendicular to the  $C^E$  boundary associated with transversely homogeneous variations. On the contrary, at large Biot numbers  $Bi \gg 1$ , in Fig. 6d, the longitudinal variations of temperature are very weak all along  $C^E$  which is similar to an imposed temperature at the boundary (Dirichlet like). Fig. 6e provides the effectiveness for a large range of Péclet numbers, where the three distinct regimes (i,ii,iii) are clearly visible. In the wide range of explored Biot numbers, i.e. between  $10^{-3}$  and  $10^3$  the optimal effectiveness is surprisingly robust and poorly sensitive to the  $Bi$  value. The peak of effectiveness observed as the Péclet number varies, moderately broadens and gets very slightly translated. The Fig. 6 inset provides the optimal Péclet number versus  $Bi$ , and one can observe that it always arises for moderate values of Péclet in a very narrow interval between 6 and 12.

A similar optimum for effectiveness versus the Graetz numbers was previously reported in a parallel configuration in [15]. Nevertheless, [15]’s optimum is not peaked in such a narrow range of Péclet number as found here. Furthermore the optimum Graetz number found in [15] (from their Fig. 4) for conductivity ratio equal to 100, resp 1000 is 0.4 resp. 0.9. In our case, using the results of Fig. 5, for both 100 and 1000 conductivity ratio we found almost identical optimal Graetz numbers equal to 0.3. Even if the specific value at which some optimal transfer occurs differs from [15], such a difference is not surprising considering the fact that the exchanger geometry is different. Nevertheless, as noticed earlier in the comments of Fig. 5, for high conductivity ratio, i.e. larger than 10,  $k^S/k^F$  was found to have a limited effect. We believe this observation to be new and the consequence of properly taking care off longitudinal diffusion arising in the fluid. Furthermore since the optimal Péclet value lies in a narrow range where convection is moderate, its precise estimation should also necessitate axial diffusion in the fluid to matter.

The relevance of this observation has practical implications that we will discuss in Section 5.

#### 4.2. Effectiveness of unbalanced counter-flow exchanger

Now considering the case where  $T_a^* \neq 0$ , we chose a possibly relevant set of working temperatures (for water) by choosing  $T_H^{-\infty} = 353.15$  K,  $T_C^{+\infty} = 283.15$  K and  $T_a = 293.15$  K. From using (10) with the hereby given values of inlets and ambient temperatures we found  $T_a^* = -4.90$ . Fig. 7 displays the behavior of hot (in red) and cold (in blue) effectiveness against Péclet variations for various small Biot numbers in the range  $10^{-1}–10^{-6}$ . The values obtained for the effectiveness then indicate that in some cases it can be larger or smaller than one when the Biot number is not too small. This might be surprising at first, since one might think that effectiveness should always lie within  $[-1, 1]$ . Nevertheless, if one more closely evaluates the impact of the extra dimensionless ambient parameter  $T_a^*$  in boundary condition (9), it provides an extra heat-flux term which unbalances the exchanges between the inlet and the outlet. Hence, this extra-flux can lead to effectiveness out of the specific range  $[-1, 1]$  for the heat in the hot fluid to be pumped further by the extra-flux term at the lateral boundary. As depicted in Fig. 7, depending on the Biot number, such an exchanger can either experience a systematic decreasing efficiency for increasing  $Pe$ , or a behavior showing maximal effectiveness at a moderate optimal Péclet number as found previously in the case  $T_a^* = 0$ . Let us now turn to the case of unbalanced counter-flow configurations where  $Pe_H \neq Pe_C$ . Fig. 8 displays the hot and cold effectiveness curves when the hot and cold Péclet ratio varies. In the case of unbalanced configurations it is obviously expected that hot and cold effectiveness differ. Obviously, increasing convection in the hot tube will clearly increase the cooling from the hot tube but, reciprocally will level-down the heating of the cold fluid. This behavior of the exchanger is more systematically emphasized in Fig. 8 where the hot effectiveness (with crosses) is improved as  $Pe_H$  increases. Furthermore, at the same time the cold effectiveness of the exchanger drops down as  $Pe_H$  increases for a given  $Pe_H/Pe_C$  ratio. Depending on the application, it might be more interesting to favor either one or the other functions of the exchanger.

#### 4.3. Transfer and fully-developed regime

As mentioned earlier, the larger the convection the larger the transfer, at the cost of low effectiveness. Fig. 9a displays the obtained Nusselt for a large range of Péclet numbers and exchanger aspect ratios  $L^*$ . In these results one can clearly observe the influence of convective leakage inefficiency: e.g. for  $L^* = 5$  or  $L^* = 10$ ,

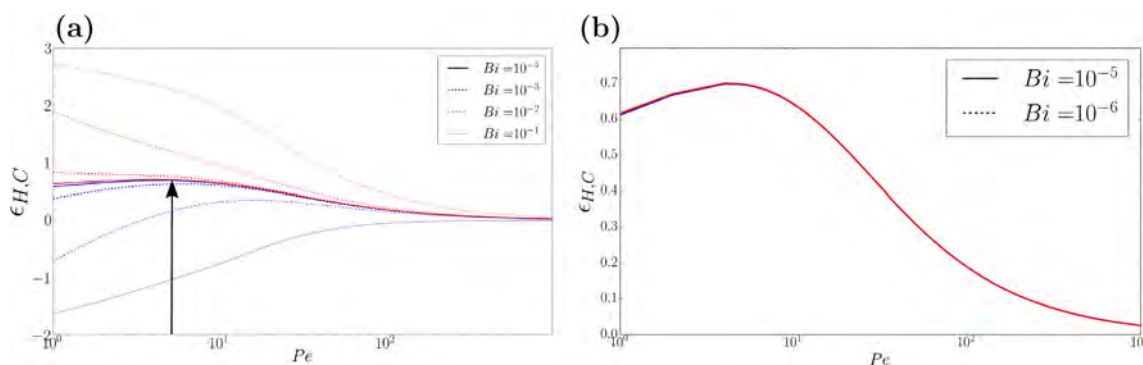
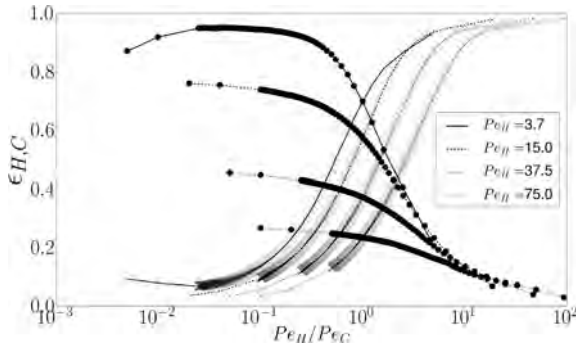


Fig. 7. Hot effectiveness (red) and cold (blue) effectiveness versus Péclet number  $Pe$  for a non-zero  $T_a^* = -4.90$  and various small Biot numbers (a)  $Bi = 10^{-4}, 10^{-3}, 10^{-2}, 10^{-1}$ , (b)  $Bi = 10^{-5}, 10^{-6}$ . For sufficiently small Biot number an optimal effectiveness is recovered at a moderate Péclet number. (For interpretation of the references to color in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)



**Fig. 8.**  $\epsilon_{H,C}$  in crosses and  $\epsilon_C$  in full dots against Péclet ratio for  $Pe_H = 3.7, 15, 37.5, 75$  and  $L^* = 20, Bi = 10^{-6}, k^S/k^F = 1$ .

the Nusselt number saturates to a plateau when the Péclet number gets larger than 50 or 100. Obviously the more elongated the exchanger the longer it takes to reach this plateau. However, there is an upper limit to  $L^*$  for which practical issues become a concern for caliber constraints. Hence convective leakage becomes a limitation to transfer, as convection is increased. Fig. 9b also displays the transfer variations as the conductivity ratio is varied. As discussed in Section 4.1, where we found that the effectiveness reaches an optimal value as the conductivity ratio between the solid and the fluid gets larger and larger, the transfer also reaches a maximal asymptotic curve as  $k^S/k^F \rightarrow \infty$ . But even in the most favorable case where  $k^S/k^F \gg 1$ , we still observe the inflection of the transfer increase, which saturates at very large Péclet due to the convective leakage.

As the best transfer comes at high Péclet,  $Pe \gg 1$  and for very elongated  $L^* \gg 1$  configurations it is interesting to investigate specifically this limit. The collapse of the effectiveness curve presented in Fig. 4a in a previous section suggests that a special transfer regime is reached when convection dominates. Indeed, this

limit produces a very nice simplification which generalizes the standard Graetz fully developed limit, for which effectiveness only depends on the Graetz number  $Gr = Pe/L^*$ . In this limit only the first non-zero mode of the Graetz development matters inside the exchanger. Neglecting the second term of the numerator of expression (18), for being  $O(1/Pe)$  smaller than the first one, whilst using Graetz decomposition (13) leads to

$$Nu_{H,C} = 2Pe \left( \sum_n x_n^+ (e^{\lambda_n^+ L} - 1) \langle T_n^+ \rangle_c - \sum_n x_n^- (e^{-\lambda_n^- L} - 1) \langle T_n^- \rangle_c \right), \quad (21)$$

with  $\langle T \rangle_c = \int_{D_{H,C}} v^*(\xi^*) T^*(\xi^*) d\xi^*$  the mixing cup temperature.

From the anti-symmetry of the Graetz modes and Graetz eigenvalues (see Appendix C),  $\lambda_n^+ = -\lambda_n^-$ , it follows

$$Nu_{H,C} = 2Pe \left( \sum_n (e^{\lambda_n^+ L} - 1) (x_n^+ \langle T_n^+ \rangle_c - x_n^- \langle T_n^- \rangle_c) \right) \quad (22)$$

Now considering the main contribution of the two  $\pm$  modes associated with  $n = 0$ , it can be checked numerically that for all  $n \geq 1$ ,  $(e^{\lambda_n^+ L} - 1) (x_n^+ \langle T_n^+ \rangle_c - x_n^- \langle T_n^- \rangle_c) \ll (e^{\lambda_0^+ L} - 1) (x_0^+ \langle T_0^+ \rangle_c - x_0^- \langle T_0^- \rangle_c)$  and that  $x_0^- \langle T_0^- \rangle_c = -x_0^+ \langle T_0^+ \rangle_c$  which, in limit  $Pe \gg 1$ , leads to

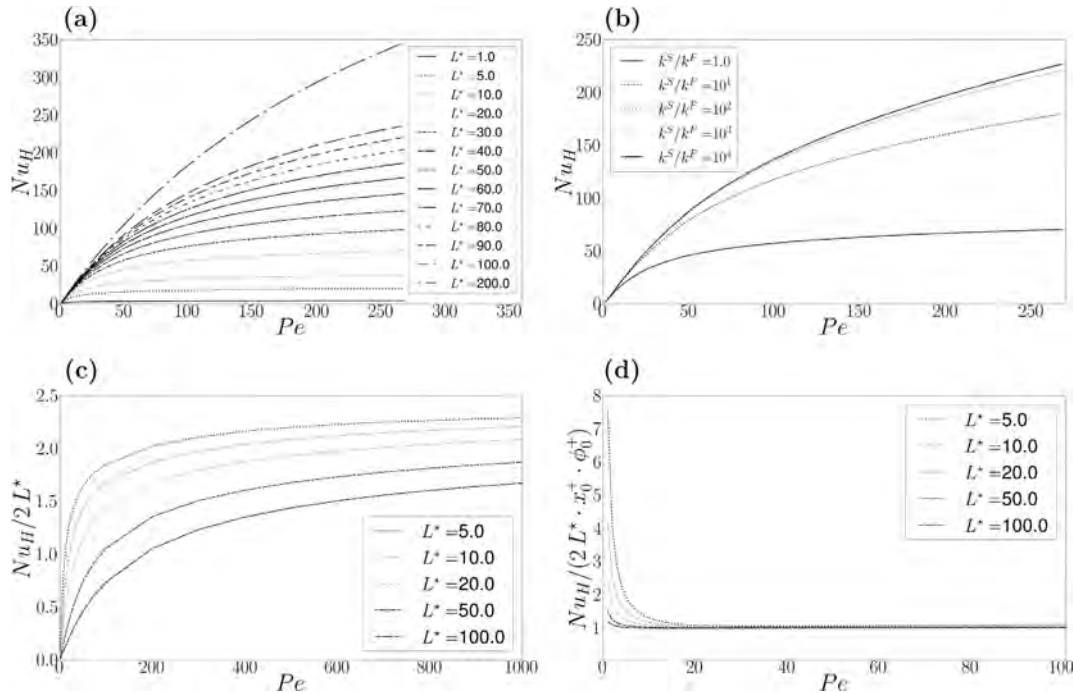
$$Nu_{H,C} \approx 4Pe \lambda_0^+ L^* x_0^+ \langle T_0^+ \rangle_c \quad (23)$$

Using the divergence theorem on the Eq. (A.6) associated with the mode  $T_0^+$ , in the large Péclet number limit  $Pe \gg 1$  one gets

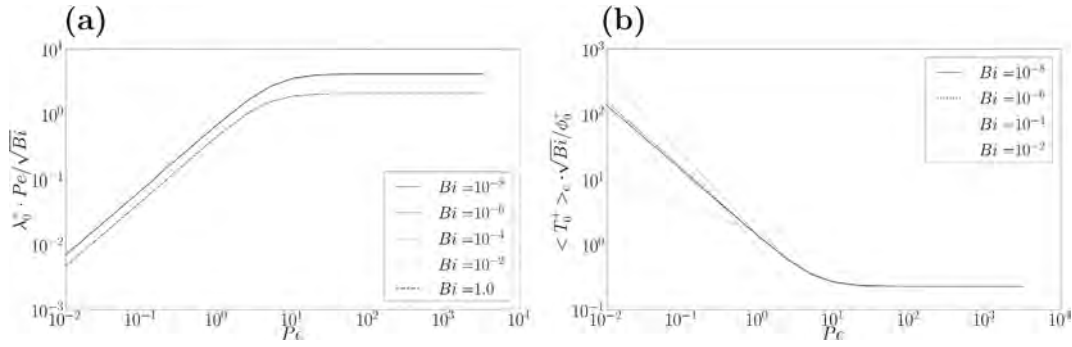
$$\langle T_0^+ \rangle_c = \frac{\phi_0^+}{Pe \lambda_0^+} \quad \text{with} \quad \phi_0^+ = \int_{c_{H,C}^E} \partial_{n^*} T_0^+ d c_{H,C}^E. \quad (24)$$

This equation is supported by the numerical results depicted in Fig. 10. Indeed, Fig. 10a first illustrates the simple asymptotic behavior of the zeroth eigenvalue  $\lambda_0^+$  at high Péclet, also supported by theoretical derivations in Appendix (A.2), i.e.

$$\lambda_0^+ \sim \frac{\sqrt{Bi}}{Pe}, \quad (25)$$



**Fig. 9.** (a) Nusselt against Péclet for  $L^* = 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 200$  and  $Bi = 10^{-6}, k^S/k^F = 1$ , (b) Nusselt against Péclet for  $k^S/k^F = 1, 10, 10^2, 10^3, 10^4$  and  $Bi = 10^{-6}, L^* = 20$ , (c) Nusselt rescaled by  $2L^*$  against Péclet for  $L^* = 5, 10, 20, 50, 100$  and  $Bi = 10^{-6}, k^S/k^F = 1$ , (d) Nusselt rescaled by  $2L^* x_0^+ \phi_0^+$  supporting asymptotic result (27) against Péclet for  $L^* = 5, 10, 20, 50, 100$ , and  $Bi = 10^{-6}, k^S/k^F = 1$ .



**Fig. 10.** (a) Bi-logarithmic plot of  $\lambda_0^+ \cdot Pe/\sqrt{Bi}$  against Péclet for  $Bi = 10^{-8}, 10^{-6}, 10^{-4}, 10^{-2}, 1, L^* = 10$  and  $k^S/k^F = 1$ , For  $Bi \ll 1$ , and  $Pe \gg 1$  a master curve illustrates the asymptotic scaling  $\lambda_0^+ \sim \sqrt{Bi}/Pe$ . (b) Bi-logarithmic plot of  $(T_0^+)_c \cdot \sqrt{Bi}/\phi_0^+$  against Péclet for  $Bi = 10^{-8}, 10^{-6}, 10^{-4}, 10^{-2}, L^* = 10$  and  $k^S/k^F = 1$ . In the limit of  $Bi \ll 1$ , and  $Pe \gg 1$  a master curve is obtained supporting scaling (26).

as similarly found for the  $n = 1$  modes in the adiabatic case in [27]. Furthermore, Fig. 10b shows that numerical results give the following simple scaling for the leading order mode mixing-cup temperature,

$$(T_0^+)_c = \frac{\phi_0^+}{\sqrt{Bi}} \tag{26}$$

Using (25) in (26) leads to (24). Hence, the numerical results displayed in Fig. 10b provide a confirmation for the theoretical asymptotic behavior of the leading order mode. Finally the asymptotic global Nusselt number, in the limit  $Pe \gg 1$  fulfills the following simple relation

$$Nu_{H,C} \approx 4L^* \chi_0^+ \phi_0^+ \tag{27}$$

Fig. 9d shows that this fully developed limit (27) arises when the Péclet number reaches values larger than 40, and is weakly dependent on the exchanger aspect ratio. This result is important for practical application since it shows that, for a convective dominated regime (which is not the more efficient one) a simple computation can provide a precise answer to the transfer rate, from using only the leading order mode. This *a posteriori* confirms the interest of considering optimal transfer configurations from analyzing the leading order mode only [8].

4.4. Effectiveness in the fully-developed regime

We now consider the exchanger effectiveness in the fully-developed regime. Considering the (hot) effectiveness

$$\epsilon_H = \frac{T_H^{*-∞} - T_H^{*+∞}}{T_H^{*-∞} - T_C^{*+∞}}$$

$$\epsilon_H = \frac{T_H^{*-∞} - 1}{2} \tag{28}$$

Starting from Eq. (18) whilst considering the fully developed limit  $Pe \gg 1$ , for which, as in previous section, we neglect the second rhs term, one gets

$$Pe \left( \frac{\langle T^*(0) \rangle_c - \langle T^*(L^*) \rangle_c}{Q_H^*} \right) = \frac{Nu_H}{2Q_H^*} \tag{29}$$

with  $Q_{H,C}^* = \int_{D_{H,C}} v^* = \frac{\pi}{2}$ . Consistently considering the fully developed limit, applying the divergence theorem in both the upstream and downstream hot pipe when using adiabatic lateral boundary conditions, one finds the following relations

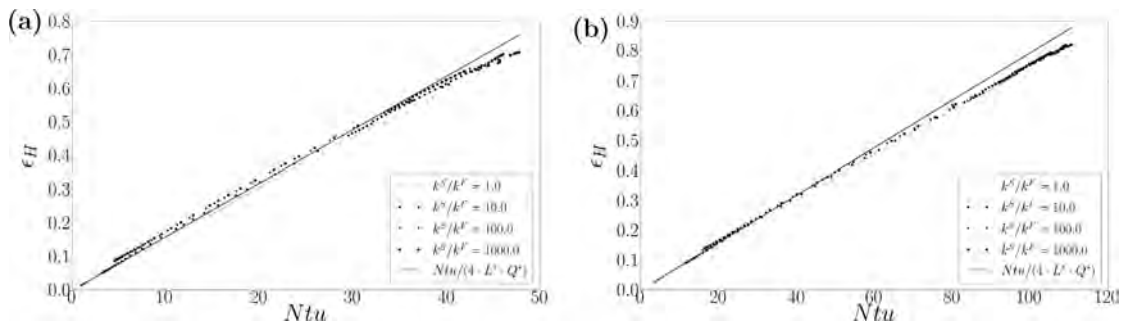
$$\frac{\langle T^*(0) \rangle_c}{Q_H^*} = T_H^{*-∞} = 1$$

$$\frac{\langle T^*(L^*) \rangle_c}{Q_H^*} = T_H^{*+∞} \tag{30}$$

Combining (28), (29), (30) gives the asymptotic relation between the effectiveness and the number of heat transfer units  $Ntu_{H,C} = Nu_{H,C}L^*/Pe$  to read as

$$\epsilon_H = \frac{Ntu_H}{4Q_H^*L^*} \tag{31}$$

It is important to mention that the derivation of (31) propounding a linear relation between effectiveness  $\epsilon_H$  and the number of heat transfer units  $Ntu_H$  has only been obtained from using asymptotic considerations and the divergence theorem. It thus applies to any parallel exchanger configuration, having any tube sections shape, any number of tubes, as well as for any exchanger section shape. This result indeed generalizes the result given in [15] for a parallel plate configuration. Fig. 11 displays the asymptotic behavior (31) for two exchanger lengths  $L^* = 10$  in (a) and  $L^* = 20$  in (b)



**Fig. 11.** Hot effectiveness  $\epsilon_H$  versus  $Ntu$  for conductivity ratios  $k^S/k^F = 1, 10, 100, 1000$  for (a)  $L^* = 10$ , (b)  $L^* = 20$  exchangers. In both cases the solid line display the theoretical asymptotic prediction (31). Points are associated with full numerical computations.

compared with full numerical computations for various conductivity ratios  $k^S/k^F = 1, 10, 100, 1000$ . The comparison between the asymptotic results and the numerical computation is surprisingly good. In principle, only the limit of small to moderate  $Ntu$  (associated with  $Pe \gg 1$ ) should be ruled by relation (31), whilst, for large  $Ntu$  (when  $Pe$  becomes of order one) prediction (31) is irrelevant. Indeed, one can observe in Fig. 11 that the larger  $L^*$ , the better the linear trend as well as the collapsed points in the small  $Ntu$  limit. On the contrary, for larger values of  $Ntu$ , and obviously for largest effectiveness, a deviation to the linear trend is observed. The deviation is indeed modest, so that, (31) offers a surprisingly robust prediction. It must be pointed out that Mori et al. found in [15]'s Fig. 2 a local optimum depending on the number of heat transfer units, which we do not recover here. This might be explained by the fact that [15] indeed neglect the longitudinal diffusion in the fluid but not in the solid. Also, in the configuration studied in [15], the aspect ratio solid over fluid is much higher than in our case which might explain the existence of such an optimum.

## 5. Discussion and conclusion

A Dimensionless formulation of a counter-flow exchanger provides six different parameters: associated with the thermal, physical and mechanical parameters of the exchanger operating conditions. Focusing on the most relevant ones (i.e the Péclet number, the diffusivity ratio, the aspect ratio, the Biot number) we have found various generic properties which should generalize to many exchanger geometries, when inlet/outlet conditions are properly taken into account.

- Depending on the Péclet number, three regimes of exchanges have been found: (i) at low Péclet numbers, when increasing convection, the performances are also increasing, so that, (ii) at moderate Péclet numbers, an optimal effectiveness is reached, whilst (iii) at large Péclet number, strong performance degradation associated with convective leak have been found. The existence of convective leaks associated with performance degradation is expected for any inlet/outlet geometries when convection dominates.
- Optimal exchanges at moderate Péclet numbers are found very robust to changes in other parameters such as boundary conditions (Biot number) and diffusivity ratio. We believe that this result has important implications for applications in many other exchanger geometry. It is worth noting that the assumption of Poiseuille flow profile is not expected to qualitatively change most of the obtained numerical computations nor the asymptotic results in fully developed regime. It is related to a proper consideration of longitudinal and transverse diffusion in the fluid as well as in the solid. This supports the view that compact exchangers associated with moderate Péclet numbers provide the best effectiveness and are thus interesting for transfer performance at moderate cost for fluid pumping. This might also be the reason why, most biological exchangers associated with mass transfer from the vascular system into tissue, are operating at moderate Péclet numbers.
- At large Péclet numbers and for long exchangers, a 'fully developed' regime can be defined which generalizes the one known for the simple Graetz problem. In this regime, the Nusselt number is mainly determined by the first generalized Graetz mode having a simple linear dependence with the flux and amplitude of this mode. In this regime, we also generalize the asymptotic linear relation between the effectiveness and the number of heat transfer units  $Ntu_H$  for any parallel exchanger configuration and found it surprisingly robust when compared to numerical computation.

- Finally, for small Biot numbers, some generic behavior has also been studied. Even if, in parallel exchangers, the temperature as well as the generalized Graetz modes, and by consequence, the effectiveness are found to be *non-linear* functions of the Biot number, the  $Bi \ll 1$  regimes display a  $\lambda_0 \sim \sqrt{Bi}/Pe$  behavior of the first generalized Graetz eigenvalue. Furthermore, the leading order deviation of the effectiveness and exchanges from the pure adiabatic limit are  $O(Bi)$ .

It is worth mentioning that the Generalized Graetz approach that we have used can handle any tube shape and/or boundary conditions, as well as an arbitrary number of inlet/outlets. The numerical results have shown that the leading order mode mostly dominates the overall transfer when  $Pe > 50$  so that a single 2D computation is mostly enough for providing a very good estimate of the transfer in many cases. Nevertheless, optimal performances are found at more moderate Péclet numbers where supplementary modes contribute.

## Acknowledgement

We wish to thanks Jennifer Mackie for careful reading of the manuscript.

## Appendix A. Theoretical properties of generalized Graetz modes

### A.1. Formulation of generalized Graetz modes

In this section we recall the formulation of generalized Graetz modes, that have already been treated in [25,26,7]. The theoretical full proof with a lateral Robin boundary condition will be given in a future contribution. In this section, we will just recall how one can write the main problem as an ordinary differential equation. From Eq. (8), defining global velocity  $\tilde{v}^*$  as a function that equals  $\tilde{v}^* = Pe_{H,C} v^*$  in the fluid domains, and 0 in the solid domain. Then (8) may write as

$$\tilde{v}^* \partial_{z^*} T^* - \Delta_{\zeta^*} T^* - \partial_{z^*}^2 T^* = 0, \quad (\text{A.1})$$

where we have denoted  $\Delta_{\zeta^*} \equiv \partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2$ . This equation produces the following system

$$\frac{d}{dz} \phi(z) = A \phi(z) \quad (\text{A.2})$$

with  $A$  defined as

$$A = \begin{pmatrix} \tilde{v}^* & -\Delta_{\zeta^*} \\ 1 & 0 \end{pmatrix}, \quad \text{with} \quad \phi = \begin{pmatrix} \partial z^* T^* \\ T^* \end{pmatrix} \quad (\text{A.3})$$

Then it is possible to show that this operator  $A$  associated with various lateral boundary conditions is self-adjoint and compact which ensures the existence of a unique spectral decomposition. It was also shown in previous papers [25,26,7] assuming either infinite, semi-infinite or finite dimension exchangers, that the dimensionless temperature field can be written in a general classical form

$$T^* = \sum_{n \in \mathbb{Z}^*} x_n T_n e^{\lambda_n z} \quad (\text{A.4})$$

with  $x_n$  the modes amplitudes,  $T_n$  the modes and  $\lambda_n$  the eigenvalues of operator  $A$ , so that they are the solutions of the following generalized eigenmode problem:

$$A \phi_n = \lambda_n \phi_n, \quad (\text{A.5})$$

with  $\phi_n = \begin{pmatrix} \lambda_n T_n \\ T_n \end{pmatrix}$  or equivalently  $T_n$  will be solution of the following non-linear eigen-problem

$$\lambda_n \tilde{\nu}^* T_n - \Delta_{\xi^*} T_n - \lambda_n^2 T_n = 0 \tag{A.6}$$

where, again, we have denoted  $\Delta_{\xi^*} \equiv \partial_{x^*}^2 + \partial_{y^*}^2$  and with an associated boundary condition at the lateral exchanger external interface with air

$$\partial_n T_n = Bi(T_n - T_a^*) \tag{A.7}$$

It is interesting to mention that this boundary condition provides a constraint on the spectrum, generally called a ‘compatibility condition’, which can be simply obtained from applying the divergence theorem to (A.6), so that, the following equality has to be fulfilled

$$\lambda_n \langle T_n \rangle_c - Bi \left( \int_{C^E} T_n dC^E - 2\pi R_E T_a^* \right) - \lambda_n^2 \int_{C^E} T_n d\xi^* = 0, \tag{A.8}$$

where again  $\langle T_n \rangle_c$  denotes the mixing-cup average. Hence, one can see from (A.8) which is a second order equation in  $\lambda_n$  that  $\lambda_n$  is a non-linear function of  $Bi$ .

### A.2. Asymptotic behavior at $Bi \ll 1$

Since, (A.8) for each mode is indeed quadratic in  $\lambda_n$ , one should seek for a regular asymptotic expansion in  $\sqrt{Bi}$  in the small  $Bi$  limit,

$$\begin{aligned} T_n &= T_n^{(0)} + \sqrt{Bi} T_n^{(1)} + Bi T_n^{(2)} + Bi^{3/2} T_n^{(3)} + \dots \\ \lambda_n &= \lambda_n^{(0)} + \sqrt{Bi} \lambda_n^{(1)} + Bi \lambda_n^{(2)} + Bi^{3/2} \lambda_n^{(3)} + \dots \end{aligned} \tag{A.9}$$

Using (A.9) in (A.6), it is possible to find that the sequence is closed and provides a hierarchy of well-defined coupled iterative problems. Let us now analyze some properties of the first corrections. The leading order term in the sequence fulfills

$$\begin{aligned} \lambda_n^{(0)} \tilde{\nu}^* T_n^{(0)} - \Delta_{\xi^*} T_n^{(0)} - \lambda_n^{(0)2} T_n^{(0)} &= 0 \\ \partial_n T_n^{(0)}|_{C^E} &= 0 \end{aligned} \tag{A.10}$$

Then, again, using the divergence theorem, one finds the compatibility condition for the leading order eigenvalue estimate  $\lambda_n^{(0)}$ ,

$$\lambda_n^{(0)} \left( \langle T_n^{(0)} \rangle_c + \lambda_n^{(0)} \int_{C^E} T_n^{(0)} d\xi^* \right) = 0, \tag{A.11}$$

where, again,  $\langle T_n^{(0)} \rangle_c$  refers to the mixing-cup temperature. In the special case,  $n = 0$ , the solution of (A.10) is a constant  $T_0^{(0)} = C_0^0$ , leading to the simple mixing-cup  $\langle T_0^{(0)} \rangle_c = C_0^0 Q^* Pe$  which, in the case of a balanced configuration where  $Q^* = 0$ , and since  $C_0^0 \neq 0$ , leads to  $\lambda_0^{(0)} = 0$ . Now considering the next term in the sequence, for a balanced configuration, one finds

$$\begin{aligned} \Delta_{\xi^*} T_n^{(1)} &= \lambda_n^{(1)} \left( \tilde{\nu}^* + 2\lambda_n^{(0)} \right) T_n^{(0)} \\ \partial_n T_n^{(1)}|_{C^E} &= 0 \end{aligned} \tag{A.12}$$

The compatibility condition again obtained with the divergence theorem, provides

$$\lambda_n^{(1)} \left( \langle T_n^{(0)} \rangle_c + 2\lambda_n^{(0)} \int_{C^E} T_n^{(0)} d\xi^* \right) = 0, \tag{A.13}$$

In the special case  $n = 0$ , for a balanced configuration, one immediately realizes that (A.13) is always true, since,  $\langle T_0^{(0)} \rangle_c = Pe C_0^0 Q^* = 0$  and  $\lambda_0^{(0)} = 0$ . Hence, (A.13) does not provide any constraint on  $\lambda_0^{(1)}$  correction which is thus non-zero. Hence,  $\lambda_0^{(1)}$  is the leading order term of sequence (A.9), thus justifying the numerical result provided in (25).

## Appendix B. Numerical implementation

The details of the numerical implementation of the generalized Graetz problem can be found in [24]. This paper treats a very general case with multiple boundary conditions, we will only consider the case of continuous boundary conditions between inlet/outlet tubes and the exchanger. The conditions are referred to as coupling conditions.

$$\begin{aligned} T_{left}^* &= T_{right}^* \quad \text{on } D_{0,L}^{H,C} \\ \partial_{z^*} T_{left}^* &= \partial_{z^*} T_{right}^* \quad \text{on } D_{0,L}^{H,C} \end{aligned} \tag{B.1}$$

The main idea is to separate the whole problem into three separate Graetz problems: in inlet tubes, one in outlet tubes and one in the exchanger. Each Graetz problem follows a different expression of the dimensionless temperature field since there is a different spectral decomposition. It has been proven in [8], that there exists a general solution of the whole problem which satisfies the continuity conditions between the inlet/outlet tubes and the exchanger.

In order to provide those coupling conditions between inlet/outlet tubes and the exchanger, one defines a cost function as in [24]

$$J_{L_2}(T^*) = \int_{D_{0,L}^{H,C}} |T_{left}^* - T_{right}^*|^2 ds + \epsilon_{D_{0,L}^{H,C}} |\partial_z T_{left}^* - \partial_z T_{right}^*|^2 ds \tag{B.2}$$

$T^*$  is defined on a infinite dimension space of the general Graetz decomposition on the whole problem  $V$ . We define the different Graetz decompositions which correspond to different spaces on the inlet/outlet tubes and the exchanger as follow

$$\begin{aligned} V^0 &= \left\{ T^*(\xi^*, z^*) = \sum_{\mathbb{N}^*} x_n^+ T_n^+(\xi^*) e^{\lambda_n^+ z^*} + x_n^- T_n^-(\xi^*) e^{\lambda_n^-(z^*-L^*)} \right\} \\ &\quad \text{exchanger } z^* \in [0, L^*] \\ V^1 &= \{ T^*(\xi^*, z^*) = x_0^H + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n t_n^+(\xi^*) e^{\mu_n^+(z^*-L^*)} \} \\ &\quad \text{hot outlet tube } z^* \geq L^* \\ V^2 &= \left\{ T^*(\xi^*, z^*) = x_0^C + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n t_n^-(\xi^*) e^{\mu_n^-(z^*)} \right\} \\ &\quad \text{cold outlet tube } z^* \leq 0 \\ V^3 &= \left\{ T^*(\xi^*, z^*) = T_H^{*-\infty} + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n t_n^-(\xi^*) e^{\mu_n^-(z^*)} \right\} \\ &\quad \text{hot inlet tube } z^* \leq 0 \\ V^4 &= \left\{ T^*(\xi^*, z^*) = T_C^{*+\infty} + \sum_{\mathbb{N}^*} x_n t_n^+(\xi^*) e^{\mu_n^+(z^*-L^*)} \right\} \\ &\quad \text{cold inlet tube } z^* \geq L^* \end{aligned} \tag{B.3}$$

where  $x_n^\pm$  are the generalized Graetz modes amplitudes,  $T_n^\pm$  are the upstream and downstream exchanger Graetz modes,  $t_n^\pm$  are the upstream and downstream Graetz modes in the inlet and outlet tubes,  $\lambda_n^\pm$  are the upstream and downstream Graetz eigenvalues inside the exchanger and  $\mu_n^\pm$  are downstream Graetz eigenvalues in the hot outlet tube and cold inlet tube,  $\mu_n^-$  are upstream Graetz eigenvalues in the cold outlet tube and hot inlet tube.

Let us note that the eigenvalues  $\lambda_n^\pm$  verify by definition  $\lambda_n^+ = \lambda_n$ ,  $\lambda_n^- = \lambda_{-n}$  and

$$-\infty \xleftarrow{n \rightarrow +\infty} \lambda_n \leq \dots \leq \lambda_1 < 0 < \lambda_{-1} < \dots \leq \lambda_{-n} \xrightarrow{n \rightarrow +\infty} +\infty \quad (\text{B.4})$$

$V$  is then defined as  $V = V^0 \cup V^0 \cup V^1 \cup V^2 \cup V^3 \cup V^4$ . The numerical approximation consists of a projection of the space  $V$  on a space  $V_N$  of finite dimension  $N$ , which means that one only considers a finite number  $N$  of Graetz modes to compute the dimensionless temperature field  $T^*$ .

Let  $(e_k)_{k=1..N}$  be a basis of the space  $V_N$  and let us write

$$J_{\mathcal{L}_2} = m(T^*, T^*) + b(T^*) + c \quad (\text{B.5})$$

where  $m$  is bi-linear symmetric,  $b$  linear and  $c$  a constant. Let  $\mathbf{M}_{\mathcal{L}_2} \in \mathbb{R}^{N \times N}$  and  $\mathbf{b} \in \mathbb{R}^N$  defined as  $\mathbf{M}_{\mathcal{L}_2} \text{ }_{ij} = m(e_i, e_j)$  and  $\mathbf{b}_i = b(e_i)$ . Then, the minimization problem writes as: find  $\mathbf{x} \in \mathbb{R}^N$  solution of,

$$\mathbf{M}_{\mathcal{L}_2} \mathbf{x} = \mathbf{b} \quad (\text{B.6})$$

which is a simple linear system to inverse to get the amplitudes of the Graetz modes. The practical construction of the matrix  $\mathbf{M}_{\mathcal{L}_2}$  can be found on [24]. It is important to stress that this matrix can be small, since the number of modes needed to construct a proper field  $T^*$  doesn't need to be large. Let us also emphasize the fact that this numerical method solves a 2D problem to compute the eigenvalues and eigenvectors and inverse a small matrix to guarantee coupling

conditions. The 3D-reconstruction is done using the analytically decomposition (B.3) so the method is computationally efficient.

### Appendix C. Numerical validation

We present in this section a numerical validation (see Tables C.1 and C.2) based on the anti-symmetry of eigenvalues in the exchanger in a counter-flow configuration, which means that  $\lambda_{-i} = -\lambda_i$  i.e.  $\lambda_i^+ = -\lambda_i^-$  for all  $i \in I$ , where  $I$  is the set that indexes the spectrum of the operator of the main problem. Indeed, the scalar values  $\lambda_i$  do not depend on the orientation of axes of coordinates  $x^*$ ,  $y^*$  and  $z^*$ .

Let us also show an anti-symmetry of the Graetz modes  $T_i(x^*, y^*) = -T_{-i}(-x^*, y^*)$ . Using previous notations, one has

$$\begin{aligned} A\phi_i &= \lambda_i \tilde{v}^* \phi_i \\ A\phi_{-i} &= \lambda_{-i} \tilde{v}^* \phi_{-i} \end{aligned} \quad (\text{C.1})$$

By applying an anti-symmetry operator  $S$  such as  $S(T_i(x, y)) = T_i(-x, y)$  on the second equation, one gets

$$\begin{aligned} AS\phi_{-i} &= \lambda_{-i} S\tilde{v}^* S\phi_{-i} = -\lambda_i (-\tilde{v}^*(x^*, y^*)) S\phi_{-i} \\ &= \lambda_i \tilde{v}^*(x^*, y^*) S\phi_{-i} \end{aligned} \quad (\text{C.2})$$

**Table C.1**

Relative errors of efficiencies  $\epsilon_C - \epsilon_H$ , first eigenvalue  $\lambda_+^0 + \lambda_-^0$  and second eigenvalue  $\lambda_+^1 + \lambda_-^1$  for various values of  $Pe$ ,  $l$ ,  $Bi$  and  $k^S$ .

$Pe$	$L$	$Bi$	$k^S$	$ \epsilon_C - \epsilon_H $	$ \lambda_+^0 + \lambda_-^0 $	$ \lambda_+^1 + \lambda_-^1 $	
15.0	10.0	0.001	1.0	1.393760e-07	2.027600e-10	2.021400e-08	
			10.0	7.380780e-07	2.987000e-10	1.367290e-07	
		1000.0	1.0	6.533600e-08	4.921000e-08	9.932100e-07	
			10.0	2.469819e-06	2.445040e-07	2.560937e-03	
		20.0	0.001	1.0	9.455200e-08	2.027600e-10	2.021400e-08
				10.0	4.338670e-07	2.987000e-10	1.367290e-07
	1000.0	1.0	9.594700e-08	4.921000e-08	9.932100e-07		
		10.0	2.418371e-06	2.445040e-07	2.560937e-03		
	100.0	10.0	0.001	1.0	9.061540e-07	4.070000e-11	2.957130e-07
				10.0	1.576944e-06	9.161000e-11	1.457733e-06
			1000.0	1.0	5.302000e-07	8.492800e-09	4.174500e-07
				10.0	8.544400e-07	3.983690e-08	1.012964e-04
20.0			0.001	1.0	8.852740e-07	4.070000e-11	2.957130e-07
				10.0	1.251659e-06	9.161000e-11	1.457733e-06
1000.0		1.0	4.203330e-07	8.492800e-09	4.174500e-07		
		10.0	4.641510e-07	3.983690e-08	1.012964e-04		

**Table C.2**

Values of eigenvalues  $\lambda_+^0$ ,  $\lambda_+^1$ ,  $\lambda_+^2$ ,  $\lambda_+^3$  for various values of  $Pe$ ,  $l$ ,  $Bi$  and  $k^S$ .

$Pe$	$L$	$Bi$	$k^S$	$\lambda_+^0$	$\lambda_+^1$	$\lambda_+^2$	$\lambda_+^3$	
15.0	10.0	0.001	1.0	8.170724e-03	4.398618e-01	4.566489e-01	5.910715e-01	
			10.0	1.253764e-02	7.244966e-01	1.016178e+00	1.085381e+00	
		1000.0	1.0	1.549455e-01	7.018758e-01	7.319594e-01	9.940608e-01	
			10.0	3.911171e-01	1.152600e+00	1.155169e+00	1.902514e+00	
		20.0	0.001	1.0	8.170724e-03	4.398618e-01	4.566489e-01	5.910715e-01
				10.0	1.253764e-02	7.244966e-01	1.016178e+00	1.085381e+00
	1000.0	1.0	1.549455e-01	7.018758e-01	7.319594e-01	9.940608e-01		
		10.0	3.911171e-01	1.152600e+00	1.155169e+00	1.902514e+00		
	100.0	10.0	0.001	1.0	1.314427e-03	1.182446e-01	1.226305e-01	2.606066e-01
				10.0	2.259361e-03	1.873122e-01	1.886942e-01	2.946533e-01
			1000.0	1.0	2.407891e-02	1.284228e-01	1.309758e-01	2.927729e-01
				10.0	6.087998e-02	1.944533e-01	1.945562e-01	3.946634e-01
20.0			0.001	1.0	1.314427e-03	1.182446e-01	1.226305e-01	2.606066e-01
				10.0	2.259361e-03	1.873122e-01	1.886942e-01	2.946533e-01
1000.0		1.0	2.407891e-02	1.284228e-01	1.309758e-01	2.927729e-01		
		10.0	6.087998e-02	1.944533e-01	1.945562e-01	3.946634e-01		



because of the anti-symmetry of  $v$  on  $x$  and  $\lambda_i = -\lambda_{-i}$ . Then, by using both equations

$$A(\phi_i - S\phi_{-i}) = \lambda_i \tilde{v}^*(\phi_i - S\phi_{-i}) \quad (\text{C.3})$$

so that  $\phi_i - S\phi_{-i}$  is a solution of the eigenvalue problem. Thus, one has

$$\phi_{-i} - S\phi_{-i} = \alpha\phi_{-i} \quad \text{with } \alpha \in \mathbb{R} \quad (\text{C.4})$$

So that  $(1 - \alpha)\phi_i = S\phi_{-i}$ . Since modes are normalized,  $\|\phi_i\| = \|\phi_{-i}\| = \|S\phi_{-i}\|$ , which gives  $\alpha = 2$ . Using (C.4), one has the stated result:

$$T_i(x^*, y^*) = -T_{-i}(-x^*, y^*) \quad (\text{C.5})$$

Under the condition  $T_H^\infty = -T_C^\infty$ , this leads to the fact that the dimensionless temperature field of the full exchanger problem verifies  $T(x, y, z) = -T(-x, y, -z)$ .

## References

- [1] J.C. Bradley, Counterflow, crossflow and cocurrent flow heat transfer in heat exchangers: analytical solution based on transfer units, *Heat Mass Transfer* 46 (4) (2010) 381–394.
- [2] Y.P. Cheng, Z.G. Qu, W.Q. Tao, Y.L. He, Numerical design of efficient slotted fin surface based on the field synergy principle, *Numer. Heat Transfer, Part A* 45 (6) (2004) 517–538.
- [3] R.C. Chu, R.E. Simons, M.J. Ellsworth, R.R. Schmidt, V. Cozzolino, Review of cooling technologies for computer products, *IEEE Trans. Device Mater. Rel.* 4 (4) (2004) 568–585.
- [4] O.I. Craciunescu, T.V. Samulski, J.R. MacFall, S.T. Clegg, Perturbations in hyperthermia temperature distributions associated with counter-current flow: numerical simulations and empirical verification, *IEEE Trans. Biomed. Eng.* 47 (4) (2000) 435–443.
- [5] W. Escher, B. Michel, D. Poulikakos, Efficiency of optimized bifurcating tree-like and parallel microchannel networks in the cooling of electronics, *Int. J. Heat Mass Transfer* 52 (5–6) (2009) 1421–1430.
- [6] W. Escher, B. Michel, D. Poulikakos, A novel high performance, ultra thin heat sink for electronics, *Int. J. Heat Fluid Flow* 31 (4) (2010) 586–598.
- [7] J. Fehrenbach, F. De Gournay, C. Pierre, F. Plouraboué, The generalized Graetz problem in finite domains, *SIAM J. Appl. Math.* 72 (2012) 99–123.
- [8] J. Fehrenbach, F. De Gournay, F. Plouraboué, Shape optimization for the generalized Graetz problem, *Struct. Multidiscip. Optim.* 49 (2014) 993–1008.
- [9] A. Filali, L. Khezzer, Numerical simulation of the Graetz problem in ducts with viscoelastic FENE-P fluids, *Comput. Fluids* 84 (2013) 1–15.
- [10] H.W. Huang, W.L. Lin, E.G. Moros, A robust power deposition scheme for tumors with large counter-current blood vessels during hyperthermia treatment, *Appl. Therm. Eng.* 89 (2015) 897–907.
- [11] H. Kobayashi, S. Lorente, R. Anderson, A. Bejan, Serpentine thermal coupling between a stream and a conducting body, *J. Appl. Phys.* 111 (19–20) (2012) 044911.
- [12] G. Maranzana, I. Perry, D. Maillet, Mini- and micro-channels: influence of axial conduction in the walls, *Int. J. Heat Mass Transfer* 47 (17–18) (2004) 3993–4004.
- [13] I.C. Mihai, Heat transfer in minichannels and microchannels CPU cooling systems, in: P. Schiopu, C. Panait, G. Caruntu, et al. (Eds.), *Advanced Topics in Optoelectronics Microelectronics, and Nanotechnologies IV*, Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering, vol. 7297, SPIE-The International Society for Optical Engineering, 2009.
- [14] J.W. Mitchell, G.E. Myers, An analytical model of the counter-current heat exchange phenomena, *Biophys. J.* 8 (1968) 897–911.
- [15] S. Mori, M. Kataya, A. Tanimoto, Performance of counterflow, parallel plate heat exchangers under laminar flow conditions, *Heat Transfer Eng.* 2 (1) (1980) 28–38.
- [16] A. Nakayama, F. Kuwahara, A general bioheat transfer model based on the theory of porous media, *Int. J. Heat Mass Transfer* 51 (11–12) (2008) 3190–3199.
- [17] R. Nunge, E.W. Porta, W.N. Gill, Axial conduction in the fluid streams of multistream heat exchangers, *Chem. Eng. Progr. Symp.* 63 (1967) 80–91.
- [18] R.J. Nunge, W.N. Gill, Analysis of heat or mass transfer in some countercurrent flows, *Int. J. Heat Mass Transfer* 8 (1965) 873–886.
- [19] R.J. Nunge, W.N. Gill, An analytical study of laminar counter flow double-pipe heat exchangers, *AIChE J.* 12 (1966) 279–289.
- [20] D.A. Pabst, S.A. Rommel, W.A. McLellan, T.M. Williams, T.K. Rowles, Thermoregulation of the intra-abdominal testes of the bottlenose dolphin (*Tursiops truncatus*) during exercise, *J. Exp. Biol.* 198 (1995) 221–226.
- [21] E. Papoutsakis, D. Ramkrishna, H-C. Lim, The extended Graetz problem with Dirichlet wall boundary conditions, *Appl. Sci. Res.* 36 (1980) 13–34.
- [22] E. Papoutsakis, D. Ramkrishna, H-C. Lim, Conjugated Graetz problems. Pt. 1: General formalism and a class of solid–fluid problems, *Chem. Eng. Sci.* 36 (8) (1981) 1381–1391.
- [23] T.L. Perelman, On conjugated problems of heat transfer, *Int. J. Heat Mass Transfer* 3 (4) (1961) 293–303.
- [24] C. Pierre, J. Bouyssier, F. de Gournay, F. Plouraboué, Numerical computation of 3D heat transfer in complex parallel heat exchangers using generalized Graetz modes, *J. Comp. Phys.* 268 (2014) 84–105.
- [25] C. Pierre, J. Bouyssier, F. Plouraboué, Mathematical analysis of parallel convective exchangers with general lateral boundary conditions using generalized Graetz modes, *Math. Models Methods Appl. Sci.* 24 (4) (2013) 627–667.
- [26] C. Pierre, F. Plouraboué, Numerical analysis of a new mixed-formulation for eigenvalue convection–diffusion problems, *SIAM J. Appl. Math.* 70 (2009) 658–676.
- [27] F. Plouraboué, C. Pierre, Stationary convection–diffusion between two co-axial cylinders, *Int. J. Heat Mass Transfer* 50 (2007) 4901–4907.
- [28] A.E. Quintero, M. Vera, B. Rivero-de Aguilar, Wall conduction effects in laminar counterflow parallel-plate heat exchangers, *Int. J. Heat Mass Transfer* 70 (1–3) (2014) 939–953.
- [29] Ilya I. Ryzhkov, The extended Graetz problem with specified heat flux for multicomponent fluids with Soret and Dufour effects, *Int. J. Heat Mass Transfer* 66 (2013) 461–471.
- [30] R.K. Shah, Dušan P. Sekulić, *Fundamentals of Heat Exchanger Design*, John Wiley and Sons, New Jersey, 2003.
- [31] D. Shrivastava, B. McKay, R.B. Roemer, An analytical study of heat transfer in finite tissue with two blood vessels and uniform Dirichlet boundary conditions, *ASME J. Heat Transfer* 127 (2) (2005) 179–188.
- [32] D. Shrivastava, R. Roemer, An analytical study of heat transfer in a finite tissue region with two blood vessels and general Dirichlet boundary conditions, *Int. J. Heat Mass Transfer* 48 (19–20) (2005) 4090–4102.
- [33] S.N. Singh, Heat transfer by laminar flow in a cylindrical tube, *Appl. Sci. Res.* A7 (1958) 325–340.
- [34] W.Q. Tao, Z.-Y. Guo, B.X. Wang, Field synergy principle for enhancing convective heat transfer: its extension and numerical verifications, *Int. J. Heat Mass Transfer* 45 (18) (2002) 3849–3856.
- [35] M. Vera, A. Liñán, Laminar counter flow parallel-plate heat exchangers: exact and approximate solutions, *Int. J. Heat Mass Transfer* 53 (2010) 4885–4898.
- [36] M. Vera, A. Liñán, Exact solution for the conjugate fluid–fluid problem in the thermal entrance region of laminar counterflow heat exchangers, *Int. J. Heat Mass Transfer* 54 (1–3) (2011) 490–499.
- [37] W. Qu, I. Mudawar, Experimental and numerical study of pressure drop and heat transfer in a single-phase micro-channel heat sink, *Int. J. Heat Mass Transfer* 45 (2002) 2549–2565.
- [38] B. Weigand, An extract analytical solution for the extended turbulent Graetz problem with Dirichlet wall boundary conditions for pipe and channel flows, *Int. J. Heat Mass Transfer* 39 (8) (1996) 1625–1637.
- [39] B. Weigand, M. Kanzamar, H. Beer, The extended Graetz problem with piecewise constant wall heat flux for pipe and channel flows, *Int. J. Heat Mass Transfer* 44 (20) (2003) 3941–3952.
- [40] B. Weigand, D. Lauffer, The extended Graetz problem with piecewise constant wall heat flux for laminar and turbulent flows inside concentric annuli, *Heat Mass Transfer* 39 (4) (2003) 313–320.
- [41] B. Weigand, D. Lauffer, The extended Graetz problem with piecewise constant wall temperature for pipe and channel flows, *Int. J. Heat Mass Transfer* 24 (2004) 5303–5312.
- [42] P. Yuan, Numerical analysis of an equivalent heat transfer coefficient in a porous model for simulating a biological tissue in a hyperthermia therapy, *Int. J. Heat Mass Transfer* 52 (7–8) (2009) 1734–1740.
- [43] H. Zhang, A. Lorente, S. Bejan, Vascularization with line-to-line trees in counterflow heat exchange, *Int. J. Heat Mass Transfer* 52 (19–20) (2009) 4327–4342.
- [44] Y. Zhang, Generalized dual-phase lag bioheat equations based on nonequilibrium heat transfer in living biological tissues, *Int. J. Heat Mass Transfer* 52 (21–22) (2009) 4829–4834.
- [45] L. Zhu, Theoretical evaluation of contributions of heat conduction and counter-current heat exchange in selective brain cooling in humans, *Ann. Biomed. Eng.* 28 (2000) 269–277.



# Chapitre 5

## Discussion, conclusion et perspectives

### 5.1 Discussion des résultats biologiques

Dans cette section, nous allons revenir sur les résultats décrits aux chapitres 2 et 3 pour les articuler ensemble, tenter de discuter leurs liens et dégager leur interprétation concernant la biologie du tissu adipeux.

Avant toute chose, il est important de garder à l'esprit que si les résultats du chapitre 2 se basent sur trois échantillons de tissus (pour être tout à fait précis plusieurs autres acquisitions et analyses de tissus entiers ont été faites durant la thèse, dont certaines sont en cours, mais trois seulement ont été finalisées), ce n'est pas le cas du chapitre 3 dont l'étude a porté sur l'analyse d'un seul échantillon de tissu entier (pour des raisons techniques et méthodologiques, le volume de données obtenu étant considérable, de l'ordre de 500 Go). Ainsi, les pistes de réflexions que nous allons tenter d'explorer ici doivent être pondérées par ce constat et leur statut reste à l'état d'hypothèses ouvertes, encourageant de futurs approfondissements.

Pour rappel, dans le chapitre 2, nous avons montré que l'organisation structurale du tissu adipeux traditionnellement décrite en lobules faiblement connectés de formes ellipsoïdales n'est pas compatible avec son analyse structurale 3D à partir de segmentation d'images. Nous avons confirmé, dans ce chapitre la présence d'entités structurales dans une zone centrale (la zone "lobulisable" ou Segmented Lobule Area, SLA dans l'article soumis) et leur absence en périphérie dans la zone non-"lobulisable" (ou Non Segmented Lobule Area, NSLA). Nous avons introduit, pour remplacer cette unité structurale, la notion de Poly-Lobular Sub-units (PLS) qui composent la SLA et qui sont eux-mêmes composés de lobules. L'analyse montre cependant que ces PLS ne sont pas des entités isolées et indépendantes. Elles semblent connectées entre elles et former des "paquets" (clusters) d'unités. Enfin, nous avons aussi mis en évidence dans ce chapitre, l'existence de deux familles de clusters : l'une proche du ganglion, l'autre éloignée de celui-ci, étant composées de cellules ayant des signatures métaboliques distinctes associées au potentiel de Browning.

Ainsi, à ce stade on peut décrire trois niveaux d'organisation hiérarchiques :

1. Les lobules présent dans la SLA, et pas d'organisation notable dans la NSLA.
2. Les PLS (composés de lobules) dans la SLA, et pas d'organisation notable dans la NSLA.
3. Enfin, les clusters de PLS (composés de PLS) dans la SLA, et pas d'organisation notable dans la NSLA, avec trois potentiels métaboliques distincts (premier cluster, deuxième cluster et NSLA).

Dans le chapitre 3, l'analyse structurale du tissu est revisitée avec des méthodes totalement distinctes. Tant du point de vue de l'imagerie (LSFM) que de l'analyse structurale, nous avons souhaité partir de la reconstruction complète de la structure vasculaire pour bâtir, à partir du réseau vasculaire lui-même et non plus à partir de l'image, l'analyse de l'organisation des unités structurales et fonctionnelles.

Nous avons ainsi confirmé (par diverses métriques structurales ou liées à l'écoulement), l'existence d'une zone centrale dont la position correspond à la SLA décrite au chapitre 2. Plus précisément, nous avons réalisé plusieurs découpages en communautés de vaisseaux du réseau vasculaire du tissu adipeux entier suivant différents critères (structuraux ou fonctionnels). Nous avons retrouvé pour chaque partitionnement deux zones au sein du réseau qui se distinguent par le nombre de communautés qui les composent, la densité vasculaire des communautés et leur autorité (au sens de la métrique de graphe déjà présentée). Par ailleurs, nous avons calculé l'autorité pour deux types de graphes des communautés : un graphe des communautés structurel (avec comme poids le nombre de liens entre deux communautés) et un bi-graphe fonctionnel (avec comme poids les débits entrants/sortants entre deux communautés). Il ressort que la métrique est d'intensité plus élevée dans le second cas que dans le premier. Autrement dit, les communautés qui constituent cette SLA sont également fortement corrélées avec l'intensité de leur perfusion. Pour confirmer la nature fonctionnelle des clusters émergeant de l'analyse du graphe vasculaire, nous avons analysé les temps d'arrivée du sang dans les communautés. Nous avons en effet montré que les communautés perfusées le plus tôt par l'entrée artérielle sont principalement situées dans la SLA. Notons que ces derniers résultats ont été obtenus sur un découpage structurel du graphe vasculaire qui reproduit fortement le niveau 1 d'organisation en lobules.

Le chapitre 3 a également mis en évidence que les temps de remplissages sont hétérogènes aussi bien au sein de la SLA qu'en dehors et pas nécessairement plus courts au sein de celle-ci. Un dernier élément non-trivial qui a été trouvé, concerne le découpage à partir des poids fonctionnels (résistance et conductance hydraulique) qui produisent un plus grand nombre de communautés beaucoup plus faiblement connectées entre elles. Ceci laisse entendre qu'il y aurait un sous-niveau d'organisation parmi le réseau vasculaire en petites structures faiblement connectées les unes aux autres en lien avec l'écoulement et la capacité du réseau à distribuer le sang.

On peut donc mettre à jour notre description hiérarchique du tissu adipeux, et ajouter sous la forme d'une synthèse à l'organisation du tissu, des éléments hydrodynamiques et métaboliques suivants :

0. Sous-niveau d'organisation du réseau vasculaire en petites communautés très peu connectées.
1. Lobules dans la SLA qui correspond à un partitionnement sur un poids structurel du graphe vasculaire, et pas d'organisation notable dans la NSLA. Hétérogénéités des temps de remplissages des lobules au sein de la SLA.
2. PLS (composés de lobules) dans la SLA, et pas d'organisation notable dans la NSLA.
3. Clusters de PLS (composés de PLS) dans la SLA, et pas d'organisation notable dans la NSLA, avec trois potentiels métaboliques distincts (premier cluster, deuxième cluster et NSLA). Premier cluster à l'extrémité du tissu perfusé en premier (intensité intermédiaire en potentiel de brunissement), second cluster proche du ganglion perfusé peu après (forte intensité en potentiel de brunissement), NSLA perfusée en grande partie plus tard (très faible potentiel de brunissement).

Au vu de cette description, on peut naturellement se poser la question du lien entre l'organisation de la perfusion et le brunissement. En effet, le cluster de PLS à l'extrémité du tissu co-localise avec un potentiel de brunissement d'intensité intermédiaire est perfusé en premier, le cluster de PLS proche du ganglion co-localise avec le plus fort potentiel de brunissement est perfusé en second, et la NSLA a un potentiel de brunissement très faible. On ne peut donc a priori pas considérer que les zones du tissu perfusées en premier sont celles qui possèdent le plus fort potentiel de brunissement.

En revanche, on peut émettre une hypothèse (qui serait une piste à considérer pour l'avenir) concernant les temps de remplissage (ou de transit) des communautés. On a déjà dit qu'ils étaient aussi hétérogènes dans la SLA qu'en dehors mais rappelons que les communautés représentent le niveau 1 de représentation du tissu. Il est envisageable qu'un découpage associé au niveau 2 moyennerait une partie de ces hétérogénéités et exprimerait des temps de transit différents dans un équivalent des deux clusters de PLS au sein de la SLA. Il pourrait en résulter que, dans ce cas, le potentiel de brunissement serait positivement corrélé au temps de transit au sein des communautés, et donc également corrélé à un apport en nutriments/oxygène différent.

On pourrait développer une seconde hypothèse concernant l'interprétation biologique du sous-niveau d'organisation 0 des communautés issues du découpage lié à la perfusion. On a obtenu, dans ce cas, un nombre plus important de communautés (d'un facteur vingt par rapport au découpage structurel). Ces communautés ont donc un volume plus faible. Elles correspondent à environ une dizaine d'adipocytes (ce nombre de cellules dépend du volume cellulaire choisi pour les adipocytes bien entendu), ce qui est sensiblement moins que ce que contient un lobule "classique". Puisqu'elles sont également faiblement connectées, et donc relativement indépendantes, et qu'elles résultent de la perfusion, on peut supposer que ces communautés puissent être associées à un développement primitif des lobules, lors du développement du tissu adipeux. C'est une piste de recherche à creuser pour l'avenir.

## 5.2 Conclusions et perspectives

À travers ce travail de thèse, nous avons revisité, avec des outils "modernes" combinant microscopie optique, traitement d'image et modélisation, l'analyse de l'anatomie intime structurelle et fonctionnelle du tissu adipeux. Deux approches distinctes et complémentaires ont été élaborées à cette fin. Dans une première partie, nous avons abordé la question de l'organisation structurelle à partir d'imagerie tissu entier en microscopie confocale combinée avec des outils de traitement d'image relativement simples mais adaptés et dédiés à la segmentation des unités structurelles. Dans une seconde partie, nous avons développé une acquisition par imagerie macro-SPIM. Cette dernière a été couplée au traitement d'image pour la vectorisation des réseaux vasculaires et à la modélisation de la perfusion sanguine pour permettre l'analyse structurelle et fonctionnelle du réseau vasculaire d'un point de vue graphe.

La seconde approche apporte de nombreux avantages tant pour la méthodologie que pour la compréhension du fonctionnement de l'organe d'un point de vue biologique. L'ensemble des éléments obtenus par ces différentes approches conduisent à une nouvelle vision de la structure intime du tissu adipeux. Il faut à présent considérer plusieurs échelles structurelles qui sont liées à la fois à un potentiel métabolique et à une distribution spécifique de la perfusion. La description en lobules ne fournit qu'un aspect de ce tissu. Des structures plus complexes, que nous avons mises en évidence et décrites, le composent. C'est cependant ici, le lieu des perspectives et des limites du travail présenté.

Comme déjà évoqué, une partie de la discussion qui précède associée à l'étude du réseau vasculaire, résulte de l'analyse d'un seul échantillon. Cette limitation s'explique par le fait que toutes les étapes de la chaîne d'analyse, à savoir la préparation du tissu (clarification, positionnement, alignement), l'imagerie (acquisition, mosaïques), le traitement d'image (stitching, déconvolution, segmentation, skeletisation, raccordage), la modélisation de la perfusion (définition des conditions aux limites) étaient nouvelles et ont nécessité de nombreuses itérations. Il faut souligner ici que cette chaîne de traitement résulte d'un travail d'équipe et qu'une partie du travail de traitement d'image et l'analyse des graphes vasculaires a été réalisée par Pol Kennel dans le cadre de son post-doctorat, comme indiqué dans l'article en cours de soumission co-signé en premier auteur avec lui. Bien que de nombreux progrès aient été obtenus sur ces différentes étapes, elles sont encore à une phase semi-automatique. Mais ces progrès significatifs appellent des perspectives passionnantes.

Il serait bien entendu souhaitable de reproduire ces travaux sur un plus grand nombre de tissus afin d'élargir la portée biologique des résultats. En particulier, reproduire la procédure du chapitre 3 dans différents contextes physiologiques serait très intéressant. Nous pourrions, par exemple, considérer trois souris témoins et trois mises au froid avec un marquage cellulaire et un marquage vasculaire lors de l'acquisition. On pourrait alors renseigner dans quelle mesure le réseau vasculaire du tissu adipeux se modifie et se réorganise (par l'analyse en communautés) et quel impact la mise au froid a sur l'écoulement. Le marquage cellulaire pouvant alors servir à corrélérer (et non plus co-localiser) les données métaboliques aux données hydrodynamiques. Le même type d'études avec des souris d'âges différents pourrait également mener à des résultats intéressants sur la mise en place du réseau vasculaire.

Cependant, pour parvenir à reproduire ces résultats, un effort important reste à fournir du côté des outils méthodologiques. En particulier, il serait souhaitable de développer des procédures de segmentation automatiques des vaisseaux à l'échelle de la macro-circulation. La question des conditions limites pour des macro-vaisseaux traversant le tissu est également ouverte. Nous avons proposé une manière de les fixer dans le cadre de ce travail. Mais, il est certainement possible de développer une méthode d'optimisation et éventuellement de caler/adapter/assujettir les conditions limites par rapport à des mesures expérimentales *in vivo*.

Pour accorder plus précisément les différentes descriptions du tissu que nous avons réalisées, il serait également pertinent de chercher à développer une procédure de segmentation des PLS (obtenus au chapitre 2) à partir du réseau vectorisé (obtenu au chapitre 3) et de voir si, à partir d'une modalité de représentation du tissu différente, il serait possible de retrouver des entités de formes/structures similaires.

Dans le dernier chapitre de cette thèse 4, nous avons également réalisé des travaux sur le problème de transferts de chaleur entre deux vaisseaux sanguins idéalisés en contre-courant à travers un tissu. Dans un premier temps, nous avons étudié des configurations équilibrées (qui était principalement le cas dans la publication reproduite en fin de chapitre) et montré que les deux nombres adimensionnels étudiés, l'efficacité et le nombre de Nusselt, peuvent être utilisés pour décrire respectivement des échanges artère-veine et vaisseau-tissu. Nous avons fait varier les autres paramètres adimensionnels du problème, à savoir le nombre de Péclet, le rapport des conductivités vaisseau/tissu et le rapport d'aspect des vaisseaux. Dans le cas des échanges artère-veine, caractérisés par l'efficacité, un optimum a été mis en évidence pour lequel les échanges se font de manière privilégiée dans des gammes physiologiques de nombre de Péclet modérées (entre 5 et 12) et ce, quasi-indépendamment du rapport d'aspect des vaisseaux ou du rapport de

conductivité solide/fluide. Pour les échanges vaisseau-tissu, caractérisés par le nombre de Nusselt, nous avons trouvé que ce dernier varie de manière monotone avec le nombre de Péclet quelles que soient les valeurs des autres paramètres adimensionnels. Bien que les géométries soient idéalisées, le nombre de paramètres adimensionnels est important et ces résultats donnent un premier aperçu pour dégager des éléments plus fondamentaux caractérisant les échanges entre vaisseaux ou entre vaisseaux et tissu dans différents contextes physiologiques.

Dans un second temps, nous avons abordé la question de l'évaluation de vaisseaux thermiquement significatifs suivant deux définitions usuelles de la littérature : la longueur effective et l'efficacité artérielle. Soulignant la différence de ces définitions, nous avons mis en évidence leurs liens respectifs avec les transferts vaisseaux/tissu et les échanges artérioveineux. De plus, nous avons montré que les quantités associées à ces définitions ont des tendances différentes suivant le rapport Péclet artériel sur Péclet veineux. Nous avons également mis en évidence une influence conjointe des deux nombres adimensionnels liés à la géométrie : le rapport d'aspect des vaisseaux et la distance entre les vaisseaux. En particulier, il semble qu'il y ait un couple de ces deux paramètres géométriques qui garantissent un optimum de significativité thermique.

Dans un troisième temps, nous avons proposé une méthode pour évaluer des paramètres effectifs de modèles moyens. Nous nous sommes placés dans un cas général de ces modèles et avons fait varier le nombre de Péclet artériel pour un nombre de Péclet veineux fixe et sur quelques rapports d'aspects. Notre méthode montre que les configurations qui garantissent des paramètres effectifs correctement évalués sont assez restreintes : sur des gammes de Péclet artériel plutôt modérées et pour de faibles rapports d'aspects des vaisseaux.

Dans un dernier temps, nous avons décrit le principe d'une méthode permettant de prendre en compte le terme source métabolique (homogène) dans le tissu dans le cadre du formalisme des problèmes de Graetz généralisés (en gardant l'avantage d'une résolution 2D pour un problème 3D).

Un certain nombre de points restent encore à explorer. Pour l'évaluation des vaisseaux thermiquement significatifs, il faudrait sans doute s'intéresser à l'influence d'autres paramètres que nous n'avons pas explorés ici. On pourrait par exemple considérer des configurations où les artères et les veines sont de diamètres différents. Nous pourrions également étudier un réseau vasculaire de plusieurs générations avec plusieurs échelles de vaisseaux afin d'établir quelles générations de vaisseaux sont les plus significatives. Il serait également intéressant d'implémenter la méthode permettant la prise en compte du terme source et d'en évaluer l'influence dans ces différents contextes.