

Changement d'échelle entre organoïde et organe appliqué au traitement de maladies graves

Scale change between organoid and organ applied to the treatment of severe diseases

David Vauris¹, Jean Claude André¹

¹ LRGP – UMR7274 CNRS-UL 1, rue Grandville – F54000 Nancy, Jean-claude.andre@univ-lorraine.fr

RÉSUMÉ. Le bio-printing est un principe de fabrication additive dans lequel des cellules vivantes peuvent être imprimées ou disposées de manière organisée en 3 dimensions. Cette technique pourrait être utile dans la fabrication d'organes fonctionnels (et qui pourrait par exemple remplacer des organes déficients chez des personnes malades) dès lors que les verrous liés au bon développement de ces organes seront débloqués. Cependant, elle peut déjà nous servir dans la compréhension des effets de substances anticancérigènes sur un amas cellulaire sain ou malin (organoïde). Ce travail met en évidence l'influence de certains paramètres sur la disparition cellulaire souhaitée. Par exemple, la forme que prend l'amas, la diffusion du produit anticancérigène et son élimination naturelle dans le temps influent largement sur la quantité de cellules restantes au cours du temps. Ainsi, le comportement à l'échelle microscopique (de l'organoïde) a pu être étudié numériquement sous différents angles tandis que le passage à l'échelle macroscopique n'a été possible qu'avec des simplifications (système à 2 dimensions, non-prolifération), mais qui permettent de comparer deux paramètres importants, l'élimination naturelle du produit anticancérigène avec la disparition cellulaire. Alors, la hiérarchie de produits de chimiothérapie issue de travaux avec des organoïdes, dans une logique de médecine personnalisée, peut être mise en défaut par d'autres effets qui ne peuvent pas être pris en compte sur ces bio-construits de petite taille.

ABSTRACT. Bio-printing is a principle of additive manufacturing in which living cells can be printed or arranged in an organized manner in 3 dimensions. This technique could be useful in the manufacture of functional organs (and which could for example replace deficient organs in sick people) as soon as the locks related to the good development of these organs are unlocked. However, it can already be used to understand the effects of anti-carcinogenic substances on a healthy or malignant cell cluster (organoids). This work highlights the influence of certain parameters on the desired cell death. For example, the shape of the cluster, the diffusion of the anticarcinogen and its natural elimination over time largely influence the amount of cells remaining over time. Thus, the behavior at the microscopic scale (of the organoid) could be studied numerically from different angles while the passage to the macroscopic scale was only possible with simplifications (2-dimensional system, non-proliferation), but which allow to compare two important parameters, the natural elimination of the anticarcinogen with the cell disappearance. Thus, the hierarchy of chemotherapy chemicals resulting from work with organoids, in a logic of personalized medicine, can be challenged by other effects that cannot be taken into account on these small bio-constructs.

MOTS-CLÉS. Bio-printing, organoïdes, fabrication additive, modélisation mathématique, cancer, changement d'échelle.

KEYWORDS. Bio-printing, organoids, additive manufacturing, mathematical modelling, cancer, scale up.

Introduction

« La mise sur le marché d'un nouveau médicament coûte des milliards d'euros et peut prendre plus de dix ans. Ces investissements considérables en argent et en temps contribuent fortement à la montée en flèche des coûts de santé et constituent des obstacles importants à la mise à disposition de nouvelles thérapies pour les patients. L'un des obstacles réside dans les modèles de laboratoire utilisés par les scientifiques pour développer les médicaments » (Chen, 2023).

Les technologies de fabrication comme les stratégies de production ont toujours influencé les activités d'ingénierie, que ce soit dans la structure des produits ou dans la géométrie de leurs composants. Ceci est d'autant plus d'actualité avec le développement intensif des techniques de

fabrication additive au cours de ces dernières années, générant notamment des perspectives intéressantes à court terme pour construire des formes complexes, organiques et des structures en treillis ou à base de plusieurs matériaux ; et à plus long terme pour de la production de masse. L'impression 3D devient alors le centre de toutes les attentions. Sur la base de ces avancées, l'impression 4D a émergé dès 2013 pour donner vie aux objets 3D, exploitant ainsi les techniques de fabrication par ajout de matière et les matériaux dits actifs ou intelligents permettant d'envisager de nombreux raffinements (Demoly et André, 2022). Dans ce cadre, le bio-printing, autre forme d'impression 4D est un sujet émergent issu des technologies de fabrication additive qui vise la fabrication d'organes et de tissus vivants (André, 2018 ; Fu et al, 2021).

Le bio-printing est ainsi un procédé 3D de dépôt de suspensions cellulaires, de solutions aqueuses ou d'hydrogels, de supports biocompatibles, en limitant les différents stress que peuvent subir les cellules par les procédés de fabrication additive pour atteindre une forme et une fonctionnalité biologique souhaitées dans des tissus ou des organes bio-imprimés (Kucharska, 2022). Ce domaine émergent est encore très proche de preuves de concept avec pour but ultime la réalisation de biomatériaux organisés avec une visée initiale « réparatrice », même si d'autres niches plus prometteuses dans le court terme apparaissent (médecine de précision, toxicologie, cosmétique, etc.).

Ce que Danzo et André (2020) avaient montré, c'est que l'on observe une augmentation quasi-exponentielle du volume des publications expérimentales sur le thème alors que la modélisation des processus de croissance et de différenciation cellulaire reste peu explorée. Pour autant, le bio-printing nécessite la convergence de nombreuses disciplines scientifiques, ce qui impose une réflexion épistémologique visant dans le futur la fabrication robuste d'organes. Faute de la possibilité de rencontre entre spécialistes scientifiques concernés, la modélisation mathématique permet de tenter de trouver de possibles chemins existant entre extraction de cellules saines ou malignes d'un patient et réalisation potentielle d'un tissu, voire d'un organe. Cependant, même si des progrès sont réalisés, on est encore loin de prévisions comme celle présentée de manière humoristique sur la figure 1.



Figure 1. Vision humoristique du bio-printing (TEDx Talks, 2014).

N'utilisant qu'une quantité de cellules très modeste d'une part, avec une durée de vie de quelques semaines d'autre part, les organoïdes, dépôts cellulaires de l'ordre de 0.1 mm peuvent être utilisés pour modéliser le développement des organes en présence ou non de certaines pathologies, pour prédire la réponse à certaines substances médicamenteuses, à des cosmétiques ou à l'étude de toxiques de manière personnalisée. Ils peuvent être réalisés par impression 3D. D'un point de vue fondamental, les organoïdes peuvent jouer un rôle clé dans la compréhension de la biologie du développement des organes et compléter la tradition des études *in vivo* dans ce domaine. Dans la même perspective, les organoïdes peuvent fournir des connaissances sur les processus qui permettent aux cellules souches pluripotentes de maintenir et de réparer les tissus établis. Les organoïdes ouvrent, par ailleurs, de nouvelles voies pour la médecine régénérative (connaissances scientifiques) et personnalisée (Clevers, 2016 ; Ashammakhi et al, 2019 ; Listek, 2023).

C'est bien dans ce domaine que ce travail se situe : en envisageant des dépôts cellulaires constitués de cellules saines et/ou malignes, il est possible d'évoquer leur évolution temporelle en présence d'un médicament ou d'un ensemble de molécules de chimiothérapie. La comparaison des effets de ces substances peut en principe être comparée et indiquer au praticien médical une hiérarchie des meilleurs candidats. Mais, avec des agrégats de cellules baignant dans un fluide nutritif contenant les réactifs toxiques, si des différences d'effets peuvent être vérifiées sur le matériau cellulaire de la personne, il n'est pas sûr (même si c'est probable) qu'elles se maintiennent sur l'organe réel qui serait à traiter. En effet, le changement d'échelle entre l'organoïde et l'organe est considérable (de 0.1 mm à plusieurs cm), ce qui peut faire intervenir des processus macroscopiques nouveaux qui doivent être pris en compte.

Dans cet article, il a paru utile aux auteurs de revenir à des rappels sur ce que sont le bio-printing et plus précisément les organoïdes. En dehors de ces rappels bibliographiques, il nous a paru utile de prendre en considération différentes questions de principe s'appliquant aux seuls organoïdes permettant d'utiliser des méthodes accessibles numériquement (la taille de 0.1 mm est à mettre en relation avec le nombre de cellules (5 µm environ de diamètre)) : Le bio-objet peut être considéré comme une association de quelques dizaines à quelques milliers de cellules, soit l'utilisation de matrices de taille acceptable relativement à la taille mémoire des ordinateurs de bureau actuels pour des modélisations d'interaction entre cellules et entre cellules et produits destructeurs (Galzi, Jouault et Amédée, 2019 ; Rossi, Manfrin et Lutolf, 2018). Dans ces conditions, l'objet bio-imprimé sert à tester quelques bases calculatoires et d'en extraire quelques résultats concernant les petites échelles spatiales. Une modélisation de même type n'est pas envisageable pour un organe entier avec sa vascularisation dans des environnements variables selon les natures cellulaires qui peuvent jouer un rôle sur les transferts de matière (taille multipliée par 10^7 - 10^9 environ). Alors nous avons développé une méthodologie simplifiée permettant des comparaisons entre hiérarchies entre des espaces submillimétriques et centimétriques. C'est ce travail qui est présenté ci-après.

1. Rappels concernant le bio-printing et les organoïdes

1.1. Cadre général

Les humains endommagent des organes en raison de défauts congénitaux, de traumatismes et de maladies, etc. Contrairement à la salamandre, le corps humain a un faible potentiel de régénération et nombre de personnes bénéficieraient des bienfaits du bio-printing si les tissus et les organes pouvaient être remplacés à la demande (Dzobo et al, 2018). Cette demande augmente en raison de l'incidence accrue des défaillances d'organes vitaux, du succès et de l'amélioration des résultats post-transplantation. Cependant, l'indisponibilité d'organes adéquats pour la transplantation entraîne des crises majeures de pénurie d'organes. Pour la France, 24 000 personnes environ seraient sur une liste d'attente pour une transplantation (un chiffre qui ne prend pas en compte les patients retirés des listes d'attente, car devenus « inopérables »), 700 malades meurent chaque année faute de greffe (Ferney, 2020). Aux USA, selon HRSA (2020), il y aurait 110.000 demandes (dont 40.000 seulement sont satisfaites) par an... La demande d'organes représente donc un marché considérable avec, en corollaire une augmentation substantielle du coût des soins médicaux alternatifs tels que la dialyse (80-90% environ des demandes concernent les reins, environ 10% le foie). La mise en œuvre de voies pour obtenir des organes de donneurs - vivants et morts - tenant compte de critères éthiques, religieux et sociaux ne permet pas d'éliminer la pénurie et de sauver des vies grâce aux dons d'organes (Derakhshanfar et al, 2018).

Dans la pratique, la fabrication d'un tissu biologique, une solution pour traiter ce problème social, par bio-printing s'effectue de la manière suivante : Une première étape consiste à conceptualiser par ordinateur l'architecture finale du tissu biologique ; il s'agit ensuite de programmer les paramètres d'impression des « bio-encre » contenant des cellules. Pour autant, cette étape n'est pas la phase terminale pour les raisons suivantes :

– Pour différentes raisons, il convient généralement de prévoir un support (scaffold) sur lequel les cellules vont adhérer et se développer. De même, les processus de transfert de nutriments, d'élimination des déchets doivent être anticipés pour permettre un développement effectif (sauf aux faibles tailles – celle d'un organoïde - parce que la diffusion de matière suffit pour apporter les nutriments et éliminer les déchets) ;

– Les « tissus biologiques » sont ensuite imprimés couche-par-couche à l'aide d'automates qui reproduisent les motifs conçus par ordinateur en déposant par exemple des microgouttelettes d'encres biologiques ou placés, en fin de réalisation d'une structure support en fin d'impression ;

– La dernière étape, la plus importante relativement à la fonctionnalité biologique recherchée, repose sur la maturation du tissu imprimé en bioréacteur. Ce stade permet aux cellules de s'autoorganiser jusqu'à faire émerger des fonctions biologiques spécifiques. Le contrôle et la maîtrise de la prolifération et de la différenciation cellulaires constituent un verrou essentiel dans la mesure où les processus d'auto-organisation spontanés doivent être guidés (!).

1.2. Vers la production par bio-printing

Pour la transplantation d'organes, Steiner (2010) portait l'attention sur la place de la marchandisation du corps dans le commerce entre humains. Il faisait apparaître le processus complexe de création d'une nouvelle ressource commerciale : l'organe transplantable. Il écrivait : « Faire appel au dispositif marchand serait la forme euphémisée d'un cynisme social à dimension planétaire ». Mais, avec l'intérêt du bio-printing, en utilisant ses propres cellules, ses propres tissus, pour « se » réparer, ce type de détournement n'apparaîtrait plus (BBC News, 2022 : Goureau, Reichman et Orioux, 2020 ; Karagiannis et al, 2019). Il en serait de même non pas pour se réparer, mais pour augmenter ses propres performances... De là à envisager un jour de « tuer la mort » !

Dans les faits, le bio-printing repose sur la promotion libérale d'une nouvelle conception de la santé et du bien-être, centrées sur des promesses d'innovations commercialisables capables d'agir en profondeur sur des processus biologiques fondamentaux (allant de la réparation, de la maintenance jusqu'à l'augmentation humaine (Grewal et al, 2020)). Les améliorations généralement évoquées peuvent comprendre des modifications du cerveau (mémoire et/ou raisonnement), des voies d'accroissement de la résilience à l'environnement ou la création de nouvelles capacités ou de fonctionnalités. Il peut également s'agir de vivre beaucoup plus longtemps ou de modifier notre apparence pour nous rendre plus attrayants ou plus distincts sur le plan esthétique (Savulescu, Meulen et Kahane, 2011 ; Miha, 2020). Dans ces conditions, même s'il y a brouillage entre spéculations et possibilités scientifiques (Noury, 2015), l'évolution spectaculaire du domaine se produit, avec quelques réalisations spectaculaires (cf. par exemple, Song et al, 2023).

Pour créer une vie d'origine partiellement artificielle simulant ce que sait faire la Nature et même aller au-delà, il faudrait en principe disposer de connaissances approfondies sur le vivant. Cependant, il est possible d'imaginer qu'à partir de concepts « rudimentaires » on s'élèvera progressivement d'essais de laboratoire à des réparations de tissus biologiques (Parrochia, 1994) de plus en plus sophistiquées. Mais le bio-printing ne peut pas être adapté à l'ensemble des systèmes vivants, mais à des situations personnalisées et très spécifiques (d'un tissu, par exemple) exploitant des systèmes artificiels... La médecine n'est déjà plus l'art destiné à cerner les causes d'un mal-être et à aider l'organisme à réagir aux agressions qui l'ont rendu malade. Elle devient la science de la mesure appliquée à son corps considéré comme un assemblage d'organes plus ou moins interdépendants qu'il faut entretenir, réparer, remplacer, transformer, améliorer... Le soin peut alors céder la priorité à la réparation. Avec l'individualisme, la spécificité des corps risque de devenir l'un des fondements de la médecine de précision de demain, en tant qu'elle permet des soins sur mesure ou personnalisés (et avec un meilleur rapport coût/efficacité en principe).

Aujourd'hui, les scientifiques parlent tranquillement d'un monde nouveau, fascinant et un peu inquiétant ; celui de l'ingénierie des cellules souches, des biomatériaux, du « micro-patterning » (micro-modelage) et du bio-printing, des bioréacteurs et de modélisation du vivant. Ils affirment que nous sommes déjà en partie capables de reconstruire nos organes, foie (Samsara, 2016), reins, peau, cœur et pourquoi pas cerveau à partir de cellules souches et en impression 3D (cf. André, 2018). Ils nous expliquent comment les scientifiques, partout dans le monde, avancent à pas de géants sur ce terrain du bio-engineering, du bio-printing et de la reconstruction du vivant... Si c'est vrai sur le taux de croissance du nombre des publications, il faut se poser la question de savoir de quel vivant on parle ? S'appuie-t-on sur les seuls critères classiques suivants : autoreproduction, fonction, communication et évolution ? Et avec quels degrés ? Doit-on, ou non, se méfier des premiers résultats (preuves de concept) et des analogies séduisantes ? Où reste-t-on dans une approche scientifique partielle n'englobant que très médiocrement la complexité du monde vivant ?

Un défi majeur de l'ingénierie tissulaire est de s'assurer que les structures implantées « vivent » assez longtemps pour bien s'intégrer au corps du patient. Il est donc important de valider cet aspect de durée qui ne devrait pas être inférieure à l'espérance de vie du transplanté ! Il s'agit de favoriser la croissance cellulaire, la circulation des nutriments et de l'oxygène dans les structures jusqu'à ce que l'angiogenèse assure leur intégration complète dans les tissus environnants, ce qui représente une étape pour laquelle des recherches sont encore nécessaires. Mais, aujourd'hui des niches applicatives plus modestes en termes de développement scientifique existent, elles correspondent à la bio-impression de tissus de petites tailles permettant des études de médecine personnalisée, de cosmétique et de toxicologie. Elles correspondent à des étapes un peu moins complexes que celles qui sont résumées ci-après.

1.3. bio-impression

Le principe vise déjà à fabriquer des tissus comme l'indique schématiquement la figure 2 (Atala et Soker, 2014). Sur cette figure, deux types de matériaux sont classiquement utilisés, un support inerte et des cellules vivantes qui ont pour fonction, tout en se fixant sur l'« échafaudage » (scaffold), de se développer pour construire le tissu. De par sa géométrie 3D, ses propriétés bio-physico-chimiques, le microenvironnement de culture ainsi constitué doit d'une part, permettre la prolifération cellulaire, mais aussi orienter la différenciation de ces cellules pour atteindre la/les fonctionnalité(s) souhaitée(s), d'autre part.

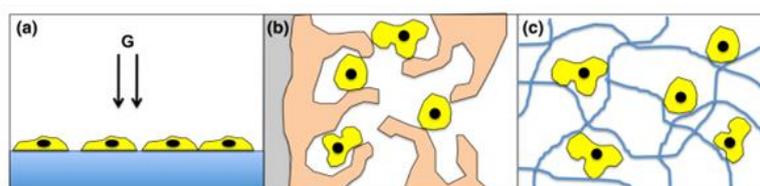


Figure 2. Nécessité de supports pour le développement cellulaire (a : Dépôt 2D ; b : Situation « réelle » avec des transports 3D ; c : Situation souhaitée en bio-printing)

L'avantage est qu'on peut revenir aux technologies classiques d'impression 3D, car le bio-construit peut être directement réalisé à partir de fichiers numériques précis (Il ne s'agit pas du tissu définitif). Relativement aux fabrications additives classiques, l'impression d'éléments biologiques ajoute plusieurs niveaux de complexité aux procédés parce qu'il est nécessaire de disposer de la « bonne » qualité et d'une quantité suffisante de cellules humaines identifiées, de structurer « intelligemment » des matériaux vivants ou non, mimant la matrice extracellulaire et de contrôler les distributions spatiales et temporelles de différents types de cellules ou de biomolécules qui peuvent jouer un rôle sur la différenciation, la croissance ou la mort cellulaire, etc. (par exemple, Munjai et al (2015) montrent l'influence de l'environnement cellulaire sur le comportement de cette entité en termes de croissance, de différenciation, etc.). Il s'agit donc de mettre à disposition des

biologistes des procédés permettant de déposer des suspensions cellulaires, des solutions aqueuses ou des hydrogels mimant la matrice extracellulaire, en limitant les différents stress que peuvent subir les cellules par les procédés de fabrication additive. Sur ces bases, la vision initiale de l'ingénieur a été de faire le plus simplement possible, avec les outils à sa disposition.

Cependant, il est nécessaire de prendre en considération le but ultime du bio-printing : les cellules positionnées dans l'espace doivent s'autoorganiser, se développer en nombre, migrer et se différencier de manière autonome, voire de manière stimulée (par ajouts de stimulants biochimiques par exemple), pour former les tissus fonctionnels souhaités et favoriser la création d'un microenvironnement physiologique capable de maintenir – pour longtemps - la fonctionnalité du tissu cellulaire. Celui-ci comprend non seulement l'hétérogénéité cellulaire, mais aussi l'établissement de l'environnement physique, ainsi que des voies de communications et d'échanges (système vasculaire, nerveux...) nécessaires à la survie à long terme du tissu. « L'intelligence » du procédé doit aider les processus d'auto-organisation cellulaire qui se produisent naturellement au cours de l'embryogénèse, du développement ou encore lors du remodelage tissulaire. C'est à ce prix qu'un bio-printing d'utilité publique pourra émerger. Rappelons que le corps humain a un faible potentiel de régénération, contrairement aux amphibiens urodèles (Dzobo et al, 2018) ; soit on a parfaitement anticipé le dépôt cellulaire pour disposer d'un tissu « acceptable », soit on sait guider par différentes voies le milieu vivant pour qu'il satisfasse l'objectif. Sur les figures 3 et 4, le développement cellulaire s'opérationnalise autour d'un flux de matière et d'énergie.

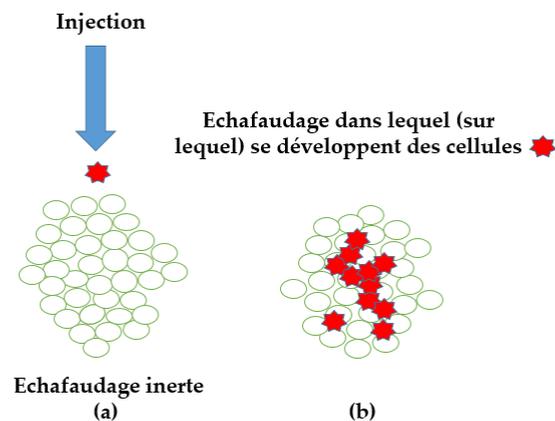


Figure 3. Association support – dépôt de cellules dans le bio-printing

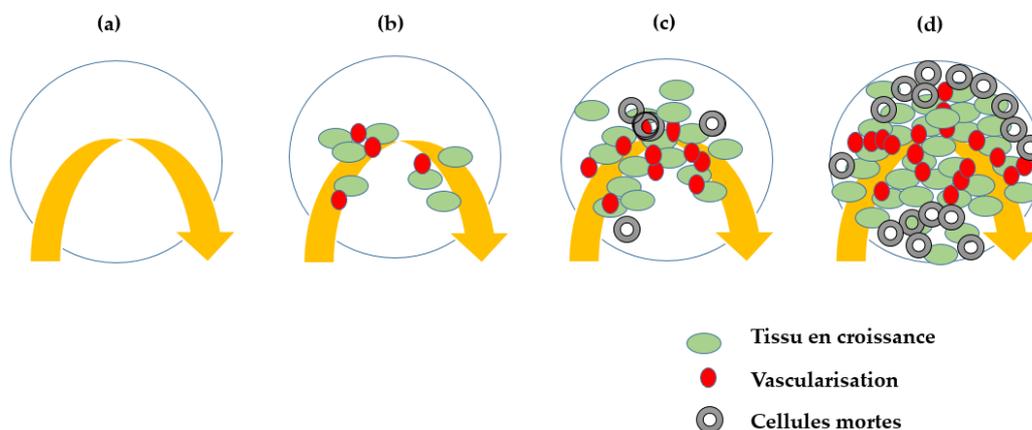


Figure 4. Principe du bio-printing avec des changements dans le temps des matériaux vivants imprimés (cf. Melchels et al, 2012)

Selon Chneiweiss (2012), plusieurs conditions doivent être satisfaites pour envisager un bio-construit viable :

- Les cellules doivent être suffisamment différenciées pour remplir spécifiquement la fonction demandée ;
- Elles doivent être capables de survivre pour occuper l'espace fourni par l'impression 3D et de rester en vie pour remplir la fonction de l'organe ;
- Elles doivent rester dans l'état voulu (Le mécanisme qui a servi à les orienter est-il stable ? Y-a-t-il de possibles bifurcations ? Des risques d'échappement ?) ;
- Elles doivent continuer à établir les contacts fonctionnels nécessaires avec leur environnement (rétablissement de la fonction du réseau cellulaire).

Pour atteindre l'objectif de bio-impression, les cellules peuvent tout d'abord être préparées selon le procédé faisant l'objet de la figure 5 (cf. Atera Lab, 2016). Il s'agit déjà d'une étape complexe de préparation/purification qui doit laisser les cellules en état de pouvoir se développer dans la suite du processus de bio-printing.

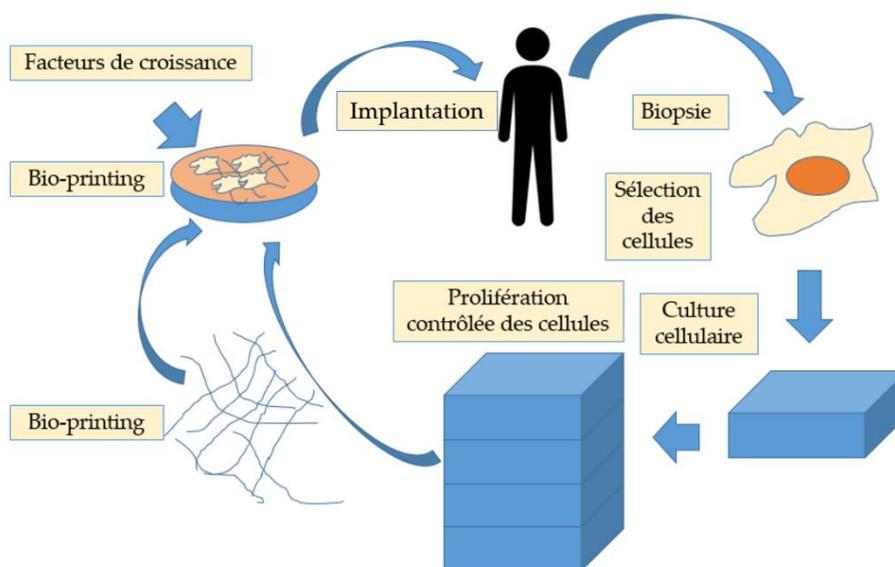


Figure 5. Principe général d'utilisation (« cercle vertueux ») du bio-printing

Concrètement, la fabrication d'un tissu biologique par bio-printing s'effectue de la manière suivante : Une première étape consiste à conceptualiser par ordinateur l'architecture finale du tissu biologique après post-traitement puis celle de l'amas cellulaire à bio-fabriquer ; il s'agit ensuite de programmer les paramètres d'impression des différentes « bio-encre » contenant des cellules (Skardal et Atala, 2015). Les « tissus biologiques » sont ensuite imprimés couche-par-couche à l'aide d'automates qui reproduisent les motifs conçus par ordinateur en déposant par exemple des microgouttelettes d'encre biologique (cf. par exemple, Schneider et al, 2011 ; Stringer et Derby, 2009). La dernière étape repose sur la maturation du tissu imprimé en bioréacteur. Il s'agit d'un dispositif dans lequel les conditions physiologiques sont contrôlées (pH, pO₂, température, transferts nutritionnels...) et permettant, le cas échéant, une croissance des cellules (Guillemot, 2014 ; Guillemot et al, 2010 ; 2010 a ; Ozbolat et Yu, 2013). Ce stade permet aux cellules de s'autoorganiser jusqu'à faire émerger des fonctions biologiques spécifiques. Trois techniques principales, classiquement publiées, existent, elles comprennent l'impression par jet d'encre, par micro-extrusion et par impression assistée par laser ; elles sont résumées sur la figure 6 (Murphy et Atala, 2014 ; Knowlton et al, 2015 ; Ng et al, 2017 et de Ng, Chua et Shen, 2019).

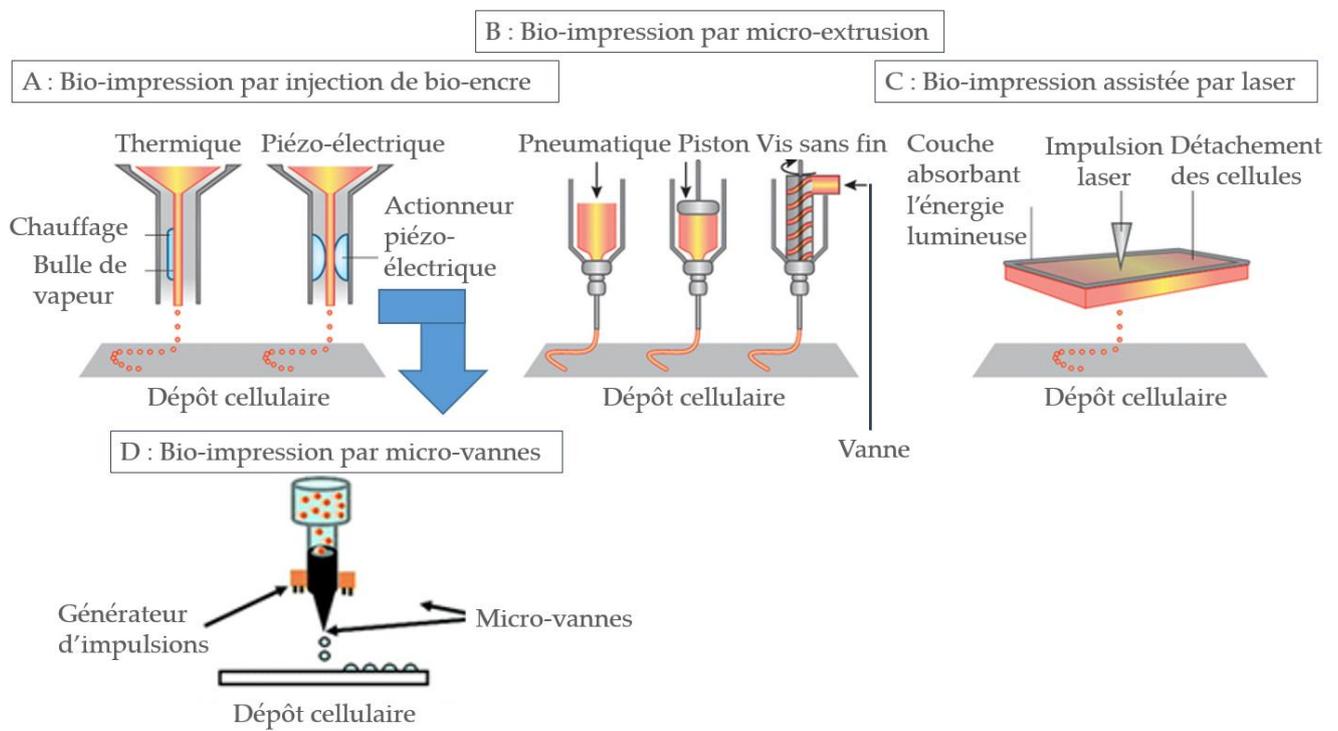


Figure 6. Procédés classiques de bio-impression (le procédé D est un procédé par injection de bio-encre utilisant des micro-vannes ; c'est juste un raffinement du procédé piézo-électrique A)

Selon Poietis (2015), la bio-impression par Laser (Laser-Assisted Bio-printing) est la technologie qui offre la résolution la plus élevée, à l'échelle de la cellule individuelle. Elle permet d'imprimer, cellule par cellule par focalisation d'une impulsion laser sur une cartouche (composée d'un film d'encre étalé sur une plaque de verre) en entraînant la formation d'un jet d'encre vers un substrat sur lequel sont collectées des microgouttelettes de cellules (Nguyen, 2015).

Influence du microenvironnement

L'environnement dans lequel les cellules évoluent est un des aspects clé pour la compréhension du devenir d'un bio-tissu/bio-substitut, depuis sa croissance, son renouvellement, et son déclin. Afin de révéler le potentiel biologique des cellules souches en ingénierie tissulaire, et d'orienter leur croissance et/ou leur différenciation dans une matrice biocompatible, il est nécessaire de mimer le plus fidèlement possible le contexte biologique (réponse cellulaire, différenciation, biosynthèse et développement cellulaire, migration et apoptose) (Novakovic et al, 2014). En effet, les cellules sont en interaction avec leur environnement et, en réaction aux effets combinés de ces différents facteurs, vont pouvoir évoluer de manières différentes, vers la différenciation, la prolifération et la mort cellulaire. Dans cette chaîne d'interactions multi-échelle et multiphasique, l'expression génique est le point central dans l'orientation phénotypique des cellules. Toutefois, cette dimension biologique (génome, transcriptome, protéome) est peu ou pas intégrée dans les approches de modélisation globale (Deasy et al, 2003), principalement du fait de lacunes dans la connaissance et la compréhension des systèmes vivants.

Remarque sur les relations support-cellules : Selon Jessus et al (2017), « la morphogénèse [...] est un processus d'auto-organisation de cellules qui grandissent, se divisent, se déplacent, ou meurent en fonction des événements auxquelles elles ont été soumises dans le passé, de leur « histoire familiale » et des communications qu'elles établissent avec leurs voisines »... Bref, on est bien loin de la fabrication additive traditionnelle... Pour enfoncer le clou, elle écrit également : « Certaines cellules animales cultivées sur des gels adoptent des destins différents selon la rigidité mécanique du gel : elles deviennent des cellules de cerveau sur un gel mou, d'os sur un gel dur ou de muscle sur un gel de rigidité intermédiaire. [...] En réponse aux forces qui leur sont appliquées,

les cellules réorganisent leur squelette interne pour mieux résister à ces forces, pour changer de forme ou pour orienter leur prochaine division »... (Voir également Landau et al, 2018). S'il en est ainsi, la nature et la forme du support des cellules peut donc avoir une grande importance sur la structure du bio-construit puisque le support peut disposer d'un rôle dans la différenciation, au moins pendant qu'il existe (rappelons que sa mission est provisoire, puisqu'il doit avantageusement être résorbable).

Par ailleurs, selon Chen et al (2019), les cellules sont sensibles à la géométrie de leur environnement et en particulier de la courbure du milieu sur lequel elles évoluent (du nanomètre à plusieurs dizaines de μm). Selon ces auteurs, la migration des cellules repose sur leur cytosquelette qui leur donne leurs propriétés mécaniques. Les résultats de cette équipe, éloignée du bio-printing, mettent en lumière la manière dont les cellules perçoivent la forme de leur environnement et permettent de mieux comprendre les modalités de la migration cellulaire, impliquée dans de nombreux phénomènes biologiques fondamentaux, tels que la formation des organes, la cicatrisation ou la propagation de tumeurs cancéreuses.

2. Vers la médecine personnalisée - Organoïdes

Rheinwald et Green, en 1975, ont décrit la première culture à long terme de cellules humaines normales. Depuis, les technologies de culture en 3D permettent aux cellules souches embryonnaires et adultes de montrer leurs remarquables propriétés d'auto-organisation. Les tissus quasi-physiologiques et auto-renouvelables appelés organoïdes (Fatehullah, Tan et Barker, 2016) qui en résultent reflètent (sans être identiques) les principales propriétés structurelles et fonctionnelles d'organes tels que les reins, les poumons, l'intestin, le cerveau et la rétine, etc. (CNRS, 2022).

2.1. Organoïdes

Si l'utilisation d'organismes modèles est précieuse pour étudier la physiologie et la physiopathologie dans un contexte *in vivo* et pour aider au développement préclinique de thérapies, les modèles animaux sont coûteux, difficiles à interroger et modestement adaptés à la biologie humaine (passage délicat des résultats de l'animal à l'Homme). Historiquement, les mécanismes étaient issus de modèles animaux dans lesquels les processus biologiques étaient d'abord étudiés chez les invertébrés, puis dans des systèmes modèles de mammifères, aboutissant finalement à une traduction clinique chez l'Homme. Mais, indépendamment de questions éthiques, l'extrapolation des résultats des systèmes modèles à l'humain constitue encore un goulet d'étranglement dans le processus de découverte de médicaments (Kim, Koo et Knoblich, 2020 ; Banerjee et al, 2022). Pour ces raisons, les cultures cellulaires tridimensionnelles (3D) peuvent être des modèles attractifs qui contiennent des aspects clés de la complexité des tissus et des organes *in vivo*, tout en devant être plus faciles à tracer expérimentalement que les organismes modèles naturels. En particulier, les modèles d'organes dits sur puce et d'organoïdes représentent des approches qui peuvent être capables de récapituler les caractéristiques de la physiologie et de la maladie (Jackson et Lu, 2016).

Les organoïdes - contrairement aux lignées cellulaires - représentent en principe tous les composants cellulaires d'un organe donné, ils sont théoriquement bien adaptés à l'étude des maladies infectieuses, les maladies héréditaires mono-géniques spécifiques à un organe, etc. Par ailleurs, avec des organoïdes humains représentatifs des principales cibles de la toxicité liée aux médicaments (intestin, foie, rein) ou d'autres xénobiotiques, il y a possibilité de compléter la toxicologie animale par des essais réalisés directement sur des tissus humains vulnérables (cf. Takasato et al, 2015 ; Sun, 2017). Des organoïdes provenant de cancers primaires du côlon, de la prostate et du pancréas (Boj et al, 2015, Gao et al, 2014, Sato et al, 2011, van de Wetering et al, 2015 ; Salahudeen et Kuo, 2015 ; Fong et al, 2016 ; Ozturk et al, 2020) permettent de procéder à des tests fonctionnels (par exemple, pour la sélectivité et/ou la sensibilité aux traitements) et de corrélérer ces données avec la composition

génétique des tumeurs individuelles (Clevers, 2016). Sur ce type d'usage, même la Covid19 a fait l'objet de l'intérêt des chercheurs (Shpichka et al, 2020)...

L'un des principaux objectifs de l'ingénierie des systèmes d'organoïdes est d'améliorer l'utilité des dépôts cellulaires dans les applications en aval. Ainsi, des efforts sont nécessaires pour créer de meilleurs substituts pour les tissus et les organes *in vivo* et améliorer la modularité des systèmes organoïdes afin de prendre en compte les formats à haut débit ou même la compatibilité organoïde multi-tissus dans des systèmes multiplexés plus importants (par exemple, humains sur une puce). Toutefois, dans la pratique, des compromis doivent être faits pour optimiser la conception du système pour l'application prévue tout en agissant dans le cadre des contraintes technologiques (Yin et al, 2016).

L'augmentation de la taille d'éléments constitués de cellules (cellule individuelle, culture cellulaire monocouche, sphéroïde, organoïde, tissu, modèles multiplexés « sur puce ») s'accompagne d'une complexité et de défis croissants en termes de culture cellulaire et d'une disponibilité réduite des outils biochimiques et quantitatifs, ce qui peut limiter les résultats des études. Les modèles organoïdes offrent une opportunité unique d'intégrer une complexité « modérée » du système, tout en offrant de nombreux outils pour sonder la structure et la fonction. Par rapport aux explants de tissus, les organoïdes peuvent imiter des interactions similaires entre cellules et matrices cellulaires tout en conservant la capacité de réaliser des cultures à long terme, grâce à des signaux de signalisation maintenus importants pour la survie (Yin et al, 2016). Ces structures cellulaires mimant l'architecture et le fonctionnement de l'organe entier peuvent être obtenues à partir de cellules souches grâce à un processus d'auto-organisation, favorisé par un milieu de culture contenant les facteurs de croissance et de différenciation adéquats (INRAE, 2022). Depuis 2010 environ, les méthodologies développées permettent d'obtenir des organoïdes de plusieurs organes : intestin, rétine, glande mammaire, foie, rein, poumon et même cerveau (Delom et al, 2022).

Les organoïdes de type tumoral peuvent reproduire des complexités partielles observées dans les tissus cancéreux humains (McKee et Chaudhry, 2017 ; Delom et al, 2022 ; Fessart, Begueret et Delom, 2019 ; Lancaster et Huch, 2019). Les cellules souches peuvent former des structures de cellules organisées pouvant servir de substituts à la fois pour les tissus et les organes (Lancaster et Knoblich, 2014). Les organoïdes récapitulent un grand nombre de paramètres biologiques, notamment l'organisation spatiale des cellules hétérogènes spécifiques aux tissus, les interactions cellule-cellule, les interactions cellule-matrice et certaines fonctions physiologiques générées par les cellules spécifiques aux tissus dans l'organoïde (Takebe et Wells, 2019). Ils comblent ainsi une lacune dans les systèmes modèles existants en fournissant un système stable se prêtant à une culture et une manipulation prolongées, tout en étant plus représentatif de la physiologie *in vivo*. Ainsi, il est déjà possible, malgré des limites de ces systèmes organisés, de s'engager en médecine personnalisée avec la découverte de médicaments ou d'autres modes de traitement (Kelava et Lancaster, 2016).

REMARQUE. Supports éventuels.

Pour réaliser des structures de tailles supérieures à quelques dizaines de μm , il est quand-même nécessaire de disposer d'échafaudages constitués de matériaux biocompatibles qui doivent être adaptés au transport métabolique et nutritif d'une part, à l'adhérence des cellules déposées entre elles, d'autre part. Par exemple, Xue et al (2018) ont montré que des cellules cancéreuses du poumon adhéraient convenablement sur des supports réalisés en poly-(éthylène glycol)-di-acrylate. Mais, dans des cas particuliers, Jeon et al (2019) ont développé un procédé de bio-impression 3D ne nécessitant pas d'échafaudage.

2.2. Limitations

La principale préoccupation est liée à une utilisation fiable des tissus, des organes dans les réparations ou des organoïdes dans les modèles d'étude des pathologies basées sur des conditions

inflammatoires ; en effet, les tissus, sauf dans des cas particuliers, nécessitent une vascularisation appropriée pour être établie et pour rappeler les comportements des cellules immunitaires *in situ*. Par ailleurs, s'il est possible, avec ou sans échafaudage, de maintenir en vie des cellules dans des organoïdes par des voies artificielles pendant quelques jours, il n'en est pas tout à fait de même pour tous les tissus biologiques. Or, les méthodologies techniques du bio-printing ne permettent pas encore de tenir compte de toute la structure fine des différents dépôts (échafaudages et cellules), en particulier de l'orientation de fibres musculaires ou de cartilage. Il faut soit faire la démonstration d'une auto-organisation adaptée, soit chercher de nouvelles méthodes de fabrication plus sophistiquées...

Pour s'engager sur une note un peu plus optimiste, les cultures d'organoïdes humains présentent un certain nombre d'avantages potentiels par rapport aux modèles animaux : ils fournissent des résultats plus rapides et plus robustes, sont plus facilement accessibles et correspondent à une représentation plus précise du tissu humain du patient et une plus grande quantité de matériel avec lequel travailler que les modèles animaux (Lancaster et Huch, 2019). Un dispositif de production d'organoïdes humains peut être établi en peu de temps à partir de machines de bio-printing du commerce, ce qui favorise leur utilisation pour fournir des données personnalisées solides, notamment des profils de mutation individuels et des réponses aux médicaments.

Dans les organoïdes, les cellules se réorganisent en structures complexes spécifiques aux tissus, compte tenu de facteurs inductifs minimaux. Mais, une limite à l'obtention d'une fonctionnalité véritablement *in vivo* est liée au manque d'organisation structurée et de taille raisonnable des tissus *in vivo*, les tissus en développement sont interpénétrés et interagissent avec un réseau complexe de vaisseaux sanguins qui permet non seulement l'échange d'oxygène, de nutriments et l'évacuation de déchets, mais aussi un échange biochimique inductif et un modèle structural pour la croissance (Grebenyuk et Ranga, 2019). Inversement, *in vitro*, cet aspect du développement des organoïdes est resté largement absent, ce qui laisse penser que ce sont peut-être les indices critiques nécessaires à une organisation tissulaire à grande échelle et plus reproductible. Ainsi, une limite importante de l'utilisation des organoïdes est qu'à partir d'une certaine taille, ils cessent de proliférer et développent un noyau nécrotique. Grebenyuk et Ranga (2019) pensent que le processus d'arrêt de la croissance est lié au passage d'une taille limite au-delà de laquelle la diffusion seule ne peut plus permettre l'échange d'oxygène, de nutriments et de métabolites (d'où la nécessité de disposer d'échafaudages). Pour pallier ce problème, des techniques de μ -fluidique peuvent être envisagées spécifiquement pour les organoïdes (Kinstlinger et Miller, 2016).

Une autre limitation de l'utilisation des organoïdes est la présence modeste de composés de la matrice extracellulaire bien différenciés : les modèles d'organoïdes nécessitent une croissance forte et prudente guidée par ces composés pour que le tissu environnant soit similaire à l'organe primaire dont ils sont issus. Un manque de complexité de ces cellules peut entraîner pour Tatullo et al (2020) une mauvaise réponse immunitaire, ce qui constitue une limitation concrète pour les études impliquant des organoïdes afin d'évaluer l'infiltration des tumeurs et la pénétration des médicaments (Liu et al, 2016).

Lors du développement, les cellules se différencient et les tissus s'autoorganisent spatialement pour former un ensemble vivant. Ces phénomènes sont contrôlés par des signaux chimiques ou « morphogènes », secrétés dans le milieu extracellulaire et capables d'influencer la différenciation d'une cellule (Adrien, 2020). Furfaro (2018) rappelle que différentes concentrations de morphogène peuvent induire différentes identités cellulaires et que la concentration de morphogène dans un tissu n'est pas homogène spatialement. Pour comprendre comment un tissu en cours de développement s'organise, il est donc nécessaire de savoir comment les cellules en cours de différenciation décodent l'information portée par les morphogènes.

Il convient de se rappeler que les organoïdes ne sont que des copies imparfaites : les réponses aux médicaments constatées *in vitro* ne sont pas constantes *in vivo* (Ardaillou, Debré et Delpech, 2021). Par ailleurs, leur utilisation soulève des problèmes éthiques dont le consentement du donneur de cellules et la protection des données génétiques individuelles... Mais pour l'INSERM (2019) : « Si, au départ, ils ont été conçus pour étudier et comprendre les processus d'organisation et d'arrangement des tissus, ils sont depuis devenus d'excellents outils pour la recherche. C'est également un outil qui devient incontournable pour comprendre la toxicité et l'action d'une molécule pharmacologique, une nécessité pour la mise sur le marché de tout nouveau médicament ».

En effet, la réponse à la découverte de nouveaux traitements repose sur la capacité à développer des systèmes modèles permettant d'atteindre une prédictibilité accrue du devenir des nouvelles molécules qui s'avère toujours périlleux. « En effet, il est difficile de prédire son efficacité et sa sécurité d'emploi chez l'Homme à partir des modèles animaux dits classiques (petits rongeurs, gros mammifères, primates, etc.). Ainsi, actuellement, mis à part les traitements immunologiques (comme les anticorps monoclonaux), le taux d'échec de ces molécules en oncologie est très proche de 90 % en développement clinique (Hay et al, 2014) et une étude rétrospective portant sur les 10 % de molécules ayant atteint le marché montre que la quasi-totalité d'entre elles est inefficace (Davis et al, 2017) tant sur la survie des patients que sur leur qualité de vie » (Galzi, Jouault et Amédée, 2019).

3. Bases de modélisation

Cet exercice de modélisation n'a pratiquement pas fait l'objet de l'attention soutenue des scientifiques du domaine avec un faible nombre de publications (cf. par exemple : Kupiec et Sonigo, 2003 ; Kupiec, 2008 ; 2009 ; 2013 ; Ballet et al, 2011 ; Chen et al, 2019 a ; Peters et al, 2018 ; Furfaro, 2018 ; Wolpert, Tickle et Arias, 2017 ; Boudon et al, 2015 ; Danzo et André, 2020). Lors du développement d'un organisme, les cellules se différencient et les tissus s'autoorganisent spatialement pour former une structure vivante complète. Ces phénomènes sont contrôlés par des signaux chimiques ou « morphogènes » capables d'influencer la différenciation d'une cellule. Pour comprendre comment un tissu s'organise, il serait nécessaire de savoir comment les cellules en cours de différenciation décodent l'information. Or, les morphogènes contrôlent l'émergence de modèles spatiaux pendant le développement. Selon Fried et Iber (2015), un gradient morphogénique émerge à travers le champ des cellules. Celles-ci détectent la concentration locale de morphogène et à partir d'un seuil de concentration donné peuvent avoir différents destins. Dans ce qui suit, on « invente » (faute de connaissances suffisantes et des limites des mémoires informatiques) des lois morphogénétiques simples qui doivent jouer à la fois sur la duplication cellulaire et la différenciation. De même, la prolifération des cellules est contrôlée par des signaux d'activation ou d'inhibition qui elles aussi doivent être « inventées » (par absence de données).

3.1. Cadre général

A ce titre, la modélisation mathématique et la simulation numérique d'un tissu en croissance *in vitro* devraient prendre en compte de nombreux paramètres tels que la multi-échelle, l'influence de l'environnement *in vivo/in vitro*, ainsi que la composante biologique relevant principalement des propriétés intrinsèques des cellules. Mais, à l'évidence, ce n'est pas possible, en dehors de critères identifiés considérés comme importants (réduction des échelles : Causin et Sacco, 2011, paramètres physico-chimiques, taille des voxels, hétérogénéité cellulaire, échafaudages, etc.).

D'un point de vue mathématique, des études considèrent seulement l'échelle macroscopique pour décrire l'évolution d'un bio-tissu (croissance, décroissance, différenciation...) (Obradovic et al, 1999 et 2000 ; Devarapalli et al, 2009). Cependant, la prise en compte de l'environnement complexe d'un tissu nécessite de passer par une approche intégrée où toutes les composantes d'échelle sont traitées selon leurs propres lois et pour lesquelles les interactions entre échelles doivent être

intégrées (avec, à chaque fois les « bons » paramètres d'organisation). Ainsi, il est nécessaire de réconcilier les modèles aux différentes échelles (et entre les différentes phases) afin de mieux décrire le développement global d'un système biologique. Danzo et André (2020) ont utilisé un modèle de type « automate cellulaire » connexionniste à deux dimensions, caractérisé par trois constituants de base : un réseau, une règle d'activation et une règle d'apprentissage (cf. Collectif SMI, 1995 ; Wang et Sun, 2013). Le réseau est composé par un ensemble de cellules placées initialement en un point donné de l'espace (cf. à deux dimensions, l'exemple de la figure 7 dont le principe est issu de Neagu et al, 2006). « La règle d'activation d'un modèle connexionniste est une procédure locale que chaque cellule suit en mettant à jour son niveau d'activation en fonction du contexte d'activation des cellules voisines. Un modèle génétique repose sur l'évolution d'une population dans un environnement selon des critères de survie préfixés, fonction de l'arrivée de nutriments, de l'oxygène, de la présence de cellules mortes, de la possibilité de leur élimination, etc. Le principe général de l'algorithme génétique à développer repose sur un processus continu qui remplace les cellules les moins adaptées (en cours d'apoptose) par d'autres cellules issues d'autres choisies aléatoirement parmi les plus adaptés » (Neagu, 2006).

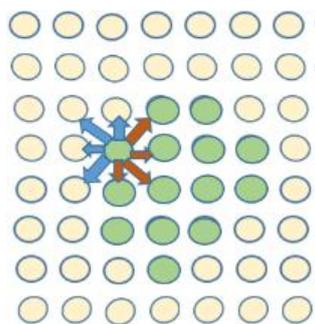


Figure 7. Principe du modèle : chaque cellule interagit avec son environnement pour mourir, proliférer, se déplacer, etc.

Sur cette base, il peut y avoir prolifération cellulaire, migration tant que les critères d'apport de nutriments et d'oxygène sont respectés (McCune et al, 2014 ; Sun et Zaman, 2017). Après de nombreuses générations/itérations, le système doit tendre vers un équilibre dynamique, les cellules présentes (s'il en existe) sont celles qui répondent à la programmation « biologique » recherchée. Tant que les cellules gardent leur nature (pas de différenciation dans cette étape), il doit être possible de démontrer qu'on atteint effectivement un état stationnaire ; de plus, il peut être envisagé de prendre en considération l'attractivité éventuelle (ou son contraire) des cellules pour l'échafaudage, favorisant ainsi une migration cellulaire au voisinage du support. Pour autant que les mécanismes d'interaction soient connus, c'est envisageable, mais c'est juste un peu plus compliqué...

La question posée concerne le comment, dans une étape importante, modéliser l'angiogenèse ? Même si des raffinements existent (Okuda et al, 2016 ; Sun et Zaman, 2017), un approfondissement dans ce type de simulation – fortement réducteur - relié à l'expertise de collègues biologistes pourrait être susceptible d'expliquer un potentiel de différenciation cellulaire... conduisant à l'apparition de micro-vaisseaux ; quand le mécanisme sera compris (et surtout validé expérimentalement), il faudra rechercher les conditions pour que l'on maîtrise correctement cette évolution indispensable du tissu bio-imprimé (par exemple par stimulation biochimique). On considère alors des cellules en interaction, avec au départ des cellules « A » qui peuvent se développer et se différencier en cellules « B » ; les interactions peuvent induire la mort cellulaire. A partir de paramètres d'interaction, on peut obtenir une image où les « A » et les « B » se retrouvent de manière homogène ou, au contraire, se répartissent pour créer des espaces libres comme le montre la figure 8. L'apparition d'espaces libres pourrait être à l'origine de possibles vaisseaux.

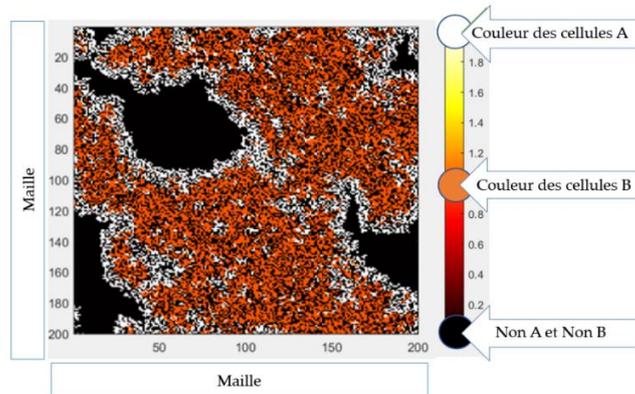


Figure 8. Mise en évidence d'un potentiel de création d'une possible vascularisation

Ce que montrent ces simulations, c'est qu'avec un nombre modeste de paramètres, croissances et différenciations cellulaires peuvent participer (virtuellement) à ce qui pourrait ressembler à un tissu biologique. Mais, il n'est pas possible de maîtriser un déterminisme qui pourrait exister (?) dans les processus d'auto-organisation cellulaire. Ce constat limite les procédés actuels tant qu'on ne sait pas guider les cellules dans leurs destinations définitives (qu'on ne connaît d'ailleurs pas précisément).

3.2. En pratique

La combinaison de plusieurs percées scientifiques rappelées par Galzi, Jouault et Amédée (2019) permet à de nouveaux objets biologiques 3D de reproduire une structure et des fonctionnalités approchées d'organes et de tissus dont ils sont issus. Si ces cultures 3D peuvent permettre aux cellules de se développer avec un environnement approprié (Wan, 2016 ; Liu et al, 2018 ; Saglam-Metiner, Gulce-Iz et Biray-Avci, 2019), alors ces amas cellulaires peuvent exercer des fonctions physiologiques représentatifs de systèmes d'étude de type « micro-organe fonctionnel » *in vitro*. L'intérêt de porter notre attention sur les organoïdes peut être relié au faible nombre de cellules concernées et donc par des simulations mathématiques peu consommatrices de temps (ce qui ne peut en être de même pour un organe entier). Dans ces conditions, on peut jouer sur les possibilités de principe de réaliser précisément des bio-construits par fabrication additive, c'est-à-dire de déposer des cellules en ligne, en surface ou en volume. Les interactions entre cellules sont simplifiées au maximum car les méthodes de tir de type « Monte-Carlo » sont consommatrices de temps calcul, car pour chaque cellule, il faut tirer des nombres au hasard et les comparer à un référentiel.

En étant obtenus à partir de cellules humaines, les organoïdes (Gagliardi, Ben M'Barek et Goureau, 2019 ; Mahe et al, 2017 ; Clement, Chene et Degos, 2009 ; Sebert et al, 2018 ; Picollet-D'hahan et al, 2017 ; Steichen et al, 2017 ; Rabesandratana, Goureau et Orioux, 2018), sont utilisés comme supports prédictifs d'une réponse à des processus infectieux (Watanabe et al, 2017), médicamenteux (Drost et Clevers, 2018 ; Dekkers et al, 2016), etc. « Mieux encore, on sait désormais différencier des cellules issues de patients et ainsi obtenir des organoïdes présentant un phénotype pathologique comparable à celui du patient. Alternativement, on sait aussi créer un organoïde modèle d'une pathologie humaine par édition de gènes (Bian et al, 2018) pour tester des approches thérapeutiques, avec une précision de l'ordre du nucléotide » (Galzi, Jouault et Amédée, 2019). Ceci ouvre bien une voie à la médecine personnalisée (Chakradhar, 2017).

Dans les simulations présentées ci-après, plusieurs essais sont réalisés sur des « organoïdes numériques », ce qui conduit à des résultats locaux que l'on utilisera pour tenter leur extrapolation à l'effet d'une molécule de type chimiothérapie (qui sera appelée X) sur un organe de même nature et de même comportement, mais de taille réaliste.

4. Simulations sur des organoïdes numériques

« L'approche globale multi-échelle du vivant est mise en œuvre par les industries de la santé pour lever les verrous qu'elles rencontrent actuellement dans la découverte et le développement de nouvelles thérapies, ainsi que pour la médecine régénérative dans sa démarche de reconstruction d'organes » (Galzi, Jouault et Amédée, 2019). De nombreuses hypothèses peuvent être faites sur un tel système réactif sensible à un composé X (xénobiotique) susceptible d'entraîner la mort cellulaire. Pour autant X peut avoir un rôle variable selon l'arrangement cellulaire. Or, avec les technologies du bio-printing (André, 2018), il est possible de déposer sur une surface une répartition adéquate de cellules ou plus simplement des agrégats de cellules (saines, malignes ou des deux catégories). Pour des travaux de recherche en médecine personnalisée, on peut avantageusement travailler sur des « organes sur puce » comme l'indique la figure 9 (Daly, 2023 ; Tinnemann, Arzt et Hensel, 2019). Les dimensions moyennes sont de l'ordre de 0.1 mm.

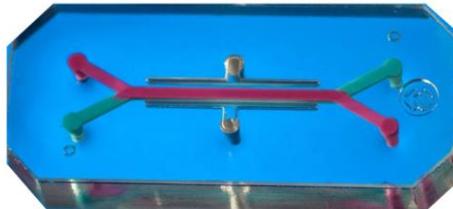


Figure 9. *Organe sur puce*

REMARQUE. Le logiciel de programmation utilisé pour le projet a été Matlab notamment pour ses capacités de traitement de matrices. L'organigramme des calculs est présenté à la fin du texte.

Selon l'Institut Gustave Roussy (2023), la chimiothérapie « désigne les traitements médicamenteux ayant pour but la destruction des cellules cancéreuses par des mécanismes non spécifiques ». Elle ne désigne pas un médicament, mais un principe de traitement systémique qui regroupe un large éventail de médicaments avec pour enjeu de perturber les processus indispensables à la multiplication des cellules tumorales. Il existe différents types d'effets indésirables, dont une atteinte normalement modeste des cellules saines. Pour s'engager dans des aspects de médecine personnalisée, il est avantageux de travailler sur des amas cellulaires tels que ceux présents dans les organes sur puce qui peuvent donner une indication sur une possible efficacité d'un traitement. Nous examinons ci-après des éléments à prendre en considération pour définir des hiérarchies de traitement permises (en partie par des études sur « organes sur puce »).

4.1. Effet de forme

Dans cet esprit, on examine si la forme que prendront les amas de cellules lors de l'impression entraînera une conséquence sur la rapidité de leur disparition lorsque le milieu environnant sera en contact avec X, une substance utilisable en chimiothérapie. En effet, 3D Natives (2022) rappelle qu'il est possible de donner des formes diverses aux amas cellulaires. X en contact avec chaque cellule est supposé la détruire et de prendre sa place. Ce changement peut se faire avec une probabilité choisie. On s'attend en principe à ce qu'existe une sorte de « rempart » à l'agression par X du matériel cellulaire quand celui-ci est ramassé. Plusieurs formes ont été retenues et présentées figure 10.

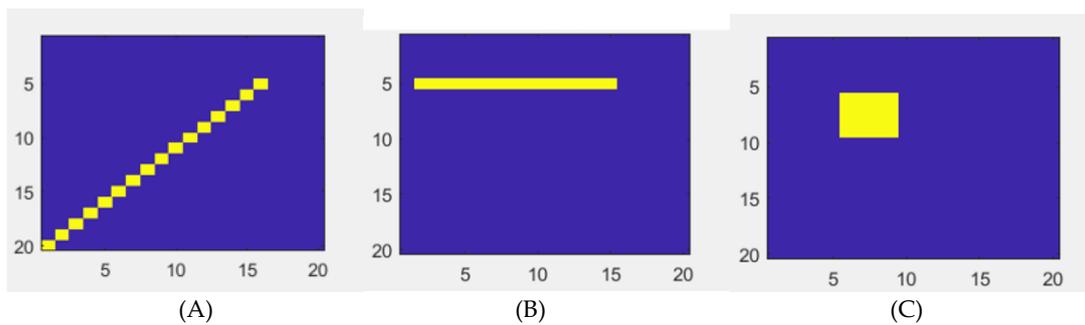


Figure 10. Positionnement en 2D des e-cellules : A : diagonale (attaque sur 4 cotés) ; B : linéaire (attaque sur 2 cotés, sauf aux extrémités) ; C : Carré (1 coté sauf à chaque coin)

Dans un second temps, avec une densité cellulaire choisie au hasard (ici 60 % de l'espace accessible) est donc remplie aléatoirement (60 % de cellules et 40 % X) afin d'observer le temps numérique qu'il faudra pour que toutes les cellules disparaissent (cf. figure 11).

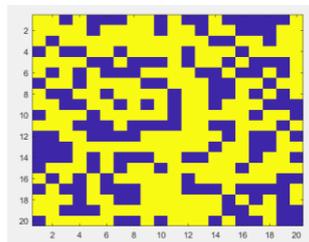


Figure 11. Exemple de disposition de 60 % de cellules (en jaune) placées aléatoirement dans une matrice 20x20

Afin d'observer des tendances nettes, on a pris un grand nombre de cellules et des temps très longs. En effet, afin de comparer les effets de formes sur ces configurations, on choisit dans un premier temps 900 cellules en diagonale, en ligne et en carré. Pour la configuration diagonale, on dispose donc 900 cellules dans une matrice 1000x1000, pour la configuration en ligne, on dispose 900 cellules dans une matrice 10x1000 et enfin, on place 900 cellules en carré dans une matrice 50x50. Il est donc facilement prévisible, comme le montrent les figures 12 et 13, que la forme des amas cellulaires a un impact sur leur survie.

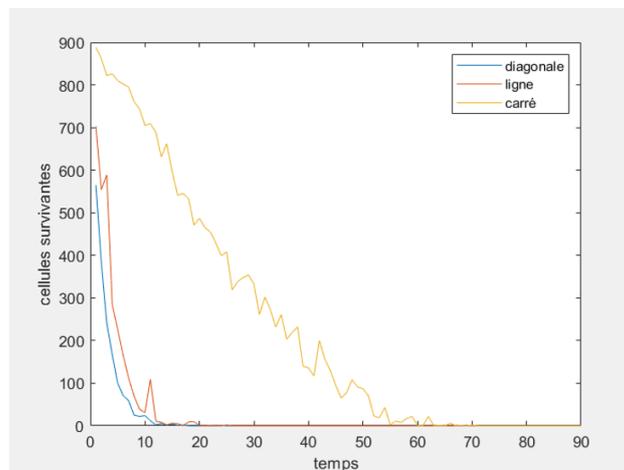


Figure 12. Effets de forme sur la réduction de la population cellulaire

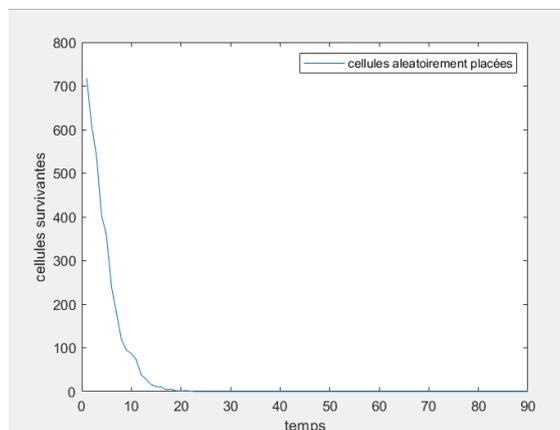


Figure 13. Effets de forme sur la réduction de la population cellulaire – cas de la figure 12

Le temps moyen de disparition des cellules présenté tableau 1 montre bien l'effet qui peut correspondre à une amplitude d'environ 5. Ce résultat sera à considérer pour définir une concentration en X adaptée à la destruction des cellules malignes. Ce constat est d'autant plus important que les structures cellulaires des cellules saines et malignes peuvent être différentes, le nouveau tissu/le nouvel organe étant de structure généralement anarchique pour des tumeurs (INC, 2023 ; Futura Sciences, 2023).

	Temps moyens de disparition (u.a.)
1,85E+01	Diagonale
2,13E+01	Ligne
6,62E+01	Carré
2,47E+01	Aléatoire

Tableau 1. Temps moyens de disparition cellulaire pour les différentes configurations (unités arbitraires)

Un facteur qui n'a pas été pris en compte, mais qui pourrait avoir de l'importance dans l'estimation des temps moyens de disparition d'une population cellulaire est la durée de vie moyenne d'une cellule en l'absence de X. Il en est de même pour la division cellulaire. Ces deux processus naturels peuvent conduire à un changement spatial du positionnement des cellules et par suite stimuler leur destruction par X. Différentes simulations entreprises sur ces effets montrent que la disparition des cellules est plus rapide qu'en l'absence de ces deux processus (d'où l'intérêt de l'usage des organoïdes). D'ailleurs pour des cellules déposées sur une surface, une question centrale est la durée de vie des cellules en présence de X ; en effet, selon RTS Découverte (2017), la durée de vie d'une cellule de la peau est relativement courte (quelques jours, supérieure à la durée d'un test). En revanche, les cellules du cerveau et/ou du cœur peuvent vivre jusqu'au bout de la vie de l'organisme.

Indépendamment de cette situation, on pourrait imputer aux résultats présentés ci-dessus de possibles effets liés à la diffusion de X dans l'amas cellulaire. Si, dans l'eau, le coefficient de diffusion de X est de l'ordre de $10^{-5} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$, on peut l'estimer, avec un milieu plus organisé de l'ordre de 10-100 fois plus faible. Alors, avec une relation simplifiée de transport du type :

$d = (D.T)^{0.5}$ (Frochot et André, 2023) où d est la distance, D le coefficient de diffusion et T le temps.

Avec $d = 0.01$ cm, T est de l'ordre de 1000 secondes ou moins. Cette valeur montre donc qu'en première approximation, on peut négliger les processus de transport de X dans la cinétique de disparition d'un amas cellulaire constituant l'organoïde. Cependant, disposant d'un système matriciel, nous l'avons utilisé (sans lien direct avec le réel) pour tester un modèle dynamique dans lequel les processus de transport de X (mais pas des cellules qui sont notablement plus grosses que X) peuvent intervenir dans la survie des cellules. Cet exercice préparatoire servira plus loin dans des questions de changement d'échelle correspondant à un passage de l'organe sur puce à l'organe entier.

REMARQUE. Avec une configuration en 3 dimensions dans laquelle les cellules sont disposées selon un cube contenant 1000 cellules et que l'on compare l'évolution du nombre des cellules, il est sensiblement deux fois plus faible qu'avec la structure carrée (cf. figure 14). C'est au fond la surface de contact qui règle la cinétique.

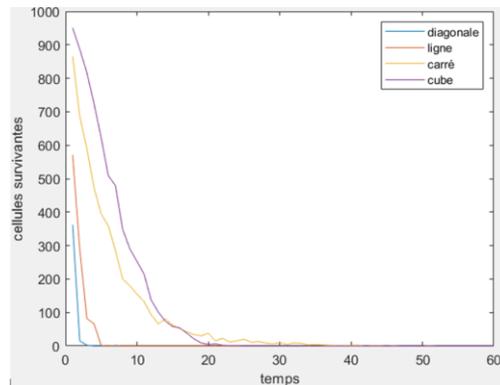


Figure 14. Effets de forme sur la réduction de la population cellulaire – cas du cube

4.2. Transport moléculaire

On s'intéresse dès maintenant à la diffusion du produit X dans les cellules. Afin de connaître le profil de la concentration dans les cellules au sein de la matrice, on base le raisonnement sur un transport de matière guidé par une loi de Fick selon deux axes (x et y). A cet effet, on note D le coefficient de diffusion, C la concentration en produit X , t le temps et x ou y un paramètre d'espace. Alors, pour une seule direction de l'espace :

$$(1) \quad \partial C / \partial t = D \cdot \partial^2 C / \partial x^2$$

Si on définit un pas de temps noté Δt et un pas en x (ou de manière équivalente pour y) noté Δx cette expression prend la forme suivante :

$$(2) \quad C(i,j,t+1) = C(i,j,t) + (D \cdot \Delta t / \Delta x^2) \cdot (C(i+1,j,t) - 2 \cdot C(i,j,t) + C(i-1,j,t))$$

Si μ est le facteur adimensionnel ($D \cdot \Delta t / \Delta x^2$), alors il faudra lui octroyer une valeur inférieure à 0.5 pour éviter toutes oscillations dans la valeur des concentrations (qui peuvent devenir négatives !). Les deux paramètres i et j rendent compte de la position de la cellule dans l'axe x et y respectivement, tandis que l'indice k rend compte de la temporalité. Si on décide d'exprimer la concentration en X dans une cellule en supposant la diffusion selon les deux axes (x et y), on aura alors l'expression suivante :

$$(3) \quad C(i,j,t+1) = C(i,j,t) + \mu \cdot (C(i+1,j,t) + C(i,j+1,t) - 4 \cdot C(i,j,t) + C(i-1,j,t) + C(i,j-1,t))$$

Afin de modéliser l'évolution de la concentration C au sein de la population cellulaire, on a choisi ici des amas cellulaires bidimensionnels horizontaux et carrés. Les axes de symétrie selon les deux axes permettent de gagner sur les temps calculs. La concentration du produit X (qui est ici présent tout autour des cellules et qu'on appellera « réservoir ») peut être constante, en baisse (suivant une loi exponentielle définie au hasard) et même remise à niveau (au niveau de la concentration initiale) après avoir passé un certain seuil considéré critique et insuffisant pour continuer à contribuer à l'objet du travail qui vise la disparition des cellules malignes. Ainsi, l'évolution de la concentration en X au sein des cellules varie en fonction du profil de concentration du « réservoir » et de la répartition spatiale qu'auront pris les cellules.

Si on fixe la concentration environnante à une concentration initiale C_0 de X et que l'on observe les variations de sa concentration au voisinage des cellules, on obtient (comme attendu) une concentration C toujours plus faible au centre de l'amas cellulaire ; elle augmente avec le temps pour se rapprocher de plus en plus de la concentration C_0 (on fait alors l'hypothèse que quand X détruit des cellules, sa concentration reste inchangée). On s'appuie ici sur des travaux de Frochot et André (2023) sur la photo-thérapie dynamique.

- 1) Si on fixe la concentration environnante à une concentration initiale C_0 et que l'on observe les variations de la concentration de X au voisinage des cellules en fonction de la largeur et de la longueur du carré ou du rectangle, on doit obtenir une concentration en X toujours plus faible au centre de l'amas cellulaire (ce qui s'explique par le temps de diffusion), jusqu'à rapprocher de la concentration « initiale » C_0 (cf. figure 15).

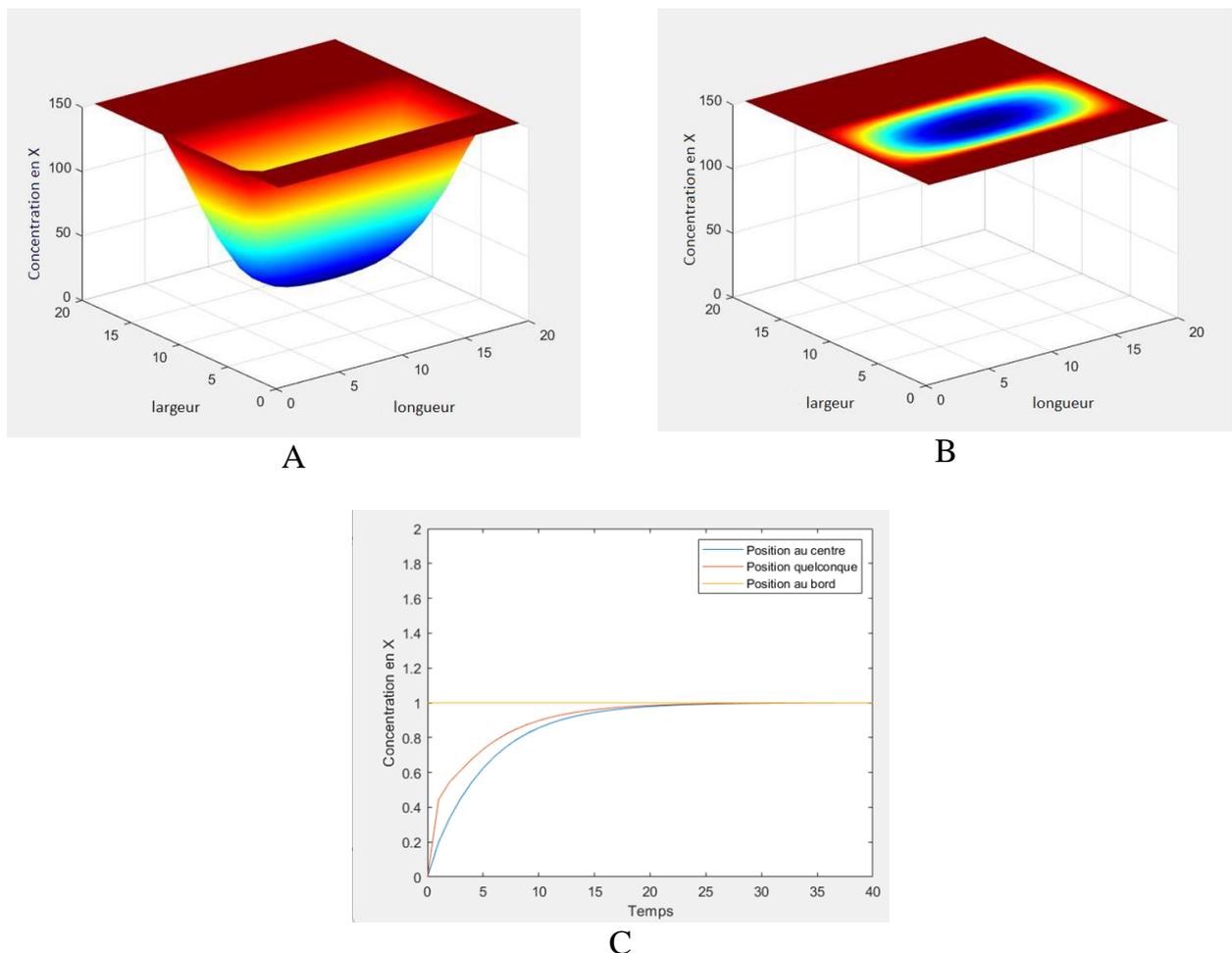


Figure 15. La concentration sur les bords est constante ; à gauche, la figure A illustre une valeur de X faible au centre peu après le lancement de l'expérience ; aux temps longs (à droite ; B) la concentration tend à être uniforme. Pour apporter des valeurs plus quantitatives, la figure C représente l'évolution temporelle de la concentration en trois points.

PS 1 : Les fausses couleurs indiquent en bleu la valeur la plus faible, en rouge, la plus élevée (même si l'écart entre ces deux extrémités est faible comme sur la partie droite de la figure

PS 2 : L'organigramme utilisé pour ce travail est présenté en fin de texte avant la bibliographie

Ces figures représentent respectivement la concentration de X au sein d'un amas cellulaire rectangulaire au temps initial et au temps final, une évolution de concentration au sein de l'amas qui tend à se rapprocher de la valeur de la concentration initiale présente autour des cellules avec le temps.

- 2) Si maintenant la concentration en X dans le « réservoir » situé autour des cellules diminue au cours du temps selon une loi exponentielle (diminution fixée à 20 % de la concentration par itération). Si la concentration en X dans les cellules suit la même loi que le « réservoir », on doit observer une diminution globale au cours du temps, avec toutefois une propension pour les cellules situées au centre de l'amas à avoir du retard relativement au « réservoir » (cf. figure 16).

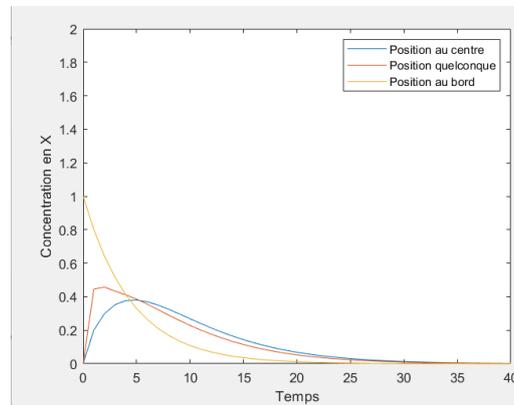


Figure 16. Evolution temporelle de la concentration en trois points avec décroissance de la concentration en X

Si la concentration dans le « réservoir » diminue selon la loi exponentielle, et que la concentration dans les cellules ne subit aucune diminution, mais reste fixé selon l'équation (3), il est possible d'observer à un certain temps une concentration au niveau des cellules plus élevée que celle du « réservoir ».

REMARQUE. Quand le « réservoir » se vide, la figure 17 montre avec une configuration rectangulaire, retenue pour test, les effets de bords (parties foncées dans la zone rouge de la figure 18).

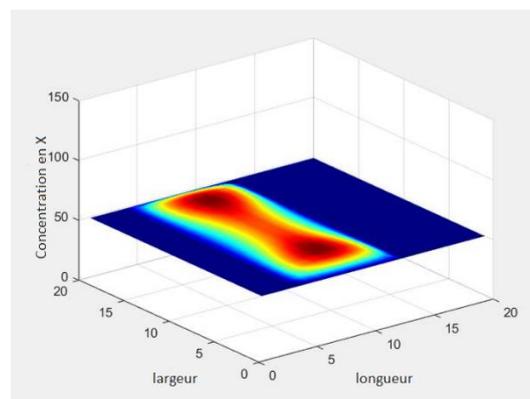


Figure 17. Visualisation des effets de bord dans la diffusion à deux dimensions

Dans des traitements de chimiothérapie, on injecte une quantité de X à un moment donné, puis on reprend l'opération périodiquement plusieurs fois. Si on simule 2 injections successives, on obtient alors un profil oscillant où la concentration en X au sein des cellules est périodiquement inférieure puis supérieure à la concentration présente dans le « réservoir » (cf. figure 18).

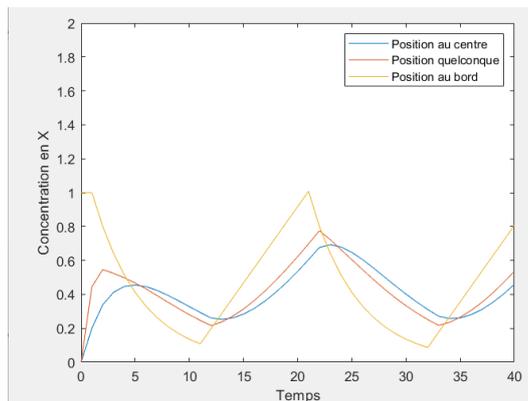


Figure 18. Concentrations en X oscillantes avec une introduction en X périodique avec illustration de décalages temporels

Cependant, dans les simulations numériques présentes, il est pertinent de remarquer que l'amas cellulaire ou l'organoïde ici modélisé est en réalité de taille très petite (de l'ordre de quelques dizaines de μm). Ainsi, les effets de diffusion sur ces cellules n'auraient pas lieu d'être dans la mesure où celle-ci serait rapide du fait de la faible distance à parcourir. Cependant, quand il sera nécessaire de changer d'échelle et ainsi travailler sur des organes de tailles plus importantes, ce modèle restera à considérer. Cette prise en compte pose alors la question – en dehors de ces expériences tests qui illustrent la possibilité d'une simulation numérique – de savoir quelles sont les hypothèses simplificatrices qui vont servir de fondement au changement d'échelle entre l'organoïde et l'organe malin.

4.3. Equations mimant la réaction des cellules avec X

4.3.1. Disparition des cellules en fonction de C dans l'organoïde

Afin de préparer une transition entre l'organoïde et un organe correspondant à un changement d'échelle très important, on s'est proposé d'étudier localement (à l'échelle de l'organoïde) l'évolution de la population cellulaire en fonction du temps pour espérer en tirer si possible des lois générales permettant le transfert. Dans un premier temps, on choisit un nombre de cellules initial, une concentration en X et une probabilité maximale de réaction fatale de X sur les cellules. On fait ensuite varier la concentration de 0 à la concentration maximale C_{max} et, pendant un certain nombre de lancers, on calcule la probabilité p pour entraîner l'apoptose cellulaire.

$$(4) p = p_{\text{max}} \cdot \left(\frac{C}{C_{\text{max}}} \right)$$

Avec les observations précédentes (notamment sur les effets de formes), on a pu observer que les nombres de cellules vivantes dans l'amas cellulaire en fonction du temps ont une tendance à décroître de manière exponentielle. En se basant sur cette observation, on vérifie que le logarithme de la population cellulaire en fonction du temps varie linéairement avec le nombre de tirs (équivalent d'un temps) - (cf. figure 19).

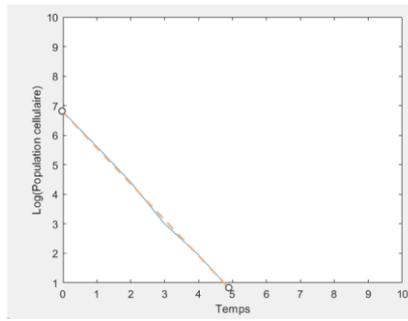


Figure 19. Evolution de la population cellulaire en fonction du temps pour $p = 0.7$ (en pointillés rouges : droite théorique)

Dans les conditions des simulations, une solution analytique peut être obtenue aux temps longs à partir de la résolution de l'équation de transport classique dont les bases font l'objet de la figure 20 :

. $\partial C/\partial t = D.(\partial^2 C/\partial x^2)$ quand une seule variable d'espace est concernée

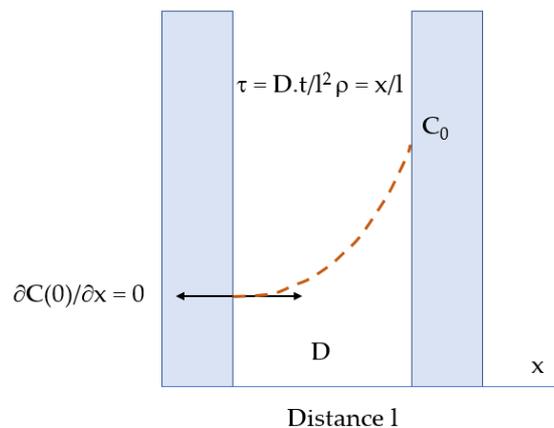


Figure 20. Transport diffusionnel avec réaction avec des cellules et paramètres

L'ensemble des équations présentées ci-après concernent les variations de concentration de X en fonction du temps t. Si, de plus $\varphi = C/C_0$, on doit résoudre le système d'équation suivant :

. $\partial y/\partial \tau = \partial^2 y/\partial \rho^2$ avec $(\partial y/\partial \rho)_0 = 0$ et $y(1) = 1$

En passant dans l'espace de Laplace, ces équations et conditions aux limites deviennent :

$s.y = y''$ dont la solution est $y = A.exp(-s^{1/2}.\rho) + B.exp(s^{1/2}.\rho)$ avec $1/s = A.exp(-s^{1/2}) + B.exp(s^{1/2})$ et $s^{1/2}.(-A + B) = 0$

conduisant à $A = B$ et $A = 1/s.(exp(-s^{1/2}) + exp(s^{1/2}))$ d'où

. $y = (exp(-s^{1/2}.\rho) + exp(s^{1/2}.\rho))/(exp(-s^{1/2}) + exp(s^{1/2}))/s$ ou $y = (ch(\rho.s^{1/2})/ch(s^{1/2}))/s$

dont il faut trouver la transformée inverse... non trouvée sur les tables accessibles... Aux temps longs, s tend vers zéro ce qui correspond à $y = 1$. Dans ces conditions, si a est la concentration cellulaire (avec $A = A_0$ à $t = 0$), alors :

$$(5) \quad dA/dt = -k.A.C \text{ ou } dA/dt = -k.A.C_0.y$$

si $\lambda = k.A_0.C_0.D/l$ et $v = A/A_0$, alors

$$(6) \quad dv/d\tau = -(k.A_0.C_0.D/l).v.y = -\lambda.v.y$$

D'où une décroissance exponentielle de A vs t ou τ (cf. figure 20 permettant de montrer l'accord entre simulation numérique et modèle analytique). Par ailleurs, la constante apparente est λ (avec les changements effectués), elle est aux temps longs de l'organoïde (qui ne seront que des temps courts de l'organe) proportionnels à C ou $C_0.y$.

4.3.2. Décroissance cellulaire dans l'organe

En choisissant comme pixel initial l'organoïde on dispose d'une concentration locale en cellules qui est A(x,t) une concentration en X qui est localement C(x,t) avec dans chaque pixel :

$$dA/dt = -k.A.C = -k.A.C_0.y \text{ ou } \partial y/\partial \tau = \partial^2 y/\partial \rho^2 \text{ soit } dA/A = -\lambda.y.d\tau$$

Ce qui conduirait à une équation de la forme :

$$(7) \text{Ln}(A_0/A) = \lambda f y . d\tau \text{ ou } A = A_0 . \exp(-\lambda . f y . d\tau)$$

Dans un premier temps, on a choisi une concentration autour de l'organe qui est constante. Mais, en situation réelle, on injecte X qui normalement est dilué dans tout le corps du patient et qui s'élimine par différentes voies dont les voies naturelles. On considère alors que X disparaît du corps selon une loi exponentielle (l'ensemble du corps représente une masse très importante relativement à l'organe malin). Les calculs réalisés dans le document prennent en considération le transfert par diffusion de X, en ne prenant en compte que des organes considérés comme de tailles importantes pour lesquelles ce mécanisme peut être considéré. Soient alors k_1 et k_2 les constantes de vitesse respectives pour la partie maligne de masse m et k_2 pour le reste du corps de masse M (réaction sur les cellules saines en grand nombre ou élimination par les voies naturelles). Pour une quantité Q de X initiale, la concentration de X suit une loi simple :

Pour X $C = C_0 = Q_0/M (+m)$ et $A = A_0$ au temps 0.

Alors $dA = -k_1.A.C_0.\exp(-k_2.t).dt$ soit $\text{Ln}(A_\infty) = -[k_1.C_0.(\exp(-k_2.t))/k_2]$ entre t et 0

$$(8) \text{Ln}(A/A_\infty) = -k_1.C_0/k_2.(1 - (\exp(-k_2.t)))$$

Si t tend vers l'infini, la valeur minimale de A est alors :

$$(A_\infty/A_0) = \exp(-k_1.C_0/k_2) \text{ avec } k_1 = 1 \quad k_2 = 10^{-3} \quad C_0 = 1 \text{ et } A_\infty = 0$$

En revanche, si k_2 est beaucoup plus faible, la limite peut être supérieure à 0. On comprend que si un X agit de manière conséquente sur les cellules malignes, c'est l'élimination qui peut limiter son intérêt. Par ailleurs, si on obtient des valeurs de A_∞ trop éloignées de 0, l'utilisation de plusieurs doses de X, réparties dans le temps peut permettre l'atteinte de l'objectif, la suppression des cellules malignes (à condition que les cellules saines ne soient pas trop atteintes par X).

4.4. Changement d'échelle

La figure 21 représente une situation plausible où X est introduit au temps zéro, se répartit dans tout le corps via la circulation sanguine (sans être sélectivement « attiré » au voisinage de la zone maligne (en fait, compte tenu des hypothèses, cela reviendrait à changer la valeur de la réactivité de X vis-à-vis des cellules à traiter). Les calculs réalisés dans l'organe malin prennent en considération le transfert par diffusion matérielle de X avec une élimination par le corps, ce qui permet une situation simplifiée (réaction sur les cellules saines en grand nombre ou élimination par les voies naturelles).

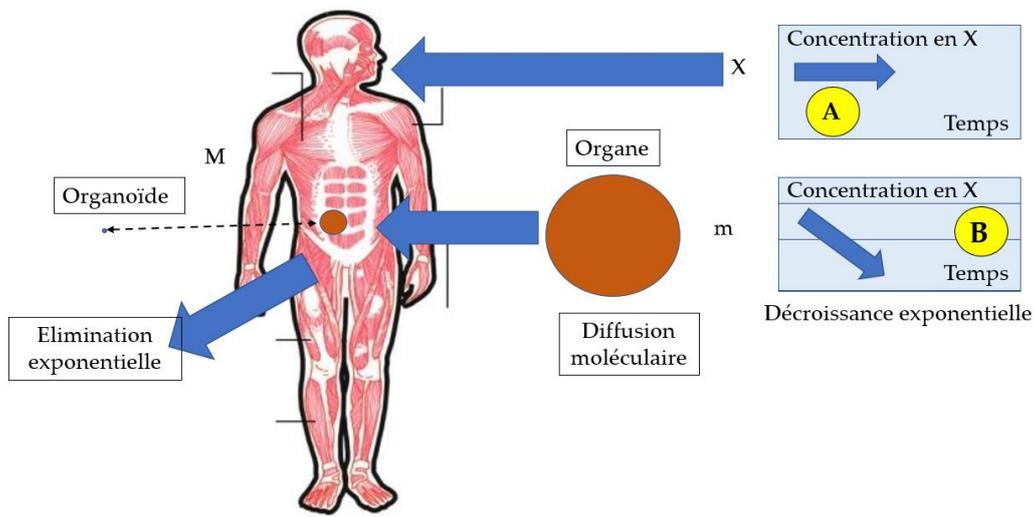


Figure 21. Relation réaction dans l'organe suite à un processus de transport – élimination de X

En utilisant une relation approchée entre distance d et diffusion D qui est de la forme $d^2 = D.TT$ avec TT le temps, avec $D = 10^{-5} \text{ cm}^2.s^{-1}$ (cas de l'eau), $d = 1 \text{ cm}$, $TT = 10^5$ secondes, l'équilibre de la concentration en X est atteint au bout d'environ 28 heures. Avec $D = 10^{-6} \text{ cm}^2.s^{-1}$ et $d = 10 \text{ cm}$ ce temps TT devient 1000 fois plus long ! Sans chercher une précision particulière, TT est du même ordre de grandeur, voire supérieur à la durée d'une chimiothérapie. Ce qui est réaliste en vraie grandeur ne l'est pas à l'échelle de l'organoïde car avec $d = 0.01 \text{ cm}$, TT vaudrait environ 100 secondes.

4.4.1. Bases de calcul

Dans chaque pixel (correspondant à ce qui se passait préalablement dans l'organoïde), il y a un nombre de cellules transformées en une « concentration », soit un nombre de cellules par unité de surface (celle du pixel), une valeur de la concentration de X et une loi de diffusion du même X en dehors de cet espace. On suppose donc que dans le pixel, et la concentration cellulaire et celle de X sont constantes. En revanche, en dehors de cet incrément la diffusion pour un organe de grande taille avec une migration lente les deux concentrations peuvent changer dans tout l'organe avec le temps. Le choix d'une forme carrée pour l'organe (à deux dimensions) permet d'utiliser une symétrie passant par le centre de gravité du carré avec des axes perpendiculaires aux cotés.

Pour les deux constituants considérés :

- Les dérivées en $x/y = 0$ relativement aux paramètres d'espace sont nulles quel que soit le temps ;
- La concentration en X aux bordures de l'organe est celle du milieu environnant (cf. figure 21) ;
- L'évolution par diffusion s'opère numériquement comme l'indique la figure suivante 22 ;
- L'organe au départ est considéré comme constitué d'un remplissage total de cellules à comportement identique.

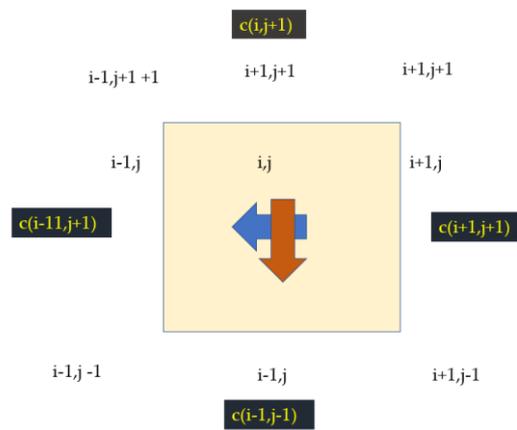


Figure 22. Base de calcul du transfert de X

Dans ces conditions, dans un pixel, on a :

$$dA/dt = -k.A \text{ (définie dans chaque pixel (organoïde))}$$

$$\partial C/\partial t = D(\partial^2 C/\partial x^2 + \partial^2 C/\partial y^2) \text{ pour } i, \text{ puis pour } j ; \text{ ensuite on peut considérer que}$$

$$\text{Nouveau } C(i,j) = \text{Ancien } C(i,j) + \text{Pas en temps} \cdot (C(i,j)_i + C(i,j)_j)/2$$

4.4.2. Résultats des simulations

En fait, deux situations sont considérées mais qui peuvent être regroupées en une seule : A : X n'est jamais éliminé du corps (pour rappel, on a fait l'hypothèse que X peut entraîner l'apoptose de cellules, sans qu'il soit consommé) ; B : la concentration de X décroît exponentiellement avec le temps. De fait, la situation A est celle où la constante de vitesse de décroissance est nulle ! Les conditions limites pour les cellules sont identiques à ce qui a été choisi au § précédent. En bordure de l'organe, la concentration en X est définie à partir d'une valeur initiale avec une relaxation exponentielle. Ainsi, en dehors de l'organe, la concentration de X est supposée uniforme.

Résultats :

Les figures 23 suivantes représentent l'évolution de la concentration des cellules pour différentes valeurs des paramètres.

A. La concentration de X est constante

Dans le cas où la concentration dans le réservoir reste constante, on peut faire varier le produit $p.c_0$ pour obtenir différentes courbes où la vitesse de disparition sera amoindri lorsque le produit d'intérêt ($p.c_0$) diminue.

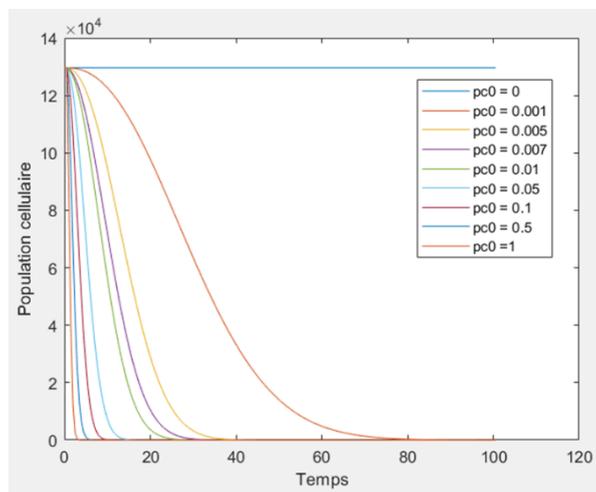


Figure 23. Evolution de la population cellulaire en fonction du temps numérique et de la concentration initiale en produit X pour une concentration constante dans le réservoir

REMARQUE. Comparaison X constant dans m et M et Diffusion dans m

La figure 24 illustre l'importance des processus de transports moléculaires sur la cinétique de disparition des cellules. Cet effet pourrait être amplifié selon la texture du milieu et sa vascularisation.

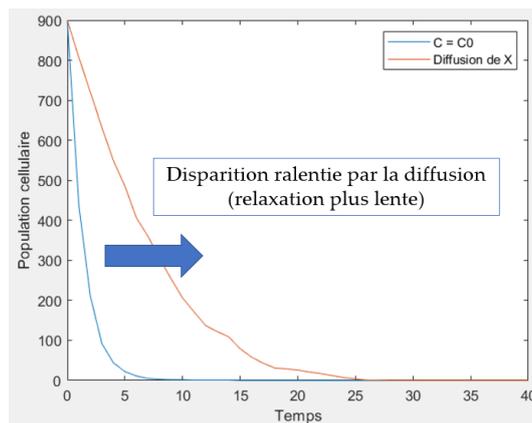


Figure 24. Visualisation du ralentissement de la disparition des cellules par l'effet de la diffusion (courbe rouge)

B. la concentration de X décroît exponentiellement

Dans le cas où la concentration dans le réservoir diminue exponentiellement, il est possible de faire varier le produit $p.C_0$ tout en maintenant constante la probabilité de disparition cellulaire (cf. figure 25). Comme prévu, toutes les cellules ne disparaissent pas dans ce processus (contrairement à ce qui a été présenté dans l'exemple précédent).

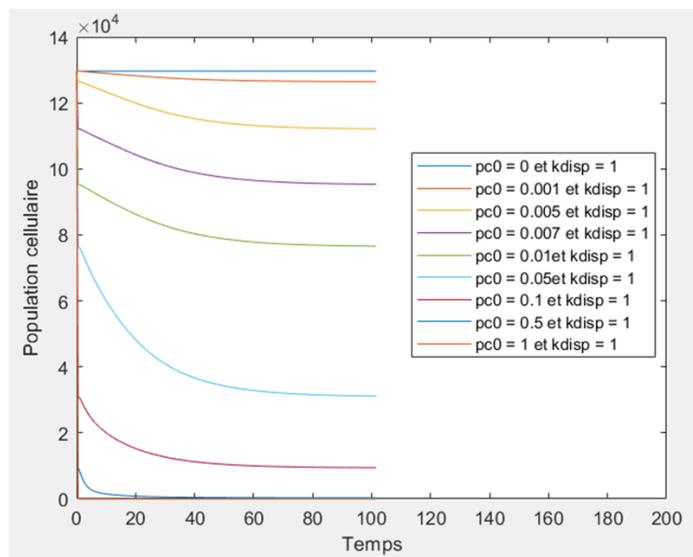


Figure 25. Evolution de la population cellulaire en fonction du temps et de la concentration initiale en X à même probabilité de réaction de X lorsque sa concentration diminue exponentiellement dans le réservoir

Cette figure met en évidence une disparition partielle des cellules parce X disparaît du corps du malade (ce qui implique dans des conditions médicales réelles plusieurs injections de substances X). En continuité avec ce qui a été montré figure 25, dans le cas où X disparaît au cours du temps, on atteint quand le temps augmente, une quantité de cellules qui ont survécu à l'action de X non nulle dépendant des processus de transport (cf. figure 26). Le tableau 2 met en évidence la compétition entre les deux processus antagonistes entre atteinte souhaitée sur les cellules et disparition « naturelle » ou autres modes de disparition à l'intérieur du corps humain.

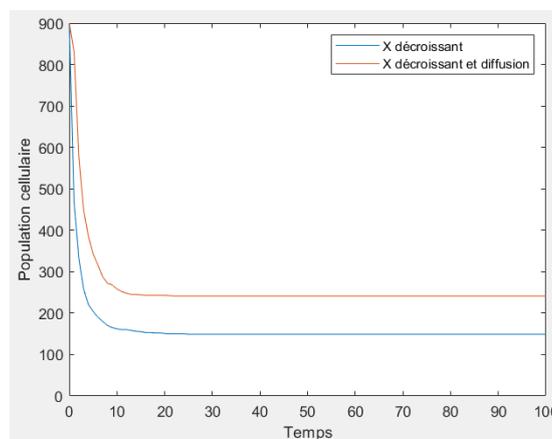


Figure 26. Visualisation du ralentissement de la disparition des cellules et de leur survie par l'effet de la diffusion (courbe rouge)

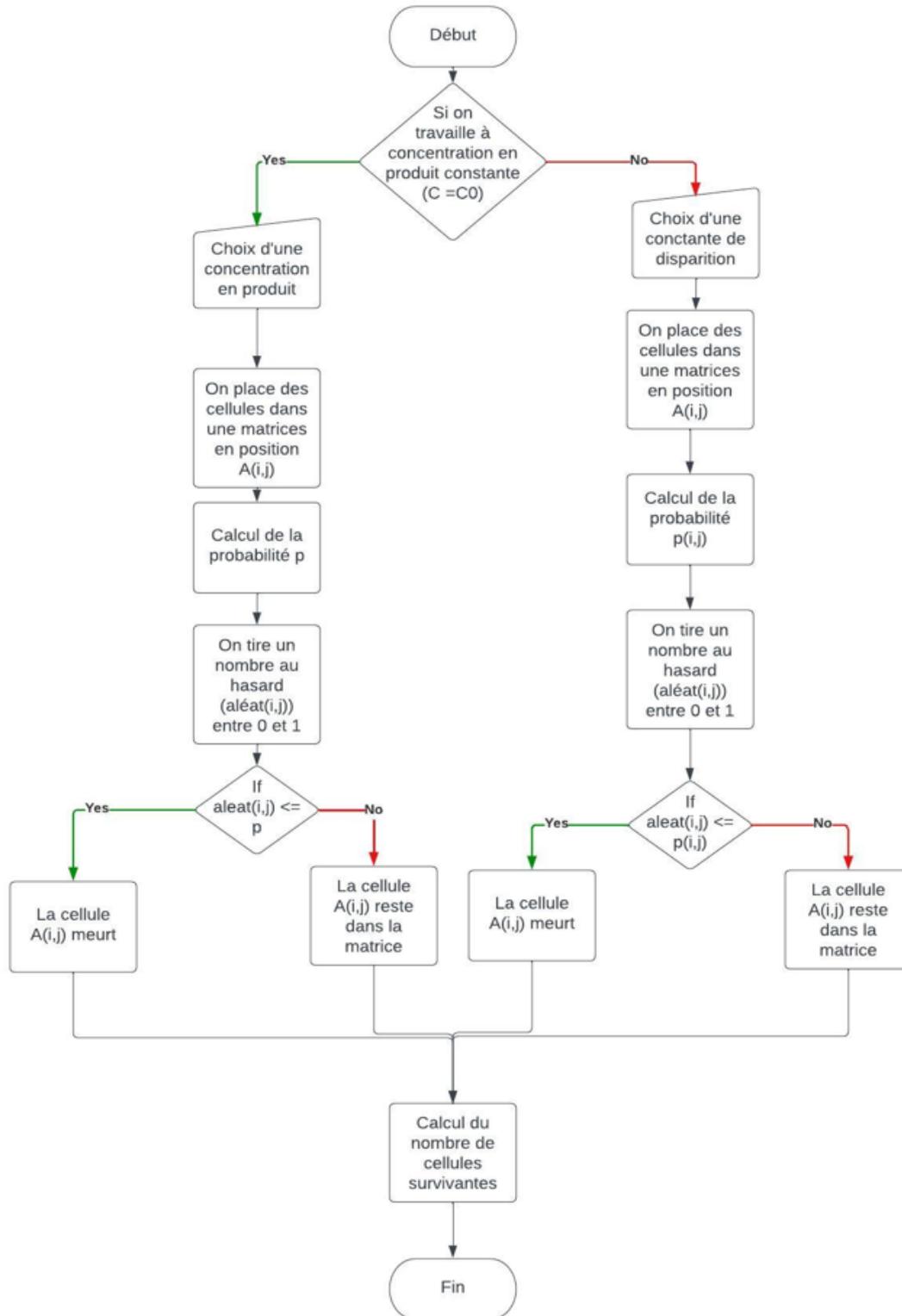
k disp	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
pCO = 0	129600	129600	129600	129600	129600	129600	129600	129600	129600	129600	129600
pCO = 0,001	0	126436	127716	128089	128251	128333	128378	128404	128420	128429	128434
pCO = 0,005	0	114711	120522	122266	123032	123423	123639	123763	123835	123878	123904
pCO = 0,007	0	109364	117120	119483	120526	121060	121355	121524	121623	121682	121717
pCO = 0,01	0	101924	112247	115461	116890	117625	118031	118264	118400	118482	118531
pCO = 0,05	0	45100,3	66957,2	75625,2	79830,6	82082,6	83353,7	84092,6	84529,6	84790,7	84947,5
pCO = 0,1	0	21100,7	39497,4	48334,6	25979,7	55568,4	57061,6	57940,3	58463,7	58777,8	58967
pCO = 0,5	0	855,68	4348,61	6939,34	8544,16	9517,89	10107,2	10463,9	10679,9	10810,8	10890,2
pCO = 0,7	0	277,138	2169,42	3847,18	4942,09	5620,38	6034,98	6287,27	6440,54	6533,57	6590,02
pCO = 1	0	64,1539	900,365	1844,71	2513,68	2942,84	3209,73	3373,65	3473,74	3534,69	3571,74

Tableau 2. Visualisation du couplage entre réactivité de X sur certaines cellules (malignes) et élimination de X

Conclusion

Le bio-printing, une des technologies issues de la fabrication additive envisage dans le futur des remplacements de tissus, voire d'organes. Mais, dans le présent, avec des « organes sur puce » on peut réaliser des amas cellulaires calibrés avec des cellules issues des patients, ce qui permet d'accéder à des thérapies potentiellement personnalisées (pour autant que la structure du dépôt cellulaire soit la même selon les tests de traitement). Ainsi, avec ces petits objets, une hiérarchie médicamenteuse peut être atteinte. La question posée est alors l'importance du changement d'échelle entre l'organoïde et l'organe, qui, s'il est de grande taille peut mettre en jeu des processus diffusionnels associés aux substances de traitement (pour une zone lésée entre environ un cm^3 et environ un dm^3 , on pourrait estimer les temps de transport très supérieurs à plusieurs semaines pour une structure vivante non vascularisée. A partir d'une petite jonglerie entre numérique et analytique, il a été possible de proposer des « équations de transfert » entre l'organoïde et l'organe. Différentes hypothèses simplificatrices ont été effectuées : système à deux dimensions, non-prolifération cellulaire durant un e-traitement, non échappement entre cellules saines et cellules malignes, etc. Ces éléments pourraient être pris en compte et, de manière évidente, devraient influencer sur les résultats quantitatifs (pour autant qu'avec la diversité des organes et des durées de vie cellulaires, ces données soient accessibles). Mais, ce qui est important, c'est l'illustration de la compétition entre le traitement et des processus d'élimination de la substance médicamenteuse. Ce résultat complète l'analyse hiérarchique réalisable sur les amas cellulaires et introduisant un paramètre complémentaire compétitif, celui de l'élimination de la substance potentiellement utilisable pour un traitement. Avec ce modèle pourtant simplifié, doivent être pris en compte des éléments extérieurs à l'aptitude qu'a X à supprimer plus de cellules malignes que de saines, la taille moyenne de l'organe à traiter, le coefficient de diffusion de X dans l'organe et sa vitesse d'élimination.

Dans les essais classiques, on utilise des traitements sur des animaux de tailles croissantes. Mais, l'aspect « personnalisé » du traitement est alors perdu. Si les travaux sur les organoïdes ne laissent pas de place à des compléments analytiques, c'est sans doute sur l'humain qu'il faudrait agir, mais, on l'aura compris, ce dernier doit être soigné et il paraît pour le moins non-éthique de l'utiliser comme cobaye. Des relations avec le corps médical sont envisagées qui permettront peut-être de proposer des suites constructives à ce travail.



Bibliographie

3D Natives (2022) « Quelle est l'utilité de la bio-impression en recherche biologique ? » <https://www.3dnatives.com/bio-impression-recherche-biologique-181020223/>

Adrien (2020) « "Un pour tous": le comportement individuel des cellules régule leur mouvement collectif » <https://www.techno-science.net/actualite/tous-comportement-individuel-cellules-regule-mouvement-collectif-N19570.html>

André J.C. (2018) « From Additive Manufacturing to 3D/4D Printing - Volume 1: From the first concept to the present applications; Volume 2: Improvement of the present technologies and constraints; Volume 3: Breakdown innovations: Programmable matter; 4D Printing and Bio-Printing » ISTE/Wiley Ed. – London – UK.

- Ardaillou R., Debré P., Delpech M. (2021) « Les organoïdes : une modélisation tridimensionnelle des organes in vitro aux usages multiples » <https://www.academie-medecine.fr/les-organoïdes-une-modelisation-tridimensionnelle-des-organes-in-vitro-aux-usages-multiples/>
- Ashammakhi N., Ahadian S., Pountos I., Hu S.K., Tellisi N., Bandaru P., Ostrovidov S., Dokmeci R.M., Khademhosseini A. (2019) “In situ three-dimensional printing for reparative and regenerative therapy” *Biomedical Micro-devices*, 21, 42.
- Atala A., Soker S. (2014) “Use of regenerative medicine and bio-printing for human tissue testing” https://www.nibib.nih.gov/sites/default/files/Soker_NIBIB%20in%20vitro%20tools%20and%20models%20March%202014.pdf
- Atera Lab (2016) “Advanced tissues engineering for research applications” <http://ateralabs.com/>
- Ballet P., Pothet A., Misevic G., Jeannin-Girardon A., Fronville A., Rodin V. (2011) « Une approche multi-agent pour la simulation en biologie cellulaire » https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&src=s&source=web&cd=3&ved=0ahUKEwi70uTG-5HOAhUHvBoKHXM9DQOQFggtMAI&url=http%3A%2F%2Fnetbiodyn.tuxfamily.org%2FNetBioDyn%2FTelechargements_files%2FNetBioDyn_Exemples.pdf&usg=AFQjCNEdtZ0gcL9r15y5srKjB-XSEYxQLQ
- Banerjee D., Singh Y.P., Datta P., Ozbolat V., O'Donnell A., Yeo M., Ozbolat I.T. (2022) “Strategies for 3D bioprinting of spheroids: A comprehensive review” *Biomaterials*, 291, 121881.
- BBC News (2022) “Could 3D printing be the future of organ transplants? - BBC News” https://www.youtube.com/watch?v=IUx_vkB3PFc&t=13s
- Bian S., Repic M., Guo Z., Kavirayani A., Burkard T., Bagley J.A., Krauditsch K., Knoblich J.A. (2018) “Genetically engineered cerebral organoids model brain tumor formation” *Nature Methods*, 15, 631–639.
- Boj S.F., Hwang C.I., Baker L.A., Chio I.I., Engle D.D., Corbo V., Jager M., Ponz-Sarvisé M., Tiriác H., Spector M.S., Gracanin A., Oni T., Yu K.H., van Boxtel R., Huch M., Rivera K.D., Wilson J.P., Feigin M.E., Tuveson D.A. (2015) “Organoid models of human and mouse ductal pancreatic cancer” *Cell*, 160, 324-338.
- Boudon F., Chopard J., Ali O., Gilles B., Hamant O., Boudaoud A., Traas J., Godin C. (2015) “A Computational Framework for 3D Mechanical Modeling of Plant Morphogenesis with Cellular Resolution” *PLOS Computational Biology*, 11, e1003950.
- Causin P., Sacco R. (2011) “A computational model for biomass growth simulation in tissue engineering” *Communications in Applied and Industrial Mathematics*, 1-20.
- Chakradhar S. (2017) “Put to the test: Organoid-based testing becomes a clinical tool” *Nature Medicine*, 23, 796–799.
- Chen T., Callan-Jones A., Fedorov E., Ravasio A., Brugués A., Ting Ong H., Toyama Y., Chuan Low B., Trepát X., Shemesh T., Voituriez R., Ladoux B. (2019) “Large-scale curvature sensing by directional actin flow drives cellular migration mode switching” *Nature Physics*, 15, 393–402.
- Chen C. (2023) « Reconstituer des « organes sur puce », une voie vers de nouveaux médicaments ? » <https://theconversation.com/reconstituer-des-organes-sur-puce-une-voie-vers-de-nouveaux-medicaments-198468>
- Chneiweiss H. (2012) « L'Homme réparé ; espoirs, limites et enjeux de la médecine régénérative » Plon Ed. – Paris.
- Clement B., Chene G., Degos F. (2009) “A national collection of liver tumors: lessons learnt from 6 years of biobanking in France” *Cancer Letters*, 286, 140–144.
- Clevers H. (2016) “Modeling Development and Disease with Organoids” *Cell*, 165, 1586-1597.
- CNRS (2022) « Les organoïdes : de mini-organes aux maxi-pouvoirs » <https://lejournel.cnrs.fr/articles/les-organoïdes-de-mini-organes-aux-maxi-pouvoirs>
- Collectif SMI (1995) « L'adéquation fonctionnelle comme limite des systèmes organisateurs » 58-67 in G. Théraulaz Ed. « Evolution et organisation ; hasard et contraintes dans la genèse des formes collectives » Journées de Rochebrune et ENST Ed. – Paris. <http://perso.telecom-paristech.fr/~evolang/Rochebrune/Rochebrune%201995%20-%20Evolution%20et%20Organisation.pdf>
- Daly N. (2023) « Comment les puces-organes vont révolutionner la médecine » <https://www.nationalgeographic.fr/sciences/comment-les-puces-organes-vont-revolutionner-la-medecine>
- Danzo A., André J.C. (2020) « Que peut apporter une modélisation mathématique à la maîtrise du bio-printing ? » *Entropie*, 20-1, 32pp (2020) - <http://openscience.fr/Que-peut-apporter-une-modelisation-mathematique-a-la-maitrise-du-bio-printing>

- Davis C., Naci H., Gurpinar E., Poplavsak E., Pinto A., Aggarwal A. (2017) “Availability of evidence of benefits on overall survival and quality of life of cancer drugs approved by European medicines agency: retrospective cohort study of drug approvals 2009–13” *BMJ Journal*, 359, j4530.
- Deasy B. M., Jankowski R. J., Payne T. R., Cao, B., Goff J. P., Greenberger J. S., Huard, J. (2003) “Modeling Stem Cell Population Growth: Incorporating Terms for Proliferative Heterogeneity” *Stem Cells*, 21, 536–545.
- Dekkers J.F., Berkers G., Kruisselbrink E., Vonk A., de Jonge H.R., Janssens H.M., Bronsveld I., van de Graaf E.A., Nieuwenhuis E.E.S., Houwen R.H.J., Vleggaar H.P., Escher J.C., de Rijke Y.B., Majoor C.J., Heijerman H.G.M., de Winter-de Groot K.M., Clevers H., van der Ent C.K., Beekman J.M. (2016) “Characterizing responses to CFTR-modulating drugs using rectal organoids derived from subjects with cystic fibrosis” *Scientific Translation in Medicine*, 8, 344ra84.
- Delom F., Le Morvan V., Robert J., Fessart D. (2022) « Les organoïdes normaux et leurs applications dans la recherche sur le cancer » *Bulletin Cancer*; 109, 58–64.
- Demoly F., André J.C. (2022) “4D Printing: between disruptive research and industrial application” ISTE/Wiley Ed. London – UK.
- Derakhshanfar S., Mbeleck R., Xu K., Zhang X., Zhong W., Xing M. (2018) “3D bio-printing for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances” *Bioactive Materials*, 3, 144-156.
- Devarapalli M., Lawrence B., Sundararajan V. (2009) “Modeling nutrient consumptions in large flow-through bioreactors for tissue engineering” *Biotechnology, Bio-engineering*, 103, 1003-1015.
- Drost J., Clevers H. (2018) “Organoids in cancer research” *Nature Review Cancer*, 18, 407–418.
- Dzobo K., Thomford N.E., Senthebane D.A., Shipanga H., Rowe A., Dandara C., Pillay M., Motaung K.S.C.M. (2018) “Advances in Regenerative Medicine and Tissue Engineering: Innovation and Transformation of Medicine” *Stem Cells International*, 2018, 2495848.
- Fatehullah A., Tan S.H., Barker N. (2016) “Organoids as an in vitro model of human development and disease” *Nature Cell Biology*, 18, 246-254.
- Ferney J. (2020) « Près de 24 000 malades en attente d’une transplantation d’organes » <https://www.la-croix.com/Sciences-et-ethique/Sante/Pres-24-000-malades-attente-dune-transplantation-dorganes-2020-01-14-1201071743>
- Fessart D., Begueret H., Delom F. (2013) “Three-dimensional culture model to distinguish normal from malignant human bronchial epithelial cells” *European Respiratory Journal*, 42, 1345–56.
- Fong E.L.S., Harrington D.A., Farach-Carson M.C., Yu H. (2016) “Heralding a new paradigm in 3D tumor modeling” *Biomaterials*, 108, 197-213.
- Fried P., Iber D. (2015) “Read-out of dynamic morphogen gradients on growing domains” *PloS-One*, 10, e0143226.
- Frochot C., André J.C. (2023) « Photo-thérapie dynamique - entre modélisation et expérimentation - la rencontre des physiciens, chimistes, biologistes, oncologues, ingénieurs ou quand la modélisation diffusionnelle trouve ses limites... » *Entropie*, 3, 29pp - <https://www.openscience.fr/Photo-therapie-dynamique-entre-modelisation-et-experimentation-la-rencontre-des>
- Fu B., Shen J., Chen Y., Wu Y., Zhang H., Liu H., Huang W. (2021) “Narrative review of gene modification: applications in three-dimensional (3D) bioprinting” *Annals of translational medicine*, 9, 1502-1502.
- Furfaro F. (2018) « Contrôle temporel de morphogènes pour la différenciation cellulaire » <http://www.msc.univ-paris-diderot.fr/spip.php?article878>
- Futura Sciences (2023) « Cycle cellulaire : prolifération des cellules saines » <https://www.futura-sciences.com/sante/dossiers/medecine-cancer-mecanismes-biologiques-1453/page/6/>
- Gagliardi G., Ben M’Barek K., Goureau O. (2019) “Photoreceptor cell replacement in macular degeneration and retinitis pigmentosa: A pluripotent stem cell-based approach” *Progress in Retinal Eye Research*, 71, 1-25.
- Galzi J.L., Jouault T., Amédée J. (2019) « Les organoïdes : des mini-organes au service de la biomédecine » *Médecine/sciences*, 35, 467-469.

- Gao D., Vela I., Sboner A., Iaquina P.J., Karthaus W.R., Gopalan A., Dowling C., Wanjala J.N., Undvall E.A., Arora V.K., Wongvipat J., Kossai M., Ramazanoglu S., Barboza L.P., Di W., Cao Z., Zhang Q.F., Sirota I., Ran L., MacDonald T.Y., Beltran H., Mosquera J.M., Toujjer K.A., Scardino P.T., Laudone V.P., Curtis K.R., Rathkopf D.E., Morris M.J., Danila D.C., Slovin S.F., Solomon S.B., Eastham J.A., Chi P., Carver B., Rubin M.A., Scher H.I., Clevers H., Sawyers C.L., Chen Y. (2014) “Organoid cultures derived from patients with advanced prostate cancer” *Cell*, 159, 176-187.
- Goureau O., Reichman S., Orieux G. (2020) « Les organoïdes de rétine : Un nouvel outil pour comprendre et traiter les maladies rétinienne » *Médecine/sciences*, 36, 626-632.
- Grebenyuk S., Ranga A. (2019) “Engineering Organoid Vascularization” *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 39.
- Grewal D., Kroschke M., Mende M., Roggeveen A.L., Scott M.L. (2020) “Frontline Cyborgs at Your Service: How Human Enhancement Technologies Affect Customer Experiences in Retail, Sales, and Service Settings” *Journal of Interactive Marketing*, 51, 9-25.
- Guillemot F. (2014) « Bio-printing : imprimer du vivant ne relève plus de la science-fiction » http://lesclesdemain.lemonde.fr/sante/bio-printing-imprimer-du-vivant-ne-releve-plus-de-la-science-fiction_a-11-3707.html
- Guillemot F., Mironov V., Nakamura M. (2010 a) “Bio-printing is coming of age: report from the International Conference on Bio-printing and Biofabrication in Bordeaux” *Bio-fabrication*, 2, 010201.
- Guillemot F., Souquet A., Catros S., Guillotin B., Lopez J., Faucon M., Pippenger B., Bareille R., Rémy M., Bellance S., Chabassier P., Fricain J.C., Amédée J. (2010) “High throughput laser printing of cells and biomaterials for tissue engineering” *Acta Biomaterialia*, 7, 2494-2500.
- Gustave Roussy (2023) « La chimiothérapie » <https://www.gustaveroussy.fr/fr/chimiotherapie>
- Hay M., Thomas D.W., Craighead J.L., Economides C., Rosenthal J. (2014) “Clinical development success rates for investigational drugs” *Nature Biotechnology*, 32, 40–51.
- HRSA - Health Resources & Services Administration (2020) “Organ Donation Statistics” <https://www.organdonor.gov/statistics-stories/statistics.html>
- INC - Institut National du Cancer (2023) « Mécanisme de cancérisation » <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Qu-est-ce-qu-un-cancer/Mecanisme-de-cancerisation>
- INRAE (2022) « Les organoïdes : des organes miniatures aujourd’hui incontournables pour la biologie et la médecine » <https://www.inrae.fr/actualites/organoïdes-organes-miniatures-aujourd'hui-incontournables-biologie-medecine>
- INSERM (2019) « Organoïdes : Quelle place dans la recherche de demain ? » <https://www.inserm.fr/actualite/organoïdes-quelle-place-dans-recherche-demain/>
- Jackson E.L., Lu H. (2016) “Three-dimensional models for studying development and disease: moving on from organisms to organs-on-a-chip and organoids” *Integrative Biology*, 8, 672-683.
- Jeon O., Lee Y.B., Jeong H., Lee S.J., Wells D., Alsberg E. (2019) “Individual cell-only bio-ink and photo-curable supporting medium for 3D printing and generation of engineered tissues with complex geometries” *Materials Horizons*, 6, 1625-163.
- Jessus C. (2017) « Etonnant vivant - Découvertes et promesses du XXI^e siècle » CNRS Ed. – Paris.
- Karagiannis K., Takahashi K., Saito M., Yoshida Y., Okita K., Watanabe A., Inoue H., Yamashita J.K., Todani M., Nakagawa M., Osawa M., Yashiro Y., Yamanaka S., Osafune K. (2019) “Induced pluripotent stem cells and their use in human models of disease and development” *Physiological Review*, 99, 79-114.
- Kelava I., Lancaster M.A. (2016) “Dishing out mini-brains: current progress and future prospects in brain organoid research” *Developmental Biology*, 420, 199–209.
- Kim J., Koo B.Y., Knoblich J.A. (2020) “Human organoids: model systems for human biology and medicine” *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 21, 571–584.
- Kinstlinger I.S., Miller J.S. (2016) “3D-printed fluidic networks as vasculature for engineered tissue” *Lab. On Chip*, 16, 2025–2043.
- Knowlton S., Onal S., Yu C. H., Zhao J. J., Tasoglu S. (2015) “Bio-printing for cancer research” *Trends in biotechnology*, 33, 504-513.

- Kucharska B. (2022) “Polymers for 3D bioprinting” 337-349 in “Polymers for 3D Printing - Methods, Properties, and Characteristics” *Plastics Design Library – Elsevier Ed. – New-York – USA.*
- Kupiec J.J. (2008) « L’origine des individus » Fayard Ed. – Paris.
- Kupiec J.J. (2009) « Une approche darwinienne de l’ontogenèse » <https://www.cairn.info/les-mondes-darwiniens-volume-1--9782919694396-page-599.htm>
- Kupiec J.J. Ed. (2013) « La vie, et alors ? – Débats passionnés d’hier et d’aujourd’hui » Belin Ed. – Paris.
- Kupiec J.J., Sonigo P. (2003) « Ni Dieu, ni gène ; pour une autre théorie de l’hérédité » Points Sciences Ed. – Paris.
- Landau S., Moriel A., Livne A., Zheng M.H., Bouchbinder E., Levenberg S. (2018) “Tissue-Level Mechano-sensitivity: Predicting and Controlling the Orientation of 3D Vascular Networks” *Nano Letters*, 18, 7698–7708.
- Lancaster M.A., Huch M. (2019) “Disease modelling in human organoids” *Disease Models & Mechanisms*, 12, dmm039347.
- Lancaster M.A., Knoblich J.A. (2014) “Generation of cerebral organoids from human pluripotent stem cells” *Nature Protocols*, 9, 2329–2340.
- Liu F., Huang J., Ning B., Liu Z., Chen S., Zhao W. (2016) “Drug Discovery via Human-Derived Stem Cell Organoids” *Frontiers in Pharmacology*, 7, <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2016.00334/full>
- Listek V. (2023) “Inventia to Bio-print Brain Cell Models with Merck Subsidiary for Drug Discovery” <https://3dprint.com/298025/d-inventia-to-bioprint-brain-cell-models-with-merck-subsidiary-for-drug-discovery/>
- Liu Z., Tang M., Zhao J., Jiang I.N., Ge X. (2018) “Looking into the future: toward advanced 3D biomaterials for stem-cell-based regenerative medicine” *Advanced Materials*, 30, e1705388
- McCune M., Shafiee A., Forgacs G., Kosztin I. (2014) “Predictive modeling of post bio-printing structure formation” *Soft Matter*, 10, 1790-1800.
- McKee C., Chaudhry G.R. (2017) “Advances and challenges in stem cell culture” *Colloids Surfaces, B Bio-interfaces*, 159, 62–77.
- Mahe M.M., Aihara E., Schumacher M.A., Zavros Y., Montrose M.H., Helmrath M.A., Sato T., Shroyer N.F. (2013) “Establishment of gastrointestinal epithelial organoids” *Current Protocol Mouse Biology*, 3, 217–240.
- Melchels F.P.W., Domingos M.A.N., Klein T.J., Maldo J., Bartolo P.J., Huttmacher D.W. (2012) “Additive manufacturing of tissues and organs” *Progress in Polymer Sciences*, 37, 1079-1084.
- Miha A. (2020) “Ethics Issues Raised by Human Enhancement” https://www.bbvaopenmind.com/wp-content/uploads/2013/02/08_ethical_issues1.pdf
- Munjai A., Philippe J.M., Munro E., Lecuit T. (2015) “A self-organized biomechanical network drives shape changes during tissue morphogenesis” *Nature*, 524, 351-355.
- Murphy S.V., Atala A. (2014) “3D bio-printing of tissues and organs” *Nature Biotechnology*, 32, 773-785.
- Neagu A., Kosztin I., Jakab K., Barz B., Neagu M., Jamison R. (2006) “Computational modeling of tissue self-assembly” *Modern Physics Letters*, B20, 1217{1231.
- Ng W.L., Lee J.M., Yeong W.Y., Naing M.W. (2017) “Micro-valve-based bio-printing – process, bio-inks and applications” *Biomaterials Science*, 5, 632-647.
- Ng W.L., Chua C.K., Shen Y.F. (2019) “Print me an Organ! Why we are not there yet” *Progress in Polymer Science*, 97, 101145.
- Nguyen P. (2015) « C’est la première bio-impression qui compte » *Science et santé*, 24, 39-39.
- Noury M. (2015) « La nano-santé » Thèse Universités de Paris-Ouest et de Montréal – Canada.
- Novakovic G., Eschenhagen T., Mummery C. (2014) “Myocardial tissue engineering: in vitro models” *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 4, a014076.
- Obradovic B., Carrier R., Vunjak-Novakovic G., Freed L.E. (1999) “Gas exchange is essential for bioreactor cultivation of tissue engineered cartilage” *Biotechnology & Bioengineering*, 63, 197-205.
- Obradovic B., Meldon J.H., Freed L.E., Vunjak-Novakovic G. (2000) “Glycosaminoglycan deposition in engineered cartilage: Experiments and mathematical model” *AIChE Journal*, 46, 1547-5905.

- Okuda S., Inoue Y., Eiraku M., Adachi T., Sasai Y. (2016) “Modeling cell apoptosis for simulating three-dimensional multicellular morphogenesis based on a reversible network reconnection framework » *Bio-mechanic Modeling & Mechano-biology*, 15, 805–816.
- Ozbolat I.T., Yu Y. (2013) “Bio-printing toward organ fabrication: challenges and future trends” *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 60, 691-699.
- Ozturk M.S., Lee V.K., Zou H., Friedel R.H., Intes X., Dai G. (2020) “High-resolution tomographic analysis of in vitro 3D glioblastoma tumor model under long-term drug treatment” *Science Advances*, 6, eaay7513.
- Parrochia D. (1994) « Le statut épistémologique de la « vie artificielle » » 164-185 in F. Tinland Ed. « *Ordre biologique ; ordre technologique* » Champ-Vallon Ed. – Paris.
- Peters M.D., Wittwer L.D., Stopka A., Barac D., Lang C., Iber D. (2018) “Simulation of morphogen and tissue dynamics” arXiv:1806.041
- Picollet-D’hahan N, Dolega ME, Freida D, Martin D.K., Gidrol X.(2017) ”Deciphering cell intrinsic properties: a key issue for robust organoid production” *Trends in Biotechnology*, 35, 103–48.
- Poietis (2015) « Qu’est-ce que la bio-impression ? » <http://www.poietis.com/bioimpression-4d/>
- Rabesandratana O., Goureau O., Orioux G. (2018) ‘Pluripotent stem cell-based approaches to explore and treat optic neuropathies’ *Frontiers in Neurosciences*, 12, 651
- Rheinwald J.G., Green H. (1975) “Serial cultivation of strains of human epidermal keratinocytes: the formation of keratinizing colonies from single cells” *Cell*, 6, 331-43.
- Rossi G, Manfrin A, Lutolf M.P. (2018) ”Progress and potential in organoid research” *Nature Review Genetics*, 19, 671-87.
- RTS (Radio-Télévision Suisse) Découverte (2017) « Quelle est la durée de vie des cellules animales ? » <https://www.rts.ch/decouverte/sciences-et-environnement/animaux-et-plantas/8464819-quelle-est-la-duree-de-vie-des-cellules-animales.html>
- Saglam-Metiner P., Gulce-Iz S., Biray-Avci C. (2019) “Bioengineering-inspired three-dimensional culture systems: Organoids to create tumor microenvironment” *Gene*, 686, 203–212.
- Salahudeen A.A., Kuo C.J. (2015) “Toward recreating colon cancer in human organoids” *Nature Medicine*, 21, 215–216.
- Samsara (2016) “Primary human hepatic stellate cells” <http://www.samsarasciences.com/>
- Sato T., Stange D.E., Ferrante M., Vries R.G., Van Es J.H., Van den Brink S., Van Houdt W.J., Pronk A., Van Gorp J., Siersema P.D., Clevers H. (2011) “Long-term expansion of epithelial organoids from human colon, adenoma, adenocarcinoma, and Barrett’s epithelium” *Gastroenterology*, 141, 1762-1772.
- Savulescu J., Meulen R.T., Kahane G. (2011) « *Enhancing Human Capacities*” Wiley-Blackwell Ed. – Oxford - UK.
- Schneider O., Epple P., Teuber E., Meyer B., Jank M.P.M., Rauh C., Delgado C. (2011) “Jet printing of colloid solutions: numerical modeling and experimental verification of the influence of ink and surface parameters on droplet spreading” *Advanced Powder Technologies*, 22, 266-270.
- Sebert M., Denadai-Souza A., Quaranta M., Sébert M., Denadai-Souza A., Quaranta M., Racaud-Sultan C., Chabot S., Lluet P., Monjot N., Alric L., Portier G., Kirzin S., Bonnet D., Ferrand A., Vergnolle N. (2018) “Thrombin modifies growth, proliferation and apoptosis of human colon organoids: a protease-activated receptor 1- and protease-activated receptor 4-dependent mechanism” *British Journal of Pharmacology*, 175, 3656–3668.
- Shpichka A., Bikmulina P., Peshkova M., Kosheleva N., Zurina I., Zahmatkesh E., Khoshdel-Rad N., Lipina M., Golubeva E., Vosough M., Timashev P. (2020) “Engineering a Model to Study Viral Infections: Bioprinting, Microfluidics, and Organoids to Defeat Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)” *International Journal of Bio-printing*, 6, 302.
- Skardal A., Atala A. (2015) “Biomaterials for integration with 3D bio-printing” *Annals of Biomedical Engineering*, 43, 730-746.
- Song M.J., Quinn R., Nguyen E., Hampton C., Sharma T., Park T.S., Koster C., Voss T., Tristan C., Weber C., Singh A., Dejene R., Bose D., Chen Y.C., Derr P., Derr K., Michael S., Barone F., Chen G., Boehm M., Maminishkis A., Singec I., Ferrer M., Bharti K. (2023) “Bio-printed 3D outer retina barrier uncovers RPE-dependent choroidal phenotype in advanced macular degeneration” *Nature Methods*, 20, 149–161.

- Steichen C., Si-Tayeb K., Wulkan F., Crestani T., Rosas G., Dariolli R., Pereira A.C., Krieger J.E. (2017) “Human induced pluripotent stem (hiPS) cells from urine samples: A non-integrative and feeder-free reprogramming strategy” *Current Protocols in Human Genetics*, 92, 21.7.1–21.7.22.
- Steiner P. (2010) « La transplantation d'organes : un nouveau commerce entre êtres humains ? » *Revue du MAUSS* 1/2010, 455-462 <http://www.cairn.info/revue-du-mauss-2010-1-page-455.htm>
- Stringer J., Derby B. (2009) « Limits to feature size and resolution in ink jet printing” *Journal of the European Ceramic Society*, 29, 913-918.
- Sun J. (2017) “Intestinal organoid as an in vitro model in studying host-microbial interactions” *Frontiers in Biology (Beijing)*, 12, 94–102.
- Takasato M., Er P.X., Chiu H.S., Maier B., Baillie G.J., Fergusson C., Parton R.G., Wolvetang E.J., Roost M.S., Chuva de Sousa-lopes S.M., Little M.H. (2015) “Kidney organoids from human iPS cell contain multiple lineages and model human nephrogenesis » *Nature*, 526, 564-568.
- Takebe T., Wells J.M. (2019) “Organoids by design” *Science*, 364, 956-959.
- Tatullo M., Marrelli B., Benincasa C., Aiello E., Makeeva I., Zavan B., Ballini A., De Vito D, Spagnuolo G. (2020) “Organoids in Translational Oncology” *Journal of Clinical Medicine*, 9, 2774.
- TEDx Talks (2014) “3D printing & medical applications: Carsten Engel at TEDx Liège” <https://www.youtube.com/watch?v=y87RmyBxKic>
- Tinnemann V., Arzt E., Hensel R. (2019) “Switchable double-sided micropatterned adhesives for selective fixation and detachment” *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 123, 20-27.
- van de Wetering M., Francies H.E., Francis J.M., Bounova G., Iorio F., Pronk A., van Houdt W., van Gorp J., Taylor-Weiner A., Kester K., McLaren-Douglas A., Blokker J., Jaksani S., Bartfeld S., Volckman R., van Sluis P., Li W.S.W., Seepo S., Sekhar Pedamallu C., Cibulskis K., Carter S.L., McKenna A., Lawrence M.S., Lichtenstein L., Stewart C., Koster J., Versteeg R., van Oudenaarden A., Saez-Rodriguez J., Vries R.G., Getz G., Wessels L., Stratton M.R, McDermott U., Meyerson M., Garnett M.J., Clevers H. (2015) “Prospective derivation of a living organoid biobank of colorectal cancer patients” *Cell*, 161, 933-945.
- Wan A.C.A. (2016) “Recapitulating cell-cell interactions for organoid construction - Are biomaterials dispensable?”. *Trends in Biotechnology*, 34, 711–721.
- Wang Y., Sun Q. (2013) “Modeling and simulations of multicellular aggregate self-assembly in bio-fabrication using kinetic Monte Carlo methods” *Soft Matter*, 9, 2172.
- Watanabe M., Buth J.E., Vishlaghi N., de la Torre-Ubieta L., Taxidis J., Khakh B., Coppola G., Pearson C.A., Yamauchi K., Gong D., Dai X., Damoiseaux R., Aliyari R., Liebscher S., Schenke-Layland K., Caneda C., Huang E.J., Zhang Y., Cheng G., Geschwind D.H., Golshani P., Sun R., Novitch B.G. (2018) “Self-organized cerebral organoids with human-specific features predict effective drugs to combat Zika virus infection” *Cell Reports*, 21 : 517–532.
- Wolpert L., Tickle C., Arias A.M. (2017) « Biologie du développement – Les grands principes » Dunod Ed. – Paris.
- Xue D., Wang Y., Zhang J., Mei D., Wang Y., Chen S. (2018) “Projection-Based 3D Printing of Cell Patterning Scaffolds with Multiscale Channels” *ACS applied materials & interfaces*, 10, 19428-19435.
- Yin X., Mead B.E., Safae H., Langer R., Karp J.M., Levy O. (2016) “Engineering Stem Cell Organoids” *Cell Stem Cell*, 18, 25-38.