LES METHODES ALTERNATIVES ET LA STRATEGIE DES 3R QUELLE PLACE POUR L'INGENIERIE TISSULAIRE?

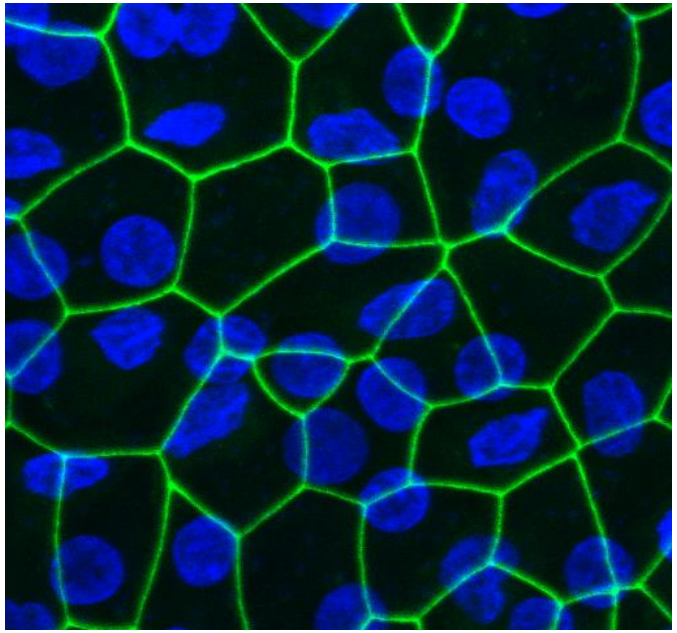
FRANCELYNE MARANO
UNIVERSITE DE PARIS, CNRS UMR 8251
GIS FRANCOPA

FRANCOPA

Qu’est-ce que l’ingénierie tissulaire?

L' **ingénierie tissulaire** (en anglais, **tissue engineering**) est l'ensemble des techniques faisant appel aux principes et aux méthodes de l' **ingénierie**, de la culture cellulaire, des sciences de la vie, des sciences des matériaux pour comprendre les relations entre les structures et les fonctions des **tissus** normaux et pathologiques des mammifères, afin de développer des substituts biologiques pouvant restaurer, maintenir ou améliorer les fonctions des **tissus**.

https://fr.wikipedia.org/wiki/Ingénierie_tissulaire



Culture de cellules bronchiques Humaines, coloration DAPI et ZO1
S.Boland, CNRS UMR 8251

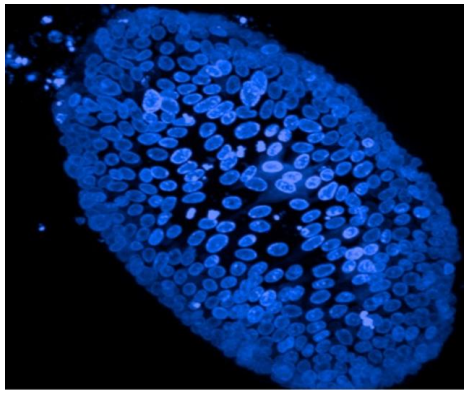
l’ingénierie tissulaire et ses applications

- **l'ingénierie tissulaire: c’est l’utilisation de cellules et de matrices intercellulaires pour effectuer de manière coordonnée des fonctions spécifiques caractéristiques d'un tissu:**
- **au carrefour des avancées de la biologie cellulaire fondamentale, des biotechnologies et des nanotechnologies.**
- **dont l'émergence date de la fin des années 1980 et qui utilise les connaissances accumulées sur les biopolymères, la culture de cellules et les facteurs de croissance.**
- **Larges applications possibles:**

  Médecine régénérative.

  Evaluation de l’efficacité et des effets adverses des médicaments.

  Evaluation de la toxicité des agents chimiques (REACH).



Organoïde de tissu humain (colon)
https://www.irsd.fr/organoides.html
Aude Rubio IRSD

Les techniques de l'ingénierie tissulaire

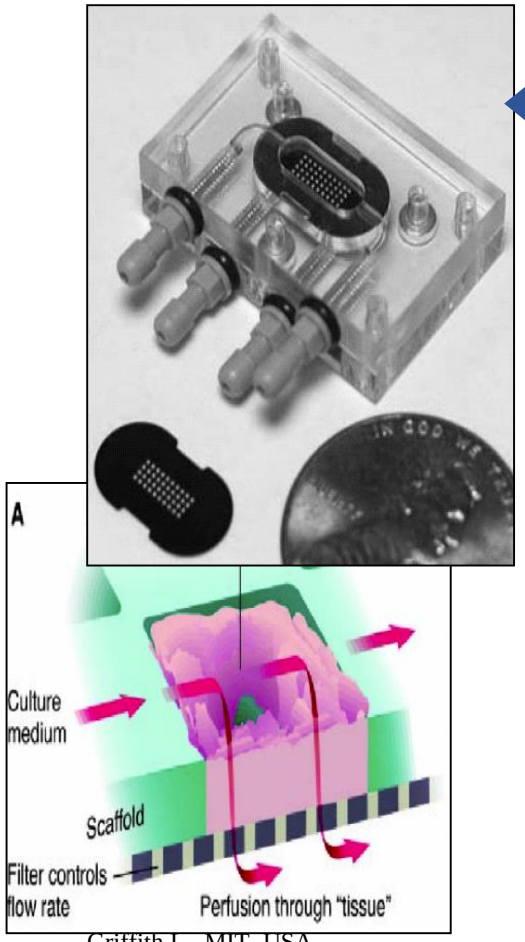
Ingénierie tissulaire:

Cultures et Co-cultures cellulaires

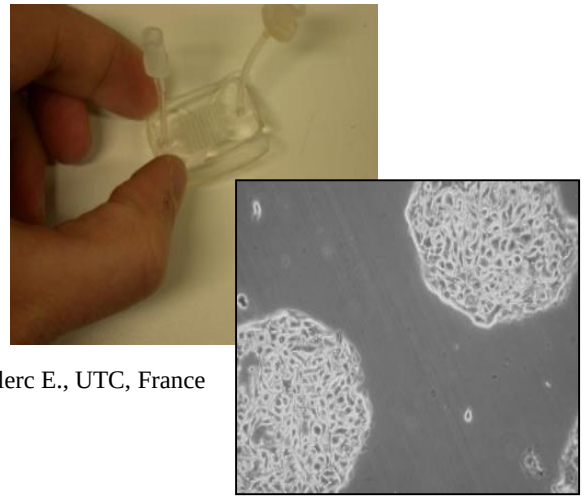
Organoïdes

Organes sur puce

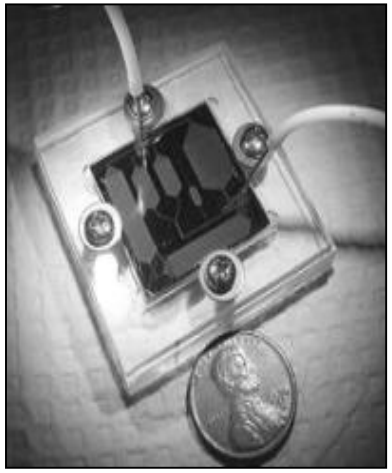
Bioimpression 3D

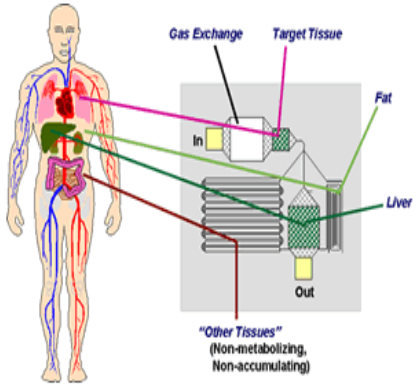


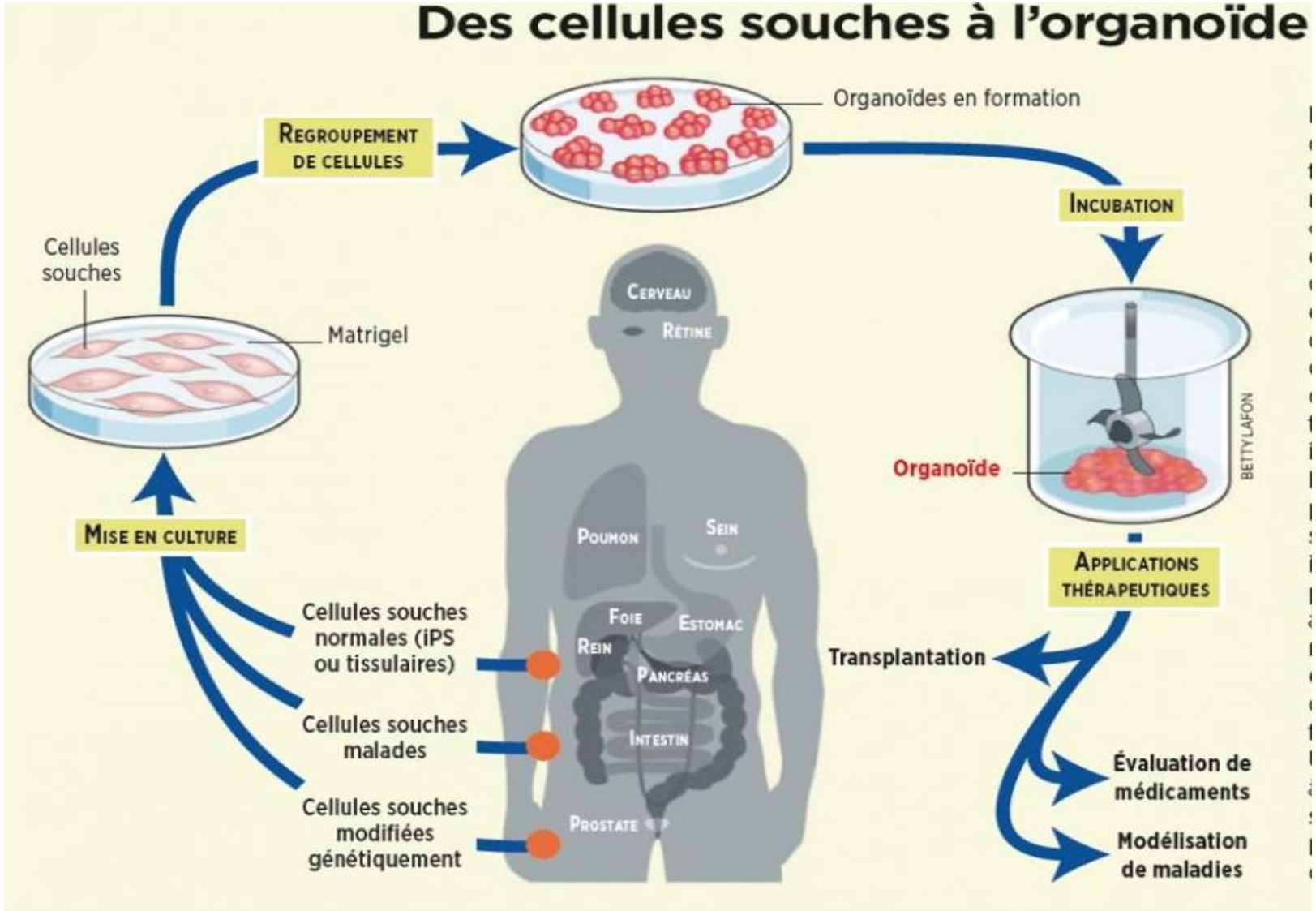
Griffith L., MIT, USA



Leclerc E., UTC, France





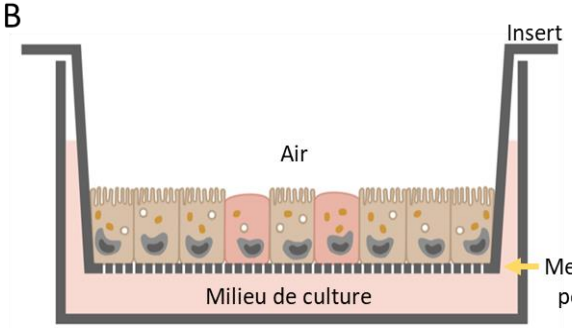

Des cellules souches à l'organoïde
Organoïdes en formation
Regroupement de cellules
Incubation
Cellules souches
Matrigel
Cerveau
Rétine
Organoïde
Poumon
Sein
Mise en culture
Applications thérapeutiques
Foie
Estomac
Rein
Pancréas
Transplantation
Cellules souches normales (iPS ou tissulaires)
Cellules souches malades
Intestin
Évaluation de médicaments
Cellules souches modifiées génétiquement
Prostate
Modélisation de maladies
BETTY LAFON

Les différents modes de culture: l'exemple de l'épithélium bronchique humain

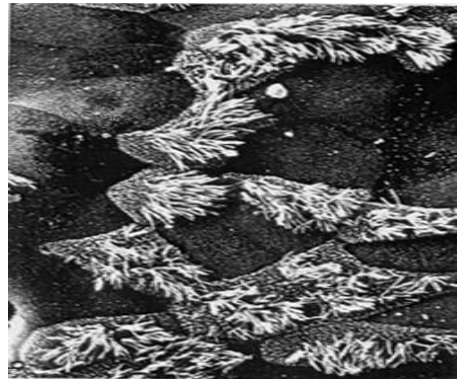
A

Culture 2D sur plastique

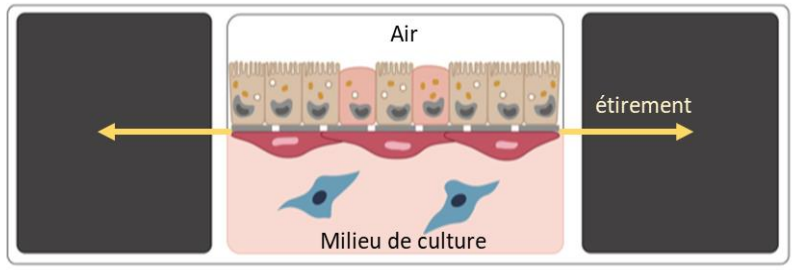
B



Culture 2D sur insert

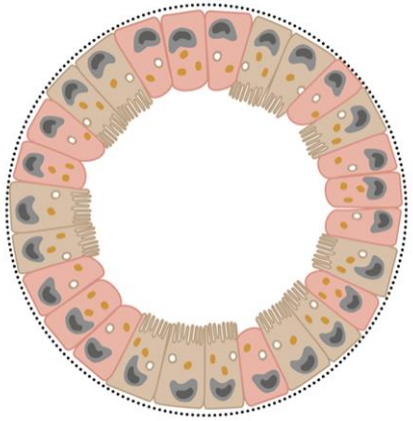


C

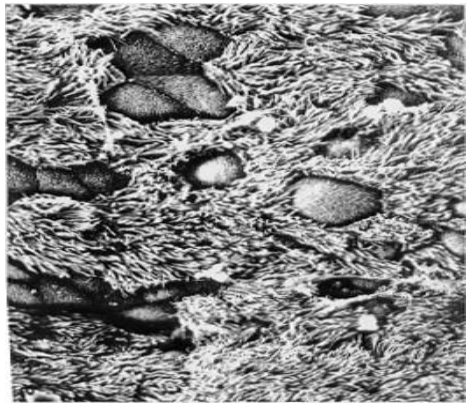


Co-culture en dispositif microfluidique

D



Culture 3D sphéroïde

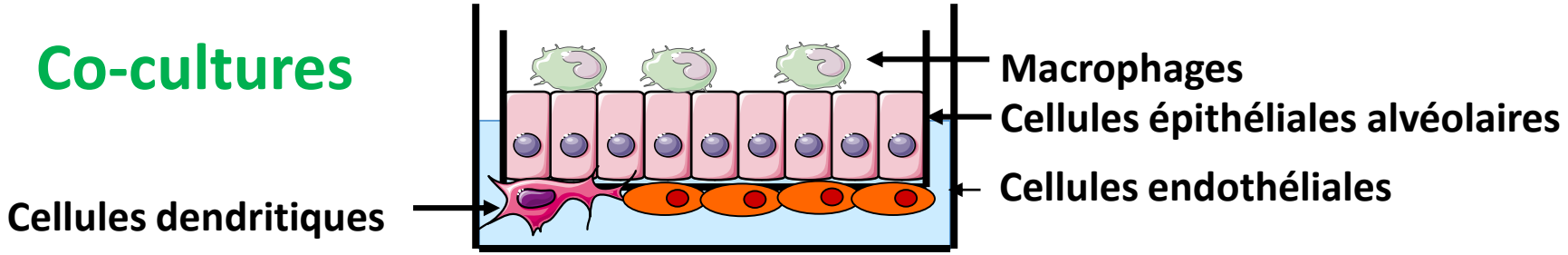


MEB x1900

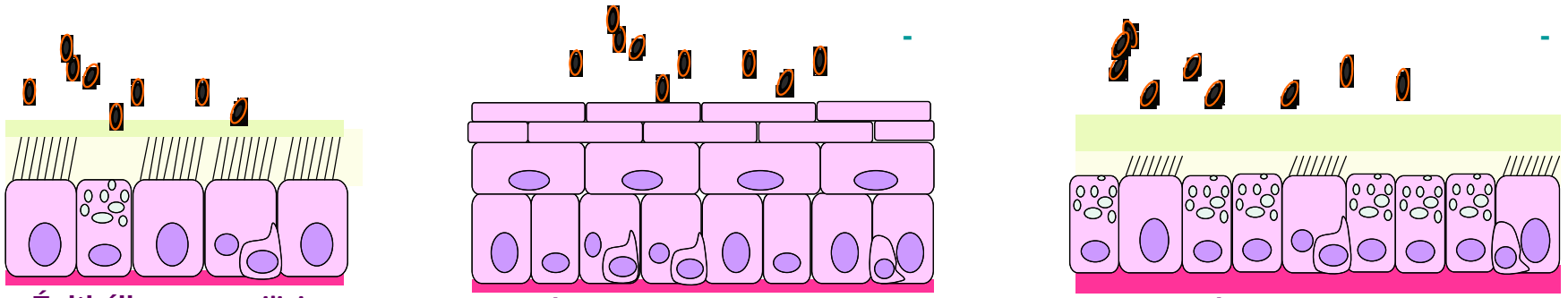
D'après « méthodes alternatives en expérimentation animale », A.Baeza, ed Quae 2021 p.101

Modèles d'épithélium complexes

Co-cultures



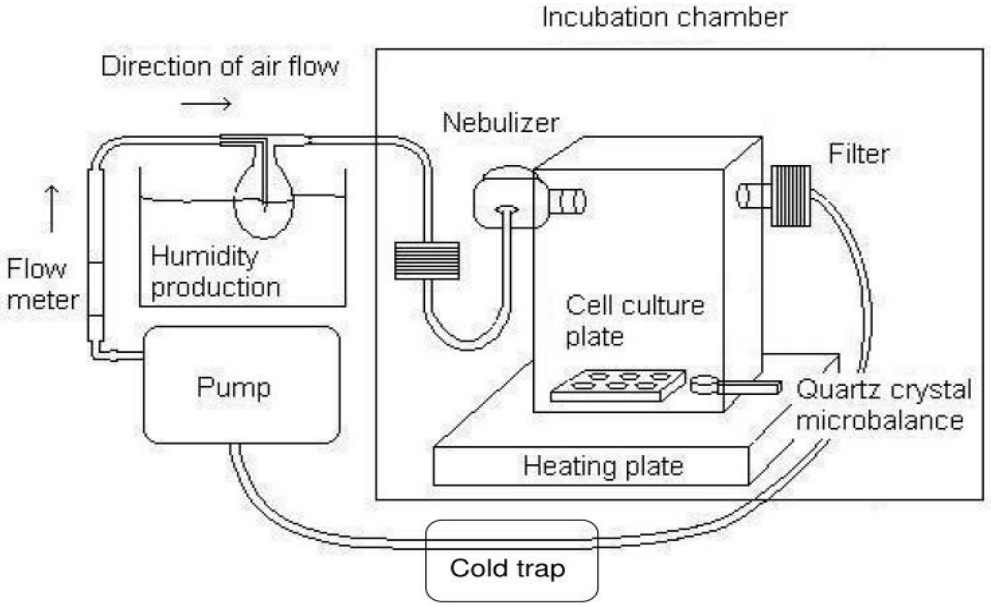
Épithélium bronchique différencié (normal et pathologique)



FRANCOPA

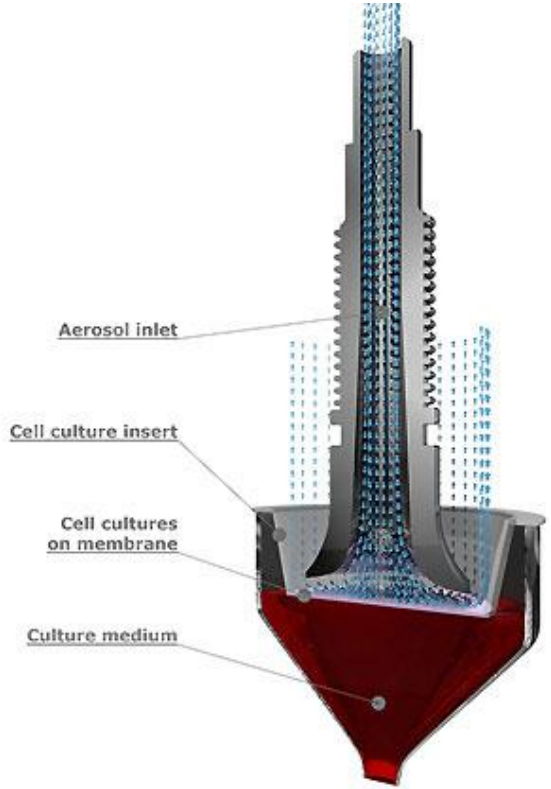
Application: Modèles d'exposition de cultures bronchiques à des aérosols

Système d'exposition en interface air-liquide « ALICE »



Lenz *et al.* Part Fibre Toxicol 2009

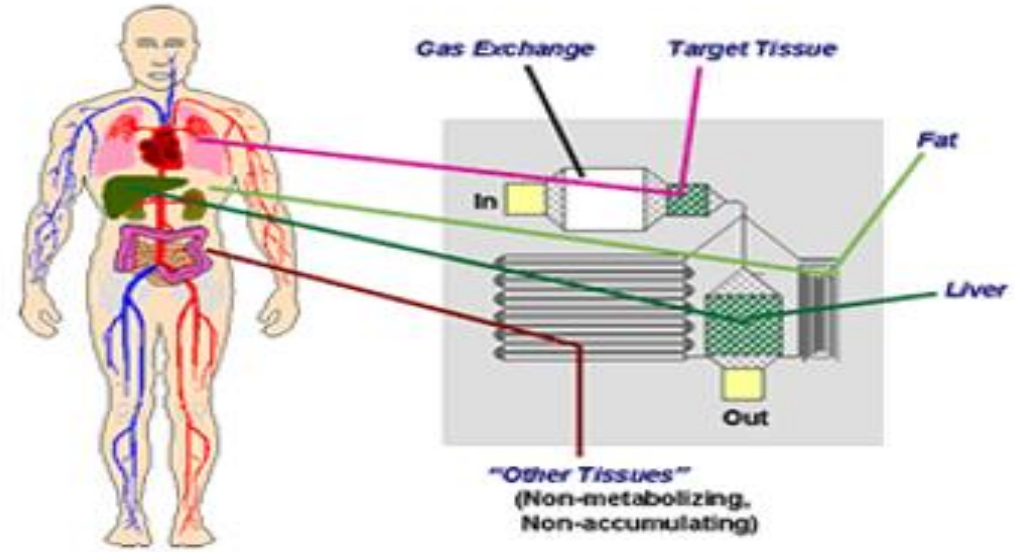
Vitrocell® system

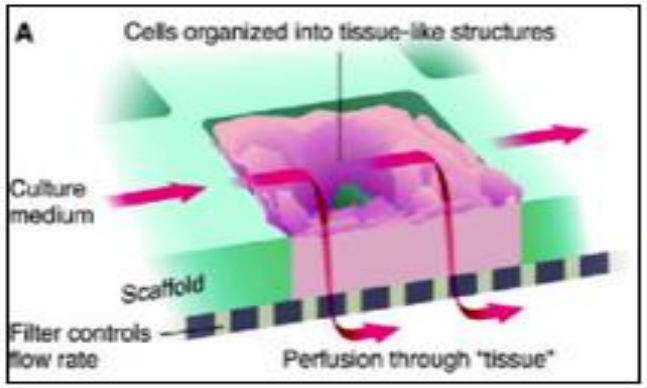


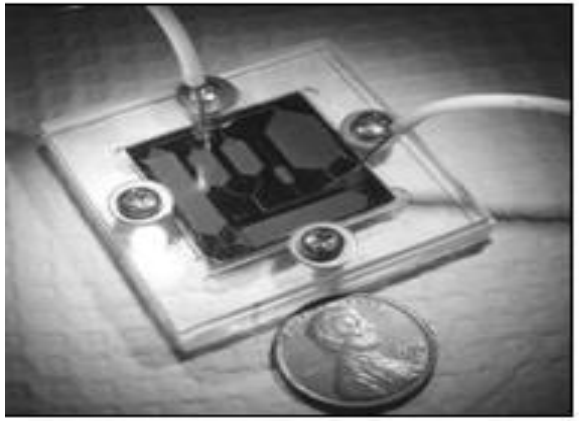
Exposition des cellules pendant au maximum 4 heures.

FRANCOPA

« L'homme sur puce »







Les 3R et les méthodes alternatives

- Russel et Burch en 1959
- Une méthode alternative permet:

➢ de Remplacer l'expérimentation animale

➢ de Réduire l'utilisation de l'animal dans des tests spécifiques

➢ de Raffiner une technique pour améliorer le bien-être animal

La place de l'ingénierie tissulaire dans l'application des 3R: Le contexte sociétal

- **Associations de défense des animaux très actives dont certaines « extrémistes ».**
- **Campagnes de presse et lobbying politique.**
- **Des enquêtes parlementaires: OPECST Rapport 21 Mars 2019**

« L'UTILISATION DES ANIMAUX EN RECHERCHE ET LES ALTERNATIVES À L'EXPÉRIMENTATION ANIMALE : ÉTAT DES LIEUX ET PERSPECTIVES »

→Pression de l'opinion publique nationale et, surtout, européenne pour réduire voire supprimer l'expérimentation animale.

FRANCOPA

La place de l'ingénierie tissulaire dans l'application des 3R:

Le contexte réglementaire

- **Directive 2010/63/UE relative à la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques:**
- **S'applique à tout usage (recherche fondamentale, appliquée, évaluation d'efficacité et des dangers des substances)**
- **S'applique aux animaux vertébrés, y compris les formes embryonnaires et aux céphalopodes.**
- **Renforce le principe des 3Rs.**

Nécessité de développer de nouvelles méthodes alternatives

➔**Problème de la fiabilité des méthodes déjà développées**

FRANCOPA

La place de l'ingénierie tissulaire dans l'application des 3R:

Le contexte réglementaire pour le contrôle de la sécurité sanitaire

Règlement REACH

(Registration Evaluation and Autorisation of Chemicals) en application du livre blanc sur les substances chimiques (100000 substances enregistrées en Europe) :

- **Augmenter la connaissance sur les substances existantes et nouvelles.**
- **Confier à l'industrie la responsabilité de l'évaluation du risque pour l'utilisateur.**
- **Limiter l'expérimentation animale.**

Coût évalué : 9 milliards €, 13 millions d'animaux

Règlement 1223/2009 pour les cosmétiques

- **interdiction de l'utilisation expérimentation animale, progressive.**

Règlement 1107/2009 pour les phytosanitaires

Règlement 528/2012 pour les biocides

Médicaments humains et vétérinaires, contrôle qualité des médicaments …

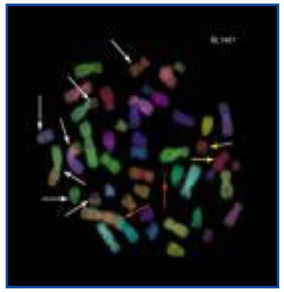
Les méthodes subtitutives validées
évaluation de la sécurité des produits chimiques

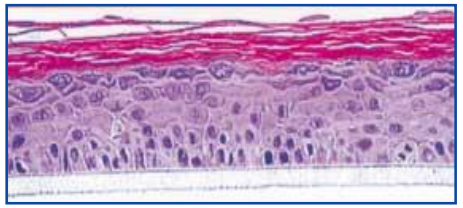
- **Génotoxicité:**
- **Tolérance locale (peau, yeux):**

  phototoxicité

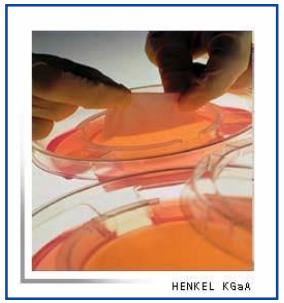
  corrosion

  irritation





- **“Screening” des produits chimiques**
- **Absorption percutannée**

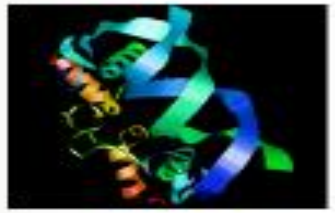


En conclusion

EXPERIMENTATIONS ESSAIS et SECURITE SANITAIRE

Volontaire sain, Observation patient

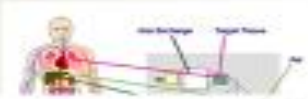
Epidémiologie



In vitro ...cellule -> protéine

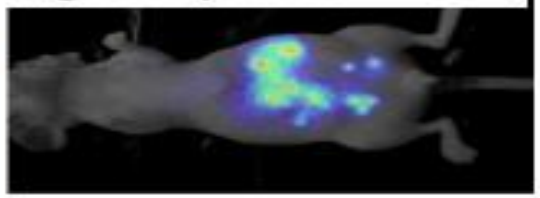
Organoides

Organoide intestinal



Homme sur Puce

Imagerie petit animal



Modèles biomathématiques

QSAR

Expérimentations

ESSAIS BIOESSAIS

Connaissance pratique médicale règlementations sécurité sanitaire

Savoir faire

F. Marano, P. Hubert,
L. Geoffroy, H. Juin

Quelles alternatives en expérimentation animale ?

Pratiques et éthique

éditions Quæ