Chapitre 4 : Ingénierie tissulaire et organes artificiels

Introduction

Les lésions tissulaires ou les pertes d'organes provoquant des changements structurels et métaboliques qui peuvent être à l'origine de graves complications. L'ingénierie tissulaire (IT), dont l'objectif thérapeutique est de recréer, régénérer ou restaurer la fonction d'un tissu lésé, est la coalescence de trois éléments : **un biomatériau** d'origine synthétique ou biologique, dégradable ou non, des **cellules réparatrices** et **des signaux** (hypoxie, contraintes mécaniques, morphogènes, etc.). Le cartilage articulaire, l'os et les vaisseaux font partie des tissus pour lesquels l'IT s'est développé considérablement, de la recherche fondamentale jusqu'aux essais cliniques. Si les biomatériaux doivent présenter des propriétés différentes en fonction du tissu à régénérer, la composante cellulaire de l'IT est majoritairement représentée par les cellules souches, au premier rang comprenant les cellules souches mésenchymateuses adultes prélevées à partir de la moelle osseuse ou du tissu adipeux. Ces dernières années, des progrès ont été accomplis dans la compréhension des mécanismes biologiques qui régissent la différenciation des cellules souches et dans le développement de matériaux aux propriétés biologiques et physicochimiques contrôlées. Cependant, de nombreux verrous technologiques et seront réglementairement élevés avant que l'ingénierie tissulaire puisse passer du laboratoire à la clinique et entrer dans l'arsenal thérapeutique de la médecine régénératrice

1- Définition de l'ingénierie tissulaire

L'ingénierie tissulaire (IT) est une discipline dont l'objectif est de développer des substituts biologiques capables de restaurer, maintenir ou améliorer la fonction des tissus lésés. Pour cela, elle associe les principes de l'ingénierie des matériaux et des sciences de la vie (cellules réparatrices et signaux biologiques, biochimiques ou biophysiques).

L'ingénierie tissulaire est une spécialité multidisciplinaire, au carrefour des sciences du vivant et des sciences de l'ingénieur. Le terme ingénierie tissulaire a été inventé par Y.C. Fung pour une application d'ingénierie à l'analyse de tissu natif. Ce terme a cependant été rapidement utilisé pour décrire les méthodes visant à produire, à partir de cellules humaines en culture, des tissus vivants pour restaurer, maintenir ou améliorer leur fonction.

2- Les principes de l'ingénierie tissulaire

L'ingénierie tissulaire utilise les trois composants fondamentaux suivants :

- des cellules souches

- un échafaudage tridimensionnel biocompatible
- des molécules bioactives

2-1 Les cellules souches

Sont des cellules qui sont capables de produire par différenciation plus d'un type de cellules. Les plus connues sont les cellules souches embryonnaires, qui peuvent produire n'importe quel type de cellules. Chez l'adulte, les cellules souches peuvent se différencier en plusieurs types de cellules, selon leur origine dans le corps. Par exemple, les cellules souches dérivées du tissu adipeux peuvent se différencier en tissu osseux, cartilagineux ou graisseux, et en d'autres types de tissus. La voie qu'une cellule emprunte pour y parvenir dépend de nombreux facteurs, dont des forces mécaniques (comme les mouvements musculaires dans l'embryon en développement) ou l'exposition à des produits chimiques (par exemple, des molécules de signalisation dans la circulation sanguine)

2-2 Les échafaudages

Sont des structures tridimensionnelles qui favorisent la croissance des cellules souches vers un type de cellules ou de tissu donné. En laboratoire, on cultive souvent ces cellules sur des surfaces planes ou en suspension dans un liquide. Un échafaudage tridimensionnel correspond plus étroitement à l'environnement tridimensionnel du corps.

Il est important que le matériau utilisé dans un échafaudage soit biocompatible pour qu'il n'endommage pas le tissu avec lequel il entre en contact, ce qui signifie qu'il ne doit pas être toxique, mais également ne pas se décomposer au fil du temps en plus petits éléments qui pourraient irriter le tissu. Les matériaux utilisés dans les échafaudages d'ingénierie tissulaire sont notamment le collagène, ou certaines chaînes protéiques (protéoglycanes).

Les échafaudages utilisés en ingénierie tissulaire doivent également être poreux. Comme les cellules souches ne peuvent êtreensemencées qu'à la périphérie de l'échafaudage, il est important que l'échafaudage soit suffisamment poreux pour permettre aux cellules de migrer vers l'intérieur à mesure qu'elles prolifèrent. Si la construction ne contient des cellules qu'en périphérie, et pas au centre, elle ne se comportera pas comme un tissu normal.

2-3 Les molécules bioactives

Sont des substances qui agissent sur les tissus vivants. Il peut s'agir de molécules de signalisation ou de facteurs de croissance qui sont capables de modifier la voie de différenciation d'une cellule souche. Ces molécules bioactives peuvent faire partie des

nutriments utilisés pour faire pousser la cellule en laboratoire. On peut également les incorporer dans l'échafaudage tridimensionnel à l'étape de la fabrication.

Les chercheurs étudient également comment utiliser les molécules bioactives pour perfectionner les implants tissulaires. À titre d'exemple, un échafaudage pourrait libérer un médicament qui réduit l'inflammation, ou qui aide les cellules implantées à s'intégrer au siège de l'implant.

3- Sources des cellules/tissus

Le choix du type cellulaire est primordial. Il se fait principalement entre deux grandes familles : les cellules différenciées (les ostéoblastes pour le tissu osseux, les fibroblastes et kératinocytes pour la muqueuse) et les cellules souches (embryonnaires, fœtales, adultes ou induites).

- **Les cellules différenciées (cellules du tissu cible)**

L'utilisation de cellules issues du tissu cible est la stratégie initiale mise au point pour le développement de l'ingénierie tissulaire. Elle représente une méthode de choix lorsque ces cellules sont facilement disponibles et en quantité suffisante. Elle est notamment utilisée dans le cadre de l'ingénierie tissulaire du cartilage ou de l'os. En effet, l'incorporation de chondrocytes au sein d'un biomatériau a permis de grandes avancées et a ouvert la voie à l'application de l'ingénierie tissulaire à d'autres tissus (cardiaque, dentaire). Malheureusement, ces tissus ne présentaient pas les mêmes contraintes (accès et quantité de cellules) et l'utilisation de cellules souches s'est considérablement développée

- **Les cellules souches**

Plusieurs sortes de cellules souches sont utilisées à des fins de thérapie cellulaire. Ces différents types de cellules partagent toutefois trois propriétés essentielles : la clonogénicité (autorenouveaulement indéfini à l'identique), offrant un stock presque illimité de matériel, et la possibilité de donner naissance à plusieurs types cellulaires différents (multipotence). Les cellules souches mésenchymateuses présentent également la propriété d'adhérer au plastique des boîtes de culture, permettant leur mise en culture in vitro. Les cellules souches possèdent une remarquable capacité à proliférer et à se différencier en de nombreuses lignées cellulaires capables de former l'organe désiré. Par conséquent, elles portent en elles de grands espoirs pour le développement de stratégie de régénération tissulaire. Depuis de nombreuses années, les hématologues utilisent les cellules souches hématopoïétiques pour le traitement des leucémies... Les cellules souches utilisées peuvent être de différentes origines : embryonnaires, fœtales, mésenchymateuses (adultes) et, plus récemment, pluripotentes

induites (obtenues par génie cellulaire à partir de cellules différenciées adultes). Les cellules souches sont des progéniteurs partiellement différenciés qu'il est possible de trouver dans les tissus embryonnaires ou adultes

- **Les cellules souches embryonnaires**

Issues d'embryons humains, ces cellules indifférenciées possèdent encore toutes les potentialités de différenciation de l'œuf lui-même et peuvent donner naissance à tous les types cellulaires qui constituent un organisme humain, soit environ 200 types cellulaires. Elles sont dites totipotentes. Pour les chercheurs, elles ont plusieurs avantages : elles sont nombreuses, accessibles, facilement cultivables et ont la plus grande capacité à se différencier. En revanche, du côté des inconvénients, elles ont une certaine propension à se transformer en cellules tumorales (tératome) et le contrôle de la différenciation est difficile. Sur le plan éthique, elles nécessitent la destruction d'un embryon. L'utilisation des cellules embryonnaires fait l'objet de grands débats éthiques partout dans le monde et n'est pas autorisée dans tous les pays.

- **Les cellules souches adultes**

Les cellules souches sont des cellules multipotentes, ce qui signifie qu'elles ont la capacité de donner naissance à de nombreuses lignées cellulaires. Leur présence dans tous les organes est suspectée et permet une régénération des cellules. Dans certains tissus, les cellules sont constamment renouvelées. Leurs cellules souches produisent des cellules différenciées pour remplacer les cellules dont le temps de survie est dépassé, comme les cellules souches hématopoïétiques (moelle osseuse) capables de se différencier pour renouveler l'ensemble des cellules sanguines, les cellules souches épithéliales (greffes de peau) ou encore les cellules souches hépatiques (régénération du foie après une hépatectomie). Au fur et à mesure que les organes se forment, le potentiel de différenciation des cellules souches se restreint. Mais il ne disparaît pas complètement. Elles se révèlent d'une plasticité (flexibilité) insoupçonnée : transplantées dans un organe différent, elles peuvent devenir différentes de ce pour quoi elles étaient initialement programmées. Côté avantages, elles présentent une flexibilité plus importante et leur activité d'induction est plus facile sur les tissus à réparer car elles sont déjà partiellement spécialisées. Elles ne provoquent pas de rejet (en provenant du même individu).

- **Les cellules souches pluripotentes induites**

Les cellules souches pluripotentes induites (CSPi) sont semblables aux cellules souches embryonnaires, mais fabriquées par génie génétique (reprogrammation génétique) à partir de

cellules adultes. Depuis 2007, des centaines de lignées de cellules IPS ont été obtenues à partir de presque tous les types de cellules adultes capables de se multiplier. Toutes les cellules adultes qui prolifèrent peuvent être utilisées pour cette reprogrammation. Comme pour les greffes d'organes ou de tissus se pose la question de l'origine des cellules, autogreffe ou allogreffe. La greffe de cellules souches autologues est généralement la stratégie préférée, car elle permet de s'affranchir des problèmes de rejet. Néanmoins, elle nécessite la disponibilité de cellules souches saines. Cette stratégie est souvent sélectionnée, notamment dans le cadre du traitement de maladies hématologiques malignes sensibles à la chimiothérapie. Lors de l'utilisation de cellules souches mésenchymateuses pour la régénération de tissus conjonctifs, par exemple le tissu osseux, l'un des problèmes est la quantité de ces cellules dans le tissu donneur comme la moelle osseuse ou le tissu adipeux.

4- Matériel de l'ingénierie tissulaire

4-1 Les cellules (déjà exliquer)

4-2 Les facteurs de croissance

Les molécules bioactives sont des molécules de signalisation, tels que des facteurs de croissance ou des signaux chimiques, qui contrôlent diverses réponses cellulaires par liaison spécifique de récepteurs transmembranaires ou intracellulaires dans une cellule cible. Elles sont essentielles afin d'obtenir une régénération fonctionnelle de la pulpe. Les facteurs de croissance, par l'induction de voies de signalisation spécifiques, modulent chaque événement cellulaire clé de l'homéostasie pulpaire : la prolifération cellulaire, la différenciation et la synthèse minérale. Plusieurs facteurs de croissance ont prouvé leur importance dans l'ingénierie des tissus

4-3 Les biomatériaux

Par définition un biomatériau est un dispositif destiné à améliorer les propriétés d'un organe ou à remplacer un organe ou bien encore à remplacer/créer une fonction déficiente dans un organisme vivant. Le développement des biomatériaux servant de matrice pour l'ingénierie tissulaire est un domaine crucial et en plein essor depuis de nombreuses années. Leur rôle est de servir de support pour la délivrance des cellules et des morphogènes au niveau du tissu cible. Ils doivent également permettre leur maintien sur place pendant une durée suffisante pour régénérer le tissu. Pour cela, le biomatériau doit répondre à un cahier des charges précis :

- biocompatibilité pour le contrôle des réactions inflammatoires et immunogéniques ;

- biodégradabilité pour permettre son remplacement par le tissu néoformé et limiter les réactions inflammatoires chroniques. Toutefois, cette propriété n'est nécessaire que pour les biomatériaux qui ont pour objectif d'être remplacés par le tissu néoformé ;

- adhésion cellulaire pour permettre la rétention des cellules au sein de la matrice ainsi que le maintien du phénotype cellulaire ;

- perméabilité pour permettre les échanges nutritionnels et limiter le gradient en oxygène ;

- possibilité de stérilisation, facilité de mise en œuvre et stabilité au stockage...

De nombreuses structures ont été développées au cours du temps, variant en termes de nature du matériau utilisé et de formulation (mise en forme du matériau). Les matériaux peuvent être classés en différentes catégories de nature :

- **minéraux** (phosphate de calcium biphasique, hydroxy-apatite, phosphate tricalcique, bioverre...)

- **polymères naturels** (protéiques et polysaccharidiques)

- **polymères synthétiques** (dégradables et non dégradables) ;

- **métaux** (titane).

Les matériaux peuvent aussi être classés selon leur formulation (granules, ciments, hydrogels, mousses, membranes...).

Dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, l'un des éléments-clés est l'utilisation d'échafaudages ou de scaffolds bioactifs comme architectures pour favoriser les interactions cellulaires et la formation de la matrice extracellulaire qui fournit un support structurel au tissu nouvellement généré. Les constituants majeurs de la matrice extracellulaire sont des protéines (élastine), des glycoprotéines (collagène, fibronectine, etc.), des glycoaminoglycanes, des protéoaminoglycanes et, dans le cas de matrices osseuses, des sels minéraux (hydroxyapatite et phosphate de calcium). La réalisation d'une architecture temporaire capable de mimer les fonctions physiologiques de la matrice extracellulaire est primordiale pour préserver la capacité des cellules à se différencier vers différents phénotypes, mais aussi pour constituer un matériau apte à combler la lésion tissulaire.

5- Méthodes de fabrication

Le processus de fabrication des tissus en ingénierie tissulaire implique plusieurs étapes cruciales :

- **Isolation des Cellules** : Les cellules nécessaires sont isolées et cultivées en laboratoire.
- **Production de l'échafaudage** : Un biomatériau est conçu pour fournir un cadre pour la croissance cellulaire.

- **Assemblage** : Les cellules sont déposées sur l'échafaudage, souvent dans des conditions de culture qui favorisent l'interaction cellulaire.
- **Maturation** : Les tissus nouvellement formés sont cultivés pour atteindre la fonctionnalité requise.

Cette approche permet de fabriquer des tissus dans des formes et tailles spécifiques nécessaires à la réparation des lésions corporelles.

6- Méthodes d'assemblage

6-1 La culture cellulaire

La bio-impression 3D permet de produire des structures tissulaires complexes avec une grande précision. Elle peut servir pour la production de matrices tridimensionnelles mais également de tissus, avec l'ajout de cellules souches. L'impression 3D permet de contrôler la forme, la taille et la porosité de la matrice, ainsi que la disposition des cellules. La nanofabrication est une méthode de fabrication à l'échelle nanométrique, qui permet de créer des matrices aux propriétés mécaniques spécifiques, notamment en termes de rigidité et de porosité. Les biomatériaux utilisés pour ces matrices peuvent être des polymères, des hydrogels et des matériaux composites

Au niveau de la culture cellulaire, la mise en culture des cellules en 3D et l'utilisation de cellules souches sont deux techniques qui ont permis des progrès dans le domaine de l'ingénierie cellulaire et tissulaire. Au lieu de cultiver des cellules souches sur des surfaces planes, la culture en 3D permet aux cellules de se développer dans un environnement qui ressemble davantage à leur environnement naturel, ce qui peut fournir des résultats plus précis et des tissus plus fonctionnels. Les cellules souches sont des cellules qui ont la capacité de se différencier en différents types de cellules spécialisées, ce qui les rend très utiles pour l'ingénierie tissulaire. Elles permettent de créer des tissus artificiels complexes, tels que des os, des muscles, des vaisseaux sanguins et même d'envisager de fabriquer des organes tels que le cœur et les reins.

6-2 Les bioréacteurs

Les bioréacteurs désignent un système permettant la culture de tissus. Ils sont utilisés pour développer et faire proliférer les cellules afin d'obtenir une population cellulaire suffisante pour l'ingénierie tissulaire. Ceci est particulièrement important lors de l'utilisation de cellules primaires ou de cellules souches. Les bioréacteurs peuvent assurer une distribution cellulaire uniforme sur les échafaudages

- **Construction de tissus 3D :** Les bioréacteurs permettent l'assemblage couche par couche de constructions tissulaires 3D. Ils permettent le placement précis des cellules, des facteurs de croissance et des biomatériaux pour créer des structures tissulaires complexes qui imitent les tissus natifs.
- **Vascularisation :** La génération de réseaux de vaisseaux sanguins fonctionnels au sein des tissus modifiés est essentielle pour garantir un approvisionnement adéquat en nutriments et en oxygène. Les bioréacteurs peuvent favoriser le développement de réseaux vasculaires en fournissant un débit et une contrainte de cisaillement contrôlés.
- **Apport contrôlé d'oxygène et de nutriments :** Les bioréacteurs maintiennent les gradients d'oxygène et de nutriments au sein des structures tissulaires, ce qui est essentiel à la viabilité cellulaire et au développement des tissus. Ils peuvent également éliminer efficacement les déchets. Les bioréacteurs peuvent appliquer des forces mécaniques, telles que la compression, la tension et le cisaillement, pour imiter les conditions physiologiques.
- **Imiter les conditions physiologiques :** Les bioréacteurs permettent aux chercheurs de reproduire les conditions physiologiques de tissus ou d'organes spécifiques, notamment la température, le pH et les propriétés mécaniques. Ceci est essentiel pour la maturation et la fonctionnalité des tissus.
- **Augmenter la production :** Les bioréacteurs sont utilisés pour augmenter la production de tissus destinés à des applications cliniques. Ils veillent à ce que les tissus modifiés répondent aux normes de qualité et de quantité nécessaires à la transplantation.

7- Applications de l'ingénierie tissulaire

L'ingénierie tissulaire offre un potentiel immense dans de nombreux domaines médicaux et technologiques. Elle permet de développer des solutions innovantes pour traiter diverses maladies et blessures qui étaient auparavant difficiles à gérer. Les applications pratiques varient des traitements orthopédiques aux avancées en cardiologie, en passant par les innovations en cosmétologie. Chaque application est conçue pour utiliser les composants fondamentaux de l'ingénierie tissulaire pour améliorer la qualité de vie des patients.

➤ Transplantation et régénération de tissus

Une application majeure est la transplantation et régénération de tissus, visant à créer des tissus qui peuvent remplacer ceux endommagés ou malades.

- **Tissus Cardiaques** : Régénération de tissu myocardique post-infarction pour rétablir une fonction cardiaque normale.
- **Tissus Osseux** : Utilisation dans la refonte des fractures complexes où les greffes conventionnelles échouent.
- **Tissus Cutanés** : Applications dans les greffes de peau pour traiter les brûlures graves.

Ces applications démontrent comment l'ingénierie tissulaire peut réduire les délais de guérison et améliorer les résultats de la transplantation.

Exemple : Dans la reconstruction chirurgicale, les implants de peau artificielle fabriqués par ingénierie tissulaire sont utilisés pour couvrir les surfaces corporelles exposées après une brûlure. Ces implants s'intègrent dans la peau existante et aident à régénérer de nouveaux tissus cutanés.

➤ **Application en Pharmacologie**

En pharmacologie, l'ingénierie tissulaire permet de développer des modèles de tissus plus précis pour la recherche sur les médicaments. Ces modèles peuvent être utilisés pour :

- Tester la toxicité des médicaments sur des cellules spécifiques.
- Comprendre l'absorption et le métabolisme des nouvelles molécules thérapeutiques.
- Étudier les interactions de médicaments dans un environnement contrôlé.

Un domaine prometteur dans l'ingénierie tissulaire est la création de modèles de maladies spécifiques. Ces modèles permettent d'étudier des pathologies complexes dans un cadre in-vitro très contrôlé. Par exemple, des tissus hépatiques artificiels peuvent être conçus pour étudier la cirrhose du foie, offrant un aperçu sans précédent des mécanismes de la maladie. Ces progrès permettent aux chercheurs de tester des traitements ciblés et de comprendre les effets à long terme des médicaments, rendant potentiellement la recherche clinique moins dépendante des essais sur des sujets humains.

Les modèles de tissus spécifiques sont essentiels pour la recherche sur le cancer, car ils permettent une analyse approfondie des interactions entre les cellules cancéreuses et les traitements expérimentaux