



CentraleSupélec

Modélisation multi-physique d'un tumoroïde sur puce microfluidique pour les évaluations précliniques de médicaments

ÉTUDIANTS
HUGO HAKEM
MATHIS LEROI
OCTAVE PIGNET
NOË PRAT

PROFESSEUR RÉFÉRENT
BERTRAND DAVID

CLIENT
SIMONA MURA

RESPONSABLES PROJET
MICHAEL KIRKPATRICK
CRISTIAN PUENTES

PÔLE PROJET
BIOINGÉNIERIE ET SANTÉ



Table des matières

1 Résumé	4
2 Introduction	5
2.1 Contexte	5
2.2 Livrable et Objectif	6
2.3 Etat de l'art	7
3 Modélisation et résultats	10
3.1 Régime stationnaire	10
3.1.1 Description du modèle biologique	10
3.1.2 Choix d'un modèle 2D	11
3.1.3 Description et paramétrisation de la géométrie	12
3.1.4 Résultats et interprétations	15
3.1.4.1 Mode d'alimentation de la puce	15
3.1.4.2 Débit d'entrée et porosité du Matrigel	16
3.1.4.3 Étude de la limitation du débit	17
3.1.4.4 Variation du nombre (n) et de la taille (d) des micro-pilliers	19
3.1.4.5 Étude de la limitation en largeur des micro-canaux	21
3.2 Régime variable	22
3.2.1 Description du nouveau modèle	22
3.2.2 État de l'art des modèles de croissance	23
3.2.2.1 Exigences	23
3.2.2.2 Les effets du glucose et du dioxygène sur la croissance cellulaire	23
3.2.2.3 Des modèles de croissances empiriques	24
3.2.2.4 Un modèle centré sur l'oxygène	26
3.2.2.5 Un modèle centré sur le glucose	28
3.2.3 Résultats : modèle de croissance simplifié	30
4 Perspectives et conclusion	32
4.1 Perspectives	32
4.1.1 Régime variable : voies d'amélioration du modèle	32
4.1.2 Loi de croissance mixte	32
4.1.3 Difficulté du passage en 3D	33
4.2 Visite du C2N : une autre approche du problème	35
4.3 Conclusion	37
5 Remerciements	38
6 Bibliographie	39
7 Annexe	41
7.1 Calcul de la largeur maximale d'un micro-canal	41

Table des figures

1	Frise chronologique du développement des puces microfluidiques appliquées au cancer (source : [1])	5
2	Loi de Darcy : exprime le débit Q d'un fluide incompressible qui s'écoule en régime stationnaire au travers d'un milieu poreux de perméabilité de Darcy K , de section A et de longueur L sous l'effet d'une différence de charge ΔH	7
3	Schéma du micro-environnement tumoral (source)	8
4	Taux de réaction de consommation de l'espèce i (oxygène ou glucose) dans la tumeur, selon le modèle de Michaelis-Menten	9
5	Flacon de Matrigel du commerce	10
6	Tableau récapitulatif des paramètres biologiques du modèle	10
7	Description de la puce microfluidique - Une chambre centrale contenant l'organoiïde sphérique et le Matrigel, 2 canaux longitudinaux et 4 entrée/sortie.	11
8	Ancien modèle géométrique (à droite) et nouveau modèle symétrisé (à gauche) de notre étude.	12
9	Paramétrisation de la puce microfluidique : vue d'ensemble.	13
10	Paramétrisation de la puce microfluidique : zoom sur le micro-pilier encadré en rouge. <i>Terminologie : un micro-pilier désigne la partie hexagonale blanche/vide et un micro-canal la partie en noeud papillon grisée.</i>	13
11	Tableau récapitulatif des paramètres de la puce avec un exemple de jeux de données donnant la géométrie présentée en Figure 9	14
12	Modes d'alimentation - En rouge, les sorties et en vert les entrées de flux avec à gauche le modèle d'entrée UNILATÉRAL, au milieu celui ANTISYMÉTRIQUE et à droite le modèle SYMÉTRIQUE.	15
13	Profil de concentration en oxygène dans les 3 cas : mode UNILATÉRAL (à gauche), SYMÉTRIQUE (au milieu) et ANTISYMÉTRIQUE (à droite). Simulation réalisée avec un débit en entrée $q = 50\mu L/min$, $\epsilon_{Matrigel} = 0.9$, et une concentration initiale $C_{in}^{O_2} = 0.2mol/m^3$	15
14	Concentration moyenne d'O_2 au sein de l'organoiïde en fonction de la porosité du Matrigel et du débit en entrée dans le cas SYMÉTRIQUE pour une concentration initiale de $C_{in}^{O_2} = 0.2mol/m^3$	16
15	Répartition des contraintes de cisaillements dans un micro-canal , pour un débit entrant de $50\mu L/min$	17
16	Répartition des contraintes de cisaillements dans un micro-canal , pour un débit entrant de $5mL/min$	17
17	Exemple de réseau de boules représentatif d'un milieu poreux, de porosité 0.9	18
18	Évolution de la concentration en O_2 dans les deux cas d'entrée du flux en fonction du couple paramétrique (n,d) pour une concentration initiale de $0.2mol/m^3$	19
19	Classification des cas d'hypoxie ($c^{O_2} < K_{m,O_2}$) : absence d'hypoxie (en vert), très légère surface hypoxique (en orange : $< 10\%$ de la surface globale de l'organoiïde), grande surface hypoxique (en rouge : $> 40\%-90\%$ de la surface globale de l'organoiïde)	19
20	Évolution de la concentration de glucose dans les deux cas d'entrée du flux en fonction du couple paramétrique (n,d) pour une concentration initiale de $25mol/m^3$	20

21	Classification des cas d'hypoxie ($c^{Glu} < K_{m,Glu}$) : absence d'hypoxie (en vert), très légère surface hypoxique (en orange : < 10% de la surface globale de l'organoïde), grande surface hypoxique (en rouge : > 40%-90% de la surface globale de l'organoïde)	20
22	Évolution de la fonction <i>f1c1hs</i> pour d = 1	22
23	Modèle classique de croissance cellulaire issu du modèle de Gompertz. Crédit illustration : Antoine Campeau-Péloquin, Sophie Roy, Gilles Chabot, CCDMD.	24
24	Partitions linéaire (en haut à gauche) et logarithmique (en bas à gauche) de la tumeur, profil de concentration d'oxygène (à droite) (source : [15])	27
25	Paramètres du modèle et de la loi de croissance	30
26	Évolution de $N(t)$ et $R(t)$	30
27	Profil de la porosité pour t = 0s	31
28	Profils de concentration successifs pour t = 0s, t = 30 min, t = 3h, t = 3h45	31
29	Dispositif d'alimentation de la puce	35
30	La puce microfluidique et ses tuyaux d'alimentation (à gauche), et la vue à la caméra du microscope (à droite)	36

1 Résumé

Ce présent rapport synthétise notre travail portant sur la réalisation d'un jumeau numérique d'un tumoroïde sur puce microfluidique. L'objectif est d'élaborer une modélisation COMSOL multiphy-sique de ce type de puce pour décrire la façon dont les nutriments comme le dioxygène et le glucose diffuse au sein de la puce et la façon dont ils sont consommés par l'organoïde. Il est alors possible d'étudier la viabilité d'un tumoroïde sur puce microfluidique ce qui est une donnée importante, les tests en laboratoires se faisant sur des durées importantes (de l'ordre du mois).

L'objectif premier d'un jumeau numérique est de limiter le nombre d'expérimentation réelles et ainsi de limiter les coûts. Ainsi, la motivation principale de notre cliente Simona Mura ainsi que de notre encadrant pédagogique Bertrand David était initialement de pouvoir étudier l'influence de différents médicaments sur le tumoroïde. Il aurait alors pu être possible de définir quel médicament est plus efficace qu'un autre et ce sans réaliser l'expérimentation réelle ce qui aurait constitué un gain de temps et financier. Cependant, au fur et à mesure de notre travail, nous nous sommes rendu qu'il était impossible de modéliser l'effet de différents traitements médicamenteux car il n'existe pas dans la documentation de modèle se basant sur les propriétés intrinsèques d'un médicaments. Il ne s'agit bien souvent que de modèle paramétré grâce à des systèmes d'apprentissage sur des jeux de données expérimentales propres à l'utilisation d'un médicament bien précis. Ces derniers ne sont donc pas généralisable.

Toutefois nous avons pu déterminer une tout autre motivation à notre travail. L'optimisation de la géométrie d'une puce microfluidique pour améliorer la viabilité du tumoroïde. En effet, notre étude de la littérature ainsi que nos discussions avec notre cliente ont révélé que pour la plupart des expérimentations sur puce microfluidique, un seul type de puce est utilisé et ce sans vraiment comprendre la raison d'une telle géométrie. Notre jumeau numérique permet donc d'étudier facilement l'influence de la géométrie d'une puce microfluidique sur la viabilité d'un tumoroïde. Ainsi notre projet constitue un intérêt de recherche, car il permet d'offrir une nouvelle géométrie de puce microfluidique optimale, et ce sans devoir produire ces puces.

Ce document présente donc en première approximation une étude en régime stationnaire d'un organoïde sur puce microfluidique. Nous présentons en outre une géométrie optimale permettant de maximiser la viabilité de notre organoïde. Puis, il est abordé dans un second temps une étude en régime variable. L'ensemble de nos efforts de documentations sur les lois de croissances ainsi que nos méthodes de modélisation et difficultés rencontrées sont entre autre abordés.

Enfin des perspectives d'amélioration sont présentées pour nos successeurs, et sera joint à ce rapport, nos modélisations ainsi que des tutoriels vidéo pour permettre une prise en main rapide de notre travail.

2 Introduction

2.1 Contexte

Le développement de puces microfluidiques pour l'étude des cancers est assez récent, puisqu'il a débuté pendant les années 2010, comme le montre la figure 3. Les moyens plus conventionnels de culture cellulaire utilisés dans les tests précliniques sont les suivants : la culture *in vivo*, utilisant des modèles animaux (majoritairement des rongeurs), et la culture *in vitro*, dans laquelle on trouve des cultures 2D ou 3D statiques (utilisant des sphéroïdes dans un gel)[1], [2].

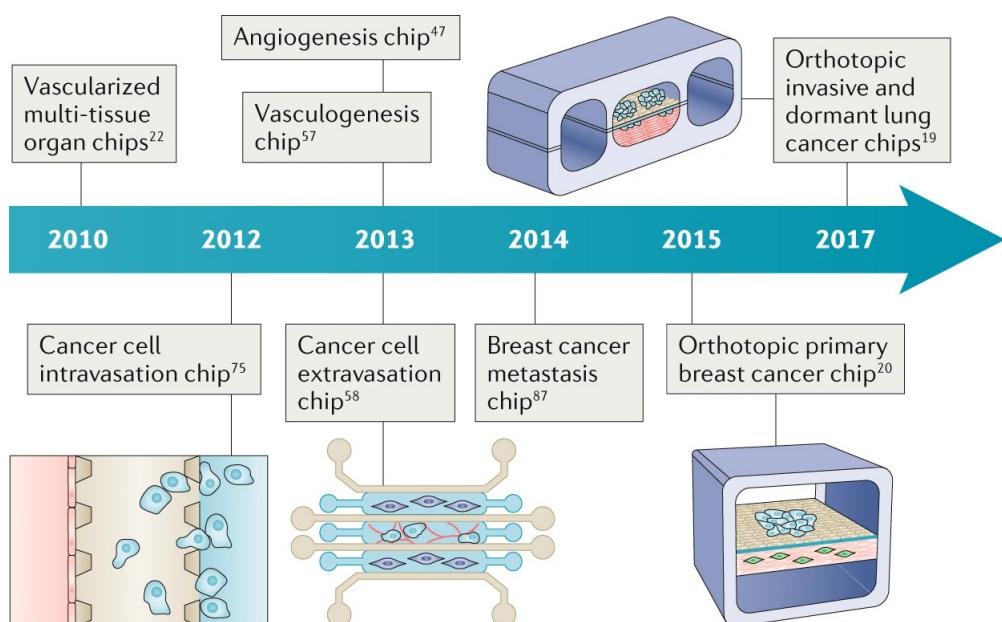


FIGURE 1 – Frise chronologique du développement des puces microfluidiques appliquées au cancer (source : [1])

Les formes de culture conventionnelles ne modélisent pas toutes les particularités d'une tumeur. En effet, différentes cellules de support s'accumulent autour de celle-ci formant ce que l'on appelle un *micro-environnement tumoral* (une définition plus précise se trouve en 2.3), qui va créer des conditions favorables au développement du cancer, et gêner la diffusion de la chimiothérapie [2]. Cependant, les modèles animaux ne recréent pas un micro-environnement tumoral humain, même si le cancer greffé vient de l'homme, et cet aspect n'est pas du tout présent dans les cultures 2D. Les cultures 3D peuvent simuler cela grâce à l'insertion d'un gel et de cellules endothéliales. De plus, les cultures *in vitro* statiques ne permettent pas de considérer l'effet de l'écoulement du substrat [1].

Les puces microfluidiques sont par conséquent un moyen de simuler ces phénomènes qui a l'avantage de contrôler les paramètres physiques de la culture, tels que les gradients de concentration, les contraintes de cisaillement ou la pression hydrostatique [1]. Un modèle numérique permettrait alors de prédire les valeurs de ces paramètres.

2.2 Livrable et Objectif

La réussite du projet se déterminera donc par notre capacité à livrer une modélisation COMSOL la plus complète possible d'une puce microfluidique. Notre point de départ était constitué du travail du groupe précédent portant sur la modélisation multiphysique d'un Immuno-Organoïde de glande salivaire dans le Syndrome de Sjögren au sein d'une puce microfluidique. Nos prédécesseurs ont élaboré une modélisation ne tenant compte comme seule substrat pour leur organoïde le dioxygène. Ils nous ont fourni une géométrie de puce non symétrique (comme nous pourrons le voir plus tard en Figure 8). Et ils ont étudié deux modèles de viscosité (le modèle de viscosité variable et celui de Darcy) ce qui nous a éclairé pour choisir le modèle optimale. Enfin nous avons pu obtenir une compréhension plus générale du sujet grâce à leur état de l'art et avons pu mesurer et noter les difficultés qu'ils ont rencontrées sur COMSOL.

Ainsi, compte tenu de ce point de départ, nous avons pu nous fixer des objectifs réalistes et pertinents avec notre cliente Simona Mura ainsi que notre responsable pédagogique Bertrand David pour atteindre un niveau le plus satisfaisant possible quant à l'élaboration d'un jumeau numérique d'un organoïde tumorale sur puce microfluidique.

1. Le point d'avancement minimal était de réaliser une modélisation COMSOL d'une puce microfluidique en 2D en régime stationnaire. Pour ce faire, nous avons convenu qu'il fallait réaliser les étapes suivantes :
 - Symétriser la géométrie COMSOL 2D fourni par nos prédécesseurs .
 - Déterminer dans le cadre d'une tumeur cancéreuse des nouvelles valeurs de paramètres : rayon de la tumeur, perméabilité, porosité, viscosité de l'organoïde, taux de réaction de consommation (du dioxygène, du glucose, du traitement thérapeutique).
 - Choisir le modèle de viscosité le plus adapté : Darcy ou viscosité variable ?
 - Modéliser trois milieux distincts : le fluide, la matrice d'hydrogel (dans lequel l'organoïde se développe) et l'organoïde. Il s'agit d'une modification majeur par rapport au travail précédent car il s'agit non pas d'implémenter une énième zone visqueuse avec des paramètres de viscosité adaptés mais d'implémenter une zone poreuse. Il en découle qu'il est nécessaire de déterminer le coefficient de diffusion des espèces du fluide dans l'hydrogel.
 - Enfin nous avons suggéré de rendre la géométrie du groupe précédent entièrement paramétrique pour ainsi être capable de faire varier la taille ou le nombre de micro-canaux ou d'autres paramètres géométriques en modifiant simplement les paramètres correspondants et non pas en redéfinissant complètement la géométrie à chaque fois. Ceci implique une modification complète de la géométrie de nos prédécesseur, donc de repartir de zéro, mais présente l'avantage de rendre des balayages paramétriques possibles.
2. Une fois que le modèle était en place, le second point d'avancement impliquait de passer à la phase de tests :
 - Variation du débit d'entrée.
 - Variation du sens des débits.
 - Variation de la porosité du matrigel (qui s'avère être variable selon le temps gélification)
 - Balayage paramétrique selon : le nombre de micro-canaux, ou la taille de ces derniers.
3. En troisième lieu, nous devions défricher le problème du régime variable et idéalement aboutir à une modélisation fonctionnelle proposant une étude temporelle :
 - Prise en compte de la prolifération cellulaire.

4. Enfin si nous parvenions à remplir chacune de ces étapes et que le temps le permettait, une modélisation 3D était envisageable mais il ne s'agissait pas de la priorité.

Ainsi en accord avec ces objectifs et exigences, nous livrerons deux modélisations COMSOL, l'une sur le régime stationnaire, l'autre sur le régime variable, ainsi que des tutoriels vidéo sur notre initiative expliquant comment prendre en main ces fichiers. Bien entendu ce présent rapport fait également partie des livrables attendus.

2.3 Etat de l'art

Nous présentons dans cette partie les différentes notions techniques nécessaires à la compréhension de notre travail.

Loi de Darcy

La loi de Darcy est une relation empirique qui décrit l'écoulement d'un fluide incompressible à travers un milieu poreux. Cette loi est très utilisée dans de nombreux domaines. Son expression est donnée en Figure 2.

$$Q = KA \frac{\Delta H}{L} \quad (1)$$

FIGURE 2 – Loi de Darcy : exprime le débit Q d'un fluide incompressible qui s'écoule en régime stationnaire au travers d'un milieu poreux de perméabilité de Darcy K , de section A et de longueur L sous l'effet d'une différence de charge ΔH .

Choisir la loi de Darcy pour modéliser les écoulements à travers la puce microfluidique revient à choisir de modéliser l'organoïde et le Matrigel (gel imitant le comportement de la matrice extra cellulaire, présent dans la chambre de la puce, autour de l'organoïde) par des milieux poreux dans COMSOL. Les calculs sont ensuite réalisés par COMSOL.

Propriétés mécaniques des milieux poreux

Puisque nous assimilons le Matrigel et l'organoïde à des milieux poreux, il nous faut fournir à COMSOL des valeurs de porosité, de perméabilité et de diffusivité des espèces pour caractériser ces "matériaux", n'existant naturellement pas dans la bibliothèque de matériaux de COMSOL.

La porosité d'un matériau est la mesure de la quantité d'espace vide dans celui-ci. Comprise entre 0 et 1, un matériau ayant une porosité proche de 1 présente un grand volume d'espace vide, tandis qu'un matériau ayant une porosité proche de 0 présente peu d'espace vide, donc peu d'espace pour l'écoulement des fluides. Les valeurs de porosité considérées pour l'organoïde et le Matrigel seront données dans la partie Modélisation, mais il faut savoir que la porosité du gel est en fait partiellement contrôlable, via le temps de gélation et sa concentration.

La perméabilité d'un matériau poreux est le paramètre K de la loi de Darcy présentée précédemment. C'est la mesure de la capacité du matériau à permettre le passage d'un fluide. Elle dépend

de nombreux paramètres, en particulier de la porosité et de la viscosité du fluide. Les valeurs de perméabilité considérées sont présentées dans la partie 3 - Modélisation et résultats.

La diffusivité du glucose et de l'oxygène sont différentes dans le gel et dans l'eau. Il nous a fallu trouver dans la littérature des valeurs de diffusivité pour l'eau puis COMSOL en déduit, à l'aide de la valeur de porosité, la diffusivité dans le milieu poreux concerné selon la loi $D_{i,poreux} = \epsilon_{poreux} D_{i,eau}$. Ces valeurs sont données avec leurs sources dans la partie 3 - Modélisation et résultats.

Micro-environnement tumoral

Le *micro-environnement tumoral* est l'ensemble des cellules non-cancéreuses, des molécules et des vaisseaux sanguins ou lymphatiques situés autour de la tumeur et qui interagissent avec elle. Il contient le *tissu stromal*, conjonctif au tissu hôte de la tumeur, composé de fibroblastes, de cellules immunitaires et endothéliales. Un autre composant du micro-environnement tumoral est la *matrice extracellulaire* : c'est un réseau tridimensionnel de protéines structurelles (collagène ou élastine par exemple) situé entre les cellules [3].

Dans les expériences envisagées par le C2N, la matrice extracellulaire sera modélisée par un hydrogel à base de fibrinogène, collagène, aprotinine et thrombine. Le tissu stromal est émulé avec des cellules endothéliales qui forment un réseau vasculaire, avant d'insérer le sphéroïde cancéreux. Cependant, comme il nous semble impossible de modéliser fidèlement un réseau vasculaire sur COMSOL (et que cela ne fait pas l'objet d'une demande de notre client), nous l'assimilerons à une modification de la porosité.

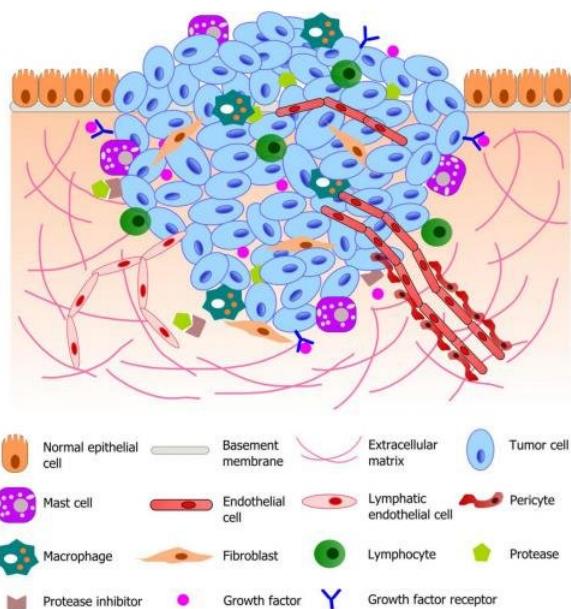


FIGURE 3 – Schéma du micro-environnement tumoral ([source](#))

Lois de consommation

Les lois de consommation des cellules en nutriments, c'est-à-dire dioxygène et glucose, ont été modélisées selon le modèle de Michaelis-Menten. Cette modélisation relativement simple nous a été donné par Bertrand David, notre professeur référent. Cette loi est donnée en figure 4, avec R^i le taux de réaction de consommation de l'espèce i (oxygène ou glucose) dans la tumeur, n_{cell} le nombre de cellule, V_{max}^i la consommation maximale d'une cellule, c^i la concentration en espèce, q le débit volumique, C_{in}^i la concentration entrante, et K_m^i la constante de Michaelis-Menten.

$$R^i = -\frac{n_{cell} * V_{max}^i * c^i}{q * C_{in}^i * (c^i + K_m^i)} \quad (2)$$

FIGURE 4 – Taux de réaction de consommation de l'espèce i (oxygène ou glucose) dans la tumeur, selon le modèle de Michaelis-Menten

Cette loi, facilement modifiable dans la modélisation si nécessaire, permet d'avoir une bonne observation des consommations de la tumeur, mais a nécessité des recherches afin de trouver les valeurs des constantes des deux lois de consommations (oxygène et glucose). Une grande attention a été portée sur la cohérence des valeurs sélectionnées, pour bien rendre compte des proportions de consommations entre oxygène et glucose. Ces valeurs sont données en partie 3 - Modélisation et résultats.

3 Modélisation et résultats

Nous allons désormais détailler dans cette partie les différents modèles développés pour simuler le comportement de l'organoïde en régime stationnaire puis variable. Nous justifierons les hypothèses et les valeurs des paramètres biologiques choisies dans chacun des cas. Enfin, nous présenterons les résultats obtenus ainsi que les interprétations possibles qui en découlent.

3.1 Régime stationnaire

3.1.1 Description du modèle biologique

A partir des indications de notre client, nous avons établi un modèle biologique standard : l'organoïde tumoral consiste en un agrégat de 4000 cellules, des fibroblastes caractéristiques du tissu conjonctif ayant chacune un volume de $4000 \mu\text{m}^3$. Cet organoïde est un sphéroïde de $200 \mu\text{m}$ de rayon localisé au milieu de la chambre centrale de la puce microfluidique. La porosité de l'organoïde est donc de 0.52.

Suite à nos nombreuses recherches bibliographiques sur le sujet, nous avons intégré au modèle un milieu extracellulaire représenté par de l'hydrogel. Ce matériau est modélisé par un milieu poreux proche de l'ECM (la matrice extracellulaire humaine) qui entoure l'organoïde tumoral dans la chambre centrale. En comparaison avec le modèle initial où l'eau environnait simplement l'organoïde, nous observons bien une plus grande difficulté pour les espèces à diffuser dans l'hydrogel et donc dans l'organoïde. Nous obtenons ainsi un modèle plus concret de diffusion des espèces dans la puce.



FIGURE 5 – Flacon de Matrigel du commerce.

L'ensemble des paramètres biologiques du modèle implémentés sur COMSOL est restitué ci-dessous.

FIGURE 6 – Tableau récapitulatif des paramètres biologiques du modèle

Paramètre	Valeur	Description	Source
$\epsilon_{Organode}$	0.52	Porosité de l'organoïde	-
$\epsilon_{Matrigel}$	0.9	Porosité du Matrigel	$\approx \epsilon_{ECM}$
V_{max,O_2}	$5e - 17 [\text{mol}/\text{s}]$	Consommation maximale en oxygène d'une cellule	[4]
K_{m,O_2}	$4.5e - 5 [\text{mol}/\text{m}^3]$	Constante de Michaelis-Menten pour l'oxygène	[4]
$V_{max,Glu}$	$2.5e - 15 [\text{mol}/\text{s}]$	Consommation maximale en glucose d'une cellule	[5]
$K_{m,Glu}$	$2.5e - 3 [\text{mol}/\text{m}^3]$	Constante de Michaelis-Menten pour le glucose	[5]
$D_{Glu,eau}$	$6.07e - 10 [\text{m}^2/\text{s}]$	Diffusivité du glucose dans l'eau	[6]
$D_{O_2,eau}$	$2.5e - 9 [\text{m}^2/\text{s}]$	Diffusivité de dioxygène dans l'eau	[7]

On définit ensuite les entrées et sorties du système le long des canaux longitudinaux de part et d'autre de la chambre centrale.

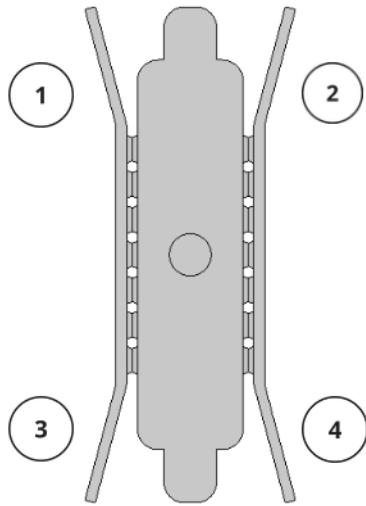


FIGURE 7 – Description de la puce microfluidique - Une chambre centrale contenant l’organoïde sphérique et le Matrigel, 2 canaux longitudinaux et 4 entrée/sortie.

3.1.2 Choix d'un modèle 2D

Tout au long de notre travail nous avons fait le choix de continuer à travailler en deux dimensions pour plusieurs raisons : le passage à une géométrie 3D qui en lui même représente un véritable travail laborieux de reconfiguration propre de la géométrie (problème de maillage, de congés angulaires,...) aurait impliqué un temps de calcul beaucoup plus élevé ralentissant l'avancée de notre travail, or la volonté de notre client était d'obtenir rapidement des résultats capables d'expliquer des grandes tendances du modèle réel en laboratoire. Le modèle 2D nous a permis de demeurer flexible et d'interagir efficacement avec le client : de part nos simulations et les recommandations de nos encadrants, nous avons pu chaque semaine apporter des modifications incrémentales à notre modèle et ainsi fournir rapidement de nouveaux résultats.

3.1.3 Description et paramétrisation de la géométrie

Afin d'obtenir une simulation réaliste, et pouvoir jouer sur divers modes d'alimentation avec des arrivées et sorties différentes, nous avons commencé par symétriser le modèle géométrique du groupe précédent.

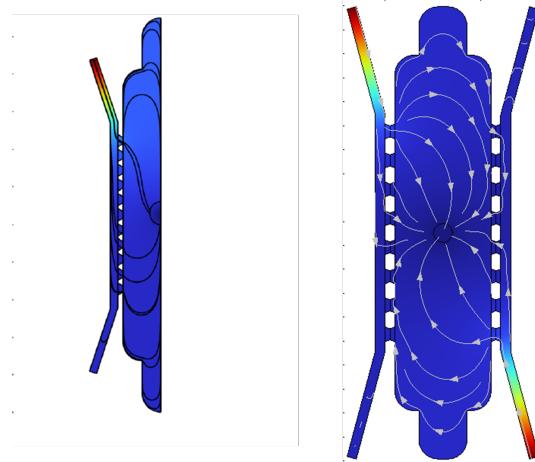


FIGURE 8 – Ancien modèle géométrique (à droite) et nouveau modèle symétrisé (à gauche) de notre étude.

Ensuite nous nous sommes rendu compte que l'ensemble des données géométriques de la puce correspondaient à des données algébriques fixes ce qui rendait notre modèle peu malléable. Ainsi nous avons cherché à paramétriser l'ensemble de la puce ce qui impliquait une refonte complète de la géométrie. Cette étape préalable était nécessaire afin de pouvoir réaliser un balayage paramétrique sur les différentes données géométriques de la puce microfluidique et ainsi étudier quelle configuration permettrait de maximiser la concentrations des espèces en solution (glucose et oxygène) au sein de l'organoide. Voir les Figures 9 et 10 ci-dessous pour une explication de la paramétrisation.

Nous avons, suite à de nombreux échanges, établis les paramètres d'intérêt que nous allions faire varier lors de nos analyses. A débit d'entrée constant, concentration des espèces et taille de l'organoide initiales fixes, nous avons décidé de faire varier principalement la taille (d) et le nombre de micro canaux (n) de la puce. De plus, pour être conforme aux attentes du client, nous avons affiné la géométrie des micro-piliers (les espaces séparant deux micro-canaux). Nous sommes passés d'une forme trapézoïdale à une forme hexagonale. L'explication détaillée de la paramétrisation du fichier COMSOL sera dans la vidéo intitulé *Paramétrisation.mp4*

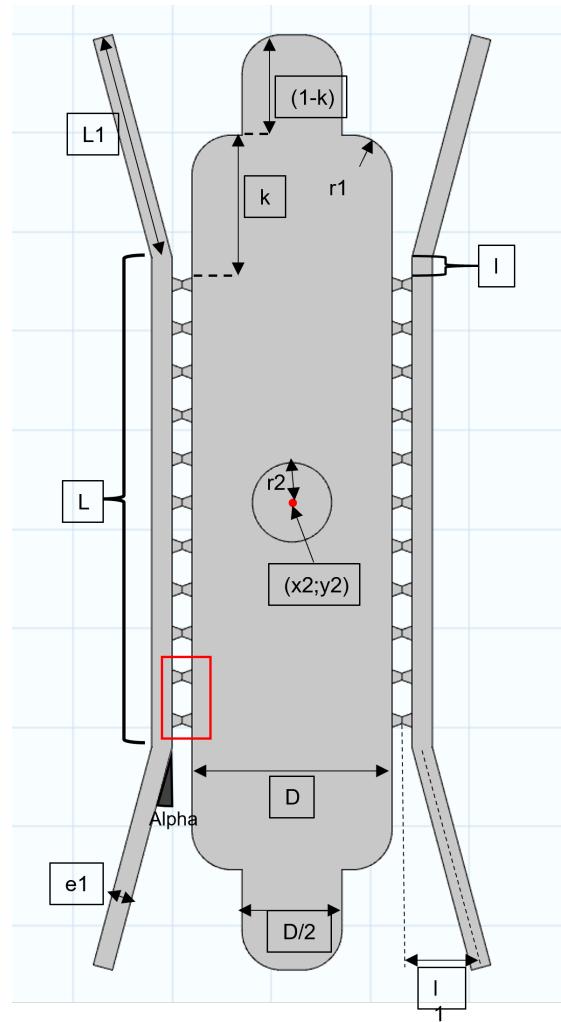


FIGURE 9 – Paramétrisation de la puce microfluidique : vue d'ensemble.

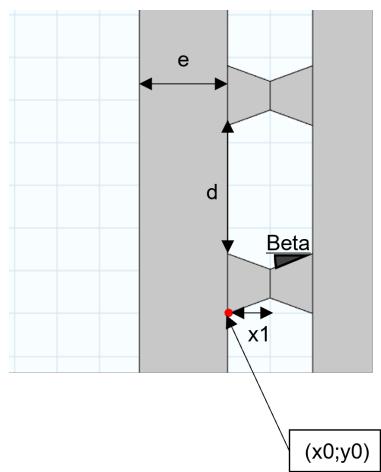


FIGURE 10 – Paramétrisation de la puce microfluidique : zoom sur le micro-pilier encadré en rouge. Terminologie : un micro-pilier désigne la partie hexagonale blanche/vide et un micro-canal la partie en noeud papillon grisée.

FIGURE 11 – Tableau récapitulatif des paramètres de la puce avec un exemple de jeux de données donnant la géométrie présentée en Figure 9

Variable	Valeur	Description
x_0	0	Coordonnée 00 du premier micro-canaux
y_0	0	Coordonnée 00 du premier micro-canaux
x_1	0.1[mm]	Largeur des microcannaux
n	10	Nombre de microcannaux
d	0.3[mm]	Taille micro pillier
beta	20 [°]	Angle trapese
L	4.94[mm]	Longueur totale du cannal
l	0.2[mm]	Longueur avant un premier microcannal
e	0.2[mm]	Largeur / épaisseur du microcannal
alpha	15	Angle branche en degré
e_1	$\frac{e}{\cos(\frac{\text{alpha} \cdot \pi}{180})}$	Epaisseur des branches coudé
l_1	0.80[mm]	Espace du bout de la branche coudé au milieu du premier microcannal
L_1	$\frac{l_1 - x_1 - e_1/2}{\sin(\frac{\text{alpha} \cdot \pi}{180})}$	Longueur de la branche coudée
D	2.02[mm]	Largeur de la chambre centrale
r_1	0.4[mm]	Rayon des congé des rectangles limitant la chambre centrale
k	0.55	Coefficient, longueur portion des deux rectangles"
r_2	0.4[mm]	Rayon organoïde
x_2	$x_0 + 2.x1 + \frac{D}{2}$	Position organoïde
y_2	$y_0 - l + \frac{L}{2}$	Position organoïde
l_2	0[mm]	Longueur supplémentaire du gros rectangle centrale
l_3	0[mm]	Longueur supplémentaire du gros rectangle centrale

3.1.4 Résultats et interprétations

Dans le cadre de nos simulations en régime stationnaire, nous avons décidé d'étudier l'influence de certains paramètres en entrée du système pour optimiser le fonctionnement de la puce et ainsi maximiser la concentration des espèces diluées au sein de l'organoiide. Notre travail s'est porté sur les paramètres suivants : le débit d'entrée, la porosité du Matrigel, le nombre et la taille des micro-pilliers ainsi que le mode d'alimentation du flux de la puce.

3.1.4.1 Mode d'alimentation de la puce

Nous avons défini tout d'abord 3 modes d'alimentation de la puce, le cas UNILATÉRAL, SYMÉTRIQUE et ANTI-SYMMÉTRIQUE.

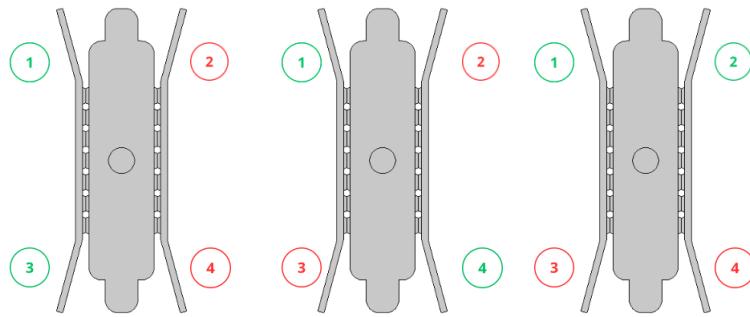


FIGURE 12 – Modes d'alimentation - En rouge, les sorties et en vert les entrées de flux avec à gauche le modèle d'entrée UNILATÉRAL, au milieu celui ANTI-SYMMÉTRIQUE et à droite le modèle SYMÉTRIQUE.

Nous avons pu tracer ainsi les différents profils de concentration en oxygène pour observer les mécanismes de diffusion au sein de la puce.

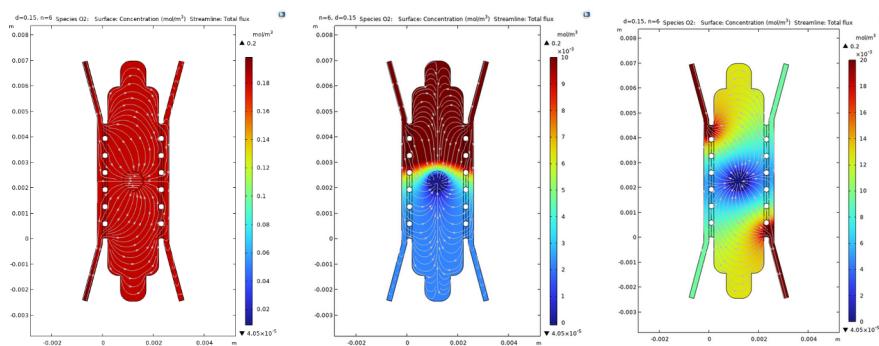


FIGURE 13 – Profil de concentration en oxygène dans les 3 cas : mode UNILATÉRAL (à gauche), SYMÉTRIQUE (au milieu) et ANTI-SYMMÉTRIQUE (à droite). Simulation réalisée avec un débit en entrée $q = 50\mu L/min$, $\epsilon_{Matrigel} = 0.9$, et une concentration initiale $C_{in}^{O_2} = 0.2mol/m^3$

Très rapidement, nous avons disqualifié le cas d'entrée UNILATÉRAL car la diffusion semble y être moins effective. En effet, l'homogénéité du profil de concentration semble pathologique et traduit l'absence de consommation de l'oxygène par l'organoïde au centre de la puce. Les deux autres cas représentent des gradients de concentration bien plus réalistes. Ces modes d'alimentation fonctionnels sont, de plus, des cas que l'on retrouve principalement dans la littérature, ce qui confirme la validité de notre modèle numérique ([8],[9]).

3.1.4.2 Débit d'entrée et porosité du Matrigel

En discutant avec notre client et suite à la visite du C2N, nous avons pu déterminer deux paramètres sur lesquels il était possible de jouer en laboratoire : le débit en entrée avec pour seule limite un débit minimal de $10\mu L/min$ et la porosité du Matrigel qui dépend en pratique du temps de gélation imposé en laboratoire. Dans notre recherche de maximisation de la concentration au sein de l'organoïde, nous avons donc essayé d'établir les conditions optimales de fonctionnement de la puce.

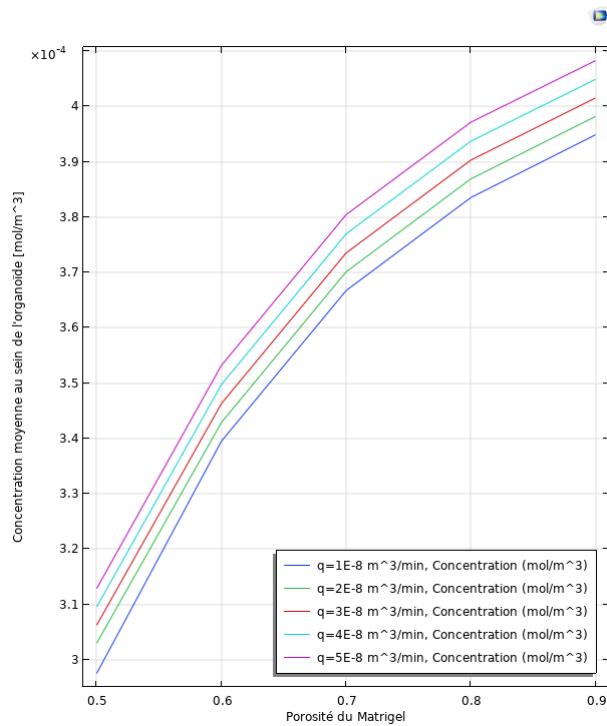


FIGURE 14 – Concentration moyenne d' O_2 au sein de l'organoïde en fonction de la porosité du Matrigel et du débit en entrée dans le cas SYMÉTRIQUE pour une concentration initiale de $C_{in}^{O_2} = 0.2mol/m^3$.

Ces résultats cohérents confirment encore une fois la validité du modèle numérique : en effet, moins le Matrigel est poreux, plus il facilite le transport diffusif des espèces dans la puce et au sein de l'organoïde. L'augmentation du débit favorise également ce phénomène.

3.1.4.3 Étude de la limitation du débit

La question du débit maximal se pose alors. Intuitivement, nous avons supposé que le débit était limité en laboratoire par la détérioration de la puce face à un débit trop élevé. En effet, nous pensons que le gel se désagrégerait à cause des forces de cisaillement subit de la part du fluide à haut débit.

Nous nous sommes donc penchés sur la quantification des forces de cisaillement sur la matrice poreuse. La contrainte de cisaillement est calculé sur COMSOL comme le produit de la viscosité dynamique du fluide par le taux de cisaillement, données qui sont calculées par COMSOL. On peut observer en figure 15 que pour un débit de $50\mu L/min$, débit maximum utilisé au C2N, les contraintes de cisaillement ne dépasse pas la dizaine de Pascal. C'est le cas pour toutes les configurations géométriques étudiées. Elles sont donc largement négligeables devant la pression seule du fluide.

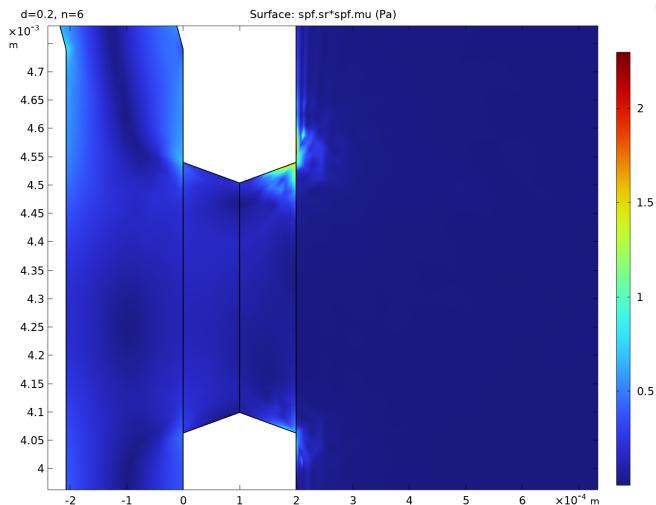


FIGURE 15 – Répartition des contraintes de cisaillements dans un micro-canal, pour un débit entrant de $50\mu L/min$

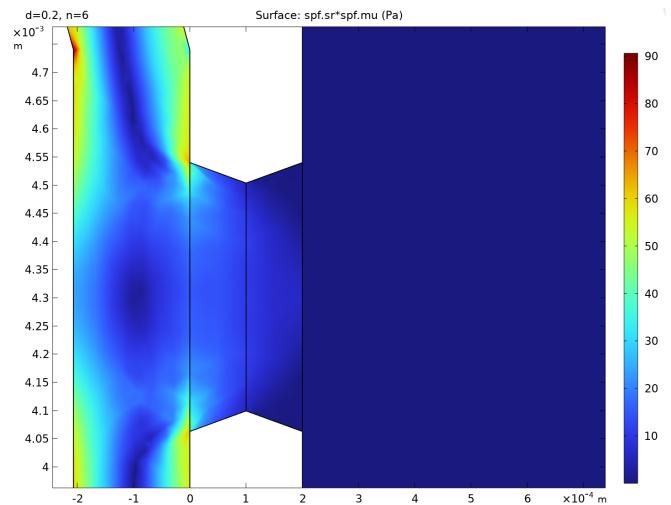


FIGURE 16 – Répartition des contraintes de cisaillements dans un micro-canal, pour un débit entrant de $5mL/min$

Pour un débit de $5mL/min$, c'est-à-dire 100 fois supérieur à précédemment, les contraintes de cisaillement données par COMSOL atteignent au maximum la centaine de Pascal (Figure 16), mais dans le canal d'alimentation. Les contraintes dans le milieu poreux et à sa frontière sont faibles, et toujours négligeables devant la pression seule du fluide.

Cependant ces résultats ne semblent pas réalistes. Nous nous attendions à observer une grande force de cisaillement à la frontière du milieu poreux. En effet le fluide perdrat grandement en vitesse à l'entrée de celui-ci, du à l'affinement soudain des espaces permettant le passage du fluide. Cela devrait être lié à un grand taux de cisaillement. Cependant, on observe sur aucune des deux figures 16 et 15 des contraintes de cisaillement non-négligeables au centre du micro-canal, au niveau de l'interface du gel. En fait la répartition que l'on observe ici semble montrer que COMSOL ne prend pas en compte les milieux poreux dans le calcul du taux de cisaillement, mais seulement la géométrie des canaux et la vitesse du fluide. Ceci invaliderait donc les résultats précédents.

Nous n'avons rien trouvé dans la documentation de COMSOL nous permettant de valider ou de repousser cette hypothèse que le taux de cisaillement ne considère par les milieux poreux.

Pour avoir une vraie idée des contraintes de cisaillement présentes dans le milieu poreux à cause du débit, il faudrait modéliser entièrement le milieu poreux. Nous avons essayé de générer un réseau de petites boules solides partout dans la chambre de la puce pour approcher un milieu poreux (visible en figure 17) et pouvoir observer les contraintes, mais le calcul avec des boules et des espaces suffisamment petits pour avoir des résultats représentatifs s'est avéré hors de portée de la puissance des ordinateurs dont nous disposons.

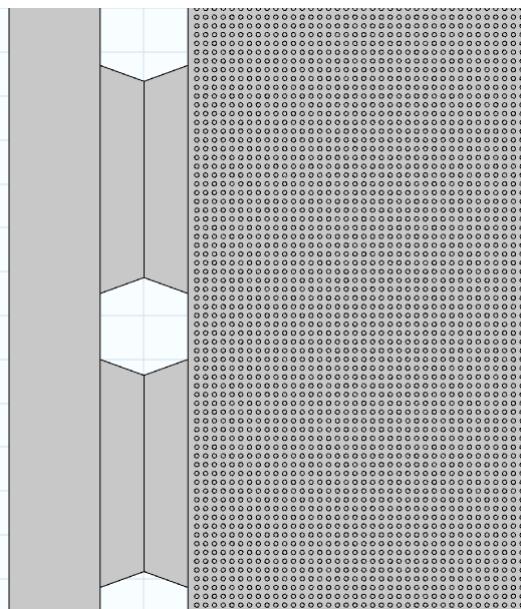


FIGURE 17 – Exemple de réseau de boules représentatif d'un milieu poreux, de porosité 0.9

Nous n'avons pas pu aller plus loin faute de temps, mais la génération de ce réseau pourrait s'avérer utile pour quantifier les forces de cisaillement et gérer le débit en limitant les expérimentations. Par exemple, il est sûrement possible de générer ce réseau sur une petite partie de la puce seulement.

3.1.4.4 Variation du nombre (n) et de la taille (d) des micro-pilliers

Pour finir, nous avons entrepris une simulation par balayage paramétrique sur le couple de paramètre (n, d) pour les deux modes d'alimentation fonctionnels : SYMÉTRIQUE et ANTISYMÉTRIQUE. Dans l'ensemble des tracés ci-dessous, la porosité du Matrigel a été fixée à 0.9 et le débit en entrée à $50\mu L/min$.

Diffusion O_2

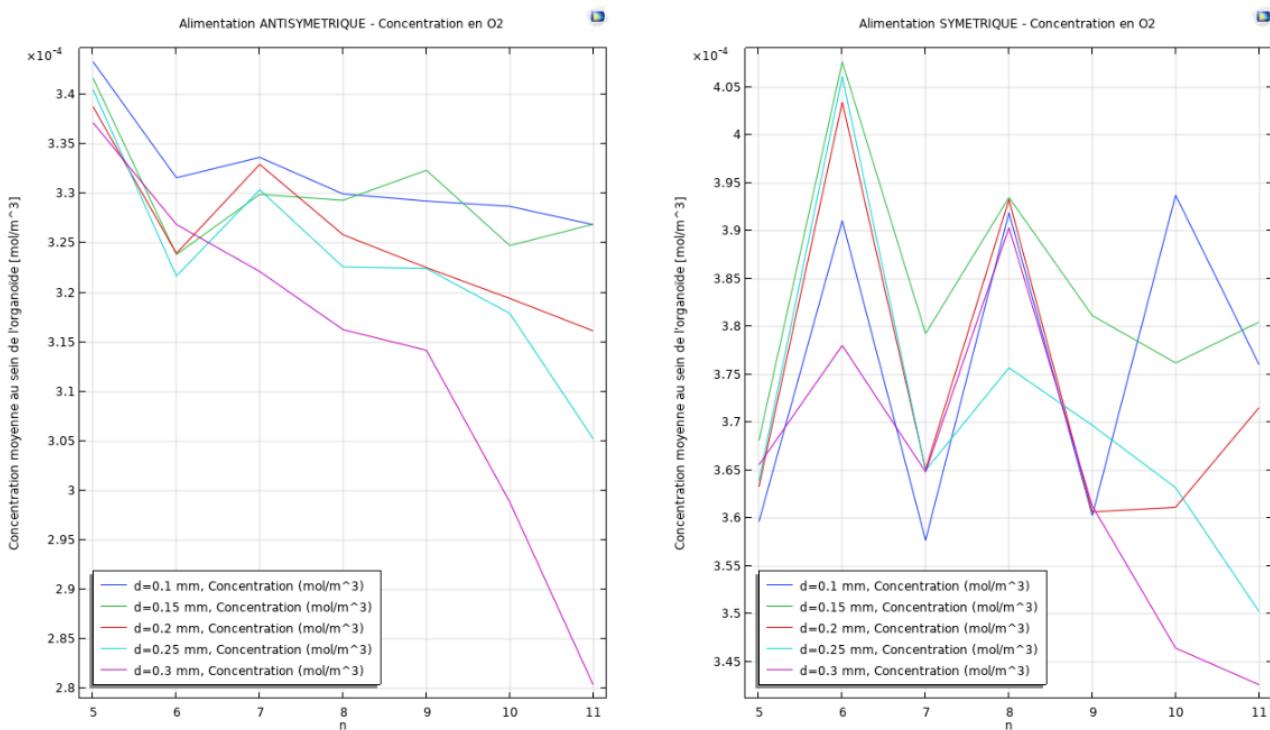


FIGURE 18 – Évolution de la concentration en O_2 dans les deux cas d'entrée du flux en fonction du couple paramétrique (n, d) pour une concentration initiale de $0.2 mol/m^3$

FIGURE 19 – Classification des cas d'hypoxie ($c^{O_2} < K_{m,O_2}$) : absence d'hypoxie (en vert), très légère surface hypoxique (en orange : < 10% de la surface globale de l'organoïde), grande surface hypoxique (en rouge : > 40%-90% de la surface globale de l'organoïde)

$d[mm]$	$n = 5$	$n = 6$	$n = 7$	$n = 8$	$n = 9$	$n = 10$	$n = 11$
0.1	Red	Green	Orange	Green	Orange	Red	Orange
0.15	Orange	Green	Red	Red	Orange	Red	Orange
0.2	Red	Green	Red	Red	Orange	Red	Orange
0.25	Red	Green	Orange	Orange	Orange	Orange	Orange
0.30	Red	Green	Orange	Green	Orange	Red	Orange

Diffusion Glucose

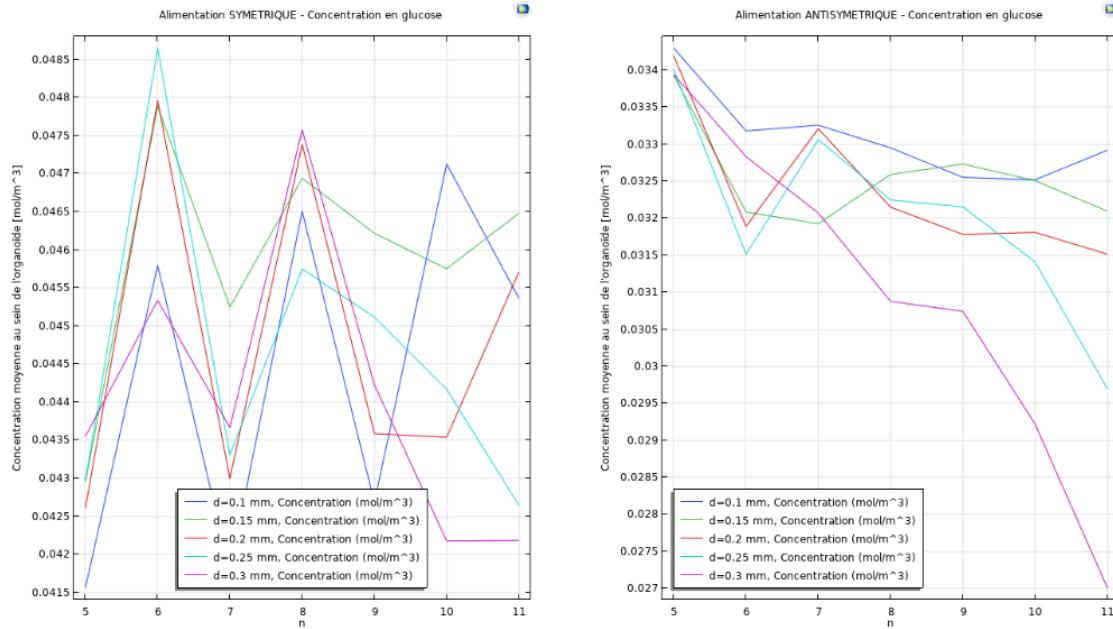


FIGURE 20 – Évolution de la concentration de glucose dans les deux cas d’entrée du flux en fonction du couple paramétrique (n, d) pour une concentration initiale de $25\text{mol}/\text{m}^3$

FIGURE 21 – Classification des cas d’hypoxie ($c^{Glu} < K_{m,Glu}$) : absence d’hypoxie (en vert), très légère surface hypoxique (en orange : $< 10\%$ de la surface globale de l’organoïde), grande surface hypoxique (en rouge : $> 40\%-90\%$ de la surface globale de l’organoïde)

$d[\text{mm}]$	$n = 5$	$n = 6$	$n = 7$	$n = 8$	$n = 9$	$n = 10$	$n = 11$
0.1							
0.15							
0.2							
0.25							
0.30							

L’ensemble de ces résultats nous permet de tirer de riches conclusions sur la géométrie optimale de la puce à mettre en place. Par élimination nous pouvons discerner une certaine gamme de couple de paramètre permettant d’assurer l’absence totale d’hypoxie pour les deux espèces d’intérêt étudiées (i.e. la concentration finale en O_2 (respectivement Glucose) au sein de l’organoïde est supérieure à une valeur seuil appelée constante de Michaelis K_{m,O_2} (respectivement $K_{m,\text{Glucose}}$)). En superposant les résultats liés à la diffusion du glucose et de l’ O_2 , nous pouvons mettre en valeur 7 couples de paramètre viables ($n = 6$, $d \in \{0.10\text{mm}; 0.15\text{mm}; 0.20\text{mm}; 0.25\text{mm}; 0.3\text{mm}\}$) et ($n = 7$, $d \in \{0.10\text{mm}; 0.30\text{mm}\}$).

Les courbes d'évolution des concentrations permettent également de préciser le choix optimale de la géométrie de la puce. En effet, il semble tout d'abord que le mode d'alimentation SYMETRIQUE aboutisse à une concentration moyenne des espèces au sein de l'organoïde plus importante que dans le cas du mode ANTISYMETRIQUE. De plus, un couple de paramètre se détache du lot et assure une maximisation de ces concentrations : il semble ainsi judicieux pour assurer la viabilité de l'organoïde de travailler sur une puce microfluidique de 6 micro-canaux dont les micro-pilliers adjacents ont une taille de 0.1 mm, tout ceci alimentée SYMÉTRIQUEMENT.

3.1.4.5 Étude de la limitation en largeur des micro-canaux

En effet, l'utilité des micro-piliers séparants les micro-canaux serait de conserver le gel à l'intérieur de la chambre de la puce [10]. Comme nous proposons de faire varier la largeur des micro-canaux, il est pertinent de se demander si le gel ne sortira pas de la chambre si l'espace est trop large.

Nous avons donc cherché un ordre de grandeur de la largeur maximale d'un micro-canal sans que le gel ne sorte de la chambre. Faute de complexité, ce calcul nécessite beaucoup d'approximation et d'hypothèses, mais les causes des phénomènes semblent bien identifiables : la gravité pousserait le fluide à sortir de la chambre, et sa tension superficielle tendrait à l'y garder. Toutes les hypothèses et calculs sont donnés en annexe, 7.1.

Faute de données sur le comportement mécaniques du gel, l'application numérique a été réalisé avec les données de l'eau, qui est censé être moins visqueux que le gel. Ces calculs indiquent que les canaux peuvent atteindre plus de 8 centimètres de large avant que le gel ne sorte de la chambre. Même si cela semble très grand au premier abord, il faut se rappeler que la dimension verticale de la puce reste très faible par rapport à la taille d'une goutte d'eau, et donc que la tension superficielle pourrait être suffisante.

Pour finir, nous avons fourni en supplément une vidéo récapitulative (*COMSOL_Régime stationnaire.mp4*) permettant de bien comprendre le fonctionnement du fichier *Puce microfluidique 2D (Darcy) - Régime Stationnaire VF.mph*.

3.2 Régime variable

Après avoir établi le modèle optimale de la puce en régime stationnaire, il nous a semblé nécessaire de s'orienter vers un régime variable pour rendre véritablement compte du processus temporel de diffusion et consommation des espèces responsable de la croissance de la tumeur. Pour ce faire, nous avons retravaillé le fichier COMSOL et réadapté la géométrie et la physique du problème : l'explication détaillée du nouveau fichier COMSOL se trouve dans une vidéo dédiée (*COMSOL_Régime variable.mp4*).

3.2.1 Description du nouveau modèle

Désormais, nous fixons la géométrie de la puce à $n = 6$ et $d = 0.1$ mm et introduisons une loi de croissance du nombre de cellule $N(t)$ ainsi qu'une loi de croissance du rayon de la tumeur qui en découle $R(t)$. La grande nouveauté du modèle se trouve principalement dans l'implémentation à l'aide des recommandations de M. Denis Aubry de la fonction *flc1hs*, une fonction de Heaviside lissée avec une dérivée première continue sans dépassement :

- $\text{flc1hs}(x, d) = 0$, si $x \leq -d$
- $\text{flc1hs}(x, d) = 1$, si $x \geq d$
- $\text{flc1hs}(x, d) = 0.5 + \frac{x}{d}0.75 - (\frac{x}{d})^30.25$ sinon

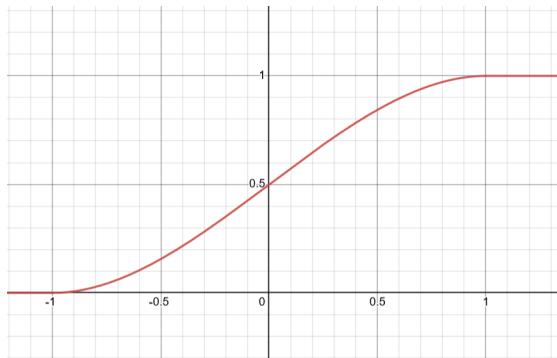


FIGURE 22 – Évolution de la fonction *flc1hs* pour $d = 1$

Grâce cette fonction, il est possible de définir spatialement et temporellement les deux variables d'intérêt du modèle : la porosité $\epsilon(x, y, t)$ et la perméabilité $K(x, y, t)$ au sein de la chambre centrale. Ces deux variables sont elles-mêmes fonction de $N(t)$ et $R(t)$: elles définissent l'évolution spatiale et de la porosité et perméabilité de l'organoiïde et du Matrigel au cours du temps. La question a donc été ensuite de définir la loi de croissance adéquate pour décrire le véritable processus de croissance tumorale.

3.2.2 État de l'art des modèles de croissance

3.2.2.1 Exigences

Pour décrire le véritable processus de croissance tumorale, il existe des lois de croissance bien plus élaborées que la loi exponentielle que nous allons sélectionner en 3.2.3. Celle-ci se voulait délibérément simple pour pouvoir étudier l'influence seule du régime variable sur notre simulation et pouvoir ainsi différencier les erreurs liées à notre nouveau mode de fonctionnement de celles liées à notre choix de loi de croissance. En effet celle-ci peut-être bien complexe et nous avons érigé plusieurs critères et questions auxquelles notre loi devrait répondre :

1. La loi de croissance doit dépendre de la disponibilité en substrat. En effet si l'organoïde consomme du glucose ainsi que du dioxygène, il est facile d'imaginer que sa croissance pourrait être plus ou moins lente voir impossible s'il y a trop peu de nutriments disponibles dans son environnement.
2. Par ailleurs, comme les concentrations en substrats ne sont pas homogènes sur l'ensemble de l'enveloppe de l'organoïde, celui-ci pourrait avoir des directions de croissance privilégiées. Afin de s'abroger de cette difficulté, nous avons déterminé qu'il nous faut une loi de croissance sur le nombre de cellule, pour ainsi supposer une loi une croissance homogène. On aurait donc une loi de croissance dépendante de la concentration moyenne autour de l'organoïde.
3. Si le nombre de nutriment est trop limitant, il faut tenir compte d'une éventuelle mort cellulaire possible. Que faire alors des cellules mortes ? Supposer qu'elles contribuent tout de même à la taille de l'organoïde en imaginant que les cellules mortes ont un volume inférieure à celles vivantes ? Est-ce qu'une grande présence de cellules mortes peut stimuler la mort cellulaire ? Ou de façon moins biologique et plus physique, les cellules mortes font-elles barrière aux cellules vivantes quant à l'accès au substrat en extérieur ? Ou faut-il soustraire directement leur nombre au nombre de cellules total et ne pas en tenir compte ?

L'ensemble de ces contraintes et questions font de la recherche d'une loi de croissance une tâche complexe, notre situation étant très spécifique. Nous nous proposons de réaliser un second état de l'art synthétisant l'ensemble de nos recherche sur le sujet et cumulant ainsi les pistes de lois de croissance les plus abouties et les plus pertinentes pour notre modélisation.

3.2.2.2 Les effets du glucose et du dioxygène sur la croissance cellulaire

Avant toutes choses, il est important de comprendre qu'il va être difficile de déterminer une loi de croissance modélisant parfaitement la réalité et répondant à l'ensemble de nos exigences tant la détermination de celle-ci repose sur des connaissances de mécanismes biologiques encore mécompris à ce jour.

Dans son article étudiant l'influence de l'approvisionnement en glucose et en dioxygène sur des organoïdes, Mueller-Klieser et al [11] étudient la réaction de différentes cultures à un apport plus ou moins important du dioxygène et de glucose. Comme nous pouvions nous y attendre, la taille des organoïdes est de plus en plus importante si le glucose et le dioxygène sont disponible de façon plus abondante. Cependant d'autres propriétés moins évidentes sont mises en exergue. Pour cause, Mueller-Klieser et al observent que la consommation de dioxygène semble diminuer à mesure que

la taille des organoïdes croît, démontrant ainsi la capacité des organoïdes à adapter leur métabolisme selon les conditions d'approvisionnement. Par ailleurs, cette étude met également en évidence une inter-dépendance entre le dioxygène et le glucose, il s'agit de l'effet Crabtree qui désigne cette capacité des cellules à diminuer leur consommation en dioxygène en présence d'une forte concentration en glucose (mais ce jusqu'à une certaine concentration limite en glucose au delà de laquelle la consommation ne change plus). Cependant, si une nécrose centrale peut subvenir en raison d'une disponibilité lacunaire en dioxygène et en glucose, il semble qu'elle peut également se produire lorsque cela n'est pas nécessairement le cas. Muelle-Klieser et al explique alors que la viabilité des tumeurs peut ainsi ne pas dépendre seulement de la diffusion de glucose ou de dioxygène dans l'organoïde et peut ainsi être influencer par d'autres facteurs biologiques encore inconnus. Un exemple pourrait être l'accumulation de déchets métaboliques comme les ions H^+ ou le lactate.

La détermination d'une loi de croissance semble laborieuse, mais nous comprenons qu'il est toutefois pertinent d'étudier la double influence du glucose et du dioxygène sur la croissance tumorale. Si l'effet Crabtree ou les adaptations métaboliques ne pourront être mises en évidence facilement, nous espérons au moins être capables de modéliser les résultats attendus que sont une croissance stimulée par une concentration élevée en substrat ainsi qu'une mort cellulaire due à des diffusions limitantes.

3.2.2.3 Des modèles de croissances empiriques

Au regard de la difficulté d'élaborer des lois de croissances dépendantes de la concentration en substrat, certains documents s'attellent à l'élaboration de loi "fittant" au mieux la courbe classique de croissance cellulaire dont la loi exponentielle en est issue et qui correspond à la première étape de la démultiplication cellulaire. Une illustration de l'évolution typique du nombre de cellules au cours du temps est représentée ci dessous Figure 23 :

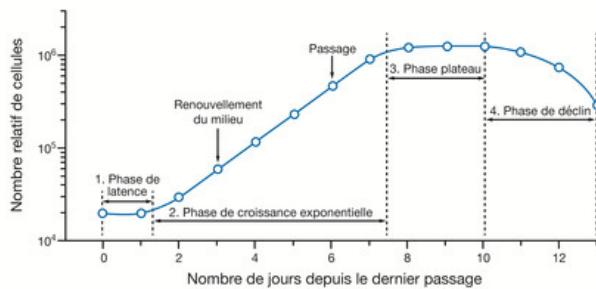


FIGURE 23 – Modèle classique de croissance cellulaire issu du modèle de Gompertz.
Crédit illustration : Antoine Campeau-Péloquin, Sophie Roy, Gilles Chabot, CCDMD.

Il s'agit du modèle de Gompertz, qui correspond à une croissance exponentielle dont la vitesse diminue à mesure que la taille augmente. On retrouve dans [12] les formules suivantes pour décrire sa dynamique :

$$\frac{dw}{dt} = \gamma w \quad \frac{d\gamma}{dt} = -\alpha\gamma$$

d'où :

$$\frac{w}{w_0} = e^{\frac{A}{\alpha}(1-e^{\alpha t})} \quad \gamma = Ae^{\alpha t}$$

Ici w désigne la taille tumorale et γ la vitesse de croissance. On retrouve de façon similaire dans [13] une loi analogue :

$$\frac{dN}{dt} = aN \ln\left(\frac{K}{N}\right) \quad (3)$$

Où cette fois, N désigne le nombre de cellule, et où a et K sont des paramètres n'ayant pas nécessairement un sens biologique et qui sont déterminés de façon empirique par l'expérimentateur pour correspondre à ses observations. Le problème inhérent à ces lois est donc l'aspect expérimental dont elles ne peuvent se couper. Ces lois ne sont donc intéressantes que pour remplacer notre modèle simplifié de loi exponentielle. Mais il faut garder à l'esprit qu'elles sont complètement découlées de la disponibilité en substrat. Par ailleurs la phase de plateau qu'elles cherchent à modéliser en accord avec la Figure 23 n'existe que parce que le substrat commence à être limitant. Il faudrait donc adapter les paramètres à notre situation et de façon complètement empirique, étudier quand les substrats commencent à être limitants pour ainsi faire débuter la phase de plateau à ce moment précis. Ce processus serait laborieux et sans doute non représentatif de la réalité, c'est pourquoi ces lois sont intéressantes mais il est nécessaire de se recentrer vers des lois dépendantes de la concentration en substrat.

Un avantage néanmoins à ce type de lois phénoménologique est la possibilité d'étudier la croissance tumorale lorsque l'on introduit un agent thérapeutique. Il s'agit d'une dimension que nous avions envisagé mais comme nous allons le voir, la paramétrisation de ce type de loi est lui aussi complètement empirique et ne dépend pas des propriétés inhérentes au médicament. Ainsi l'objectif d'étudier de façon préclinique l'efficacité d'un traitement n'est pas possible avec ce type de méthode puisqu'il s'agit d'un modèle que l'on cherche à faire correspondre à la réalité et que nous comparons donc à des résultats expérimentaux. On ne pourrait donc pas se passer de l'expérimentation et c'est pourquoi nous nous sommes écartés de cette piste, notre jumeau numérique cherchant à diminuer le nombre d'expérimentation. Toutefois, cette partie cherchant à détailler les lois disponibles dans la littérature, voici ci-dessous le modèle utilisé décrit dans [13] :

$$\frac{dN}{dt} = aN \ln\left(\frac{K}{N}\right) - ec(t) \ln\left(\frac{K}{N}\right) \quad (4)$$

Ce modèle correspond à une simple modification du modèle de Gompertz, où e désigne l'effet du médicament et $c(t)$ la concentration de ce dernier dans l'environnement de la tumeur. Un modèle plus élaboré est décrit dans [12] et [14] :

$$\frac{dw(t)}{dt} = \frac{\lambda_0 \cdot w(t)}{[1 + (\frac{\lambda_0}{\lambda_1} \cdot w(t))^{\Psi}]^{1/\Psi}} \quad (5)$$

Ici w désigne la masse tumorale, Ψ correspond au paramètre de "switch" entre la phase exponentielle et la phase de plateau, et λ_0 et λ_1 sont des paramètres à déterminer. On peut alors étendre cette loi de croissance en incluant une chimiothérapie de la façon suivante :

$$\begin{aligned}\frac{dw_1(t)}{dt} &= \frac{\lambda_0 \cdot w_1(t)}{[1 + (\frac{\lambda_0}{\lambda_1} \cdot w(t))^\Psi]^{1/\Psi}} - k_2 \cdot c(t) \cdot w_1(t) \\ \frac{dw_2(t)}{dt} &= k_2 \cdot c(t) \cdot w_1(t) - k_1 \cdot w_2(t) \\ \frac{dw_3(t)}{dt} &= k_1 \cdot [w_2(t) - w_3(t)] \\ \frac{dw_4(t)}{dt} &= k_1 \cdot [w_3(t) - w_4(t)]\end{aligned}$$

Avec $w_1(0) = w_0, w_2(0) = 0, w_3(0) = 0, w_4(0) = 0$.

Ici $c(t)$ désigne la concentration en agent anti-cancéreux, et les $w_i(t)$ désignent la masse de cellule dans l'état i , le premier correspondant à l'état non endommagé et les autres désignant différents niveaux d'endommagement. Les k_i correspondent à des taux de passages dans les différents états, et on prend ce taux de passage constant pour passer d'un état endommagé à un autre. Ce modèle de croissance est donc intéressant pour décrire l'effet d'un agent thérapeutique mais comme dit précédemment, les paramètres dépendent de tests réalisés sur un type de chimiothérapie et il n'est pas possible d'étendre ces résultats à d'autres médicaments, c'est pourquoi nous écartons ce modèle et ne cherchons pas à modéliser l'effet d'agent thérapeutique. Notons toutefois que l'approche du dernier modèle est intéressante dans le fait d'étudier différentes populations se trouvant dans un état d'endommagement plus ou moins poussé. En effet, dans notre modèle de croissance nous n'avions envisagé qu'un état vivant et un autre de mort cellulaire mais le modèle peut ne pas être binaire. Nos exigences initiales correspondent donc à une simplification du problème.

Les lois que nous avons étudiées jusqu'à maintenant ne tiennent pas compte de la disponibilité en substrat comme le veut notre première exigence. Elles présentent néanmoins l'intérêt de suggérer un degré de complexité supérieur à celui d'une simple loi exponentielle et pourraient donc correspondre à une première évolution de notre modélisation COMSOL.

3.2.2.4 Un modèle centré sur l'oxygène

Nous avons trouvé un modèle décrivant l'évolution d'une tumeur en fonction de la concentration en oxygène ([15], code MATLAB et jeu de paramètres en libre accès). C'est un modèle mécaniste faisant les hypothèses suivantes :

- La tumeur est supposée sphérique et avasculaire
- Les conditions de l'écoulement (faible nombre de Reynolds) rendent les déplacements d'oxygène par convection négligeables. Le seul mécanisme à l'oeuvre est la diffusion, selon la loi de Fick.

- Le temps caractéristique de diffusion de l'oxygène est très faible par rapport à celui des divisions cellulaires. Il est donc supposé que la concentration en oxygène atteint le régime stationnaire à chaque mise à jour du nombre de cellules.
- Le tissu environnant est supposé homogène.
- La pression partielle en oxygène est fixée à 60 mmHg dans la matrice extracellulaire.
- La pression partielle en oxygène suit une symétrie sphérique.

La tumeur est partitionnée en n couronnes, désignées par l'indice i , dans lesquelles l'on suppose la pression partielle en oxygène uniforme, égale à $P_{O2,i}$. Les rayons des couronnes croissent de façon logarithmique, afin de correspondre au profil en oxygène préalablement calculé (voir figure 24).

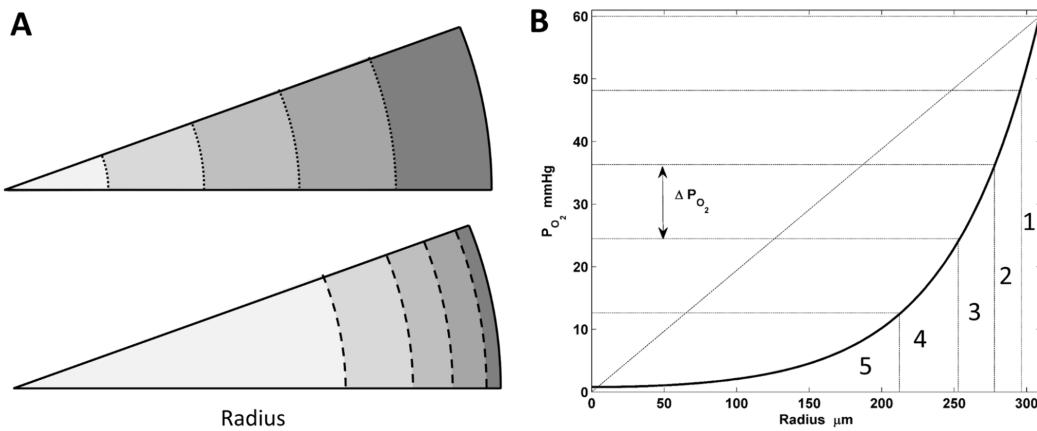


FIGURE 24 – Partitions linéaire (en haut à gauche) et logarithmique (en bas à gauche) de la tumeur, profil de concentration d'oxygène (à droite) (source : [15])

Le modèle admet les équations suivantes :

Loi de Fick :

$$\Delta P_{O2} = \frac{k_r}{D} P_{O2} \quad (6)$$

Variation du volume de la couronne i :

$$\frac{dV_i}{dt} = k_p P_{O2,i} \quad (7)$$

Proportion de cellules hypoxiques dans la couronne i :

$$V_i^H = \frac{P_{O2,i}}{K_H + P_{O2,i}} V_i \quad (8)$$

Proportion de cellules nécrotiques dans la couronne i :

$$V_i^N = \frac{P_{O2,i}}{K_N + P_{O2,i}} V_i \quad (9)$$

Ce modèle nécessite plusieurs adaptations si l'on souhaite l'implémenter. Dans notre cas, la nature de l'écoulement (entrées latérales) ne permet pas de supposer une symétrie sphérique. Ensuite, nous

aurions besoin de prendre en compte la concentration en glucose, car les cellules cancéreuses sont capables de passer en filière anaérobie en cas d'hypoxie [3] : cela nécessiterait de raffiner l'équation (7), et aussi de trouver des nouvelles valeurs pour les paramètres liés au glucose. Par ailleurs, on ne peut pas imposer une valeur constante de pression partielle en oxygène dans la matrice extracellulaire, celle-ci étant inhomogène dans nos simulations. La diffusion ne semble pas prendre en compte la porosité. Il faudrait aussi adapter les unités des paramètres et des variables, le modèle travaillant avec des pressions partielles en oxygène là où nous utilisons des concentrations.

3.2.2.5 Un modèle centré sur le glucose

Cette dernière partie se concentre sur l'article de Jianchen Yang et al qui cherche à élaborer une loi de croissance tumorale en fonction du glucose disponible [16]. Voir ci-dessous les équations utilisées :

$$\frac{dN(t)}{dt} = k_p N(t) \left(1 - \frac{N(t)}{\theta}\right) S_p(G(t)) - k_d N(t) S_d(G(t)) - k_{bys} N(t) \left(\frac{D(t)}{D(t) + N(t)}\right) \quad (10)$$

$$\frac{dD(t)}{dt} = k_d N(t) S_d(G(t)) + k_{bys} N(t) \left(\frac{D(t)}{D(t) + N(t)}\right) \quad (11)$$

$$\frac{dG(t)}{dt} = -\nu N(t) \left(\frac{G(t)}{G(t) + G^*}\right) \quad (12)$$

Dans ce système d'équation différentielle non linéaire, $N(t)$ désigne le nombre de cellule tumorale proliférante, $D(t)$ désigne le nombre de cellule morte, $G(t)$ la concentration de glucose disponible dans le milieu, G^* la constante de Michaelis-Mentens. et θ correspond au nombre maximal total que peut contenir l'enceinte dans lequel prolifère les cellules. Suivant cette définition, on peut définir θ de la façon suivante :

$$\theta = \frac{\text{Volume}_{\text{enceinte}}}{\text{Volume}_{\text{cellule}}}$$

Si nous analysons chacun des termes de ces équations [16], le premier terme de l'équation 10 correspond à une croissance logistique (soit une croissance dont la vitesse diminue à mesure que l'on s'approche de la limite maximale permise par la croissance) modulé par un terme dépendant de la concentration en glucose, $S_p(G(t))$, faisant état de la disponibilité du glucose dans le milieu. Pour cause :

$$S_p(G(t)) = 1 - \left(1 - \frac{G(t)}{G(t) + G_{min}}\right) \tanh(t)$$

Ici, G_{min} correspond à la concentration minimale de glucose nécessaire pour la prolifération. En analysant cette fonction on remarque que si $G(t)$ est élevé, $S_p(G(t)) \approx 1$, signifiant donc que l'on peut faire proliférer les cellules car il y a suffisamment de glucose disponible. Inversement, si $G(t)$ est faible, ce terme s'annule.

Le second terme de l'équation 10 décrit la mort des cellules vivantes. De la même façon que pour le premier terme, il est modulé par $S_d(G(t))$ qui vaut naturellement :

$$S_d(G(t)) = 1 - S_p(G(t))$$

Enfin le dernier terme décrit le *bystander effect* (7), qui correspond à un phénomène bio-chimique où la mort de cellules peut induire le décès d'autres cellules.

Il découle de l'équation 10, l'équation 11 qui correspond à l'évolution du nombre de cellule morte. Et finalement, l'équation 12 décrit l'évolution du glucose en raison de la consommation de ce dernier par les cellules vivantes.

Ce système d'équation aurait donc pu être intéressant pour notre modélisation, celui-ci usant d'équation différentielle facilement implémentable dans COMSOL. Mais les difficultés rencontrées quant à l'établissement du régime variable sur COMSOL ont fait que nous n'avons pas eu le temps de proposer une simulation reprenant ce modèle. Les différents paramètres, k_p , k_d , ν et k_{bys} sont calculés dans le document [16]. Ceux-ci ont été calculés par un algorithme d'apprentissage et ce pour deux populations bien précises de tumeur. Une implémentation possible aurait donc pu être de reprendre ces deux jeux de données et étudier les différences de résultats.

Notons finalement que ce modèle ne tient pas compte de l'influence du dioxygène. Or nous avons vu en partie 3.2.2.2 que le glucose et le dioxygène pouvaient avoir des effet joints sur la croissance tumorale et qu'il est donc dommage de ne pas pouvoir modéliser une loi de croissance les incluant tous les deux. Nos recherches sur le sujet n'ont pas permis d'aboutir à une telle loi. Peut-être faut-il donc élaborer notre propre modèle de croissance en mixant ce présent modèle avec le modèle étudié en 3.2.2.4. Ou une autre piste pourrait être de modifier le modèle centré sur le glucose en incorporant des termes liés au dioxygène.

3.2.3 Résultats : modèle de croissance simplifié

Pour prendre en main les spécificités du régime variable sur COMSOL, nous avons décidé en premier lieu de choisir une loi de croissance simplifiée avec pour hypothèse un substrat non limitant et une densité cellulaire au sein de l'organoïde uniforme. Ainsi, le nombre de cellule suit une loi exponentielle $N(t) = N_O e^{\frac{t}{t_O}}$ tandis que la croissance du rayon du sphéroïde suit la loi suivante $R(t) = \left(\frac{3V_O N(t)}{4\pi(1-\epsilon_{Organode})}\right)^{\frac{1}{3}}$.

FIGURE 25 – Paramètres du modèle et de la loi de croissance

Paramètre	Valeur	Description
N_O	4000	Nombre initial de cellule dans l'organoïde
V_O	$4000e - 18[m^3]$	Volume d'une cellule fibroblaste
t_O	40 heures	Temps de dédoublement cellulaire
$\epsilon_{Matrigel}$	0.9	Porosité du Matrigel
$\epsilon_{Organode}$	0.52	Porosité de l'organoïde
$K_{Matrigel}$	$10e - 14[m^2]$	Perméabilité du Matrigel
$K_{Organode}$	$1e - 10[m^2]$	Perméabilité de l'organoïde

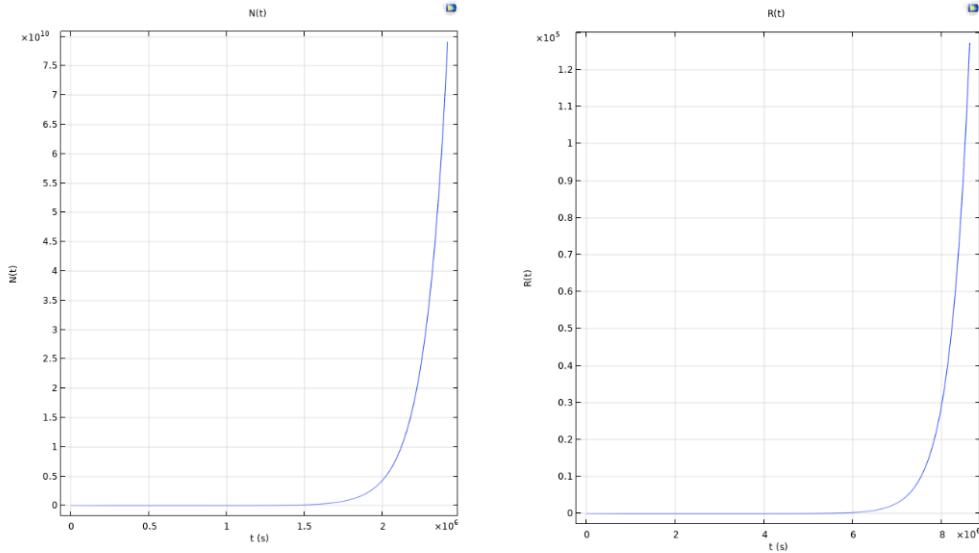


FIGURE 26 – Évolution de $N(t)$ et $R(t)$

On définit ensuite avec (x_2, y_2) les coordonnées du centre de l'organoïde et a le paramètre d'Heaviside :

- la porosité $\epsilon = \epsilon_{Matrigel} + (\epsilon_{Organode} - \epsilon_{Matrigel}) f_{lc1hs}(-(\frac{x-x_2}{R(t)})^2 - (\frac{y-y_2}{R(t)})^2 + 1, a)$
- la perméabilité $K = K_{Matrigel} + (K_{Organode} - K_{Matrigel}) f_{lc1hs}(-(\frac{x-x_2}{R(t)})^2 - (\frac{y-y_2}{R(t)})^2 + 1, a)$

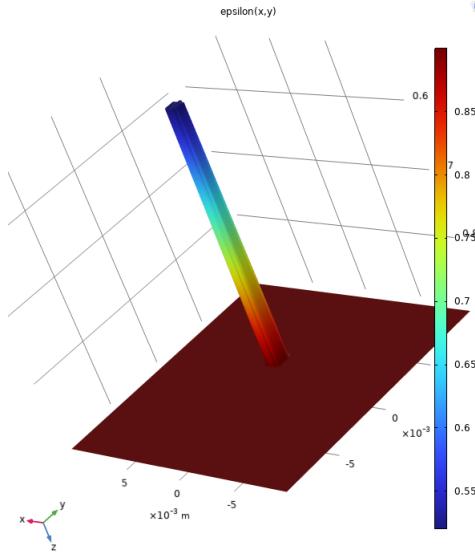


FIGURE 27 – Profil de la porosité pour $t = 0s$

Nous avons été rapidement confronté à des problèmes lors de la simulation. En effet, il semble que la solution diverge très rapidement comme on peut le voir sur les graphiques suivants :

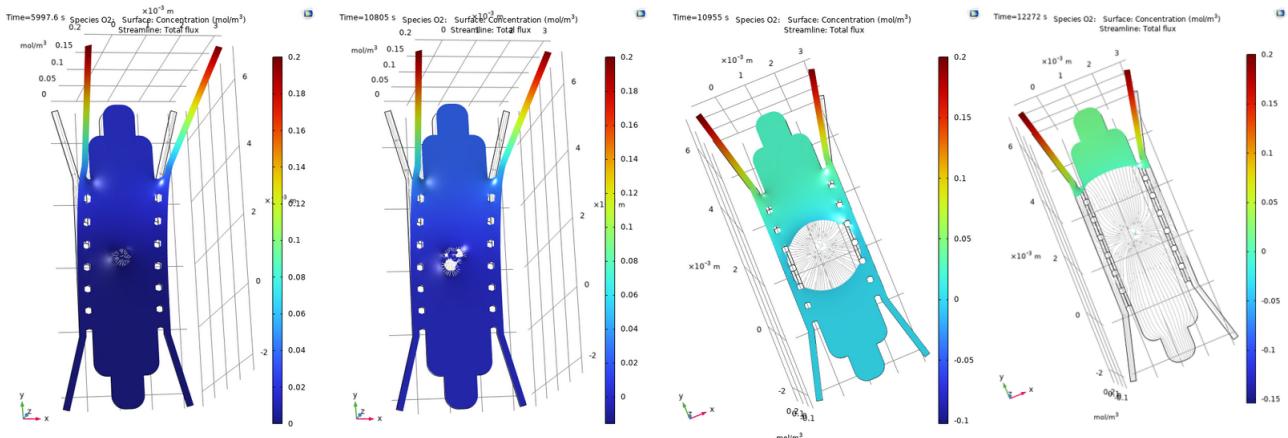


FIGURE 28 – Profils de concentration successifs pour $t = 0s$, $t = 30\text{ min}$, $t = 3h$, $t = 3h45$

Il est difficile de pouvoir pour le moment tirer des conclusions sur la viabilité de l'organoïde dans la puce au cours du temps car nous sommes confrontés à des valeurs négatives de concentration en O_2 et en glucose. Un problème dans le modèle mathématique ou numérique pourrait expliquer ce comportement pathologique. Plusieurs pistes sont néanmoins envisageables pour régler ce problème et seront détaillées dans la partie 4 - Perspectives et conclusion.

4 Perspectives et conclusion

4.1 Perspectives

4.1.1 Régime variable : voies d'amélioration du modèle

Comme nous l'avons précédemment souligné, il semblerait que notre modèle mathématique et numérique soit défaillant. Plusieurs approches sont envisageables et demandent à être approfondies.

En premier lieu, il serait intéressant de faire varier la taille du maillage ainsi que la valeur du paramètre d'Heavyside a de la fonction `flc1hs` : en effet, il est important de vérifier que le volume élémentaire du maillage n'ait pas une taille supérieur à a sans quoi il est difficile pour le schéma numérique de converger à proximité de l'organoïde dont la "frontière lissée" par `flc1hs` dépend entièrement du paramètre d'Heavyside.

Afin d'empêcher le problème de concentration négative, il est envisageable d'intégrer dans les lois de consommation un terme ($c_i > 0$) qui assure que la consommation en espèce i n'a lieu que si la concentration est effectivement positive. De plus, il semble intéressant d'après nos plus récentes recherches, que l'ajout d'une fonction `flc1hs` sur les bords (où actuellement $c_i = 0$ et la diffusion est nulle), les entrées et sortie du système soit judicieux afin de se prémunir des problèmes de convergence du programme numérique et des erreurs de concentrations négatives. En effet, la fonction permettrait de lisser les conditions au limites et éviter des problèmes de divergence.

Pour finir, il pourrait être intéressant de faire varier l'échelle de temps de la simulation et le pas de temps. Il serait bon également de modifier la valeur de l'erreur absolue et relative du "solveur" et observer ce qu'il en ressort en terme de résultats.

4.1.2 Loi de croissance mixte

Nous avons vu en partie 3.2.2.5 un modèle de croissance tumorale centré sur le glucose qui serait facilement implémentable sur COMSOL. Celle-ci représente notre meilleure option d'amélioration de notre loi de croissance exponentielle que nous avions volontairement choisi simpliste. Cependant cette loi de croissance ne tient pas compte de la concentration en dioxygène. C'est pourquoi nous nous proposons dans cette partie de modifier le modèle 3.2.2.5 en incorporant des termes dépendants du dioxygène.

$$\frac{dN(t)}{dt} = k_p N(t) \left(1 - \frac{N(t)}{\theta}\right) S_p(G(t)) \textcolor{blue}{S_p(C_{O_2}(t))} - k_d N(t) S_d(G(t)) \textcolor{blue}{S_d(C_{O_2}(t))} - k_{bys} N(t) \left(\frac{D(t)}{D(t) + N(t)}\right) \quad (13)$$

$$\frac{dD(t)}{dt} = k_d N(t) S_d(G(t)) \textcolor{blue}{S_d(C_{O_2}(t))} + k_{bys} N(t) \left(\frac{D(t)}{D(t) + N(t)}\right) \quad (14)$$

$$\frac{dG(t)}{dt} = -\nu N(t) \left(\frac{G(t)}{G(t) + G^*}\right) \quad (15)$$

$$\frac{dC_{O_2}(t)}{dt} = -\nu_2 N(t) \left(\frac{C_{O_2}(t)}{C_{O_2}(t) + C_{O_2}^*} \right) \quad (16)$$

Il faut bien comprendre que ces équations sont le fruit de modifications que nous suggérons et qu'il s'agit d'une piste que nous aurions aimé exploré. Nous pourrions même aller plus loin en ajoutant des termes de consommation dans le glucose lié à la quantité de dioxygène disponible. Cependant une question resterait sans réponse : Quels paramètres ou quels coefficients choisir ?

Nous pouvons en première approximation reprendre le même jeu de valeur k_p , k_d , $\nu = \nu_2$ et k_{bys} afin d'obtenir des résultats rapidement. Cependant, ces résultats risquent de ne pas correspondre parfaitement à la réalité puisque ce jeu de paramètres initiale a été calculé de sorte à ce que le modèle 3.2.2.5 "fit" avec les données expérimentales. Ainsi il serait difficile de déterminer de nouveaux paramètres pertinent sans un accès à de nouvelles expérimentations prenant en compte le dioxygène.

Néanmoins, il s'agit d'une piste d'amélioration que nous suggérons pour compléter notre modélisation. C'est pourquoi, si nous devions poursuivre, nous commencerions par implémenter une loi empirique plus élaborée que la loi exponentielle étudiée en partie 3.2.2.3. Puis nous passerions à une loi tenant compte de la concentration en dioxygène ou en glucose seulement comme en partie 3.2.2.4 et 3.2.2.5. Puis nous aurions essayé un modèle mixte comme étudié dans cette présente partie.

4.1.3 Difficulté du passage en 3D

Nous avons étudié en partie 3.1.2 pourquoi nous avons privilégié une modélisation 2D plutôt qu'un modélisation 3D. Le fait est que si nous avions voulu passer à une géométrie 3D, il faut tenir compte de certaines difficultés quant à l'élaboration de la géométrie.

Dans le cas du régime stationnaire une méthode simple pour passer efficacement du 2D au 3D est d'extruder notre modèle. Cependant, il faut réaffiner cette géométrie. Si nous extrudons le modèle dans l'état, l'organoide correspondra à un cylindre, or la littérature étudie plutôt des sphéroïdes.

Ensuite chacun des bords de la géométrie 3D serait à angle droit ce qui peut poser des problèmes de résolutions en raison d'un maillage imprécis. Il faudrait alors ajouter des congés sur chacun des bords pour les lisser.

Enfin la question de géométrie paramétrique est, elle aussi, laborieuse. Le fait est que sur COMSOL il existe un outil "réseau" pour copier un certain nombre de fois n une certaine géométrie. Il s'agit de la méthode employée pour paramétriser le nombre de micro-pilier. Cependant, pour passer en 3D, il faut extruder chacun des éléments qui compose la géométrie. Mais il n'est pas possible d'extruder directement le réseau. Il faut donc sélectionner et extruder un à un chacun les canaux. De fait, lorsqu'on agrandit le nombre de micro-pilier, il y a des micro-canaux qui ne sont pas sélectionnés automatiquement par COMSOL et qui ne sont donc pas extrudés. Il faut donc re-sélectionner à la main les nouveaux micro-canaux. De fait cela rend impossible le balayage paramétrique. Une solution serait de définir le réseau non pas sur le micro-canaux 2D, mais sur le micro-canaux 3D une fois extrudés. Mais cela implique une refonte de notre géométrie et c'est pourquoi nous ne pouvions pas passer facilement d'un modèle 2D à un modèle 3D.

Quant au cas du régime variable, il aurait fallut redéfinir les fonctions $flc1hs$ en prenant bien compte de la dimension z supplémentaire.

Nous n'excluons cependant pas la possibilité de passer d'une géométrie 2D à 3D et avons d'ailleurs proposé dans ces précédents paragraphes des façons de modifier notre géométrie actuelle. Cependant, notre volonté initiale était d'obtenir des résultats rapidement et réaliste et le choix d'une géométrie 2D se prêtait à cette exigence. En effet les difficultés rencontrées lors de ce projet auraient sans doute été plus importantes en 3D et les temps de simulation auraient été allongés.

4.2 Visite du C2N : une autre approche du problème

Lors du déroulé du projet, comme nous l'avons dit, nous avons eu l'occasion de visiter le Centre de Nanosciences et de Nanotechnologies, et de rencontrer Anne-Marie Haghiri et Feng Liang, qui y travaillent sur une puce micro-fluidique. L'objectif était de découvrir le côté expérimental du sujet de ce projet, et d'en approfondir la compréhension.

Nous avons découvert là-bas que nous avions deux objectifs d'étude bien différents. Mme. Haghiri et M. Liang concentrent leurs efforts de recherche sur l'installation d'un réseau de vascularisation par des cellules endothéliales dans la puce, qui va être nécessaire pour "nourrir" la tumeur que la puce va accueillir. Notre travail quant à nous correspond à une phase ultérieure dans le développement de la recherche sur puce micro-fluidique, car notre modèle considère que le procédé de croissance de ce réseau vasculaire est bien maîtrisé, et que le réseau formé est assez homogène et isotrope pour que nous l'assimilions à un milieu poreux.

Cependant, malgré nos cadres d'étude très différents, la découverte de l'aspect expérimental s'est avérée très enrichissante. Tout d'abord car l'observation de ce qu'est concrètement la puce éclaire notre compréhension, mais également parce que la découverte des procédés expérimentaux nécessaires à l'exploitation de la puce nous révèle énormément de choses sur son utilisation et ses limites (ce qui est possible de faire ou non). Par exemple, parler avec M. Liang de l'alimentation de la puce, et des pompes dont il dispose (figure 29), nous a donné de précieuses informations sur les fourchettes de débit utilisables, sur la valeur commandable en entrée (vitesse du fluide, pression ou débit) et en sortie.



FIGURE 29 – Dispositif d'alimentation de la puce

Nous avons en particulier découvert comment le gel était chargé dans la puce. En effet, la chambre de la puce possède une entrée où le gel est inséré et une sortie où le gel est pompé pour qu'il occupe la chambre. Le gel est chargé dans un état relativement liquide, puis gélifié. C'est à dire que

l'on va laisser la puce incuber un certain temps pour avoir un gel avec des propriétés mécaniques particulières. La concentration du gel peut aussi être maîtrisée. En plus des informations sur le procédé de chargement du gel, données nous permettant par ailleurs de justifier les hypothèses dans le calcul de la largeur maximale d'un canal (vu plus haut), le fait que les propriétés mécaniques du gel puissent être contrôlées via le temps de gélation et la concentration du gel était une révélation pour nous. Cela change évidemment la modélisation, puisque, par exemple, la porosité du gel devient un paramètre, et non plus une valeur à trouver dans la littérature.

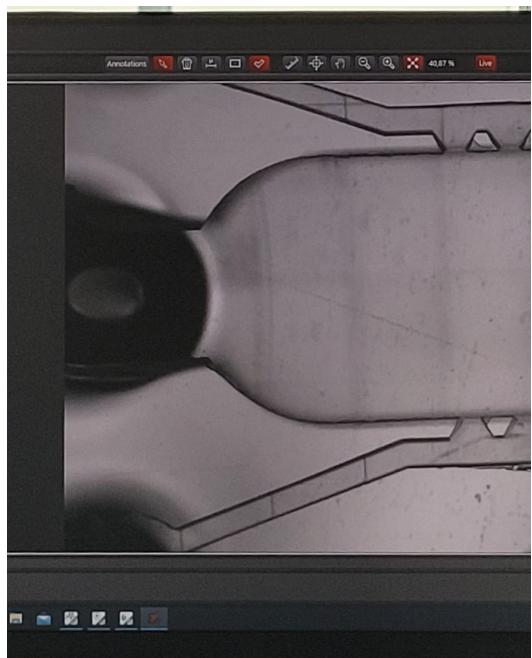
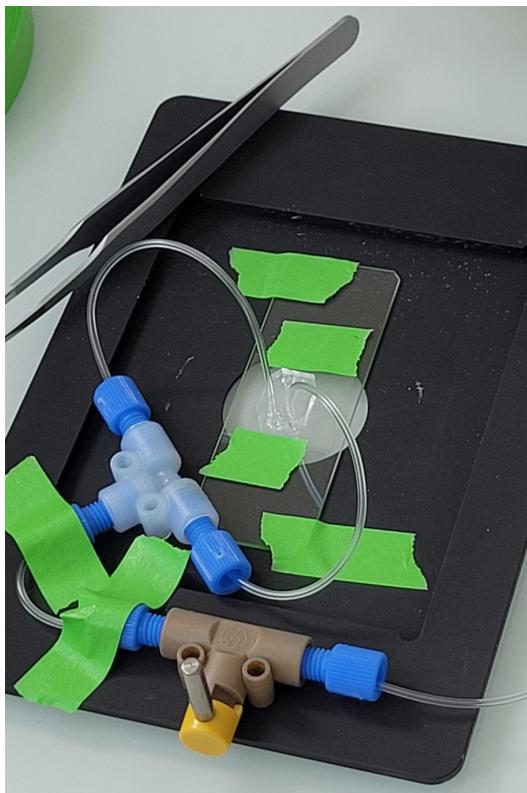


FIGURE 30 – La puce microfluidique et ses tuyaux d'alimentation (à gauche), et la vue à la caméra du microscope (à droite)

Cette visite du C2N a été aussi très gratifiante vis-à-vis de notre travail. Nous avons vu directement quelle valeur ajoutée notre travail pourrait avoir dans le monde sérieux de la recherche. Mme Haghiri et M. Liang semblaient réellement convaincus de l'intérêt d'un tel travail, et très intéressés par des simulations qui pourraient leur servir, y compris pour la publication d'un papier de recherche. Même si nous n'avons pas orienté notre travail dans leur sens, puisqu'ils n'étaient pas les clients de ce projet, leur intérêt fut très gratifiant et motivant.

4.3 Conclusion

Pour conclure, ce projet a été l'occasion d'apporter un nouveau regard sur la puce microfluidique : celui d'un jumeau numérique capable de prévoir, en amont de toute expérience en laboratoire, la géométrie et le mode d'alimentation optimaux pour favoriser la viabilité de l'organoïde dans le cadre d'une étude en régime stationnaire. Ce projet de groupe a également permis d'entamer un travail conséquent d'adaptation du modèle en régime variable en délivrant un nouveau fichier COMSOL et en dressant synthétiquement un état de l'art des lois de consommation à intégrer numériquement plus tard dans ce même fichier. Une fois ce fichier complet et fonctionnel, nous pourrons avoir accès à un modèle relativement fidèle à la réalité des comportements physico-chimiques au sein d'une puce microfluidique.

Grâce à un échange régulier avec les laboratoires, il sera donc enrichissant de pouvoir faire référence à nos travaux préliminaires afin de judicieusement fabriquer une puce microfluidique aux dimensions optimales car jusqu'alors ce choix semblait arbitraire.

5 Remerciements

Nous tenions à remercier chaleureusement l'ensemble de l'équipe encadrante, M. Mike Kirkpatrick et M. Cristian Puentes, pour leurs précieux conseils tout au long du projet, leurs encouragements ainsi que leur bienveillance.

De même, nous remercions M. Bertrand David ainsi que notre cliente Mme Simona Mura pour leur pédagogie, leur vivacité et engagement dans le projet qui nous ont permis d'avancer rapidement et efficacement chaque semaine lors de nos nombreux échanges suite aux rapports hebdomadaires que nous écrivions. Un grand merci à M. Bertrand David également pour l'opportunité de participer au "Congrès Junior Pluridisciplinaire" organisé le 8 juin et auquel nous ne pourrons nous rendre du fait de nos cours de SHS à CentraleSupélec. Nous sommes également très reconnaissant de l'aide fournie par M. Denis Aubry concernant la simulation en régime variable et les éclairages qu'il a su nous fournir sur son fonctionnement. De même, les discussions avec Mme Veronique Letort-Le Chevalier à propos des lois de croissance ont été riches d'enseignement pour notre projet.

Enfin, nous tenions à remercier Mme Anne-Marie Haghiri et le post-doctorant M. Feng Liang pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre projet et aux échanges intéressants que nous avons pu mener dans le cadre de notre visite au C2N. Cet apport d'informations concernant la partie pratique et expérimentale en laboratoire a été très éclairant.

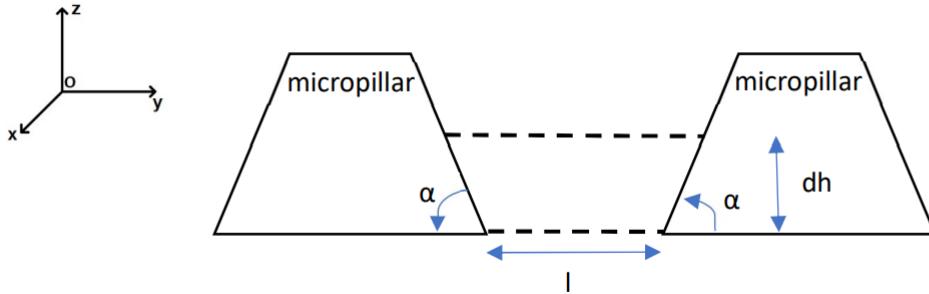
6 Bibliographie

- [1] Alexandra SONTHEIMER-PHELPS, Bryan A HASSELL et Donald E INGBER. « Modelling cancer in microfluidic human organs-on-chips ». en. In : *Nat. Rev. Cancer* 19.2 (fév. 2019), p. 65-81.
- [2] Martina UGRINIC et al. « Fabrication of high aspect ratio microfluidic devices for long term in vitro culture of 3D tumor models ». In : *Microelectronic Engineering* 267-268 (2023), p. 111898. ISSN : 0167-9317. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.mee.2022.111898>. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167931722001927>.
- [3] Cynthia E. WEBER et Paul C. KUO. « The tumor microenvironment ». In : *Surgical Oncology* 21.3 (2012), p. 172-177. ISSN : 0960-7404. DOI : <https://doi.org/10.1016/j.suronc.2011.09.001>. URL : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960740411000727>.
- [4] Soukaina EL HAJJ et al. *Co-culture of HUVECs and hMSCs in a Perfusion Bioreactor Ensures the Development of Viable Spheroids*. ESB 2022. 32nd Annual Conference of the European Society for Biomaterials. Poster. Sept. 2022. URL : <https://hal.science/hal-03845197>.
- [5] Johanna M S LEMONS et al. « Quiescent fibroblasts exhibit high metabolic activity ». en. In : *PLoS Biol.* 8.10 (oct. 2010), e1000514.
- [6] Alexey N BASHKATOV et al. « Glucose and mannitol diffusion in human dura mater ». en. In : *Biophys. J.* 85.5 (nov. 2003), p. 3310-3318.
- [7] Richard J McMURTREY. « Analytic models of oxygen and nutrient diffusion, metabolism dynamics, and architecture optimization in three-dimensional tissue constructs with applications and insights in cerebral organoids ». en. In : *Tissue Eng. Part C Methods* 22.3 (mars 2016), p. 221-249.
- [8] Xiaolin WANG et al. « Engineering anastomosis between living capillary networks and endothelial cell-lined microfluidic channels ». en. In : *Lab Chip* 16.2 (jan. 2016), p. 282-290.
- [9] Frédéric de MIOLLIS. « Développement d'un système de culture in vitro 3D et microfluidique pour étudier les interactions tumeur-stroma et la résistance aux drogues de l'adénocarcinome du pancréas ». 2021LILUI015. Thèse de doct. 2021. URL : <http://www.theses.fr/2021LILUI015/document>.
- [10] María ANGUIANO et al. « Characterization of three-dimensional cancer cell migration in mixed collagen-Matrigel scaffolds using microfluidics and image analysis ». en. In : *PLOS ONE* 12.2 (2017), e0171417. ISSN : 1932-6203. DOI : 10.1371/journal.pone.0171417. URL : <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0171417>.
- [11] W. MUELLER-KLIESER, J. P. FREYER et R. M. SUTHERLAND. « Influence of glucose and oxygen supply conditions on the oxygenation of multicellular spheroids ». In : *British Journal of Cancer* 53.3 (mars 1986), p. 345-353. ISSN : 0007-0920. URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2001348/>.

- [12] Floriane LIGNET. « Approches mathématiques multi-niveaux pour l'étude de la croissance des tumeurs : Application à la morphogenèse du cancer du sein et ciblage thérapeutique de l'angiogenèse du cancer du côlon ». fr. Thèse de doct. Ecole normale supérieure de Lyon - ENS LYON, nov. 2012. URL : <https://theses.hal.science/tel-00844807>.
- [13] Sébastien BENZEKRY. « Les lois de la croissance tumorale ». fr. In : *Bibliothèque Tangente* (2016). URL : <https://inria.hal.science/hal-01418295>.
- [14] Monica SIMEONI et al. « Predictive pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of tumor growth kinetics in xenograft models after administration of anticancer agents ». eng. In : *Cancer Research* 64.3 (fév. 2004), p. 1094-1101. ISSN : 0008-5472. DOI : [10.1158/0008-5472.can-03-2524](https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-03-2524).
- [15] Juan A DELGADO-SANMARTIN et al. « Oxygen-Driven Tumour Growth Model : A Pathology-Relevant Mathematical Approach : e1004550 ». eng. In : *PLoS computational biology* 11.10 (2015). ISSN : 1553-734X.
- [16] Jianchen YANG et al. « An experimental-mathematical approach to predict tumor cell growth as a function of glucose availability in breast cancer cell lines ». eng. In : *PloS One* 16.7 (2021), e0240765. ISSN : 1932-6203. DOI : [10.1371/journal.pone.0240765](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240765).

7 Annexe

7.1 Calcul de la largeur maximale d'un micro-canal



Au vu des ordres de grandeur de hauteur, on suppose que l'interface gel-liquide est verticale. Le gel est plus propice à s'échapper lors de sa phase de chargement, avant gélation, où il semble peu visqueux et très liquide, donc nous considérerons le gel comme un fluide newtonien.

On note l la largeur du micro-canal au niveau de la chambre de la puce, α l'angle des coins des micro-piliers, comme sur le schéma ci-dessus, et L la hauteur du micro-canal.

Supposons que le gel sorte de la chambre sur une longueur élémentaire dh . Au vu de la géométrie des micro-piliers, l'augmentation de surface de l'interface du gel est de :

$$dS = \frac{2dh}{\tan(\alpha)} * L \quad (17)$$

Dans ce cas, le travail élémentaire des forces de tension superficielle est, par définition :

$$\delta W_s = -dE_p = -\gamma dS = -\gamma * \frac{2dh}{\tan(\alpha)} * L \quad (18)$$

Avec γ la tension superficielle du gel.

Sur une longueur élémentaire dh , on peut considérer que les forces de tension superficielle n'ont qu'une composante sur l'axe z , et nous pouvons donc identifier l'expression de la force de tension superficielle linéique (sur l'axe x) :

$$f_s = \frac{2\gamma}{\tan(\alpha)} \quad (19)$$

Le gel s'échappera de la chambre de la puce si les forces de pression sont supérieures à cette force en un point.

Et la statique des fluides nous donne la force de pression appliquée sur une tranche élémentaire de l'interface d'une hauteur dx :

$$f_p = (P_0 + \rho gx - P_0)l * dx \quad (20)$$

Avec P_0 la pression atmosphérique, ρ la masse volumique du gel, et g l'accélération de la pesanteur.

Ainsi le maximum de force de pression est atteint en bas du canal : $f_p^{max} = \rho g L l dx$

Et le gel s'échappe si $f_p^{max} \geq f_s dx$, $f_s dx$ étant la force de tension superficielle sur une tranche élémentaire d'interface de hauteur dx .

Ce qui nous donne :

$$l_{max} = \frac{2\gamma}{tan(\alpha)\rho g L} \quad (21)$$

Avec de l'eau à la place du gel, $\alpha \approx 60^\circ$, et $L = 100\mu m$, cela nous donne $l_{max} \approx 8cm$.