



HAL
open science

Étude numérique de l'orientation des constituants d'un hydrogel lors du procédé d'impression 3D par extrusion

van Than Mai

► **To cite this version:**

van Than Mai. Étude numérique de l'orientation des constituants d'un hydrogel lors du procédé d'impression 3D par extrusion. Autre. Ecole Centrale de Lyon, 2023. Français. NNT : 2023ECDL0052 . tel-04483171

HAL Id: tel-04483171

<https://theses.hal.science/tel-04483171>

Submitted on 29 Feb 2024

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



N° d'ordre NNT : 2023ECDL0052

THESE de DOCTORAT DE L'ÉCOLE CENTRALE DE LYON

membre de l'Université de Lyon

Ecole Doctorale N°162

Mécanique - Energétique - Génie civil - Acoustique

Spécialité de doctorat : Biomécanique

Soutenue publiquement le 11/12/2023, par :

Van Than MAI

**Étude numérique de l'orientation de constituants
d'un hydrogel lors du procédé de bioimpression
3D par extrusion.**

Devant le jury composé de :

RONEL Sylvie, PR	LBMC, Université Claude Bernard Lyon 1	Présidente
MOLIMARD Jérôme, PR	INSERM, École des Mines de Saint-Etienne	Rapporteur
LEMAIRE Thibault, PR	MSME, Université Paris-Est Créteil	Rapporteur
DIDIER Clémentine, MCF	LTDS, École Centrale de Lyon-ENISE	Examinatrice
DAVID Laurent, PR	IMP, Université Claude Bernard Lyon 1	Invité
COURTIAL Edwin-Joffrey, MCF	ICBMS, Université Claude Bernard Lyon 1	Invité
BOULOCHER Caroline, HDR	École vétérinaire UniLaSalle	Directrice de thèse
RIEGER Romain, MCF	ICE - VetAgro Sup, École Centrale de Lyon	Encadrant de thèse
CHATELIN Robin, MCF	LTDS, École Centrale de Lyon-ENISE	Encadrant de thèse

Remerciements

D'abord et avant tout, je tiens à exprimer ma sincère gratitude à ma directrice de thèse, Caroline BOULOCHER, pour la confiance qu'elle m'a accordée en me choisissant pour ce sujet de thèse ambitieux ; pour sa patience, sa motivation et ses connaissances scientifiques approfondies. Ses conseils m'ont aidé tout au long de la recherche et de la rédaction de cette thèse.

Je tiens également à exprimer ma gratitude envers mes deux encadrants scientifiques, Romain RIEGER et Robin CHATELIN. Leurs échanges scientifiques précieux m'ont été d'une grande aide pour surmonter de nombreuses difficultés tout au long de mes années de doctorat. Merci, Romain et Robin, de m'avoir assisté dans divers problèmes, même les plus petits. Vous avez toujours été à mes côtés, me guidant et m'aidant depuis le premier jour de mon parcours doctoral. J'apprécie vraiment vos conseils, qui ont contribué à améliorer mes compétences.

Je tiens à remercier le Pr Jérôme MOLIMARD et le Pr Thibault LEMAIRE pour l'intérêt qu'ils portent à ce travail en acceptant de rapporter sur ce manuscrit. C'est un grand honneur pour moi qu'ils évaluent mon travail avec un soin et un intérêt profonds. Je remercie également la Pr Sylvie RONEL et la Dr Clémentine DIDIER qui ont accepté d'être examinatrices dans mon jury de thèse. Merci au Pr David DAVID et au Dr Edwin-Joffrey COURTIAL d'avoir accepté l'invitation au jury pour offrir un panel complet d'expertises.

Mes remerciements vont également à tous mes collègues du laboratoire ICE de VetAgro Sup et de l'École Centrale de Lyon. Merci pour l'accueil chaleureux et les nombreux commentaires constructifs sur mon travail. Je remercie les partenaires de ce projet de thèse, la plate-forme 3d.FAB, les laboratoires IMP et IMTEK pour leur accueil, leur écoute et leurs conseils précieux durant l'expérimentation sur la rhéologie des hydrogels.

Je remercie tous mes amis au Vietnam et en France pour les conversations intéressantes et les moments de détente après le travail. Ces moments ont été particulièrement bénéfiques après des périodes de recherche intensives.

Pour terminer, je voudrais remercier ma famille que j'aime plus que tout au monde. Vous êtes ma force pour aller aussi loin que possible. Merci pour tout !

Introduction générale

Depuis plusieurs années, la bioimpression 3D est spécifiquement utilisée dans le but de créer des construits d'ingénierie tissulaire, ou « *tissue engineered construct (TEC)* » [1, 2]. La bioimpression 3D par extrusion est la technique la plus couramment employée dans le domaine de l'ingénierie tissulaire (IT) permettant d'assembler des cellules et un échafaudage constitué de biomatériau qui peut être un hydrogel pour la création d'un TEC. Cette technologie est largement utilisée en raison de sa large gamme de viscosités, allant de 3×10^{-2} à 6×10^4 Pa.s et permettant de déposer différents types de cellules avec une densité cellulaire élevée en utilisant différents de biomatériaux [3, 4, 5].

Une fois l'hydrogel imprimé, les mécanismes de réticulation sont activés pour fixer la forme de l'échafaudage [3, 6], par exemple via le pH, les réactions photochimiques, la réticulation enzymatique ou la température. L'échafaudage cellulaire est ensuite mis en culture au sein d'un bioréacteur pour réaliser sa maturation, *i.e.* permettre l'activité cellulaire. Au cours de cette phase, les propriétés mécaniques et les caractéristiques topographiques de l'échafaudage, en particulier l'orientation des constituants de l'échafaudage, jouent un rôle crucial dans la stimulation de l'activité cellulaire telles que la migration, la prolifération, la différenciation et la synthèse de la matrice extracellulaire [7, 8, 9]. Par conséquent, être capable de maîtriser l'organisation interne des constituants de l'échafaudage pour imiter l'anisotropie structurelle du tissu cible et stimuler le comportement cellulaire est une préoccupation majeure des recherches en IT [10, 11].

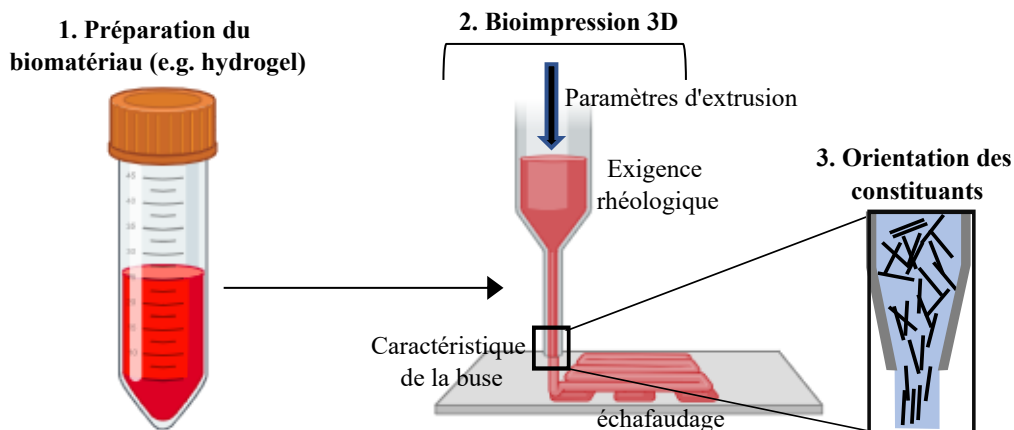


FIGURE 1 – Schéma d'un procédé d'extrusion de l'hydrogel [6]. L'hydrogel est placé dans une seringue et extrudé sur le plateau. L'étude de l'orientation des constituants à la sortie de la buse est la problématique majeure du projet de thèse.

Comme illustré dans la figure 1, lors du procédé d’extrusion d’un hydrogel, ce dernier est tout d’abord introduit dans une seringue, et des forces motrices telles que l’air comprimé ou une vis mécanique sont utilisées pour extruder des filaments d’hydrogel cellularisés ou acellularisés, couche par couche, par le biais d’une buse ou d’une aiguille [6] située à l’extrémité de la seringue. Cependant, le principal défi inhérent à la bioimpression 3D porte sur la relation entre les conditions d’impression (paramètres d’extrusion, caractéristiques des buses), le comportement rhéologique de l’hydrogel et l’orientation des constituants induite par l’écoulement à la sortie de la buse. Dans le cadre de ce travail de thèse, l’attention est portée sur les hydrogels acellularisés afin de simplifier l’approche dans le modèle numérique.

Dans ce contexte, cette thèse, intitulée « **Étude numérique de l’orientation de constituants d’un hydrogel lors du procédé de bioimpression 3D par extrusion** », a pour objectif d’étudier l’orientation des constituants lors de la bioimpression 3D par extrusion. Ce travail interdisciplinaire vise à proposer un modèle couplé entre le comportement rhéologique de l’hydrogel et l’orientation des constituants induite par l’écoulement lors du procédé d’extrusion. L’analyse de la littérature a mis en évidence l’existence de modèles permettant de décrire l’orientation des fibres renforcées dans le processus de moulage par injection de composites [12, 13]. Le caractère nouveau de l’étude réside dans le développement d’une approche spécifique à la bioimpression par extrusion, sur la base de modèles initialement pensés pour l’injection de composites. Le modèle développé au cours de cette thèse permet de calculer l’orientation des constituants induite par l’écoulement dans les hydrogels, selon des paramètres d’extrusion expérimentaux à travers une seringue équipée d’une buse dont les caractéristiques géométriques sont identiques à celles utilisées en IT pour l’impression de TEC. Il permet également de prendre en compte des comportements rhéologiques réalistes et complexes dans les calculs numériques des hydrogels afin d’étudier et de prédire l’orientation et la distribution des constituants dans les hydrogels imprimés.

Le manuscrit est structuré en deux parties principales. La première partie est consacrée à une revue de littérature visant à contextualiser le domaine d’étude, préciser la problématique et procéder à un état de l’art des approches numériques permettant de décrire la relation entre le comportement rhéologique de solution polymères et l’orientation des constituants. Le chapitre 1 présente des avancées dans le domaine de l’ingénierie tissulaire et des technologies de la bioimpression 3D. Une attention particulière y est portée sur la technique de la bioimpression par extrusion couramment utilisée pour créer des construits d’ingénierie tissulaire à partir d’hydrogels. Ensuite, une partie de ce chapitre est également dédiée aux biomatériaux naturels utilisés pour la formulation des hydrogels, ainsi qu’à leurs propriétés rhéologiques, qui servent de base pour la modélisation des hydrogels au moyen de modèles mathématiques dans les simulations. Le chapitre 2 présente la relation entre anisotropie structurelle de l’échafaudage et activité cellulaire. Il est important de noter que l’orientation des constituants de l’échafaudage joue un rôle crucial dans l’ancrage et le guidage des cellules, tout en déterminant les propriétés mécaniques de la structure im-

primée. Un modèle numérique est nécessaire pour étudier l'impact direct du processus de bioimpression par extrusion et les propriétés rhéologiques de l'hydrogel sur l'orientation des constituants qui fait l'objet du chapitre 3. Ce chapitre établit un état de l'art des approches numériques pour prédire l'orientation des constituants dans un fluide. Au cœur de cette étude se trouve la résolution de l'équation de Fokker-Planck, qui découle de la théorie cinétique. Cette équation couplée permet de calculer l'état d'orientation d'une population de constituants dans un volume élémentaire représentatif à l'aide d'une fonction de densité de probabilité.

La seconde partie du manuscrit est consacrée au développement d'un modèle numérique de prédiction de l'orientation des constituants. Tout d'abord, le chapitre 4 détaille l'étude expérimentale de caractérisation rhéologique des hydrogels. Cette étape est essentielle, car elle permet de modéliser l'écoulement de l'hydrogel à l'aide d'une loi mathématique basée sur les données rhéologiques mesurées. Ensuite, le chapitre 5 présente une stratégie numérique pour résoudre l'équation de Fokker-Planck. La résolution de cette équation apporte une approche innovante, car elle offre la possibilité de résoudre un problème couplé entre le comportement rhéologique des hydrogels et l'orientation des constituants induite par l'écoulement. La résolution de l'équation de Fokker-Planck nécessite une attention particulière et l'application d'hypothèses nécessaires pour réduire la complexité du problème dimensionnel. Enfin, le chapitre 6 présente les résultats numériques de l'orientation des constituants à travers trois études : (i) une analyse de l'orientation des constituants réalisée dans le cadre d'un test de *benchmark*, qui consiste à étudier l'orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan ; (ii) une analyse de l'orientation des constituants dans un contexte réaliste de bioimpression 3D, portant sur l'orientation des constituants dans une seringue équipée d'une buse tubulaire. Dans cette étude, les conditions d'extrusion réelles sont appliquées ; (iii) une analyse des paramètres qui influent sur l'orientation des constituants, à savoir le coefficient d'interaction C_I entre les constituants et le type de la buse (conique et tubulaire).

Ce manuscrit de thèse se termine par une conclusion générale, suivie de perspectives pour le développement du modèle et son utilisation dans un contexte de prédiction de l'anisotropie de TEC pour l'IT.

Résumé

L'objectif principal de ce travail de thèse est de développer une stratégie numérique permettant de calculer et de prédire l'orientation des constituants induite par l'écoulement de l'hydrogel lors du processus de bioimpression 3D par extrusion. L'équation de Fokker-Planck représente une approche cinétique permettant la description d'une fonction de distribution de probabilité (PDF) par rapport au temps, ce qui permet ainsi de représenter l'état réel d'une population des constituants, tels que des chaînes polymères ou des fibres renforcées, dans un volume élémentaire représentatif (VER). Cette approche a été couplée à une méthode de calcul de dynamique des fluides (CFD) pour résoudre l'écoulement du fluide qui transporte les constituants. Des simulations numériques ont été effectuées pour un canal plan comme un cas test de *benchmark* afin d'étudier les performances de simulation et l'effet qualitatif des paramètres dans le modèle. L'étude de l'orientation des constituants dans un canal plan est un bon exemple pour valider numériquement le modèle. Ensuite, le modèle développé a été étendu pour calculer l'orientation des constituants dans une géométrie plus complexe, à savoir un modèle 2D d'une seringue équipée d'une buse tubulaire. Cette configuration représente une application pratique du modèle, permettant ainsi d'étudier l'orientation des constituants dans un contexte réel de bioimpression 3D. Le modèle utilisé pour décrire l'orientation des fibres renforcées dans le processus de moulage par injection de composites a été adapté dans ce travail pour être utilisé pour la première fois dans le domaine de l'ingénierie tissulaire, afin de modéliser le processus de bioimpression 3D par extrusion d'hydrogels. Cette approche innovante permet de résoudre un problème couplé entre les comportements rhéologiques réalistes et l'orientation des constituants induite par l'écoulement. La capacité de prédire l'orientation des constituants au sein de l'hydrogel pendant le processus d'extrusion pourrait fournir de nouvelles informations sur l'anisotropie structurelle des échafaudages, ce qui permettrait d'obtenir un comportement cellulaire adéquat ainsi que des propriétés mécaniques spécifiques dans le cadre de l'impression de TEC en IT.

Mots clés : Ingénierie tissulaire, bioimpression 3D par extrusion, équation de Fokker-Planck, fonction de distribution de probabilité, comportement rhéologique.

Abstract

The main goal of this thesis work is to develop a numerical strategy for calculating and predicting the orientation of constituents induced by hydrogel flow during the 3D extrusion printing process. The Fokker-Planck equation in the kinetic approach has been used to describe the evolution of the probability distribution function (PDF) with respect to time, thus enabling representation of the real state of a population of constituents, such as polymer chains or reinforced fibers, in a representative elementary volume (REV). This approach was coupled to a computational fluid dynamics (CFD) method to compute the fluid flow which transports the constituents. Numerical calculations were carried out for a planar channel as a benchmark test case to study simulation performance and the qualitative effect of parameters in the model. The investigation of the orientation of constituents in a planar channel is a good example for numerically validating. Then, the developed model was extended to compute constituent orientation in a more complex geometry, namely a 2D model of a syringe fitted with a tubular nozzle. This configuration represents a practical application of the model, enabling constituent orientation to be studied in a real 3D bioprinting context. The model developed is being used for the first time in tissue engineering to model the process of 3D bioprinting by hydrogel extrusion. The model solves a couple of problems between realistic rheological behaviors and flow-induced constituent orientation. The ability to predict the orientation of constituents within the hydrogel during the extrusion process could provide new insights into the structural anisotropy of scaffolds, enabling tissue engineers to achieve appropriate cellular behavior and specific mechanical properties.

Keywords: Tissue engineering, 3D extrusion printing, Fokker-Planck equation, probability distribution function, rheological behavior.

Table des matières

Remerciements	i
Introduction générale	ii
Résumé	v
Abstract	vi
Table des matières	vi
Liste des figures	x
Liste des tableaux	xv
Liste des abréviations	xvi
I Étude bibliographique	1
1 Les hydrogels comme échafaudages pour l'ingénierie tissulaire	3
1 Introduction à l'ingénierie tissulaire	3
2 Bioimpression 3D pour la fabrication de construits d'ingénierie tissulaire . .	6
3 Les hydrogels utilisés comme bioencres	9
4 Propriétés rhéologiques des hydrogels	17
5 Conclusion	22
2 Relation entre anisotropie structurale de l'échafaudage et activité cellulaire	23
1 Réponse des cellules à l'environnement	23
2 Influence de l'orientation des constituants de l'échafaudage sur les cellules .	26
3 Conclusion	29
3 Approches numériques d'orientation des constituants lors de l'écoulement	30
1 Introduction	30
1.1 Comportement rhéologique et microstructure	30
1.2 Approches hiérarchiques de modélisation des constituants	32
2 Représentation vectorielle de l'orientation d'une chaîne polymère et régimes de concentration d'une solution de polymères	34

2.1	Orientation d'une chaîne polymère	34
2.2	Régimes de concentration	36
3	Équation d'évolution microscopique d'un constituant	37
4	Évolution cinématique d'une population de constituants : fonction de distribution de probabilité	38
5	Évolution macroscopique d'une population de constituants : le tenseur d'orientation	40
5.1	Le modèle de Folgar-Tucker : prise en compte de l'interaction entre les constituants	40
5.2	Le modèle d'Advani-Tucker : évolution du tenseur d'orientation	42
6	Conclusion et choix d'un modèle	44
 II Développement d'un modèle numérique de prédiction de l'orientation des constituants d'un hydrogel lors de l'extrusion		45
4	Étude rhéologique des hydrogels	47
1	Introduction	47
2	Préparation des hydrogels	48
2.1	Protocole de fabrication de la FAG	49
2.2	Protocole de fabrication des CHI/CNF	50
3	Comportement rhéologique des hydrogels	51
3.1	Caractérisation rhéologique de la FAG	51
3.2	Caractérisation rhéologique des hydrogels CHI/CNF	54
4	Conclusions	57
5	Stratégie numérique pour la prédiction de l'orientation des constituants d'un hydrogel	58
1	Introduction	58
2	Modélisation de l'écoulement des hydrogels	60
3	Modélisation de l'orientation des constituants de l'hydrogel	61
4	Géométries de calcul et conditions aux limites	65
5	Conclusion	67
6	Résultats numériques de l'orientation des constituants	68
1	Introduction	68
2	Orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan	68
2.1	Étude des profils de vitesse	69
2.2	Orientation des constituants en fonction du taux de cisaillement	71
2.3	Étude de la sensibilité du maillage d'éléments finis sur l'orientation des constituants	75
3	Orientation des constituants dans les hydrogels à travers une seringue lors du procédé d'extrusion	78
4	Influence du coefficient d'interaction C_I sur l'orientation des constituants	83
4.1	Influence du coefficient C_I sur l'orientation des constituants dans le cas test du canal plan	83
4.2	Influence du coefficient C_I sur l'orientation des constituants dans le cas de la seringue	86
5	Influence de la géométrie sur l'orientation des constituants	88

6	Conclusion	92
	Conclusions générales et perspectives	94
1	Conclusions générales	94
2	Perspectives	96
	Annexe	101
1	Schémas de différenciation <i>upwind</i> et <i>power law</i>	101
2	Discrétisation de l'équation de Fokker-Planck sur le volume de contrôle . . .	102
	Liste des publications	104
	Bibliographie	105

Liste des figures

1	Schéma d'un procédé d'extrusion de l'hydrogel [6]. L'hydrogel est placé dans une seringue et extrudé sur le plateau. L'étude de l'orientation des constituants à la sortie de la buse est la problématique majeure du projet de thèse.	ii
1.1	Triade de l'ingénierie tissulaire pour élaborer un construit d'ingénierie tissulaire. Figure adaptée de [18].	4
1.2	Caractérisation histologique et morphologique de la peau humaine et de la peau imprimée après 26 jours de culture (les tissus ont été colorés au trichrome de Masson). Figure adaptée de [20].	4
1.3	Caractérisation du cartilage imprimé après 6 semaines de culture. (A) : Image au microscope optique de l'hydrogel PEG imprimé. (B1, B2) : Deux coupes transversales montrant la production de protéoglycanes à travers le matériau de l'implant et en particulier à l'interface implant-cartilage. Barres d'échelle : (A) = 2 mm ; (B1-B2) = 200 μ m. Figure adaptée de [21].	5
1.4	Représentation schématique des principales technologies dans la bioimpression 3D. Figure adaptée de [37].	8
1.5	(A) Formulation d'une bioencre. (B) Classification des biomatériaux utilisés pour la fabrication des échafaudages.	10
1.6	Structure des molécules du collagène.	11
1.7	Structure chimique de la gélatine. Figure adaptée de [74].	12
1.8	Représentation schématique de la gélatine thermoréversible à la température de transition sol-gel. Figure adaptée de http://www.chembam.com	13
1.9	Structure représentative de l'alginate. Figure adaptée de [83].	13
1.10	Description de la réticulation ionique par le calcium de la molécule d'alginate. Figure adaptée de [85, 88].	14
1.11	Représentation schématique du mécanisme d'autoassemblage du fibrinogène en fibrine. Figure adaptée de [98].	16
1.12	Structure chimique du chitosane. Figure adaptée de [62].	16
1.13	Description d'un fluide en régime laminaire.	18
1.14	Contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement.	19
1.15	Différents types de comportement rhéologique des fluides.	22
2.1	Éléments clés de l'interaction entre les cellules et l'échafaudage : ce dernier influence les cellules par ses propriétés générales. Figure adaptée de [123].	24
2.2	schématisation des types d'indices physiques stimulant des cellules. Figure adaptée de [7].	24

2.3	Illustration des quelques forces externes. (A) Compression. (B) Tension. Figure adaptée de [39].	25
2.4	L’alignement des cellules sur des échafaudages imprimés 3D par extrusion. L’image obtenue au microscope confocal : (A) Échafaudage en parallèle. (B) Échafaudage en hachure. (C) Échafaudage en aléatoire. Les cellules vivantes sont représentées en vert et les cellules mortes en rouge. Les lignes noires courtes indiquent l’alignement des molécules de polymère. Figure adaptée de [138].	27
2.5	Orientation des fibroblastes de la cornée dans les échafaudages contraints/-non contraints : les fibroblastes colorés pour la F-actine ont montré que les cellules dans l’échafaudage non contraint sont orientées de manière aléatoire, alors que les cellules dans l’échafaudage contraint sont alignées parallèlement à l’axe long de la construction. Figure adaptée de [153].	28
3.1	Trajectoire d’écoulement du fluide polymère au cours d’un écoulement. Le champ de vitesse est représenté par \vec{u} et l’enchevêtrement des chaînes auquel on associe une distribution statistique de l’orientation dans le VER est illustré. Figure adaptée de [166].	31
3.2	Approches hiérarchiques de modélisation pour décrire la dynamique d’un système complexe. Figure adaptée de https://amath.washington.edu/news/2022/09/06/kinetic-theory-and-multiscale-modeling	32
3.3	Représentation schématique du modèle de <i>dumbbell</i> élastique. (A) Le polymère (représenté par une ligne pointillée) est modélisé par deux billes reliées par un ressort. La longueur et l’orientation du polymère sont données par le vecteur \vec{X} . (B) Le VER contient des <i>dumbbells</i> élastiques dans un écoulement de cisaillement. Figure adaptée de [156].	34
3.4	Orientation d’une chaîne polymère représentée par le vecteur \vec{p} du modèle d’haltère rigide. Chaque vecteur d’orientation est contenu dans une sphère de rayon unitaire. Chaque état d’orientation possible correspond donc à un point qui se trouve sur la surface de cette sphère unitaire.	35
3.5	Représentation schématique de (A) solution diluée ; (B) solution semi-diluée et (C) solution concentrée.	36
3.6	Représentation des différents régimes de concentration.	37
3.7	(A) Influence du coefficient C_I sur la fonction de distribution des orientations pour un écoulement de cisaillement. (B) Comparaisons des distributions d’orientation à l’état d’équilibre dans un écoulement de cisaillement et un écoulement élongationnel. Figure adaptée de [180].	41
4.1	Représentation schématique de la composition des hydrogels. (A) Hydrogel de FAG. (B) Hydrogel de CHI/CNF.	51
4.2	Rhéomètre rotationnel DHR2 de la plateforme 3dFAB. (1) Écran d’affichage. (2) Géométrie cylindrique. (3) Ordinateur équipé du logiciel TRIOS.	52
4.3	Caractérisation rhéologique de l’hydrogel de FAG. (A) Représentation du modèle mathématique de Herschel-Bulkley. (B) Courbe de contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement. La ligne continue bleue représente l’ajustement des données expérimentales au modèle de Herschel Bulkley.	52
4.4	Rhéomètre rotationnel AR2000 du laboratoire IMP. (1) Géométrie de la plaque conique. (2) Plan Peltier. (3) Ordinateur équipé du logiciel TRIOS.	54

4.5	Caractérisation rhéologique des hydrogels de CHI/CNF. (A) Courbe de la viscosité en fonction du taux de cisaillement de CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8. (B) et (C) Courbes d'ajustement du modèle de Cross et les données expérimentales de l'hydrogel CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement. La ligne continue bleue représente l'ajustement des données expérimentales au modèle de Cross.	55
5.1	Schéma représentant la procédure de résolution numérique de l'équation de Fokker-Planck. (A) L'écoulement du fluide en 2D régi par les équations de Navier-Stokes est résolu à l'aide d'une discrétisation par éléments finis dans le domaine spatial, qui est couplée à (B) une discrétisation par volumes finis dans le domaine de la configuration.	59
5.2	Schéma de discrétisation par volumes finis dans le domaine de la configuration. P, E et W représentent les nœuds central, est et ouest du système de volumes finis; e et w indiquent les bords est et ouest du volume de contrôle, respectivement.	62
5.3	Représentation des ellipses d'orientation.	65
5.4	Géométries 2D et conditions aux limites. (A) Canal plan - BC1 : Entrée de pression $P_{in} = 380$ Pa pour le comportement newtonien et Herschel-Bulkley; $P_{in} = 780$ Pa pour le comportement de Cross and $\psi = 1/\pi$; BC2 : $P_{out} = 0$ Pa; BC3 : glissement nul; BC4 : condition symétrique. (B) Buse conique - BC1' : $V_{in} = 5 \mu l/s$ and $\psi = 1/\pi$; BC2' : $P_{out} = 0$ Pa; BC3' et BC4' : glissement nul. (C) Buse tubulaire - BC1'' : $V_{in} = 5 \mu l/s$ and $\psi = 1/\pi$; BC2'' : $P_{out} = 0$ Pa; BC3'' et BC4'' : glissement nul. (D) Seringue - BC1''' : $V_{in} = 5 \mu l/s$ and $\psi = 1/\pi$; BC2''' : $P_{out} = 0$ Pa; BC3''' et BC4''' : glissement nul.	66
6.1	Isovaleurs de vitesse. Le profil de vitesse est représenté par des flèches blanches tracées à la ligne blanche au centre du canal. (A) hydrogel newtonien; (B) hydrogel de FAG (modèle de Herschel-Bulkley); (C) et (D) hydrogel de CHI/CNF (modèle de Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement).	69
6.2	Profil de vitesse le long de la ligne blanche au centre du canal, de bas en haut aux points X(2,1) et Y(2,2).	69
6.3	Distribution des taux de cisaillement et de l'orientation moyenne des constituants représentée par les ellipses blanches pour le cas test du canal plan en 2D. Avec un coefficient d'interaction $C_I = 0.01$. (A) comportement newtonien; (B) comportement non newtonien de Herschel-Bulkley (FAG) et (C) et (D) comportement non newtonien de Cross (CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement).	71
6.4	Courbes de la PDF d'orientation des constituants aux trois points représentés dans la figure 6.3 : losange bleu, cercle noir et étoile rouge. (A) Comportement newtonien; (B) Comportement de Herschel-Bulkley; (C) et (D) Comportement de Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement.	73
6.5	Courbes PDF comparées entre le comportement newtonien, Herschel-Bulkley de FAG, Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8 aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, respectivement.	73

6.6	Analyse de la sensibilité de quatre types de maillages d'éléments finis sur l'orientation des constituants dans l'écoulement newtonien. (A) PDF au point de losange; (B) PDF au point de cercle; (C) PDF au point d'étoile.	76
6.7	Distribution du taux de cisaillement dans une seringue à buse tubulaire avec un coefficient d'interaction $C_I = 0.01$. L'orientation moyenne des constituants est représentée par les ellipses. (A) comportement newtonien; (B) comportement non newtonien de Herschel-Bulkley (FAG) et (C) et (D) comportement non newtonien de Cross (CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement).	79
6.8	Courbes de la PDF d'orientation des constituants aux trois points représentés dans la figure 6.7 : losange bleu, cercle noir et étoile rouge. (A) Comportement newtonien; (B) Comportement de Herschel-Bulkley; (C) et (D) Comportement de Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement.	80
6.9	Courbes PDF comparées entre le comportement newtonien, Herschel-Bulkley de FAG, Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8 aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, respectivement.	81
6.10	Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge du canal plan représenté dans la figure 6.3. La PDF est calculée avec $C_I \in [0,001; 0,1]$ pour (A) le comportement newtonien; (B) le comportement Herschel-Bulkley de FAG; (C) et (D) le comportement Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8, respectivement.	83
6.11	Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge du canal plan représenté dans la figure 6.3. Les courbes PDF sont comparées entre les comportements aux quatre valeurs de C_I . (A) $C_I = 0,001$; (B) $C_I = 0,0063$; (C) $C_I = 0,025$ et (D) $C_I = 0,1$	84
6.12	Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge de la seringue à buse tubulaire représenté dans la figure 6.7. La PDF est calculée avec $C_I \in [0.001; 0.1]$ pour (A) le comportement newtonien; (B) le comportement Herschel-Bulkley de FAG; (C) et (D) le comportement Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8, respectivement.	86
6.13	Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge représenté dans la figure 6.7. Les courbes PDF sont comparées entre les comportements aux quatre valeurs de C_I . (A) $C_I = 0.001$; (B) $C_I = 0.0063$; (C) $C_I = 0.025$ et (D) $C_I = 0.1$	87
6.14	Orientation des constituants dans la buse conique pour le comportement newtonien, Herschel-Bulkley pour FAG et Cross pour CHI/CNF. La PDF est évaluée sur trois points : losange bleu, cercle noir et étoile rouge dans la figure 6.14A. (B) Résultats de la PDF au point de losange bleu; (C) Résultats de la PDF au point de cercle noir et (D) Résultats de la PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$	89
6.15	Orientation des constituants dans la buse tubulaire le comportement newtonien, Herschel-Bulkley pour FAG et Cross pour CHI/CNF. La PDF est évaluée sur trois points : losange bleu, cercle noir et étoile rouge dans la figure 6.15A. (B) Résultats de la PDF au point de losange bleu; (C) Résultats de la PDF au point de cercle noir et (D) Résultats de la PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$	90

6.16	Influence de la buse sur l'orientation des constituants pour le comportement newtonien. (A) PDF au point de losange bleu; (B) PDF au point de cercle noir et; (C) PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$	91
6.17	Influence de la buse sur l'orientation des constituants pour le comportement de Herschel-Bulkley. (A) PDF au point de losange bleu; (B) PDF au point de cercle noir et; (C) PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$	92
7.18	(a) Schéma de l'expérience réalisée à l'ESRF. Un extrudat d'hydrogel est soumis à un rayonnement synchrotron sous l'effet d'une pression contrôlée à une température fixe de 21°C. (b) Définition des positions relatives x du faisceau synchrotron dans l'extrudat. (c) Image de diffraction SAXS sur le bord de l'échantillon avec une valeur d'intensité q fixe et une valeur $x/R = 1$ où x est la position relative du faisceau par rapport au centre de l'extrudat et R est le rayon de la buse d'impression. (d) Tracé de l'intensité à une valeur q donnée où la zone 1 est la zone d'intérêt pour l'orientation de l'hydrogel donné et la zone 2 correspond à l'artefact de réflexion sur la surface de l'extrudat.	97
7.19	(A) Schéma de description de l'orientation d'un constituant est représentée par le vecteur unitaire \vec{p} . Toutes les orientations possibles du vecteur \vec{p} en 3D sont définies sur une sphère unitaire; (B) Schéma de discrétisation par volumes finis dans le domaine de la configuration. P, E, W, S, et N représentent les nœuds de volumes finis, w, e, s et n indiquent les bords du volume de contrôle, respectivement.	99
7.20	Schématisation du gonflement à la sortie de la buse lors du procédé d'extrusion.	100

Liste des tableaux

1.1	Comparaison des technologies de bioimpression 3D.	8
1.2	Différents types de fluide en fonction de l'indice de comportement n	20
4.1	Les réactifs nécessaires pour la préparation de l'hydrogel FAG.	49
4.2	Les réactifs nécessaires pour la préparation de l'hydrogel CHI/CNF.	50
4.3	Paramètres du modèle de Herschel-Bulkley.	53
4.4	Paramètres du modèle de Cross.	56
6.1	Les résultats du nombre de Reynolds dans le cas test.	70
6.2	Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point de losange pour les comportements rhéologiques.	74
6.3	Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point d'étoile pour les comportements rhéologiques.	74
6.4	Erreur relative maximale des maillages fin, normal et grossier par rapport au maillage le plus fin.	77
6.5	Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point de losange et d'étoile pour les comportements rhéologiques.	81
6.6	Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point d'étoile pour chaque coefficient d'interaction donné.	85
6.7	Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point d'étoile pour chaque coefficient d'interaction donné.	88
6.8	Moyenne et écart-type de la PDF dans le comportement newtonien pour chaque buse.	91
6.9	Moyenne et écart-type de la PDF dans le comportement de Herschel-Bulkley pour chaque buse.	92

Liste des abréviations

BC	Condition aux limites
CAO	Conception Assistée par Ordinateur
CFD	Computational Fluid Dynamics
CHI/CNF	Hydrogel à base de Chitosane et nanofibres de cellulose
DMEM	Milieu de culture sans calcium
FAG	Hydrogel à base de Fibrinogène, Alginate et Gélatine
FDM	Dépôt de Matière Fondue (FDM)
FEM	Méthode des éléments finis
FENE	Modèle dumbbell élastique non linéaire
FNG	Fluide Newtonien Généralisé
IT	Ingénierie Tissulaire
MEC	Matrice Extracellulaire
PDE	Equations aux dérivées partielles
PDF	Fonction de Distribution de Probabilité
STL	Standard Triangle Language
TEC	Construit d'Ingénierie Tissulaire
VER	Volume Elémentaire Représentatif

Première partie

Étude bibliographique

Chapitre 1

Les hydrogels comme échafaudages pour l'ingénierie tissulaire

1 Introduction à l'ingénierie tissulaire

Bien que généralement maîtrisée, la greffe d'organe, ou transplantation, présente encore de nombreuses limites. La problématique d'accès à suffisamment de tissus et d'organes pour tous les patients est de plus en plus pesante. Aux États-Unis, il y a actuellement 65 000 personnes sur la liste d'attente d'une greffe et, en France, près de 24 000 patients ont été en attente d'un organe en 2018 [14, 15]. Pour surmonter ces limitations, de nouvelles approches sont nécessaires, et le domaine de l'ingénierie tissulaire s'est notamment développé dans ce contexte afin de répondre au besoin en tissus adaptés à la transplantation. Le terme d'ingénierie tissulaire (IT) a été inventé par Y.C. Fung pour l'application d'outils issus de l'ingénierie à l'analyse de tissus natifs [16]. Ce terme est cependant rapidement devenu une discipline qui peut être définie comme un ensemble de techniques inspirées des principes de l'ingénierie et des sciences de la vie pour le développement de substituts biologiques capables de restaurer ou de maintenir la fonction de tissus spécifiques [17].

En tant que domaine multidisciplinaire, l'IT présente de nombreuses applications. L'un de ses principaux objectifs, qui suscite également notre intérêt, est la création d'un construit d'ingénierie tissulaire, en anglais « *tissue engineered construct* (TEC) » [1, 2]. La figure 1.1 illustre la triade essentielle pour élaborer un TEC, basée sur trois éléments fondamentaux : (i) une source de cellules, principalement des cellules souches ou d'autres types de cellules en fonction du tissu d'intérêt ; (ii) un échafaudage fabriqué à partir de biomatériaux [18] (les échafaudages servent de support aux cellules pour leur croissance et la synthèse de la matrice extracellulaire (MEC) par les cellules elles-mêmes-dans le cadre de cette thèse, un échafaudage constitué d'hydrogel d'origine naturelle est utilisé pour la création des TEC) ; (iii) la méthode de biofabrication dont la procédure implique l'utilisation de technologies de bioimpression 3D pour l'assemblage des cellules et de l'échafaudage.

Les TEC créés grâce à la bioimpression 3D offrent la possibilité de tester des produits

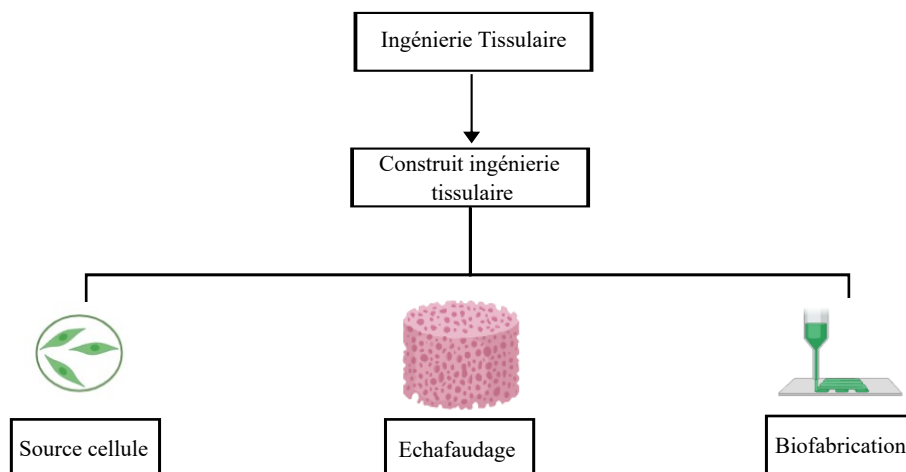


FIGURE 1.1 – Triade de l'ingénierie tissulaire pour élaborer un construit d'ingénierie tissulaire. Figure adaptée de [18].

pharmaceutiques lors de leur développement car ils présentent une similitude importante avec les tissus d'origine, ce qui permet de réaliser des expérimentations sans risque pour les humains et en réduisant le recours à l'expérimentation animale [19]. Citons le travail de Pourchet *et al.*, [20] dans le domaine d'IT de la peau. L'objectif de cette étude était d'utiliser la technique de bioimpression 3D par extrusion pour produire des systèmes de derme/épiderme mimétique de la peau. Pour cela, un échafaudage constitué d'un hydrogel composé d'alginate, de gélatine et de fibrinogène a été utilisé.

Dans la figure 1.2, on peut observer des coupes de 5 μm de peau humaine normale ainsi que de peau bioimprimée après 26 jours de culture après coloration au trichrome de Masson. L'ensemencement des kératinocytes sur le dessus du derme montre un niveau remarquable de stratification et de différenciation épidermique. La caractérisation histologique a démontré que la peau imprimée en 3D présentait une morphologie et une composition biologique représentatives de la peau humaine normale. L'ensemencement des kératinocytes sur des hydrogels imprimés a favorisé la formation et la prolifération de

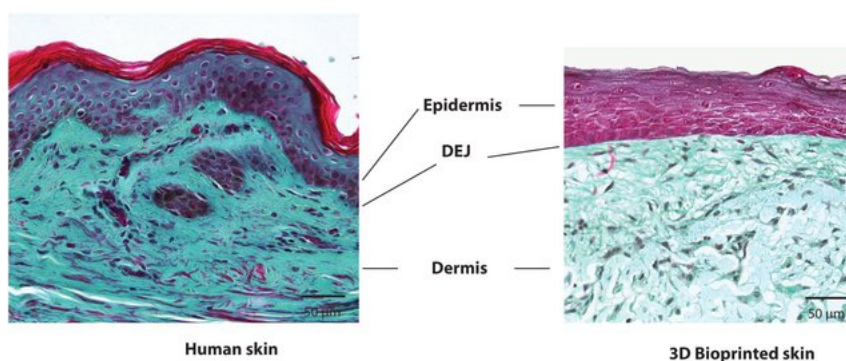


FIGURE 1.2 – Caractérisation histologique et morphologique de la peau humaine et de la peau imprimée après 26 jours de culture (les tissus ont été colorés au trichrome de Masson). Figure adaptée de [20].

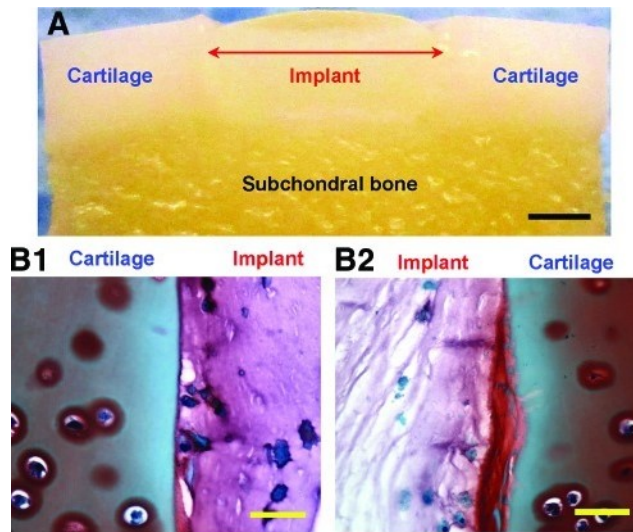


FIGURE 1.3 – Caractérisation du cartilage imprimé après 6 semaines de culture. (A) : Image au microscope optique de l'hydrogel PEG imprimé. (B1, B2) : Deux coupes transversales montrant la production de protéoglycanes à travers le matériau de l'implant et en particulier à l'interface implant-cartilage. Barres d'échelle : (A) = 2 mm ; (B1-B2) = 200 μ m. Figure adaptée de [21].

l'épiderme, donnant ainsi un épiderme de pleine épaisseur, bien organisé et différencié en phase terminale.

Un autre exemple met en jeu des progrès techniques de la bioimpression 3D pour créer des TEC mimétiques du cartilage articulaire. L'équipe de Cui [21] a développé un système de bioimpression par jet d'encre avec photopolymérisation simultanée, capable de réaliser une ingénierie tridimensionnelle de tissus cartilagineux. L'échafaudage utilisé dans cette étude est un hydrogel contenant du poly(éthylène glycol) (PEG) diméthylacrylate (PEGDMA). Pour évaluer l'intégration des implants dans les tissus environnants et leur stabilité à long terme, ainsi que pour améliorer leur fonctionnalité, le cartilage a été directement imprimé à l'intérieur d'un explant de condyle fémoral bovin. Les résultats présentés dans la figure 1.3 démontrent une stabilisation et une intégration complète de la construction néocartilagineuse imprimée dans l'explant après 6 semaines de culture. Le module de compression du PEGDMA imprimé se rapproche des propriétés du cartilage articulaire humain natif. De plus, une production accrue de MEC a été observée à l'interface entre l'échafaudage d'hydrogel et le cartilage hôte, ce qui indique une excellente intégration dans le cartilage natif environnant et le tissu osseux.

En résumé, dans le cadre de la bioimpression 3D, le domaine de l'IT est prometteur et s'est étendu très rapidement pour répondre à l'objectif de régénérer partiellement ou entièrement des parties défaillantes du corps. Ce progrès a été rendu possible grâce au développement de nouvelles techniques de biofabrication, comme illustré par les exemples précédents. Ce travail de thèse s'intéresse plus particulièrement aux technologies de bioimpression 3D qui permettent l'assemblage des cellules et de l'hydrogel de l'échafaudage afin de développer des TEC. La section suivante présentera les principales technologies de

bioimpression 3D utilisées dans le domaine de l'IT, en mettant l'accent sur la bioimpression 3D par extrusion, une technique récente largement employée et faisant l'objet de notre étude.

2 Bioimpression 3D pour la fabrication de construits d'ingénierie tissulaire

L'objectif principal de l'ingénierie tissulaire est de développer des approches basées sur des échafaudagesensemencés avec des cellules vivantes et/ou des molécules biologiquement actives pour former un TEC dans le but de favoriser la réparation et/ou la régénération des tissus [22]. Traditionnellement, différentes méthodes ont été utilisées pour fabriquer des échafaudages telles que le moussage de gaz [23], le moulage par fusion [24] et l'électrofilage [25]. Cependant, ces méthodes manuelles présentent des limites, notamment l'ensemencement des cellules sur les échafaudages, ce qui entraîne une perte importante de cellules et a un impact négatif sur leur performance. De plus, il est difficile d'obtenir des structures hétérogènes et multicellulaires qui imitent fidèlement les tissus et les organes réels en utilisant ces méthodes conventionnelles [26]. Par conséquent, il est nécessaire de développer de nouvelles méthodes de biofabrication pour progresser dans le domaine de l'ingénierie tissulaire tout en comprenant mieux leur impact sur les cellules et la fabrication de la matrice extracellulaire (MEC).

Depuis plusieurs années, la bioimpression 3D suscite un fort intérêt en tant que méthode de biofabrication prometteuse pour produire des échafaudages aux géométries précises en utilisant la conception assistée par ordinateur [27, 28]. Il convient de faire une distinction entre l'impression 3D et la bioimpression 3D. L'impression 3D est une technique de fabrication additive dans laquelle des couches successives de matériau sont ajoutées pour créer un objet en 3D à partir d'un fichier informatique et d'une imprimante. La bioimpression 3D est une technique de fabrication qui repose sur le même principe que l'impression 3D conventionnelle, mais qui permet le dépôt couche par couche de biomatériaux chargés de cellules vivantes, appelés bioencres, pour la fabrication de tissus [29]. Ainsi, la bioimpression 3D est spécifiquement utilisée dans le domaine de la biofabrication dans le but de créer des TEC telles que des tissus et des organes [30].

Le principe de la bioimpression 3D repose sur l'utilisation d'une technologie d'impression pilotée par ordinateur à partir d'un fichier numérique pour reproduire des architectures tissulaires complexes selon des formes et des modèles personnalisés. Afin de créer une structure biomimétique 3D optimale grâce à la bioimpression, le choix de la bioencre est d'une importance cruciale. Les bioencres utilisées dans la bioimpression comprennent des biomatériaux d'origine naturelle ou synthétique, des agrégats de cellules sans biomatériaux supplémentaires et des sphéroïdes multicellulaires [31]. Les biomatériaux utilisés comme bioencres doivent répondre à des critères spécifiques tels que la biocompatibilité et la capacité à être imprimés avec précision et à préserver l'intégrité structurale après l'impression [32, 33]. Pour satisfaire ces exigences, différentes formulations de bioencres ont

été développées en tenant compte de leurs propriétés mécaniques. Les hydrogels d'origine naturelle, en particulier, ont suscité un intérêt considérable en tant que sources potentielles de bioencres [34]. Cet aspect sera présenté dans la section 1.3 où seront détaillés les biomatériaux constituant un hydrogel. De plus, il existe trois étapes clés d'un procédé de fabrication de bioimpression 3D : (i) La conception assistée par ordinateur (CAO) : la bioimpression 3D commence par la CAO d'un modèle 3D du tissu ou de l'organe souhaité. Des logiciels de CAO spécialisés sont utilisés pour créer un fichier numérique du modèle, généralement au format STL ; (ii) Le choix des biomatériaux formant un échafaudage : les matériaux utilisés dans la bioimpression 3D sont souvent des hydrogels biocompatibles. Ces hydrogels sont sélectionnés en fonction de leurs propriétés physiques et biologiques telles que leur viscosité, leur capacité à maintenir la viabilité cellulaire et leur biodégradabilité ; (iii) L'impression : une fois le modèle 3D et les hydrogels prêts, le processus d'impression peut commencer. Le fichier numérique du modèle est converti en un langage de programmation spécifique, généralement le Gcode, qui contient les informations nécessaires pour guider l'imprimante 3D. Les paramètres d'impression tels que la vitesse d'impression, la hauteur de la couche et la longueur d'extrusion sont définis dans ce fichier.

La bioimpression 3D est apparue dans les années 1980 grâce aux travaux de Charles Hull, qui a inventé la stéréolithographie. Cette méthode a révolutionné la transformation de modèles 3D créés sur ordinateur en objets tangibles en utilisant des motifs lumineux projetés sur une résine photosensible [35]. Peu après, d'autres techniques de fabrication additive ont émergé, dont la modélisation par dépôt de matière fondue (FDM) en 1989. Cette méthode permet la construction d'objets en déposant précisément des couches successives de thermoplastique fondu à l'aide d'une buse mobile chauffée [36]. Il existe effectivement trois techniques principales couramment utilisées en bioimpression 3D : le jet d'encre, l'extrusion et l'impression assistée par laser (Figure 1.4). Les différentes technologies de bioimpression 3D présentent des caractéristiques distinctes lors du dépôt de matière sur le plateau d'impression. Par exemple, le jet d'encre utilise l'éjection de matière sous forme de gouttes, tandis que l'extrusion repose sur le dépôt continu de matière à l'aide d'une buse d'extrusion. Il est essentiel de considérer les différentes caractéristiques de ces technologies tout en tenant compte des facteurs clés de la bioimpression 3D, tels que la résolution de surface, la viabilité cellulaire et les biomatériaux utilisés lors du processus d'impression [38]. Le tableau 1.1 offre une comparaison plus claire des avantages et des inconvénients de ces différentes technologies.

La bioimpression 3D par extrusion est la technique la plus couramment utilisée en bioimpression 3D du fait de sa simplicité d'utilisation, ce qui la rend accessible y compris aux opérateurs peu expérimentés dans ce domaine. Cette technique a été introduite pour la première fois en 2002 [45]. Elle repose sur l'utilisation des têtes d'impression capables de se déplacer le long des trois plans de l'espace. L'hydrogel est placé dans une cartouche et se dépose couche après couche à travers une buse en utilisant la pression pneumatique ou des outils mécaniques tels que des pistons ou des vis. Un objet en trois dimensions est ainsi créé (Figure 1.4C). En effet, les systèmes de distribution mécaniques offrent un

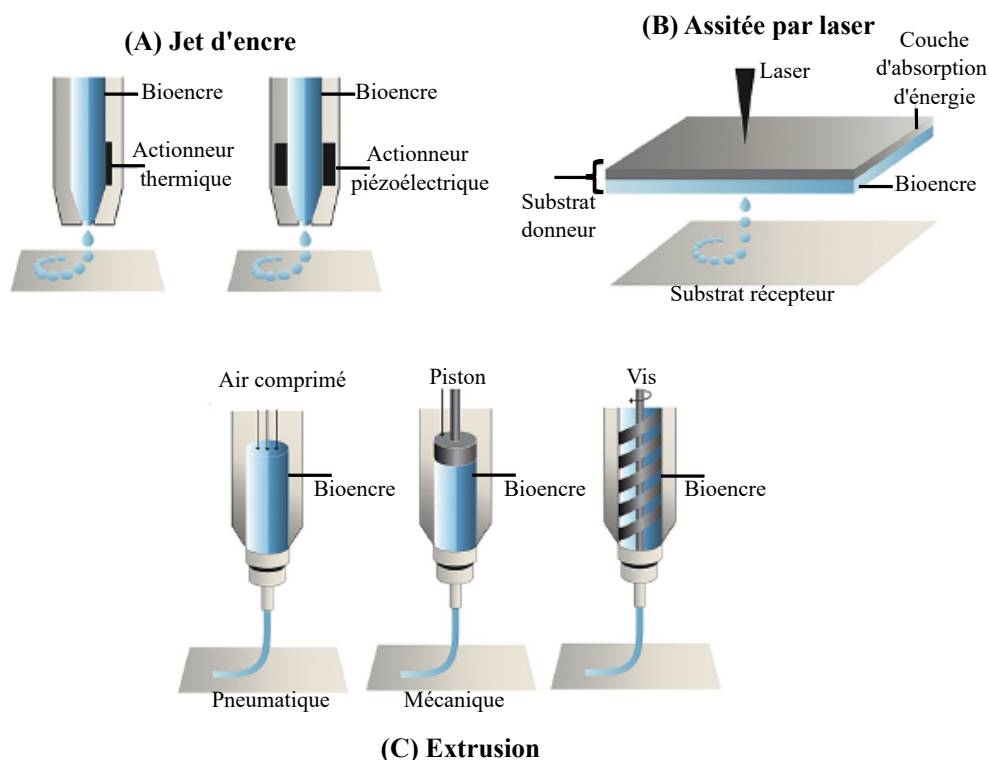


FIGURE 1.4 – Représentation schématique des principales technologies dans la bioimpression 3D. Figure adaptée de [37].

	Jet d'encre	Assistée par laser	Extrusion
Principe	Utilisation d'une force (thermique, électronique ou acoustique) pour éjecter de microgouttelettes de bioencre	Génération des bulles à haute pression par laser pour forcer les matériaux contenant des cellules vers le substrat collecteur	Utilisation d'une pression (mécanique ou pneumatique) pour extruder un filament de bioencre d'une seringue
Viabilité cellulaire	80 %	95 %	90 %
Viscosité supportée	3,5 - 12 mPa.s	1 - 300 mPa.s	30 - 6×10^7 mPa.s
Densité cellulaire	Faible, $< 10^6$ cellules/ml	Moyen, 10^8 cellules/ml	Élevé, $> 10^7$ cellules/ml
Résolution du dépôt	< 1 pl à > 300 pl	à l'échelle microscopique	5 μ m à millimètres
Temps de préparation	Bas	Moyen à élevé	Bas à moyen
Vitesse d'impression	1- 10^3 gouttes/s	200-1 600 mm/s	10-50 μ m/s
Coût	Bas	Élevé	Moyen
Références		[39, 40, 41, 42, 3, 43, 44]	

TABLEAU 1.1 – Comparaison des technologies de bioimpression 3D.

contrôle plus précis sur le flux de matériau et permettent un meilleur contrôle spatial, ce qui les rend avantageux pour la distribution des matériaux à viscosité élevée [46]. En revanche, les systèmes de distribution pneumatique ont l'avantage de posséder des composants de mécanisme d'entraînement plus simples, la force étant uniquement limitée par les capacités de pression d'air du système [47]. Un des principaux avantages de la bioimpression 3D par extrusion réside dans sa capacité à traiter une large gamme de propriétés de fluides compatibles avec le processus, en utilisant de nombreux matériaux biocompatibles [48, 49]. Cette technique permet d'imprimer des biomatériaux ayant des viscosités allant de 0,03 à 6×10^4 Pa.s [50], offrant ainsi une grande flexibilité dans le choix des matériaux imprimables. Les autres avantages incluent :

- la capacité de déposer des densités cellulaires très élevées (des millions de cellules/ml) [3];
- la survie cellulaire pouvant atteindre jusqu'à 90 % [2];
- la rapidité de dépôt et d'impression ($10 \text{ mm}^3/\text{min}$);
- la possibilité d'utiliser des microseringues pour réaliser des objets millimétriques tels que des valves aortiques ou des vaisseaux [51].

Cette technologie, bien qu'elle offre de nombreux avantages et soit largement utilisée dans le domaine de l'IT, présente encore cependant certaines limitations, notamment la résolution relativement faible qui est déterminée par la taille de la buse utilisée, généralement entre 100 et 400 μm de diamètre [52] ne permettant pas la réalisation d'objet micrométriques. De plus, il a été montré que l'utilisation de l'extrusion entraîne une diminution de la viabilité cellulaire dues aux dommages de cisaillement causés par la buse d'impression, par la pression ou la force mécanique [1, 53, 54]. La composition de l'hydrogel utilisé pour la fabrication d'échafaudages est un autre facteur qui influence l'imprimabilité. Ce facteur englobe le comportement d'écoulement et les propriétés physiques de l'hydrogel. Un large éventail de biomatériaux est utilisé dans les applications d'extrusion, notamment ceux qui présentent des propriétés rhéofluidifiantes. Ces matériaux ont un comportement non newtonien, ce qui signifie que leur viscosité diminue en réponse à une augmentation du taux de cisaillement. Pendant le processus de biofabrication, les taux de cisaillement élevés au niveau de la buse permettent à ces matériaux de s'écouler facilement, tandis que lors du dépôt, le taux de cisaillement diminue, ce qui entraîne une augmentation significative de la viscosité. Celle-ci est bénéfique car elle permet d'éviter les contraintes de cisaillement excessives qui pourraient compromettre la survie des cellules pendant le processus d'impression [55]. Les sections 3 et 4 présentent une étude de ces biomatériaux et de leur comportement rhéologique.

3 Les hydrogels utilisés comme bioencres

La bioimpression 3D par extrusion est couramment employée dans l'IT pour produire des échafaudages intégrant des cellules. Il est donc essentiel de concevoir et d'imprimer les

échafaudages de manière à imiter les caractéristiques biologiques et mécaniques des tissus naturels. Ces échafaudages biomimétiques sont cruciaux pour promouvoir une régénération tissulaire réussie et fonctionnelle [56, 57]. Un défi majeur de la bioimpression 3D par extrusion réside dans l'imprimabilité, c'est-à-dire la capacité à former et à maintenir des supports tridimensionnels reproductibles à partir d'une bioencre [58]. Le terme de bioencre fait référence aux matériaux bioimprimables utilisés dans les processus de bioimpression 3D, dans lesquels ils jouent un rôle crucial en tant que microenvironnement pour les cellules vivantes. Une bioencre est composée de deux éléments essentiels, comme illustré dans la figure 1.5A : les biomatériaux et les cellules d'intérêt.

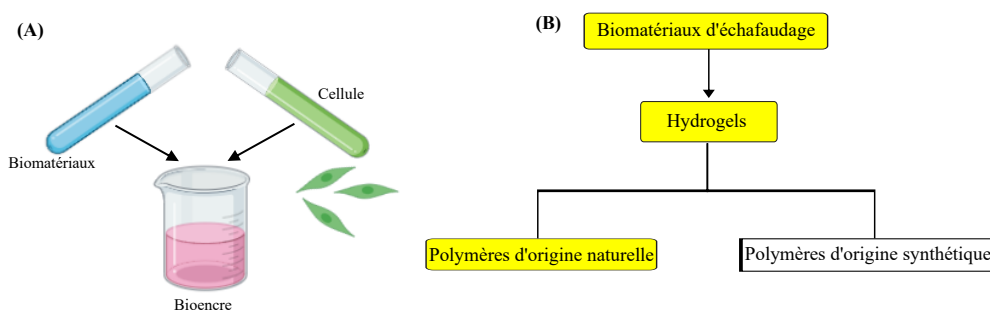


FIGURE 1.5 – (A) Formulation d'une bioencre. (B) Classification des biomatériaux utilisés pour la fabrication des échafaudages.

Les hydrogels sont une classe de biomatériaux [59] qui présentent de nombreuses caractéristiques attrayantes pour une utilisation en tant qu'échafaudages tissulaires. Par exemple, ils sont biocompatibles et ont tendance à se dégrader naturellement dans l'environnement biologique. De plus, de nombreux hydrogels possèdent des sites de liaison cellulaire spécifiques, ce qui favorise l'adhérence, l'étalement, la croissance et la différenciation des cellules [60]. Les hydrogels peuvent être classés en deux catégories distinctes (Figure 1.5B) : (i) hydrogels élaborés à partir de polymères d'origine naturelle tels que le collagène, la gélatine, l'alginate ; (ii) hydrogels élaborés à partir de polymères d'origine synthétique tels que les PEG (polyéthylène glycol), les PLA (acide poly lactique), les PVP (polyvinylpyrrolidone).

La capacité à reproduire des échafaudages par bioimpression 3D dépend de plusieurs facteurs, notamment l'imprimabilité et la biocompatibilité des hydrogels. Ainsi, le choix des hydrogels est effectué en tenant compte de leur compatibilité avec la croissance et la fonction cellulaire, de leurs propriétés mécaniques ainsi que de leurs caractéristiques d'impression. Par exemple, quand les hydrogels de polymères d'origine synthétique sont utilisés, ils permettent un contrôle précis de leurs propriétés structurales, mais de nombreux matériaux demandent souvent des températures élevées ou des solvants toxiques pour faciliter l'impression. C'est la raison pour laquelle ces hydrogels ne sont pas adaptés à l'impression simultanée avec des cellules. D'autre part, les hydrogels de polymères d'origine naturelle interagissent bien avec les cellules du fait de la teneur élevée en eau permettant de supporter la présence de cellules à l'intérieur et offrent des signaux biofonc-

tionnels. En revanche, les propriétés mécaniques de polymères d'origine naturelle ne sont pas aussi élevées que celles des polymères d'origine synthétique [61].

Cette section s'intéresse particulièrement à la catégorie des polymères naturels qui forment des hydrogels et qui sont couramment utilisés en bioimpression 3D dans le domaine de l'IT. En effet, les hydrogels de polymères d'origine naturelle présentent une excellente biocompatibilité et offrent des avantages tels que la capacité à imiter de manière plus efficace les propriétés biologiques de la matrice MEC humaine. De plus, ils sont hautement perméables à l'oxygène, aux facteurs de croissance et aux nutriments, ce qui permet de moduler la fonction cellulaire de manière appropriée [62, 63, 64]. Le collagène, la gélatine, l'alginate, le fibrinogène et le chitosane sont des exemples de biomatériaux d'origine naturelle couramment utilisés en ingénierie tissulaire pour produire des échafaudages. Étant les composants des hydrogels d'intérêt de ce travail de thèse, ils seront étudiés spécifiquement.

Le collagène

Le collagène est un polymère naturel largement utilisé dans le domaine de l'IT du fait de sa composante abondante dans la MEC des tissus, notamment de la peau, des ligaments, du cartilage. Il est composé de molécules trimériques constituées de trois chaînes polypeptidiques avec le motif répétitif $(G-X-Y)_n$, où X et Y sont souvent la proline et l'hydroxyproline, respectivement (Figure 1.6) [65].

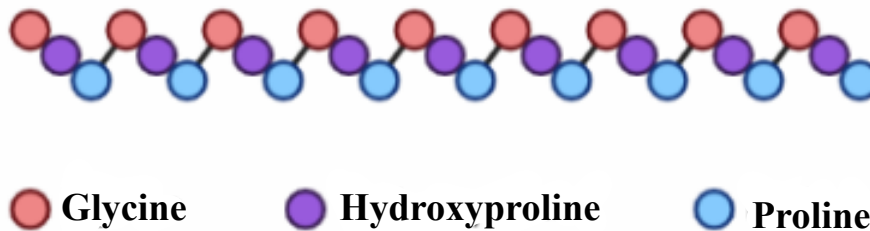


FIGURE 1.6 – Structure des molécules du collagène.

Chez les mammifères, il existe plusieurs types de collagène, dont chacun contient au moins un domaine en triple hélice avec la répétition du motif $(G-X-Y)_n$ dans la séquence d'acides aminés [66, 67]. L'extraction du collagène à partir des tissus animaux se réalise par une digestion enzymatique suivie d'une extraction acide. Ensuite, à basse température, le collagène est neutralisé et sa force ionique est ajustée aux valeurs physiologiques. Le collagène préparé dans ces conditions subit une gélification physique après environ une heure d'incubation à une température de 30 à 34 °C [68, 69, 70].

Le collagène présente de nombreux avantages lorsqu'il est utilisé dans la bioimpression en raison de sa biocompatibilité, et sa matrice favorise l'adhésion, la croissance et améliore également l'attachement et la prolifération des cellules [71]. Cependant, l'utilisation de collagène seul dans l'hydrogel est très limitée en raison de la lenteur du processus de

gélification complet. Ainsi, il reste à l'état liquide à basse température, ce qui rend difficile son impression. De plus, il a de faibles propriétés mécaniques. Lorsqu'il est sous forme d'hydrogel, il est donc instable et difficile à déposer lors de l'impression. Aussi le collagène est-il souvent utilisé en combinaison avec d'autres biomatériaux afin d'améliorer la stabilité mécanique et de diminuer le taux de dégradation [72].

La gélatine

La gélatine est une protéine naturelle dérivée de diverses sources de tissus animaux riches en collagène telles que la peau et les os [73]. La structure chimique typique de la gélatine est illustrée par la figure 1.7.

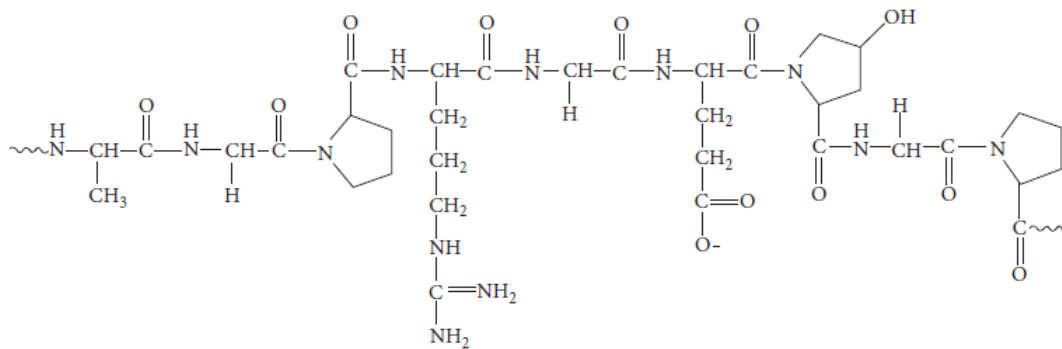


FIGURE 1.7 – Structure chimique de la gélatine. Figure adaptée de [74].

Deux types de gélatine sont généralement obtenus en fonction de la procédure de prétraitement. La gélatine de type A peut être produite en traitant des matériaux sources de collagène I par l'hydrolyse acide partielle. La gélatine de type B est obtenue par un prétraitement alcalin ou à la chaux [75]. L'utilisation de la gélatine de type A est dominante dans le domaine des biomatériaux. Bien que la production de la gélatine à partir de collagène à la suite d'un traitement par hydrolyse conduise à la séparation des molécules de leur conformation d'origine en hélice, les molécules individuelles de gélatine conservent leur structure primaire, c'est-à-dire que les chaînes de gélatine contiennent de nombreuses séquences d'acide Arginine-Glycine-Aspartate (RGD). Ce fragment sert de site de reconnaissance spécifique pour les intégrines et est impliqué dans la régulation des interactions cellule-cellule et cellule-matrice extracellulaire. Il sert également à favoriser l'adhésion cellulaire et a une meilleure capacité de régénération des tissus. Enfin et surtout, la propriété unique de la gélatine est la gélification thermoréversible. Le point de fusion de la gélatine est situé à 37 °C. En effet, la gélatine forme l'hydrogel quand sa température passe en dessous de sa température de gélification (< 37 °C) (Figure 1.8) [76, 77].

La gélatine apparaît comme un excellent candidat dans le développement d'hydrogel pour la fabrication des échafaudages grâce à de nombreux avantages tels que la biocompatibilité et la biodégradabilité élevées, un faible coût ainsi qu'une meilleure stabilité thermique dans les environnements physiologiques [78]. Cependant, les hydrogels à base de gélatine se solubilisent à 37 °C (température nécessaire dans un incubateur pour permettre

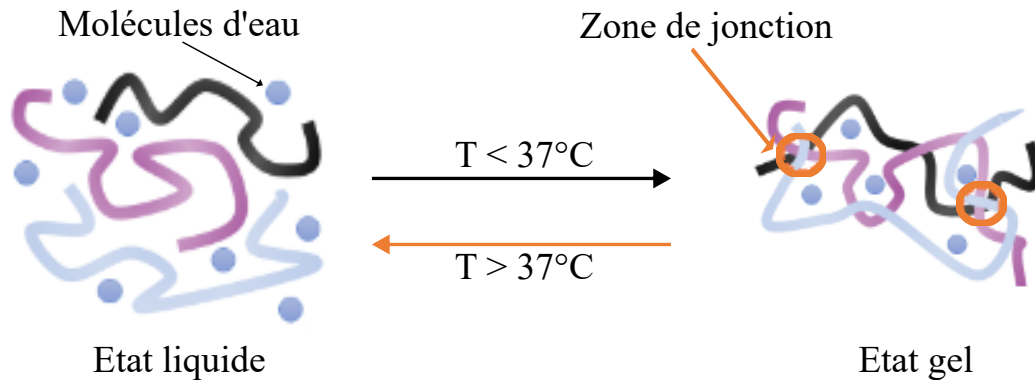


FIGURE 1.8 – Représentation schématique de la gélatine thermoréversible à la température de transition sol-gel. Figure adaptée de <http://www.chembam.com>.

la maturation tissulaire). La gélatine est donc rarement utilisée seule dans les formulations d'hydrogel. Pour utiliser la gélatine en bioimpression, il est souvent nécessaire de la coupler à d'autres biomatériaux et de procéder à une réticulation pour former des échafaudages d'hydrogel stables [79, 80]. L'ajout d'un agent de réticulation enzymatique dans les solutions de gélatine comme la transglutaminase permet de créer des échafaudages à la fois physiologiquement robustes et biocompatibles à des températures physiologiques (37°C) [81]. D'autre part, l'utilisation de la gélatine avec un autre biomatériau comme alginate dans l'hydrogel permet de maintenir la forme de la construction 3D lors de la maturation cellulaire [82].

L'alginate

L'alginate est un polysaccharide naturel, non cytotoxique, biodégradable et normalement obtenu à partir des algues brunes par extraction basique du carbonate de sodium. La structure d'alginate est composée de deux acides uroniques : β -(1-4)-D-Mannuronique (M) et α -(1-4)-L-Guluronique (G) (Figure 1.9). Une seule molécule d'alginate peut être

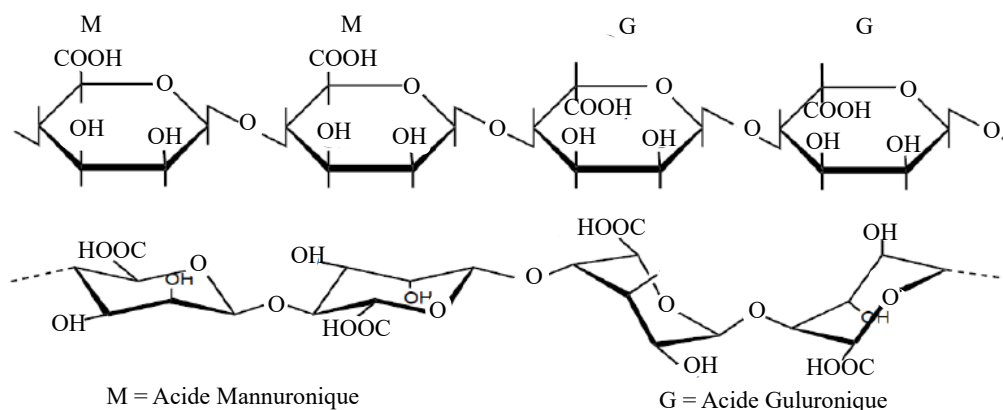


FIGURE 1.9 – Structure représentative de l'alginate. Figure adaptée de [83].

constituée à partir de trois types de monomères : blocs M, riches en résidus d'acide mannuronique ; blocs G, riches en résidus d'acide guluronique et blocs MG, riches des deux

acides mannuronique et guluronique [84, 85]. Seuls les blocs G d'alginate participent à la formation d'hydrogels via une réticulation intermoléculaire avec des cations divalents. De plus, le rapport M/G, la séquence, la longueur du bloc G et la masse moléculaire sont des facteurs clés influençant leurs propriétés physiques et ses hydrogels résultants [86].

L'alginate existe en plusieurs types, notamment les alginates de sodium, qui sont généralement disponibles dans le commerce. La masse moléculaire des alginates de sodium disponibles dans le commerce est d'environ 32 000 à 400 000 g/mol. Les propriétés physiques des gels obtenus peuvent être améliorées en augmentant la masse moléculaire de l'alginate. Néanmoins, une telle solution de la masse moléculaire élevée d'alginate devient très visqueuse, ce qui est souvent indésirable lors du procédé d'impression. La concentration d'alginate (ou le pH) détermine la viscosité de la solution. Cette dernière augmente lorsque le pH diminue. La valeur maximum de pH d'alginate est autour de 3 à 3,5 [87].

La solution aqueuse d'alginate est réticulée avec des agents ioniques tels que des cations divalents (c'est-à-dire Ca^{2+}). Il s'agit de la méthode la plus courante pour préparer des hydrogels d'alginate. Les cations Ca^{2+} interagissent uniquement avec les blocs d'acide L-guluronique (G) et forment alors un pont dû à l'attraction des groupes acide carboxylique chargés négativement entre deux chaînes d'alginate voisines, ce qui donne une structure de gel (Figure 1.10) [88].

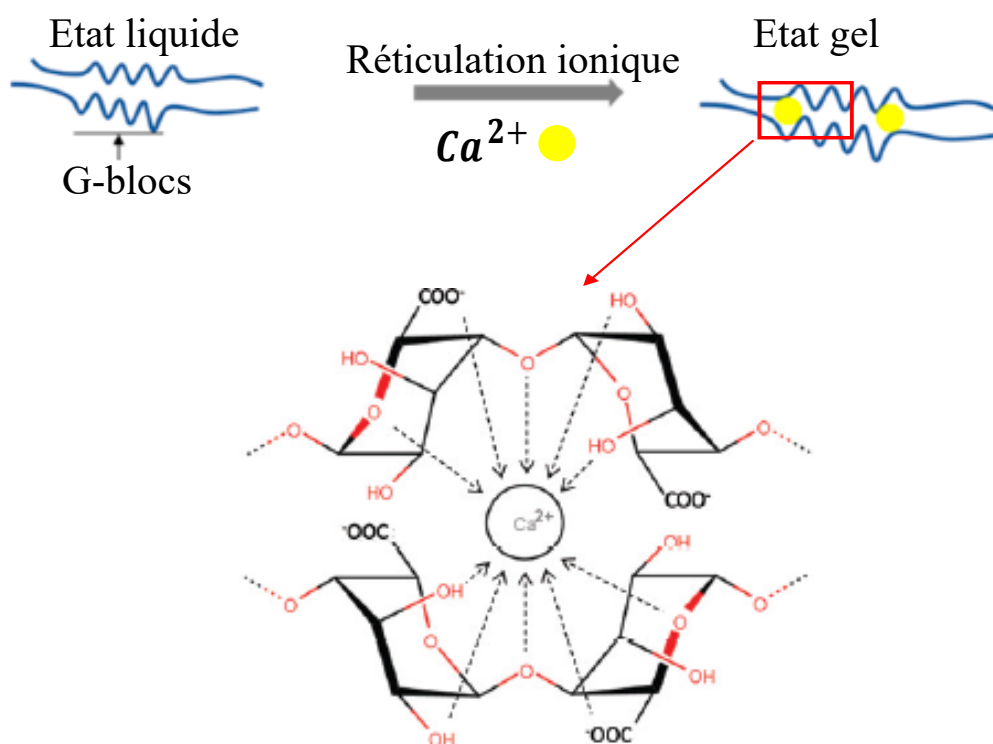


FIGURE 1.10 – Description de la réticulation ionique par le calcium de la molécule d'alginate. Figure adaptée de [85, 88].

Les hydrogels à base d'alginate sont largement utilisés dans la bioimpression 3D en raison de leurs propriétés particulières, telles que la biocompatibilité, le faible coût et la capacité de réticulation contrôlable permettant le relargage contrôlé de cellules ou de facteurs

de croissance. De plus, la large gamme de viscosité de l'alginate confère une polyvalence d'utilisation pour différentes techniques de bioimpression [89, 90, 91, 92]. Cependant, par comparaison avec autres biomatériaux naturels, l'alginate a une faible adhérence cellulaire dans l'hydrogel, ce qui ne permet pas d'incorporer des cellules dans le développement des tissus. Par conséquent, son utilisation seule est compliquée dans l'hydrogel. C'est pourquoi l'alginate est souvent combinée avec d'autres polymères naturels possédant déjà des propriétés d'adhésion cellulaire, tels que la gélatine et le fibrinogène [93, 94], ou que des peptides tels que l'arginine-glycine-acide aspartique lui sont ajoutés afin de fournir des sites de liaison moléculaire pour l'adhésion cellulaire [95, 96].

Le fibrinogène

Le fibrinogène est une glycoprotéine composée de trois paires de chaînes polypeptidiques $A\alpha$, $B\beta$, γ liées par des liaisons disulfure. Chez l'homme, sa masse est de 340 kDa pour 45 nm de longueur. Le fibrinogène est présent dans le sang à des concentrations plasmatiques de 2 à 4 g/L. En présence de la thrombine, protéase à sérine, le fibrinogène est hydrolysé et polymérisé en fibrine. Il forme des fils sur le site de la lésion du vaisseau sanguin et joue un rôle important dans la coagulation du sang et la cicatrisation des plaies dans le corps [97].

La transformation du fibrinogène en fibrine lors d'une blessure est activée par la protéase à sérine [99]. Le mécanisme d'autoassemblage de fibrinogène en fibrine insoluble commence par une molécule de fibrinogène et se déroule en quatre étapes principales, comme le montre la figure 1.11 [100, 101].

- **(A)** : La thrombine clive les extrémités N-terminales des chaînes $A\alpha$ et $B\beta$ dans le fibrinogène **E** et sépare les fibrinopeptides FpA et FpB des monomères de fibrine.
- **(B)** : L'interaction « Knob-hole » des monomères de fibrine permet de former des protofibrilles.
- **(C)** : Les protofibrilles interagissent latéralement via la liaison des chaînes α .
- **(D)** : La formation de gel de fibrine insoluble procède par réticulation du facteur XIIIa (une transglutaminase) en présence de Ca^{2+} qui agit en neutralisant les charges négatives des chaînes peptidiques, rendant la réaction de polymérisation irréversible et évitant la dégradation rapide des fibres de fibrine.

Le fibrinogène possède de faibles propriétés mécaniques par rapport à d'autres biomatériaux. Par conséquent, s'il est utilisé seul, il est difficile de maintenir la structure 3D des échafaudages. Néanmoins, l'utilisation du fibrinogène dans la bioimpression 3D est très courante, car il a une excellente biocompatibilité et est biodégradable. On trouve très souvent le fibrinogène dans les bioencres combiné aux autres biomatériaux. En effet, les hydrogels à base de fibrinogène apportent des protéines qui contiennent des sites de liaison cellulaire permettant ainsi d'améliorer la capacité de l'adhésion cellulaire. De plus, par la présence de la thrombine et du calcium dans l'étape de polymérisation, le fibrinogène forme un réseau de fibrine insoluble pouvant supporter la structure 3D imprimée [102].

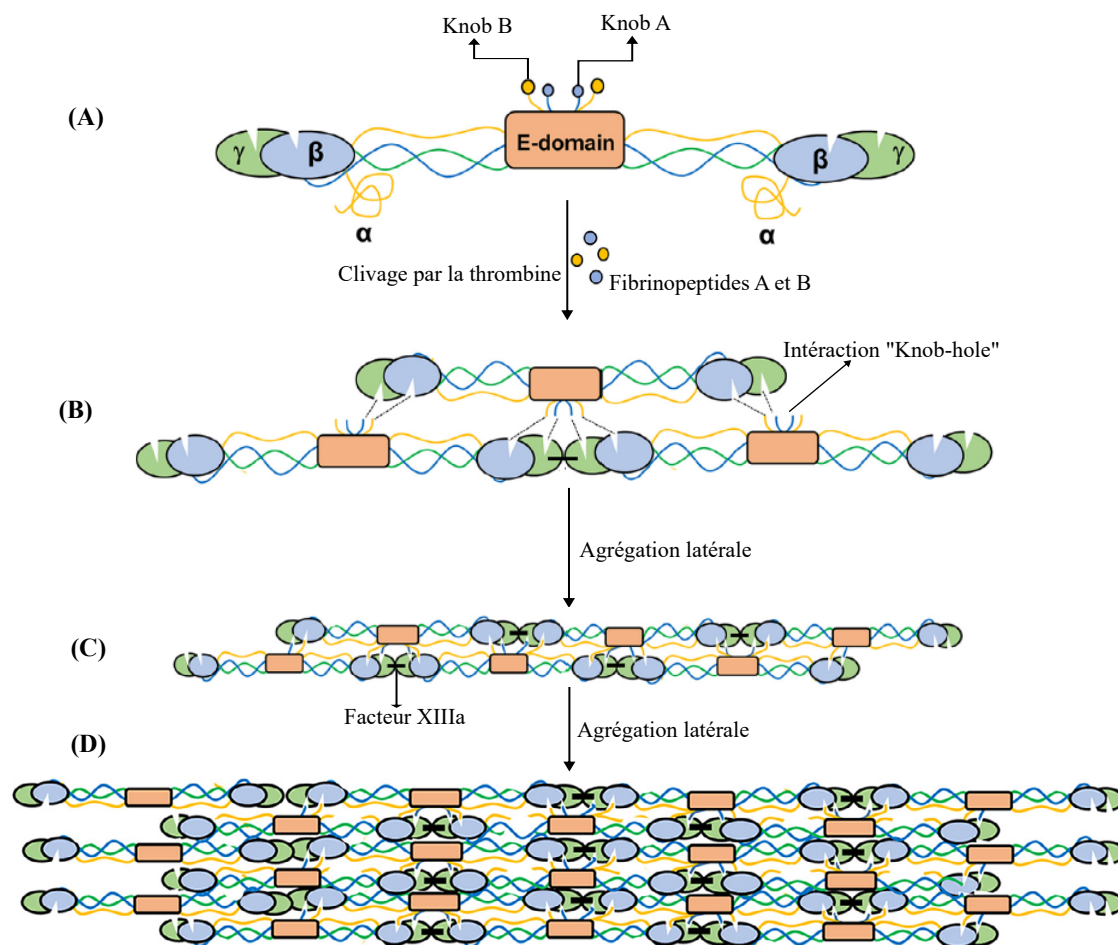


FIGURE 1.11 – Représentation schématique du mécanisme d'autoassemblage du fibrinogène en fibrine. Figure adaptée de [98].

Le chitosane

Le chitosane est un polysaccharide d'origine naturelle qui peut être mis en œuvre sous forme d'hydrogel. Il s'agit d'une famille de polysaccharides constituée d'unités D-glucosamine et N-acétyl-glucosamine (Figure 1.12) [103].

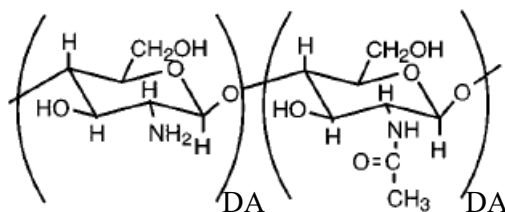


FIGURE 1.12 – Structure chimique du chitosane. Figure adaptée de [62].

Le chitosane regroupe donc de nombreux types de structures macromoléculaires. Lorsqu'il est obtenu par réacétylation d'un chitosane à un faible degré d'acétylation on obtient un chitosane statistique parfait et il reste soluble dans des milieux acides dilués jusqu'à un degré d'acétylation (DA) de près de 65 à 70 %. Selon la source et le procédé de production

utilisé, la masse molaire moyenne du chitosane à faible DA peut aller jusqu'à 650 000 g.mol⁻¹ [104].

Le chitosane possède de nombreuses propriétés intéressantes telles que la biocompatibilité, la biodégradabilité, la capacité antibactérienne. Par conséquent, les hydrogels à base de chitosane ont été étudiés dans de nombreuses applications d'ingénierie tissulaire. Cependant, les propriétés mécaniques du chitosane sont faibles, instables, ce qui limite son application dans l'ingénierie des tissus durs et l'impression de échafaudages à grande échelle. Il est donc souvent combiné avec d'autres biomatériaux dans des hydrogels ou d'autres matériaux tels que des nanocristaux de cellulose pour produire une bioencres à base de nanocellulose/chitosane afin d'améliorer les propriétés mécaniques [105].

4 Propriétés rhéologiques des hydrogels

Les échafaudages utilisés en ingénierie tissulaire sont principalement fabriqués à partir d'hydrogels en raison de leur biocompatibilité et de leur imprimabilité. Lors du processus d'extrusion 3D, un hydrogel qui est initialement désorganisé et inactif subit une transformation par l'application d'un cisaillement élevé lorsqu'il est extrudé à travers la buse. Il change de forme et atteint finalement un nouvel état de repos. Ces transitions sont gouvernées par les propriétés rhéologiques des hydrogels [106]. La section suivante présente des modèles fluides associés aux comportements rhéologiques des hydrogels.

La rhéologie

La rhéologie s'intéresse à l'étude des écoulements de la matière sous l'effet d'une contrainte appliquée. Les modèles rhéologiques sont généralement exprimés par une équation constitutive qui relie le tenseur des contraintes au tenseur des taux de déformation et de déformation. La mesure des propriétés rhéologiques des fluides permet de prédire leur comportement lors de l'écoulement. Les principales propriétés rhéologiques utilisées pour caractériser le processus de bioimpression sont la viscosité, la contrainte de cisaillement et les modules de cisaillement viscoélastiques [6].

Considérons un fluide imaginaire qui s'écoule de façon laminaire comme illustré par la figure 1.13. Ce fluide peut alors être décrit comme une section de couches dont celle du bas reste collée à la paroi (condition de non-glissement), tandis que la couche supérieure correspond à l'endroit où l'on applique une force de cisaillement. La vitesse de cisaillement ou taux de cisaillement, notée $\dot{\gamma}$, mesure le cisaillement appliqué au sein d'un fluide. Elle dépend de la contrainte de cisaillement et de la nature du fluide. Le gradient de vitesse décrit la variation spatiale de la vitesse d'écoulement qui s'exprime par la relation

$$\dot{\gamma} = \frac{\partial u}{\partial y}. \quad (1.1)$$

Une contrainte de cisaillement, désignée par τ en N/m² ou Pa, se crée sur chaque particule du fluide lorsqu'une force de cisaillement (\vec{F}) agit sur le fluide par unité de surface (S),

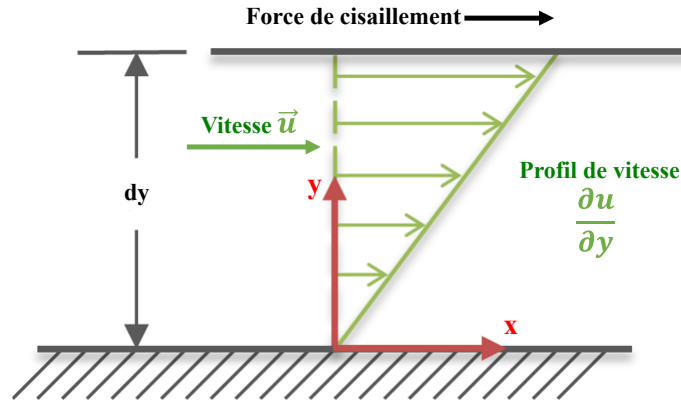


FIGURE 1.13 – Description d'un fluide en régime laminaire.

parallèlement la direction de l'écoulement.

$$\tau = \frac{\vec{F}}{S}. \quad (1.2)$$

La figure 1.13 illustre le profil de vitesse qui décrit les vitesses des différentes couches d'un fluide, et la longueur des flèches représente une mesure de la vitesse. Il est essentiel de noter que la force de cisaillement déplace ces couches dans une direction donnée (vers la droite dans le cas présent), tandis qu'une force de résistance s'oppose à ce mouvement et agit dans une direction parallèle à la surface entre les couches. Cette force de résistance est mesurée par la viscosité μ , exprimée en Pa.s, qui est une caractéristique de cette propriété. L'équation de μ est la suivante :

$$\tau = \mu \dot{\gamma}. \quad (1.3)$$

La viscosité est une propriété importante des fluides qui relie les contraintes au taux de déformation. Elle définit la résistance à l'écoulement d'un fluide permettant à celui-ci de s'écouler plus ou moins rapidement. Par exemple, le miel a une viscosité plus élevée que l'eau ($\mu = 10^1$ Pa.s et 10^{-3} Pa.s, respectivement), c'est pourquoi le miel s'écoule moins facilement que l'eau. Le comportement rhéologique d'un fluide est caractérisé par sa viscosité : un fluide newtonien se caractérise par une viscosité constante en fonction du taux de cisaillement, c'est-à-dire que la viscosité de cisaillement ne dépend pas des contraintes qui lui sont appliquées. En revanche, pour un fluide non newtonien, la viscosité varie en fonction du taux de cisaillement, ce qui illustre un comportement rhéologique plus complexe (Figure 1.14). Les fluides non newtoniens sont classés en fluides indépendants du temps, qui sont généralement des fluides rhéofluidifiants (*shear-thinning*) ou rhéoépaississants (*shear-thickening*), et en fluides dépendants du temps, dits thixotropes.

Dans le domaine de la bioimpression, la viscosité des hydrogels occupe une place centrale dans la détermination de leur comportement lors de l'écoulement. Elle est considérée comme le principal facteur influençant la distribution des cellules, leur viabilité et l'imprimabilité des hydrogels. Une faible viscosité des hydrogels a tendance à provoquer la

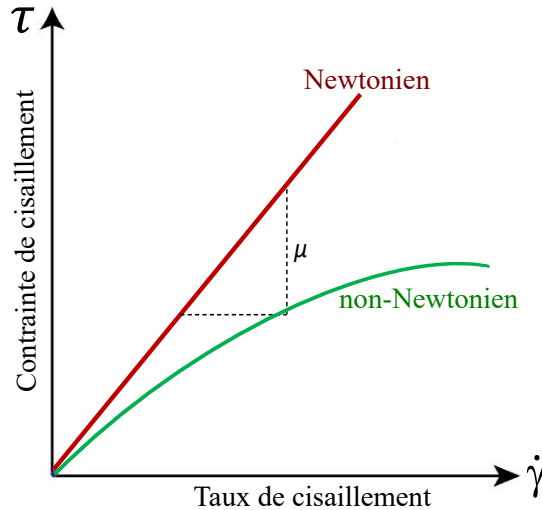


FIGURE 1.14 – Contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement.

formation de gouttelettes plutôt que de fibres lors du dépôt, ce qui entraîne une répartition cellulaire inhomogène et une réduction de l'imprimabilité de l'hydrogel. En revanche, une viscosité élevée améliore la stabilité mécanique et la précision d'impression de l'hydrogel. Cependant, une viscosité plus élevée génère une contrainte de cisaillement élevée qui peut avoir un impact sur la viabilité des cellules lors du processus d'impression [107, 108]. Par exemple, la présence d'alginate dans la composition des hydrogels est souvent souhaitée dans la formulation d'hydrogel en raison de sa viscosité optimale/moyenne (c'est-à-dire $400 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$ à $3\,000 \text{ mm}^2 \text{ s}^{-1}$) qui améliore la viabilité cellulaire ($> 90 \%$) et la stabilité mécanique de l'hydrogel [109].

Le fluide newtonien

Le fluide newtonien est caractérisé par une viscosité constante qui ne dépend pas de la force de cisaillement appliquée. Son comportement est décrit par l'équation suivante :

$$\tau = \mu \cdot \dot{\gamma}, \quad (1.4)$$

où :

τ est la contrainte de cisaillement exercée par le fluide, exprimée en [Pa] ;

μ est la viscosité dynamique du fluide, exprimée en [Pa.s] ;

$\dot{\gamma}$ est le gradient de vitesse perpendiculaire à la direction de cisaillement, exprimé en [s^{-1}].

Les solutions aqueuses, les huiles à faible viscosité, la plupart des solvants et l'air sont des exemples de fluides newtoniens. Un hydrogel est constitué d'un réseau tridimensionnel de polymère hydrophile, utilisant de l'eau comme solvant de gonflement [110]. Ce type d'hydrogel, qui présente un comportement newtonien, est principalement observé à de faibles concentrations de polymères, où la viscosité est dominée par de petites molécules

isotropes, ou à des taux de cisaillement très faibles, où le mouvement brownien peut entraver l'alignement des polymères [34]. En pratique, la plupart des hydrogels utilisés dans la bioimpression 3D par extrusion sont non newtoniens, ce qui signifie que leur viscosité n'est pas constante, mais dépend plutôt du taux de cisaillement ou de l'historique du taux de cisaillement.

Le fluide non newtonien : modèle de Ostwald-de Waele

Dans les fluides non newtoniens rhéofluidifiants, la viscosité μ diminue à mesure que le taux de cisaillement augmente. En revanche, les fluides rhéoépaississants sont des fluides dont la viscosité μ augmente avec une augmentation du taux de cisaillement. Le modèle mathématique d'Ostwald-de Waele (ou loi de puissance), est l'un des modèles les plus couramment utilisés pour décrire ces deux types de comportements. Il est défini comme suit :

$$\tau = K\dot{\gamma}^n, \tag{1.5}$$

où :

τ est la contrainte de cisaillement en [Pa] ;

K est l'indice de consistance d'écoulement en [Pa.s ^{n}] ;

n est l'indice de comportement d'écoulement sans dimension [-] ;

$\dot{\gamma}$ est le taux de cisaillement en [s⁻¹].

À partir de l'équation (1.5), la loi de puissance peut être subdivisée en trois types de fluides différents en fonction de la valeur de leur indice de comportement d'écoulement n :

n	Type de fluide
< 1	Fluides rhéofluidifiants
= 1	Fluides newtoniens
> 1	Fluides rhéoépaississants

TABLEAU 1.2 – Différents types de fluide en fonction de l'indice de comportement n .

Les hydrogels présentant des comportements rhéofluidifiants sont largement utilisés dans la bioimpression par extrusion car ils apportent des propriétés importantes, notamment par la diminution de la viscosité quand les forces de cisaillement augmentent lors du processus d'extrusion, ce qui permet de faciliter l'extrusion ainsi que de maintenir la forme initiale lorsque l'hydrogel traverse la buse. De plus, la viabilité cellulaire est améliorée grâce aux faibles contraintes de cisaillement subies pendant l'extrusion [6, 111]. Les raisons de la diminution de la viscosité lorsqu'il y a une augmentation du taux de cisaillement dans l'hydrogel sont expliquées d'un point de vue physique. Généralement, avec l'augmentation du taux de cisaillement, les chaînes de polymère se réorganisent et ont tendance à s'aligner le long de la direction d'écoulement, ce qui réduit la résistance à l'écoulement et donc la viscosité [112].

Le modèle de loi de puissance est utile et le plus simple pour modéliser l'écoulement des hydrogels. Par exemple, ce modèle a été appliqué pour modéliser la bioencres à partir d'un mélange de gélatine-alginate-fibrinogène dans des conditions d'impression afin d'analyser la viabilité cellulaire lors du procédé d'extrusion [113]. Cependant, le modèle de loi de puissance ne tient pas compte de la contrainte non nulle à l'origine (le seuil de contrainte), qui est un facteur important dans les hydrogels utilisés en bioimpression 3D. Pour surmonter cet obstacle, le modèle de Herschel-Bulkley est donc utilisé.

Le fluide non newtonien : modèle de Herschel-Bulkley

Le fluide d'Herschel-Bulkley (ou fluide à seuil) est un cas particulier d'un fluide non newtonien. Comme leur nom l'indique, les fluides à seuil se caractérisent par un seuil de contrainte non nulle à l'origine, exprimé par τ_0 . Si la contrainte est appliquée au-delà de cette valeur, le fluide peut s'écouler et il se comporte comme un fluide rhéofluidifiant ou rhéoépaississant ou de manière linéaire. Cependant, le fluide réagit comme un solide si la contrainte ne dépasse pas ce seuil [114]. L'équation constitutive du modèle de Herschel-Bulkley s'écrit :

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n, \quad (1.6)$$

où :

τ est la contrainte de cisaillement en [Pa] ;

τ_0 est le seuil de contrainte en [Pa] ;

K est l'indice de consistance d'écoulement en [Pa.sⁿ] ;

n est l'indice de comportement d'écoulement sans dimension [-]. Pour $n < 1$, le fluide est rhéofluidifiant, alors que pour $n > 1$, le fluide est rhéoépaississant. Si $n = 1$ et $\tau_0=0$, ce modèle se réduit au fluide newtonien (Figure 1.15) ;

$\dot{\gamma}$ est le taux de cisaillement en [s⁻¹].

Le fluide d'Herschel-Bulkley est très utile et largement utilisé dans la communauté de la bioimpression, car il prend en compte les régions à faible taux de cisaillement et inclut la relation entre le seuil de contrainte et les comportements rhéofluidifiants. En effet, la fidélité d'impression et l'intégrité de forme 3D des hydrogels sont améliorées par le seuil de contrainte car l'hydrogel reste solide après extrusion [115]. Beaucoup de travaux ont été menés autour du modèle de fluide à seuil pour la modélisation des hydrogels. Les résultats ont montré qu'une amélioration de l'imprimabilité des hydrogels permet d'augmenter la viabilité cellulaire [115, 116, 117].

Les hydrogels pour l'impression par extrusion possèdent des caractéristiques combinées d'écoulement et de maintien de forme. Lorsqu'ils traversent une buse, ils doivent s'écouler avec une résistance interne minimale, notamment en présence de cellules. Une fois que le matériau est déposé, ces propriétés doivent être inversées, se traduisant par un arrêt immédiat de l'écoulement, une accumulation de forces internes pour résister à la déformation, et une capacité élastique de rétention de forme. Les principaux paramètres rhéologiques

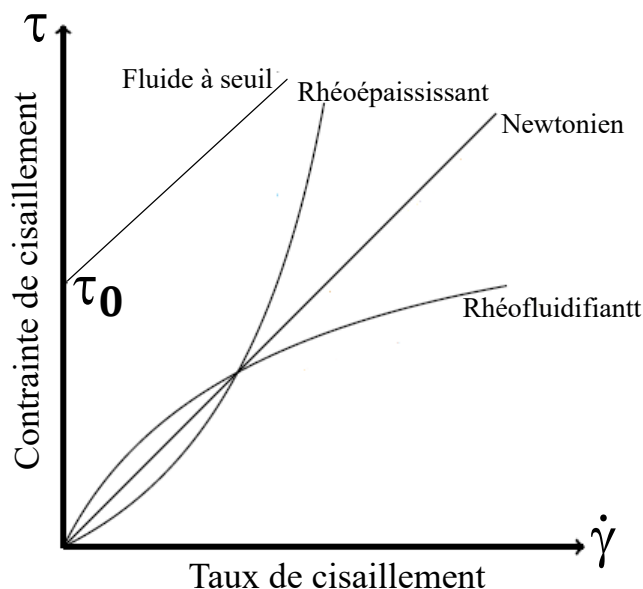


FIGURE 1.15 – Différents types de comportement rhéologique des fluides.

qui décrivent ces transitions sont le comportement rhéofluidifiant et le seuil de contrainte [6]. Les hydrogels utilisés dans ce travail de thèse seront abordés dans le chapitre 4, où des études rhéologiques seront présentées pour mettre en évidence leurs propriétés, notamment en ce qui concerne le comportement rhéofluidifiant et le seuil de contrainte.

5 Conclusion

Dans ce premier chapitre de l'étude bibliographique, ont été passées en revue les avancées dans le domaine de l'IT pour fabriquer des TEC en utilisant les technologies de bioimpression 3D. La technique de la bioimpression par extrusion est largement utilisée du fait de sa grande versatilité avec les biomatériaux imprimables et sa capacité à déposer des densités cellulaires élevées. Cette technologie permet d'imprimer des hydrogels de polymères d'origine naturelle dans le but de créer des échafaudages biologiques. Nous nous sommes plus particulièrement intéressés aux biomatériaux naturels couramment utilisés pour formuler les hydrogels. Les caractéristiques, avantages, inconvénients et applications de ces biomatériaux ont été précisés afin de définir la formulation spécifique utilisée dans ce travail (qui sera abordée dans la partie suivante). Enfin, la connaissance des comportements rhéologiques des hydrogels a été présentée. Son importance dans le succès de la bioimpression en raison des propriétés rhéologiques et des paramètres physico-chimiques a été exposée, ayant une grande influence sur l'imprimabilité des hydrogels. Les modèles mathématiques utilisés pour modéliser les comportements rhéologiques des hydrogels ont été présentés, notamment le modèle Herschel-Bulkley qui est plus versatile, car il combine deux propriétés importantes pour un hydrogel dit imprimable : le seuil de contrainte et le comportement rhéofluidifiant.

Chapitre 2

Relation entre anisotropie structurelle de l'échafaudage et activité cellulaire

1 Réponse des cellules à l'environnement

Le premier chapitre a présenté l'évolution de l'ingénierie tissulaire (IT) qui progresse rapidement en tant que discipline scientifique et est devenu l'une des approches les plus prometteuses dans le développement de substituts biologiques. Les concepts d'IT identifient trois éléments essentiels pour former un substitut tissulaire : (i) un échafaudage, support structurel nécessaire à l'ancrage des cellules et au développement des tissus ; (ii) des cellules d'origine humaine ou animale ; (iii) des signaux qui stimulent les cellules [118].

Le développement d'un tissu vivant fonctionnel représente un défi complexe, influencé par de multiples facteurs qui interagissent de manière dynamique dans le temps et l'espace. Ces facteurs permettent aux cellules de se différencier et de se multiplier au bon endroit et au bon moment, tout en préservant le phénotype souhaité et en formant un tissu fonctionnel par la synthèse d'une MEC adéquate [119, 120]. L'un des éléments clés à prendre en compte dans l'IT est l'environnement dans lequel les cellules évoluent. Or l'échafaudage joue un rôle central dans cet environnement structurel. En effet, les échafaudages, qui sont généralement composés de biomatériaux polymères, offrent un support et fournissent tous les signaux nécessaires, qu'ils soient moléculaires, structuraux ou physiques, par lesquels les cellules entrent en contact pour leur survie pour assurer la régénération tissulaire [121, 122].

L'analyse de l'interaction complexe entre l'échafaudage et les réponses cellulaires demeure un défi de taille, qui revêt une importance cruciale, car celle-ci se rapproche des événements qui se produisent dans l'environnement physiologique réel. Comprendre cette interaction nécessite une étude approfondie de la communication bidirectionnelle entre les cellules et l'échafaudage, comme illustré par la figure 2.1 [123]. De nombreuses études ont été réalisées dans ce domaine, visant à développer de nouveaux biomatériaux et des techniques de fabrication viables pour les échafaudages, tout en assurant les propriétés

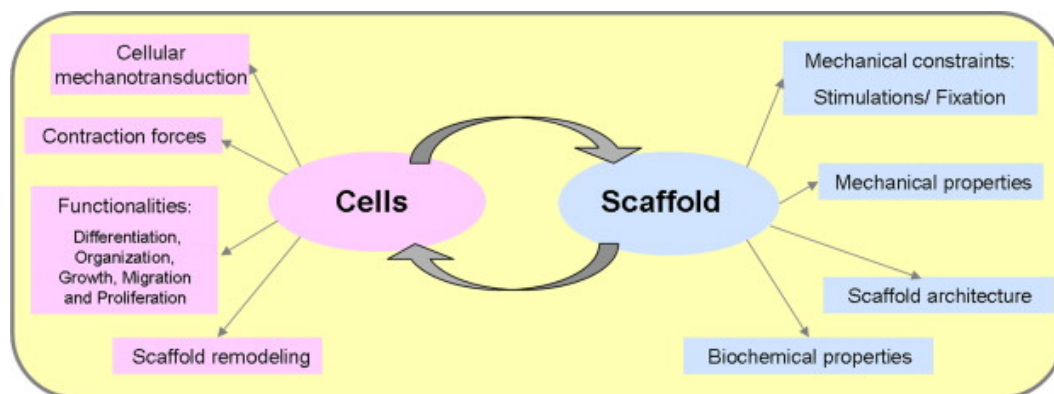


FIGURE 2.1 – Éléments clés de l'interaction entre les cellules et l'échafaudage : ce dernier influence les cellules par ses propriétés générales. Figure adaptée de [123].

mécaniques requises. Parallèlement, d'autres recherches se sont concentrées sur la sélection des types de cellules les plus adaptés selon l'application recherchée. Dans le cadre de notre analyse, les propriétés d'anisotropie structurale des échafaudages seront examinées afin d'améliorer la compréhension globale de la réponse cellulaire en fonction de leur environnement structurel.

Au cours des dernières années, plusieurs études ont tenté d'évaluer l'importance des indices physiques présents dans l'échafaudage lors de la culture cellulaire. Ces indices peuvent être regroupés en deux catégories principales (Figure 2.2) : (i) des indices actifs, tels que la structure, la rigidité et la topographie d'échafaudage, et (ii) des indices passifs, comprenant les forces mécaniques extérieures telles que la compression et la tension [124, 7]. Par conséquent, la compréhension du comportement et des réponses des cellules face aux indices physiques à travers l'échafaudage permet de faciliter la conception d'échafaudages optimaux pour les applications en IT [125].

Dans ce contexte, diverses études ont révélé que les indices actifs contribuent au de-

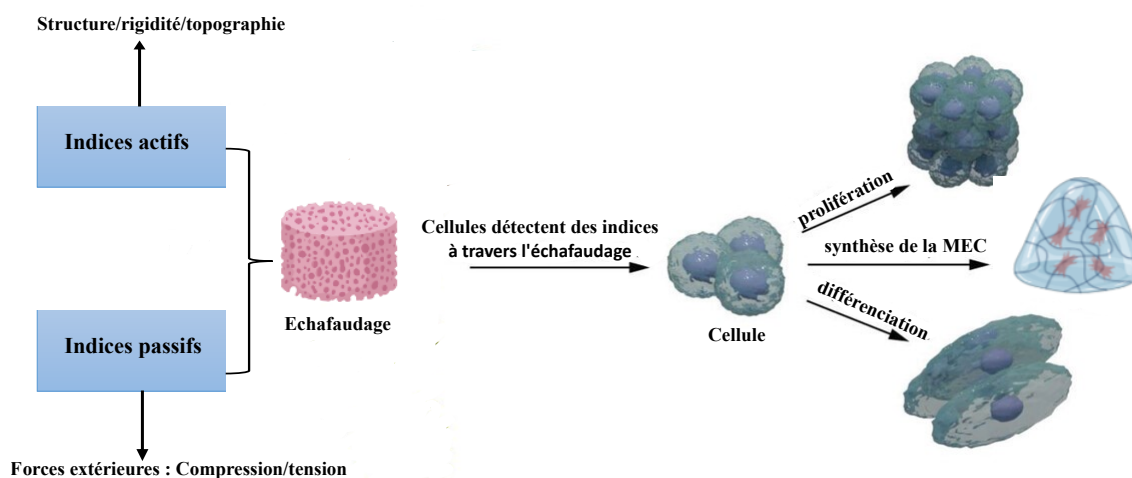


FIGURE 2.2 – schématisation des types d'indices physiques stimulant des cellules. Figure adaptée de [7].

venir global des cellules. En particulier, les cellules manifestent des réponses en évaluant la rigidité d'échafaudage et en établissant des interactions physiques avec l'échafaudage par le biais de leur capacité de mécanotransduction, c'est-à-dire de conversion de signaux physiques en une réponse cellulaire. Dans certains cas, certaines lignées cellulaires développent des adhésions focales plus importantes sur des surfaces plus rigides. De plus, la vitesse de migration des cellules a également montré une dépendance à l'égard des propriétés mécaniques de l'échafaudage [126]. Fusco *et al.*, [127] ont rapporté que la rigidité d'échafaudage est un facteur important dans les caractéristiques des adhésions focales des cellules. Leurs résultats montrent que les adhésions focales sont sensibles aux propriétés élastiques des matériaux, tandis que l'étalement des cellules est influencé par la viscoélasticité d'échafaudage. Depuis un certain temps, il est largement reconnu que la topographie de l'échafaudage joue un rôle crucial dans la morphologie et le comportement des cellules. De nombreuses études ont également démontré que la topographie de l'échafaudage favorise l'adhésion et la migration des cellules. Elle influence ainsi la distribution spatiale des cellules. Ces facteurs ont un impact sur l'expression des signaux cellulaires et, par conséquent, sur la formation des tissus [128, 129]. Récemment, de nombreux travaux se sont intéressés aux réponses des cellules aux surfaces des échafaudages. À titre d'exemple, l'équipe de Sequeira [130] a étudié l'impact des surfaces des échafaudages sur l'adhésion cellulaire, la morphologie des tissus et la formation de complexes d'adhérence focale. Les résultats de cette étude mettent en évidence que les cellulesensemencées sur des échafaudages de nanofibres présentaient moins de complexes d'adhérence focale que cellesensemencées sur des films polymères.

En plus des indices actifs, les indices passifs tels que les forces mécaniques auxquelles les cellules sont exposées jouent un rôle essentiel dans la régulation du comportement cellulaire, y compris la prolifération, la différenciation et la synthèse de la MEC [131]. Ainsi, la compréhension et la manipulation des indices passifs sont cruciales pour la conception d'échafaudages optimaux [132]. L'étude de l'influence des forces sur le comportement cellulaire a donné lieu à un grand nombre d'études au cours des deux dernières décennies. À titre d'exemple, il a été constaté que la compression dynamique (Figure 2.3A) facilite le transport des nutriments et des facteurs de croissance à l'intérieur du tissu, ce qui améliore leur disponibilité pour les cellules [133]. Plusieurs études ont montré une augmentation

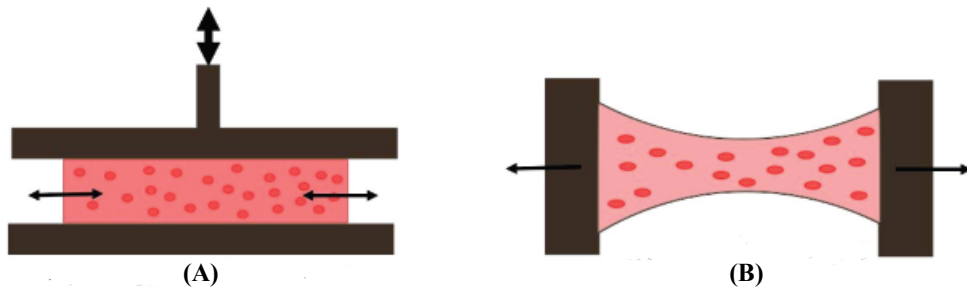


FIGURE 2.3 – Illustration des quelques forces externes. (A) Compression. (B) Tension. Figure adaptée de [39].

de la sécrétion de glycosaminoglycanes et de collagène de type II, associée à une augmentation du module de Young [133, 134, 135]. De plus, la tension provoquée par des cycles d'étirement et de relaxation (Figure 2.3B) a également des effets significatifs sur les cellules. Par exemple, l'équipe de Powell [136] a réussi à créer des tissus musculaires du collagène/Matrigel en ensemençant les cellules des muscles bioartificiels humains. Au cours d'une période de huit jours, des cycles d'étirement et de relaxation ont été appliqués aux tissus, ce qui a entraîné une augmentation de deux à trois fois le module d'élasticité, une augmentation de douze fois le diamètre moyen des myofibrilles et une augmentation de 40 % de la surface des myofibrilles. Cette étude a permis de démontrer les impacts positifs de la tension mécanique sur la formation et les propriétés des tissus musculaires artificiels.

En résumé, cette section met en évidence les réponses des cellules aux indices physiques, à la fois de manière active et passive. Une fois que l'échafaudage est fabriqué et mis en place, la formation de tissus avec les caractéristiques désirées dépend des propriétés de l'échafaudage [137]. En exploitant les propriétés de l'échafaudage qui influencent l'activité cellulaire, il est possible de guider les cellules vers des structures tissulaires spécifiques. Comme indiqué précédemment, les échafaudages d'hydrogels sont composés de biomatériaux polymères. Ainsi, un domaine de recherche important des échafaudages concerne les aspects spécifiques des chaînes polymères, notamment leur orientation lors de la formation de l'échafaudage dans le fluide d'hydrogel. L'orientation des constituants de l'échafaudage doit être prévisible, car ceux-ci jouent un rôle d'ancrage pour les cellules et influencent l'anisotropie de l'échafaudage [138]. Une analyse plus approfondie de ce phénomène permettrait d'améliorer nos prévisions et nos applications dans le domaine de la modélisation de l'ingénierie tissulaire. Ce problème sera abordé en détail dans la prochaine section.

2 Influence de l'orientation des constituants de l'échafaudage sur les cellules

L'ingénierie tissulaire implique l'utilisation d'échafaudages temporaires permettant d'entrer en contact avec les cellules et de supporter des cellules pour produire de la matrice extracellulaire, ce qui est crucial pour l'intégration du matériau dans un environnement biologique. Par conséquent, les échafaudages sont des éléments cruciaux pour l'ingénierie tissulaire, et comprendre leur influence sur le comportement des cellules représente un défi majeur [139, 140, 141]. En effet, les rôles importants joués par les échafaudages dans les tissus fabriqués sont analogues aux fonctions de la MEC dans les tissus natifs et sont associés à leurs caractéristiques architecturales, biologiques et mécaniques [142].

Weiss a introduit le concept de « guidage par contact » dans ses travaux initiaux afin de décrire la relation entre les cellules et l'échafaudage [143, 144]. En effet, le guidage par contact des cellules joue un rôle essentiel dans de nombreux processus physiologiques. Il fait référence au mouvement directionnel des cellules, où la probabilité de migration dans cette direction est maximale. Cette direction est étroitement liée à l'anisotropie de l'échafaudage et peut être interprétée en termes d'orientation des constituants [145, 146].

Plus récemment, le rôle du guidage par contact a été étudié dans différents contextes, notamment dans la conception d'échafaudages pour l'ingénierie tissulaire [147, 148]. Parmi les nombreuses caractéristiques de l'échafaudage, l'orientation de ses constituants a suscité le plus d'attention, car elle joue un rôle dans la stimulation du comportement des cellules et de leur morphologie ainsi que dans le lien avec les propriétés mécaniques de l'échafaudage, ce qui peut entraîner des répercussions significatives sur leur comportement et sur les résultats globaux obtenus [149, 150, 151, 152].

Comme mentionné dans le premier chapitre, l'utilisation de biomatériaux polymères sous forme d'hydrogels pour la fabrication d'échafaudages présente des avantages en matière de biocompatibilité et d'efficacité afin de promouvoir l'adhésion cellulaire et les mécanismes d'autoassemblage, conduisant à des structures ordonnées à différentes échelles [141]. Il est évident que les échafaudages aux propriétés variées ont un impact différencié sur le comportement des cellules et sur la qualité globale du produit final. Comprendre comment les constituants s'orientent donc dans l'hydrogel permettrait d'obtenir des informations sur la préparation de matrices tridimensionnelles et d'améliorer la compréhension des propriétés d'anisotropie structurelle des échafaudages. C'est pourquoi cette partie traite de l'orientation des constituants d'échafaudage et des mécanismes impliqués dans le comportement des cellules en tant que stratégie d'IT.

De nombreuses études ont été menées ces dernières années afin d'explorer l'influence de l'orientation des constituants de l'échafaudage sur le comportement cellulaire. Par exemple, l'équipe de Guo [138] met en évidence cette problématique. Dans son étude, des cellules hMSC (P2) ont étéensemencées sur des échafaudages en poly(lactide-co-

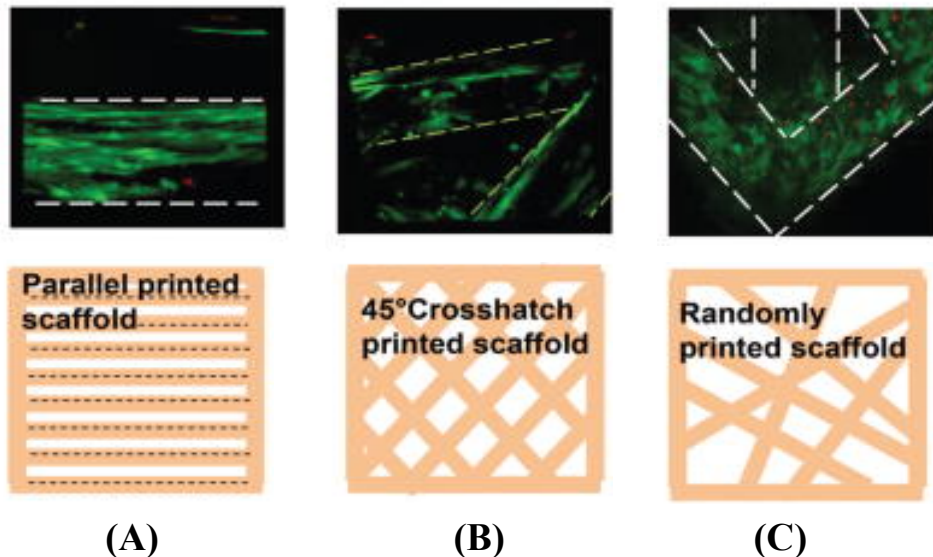


FIGURE 2.4 – L'alignement des cellules sur des échafaudages imprimés 3D par extrusion. L'image obtenue au microscope confocal : (A) Échafaudage en parallèle. (B) Échafaudage en hachure. (C) Échafaudage en aléatoire. Les cellules vivantes sont représentées en vert et les cellules mortes en rouge. Les lignes noires courtes indiquent l'alignement des molécules de polymère. Figure adaptée de [138].

glycolide) (PLGA) présentant différentes topographies, fabriqués à l'aide de l'impression par extrusion 3D. Les résultats obtenus ont démontré que sur les échafaudages imprimés selon un motif parallèle (Figure 2.4A), les cellules présentaient une forte orientation le long de l'alignement des molécules. En effet, dans cette configuration, l'alignement des molécules constituait le facteur principal influençant le comportement cellulaire, étant donné que les fibres imprimées étaient séparées les unes des autres. En revanche, dans les motifs hachurés ou les motifs aléatoires (Figure 2.4B, figure 2.4C), où les fibres se croisaient, de petites lacunes apparaissaient dans les zones de croisement. Ces lacunes fournissaient une force supplémentaire pour guider l'alignement des cellules le long des molécules polymères adjacentes. Dans une autre étude réalisée par Karamichos *et al.*, [153], une comparaison du comportement des fibroblastes de la cornée ensemencés dans des matrices de collagène a été effectuée entre deux types d'échafaudages : les échafaudages non contraints et les échafaudages entièrement contraints le long de l'axe longitudinal en les attachant à deux barres de plastique immobilisées. Les résultats obtenus ont révélé des différences significatives dans l'alignement et la morphologie des cellules, ainsi que dans la réorganisation de la matrice, entre ces deux types d'échafaudages. Dans les échafaudages contraints, les cellules présentaient un alignement parallèle à l'axe longitudinal, tandis que dans les échafaudages non contraints (isotropes), l'alignement cellulaire était aléatoire (Figure 2.5). De plus, une densité locale de collagène plus élevée et un degré d'alignement plus important entre les cellules et le collagène ont été observés dans les échafaudages contraints. Dans les zones où la densité cellulaire était plus élevée, des bandes supplémentaires de collagène alignées étaient souvent observées entre les cellules individuelles.

Dans des travaux plus récents, une diversité de motifs topographiques a été développée en utilisant différentes technologies de fabrication avancées et des méthodes de synthèse

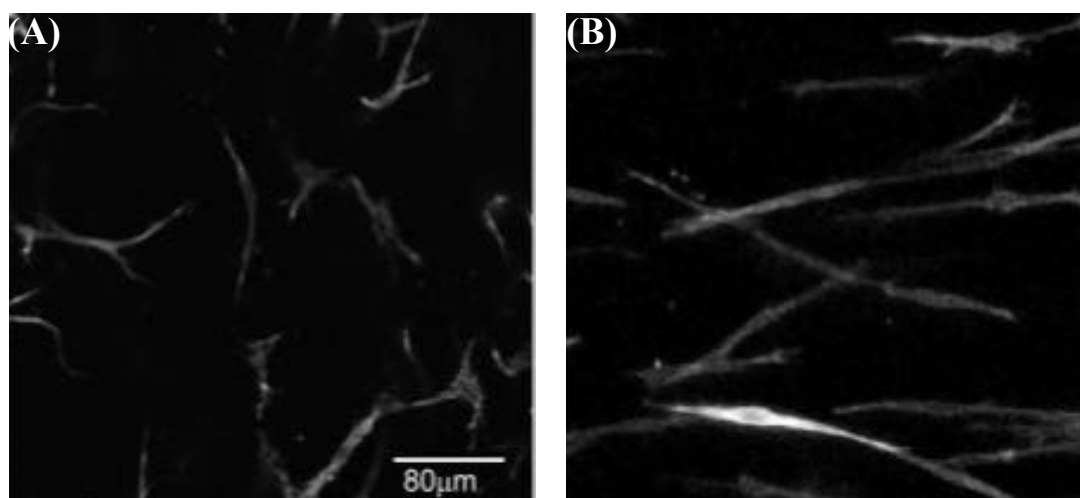


FIGURE 2.5 – Orientation des fibroblastes de la cornée dans les échafaudages contraints/-non contraints : les fibroblastes colorés pour la F-actine ont montré que les cellules dans l'échafaudage non contraint sont orientées de manière aléatoire, alors que les cellules dans l'échafaudage contraint sont alignées parallèlement à l'axe long de la construction. Figure adaptée de [153].

des matériaux. À titre d'exemple, Liu *et al.* [154] ont utilisé la technique d'électrofilage pour produire des échafaudages fibreux en poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA) afin d'étudier l'influence de l'orientation du PMMA sur le comportement des fibroblastes de derme humains. Les résultats ont montré que les structures alignées permettaient aux cellules de mieux pénétrer dans la structure 3D par rapport aux structures aléatoires, car les cellules étaient mieux ordonnées. Lorsque les cellules étaient orientées de manière aléatoire et réparties sur une vaste surface sur des films minces et des substrats fibreux aléatoires, elles étaient orientées le long du PMMA sur les substrats alignés. En outre, les travaux de Yang *et al.* [155] ont confirmé l'effet de l'orientation de l'échafaudage constitué d'acide poly (L-lactique) (PLLA) à l'échelle nano/micro sur le comportement des cellules souches neurales. Les résultats ont démontré que pour les échafaudages alignés, la direction de l'élongation des cellules souches neurales et de la croissance des neurites (protrusions issues des neurones et se différenciant ultérieurement en axone ou dendrite) était parallèle à la direction des fibres PLLA. Ils ont également constaté que l'échafaudage de PLLA nanofibreux imprimé selon un motif aligné pouvait être exploité comme support cellulaire possible dans l'IT de tissus nerveux.

Bien que des études aient été menées sur le guidage par contact des cellules sur différents types d'échafaudages utilisant diverses techniques, il reste encore à développer des approches prédictives de l'orientation des constituants de l'échafaudage afin d'étudier ce qui influence la structuration des cellules et de la matrice dans un environnement de culture tridimensionnelle.

3 Conclusion

Ce chapitre a présenté un aperçu du contexte du projet de thèse en examinant la littérature portant sur les réponses des cellules aux indices physiques à travers l'échafaudage. Ces études mettent en évidence l'importance des propriétés de l'échafaudage sur le comportement cellulaire, notamment l'orientation des constituants de l'échafaudage qui joue un rôle crucial dans l'ancrage et le guidage des cellules, tout en déterminant les propriétés mécaniques de la structure imprimée. À la lumière de cet état de l'art, il semble qu'aucun modèle numérique n'ait été utilisé pour prédire l'orientation des constituants de l'échafaudage lors de la bioimpression d'un construit d'ingénierie tissulaire, ce qui souligne la nécessité d'une approche numérique afin de mieux comprendre les effets directs des propriétés des constituants de l'échafaudage dans l'IT. Dans le chapitre 3, les modèles numériques existants seront exposés afin de proposer une approche innovante pour modéliser et étudier l'orientation des constituants de l'échafaudage lors de l'extrusion d'un hydrogel.

Chapitre 3

Approches numériques d'orientation des constituants lors de l'écoulement

1 Introduction

Les chapitres 1 et 2 ont abordé l'évolution des technologies de bioimpression 3D dans les applications d'ingénierie tissulaire. Une attention particulière a été portée à la technologie d'impression 3D par extrusion, utilisée pour fabriquer des échafaudages biologiques à partir d'hydrogels. Ces hydrogels sont principalement composés de polymères naturels biocompatibles. En particulier, l'orientation des chaînes de polymères est un phénomène intrinsèque qui a un impact sur le comportement des cellules et l'anisotropie de l'échafaudage. Par conséquent, la compréhension des relations entre les conditions de fabrication, les propriétés de l'écoulement et l'orientation des chaînes de polymères reste un défi dans le domaine de l'IT. Dans ce contexte, ce chapitre vise à examiner les modèles et les approches de simulation des fluides polymères. De tels modèles permettent de combiner une description macroscopique de l'écoulement avec une description de la dynamique des chaînes de polymères. Plus précisément, le mouvement des chaînes de polymères dans le fluide est simulé à l'aide d'une description de la cinétique. Puis l'évolution du champ de vitesse dans le fluide est déterminée en appliquant les lois classiques de conservation de la quantité de mouvement et de la masse [156]. La section suivante vise à décrire la relation entre le comportement rhéologique d'un fluide polymère et la microstructure, ainsi que sur la hiérarchie des approches de modélisation de ces constituants.

1.1 Comportement rhéologique et microstructure

Les hydrogels ainsi que d'autres fluides complexes d'un point de vue rhéologique présentent des propriétés d'écoulement non newtonien [157]. Une différence fondamentale entre les écoulements newtoniens et non newtoniens réside dans la viscosité. Dans un écoulement newtonien, la viscosité est constante, tandis que dans un écoulement non newtonien, la viscosité qui relie le cisaillement et la vitesse de l'écoulement, conduit à un

problème qui devient donc non linéaire. La viscosité d'un hydrogel peut avoir des effets importants dans les écoulements dominés par le cisaillement lors d'un processus d'impression. Par exemple, lorsqu'il est extrudé à travers une petite buse de diamètre de 150-400 μm [158], l'hydrogel est soumis à des taux de cisaillement relativement élevés, ce qui entraîne une réduction de sa viscosité. Pour modéliser précisément cette viscosité de cisaillement non newtonienne des fluides polymères, il existe un large éventail d'équations constitutives [159]. Combinées avec les principes de conservation de la masse, de la quantité de mouvement et de l'énergie, ces équations aboutissent aux équations de Navier-Stokes, qu'il est possible de les résoudre numériquement [160].

De plus, les fluides polymères sont également appelés fluides viscoélastiques (l'hydrogel d'alginate en est un exemple [161]). En effet, les fluides viscoélastiques présentent des propriétés à la fois visqueuses et élastiques qui sont responsables de nombreux phénomènes d'écoulement pertinents pour le processus d'impression [162]. Les propriétés rhéologiques des fluides polymères sont des caractéristiques physico-chimiques régies par les changements de la microstructure des polymères induits par l'écoulement [163, 164]. Les fluides polymères sont composés de chaînes polymères qui présentent différents états d'ordre et de morphologie en fonction de leurs conditions de mise en forme [165]. Dans le cas des polymères en écoulement, la microstructure pertinente concerne la conformation des chaînes, à savoir leur orientation et leur degré d'étirement.

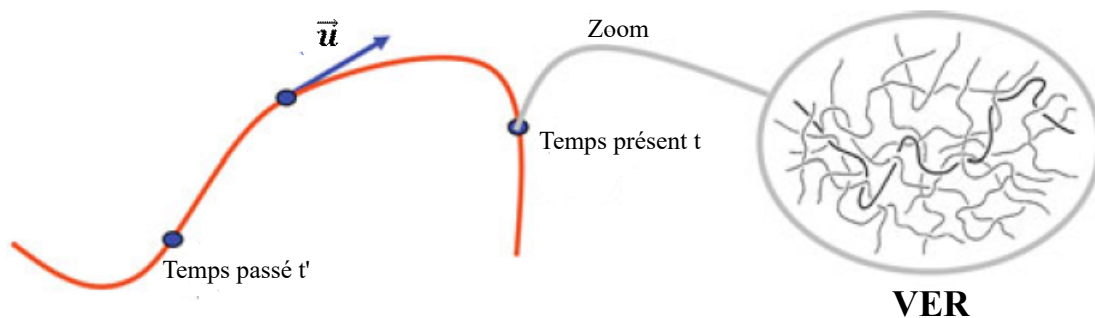


FIGURE 3.1 – Trajectoire d'écoulement du fluide polymère au cours d'un écoulement. Le champ de vitesse est représenté par \vec{u} et l'enchevêtrement des chaînes auquel on associe une distribution statistique de l'orientation dans le VER est illustré. Figure adaptée de [166].

La figure 3.1 représente un volume élémentaire représentatif (VER) d'un fluide polymère le long de sa trajectoire d'écoulement. Ce VER contient une population de constituants contenant un grand nombre de chaînes polymères pour chaque élément macroscopique du fluide. Lorsque le fluide s'écoule, les constituants présents dans chaque VER se déplacent le long de la trajectoire du fluide, et chaque VER possède sa propre distribution statistique d'orientation des chaînes polymères [166]. Ainsi, on est confronté à un couplage non linéaire entre les propriétés rhéologiques des fluides et la réponse d'orientation des constituants induite par l'écoulement lors du processus d'impression. Afin de mieux comprendre ce couplage, il est nécessaire de recourir à des approches numériques permettant

d'évaluer l'orientation moyenne des constituants dans les écoulements types rencontrés lors des processus de mise en forme. Il existe dans la littérature différentes approches allant de l'échelle microscopique à l'échelle macroscopique. Celles-ci sont introduites dans la section suivante.

1.2 Approches hiérarchiques de modélisation des constituants

Une chaîne de polymères réelle est un système mécanique complexe possédant un grand nombre de degrés de liberté. Par conséquent, la modélisation et la détermination détaillées de ses mouvements sont extrêmement difficiles. Pour surmonter cette difficulté, les polyméristes utilisent couramment des modèles mécaniques pour décrire la dynamique d'un système complexe composé de nombreuses chaînes [166, 167]. Il existe une hiérarchie des échelles de description dans les approches de modélisation mécanique, allant du modèle microscopique au modèle macroscopique. La figure 3.2 illustre cette hiérarchie et les approches les plus couramment utilisées :

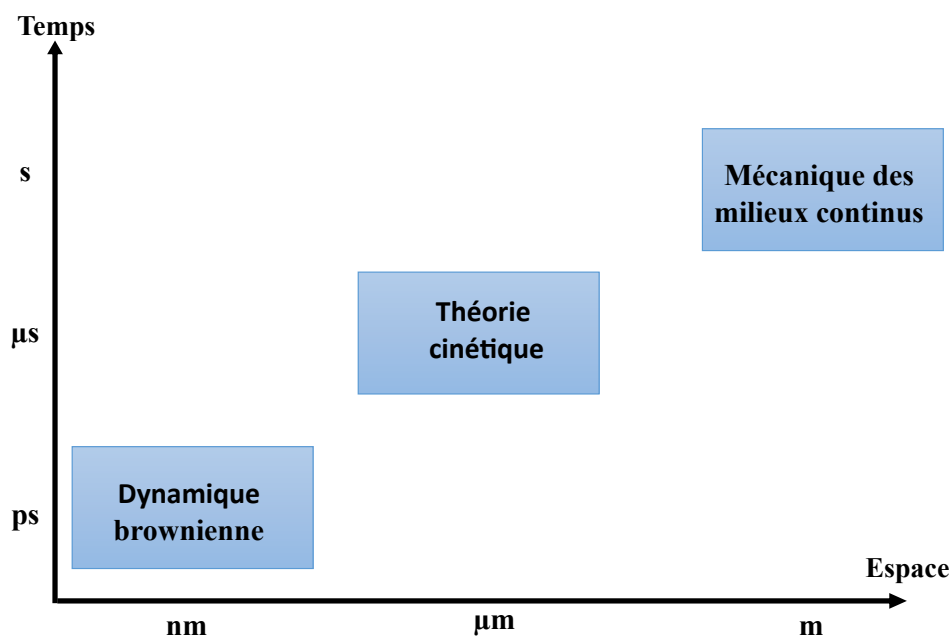


FIGURE 3.2 – Approches hiérarchiques de modélisation pour décrire la dynamique d'un système complexe. Figure adaptée de <https://amath.washington.edu/news/2022/09/06/kinetic-theory-and-multiscale-modeling>.

La dynamique brownienne permet de suivre la position et la vitesse des particules prises individuellement dans un fluide. Dans ce cas, le mouvement des particules (découvert par le biologiste Robert Brown en 1827 lors d'une étude sur les pollens) est dû aux collisions aléatoires avec les molécules de fluide environnantes. Cependant, cette approche peut être très coûteuse si l'on considère un grand nombre de particules, et peut même être inutile si l'on s'intéresse principalement au comportement moyen du système [165].

Les modèles de la théorie cinétique fournissent une description grossière des configurations des polymères. Dans cette approche, l'évolution des particules individuelles dans

le fluide est négligée, mais une population de particules est considérée à travers une fonction de distribution de l'état des particules. Cette méthode établit un lien entre la dynamique brownienne et la mécanique des milieux continus [168, 169]. L'utilisation d'un modèle de théorie cinétique combinée aux lois de conservation macroscopiques dans la simulation numérique d'écoulements polymères forme l'approche micro-macro. Cette méthodologie émergente constitue le principal sujet de recherche de cette thèse.

La mécanique des milieux continus concerne le comportement des systèmes physiques continus. Dans ce cas, le fluide est considéré dans sa globalité et les détails de sa microstructure ne sont pas pris en compte de manière explicite. Le mouvement du fluide en réponse aux forces extérieures est décrit par une équation constitutive appropriée. Lorsque cette équation est combinée aux lois de conservation, elle produit un ensemble d'équations aux dérivées partielles qui peuvent être résolues à l'aide de méthodes numériques basées sur une discrétisation du domaine spatial, c'est-à-dire un maillage, telle la méthode des éléments finis. Les résultats de ces équations fournissent des informations quantitatives sur la distribution des conformations de polymères dans un volume élémentaire de fluide macroscopique, sous la forme de quantités moyennes telles que le second moment de la distribution des conformations. Il est important de noter que la majorité des équations constitutives utilisées actuellement dans les simulations numériques ont été obtenues à partir d'un modèle moléculaire basé sur la théorie cinétique. Cependant, la dérivation de l'équation constitutive à partir de la théorie cinétique nécessite souvent des approximations de fermeture de nature purement mathématique qui peuvent altérer la relation avec le modèle moléculaire sous-jacent et rendre plus difficile l'interprétation des résultats macroscopiques en termes moléculaires [159, 169, 170].

En résumé, plus on se rapproche de l'échelle d'étude de la dynamique brownienne, plus on se rapproche de la description réelle des fluides polymères, mais la simulation numérique devient coûteuse en temps de résolution. Dans ce contexte, la théorie cinétique joue un rôle important, car elle permet de décrire des phénomènes microscopiques complexes tout en restant relativement simple dans sa formulation et peut être couplée avec l'échelle macroscopique par la mécanique des milieux continus. De plus, dans une simulation micro-macro, les équations de conservation sont résolues simultanément avec un modèle de la théorie cinétique et permettent l'utilisation directe des modèles de la théorie cinétique, évitant ainsi les approximations de fermeture qui causent la perte physique du problème [171]. L'utilisation d'un modèle dans l'approche cinétique résout de manière couplée les comportements rhéologiques des hydrogels (par une méthode de calcul de CFD), et l'orientation des constituants induite par l'écoulement pendant l'extrusion. Cette approche offre des compréhensions directes sur les effets des conditions d'extrusion et du comportement rhéologique de l'hydrogel sur l'orientation des constituants, tout en réduisant le coût de calcul. Ainsi, cette méthodologie est au cœur de ce travail de simulation des écoulements hydrogels dans le but de prédire l'orientation des constituants lors de l'écoulement.

2 Représentation vectorielle de l'orientation d'une chaîne polymère et régimes de concentration d'une solution de polymères

2.1 Orientation d'une chaîne polymère

Alors que ce sujet était encore naissant, la théorie cinétique des polymères a connu, à partir des années 1930, l'émergence de modèles rudimentaires de type *dumbbell*¹ pour décrire la configuration d'une chaîne polymère. Par la suite, Doi et Edwards [168] ont introduit deux modèles supplémentaires de type *dumbbell* pour représenter les macromolécules en forme de chaîne : le modèle de *dumbbell* élastique (type hookéen ou élastique non linéaire), qui décrit une molécule flexible linéaire, et le modèle de *dumbbell* rigide, qui décrit des macromolécules rigides en forme de bâtonnet. D'un point de vue physique, les modèles d'haltères ne suscitent pas beaucoup d'intérêt pour un chimiste, car ils ne prennent pas en compte les détails de l'architecture moléculaire et ne sont ainsi pas représentatifs des vraies molécules de polymères. Cependant, d'un point de vue mathématique, on les utilise pour deux raisons. La première est que les modèles d'haltères ne sont que des représentations très grossières de molécules de polymères et que ces modèles simples permettent d'expliquer rapidement les concepts et les procédures de la théorie cinétique. La deuxième raison est que les modèles d'haltères sont utiles pour comprendre la relation entre le mouvement des macromolécules et les phénomènes rhéologiques.

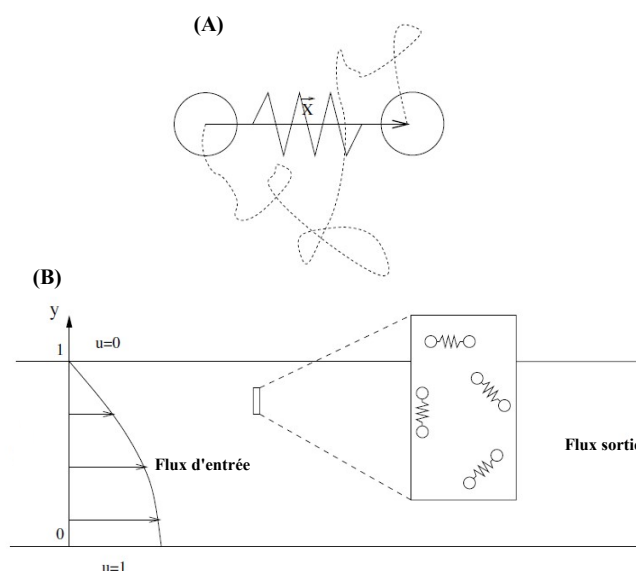


FIGURE 3.3 – Représentation schématique du modèle de *dumbbell* élastique. (A) Le polymère (représenté par une ligne pointillée) est modélisé par deux billes reliées par un ressort. La longueur et l'orientation du polymère sont données par le vecteur \vec{X} . (B) Le VER contient des *dumbbells* élastiques dans un écoulement de cisaillement. Figure adaptée de [156].

1. Ce terme anglo-saxon signifie « haltère »

2. Représentation vectorielle de l'orientation d'une chaîne polymère et régimes de concentration d'une solution de polymères

L'utilisation de modèles d'haltères élastiques et rigides a été décrite dans les travaux de Bird [159]. En effet, les modèles d'haltères élastiques peuvent être utilisés pour donner une description approximative des macromolécules flexibles telles que le polyéthylène, le polystyrène et le polyisobutylène. Ces modèles prennent en compte l'orientation et l'étirement des molécules de polymère individuelles dans le fluide. L'haltère élastique est illustré par la figure 3.3. Bien entendu, il existe de nombreux types de modèles d'haltères élastiques en fonction du choix de la loi de comportement du ressort - les modèles de type hookéen ou élastiques non linéaires (FENE) à titre d'exemples [172, 156].

D'autre part, les macromolécules en forme de bâtonnet, telles que les protéines en forme d'hélice, l'ADN dans sa configuration en hélice, peuvent être modélisées à l'aide d'un haltère rigide, qui est la représentation la plus simple pour ces molécules [159, 173, 174]. La configuration d'une chaîne représentée par un haltère peut ainsi être décrite avec seulement deux coordonnées sphériques, à savoir les angles polaires θ ($0 < \theta < \pi$) et ϕ ($0 < \phi < 2\pi$), ou bien le vecteur unitaire \vec{p} le long du bâtonnet peut être utilisé comme alternative (Figure 3.4). La coordonnée du vecteur \vec{p} est donnée par :

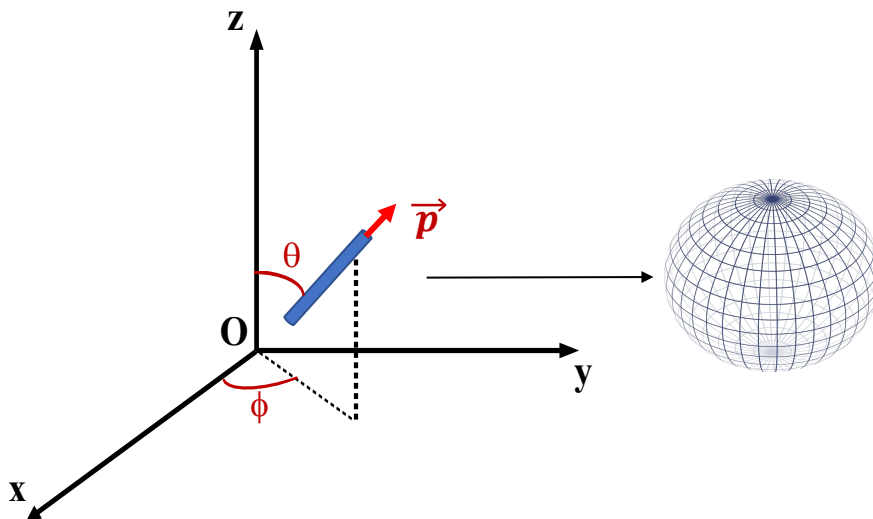


FIGURE 3.4 – Orientation d'une chaîne polymère représentée par le vecteur \vec{p} du modèle d'haltère rigide. Chaque vecteur d'orientation est contenu dans une sphère de rayon unitaire. Chaque état d'orientation possible correspond donc à un point qui se trouve sur la surface de cette sphère unitaire.

$$\vec{p} = \begin{pmatrix} \sin \theta \cos \phi \\ \sin \theta \sin \phi \\ \cos \theta \end{pmatrix}.$$

En général, le choix de l'approche pour représenter une chaîne polymère se fait en sélectionnant celle qui est mathématiquement la plus pratique par rapport à la problématique étudiée. Étant donné que ce travail est principalement consacré à l'étude de l'état d'orientation des constituants d'un fluide polymère tel qu'un hydrogel, une attention particulière sera portée au modèle d'haltère rigide, qui est le modèle le plus simple pour représenter

la configuration d'une chaîne polymère (Figure 3.4). En effet, ce modèle prend en compte l'orientation des polymères dans les champs d'écoulement et néglige les mouvements d'étiement et de flexion moléculaires moins importants, qui ont une influence mineure sur les propriétés rhéologiques [159]. Une autre raison importante d'utiliser le modèle d'haltère rigide est qu'il permet de travailler dans un espace de configuration bidimensionnel, ce qui est pratique pour utiliser les deux angles sphériques comme coordonnées généralisées pour le système. Par conséquent, l'équation de diffusion a uniquement deux degrés de liberté internes, qui sont décrits par les coordonnées du domaine de configuration θ et ϕ . On utilise ensuite les principes de la théorie cinématique pour obtenir des informations sur la façon dont les chaînes sont distribuées dans toutes les configurations possibles, c'est-à-dire qu'on obtient une fonction de distribution du domaine de configuration qui est applicable aux fluides comportant un mélange de différents polymères.

2.2 Régimes de concentration

Une solution polymère peut être décrite par un ensemble de macromolécules en forme de bâtonnets de longueur L et de diamètre D en trois régimes de concentration, illustrés par la figure 3.6 [175, 176] : (i) le régime dilué, (ii) le régime semi-dilué et (iii) le régime concentré. Cependant, les limites entre ces régimes ne sont pas strictes et doivent être considérées comme hypothétiques. Ce concept de régime de concentration permet de situer le domaine de validité pour établir un modèle macroscopique d'orientation et les lois de comportement.

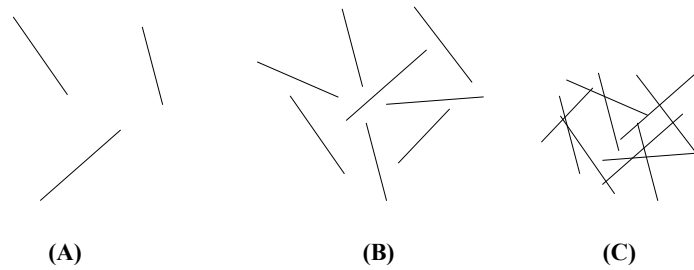


FIGURE 3.5 – Représentation schématique de (A) solution diluée ; (B) solution semi-diluée et (C) solution concentrée.

Dans le cas d'une solution diluée, le mouvement brownien des molécules est indépendant et il n'y a pas d'interaction entre les molécules (Figure 3.5 A). Ce régime se définit par :

$$F_v \ll \frac{1}{L^3}.$$

Le rapport entre la longueur (L) et le diamètre (D) de la particule est connu sous le nom du facteur de forme β , $\beta = L/D$.

Une solution semi-diluée se produit lorsque la concentration augmente. Ici, la distance entre un bâtonnet et son voisin est inférieure à la longueur L , mais supérieure au diamètre D . Les interactions entre molécules sont fréquentes (Figure 3.5 B). La fraction volumique

est comprise entre :

$$\frac{1}{L^3} \leq F_v \leq \frac{1}{DL^2}.$$

Enfin, une solution concentrée est définie comme une solution dans laquelle la distance moyenne entre deux bâtonnets voisins est de l'ordre du diamètre D . Dans ce cas, les bâtonnets ne peuvent pas passer les uns à travers les autres (Figure 3.5 C). Les interactions et les collisions entre les bâtonnets sont fréquentes et tout mouvement du bâtonnet nécessite la coopération de tous les bâtonnets environnants. La fraction volumique est alors :

$$F_v \gg \frac{1}{L^3}.$$

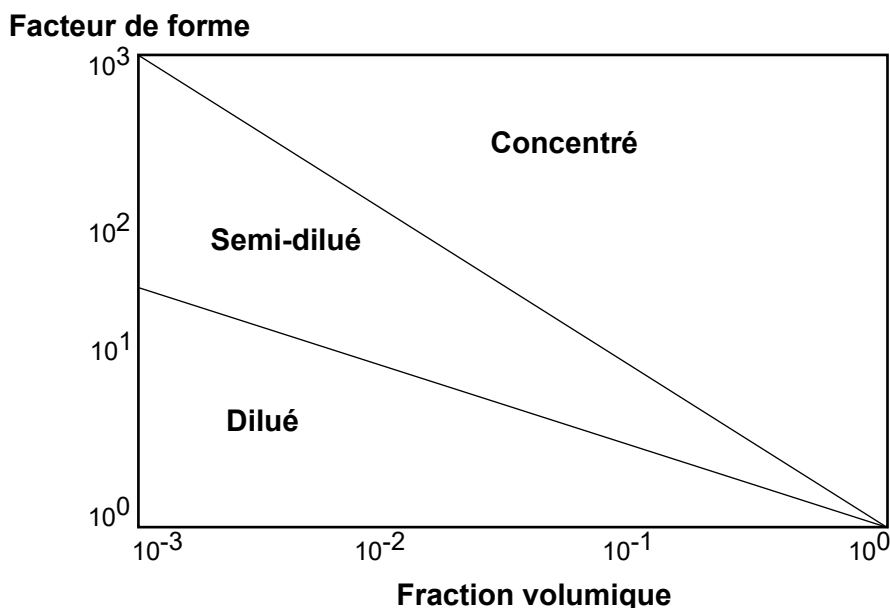


FIGURE 3.6 – Représentation des différents régimes de concentration.

Cette section a permis de mettre en évidence l'utilisation de modèles d'haltères pour représenter la configuration d'une chaîne de polymères et d'introduire la notion de domaine de configuration utilisant les coordonnées généralisées θ, ϕ . En effet, le modèle d'haltère rigide offre une représentation pratique de l'orientation de la chaîne en utilisant deux angles qui définissent l'orientation d'un vecteur dans l'espace. Cette représentation peut être facilement intégrée aux équations constitutives de la théorie cinétique, ce qui permet d'étudier l'orientation des constituants dans un fluide polymère. La section suivante présente une revue des modèles existants dans la littérature, allant de l'échelle microscopique à l'échelle macroscopique de la mécanique des milieux continus, qui permettent d'étudier et de prédire l'orientation des constituants induite par l'écoulement.

3 Équation d'évolution microscopique d'un constituant

En 1922, Jeffery [177] fut le premier à développer un modèle permettant de décrire le mouvement d'une particule individuelle dans un fluide newtonien. La description de Jeffery

s'appuie sur les hypothèses que le mouvement de la particule n'affecte pas le champ de vitesse du fluide, le centre de gravité de la particule se déplace à la vitesse non perturbée du fluide et les efforts d'inertie sont négligés. La formule du modèle de Jeffery est donnée par :

$$\dot{\vec{p}} = \mathbf{W} \cdot \vec{p} + \lambda \{ \mathbf{D} \cdot \vec{p} - \mathbf{D} : (\vec{p} \otimes \vec{p}) \vec{p} \}, \quad (3.1)$$

où \mathbf{W} et \mathbf{D} sont le tenseur de rotation et le tenseur du taux de déformation, respectivement :

$$\mathbf{W} = \frac{1}{2} [(\nabla \vec{u}) - (\nabla \vec{u})^T]; \quad (3.2a)$$

$$\mathbf{D} = \frac{1}{2} [(\nabla \vec{u}) + (\nabla \vec{u})^T]. \quad (3.2b)$$

Ces tenseurs participent au changement de l'orientation de la particule dans l'équation de Jeffery (équation 3.1) dû à la déformation et à la rotation du fluide, avec \vec{u} qui est le vecteur vitesse de la particule fluide.

λ est une fonction du rapport de forme β :

$$\lambda = \frac{\beta^2 - 1}{\beta^2 + 1}. \quad (3.3)$$

L'équation de Jeffery peut être résolue numériquement pour fournir la description du mouvement d'une particule individuelle dans une solution diluée. De nombreuses expériences ont été réalisées pour vérifier les hypothèses de Jeffery, et ces études ont confirmé la validité de l'équation décrite par Jeffery [178, 179]. Cependant, cette équation n'est strictement valable que pour des solutions diluées car lorsque la concentration devient suffisamment importante, les interactions entre particules se produisent, ce qui affecte l'écoulement. Le modèle de Jeffery n'est alors plus adapté dans de tels systèmes de solutions. Afin de prendre en compte le problème d'interaction entre les particules, Folgar et Tucker [180] ont introduit un terme de diffusion dans l'équation de Jeffery. Le modèle de Folgar et Tucker permet de prendre en compte l'interaction entre les particules afin d'étudier l'orientation de particules en suspension dans des solutions non diluées. La présentation de ce modèle constitue la section suivante.

4 Évolution cinématique d'une population de constituants : fonction de distribution de probabilité

En théorie cinétique, la configuration d'une chaîne de polymères peut être grossièrement définie par le vecteur \vec{p} reliant les deux extrémités de la chaîne tel qu'illustré par la figure 3.4. Dans chaque élément de fluide macroscopique situé à la position \vec{x} dans le domaine d'écoulement, un VER contient un grand nombre de constituants caractérisés à l'instant t par une fonction de distribution de probabilité (PDF), de configurations $\psi(\vec{x}, \vec{p}, t)$. La fonction de distribution de probabilité ψ permet de déterminer la pro-

4. Évolution cinématique d'une population de constituants : fonction de distribution de probabilité

babilité de trouver au temps t un constituant ayant une orientation selon des angles θ et ϕ autour du vecteur \vec{p} à la position \vec{x} [166]. La fonction ψ doit satisfaire certaines conditions physiques [176, 181].

Premièrement, un constituant orienté à un angle quelconque (θ, ϕ) est indistinguable d'un constituant orienté aux angles $(\pi - \theta, \phi + \pi)$, donc ψ doit être périodique, ce qui se traduit par :

$$\psi(\vec{p}) = \psi(-\vec{p}). \quad (3.4)$$

Deuxièmement, l'intégration de la fonction de distribution sur toutes les orientations possibles doit être égale à l'unité (condition de normalisation induite par la définition d'une probabilité) :

$$\int \psi(\vec{p}) d(\vec{p}) = 1. \quad (3.5)$$

Finalement, la condition de continuité décrit la variation de ψ par rapport au temps lorsque les constituants changent d'orientation. Si les constituants sont supposés se déplacer avec le mouvement global du fluide, la PDF peut être considérée comme une quantité convectée. En supposant que $\dot{\theta}$ et $\dot{\phi}$ sont les vitesses angulaires des constituants qui dépendent de θ et ϕ , la condition de continuité est alors :

$$\frac{D\psi}{Dt} = -\frac{\partial}{\partial\theta} \cdot (\dot{\theta}\psi) - \frac{1}{\sin\theta} \frac{\partial}{\partial\phi} \cdot (\dot{\phi}\psi), \quad (3.6)$$

ou

$$\frac{D\psi}{Dt} = -\frac{\partial}{\partial\vec{p}} \cdot (\psi \dot{\vec{p}}), \quad (3.7)$$

On obtient l'équation 3.7 connue sous le nom d'équation de Fokker-Planck qui représente l'évolution de la fonction de distribution d'orientation en fonction du temps où D/Dt représente la dérivée matérielle $\partial\psi/\partial t + \vec{u} \cdot \nabla_x \psi$, et ∇_x est l'opérateur gradient par rapport à la position \vec{x} . Le vecteur vitesse \vec{u} entre en jeu dans la formulation de la dynamique des constituants $\dot{\vec{p}}$.

La fonction de distribution de probabilité ψ est une représentation complète et précise permettant de décrire plus globalement l'état d'orientation. L'approche de Fokker-Planck permet de résoudre le problème générique pour calculer explicitement ψ . En effet, la fonction ψ est définie sur deux domaines :

- le domaine spatial décrit par $\vec{x}(x, y, z)$ en coordonnées cartésiennes pour l'écoulement du fluide ;
- le domaine des configurations décrit par les angles (θ, ϕ) pour les états d'orientation.

Comme la PDF dépend des coordonnées spatiales (espace et temps) et des coordonnées de configuration (angles), l'équation de Fokker-Planck associée à la PDF est de nature multidimensionnelle. La difficulté pour résoudre des problèmes de ce type est liée aux techniques de discrétisation standard basées sur le maillage. Ainsi, la résolution d'une telle équation nécessite une méthode de discrétisation appropriée, tant dans le domaine spatial (\vec{x}) que dans le domaine de configuration (θ et ϕ).

5 Évolution macroscopique d'une population de constituants : le tenseur d'orientation

5.1 Le modèle de Folgar-Tucker : prise en compte de l'interaction entre les constituants

Folgar et Tucker [180] ont développé un modèle basé sur une approche phénoménologique permettant de tenir compte de l'interaction entre les constituants, ce qui est crucial pour la prédiction de l'orientation dans des solutions semi-diluées et concentrées. Le modèle de Folgar-Tucker a ainsi été largement utilisé pour étudier les phénomènes complexes liés à la diffusion et à l'orientation des particules. Un terme de diffusion visant à représenter l'effet de l'interaction des particules sur leur rotation est introduit dans l'équation de Jeffery. Cela permet d'aboutir à :

$$\dot{\vec{p}} = \mathbf{W} \cdot \vec{p} + \lambda[\mathbf{D} \cdot \vec{p} - \mathbf{D} : (\vec{p} \otimes \vec{p}) \vec{p}] + C_I |\dot{\gamma}| \nabla_p^2 \psi, \quad (3.8)$$

où

C_I décrit le coefficient d'interaction.

$|\dot{\gamma}|$ désigne la grandeur scalaire du tenseur de taux de déformation, $|\dot{\gamma}| = \sqrt{2\mathbf{D} : \mathbf{D}}$.

∇_p^2 se réfère à $\partial^2 / \partial \vec{p}^2$.

Contrairement aux solutions diluées où le mouvement d'une particule individuelle est déterminé uniquement par son angle et par le champ d'écoulement (selon l'équation 3.1), dans les solutions non diluées, les particules individuelles suivent temporairement la tendance générale de l'équation (3.1), se réorientent rapidement vers un autre angle, puis reprennent le suivi de la tendance de l'équation (3.1). Ces réorientations soudaines sont le résultat d'interactions avec d'autres particules voisines, ce qui tend à randomiser l'orientation des particules. Le modèle de Folgar-Tucker est fondé sur l'idée de base selon laquelle chaque interaction entre deux particules entraîne une modification de leur orientation. Ce concept est similaire au mouvement brownien rotatif de petites particules où les réorientations aléatoires sont causées par les collisions entre les molécules du fluide et les particules [182]. De plus, Folgar et Tucker ont montré que la fréquence des interactions est proportionnelle à la vitesse de déformation de l'écoulement ($\dot{\gamma}$) et du coefficient C_I , un nombre sans dimension qui décrit le taux d'interaction. En fixant $C_I = 0$, on retrouve l'équation de Jeffery. Ainsi, la quantité $C_I |\dot{\gamma}|$ joue un rôle similaire à la diffusion dans le mouvement brownien rotatif. Enfin, l'intégration du terme $\partial^2 \psi / \partial \vec{p}^2$ élimine la réversibilité cinématique de l'orientation des particules. Cela signifie que si une suspension subit une déformation et que la déformation est inversée, l'orientation des particules ne redevient pas identique à ce qu'elle était au départ. Les interactions entre les deux particules provoquent une irréversibilité pour les suspensions relativement diluées [183], et ce phénomène est correctement représenté par le terme d'interaction phénoménologique de Folgar-Tucker.

Le coefficient d'interaction C_I joue un rôle important dans le modèle de Folgar et

Tucker pour modéliser l'interaction entre les différentes particules. Il peut influencer la fonction de distribution des orientations, ce qui peut être illustré à travers des exemples tels que celui d'un écoulement de cisaillement stationnaire (Figure 3.7A).

- Lorsque le coefficient d'interaction n'est pas nul, les particules ne sont pas totalement alignées avec le sens de l'écoulement.
- Si la valeur du coefficient d'interaction augmente, la distribution des orientations est étendue. Autrement dit, une augmentation de C_I augmente la moyenne de désalignement des particules et le pic s'éloigne également de la direction d'écoulement.

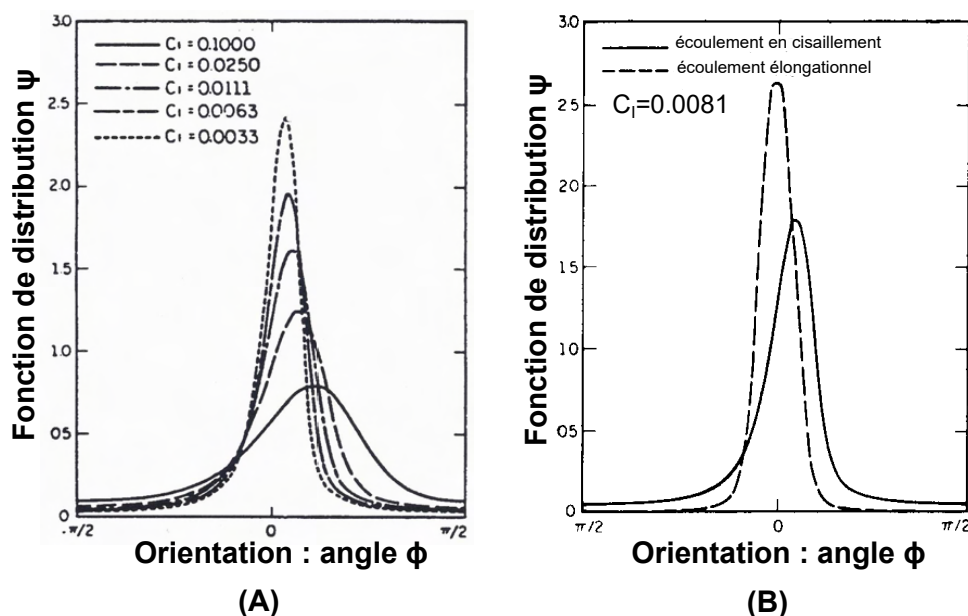


FIGURE 3.7 – (A) Influence du coefficient C_I sur la fonction de distribution des orientations pour un écoulement de cisaillement. (B) Comparaisons des distributions d'orientation à l'état d'équilibre dans un écoulement de cisaillement et un écoulement élongationnel. Figure adaptée de [180].

De plus, l'écoulement élongationnel produit une orientation plus fortement alignée que l'écoulement de cisaillement simple. Cela est illustré par la figure 3.7B qui compare la distribution de l'état d'équilibre dans un écoulement élongationnel à celle dans un écoulement de cisaillement simple. Cela est cohérent avec l'observation expérimentale selon laquelle l'écoulement élongationnel est plus efficace pour aligner les particules que l'écoulement de cisaillement [180]. Par ailleurs, plus le coefficient C_I est élevé, plus la convergence des particules vers leur état stationnaire est rapide. Cependant, si le coefficient C_I est faible, la phase transitoire est plus longue et les particules mettent plus de temps à atteindre leur état stable [184]. La détermination du coefficient C_I a fait également l'objet de nombreuses études, mais aucun modèle complet n'a été élaborée jusqu'à aujourd'hui. Néanmoins, il existe des approches pour le coefficient d'interaction permettant de le relier au rapport de forme à l'aide de la concentration volumique [185, 186]. D'autres auteurs [187, 188] ont utilisé la simulation directe où les interactions sont déterminées explicitement à l'aide de

la méthode des moindres carrés. En général, pour les solutions non diluées, une valeur recommandée pour le coefficient d'interaction se situe entre 10^{-4} et 10^{-2} [186, 189].

5.2 Le modèle d'Advani-Tucker : évolution du tenseur d'orientation

Le tenseur d'orientation est un descripteur mathématique largement utilisé pour décrire les états d'orientation dans la modélisation du comportement mécanique. Il a été défini par Hand [190] comme la moyenne spatiale du double produit tensoriel de \vec{p} , obtenue en intégrant le produit de ces tenseurs avec la fonction de distribution sur toutes les directions possibles. Les tenseurs d'orientation présentent des avantages quant à la concision de la notation et la simplification des calculs. En effet, leur équation ne dépend plus que de la position et du temps, et aucune discrétisation de la sphère unitaire (défini à la figure 3.4) n'est nécessaire. Étant donné que la fonction de distribution est paire (équation 3.4), cela signifie que seuls les tenseurs d'orientation d'ordre pair sont importants et que les intégrales d'ordre impair sont toutes nulles. Les tenseurs d'orientation sont définis tels que :

- tenseur du second ordre :

$$\mathbf{A} := \int \vec{p} \otimes \vec{p} \psi(\vec{p}) d\vec{p}; \quad (3.9)$$

- tenseur du quatrième ordre :

$$\mathbb{A} := \int \vec{p} \otimes \vec{p} \otimes \vec{p} \otimes \vec{p} \cdot \psi(\vec{p}) d\vec{p}. \quad (3.10)$$

Il est également possible de définir des tenseurs d'ordre supérieur (tels que le sixième et huitième ordre). Cependant, Advani et Tucker [181] ont démontré que les tenseurs d'ordre deux et quatre sont suffisants pour décrire l'état d'orientation. Ces tenseurs possèdent les propriétés fondamentales suivantes :

- La condition symétrique :

$$A_{ij} = A_{ji} \quad (3.11)$$

$$A_{ijkl} = A_{jikl} = A_{kijl} = A_{likj}. \quad (3.12)$$

- La condition de normalisation :

$$tr \mathbf{A} = A_{ii} = 1. \quad (3.13)$$

- Les tenseurs d'ordre supérieur fournissent des informations complètes sur les ordres inférieurs :

$$A_{ijkl} = A_{ij}. \quad (3.14)$$

Ces propriétés indiquent que seulement cinq et quatorze composantes sont nécessaires pour déterminer le tenseur d'orientation d'ordre deux et d'ordre quatre dans le cas d'un

écoulement 3D, respectivement. Les composantes du tenseur d'orientation sont associées à des quantités physiques spécifiques. Par exemple, les composantes A_{ij} du tenseur d'orientation reflètent la distribution d'orientation autour des axes i et j . Pour une orientation isotrope en 3D, les composantes $A_{ii} = 1/3$, alors que $A_{ij} = 0$ avec $i \neq j$. Advani et Tucker ont établi une équation pour déterminer l'évolution temporelle du tenseur d'orientation \mathbf{A} , en s'appuyant sur l'équation de Fokker-Planck et sur le modèle de Folgar et Tucker (équation 3.8) :

$$\frac{D\mathbf{A}}{Dt} = (\mathbf{W} \cdot \mathbf{A} - \mathbf{A} \cdot \mathbf{W}) + \lambda(\mathbf{D} \cdot \mathbf{A} + \mathbf{A} \cdot \mathbf{D} - 2\mathbf{A} : \mathbf{D}) + 2C_I |\dot{\gamma}| (\mathbf{I} - k\mathbf{A}), \quad (3.15)$$

où :

\mathbf{I} est le tenseur d'identité ;

k est égal à 3 pour une représentation tridimensionnelle et k est égal à 2 pour une représentation bidimensionnelle.

Bien que la description tensorielle soit efficace et simple à utiliser, il est important de noter que le tenseur d'ordre quatre apparaît dans l'équation (3.15). Tandis que son équation d'évolution peut être dérivée, elle contiendra également le tenseur d'ordre six dont l'équation d'évolution fait elle-même intervenir un tenseur d'orientation d'ordre huit, et ainsi de suite, entraînant donc une série infinie d'équations d'évolution pour les tenseurs d'ordres supérieurs. Pour contourner ce problème, il est nécessaire d'utiliser une approche dite de fermeture qui fournit une approximation du tenseur d'ordre quatre en fonction du tenseur d'ordre deux afin de remplacer le résultat dans l'équation (3.15) pour une description complète du comportement. Il y a plusieurs critères à prendre en compte lors de la construction des approximations de fermeture pour les tenseurs d'orientation. Tout d'abord, celles-ci ne doivent être construites qu'à partir des tenseurs d'orientation d'ordre inférieur et du tenseur unité. Deuxièmement, les approximations doivent être normalisées. Enfin, elle doivent conserver les symétries présentes dans les tenseurs d'orientation. À titre d'exemple, Hand [190] a proposé une méthode pour former une approximation de fermeture pour \mathbb{A} en utilisant tous les produits de \mathbf{A} et tenseur unité δ . En respectant les critères de symétrie et de normalisation, on constate que seuls les termes linéaires peuvent être utilisés. C'est ce que l'on appelle l'approximation de fermeture linéaire :

$$A_{ijkl}^{lin} = c_1(\delta_{ik}\delta_{jl} + \delta_{ij}\delta_{kl} + \delta_{il}\delta_{jk}) + c_2(A_{ij}\delta_{kl} + A_{ik}\delta_{jl} + A_{il}\delta_{jk} + A_{kl}\delta_{ij} + A_{jl}\delta_{ik} + A_{jk}\delta_{il}). \quad (3.16)$$

$$\text{Dans le cas 2D : } c_1 = -\frac{1}{24} \text{ et } c_2 = \frac{1}{6}.$$

$$\text{Dans le cas 3D : } c_1 = -\frac{1}{35} \text{ et } c_2 = \frac{1}{7}.$$

Une autre manière de définir une approximation de fermeture consiste à ignorer les termes linéaires et à ne retenir que le produit de tenseurs d'un ordre inférieur. Cette approximation est appelée fermeture quadratique [168, 191] :

$$A_{ijkl}^{quad} = A_{ij}A_{kl}. \quad (3.17)$$

Il est également possible de combiner les deux approches de fermeture linéaire et quadratique. Cela conduit à une fermeture hybride, proposée par Advani et Tucker [181] :

$$A_{ijkl}^{hyb} = (1 - f)A_{ijkl}^{lin} + fA_{ijkl}^{quad}, \quad (3.18)$$

où f représente la mesure scalaire de l'orientation :

$$f = 1 - 27 \det \mathbf{A}. \quad (3.19)$$

Advani et Tucker démontrent que les approximations hybride et quadratique produisent généralement des résultats qui sont conformes à la réalité. Cependant, après avoir analysé un grand nombre d'écoulements, les deux auteurs ont constaté que l'approximation hybride fournit des résultats plus précis [181].

6 Conclusion et choix d'un modèle

Ce troisième chapitre a permis d'établir un état de l'art sur la modélisation des phénomènes d'orientation en examinant les différentes approches. Le modèle de Jeffery permet de résoudre le mouvement d'une particule isolée dans un fluide newtonien. La plupart des approches actuelles de la modélisation de l'état d'orientation s'appuient sur sa théorie. De plus, deux descripteurs possibles qui régissent l'évolution de l'orientation d'une population de constituants induite par l'écoulement ont été mis en évidence : la PDF d'orientation et les tenseurs d'orientation. La PDF offre une approche complète et précise qui permet de décrire globalement l'état d'orientation. D'un autre côté, les tenseurs d'orientation fournissent une notation compacte et une facilité de manipulation numérique, mais ils peuvent faire perdre de l'information. En effet, l'équation d'évolution temporelle génère une série infinie d'équations d'évolution pour les tenseurs d'ordre supérieur, ce qui nécessite l'utilisation d'une relation de fermeture pour fournir une approximation du tenseur d'ordre supérieur en fonction du tenseur d'ordre inférieur. Dans ce travail de thèse, l'équation de type Fokker-Planck, qui suit l'évolution de la fonction de distribution d'orientation, sera utilisée. Cette équation inclut un terme de diffusion de Folgar et Tucker pour prendre en compte les interactions entre les particules dans les écoulements non dilués. Pour résoudre l'équation de Fokker-Planck, il sera nécessaire d'utiliser une méthode de discrétisation appropriée en raison de sa nature multidimensionnelle. Le processus de résolution de cette équation et la description détaillée du modèle numérique développé dans le cadre de ce travail de thèse feront l'objet de la partie suivante.

Deuxième partie

Développement d'un modèle numérique de prédiction de l'orientation des constituants d'un hydrogel lors de l'extrusion

Chapitre 4

Étude rhéologique des hydrogels

1 Introduction

L'analyse bibliographique présentée en partie I a permis de positionner ce travail de thèse dans le contexte de la bioingénierie tissulaire et, plus particulièrement, de présenter un état de l'art sur la bioimpression 3D en tant qu'outil innovant pour la fabrication de construits d'ingénierie tissulaire. La bioimpression 3D a recours à l'utilisation d'hydrogels comme biomatériau de base. Deux types d'hydrogels sont au centre de ce projet de thèse pour l'étude de l'orientation des constituants lors du processus de bioimpression 3D par extrusion : l'un à base de fibrinogène, d'alginate et de gélatine (FAG) et, l'autre, à base de chitosane et de nanofibres de cellulose (CHI/CNF). Les hydrogels présentent chacun des propriétés rhéologiques spécifiques, ce qui les rend adaptés à diverses applications en bioingénierie tissulaire. (i) Les hydrogels de FAG sont utilisés pour la bioimpression de tissus mous tels que la peau et les vaisseaux sanguins [20, 192]. Ils sont compatibles avec les cellules vivantes et offrent un environnement favorable à la croissance cellulaire. (ii) Les hydrogels de chitosane sont souvent renforcés par des nanofibres de cellulose (CHI/CNF) pour améliorer leur résistance mécanique et leur intégrité structurelle. Ils sont utilisés dans la bioimpression pour créer des structures plus robustes telles que des implants osseux et des cartilages [193]. De plus, ces deux hydrogels présentent des caractéristiques d'imprimabilité qui permettent d'imprimer des tissus vivants, notamment la propriété rhéofluifiante. Cette propriété est cruciale pour les cellulesensemencées dans l'hydrogel, car elle permet de réduire la contrainte de cisaillement appliquée aux cellules et ainsi maintenir une viabilité cellulaire lors de la bioimpression.

Le travail de thèse présenté ici s'inscrit dans la continuité de la revue bibliographique. Notre attention se porte sur l'étude numérique de l'orientation des constituants dans l'hydrogel induit par l'écoulement lors du processus d'extrusion. Afin de développer un modèle prédictif de cette orientation, il est nécessaire de caractériser la loi de comportement de l'hydrogel et de développer une stratégie numérique pour la modélisation probabiliste de la distribution et de l'orientation des constituants, ce qui constituera les chapitres 4 et 5

de cette partie. Le quatrième chapitre mettra en avant un travail expérimental axé sur l'étude de la rhéologie des hydrogels. L'objectif de cette approche consiste à caractériser expérimentalement ces hydrogels à travers des données rhéologiques mesurées. Cette caractérisation joue un rôle central permettant de représenter les hydrogels par une loi mathématique qui exprime les contraintes de cisaillement ou les viscosités en fonction des taux de cisaillement correspondants pour les hydrogels.

La première étape des études rhéologiques du chapitre 4 réside dans l'élaboration des hydrogels étudiés. Pour ce faire, les hydrogels de FAG (fibrinogène, alginate, gélatine) et de CHI/CNF (Chitosane, nanofibres de cellulose) ont été choisis dans le but i) d'étudier leur comportement rhéologique et ii) de représenter leur écoulement via une modélisation numérique. La seconde étape de ce travail expérimental réside dans la mesure rhéologique de ces hydrogels. Les données obtenues à la suite de ces mesures sont ensuite analysées et formulées en utilisant une loi mathématique appropriée.

Par ailleurs, ces deux types d'hydrogels ont été sélectionnés dans le but de mettre en évidence la pertinence de la prédiction de l'orientation des constituants par le modèle numérique développé. Cette décision est motivée par l'intérêt porté aux différences de comportement rhéologique entre l'hydrogel FAG et le CHI/CNF (ce point sera abordé dans la section suivante). L'objectif est d'examiner comment les comportements d'écoulement influencent l'orientation des constituants. De plus, il est évident qu'une distinction naturelle existe entre ces deux types d'hydrogels. D'un côté, l'hydrogel de FAG est constitué uniquement de chaînes polymères, tandis que, de l'autre, l'hydrogel CHI/CNF est renforcé par des fibres, combinant les caractéristiques des hydrogels traditionnels avec la résistance mécanique et l'intégrité structurelle apportées par les fibres incorporées [160, 194]. Par conséquent, l'utilisation de ces hydrogels permettra de tester les hypothèses du modèle développé. L'hydrogel CHI/CNF suscite un intérêt particulier en raison de la présence de véritables fibres (nanofibres de cellulose) au sein de l'hydrogel à base de chitosane. Étant donné que l'approche numérique développée dans cette étude (la fonction de distribution de probabilité) a déjà démontré sa capacité à prédire l'orientation des fibres renforcées dans les hydrogels, le CHI/CNF constitue un excellent exemple pour valider le modèle développé. Les résultats obtenus sont comparés et interprétés en parallèle de ceux de l'hydrogel FAG, qui se concentre sur l'orientation à l'échelle des chaînes polymères.

2 Préparation des hydrogels

Afin d'étudier la pertinence du modèle numérique développé pour prédire l'orientation des constituants induite par l'écoulement, deux types d'hydrogels ont été sélectionnés pour caractériser leur comportement rhéologique dans le cadre de cette thèse :

- D'une part, un hydrogel développé par les sociétés LabSkin Creations (69003 LYON, France) et 3dFab (69100 VILLEURBANNE, France). Cet hydrogel est constitué de trois biomatériaux distincts : fibrinogène, alginate et gélatine (FAG).
- D'autre part, des hydrogels à base de chitosane et de nanofibres de cellulose CHI/CNF

développés par le laboratoire IMTEK (Laboratory for Sensors, Institute of Microsystems Engineering, University of Freiburg, 79110 Freiburg, Germany).

2.1 Protocole de fabrication de la FAG

Dans cette étude, le protocole de préparation de la FAG est le même que pour une préparation d'hydrogel cellularisé destiné à la bioimpression d'un construit d'ingénierie tissulaire qui est détaillé dans la thèse de Pourchet [39] *Développement d'une bioencore pour la bioimpression 3D de tissus vivants : étude de la formulation et caractérisation du développement tissulaire*. Toutefois, dans le cadre de notre travail, l'hydrogel n'est pas cellularisé. De plus, la quantité de fibrinogène présente dans l'hydrogel a été substituée par une quantité équivalente de solvant DMEM. Cette décision a été motivée par le rôle essentiel généralement joué par le fibrinogène dans l'hydrogel de FAG. Grâce aux motifs RGD d'adhésion cellulaire du fibrinogène, ce dernier a été utilisé en tant que composant structurel et de maturation, en particulier après sa réticulation par la thrombine. De plus, la présence de fibrinogène dans l'hydrogel n'a pas d'impact sur la propriété rhéologique de l'hydrogel de FAG (en effet, la gélatine joue le rôle d'agent rhéologique dans le FAG) [20, 195]. Dans cette étude, en prenant en compte le coût élevé du fibrinogène, seuls sont utilisés de la gélatine, de l'alginate et une quantité de DMEM en remplacement du fibrinogène.

La préparation des solutions mères à partir de FAG se fait la veille des essais de caractérisation rhéologique. Les solutions sont toutes préparées dans un milieu de culture sans calcium (DMEM) et placées à l'incubateur à une température de 37 °C afin d'obtenir une solubilisation complète et homogène. Le tableau 4.1 liste des réactifs nécessaires pour la préparation de l'hydrogel FAG.

Étape	Désignation produit	Concentration initiale (w/v)	Solvant
Préparation d'hydrogel FAG	Fibrinogène	8 %	DMEM
	Alginate	4 %	DMEM
	Gélatine	20 %	DMEM

TABLEAU 4.1 – Les réactifs nécessaires pour la préparation de l'hydrogel FAG.

Les constituants fondamentaux de la FAG sont le fibrinogène, l'alginate et la gélatine décrits ci-dessous :

- le fibrinogène à 8 % (w/v) (issu de plasma bovin, Sigma-Aldrich, France, N° CAS : 9001-32-5) ;
- l'alginate à 4 % (w/v) (sel de sodium alginique, Alpha Aesar, France, N° CAS : 9005-38-3) ;
- la gélatine à 20 % (w/v) (en poudre issue de peau porcine, Sigma-Aldrich, France, N° CAS : 9000-70-8).

Une fois les solutions mères de chaque biomatériau de la FAG prêtes, elles sont mélangées en suivant un protocole spécifique pour former un hydrogel. La formulation 242 de

FAG (Fibrinogène, Alginate, Gélatine en ration 2 : 4 : 2) utilisée à la plateforme 3dFAB a été choisie dans un premier temps pour caractériser son comportement rhéologique. Pour cette formulation, on a donc deux quantités de la solution de fibrinogène, quatre quantités de la solution d’alginate et deux quantités de la solution de gélatine. La solution finale obtenue est présentée sur la figure 4.1A.

2.2 Protocole de fabrication des CHI/CNF

Le développement des hydrogels CHI/CNF au sein du laboratoire IMTEK ainsi que les informations mentionnées dans cette section sont détaillées dans l’article de Kamdem *et al.*, [105]. Le tableau 4.2 liste les réactifs nécessaires pour la préparation des deux formulations d’hydrogel CHI/CNF utilisées.

Étape	Formulation	Concentration initiale (w/v)	Solvant
Préparation d’hydrogel CHI/CNF	CHI1.5/CNF0.9	Chitosane 1,5 % + Nanofibres de cellulose 0,9 %	Eau MilliQ
	CHI1.7/CNF0.8	Chitosane 1,7 % + Nanofibres de cellulose 0,8 %	Eau MilliQ

TABLEAU 4.2 – Les réactifs nécessaires pour la préparation de l’hydrogel CHI/CNF.

Pour préparer la solution de CHI/CNF, la poudre de CHI tout d’abord a été mélangée avec une suspension aqueuse de CNF dans de l’eau MilliQ. Ensuite, une quantité stœchiométrique d’acide acétique a été ajoutée pour solubiliser complètement le CHI présent dans le mélange. La solution obtenue a été agitée mécaniquement pendant une nuit pour assurer une bonne dispersion des CNF dans la solution CHI. La solution finale obtenue est présentée sur la figure 4.1B. Dans le cadre de cette étude, deux formulations d’hydrogels sont retenues, CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, pour caractériser leur comportement rhéologique afin de les représenter par une loi mathématique dans la simulation numérique, dans le but de tester la prédiction du modèle numérique de l’orientation des nanofibres de cellulose. Ces deux formulations d’hydrogels ont été définies grâce aux recherches antérieures des équipes des laboratoires IMTEK et IMP. En effet, ces laboratoires ont réussi à préparer des hydrogels en utilisant des concentrations faibles de CHI et CNF (2-3 % pour CHI et 0,2-0,4 % pour CNF) pour la bioimpression 3D par extrusion. L’orientation des CNF dans l’hydrogel a ensuite été confirmée à l’aide d’expériences par des analyses de diffusion synchrotron des rayons X. Cependant, en raison de la faible concentration de CNF (0,2-0,4 %) dans les hydrogels de CHI, l’analyse de l’orientation des CNF à partir des images de diffusion n’était pas très claire. C’est pourquoi ces deux nouvelles formulations d’hydrogel, avec une concentration plus élevée de CNF (0,8 et 0,9 %), seront utilisées dans le cadre de cette thèse.

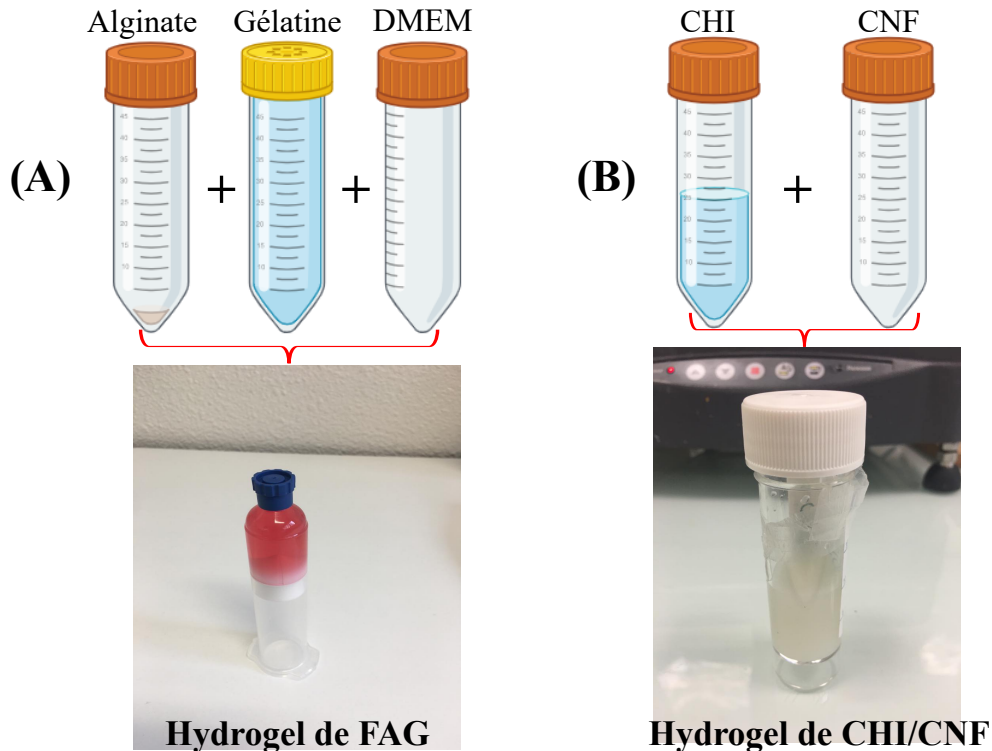


FIGURE 4.1 – Représentation schématique de la composition des hydrogels. (A) Hydrogel de FAG. (B) Hydrogel de CHI/CNF.

3 Comportement rhéologique des hydrogels

3.1 Caractérisation rhéologique de la FAG

Les tests rhéologiques sur l'hydrogel FAG ont été réalisés au sein de la plateforme 3d.FAB. Pour cela, un rhéomètre rotationnel à contrainte imposée (DHR2, Instrument TA), associé à une géométrie cylindrique, a été utilisé (Figure 4.2). Le montage se compose des parties principales suivantes : (1) l'écran d'affichage présente en temps réel de multiples informations sur la station d'essai, facilitant ainsi le chargement des échantillons, tout en fournissant des données sur le système pendant les expériences ; (2) la géométrie cylindrique est couramment utilisée pour tester les fluides à faible viscosité, les dispersions ou tout liquide pouvant être versé dans une coupelle ; (3) un ordinateur équipé du logiciel TRIOS permet de piloter le rhéomètre et de passer efficacement du traitement des expériences à la visualisation et à l'analyse des données de rhéologie.

Pour assurer la stabilité des propriétés rhéologiques de l'hydrogel, ce dernier a été maintenu à une température de 21 °C pendant 30 minutes à l'incubateur avant de procéder aux expériences. En effet, les propriétés rhéologiques de l'hydrogel, telles que la contrainte seuil et la viscosité, sont sensibles à la température. Le temps d'incubation de 30 minutes permet ainsi à l'hydrogel d'acquies des propriétés uniformes avant les expériences [113]. Une quantité d'environ 15 mL d'hydrogel doit être préparée pour convenir à la géométrie cylindrique du rhéomètre. L'analyse de la rhéologie de FAG a été réalisée par une procédure

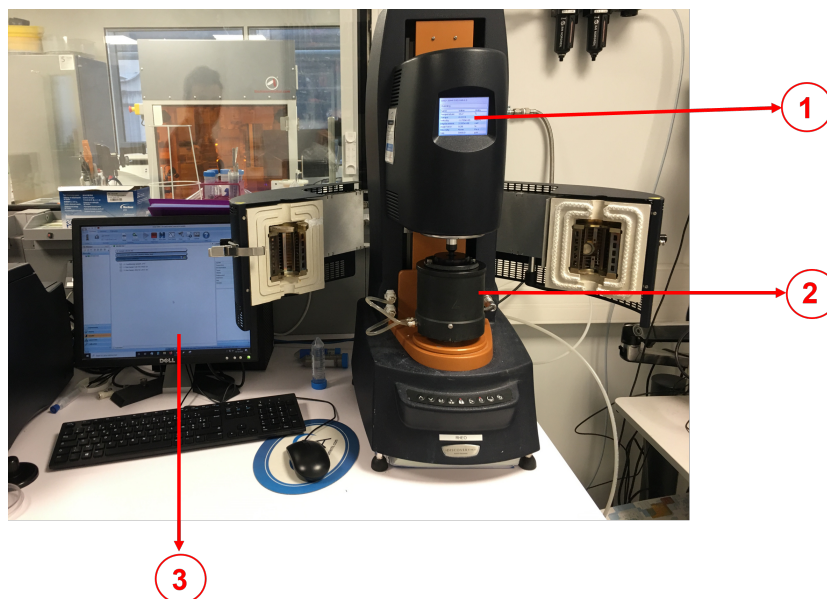


FIGURE 4.2 – Rhéomètre rotationnel DHR2 de la plateforme 3dFAB. (1) Écran d’affichage. (2) Géométrie cylindrique. (3) Ordinateur équipé du logiciel TRIOS.

de balayage du flux sur une échelle de taux de cisaillement $[0,01, 100] \text{ s}^{-1}$ à 21 °C qui était la température utilisée pour la bioimpression par extrusion. Enfin, les courbes de la contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement ont été tracées pour montrer les diagrammes d’écoulement de l’hydrogel.

Les données expérimentales indiquent que le comportement rhéologique de FAG peut être modélisé par la loi de Herschel-Bulkley qui tient compte à la fois du seuil de contrainte et du comportement rhéofluidifiant. L’équation rhéologique de ce modèle est donnée par la relation suivante :

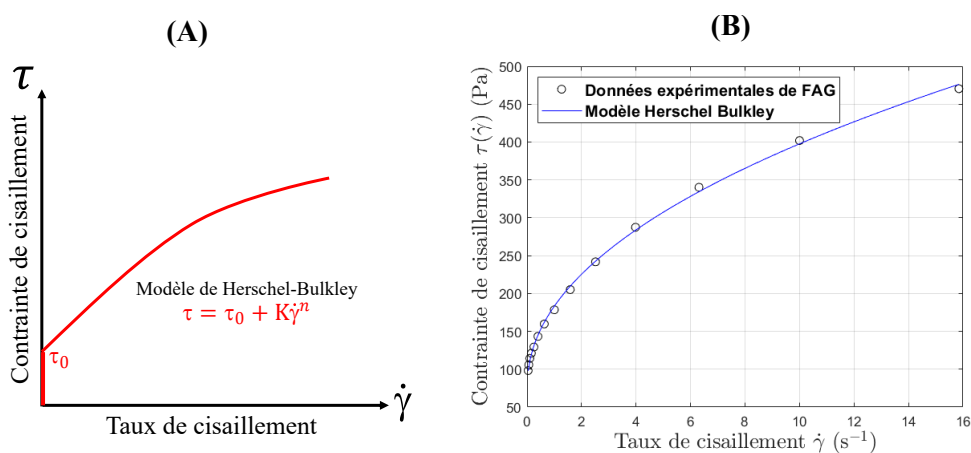


FIGURE 4.3 – Caractérisation rhéologique de l’hydrogel de FAG. (A) Représentation du modèle mathématique de Herschel-Bulkley. (B) Courbe de contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement. La ligne continue bleue représente l’ajustement des données expérimentales au modèle de Herschel Bulkley.

$$\tau = \tau_0 + K\dot{\gamma}^n, \quad (4.1)$$

où

τ est la contrainte de cisaillement en [Pa];

τ_0 est le seuil de contrainte en [Pa];

K est l'indice de consistance d'écoulement en [Pa.sⁿ];

n est l'indice de comportement d'écoulement sans dimension [-];

$\dot{\gamma}$ est le taux de cisaillement en [s⁻¹].

Un programme MATLAB (R2018a) utilisant l'algorithme de régression non linéaire de Levenberg-Marquardt a été développé pour ajuster les données expérimentales et le modèle de Herschel-Bulkley. Les paramètres associés à ce modèle sont présentés dans le tableau 4.3 :

Formulation	τ_0 [Pa]	K [kg/m.s]	n [-]
FAG 242	113,96	195,36	0,43

TABLEAU 4.3 – Paramètres du modèle de Herschel-Bulkley.

La figure 4.3B illustre la bonne adaptation numérique du modèle Herschel-Bulkley avec les données expérimentales. Le coefficient de détermination, noté R^2 , est un indicateur qui évalue la qualité de l'ajustement d'un modèle. En termes de régression, il représente une mesure statistique de la proximité entre la ligne de régression et les données réelles. La formulation du coefficient de détermination est donnée par :

$$R^2 = 1 - \frac{SSR}{SST}, \quad (4.2)$$

où

SSR est de la régression de la somme des carrés ;

SST est la somme totale des carrés.

La somme des carrés de la régression est la variation attribuée à la relation entre les données expérimentales et les données numériques. La somme totale des carrés est la somme de la distance des données par rapport à la moyenne au carré. Comme il s'agit d'un pourcentage, R^2 prend des valeurs comprises entre 0 et 1. Le résultat obtenu du calcul de R^2 pour les données rhéologiques de FAG et le modèle de Herschel-Bulkley est de 0,9991, ce qui signifie que la qualité de l'ajustement du modèle de Herschel-Bulkley est de 99,91%.

Par ailleurs, la mesure de la contrainte de cisaillement en fonction du taux de cisaillement permet de mettre en évidence une fonction de contrainte de cisaillement constante non nulle $\tau(\dot{\gamma})$ à l'origine ($\dot{\gamma} = 0$) indiquant la limite d'élasticité statique (contrainte seuil) $\tau_0 = 113,96$ Pa comme limite du domaine viscoélastique linéaire à laquelle l'hydrogel a commencé à s'écouler. En dessous de cette valeur, le matériau reste sous forme solide-gel

qui s’oppose à l’écoulement. Ce type de comportement rhéologique est souvent souhaité lors de la bioimpression 3D afin de maintenir la forme de l’objet bioimprimée pendant et après le processus d’extrusion. De plus, lorsque le cisaillement appliqué est suffisamment élevé pour briser les réseaux physiques entre les chaînes de polymères dans l’hydrogel [196], la contrainte de cisaillement augmente au-delà de la limite d’élasticité, l’hydrogel se comporte comme un liquide et peut être facilement extrudé. La contrainte de cisaillement augmente proportionnellement à l’augmentation du taux de cisaillement, ce qui démontre un comportement rhéofluidifiant. Cela signifie que lorsque l’hydrogel est soumis à une force, il devient de plus en plus liquide. Cette propriété peut s’expliquer par le fait que sous l’effet de cette force, les chaînes de polymères dans l’hydrogel ont tendance à s’aligner progressivement dans le sens de la contrainte, ce qui facilite leur glissement relatif [192].

3.2 Caractérisation rhéologique des hydrogels CHI/CNF

Les tests rhéologiques sur les hydrogels CHI/CNF ont été réalisés au laboratoire IMP (Ingénierie des matériaux polymères, université Claude-Bernard-Lyon-1). Un rhéomètre rotationnel (AR-2000, Instrument TA) équipé d’un cône et d’une géométrie d’écoulement à plaques a été utilisé (Figure 4.4). Le montage se compose des éléments principaux suivants : (1) La plaque conique dont la géométrie (25 mm de diamètre et un angle de cône de 4°) permet d’assurer un cisaillement uniforme de l’échantillon pendant les tests rhéologiques ; (2) Un plan Peltier équipé de la technologie *Smart Swap* qui permet d’interchanger rapidement les systèmes de contrôle de température. Le système reconnaît automatiquement le type de système de température présent, le logiciel s’autoconfigure en conséquence et charge toutes les données de calibrage pertinentes ; (3) Un ordinateur équipé du logiciel TRIOS permet de piloter le rhéomètre et facilite la transition du traitement des expériences à la visualisation et à l’analyse des données rhéologiques.

L’analyse de la rhéologie des CHI/CNF a été réalisée sur une échelle de taux de cisaille-

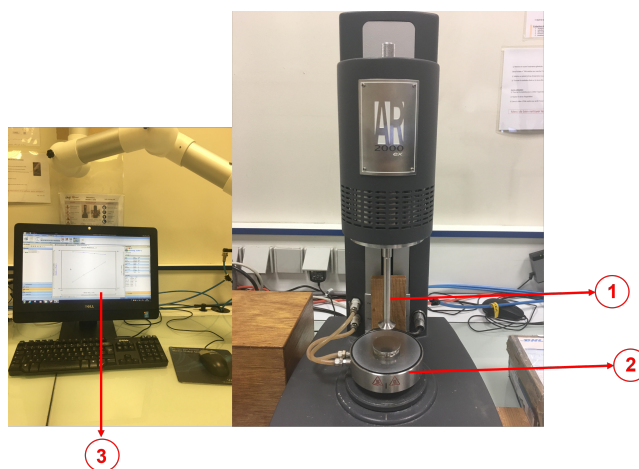


FIGURE 4.4 – Rhéomètre rotationnel AR2000 du laboratoire IMP. (1) Géométrie de la plaque conique. (2) Plan Peltier. (3) Ordinateur équipé du logiciel TRIOS.

ment $[0,005, 1000] \text{ s}^{-1}$ à 25 °C . Enfin, les courbes de flux des formulations de CHI/CNF ont été obtenues, représentant la viscosité de cisaillement en fonction du taux de cisaillement.

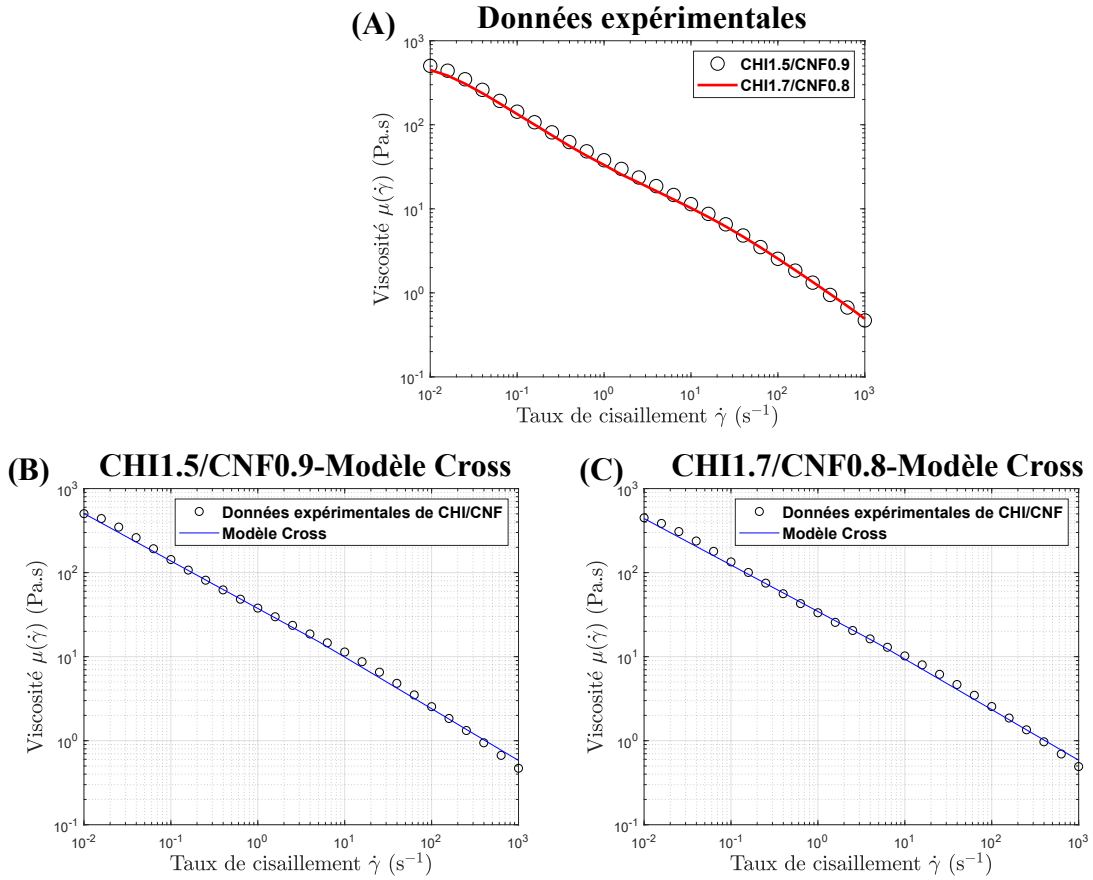


FIGURE 4.5 – Caractérisation rhéologique des hydrogels de CHI/CNF. (A) Courbe de la viscosité en fonction du taux de cisaillement de CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8. (B) et (C) Courbes d’ajustement du modèle de Cross et les données expérimentales de l’hydrogel CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement. La ligne continue bleue représente l’ajustement des données expérimentales au modèle de Cross.

La figure 4.5A montre les diagrammes d’écoulement de deux hydrogels CHI1.5/CNF0.8 et CHI1.7/CNF0.9. Comme attendu, le comportement rhéologique de ces deux formulations d’hydrogels est assez similaire. À de faibles taux de cisaillement, la viscosité à cisaillement nul a été mesurée (μ_0), indiquant que les forces de cisaillement nécessaires pour démanteler les chaînes de polymères sont inférieures ou équivalentes à celles qui les maintiennent enchevêtrées. À des taux de cisaillement plus élevés, un comportement rhéofluidifiant est observé, montrant une diminution de la viscosité à mesure que le taux de cisaillement augmente [197, 198]. Les figures 4.5B et 4.5C démontrent une excellente adaptation numérique du modèle de Cross aux données expérimentales. Le coefficient de détermination R^2 est également calculé selon la formulation 4.2 afin d’évaluer la précision de l’ajustement du modèle. Les valeurs calculées pour R^2 sont de 0,9960 et 0,9958 pour les hydrogels CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement. Ces résultats mettent en évidence une excellente correspondance entre les données mesurées et le modèle Cross, avec des taux de

correspondance de 99,60 % pour CHI1.5/CNF0.9 et 99,58 % pour CHI1.7/CNF0.8. Le modèle de Cross est particulièrement utile pour représenter les hydrogels à base de chitosane dans la bioimpression en raison de sa capacité à décrire le comportement d'écoulement des hydrogels qui présentent un comportement rhéofluidifiant. En effet, les hydrogels de chitosane présentent souvent un comportement rhéofluidifiant, suivant lequel leur viscosité diminue lorsque le taux de cisaillement augmente. Cette propriété est cruciale pour la bioimpression car elle influence le processus d'extrusion, garantissant que l'hydrogel peut être facilement déposé à travers la buse d'impression [196]. En étant rhéofluidifiant, un hydrogel peut diminuer la contrainte de cisaillement appliquée aux cellules, ce qui permet d'augmenter les chances de survie des cellules lors du processus d'extrusion [111, 199]. De plus, le modèle de Cross, qui est un modèle empirique, permet de tenir compte des limites du comportement rhéologique, à savoir une viscosité à cisaillement nul et une viscosité à cisaillement infini. Le modèle de Cross peut également capturer le comportement rhéofluidifiant. En ajustant les données rhéologiques expérimentales au modèle de Cross, on peut obtenir des paramètres qui peuvent ensuite être intégrés dans des simulations numériques utilisées pour la bioimpression afin de modéliser l'écoulement de l'hydrogel de chitosane pendant le processus d'impression. L'équation du modèle de Cross est la suivante :

$$\mu = \frac{\mu_0}{1 + (\lambda\dot{\gamma})^{1-n}}, \quad (4.3)$$

où

μ est la viscosité [Pa.s] ;

μ_0 est la viscosité à cisaillement nul en [Pa.s] ;

λ est le temps de relaxation des chaînes polymères en [s] ;

n est l'indice de comportement d'écoulement sans dimension [-].

$\dot{\gamma}$ est le taux de cisaillement en [s^{-1}].

Formulation	μ_0 [Pa.s]	λ [s]	n [-]
CHI1.5/CNF0.9	$1,80 \times 10^3$	461,88	0,38
CHI1.7/CNF0.8	$1,60 \times 10^3$	499,99	0,40

TABLEAU 4.4 – Paramètres du modèle de Cross.

Pour ajuster les données expérimentales au modèle de Cross, un programme MATLAB (R2018a) a été développé en utilisant l'algorithme de régression non linéaire de Levenberg-Marquardt. Les paramètres associés au modèle de Cross sont présentés dans le tableau 4.4. L'hydrogel CHI1.5/CNF0.9 présente une viscosité à cisaillement nul (μ_0) plus élevée que celle de CHI1.5/CNF0.8 ($1,80 \times 10^3$ Pa.s pour CHI1.7/CNF0.8 et $1,60 \times 10^3$ Pa.s pour CHI1.5/CNF0.8). Cela s'explique par la concentration plus élevée de CNF dans l'hydrogel, ce qui augmente la viscosité mesurée à de faibles taux de cisaillement [200]. De plus, le temps de relaxation des chaînes polymères dans l'hydrogel CHI1.5/CNF0.9 était inférieur à celui de l'hydrogel CHI1.7/CNF0.8 (461,88 s contre 499,99 s). En effet, dans l'hydrogel

à base de CHI, la relaxation prédominante des chaînes à des taux de cisaillement élevés correspond au clivage transitoire du réseau des chaînes polymères CHI. Ainsi, la teneur en CHI dans l'hydrogel CHI1.7/CNF0.8 était plus élevée que celle de CHI1.5/CNF0.9, entraînant des temps de relaxation de chaîne proportionnellement plus élevés. Par conséquent, à des taux de cisaillement élevés, l'écoulement des hydrogels CHI/CNF est principalement influencé par le démêlage des chaînes de CHI et est moins affecté par la présence des CNF. Cette caractéristique est avantageuse pour l'impression par extrusion de ce système, car les CNF peuvent contribuer à améliorer les propriétés mécaniques et augmenter la viscosité à cisaillement nul sans compromettre significativement l'extrudabilité des systèmes à base de CHI à des taux de cisaillement plus élevés [105].

4 Conclusions

Ce chapitre était consacré à l'étude expérimentale de la rhéologie des hydrogels. La première section a permis de détailler la préparation des hydrogels à base de FAG et de CHI/CNF pour lesquels un protocole rigoureux doit être suivi. La deuxième section était dédiée à la mesure de la rhéologie de ces hydrogels. Cette étape est essentielle car elle fournit les paramètres nécessaires pour les lois de comportement des hydrogels. Dans ce chapitre, la rhéologie des hydrogels a été caractérisée, mettant en évidence une excellente adaptation des modèles mathématiques de Herschel-Bulkley et de Cross aux données expérimentales pour les hydrogels FAG et CHI/CNF, respectivement. Ces modèles permettent de modéliser les écoulements des hydrogels dans des simulations numériques afin d'étudier l'orientation des constituants induite par l'écoulement. La stratégie de modélisation et le développement du modèle numérique feront l'objet du prochain chapitre.

Chapitre 5

Stratégie numérique pour la prédiction de l'orientation des constituants d'un hydrogel

1 Introduction

L'étude bibliographique réalisée au chapitre 3 dans la première partie a permis de mettre en évidence la théorie cinétique décrivant l'état d'orientation d'une population de constituants dans un volume élémentaire représentatif (VER) induit par l'écoulement en un point matériel par une fonction de densité de probabilité (ψ). L'utilisation d'un modèle cinétique offre de nombreux avantages par rapport aux modèles purement microscopiques ou macroscopiques. En effet, le modèle cinétique est moins coûteux en termes de calcul, tout en préservant les propriétés du système car il permet de modéliser l'évolution de la fonction de densité de probabilité d'une population de constituants. Il établit ainsi un lien entre la description microscopique et la description macroscopique.

L'équation de Fokker-Planck, dérivée de la mécanique statistique, est une équation aux dérivées partielles visant à décrire l'évolution temporelle d'une fonction de probabilité dans l'approche cinétique. Cette équation offre une description probabiliste de l'évolution des positions et des orientations des particules dans le temps, en prenant en compte diverses forces telles que la diffusion et les interactions avec d'autres particules. Dans le contexte de l'ingénierie tissulaire, l'équation de Fokker-Planck peut se révéler être un outil intéressant pour comprendre comment les constituants s'orientent en réponse à des facteurs tels que le comportement rhéologique des hydrogels, les conditions de bioimpression et les interactions avec d'autres constituants.

La résolution de l'équation de Fokker-Planck est le cœur du projet de thèse. En effet, cette équation sert de pont entre le niveau de description microscopique et macroscopique lors de la résolution d'un problème couplé impliquant le comportement rhéologique d'un hydrogel et l'orientation des constituants induit par l'écoulement du fluide. La figure 5.1

représente la stratégie de résolution de l'équation de Fokker-Planck à résoudre (5.1) pour calculer la fonction ψ en chaque point du maillage d'écoulement $\vec{x}(x, y)$, définissant le domaine spatial, ainsi que l'angle θ entre le vecteur d'orientation \vec{p} et l'axe vertical y , définissant le domaine des configurations.

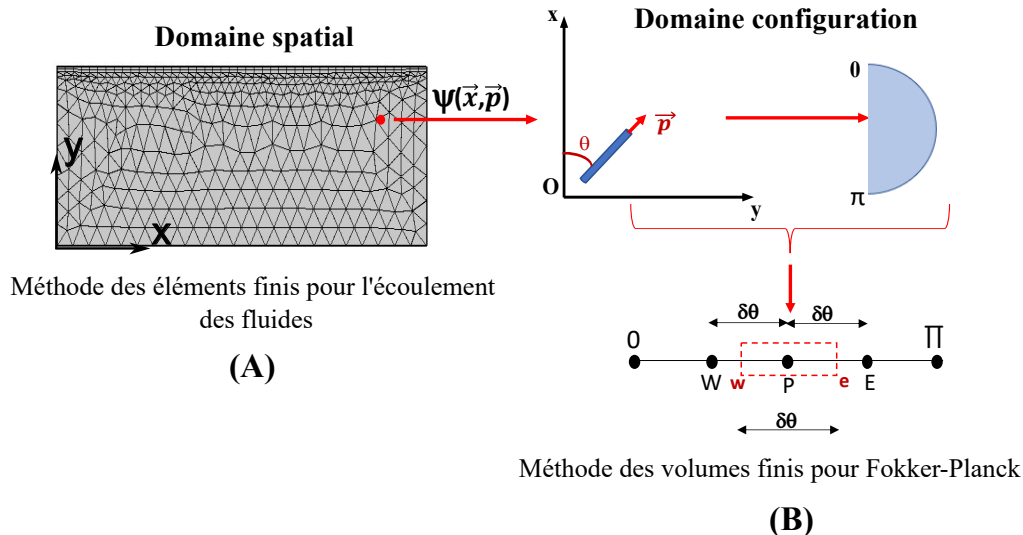


FIGURE 5.1 – Schéma représentant la procédure de résolution numérique de l'équation de Fokker-Planck. (A) L'écoulement du fluide en 2D régi par les équations de Navier-Stokes est résolu à l'aide d'une discrétisation par éléments finis dans le domaine spatial, qui est couplée à (B) une discrétisation par volumes finis dans le domaine de la configuration.

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \vec{u} \cdot \nabla_x \psi + \frac{\partial}{\partial \vec{p}} \cdot (\psi \dot{\vec{p}}) - D_r \frac{\partial^2 \psi}{\partial \theta^2} = 0. \quad (5.1)$$

L'utilisation de la technologie de bioimpression par extrusion repose sur un écoulement stationnaire de matériau distribué à partir d'une cartouche [201]. Un écoulement stationnaire est donc utilisé dans ce travail. De plus, en première approximation nous allons utiliser une modélisation de l'orientation des constituants en 2D et une modélisation de l'écoulement en 2D, stationnaire. Par conséquent, le modèle numérique de l'équation de Fokker-Planck pour $\psi(\vec{x}, \vec{p}, t)$ a réduit le nombre de degrés de liberté à trois, à savoir les deux coordonnées spatiales cartésiennes pour le fluide $\vec{x}(x, y)$ et une coordonnée de l'angle (θ) associée à la distribution de l'orientation. La fonction $\psi(\vec{x}, \vec{p}, t)$ se simplifie $\psi(\vec{x}, \theta)$. L'équation (5.1) peut donc être réécrite comme suit :

$$\vec{u} \cdot \nabla_x \psi + \frac{\partial}{\partial \theta} \cdot (\psi \dot{\vec{p}}) - D_r \frac{\partial^2 \psi}{\partial \theta^2} = 0. \quad (5.2)$$

Étant donné que la fonction ψ dépend à la fois du domaine spatial $\vec{x}(x, y)$ et du domaine des configurations (θ), l'équation de Fokker-Planck associée à ψ est tridimensionnelle $\psi(\vec{x}, \theta)$. De plus, dans cette équation, \vec{u} est le champ de vitesse du fluide. Cette équation à trois degrés de liberté (deux degrés de liberté pour le domaine spatial et un degré de liberté pour le domaine de configuration) est donc couplée à un problème de

mécanique des fluides en 2D (deux degrés de liberté). Même en utilisant les hypothèses précédentes (problème stationnaire avec deux dimensions spatiales), la résolution numérique de ce problème est donc complexe et demande une stratégie particulière. Une résolution en dimension supérieure est d'ailleurs hors de portée à l'échelle cinétique : il s'agirait alors de résoudre une équation de Fokker-Planck à cinq degrés de liberté (trois degrés de liberté pour le domaine spatial et deux degrés de liberté pour le domaine de configuration) couplée à un problème de mécanique des fluides en 3D (trois degrés de liberté). Afin de résoudre cette équation complexe, une approche standard de discrétisation est nécessaire pour tous les degrés de liberté pertinents, à savoir la position \vec{x} et la configuration θ . Les détails de la stratégie numérique employée pour résoudre l'équation (5.2) feront l'objet de la section 3.

2 Modélisation de l'écoulement des hydrogels

La méthode des éléments finis (FEM) a été utilisée pour résoudre le problème de l'écoulement des fluides par Comsol Multiphysics (v5.6, COMSOL, Inc.) en utilisant une approche classique en mécanique des fluides à savoir, un élément de type triangle avec une interpolation quadratique pour la vitesse et une interpolation linéaire pour la pression afin d'assurer la compatibilité des calculs. Pour un tel hydrogel, les équations régissant l'écoulement des fluides sont données par les équations de Navier-Stokes. Dans le cas d'un fluide statique et incompressible, les équations de Navier-Stokes sont données par :

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \vec{u} &= 0, \\ \rho \nabla \vec{u} \cdot \vec{u} &= -\nabla q + \nabla \cdot [\mu(\nabla \vec{u} + \nabla \vec{u}^T)]. \end{aligned} \quad (5.3)$$

La première équation garantit l'incompressibilité du fluide et la deuxième équation garantit la conservation de la quantité de mouvement. Dans les équations (7.4), le vecteur \vec{u} désigne la vitesse du fluide [m/s], q la pression du fluide [Pa], ρ et μ sont la densité [kg/m³] et la viscosité dynamique [Pa.s] de l'hydrogel, respectivement. Pour le modèle d'hydrogel de FAG, la viscosité dynamique est exprimée par la loi mathématique de Herschel-Bulkley, tandis que la loi de Cross est utilisée pour modéliser la viscosité dynamique de l'hydrogel de CHI/CNF, comme cela est exposé dans le chapitre 4.

Afin de caractériser le régime d'écoulement, on peut utiliser le nombre de Reynolds (Re), une grandeur adimensionnelle largement employée en dynamique des fluides. Ce nombre peut être défini comme suit :

$$Re = \frac{\rho U l}{\mu}. \quad (5.4)$$

où U est la vitesse moyenne [m/s] et l est une dimension linéaire caractéristique (longueur parcourue du fluide) [m].

3 Modélisation de l'orientation des constituants de l'hydrogel

L'objectif de cette section est de présenter la stratégie numérique visant à résoudre l'équation de Fokker-Planck pour la fonction ψ dans le cas 2D en écoulement stationnaire. L'équation de Fokker-Planck s'écrit alors :

$$\vec{u} \cdot \nabla_x \psi + \frac{\partial}{\partial \theta} (\psi \dot{\vec{p}}) = 0, \quad (5.5)$$

où

\vec{u} est le vecteur de vitesse de l'écoulement ;

∇_x est l'opérateur gradient par rapport à la position \vec{x} ;

$\dot{\vec{p}}$ est le mouvement d'une particule dans l'écoulement et calculé selon la formulation de Jeffery :

$$\dot{\vec{p}} = \mathbf{W} \cdot \vec{p} + \lambda [\mathbf{D} \cdot \vec{p} - \mathbf{D} : (\vec{p} \otimes \vec{p}) \vec{p}] + D_r \frac{\partial^2 \psi}{\partial \theta^2}, \quad (5.6)$$

λ est une fonction du rapport de forme β :

$$\lambda = \frac{\beta^2 - 1}{\beta^2 + 1}.$$

Le terme $D_r = C_I |\dot{\gamma}|$ où C_I décrit le coefficient d'interaction entre les particules, $|\dot{\gamma}| = \sqrt{2\mathbf{D} : \mathbf{D}}$ désigne la grandeur scalaire du tenseur de taux de déformation.

De nombreuses méthodes de discrétisation de l'équation (5.5) ont été employées dans la littérature, parmi lesquelles on peut citer la méthode de Galerkin [202], la méthode des différences finies [203, 204], la méthode des volumes finis [205], la méthode des éléments finis [206] et la méthode de Runge-Kutta du 4e ordre [207]. Dans cette étude, nous avons mis en œuvre une méthode numérique de résolution de l'équation (5.5) basée sur la méthode des volumes finis. À la suite des travaux de Férec *et al.*, [208], Zhang *et al.*, [209] et Mezi *et al.*, [210], la méthode a été adaptée afin de traiter une représentation unidimensionnelle de l'état d'orientation des constituants d'un hydrogel lors de l'écoulement induit par la technique de bioimpression 3D par extrusion dans le contexte de l'ingénierie tissulaire. Comme il n'y a qu'une seule variable de configuration θ , la discrétisation unidimensionnelle par volume fini de l'espace des configurations permet d'aboutir à un système de problèmes d'éléments finis en deux dimensions. Les détails de cette discrétisation sont présentés dans les paragraphes suivants.

La discrétisation de l'équation (5.5) de Fokker-Planck a été réalisée à l'aide de la méthode des volumes finis. Cette méthode a été privilégiée en raison de sa conservation locale, nécessaire pour respecter la condition de normalisation qui est intégrée dans le formalisme du modèle. Dans le domaine de configuration, les orientations possibles des constituants sont décrites la valeur de l'angle θ et décrivent donc un demi-cercle de rayon unitaire, comme illustré dans la figure 5.2.

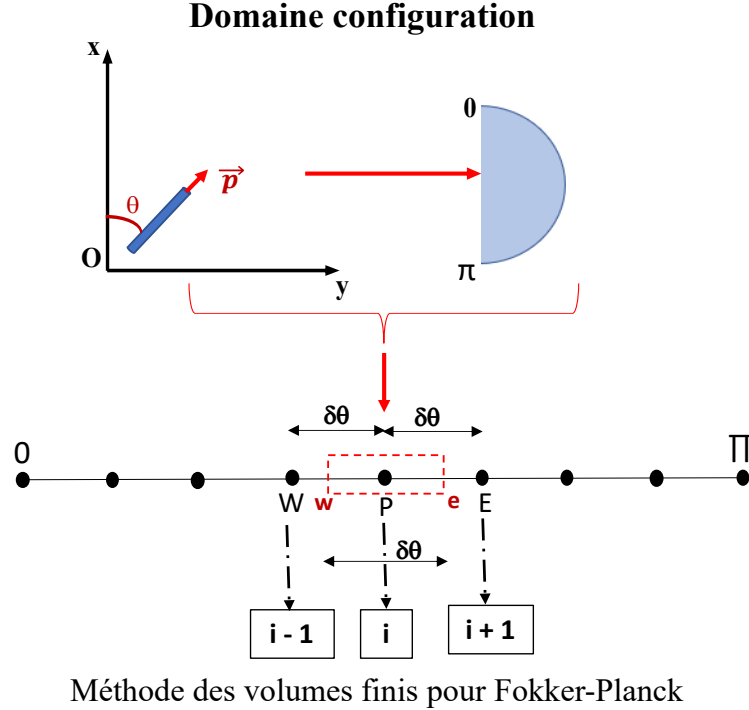


FIGURE 5.2 – Schéma de discrétisation par volumes finis dans le domaine de la configuration. P, E et W représentent les nœuds central, est et ouest du système de volumes finis; e et w indiquent les bords est et ouest du volume de contrôle, respectivement.

Ainsi, le périmètre du demi-cercle $[0, \pi]$ est discrétisé en N intervalles égaux de longueur $\delta\theta = \pi/N$, ce qui correspond à N variables pour la fonction ψ . Le nombre approprié d'intervalles N pour le maillage de volumes finis a été fixé suite à une étude de Mezi *et al.*, [210] qui a montré que $N = 30$ intervalles étaient suffisants pour le maillage de volumes finis [210]. Dans son étude, la méthode de « *single-point calculations* (SPCs) » a été utilisée pour calculer l'histoire de l'orientation dynamique le long d'une ligne de courant en fonction du taux de cisaillement, avec 100 intervalles du demi-cercle de rayon unitaire. Les résultats ont montré que les résultats entre la méthode de SPCs et le code développé sont cohérents, fournissant un état stable précis, ce qui valide le choix de $N = 30$ intervalles comme étant suffisant pour le maillage de volumes finis. De plus, l'étape clé de cette discrétisation par la méthode des volumes finis est l'intégration de l'équation (5.5) sur le volume de contrôle pour établir un système d'équations algébriques linéaires qui donne la forme suivante :

$$\delta\theta \cdot \vec{u} \cdot \nabla_x \psi_P + a_P \psi_P - a_W \psi_W - a_E \psi_E = 0 \quad (5.7)$$

La formulation générale de l'équation (5.7) au nœud i et à ses voisins $(i-1)$ et $(i+1)$ est exprimée comme suit :

$$\delta\theta \cdot \vec{u} \cdot \nabla_x \psi_i + a_i \psi_i - a_{i-1} \psi_{i-1} - a_{i+1} \psi_{i+1} = 0 \quad (5.8)$$

Pour évaluer l'équation (5.5) aux bords du volume de contrôle, une différenciation

upwind et des schémas de *power-law* ont été employés en raison de leurs propriétés qui garantissent la conservation du volume de la fonction ψ sur l'ensemble du domaine de solution [211]. Par conséquent, les coefficients a_P, a_W, a_E dans l'équation (5.7) sont déterminés à partir de ces approches et sont donnés par :

$$a_P = a_E + a_W + F_e - F_w$$

$$a_E = D_e \max \left[0, \left(1 - 0.1 \left| \frac{F_e}{D_e} \right| \right)^5 \right] + \max [-F_e, 0]$$

$$a_W = D_w \max \left[0, \left(1 - 0.1 \left| \frac{F_w}{D_w} \right| \right)^5 \right] + \max [F_w, 0]$$

où F_e et F_w représentent le mouvement d'un constituant à la face est et ouest du volume de contrôle, respectivement. Les valeurs F_e et F_w sont déterminées à partir de l'équation de Jeffery (5.6) qui suit :

$$F_e = \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} 0 & W_{12} \\ -W_{12} & 0 \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_e + \\ + \lambda \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} D_{11} & D_{12} \\ D_{12} & -D_{11} \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_e$$

$$F_w = \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} 0 & W_{12} \\ -W_{12} & 0 \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_w + \\ + \lambda \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} D_{11} & D_{12} \\ D_{12} & -D_{11} \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_w.$$

et $D_e = D_w = D_r / \delta\theta$

La largeur du volume de contrôle $\delta\theta$ est donné par $\delta\theta = \pi/30$. À ce stade, un système de 30 équations algébriques est obtenu, résultant de l'équation (5.7), correspondant à 30 valeurs possibles de la fonction ψ sur l'intervalle $[0, \pi]$:

$$\begin{bmatrix} a_i^1 & -a_{i+1} \cdots & \cdots & \cdots & 0 \\ -a_i & a_{i+1} & -a_{i+2} & \cdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \ddots & \cdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & \cdots & \cdots & \cdots & a_i^{30} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \psi_1 \\ \psi_2 \\ \vdots \\ \psi_{29} \\ \psi_{30} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} BC_1 \\ 0 \\ \vdots \\ 0 \\ BC_{30} \end{bmatrix} \quad (5.9)$$

où la partie droite du système (5.9) représente les conditions limites BC_i de chaque volume de contrôle appliquées à l'équation (5.5). Cette condition aux limites est périodique étant donné que la tête et la queue d'un constituant ne sont pas distinguables sur

l'intervalle $[0, \pi]$. Cette condition assure une continuité sans interruption de la fonction ψ le long du demi-cercle $[0, \pi]$, il résulte : $\psi(\theta) = \psi(\theta + \pi)$. En résumé, le système d'équations mentionné ci-dessus est mis en œuvre dans Comsol Multiphysics (v5.6, COMSOL, Inc.) pour résoudre le problème couplé de l'écoulement des hydrogels et de l'orientation des constituants induite par l'écoulement. Il est important de noter que chacune des équations du système (5.9) est un problème d'éléments finis 2D pour le fluide à résoudre. COMSOL Multiphysics offre la possibilité de coupler l'interface d'écoulement laminaire existante avec des interfaces d'équations aux dérivées partielles (PDE). Le système d'équation (5.7) est représenté à l'aide des formes matricielles des coefficients, permettant ainsi une résolution intégrée et cohérente du modèle.

Les résultats de la fonction ψ permettent de connaître la probabilité d'orientation des constituants à chaque point du maillage des éléments finis. Une représentation graphique pratique est nécessaire pour visualiser au mieux les résultats d'orientation sur le maillage de calcul. Cela permettra de rendre les données plus compréhensibles et de faciliter l'interprétation des résultats obtenus concernant l'orientation des constituants. La technique proposée dans ce travail est bien adaptée pour être utilisée avec la description tensorielle et offre une représentation physique relativement simple sous forme d'ellipses d'orientation [212]. En effet, ces ellipses sont directement calculées à partir des fonctions ψ obtenues après simulation en utilisant le tenseur d'orientation du second ordre \mathbf{A} , de la manière suivante :

$$\mathbf{A} = \int_p \vec{p} \vec{p} \psi d\vec{p} \quad (5.10)$$

$$\mathbf{A}\vec{e} = \lambda_v \vec{e} \quad (5.11)$$

$$\begin{bmatrix} A_{11} & A_{12} \\ A_{21} & A_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} e_{11} \\ e_{21} \end{bmatrix} = \lambda_v \begin{bmatrix} e_{11} \\ e_{22} \end{bmatrix}$$

Le vecteur propre \vec{e} calculé à partir du tenseur d'orientation de second ordre \mathbf{A} donnent la longueur et la direction des axes principaux de l'ellipse, et les valeurs propres λ_v donnent le magnitude de l'alignement de l'orientation des constituants le long de ces directions (équation 5.11). Par conséquent, une ellipse d'orientation peut être générée en tant que représentation graphique de l'orientation des constituants permettant d'obtenir une visualisation claire de l'état d'orientation des constituants dans un VER comme illustré à la figure 5.3. Toutes les étapes de post-traitement ont été réalisées grâce à COMSOL LiveLink for MATLAB (v5.6 et R2018a).

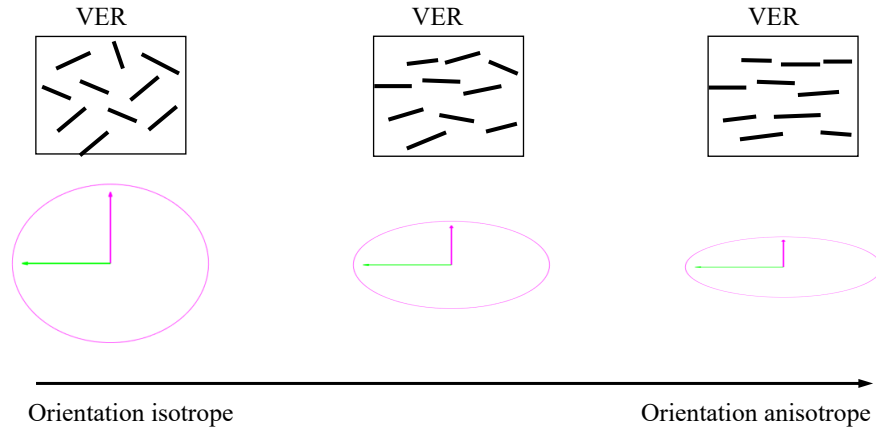


FIGURE 5.3 – Représentation des ellipses d'orientation.

4 Géométries de calcul et conditions aux limites

Ce travail se concentre sur l'étude de quatre géométries 2D de calcul. La première géométrie considérée est un canal plan qui sert de cas d'essai académique pour étudier les performances de la simulation et l'effet qualitatif des paramètres. L'étude des constituants dans un canal plan est un bon exemple pour valider numériquement le modèle. Ensuite, deux type de buses (conique et tubulaire) sont adoptés pour étudier l'influence de la géométrie sur l'orientation des constituants. Finalement, une géométrie plus complexe basée sur un modèle 2D d'une seringue dédiée à la bioimpression 3D avec une buse tubulaire est utilisée. Cette configuration représente une application pratique du modèle, permettant d'étudier l'orientation des constituants dans un contexte réel de bioimpression 3D.

Les géométries et les conditions limites utilisées sont illustrées à la figure 5.4A pour le canal plan, la figure 5.4B et la figure 5.4C pour la buse conique et tubulaire, respectivement, et la figure 5.4D pour la seringue. Le canal plan est constitué d'un rectangle de 4 mm de largeur et de 2 mm de hauteur. Les conditions aux limites (BC) sont : l'entrée BC1 à $x = 0$ mm est fixée à une pression et sera définie pour chaque étude dans le chapitre suivant, la sortie BC2 à $x = 4$ mm est fixée à la pression nulle $P = 0$ Pa. La symétrie axiale peut être utilisée pour réduire les coûts de calcul et conserver la précision physique, de sorte que seule la moitié du domaine doit être prise en compte. Par conséquent, BC4 est de la condition de symétrie définie comme $\vec{u} \cdot \vec{n} = 0$ où \vec{n} est le vecteur normal de la surface. Les buses conique et tubulaire utilisées ont la même longueur de 13 mm et le même diamètre de 200 μm (Optimum®, Nordson EFD, USA). Les conditions aux limites sont les suivantes : l'entrée de la buse BC1' et BC1'' est appliquée d'un débit constant réel d'extrusion de 5 $\mu\text{l/s}$ [113], à la sortie de la buse BC2' et BC2'', une pression nulle est imposée, fixée à 0 Pa. La seringue est constituée d'une buse tubulaire de 30 mm de longueur et d'un diamètre intérieur de 200 μm (Optimum®, Nordson EFD, USA). Les conditions limites sont les suivantes : un débit constant de 5 $\mu\text{l/s}$ est appliqué à l'entrée BC1' afin de générer le processus d'extrusion, cette valeur étant compatible avec la condition de bioimpression dans de nombreuses applications [213]. À la sortie de la buse BC2', une

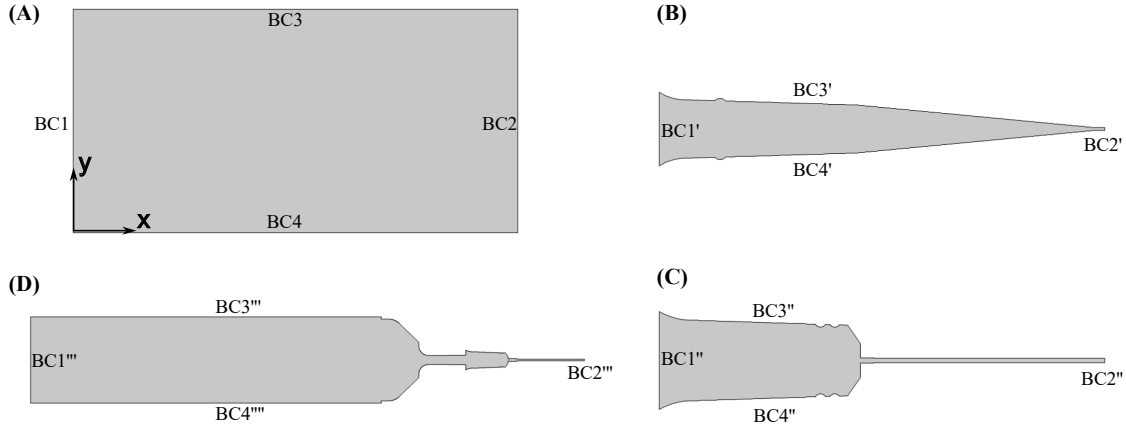


FIGURE 5.4 – Géométries 2D et conditions aux limites. (A) Canal plan - **BC1** : Entrée de pression $P_{in} = 380$ Pa pour le comportement newtonien et Herschel-Bulkley ; $P_{in} = 780$ Pa pour le comportement de Cross and $\psi = 1/\pi$; **BC2** : $P_{out} = 0$ Pa ; **BC3** : glissement nul ; **BC4** : condition symétrique. (B) Buse conique - **BC1'** : $V_{in} = 5 \mu\text{l/s}$ and $\psi = 1/\pi$; **BC2'** : $P_{out} = 0$ Pa ; **BC3'** et **BC4'** : glissement nul. (C) Buse tubulaire - **BC1''** : $V_{in} = 5 \mu\text{l/s}$ and $\psi = 1/\pi$; **BC2''** : $P_{out} = 0$ Pa ; **BC3''** et **BC4''** : glissement nul. (D) Seringue - **BC1'''** : $V_{in} = 5 \mu\text{l/s}$ and $\psi = 1/\pi$; **BC2'''** : $P_{out} = 0$ Pa ; **BC3'''** et **BC4'''** : glissement nul.

pression nulle est imposée, fixée à 0 Pa. Pour les quatre géométries, une condition de paroi sans glissement BC3, BC3', BC3'', BC3''' et BC4', BC4'' et BC4''' est appliquée, ce qui signifie que $\vec{u} = 0$ le long de la paroi. Une étude de sensibilité concernant le maillage d'éléments finis a été menée en utilisant quatre tailles d'éléments : très fin, fin, normal et grossier, afin d'évaluer leur impact sur l'orientation des constituants. Ensuite, toutes les géométries ont été discrétisées avec un maillage fin utilisant des éléments de Lagrange du premier ordre (*shape functions*), comprenant 3323 triangles pour le canal, 7777 pour la buse conique, 5989 pour la buse tubulaire et 19989 triangles pour la seringue.

Nous supposons que les constituants de l'hydrogel peuvent être représentés par des particules rigides, uniformes en longueur et en diamètre [180]. L'étude se limite au cas où la concentration de constituants est spatialement uniforme [181]. C'est-à-dire que le nombre de constituants par unité de volume est uniforme, bien que l'orientation de ces constituants puisse ne pas l'être. De plus, si la fonction du rapport de forme dans l'équation (5.6), $\lambda < 1$, chaque constituant présente un mouvement de rotation type solide rigide dans l'écoulement, ce phénomène est assez difficile à capturer de manière précise dans une solution numérique. Toutefois, si λ est proche de l'unité et le coefficient d'interaction entre des particules $C_I > 0$, le terme d'interaction C_I peut prédominer sur l'effet de rotation, et les statistiques d'orientation calculées ne présenteront pas les oscillations associées à la rotation [214]. Cette approche est adoptée dans notre modèle pour éviter les difficultés numériques liées à la rotation dans un écoulement. Par ailleurs, en fixant $\lambda = 1$, une équation pour le mouvement de petites particules rigides de type haltère [181] est obtenu, ce qui

est cohérent avec notre intérêt de l'orientation des constituants dans l'hydrogel représenté par des haltères. Concernant le coefficient d'interaction, C_I étant empirique, il n'existe aucun moyen de prédire la valeur de C_I . On peut citer les valeurs obtenues par Folgar et Tucker du coefficient d'interaction C_I pour les polyesters, qui sont de l'ordre de 10^{-2} ou 10^{-3} . Ces valeurs ont été obtenues en ajustant le coefficient C_I de manière à ce que les prédictions du modèle théorique, résultant de la résolution de l'équation d'évolution pour la fonction de distribution, correspondent aux mesures de distribution d'orientation expérimentale. Dans ce travail, l'influence ainsi que la signification du coefficient d'interaction sur l'orientation des constituants sera investiguée par une étude paramétrique de C_I , $C_I \in [0.0033; 0.1]$. Enfin, pour l'équation de Fokker-Planck, les constituants sont supposés isotropes, les conditions aux limites BC1 et BC1' pour le canal plan et la seringue étant fixées à $\psi = 1/\pi$, respectivement.

5 Conclusion

Dans ce chapitre, l'équation de Fokker-Planck de l'approche cinétique a été présentée pour résoudre le problème couplé de l'écoulement des hydrogels et l'orientation des constituants dans l'hydrogel. Ensuite, une stratégie numérique a été introduite afin de calculer l'orientation des constituants. L'équation de Fokker-Planck a été discrétisée par la méthode des volumes finis. En effet, la discrétisation unidimensionnelle par volumes finis de l'espace des configurations a permis d'aboutir à un système matriciel (équation 5.9). Il est important de noter que chacune des équations du système matriciel est un problème d'éléments finis 2D pour le fluide à résoudre. Ce système est implémenté dans COMSOL Multiphysics en utilisant l'interface de PDE et l'interface d'écoulement laminaire (CFD) permettant de résoudre simultanément le problème couplé entre l'écoulement de l'hydrogel et l'orientation des constituants. Enfin, quatre géométries de calcul ainsi que les conditions aux limites utilisées ont été décrites. La première géométrie est un canal plan, qui sert de cas d'essai académique. La deuxième et troisième géométrie sont de buse coniques et tubulaires, respectivement pour l'étude de l'influence de ces types de buses sur l'orientation des constituants. La quatrième géométrie est une seringue dédiée à la bioimpression 3D, pour une application pratique. Les résultats numériques et les discussions concernant l'orientation des constituants dans les hydrogels FAG et CHI/CNF caractérisés au chapitre précédent feront l'objet du chapitre suivant.

Chapitre 6

Résultats numériques de l'orientation des constituants

1 Introduction

L'objectif principal du chapitre 6 est d'une part d'illustrer les performances du modèle, et d'autre part d'étudier l'effet de la géométrie d'écoulement, de la rhéologie des hydrogels et des paramètres du modèle sur l'orientation des constituants. La première étude de l'orientation des constituants est un test de *benchmark* pour étudier les performances de la simulation ainsi que l'impact qualitatif des paramètres. Elle consiste en la modélisation de l'écoulement de l'hydrogel de type de Poiseuille à travers un canal plan [212, 215, 216]. La deuxième étude de l'orientation des constituants est une extension vers une géométrie plus complexe. Il s'agit d'un modèle 2D d'une seringue dédiée à la bioimpression 3D, avec une buse tubulaire. Cette configuration représente une application pratique du modèle, permettant ainsi d'étudier l'orientation des constituants dans un contexte réel et potentiellement utile pour la bioimpression 3D. Finalement, une étude sur l'impact d'un paramètre clés du modèle, le coefficient d'interaction C_I est réalisée afin d'étudier l'influence de l'interaction entre les constituants sur leur orientation au cours de l'écoulement. Dans cette étude, une analyse paramétrique du coefficient d'interaction est menée. Enfin, l'influence des géométries de buses qui affectent l'orientation des constituants est également examinée ici en utilisant deux types de buses, à savoir la buse conique et la buse tubulaire.

2 Orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan

Dans de nombreuses études, un fluide newtonien est généralement utilisé afin de simplifier l'analyse de l'écoulement d'un hydrogel. Le comportement newtonien constitue généralement une première approximation pertinente pour étudier l'écoulement d'un fluide que l'on considère, ce qui facilite la simulation. Cette approche permet d'obtenir des résultats

2. Orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan

rapidement, avec un temps de calcul moins coûteux, ce qui en fait une option précieuse pour établir un cas test académique. De plus, le modèle de Jeffery a été développé dans le cadre d'un comportement newtonien. Par conséquent, même si un modèle de fluide newtonien généralisé (FNG) ne représente pas un cas réaliste dans un contexte de bioimpression 3D, il est utile pour étudier les paramètres du modèle sur l'orientation des constituants lors de l'écoulement d'un hydrogel simple, au sens rhéologique du terme et constitue un cas test.

2.1 Étude des profils de vitesse

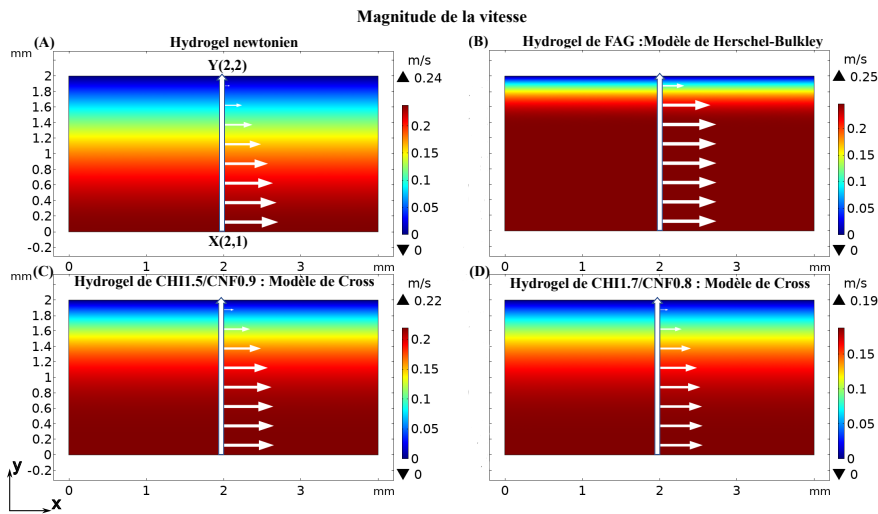


FIGURE 6.1 – Isovaleurs de vitesse. Le profil de vitesse est représenté par des flèches blanches tracées à la ligne blanche au centre du canal. (A) hydrogel newtonien; (B) hydrogel de FAG (modèle de Herschel-Bulkley); (C) et (D) hydrogel de CHI/CNF (modèle de Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement).

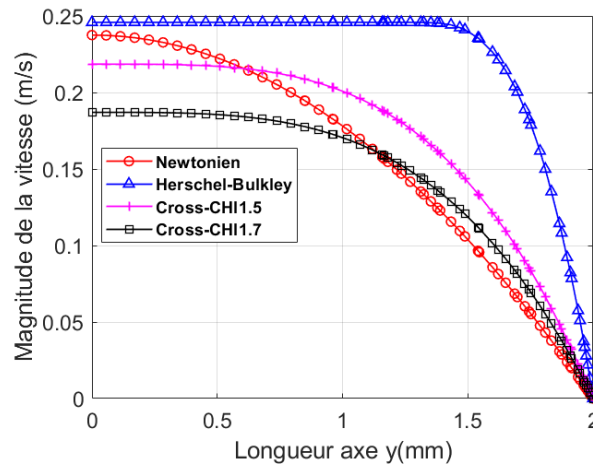


FIGURE 6.2 – Profil de vitesse le long de la ligne blanche au centre du canal, de bas en haut aux points X(2,1) et Y(2,2).

La première étude sur l'orientation des constituants est un test de *benchmark*, à savoir un écoulement de Poiseuille dans un canal plan, l'un des problèmes les plus courants en mécanique des fluides visqueux. La géométrie utilisée est un rectangle de 4 mm de largeur et de 2 mm de hauteur. À l'entrée du canal, une pression est imposée, avec une valeur de 380 Pa pour l'hydrogel newtonien et l'hydrogel de FAG (modèle de Herschel-Bulkley), ainsi que 780 Pa pour l'hydrogel de CHI/CNF (modèle de Cross). À la sortie du canal, la pression nulle est imposée. Le coefficient d'interaction C_I est fixé à 0,01 et le nombre de variables pour la fonction PDF est de $N = 30$.

La figure 6.1 présente la magnitude des vitesses des écoulements, obtenue à partir de la simulation numérique dans le cas test, ainsi que la forme du profil de vitesse illustrée par des flèches blanches au centre du canal. La figure 6.2 représente le profil de vitesse le long de la ligne blanc centrale du canal, allant du bas vers le haut aux points X(2,1) et Y(2,2), c'est-à-dire, elle trace la courbe passant par les extrémités des vecteurs de vitesse des flèches blanches. Les résultats montrent que, dans tous les cas, un écoulement de type Poiseuille complètement développé est observé, avec une vitesse maximale atteinte le long de l'axe axisymétrique du modèle. La vitesse moyenne diminue également à mesure que l'on se rapproche de la paroi du canal (à $y = 2$). Ces observations sont parfaitement cohérentes avec les bases théoriques bien établies concernant les caractéristiques d'un écoulement de type Poiseuille. De plus, pour le comportement newtonien et le comportement de Cross, un profil de vitesse de forme parabolique est observé. La vitesse est nulle au niveau de la paroi (à $y = 2$) en raison de l'adhérence du fluide visqueux, où la condition limite de glissement nul est appliquée. La vitesse maximale est atteinte au centre du canal (à $y = 0$), comme illustré par la figure 6.2. En revanche, dans le cas du comportement de Herschel-Bulkley (figure 6.1B), un profil de vitesse de type *plug* classique est observé. Cela met en évidence la présence d'une contrainte seuil dans l'écoulement de l'hydrogel de FAG. En effet, une zone centrale de type *plug* se forme dans la région où la contrainte de cisaillement est inférieure à la contrainte seuil ($\tau < \tau_0$). Dans cette région, l'hydrogel de type FAG présente une vitesse d'écoulement constante [217], comme illustré par la courbe bleue dans la figure 6.2.

Afin de caractériser le régime d'écoulement des hydrogels à travers le canal plan, le nombre de Reynolds est calculé à partir des simulations numériques (6.1). Les résultats obtenus mettent en évidence que le nombre de Reynolds est faible (dans la plage de $[7,3 \times 10^{-4} - 0,51]$). Étant donné que le nombre de Reynolds est le rapport entre les forces inertielles et les forces visqueuses, ces résultats indiquent clairement que le régime

Hydrogel	Nombre de Re
FNG	0,51
FAG	$2,65 \times 10^{-3}$
CHI1.5/CNF0.9	$7,3 \times 10^{-4}$
CHI1.7/CNF0.8	$7,1 \times 10^{-4}$

TABLEAU 6.1 – Les résultats du nombre de Reynolds dans le cas test.

2. Orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan

d'écoulement des hydrogels est laminaire, où les forces visqueuses prédominent devant les forces inertielles dans le fluide.

2.2 Orientation des constituants en fonction du taux de cisaillement

Afin d'étudier l'orientation des constituants par rapport à la distribution des taux de cisaillement dans le canal, dans cette section, les orientations moyennes des constituants sont calculées pour chaque point du maillage d'éléments finis. La figure 6.3 représente la distribution du taux de cisaillement de l'écoulement dans le canal, sur laquelle les ellipses blanches au premier plan indiquent l'orientation moyenne des constituants.

En effet, bien que le résultat de la fonction ψ permette de connaître la probabilité d'orientation des constituants en chaque point du maillage, il peut être difficile d'obtenir une visualisation rapide et intuitive des résultats d'orientation. Les ellipses d'orientation, en revanche, sont des représentations graphiques réalistes qui facilitent la compréhension et l'interprétation des résultats d'orientation. Comme expliqué au chapitre 5, à partir des résultats de la fonction de probabilité ψ , un tenseur d'orientation \mathbf{A} est calculé en se basant

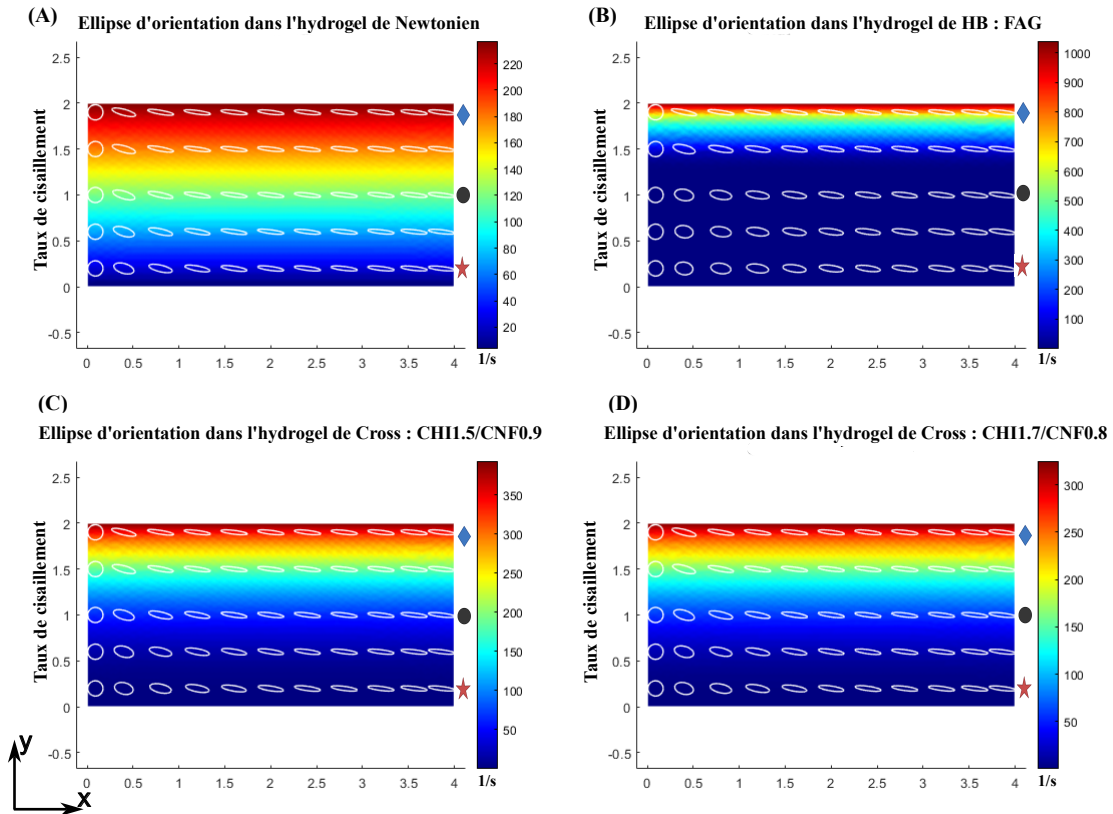


FIGURE 6.3 – Distribution des taux de cisaillement et de l'orientation moyenne des constituants représentée par les ellipses blanches pour le cas test du canal plan en 2D. Avec un coefficient d'interaction $C_I = 0.01$. (A) comportement newtonien ; (B) comportement non newtonien de Herschel-Bulkley (FAG) et (C) et (D) comportement non newtonien de Cross (CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement).

sur la ψ . Ensuite, les valeurs propres et les vecteurs propres du tenseur \mathbf{A} sont calculés, ce qui permet d'obtenir la longueur et la direction des axes principaux de l'ellipse, ainsi que la magnitude de l'alignement de l'orientation des constituants le long de ces directions, respectivement.

Les résultats donnés par la figure 6.3 mettent en évidence l'orientation préférentielle des constituants au centre de chaque ellipse dans le domaine de calcul. Les ellipses en forme de cercle illustrent une orientation isotrope des constituants, qui correspond au BC1 du côté gauche du modèle appliqué à l'équation de Fokker-Planck telle que $\psi = 1/\pi$. Les ellipses sont ensuite aplaties et allongées, montrant un alignement préférentiel indiqué par l'orientation de leur axe principal. Ces ellipses s'alignent progressivement le long de la sortie du canal (direction de l'axe x) vers la direction du flux, mais pas complètement, comme le montre la figure 6.4, le pic de la courbe PDF se produisant autour de $\theta \approx 1,7$ rad. La raison de cette anisotropie, où $\theta \neq \pi/2$, est due à l'interaction entre les constituants, modélisée par le coefficient d'interaction $C_I = 0,01$ qui est non nul. Cet aspect sera analysé dans la section 4. De plus, dans les quatre comportements de l'hydrogel, nous observons que les constituants situés près de la paroi fixe (à $y = 2$), là où la densité du taux de cisaillement est la plus élevée, s'aplatissent rapidement, ce qui indique que les constituants de cette région sont fortement orientés et atteignent rapidement une orientation d'équilibre. Cependant, les constituants situés près de l'axe de symétrie (à $y = 0$), là où la densité du taux de cisaillement est la plus faible, doivent se déplacer vers l'aval, dans le sens de l'écoulement, pour atteindre une orientation d'équilibre. Les résultats numériques mettent en évidence que la distribution du taux de cisaillement dans le canal affecte le degré d'orientation des constituants dans l'hydrogel ainsi que leur équilibre d'orientation.

L'étude de la distribution des taux de cisaillement menée précédemment a mis en évidence un gradient en fonction de la distance par rapport aux parois. Il s'agit donc ici d'étudier l'influence de la distribution des taux de cisaillement sur la distribution de PDF, les figures 6.4A-D illustrent la distribution de PDF allant du taux de cisaillement le plus élevé au taux de cisaillement le plus bas (correspondant du losange bleu, cercle noir et étoile rouge sur la figure 6.3) pour le comportement newtonien, le comportement de Herschel-Bulkley de FAG, le comportement de Cross de CHI1.5/CNF0.9 et de CHI1.5/CNF0.9, respectivement. Pour le comportement newtonien et le comportement de Cross (CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8) illustrés dans les figures 6.4A, C et D, les courbes de la PDF coïncident, ce qui indique que le taux de cisaillement $\dot{\gamma}$ n'a pas d'effet discernable sur l'orientation finale. En revanche, dans le cas du comportement Herschel-Bulkley de FAG, représenté dans la figure 6.4B, deux courbes de la PDF coïncident pour les deux points de taux de cisaillement plus faibles (cercle et étoile), mais au point de taux de cisaillement plus élevé (losange), le degré d'orientation augmente légèrement pour $\theta \approx 1,7$ rad en conservant la tendance générale de l'orientation. Ces résultats indiquent que les taux de cisaillement inférieurs à $10^{-4} s^{-1}$ entraînent une variabilité des constituants pour le comportement de Herschel-Bulkley du FAG.

Pour mieux comparer les quatre comportements rhéologiques correspondant aux quatre

2. Orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan

hydrogels, les figures 6.5A et 6.5B présentent la distribution de la PDF aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, où le gradient du taux de cisaillement est le plus élevé et le

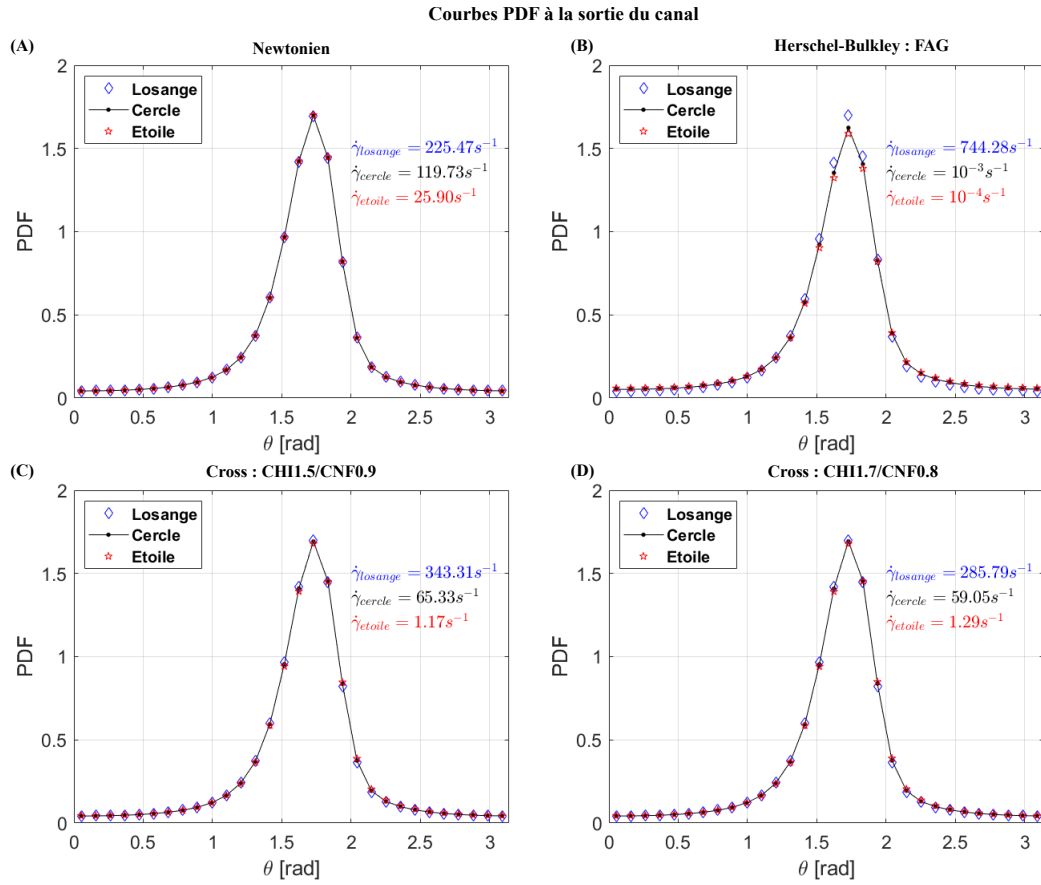


FIGURE 6.4 – Courbes de la PDF d'orientation des constituants aux trois points représentés dans la figure 6.3 : losange bleu, cercle noir et étoile rouge. (A) Comportement newtonien ; (B) Comportement de Herschel-Bulkley ; (C) et (D) Comportement de Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement.

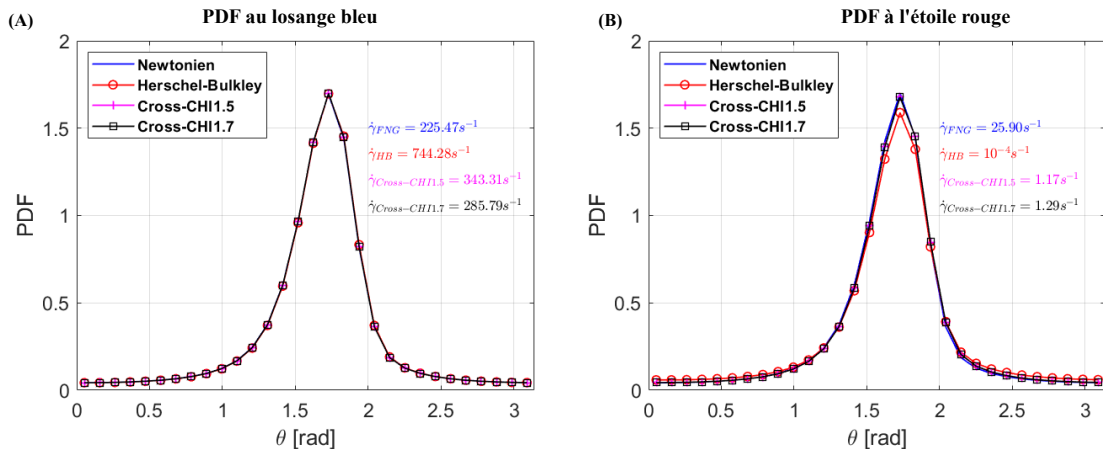


FIGURE 6.5 – Courbes PDF comparées entre le comportement newtonien, Herschel-Bulkley de FAG, Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8 aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, respectivement.

plus faible, respectivement. La figure 6.5A souligne que l'orientation des constituants n'est pas influencée par les comportements rhéologiques des hydrogels au cisaillement plus élevé (à partir de la valeur minimale du taux de cisaillement du newtonien, $\dot{\gamma}_{FNG} = 255,47s^{-1}$).

Une orientation privilégiée le long de la direction d'écoulement, $\theta \approx 1,7$ rad, est observée à la fois pour le comportement newtonien, le comportement de Cross et le comportement de Herschel-Bulkley. Dans ce cas, la valeur moyenne ($\bar{\psi}$) de la PDF par rapport à θ est calculée à l'aide de la formulation 6.1. En effet, la valeur moyenne est un indicateur important pour caractériser le niveau d'une quantité fluctuante, en l'occurrence, la valeur moyenne de la PDF pour les 30 quantités calculées. De plus, l'écart-type (σ) est également calculé en fonction de la valeur moyenne pour indiquer dans quelle mesure les valeurs de la PDF s'écartent de cette moyenne.

$$\bar{\psi}(\vec{x}) = \int \psi(\vec{x}, \theta) d\theta = \delta\theta \sum_{i=1}^N \psi_i. \quad (6.1)$$

où $\delta\theta = N/\pi$ avec $N = 30$, le nombre de variables de la PDF.

Comportement rhéologique	Moyenne $\bar{\psi}$	Écart-type (σ)
Newtonien	1,66	1,32
Herschel-Bulkley (FAG)	1,67	1,31
Cross (CHI1.5/CNF0.9)	1,66	1,31
Cross (CHI1.7/CNF0.8)	1,66	1,31

TABLEAU 6.2 – Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point de losange pour les comportements rhéologiques.

Les résultats du calcul dans le tableau 6.2 montrent que la valeur moyenne ($\bar{\psi}$) par rapport à θ des quatre comportements est presque la même, avec une valeur de $\bar{\psi} = 1,67$ pour le comportement de Herschel-Bulkley et $\bar{\psi} = 1,66$ pour les autres comportements (une différence de 0,6 %). De même, la valeur de l'écart type est également identique, avec $\sigma = 1,32$ pour le comportement newtonien et $\sigma = 1,31$ pour les autres comportements (une différence de 0,8 %). Les résultats calculés dans le tableau 6.2 et les courbes PDF de la figure 6.5A montrent qu'à la sortie du canal, où le taux de cisaillement est plus élevé (à partir de $\dot{\gamma} = 255,47s^{-1}$), la distribution finale des constituants n'est pas affectée par les comportements rhéologiques de l'hydrogel.

Comportement rhéologique	Moyenne $\bar{\psi}$	Ecart-type (σ)
Newtonien	1,66	1,31
Herschel-Bulkley (FAG)	1,67	1,45
Cross (CHI1.5/CNF0.9)	1,67	1,32
Cross (CHI1.7/CNF0.8)	1,67	1,32

TABLEAU 6.3 – Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point d'étoile pour les comportements rhéologiques.

2. Orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan

En revanche, la figure 6.5B présente les courbes PDF au point d'étoile rouge, où le taux de cisaillement est le plus faible (dans la plage de $10^{-4}s^{-1}$ à $25.90s^{-1}$). Les résultats montrent que les trois courbes PDF sont identiques pour le comportement Cross et newtonien (correspondant à des taux de cisaillement de $\dot{\gamma}_{CHI1.5/CNF0.9} = 1.17s^{-1}$, $\dot{\gamma}_{CHI1.7/CNF0.8} = 1.29s^{-1}$ et $\dot{\gamma}_{Ntn} = 25.90s^{-1}$, respectivement). Cela indique que l'orientation finale des constituants n'est pas affectée par le comportement rhéologique à partir de la valeur du taux de cisaillement de $1.17s^{-1}$. Dans ce cas, un alignement ou un degré d'anisotropie plus élevé est obtenu par rapport au comportement Herschel-Bulkley ($\dot{\gamma}_{HB} = 10^{-4}s^{-1}$). La valeur moyenne de la PDF par rapport à θ et l'écart type sont également calculés et présentés dans le tableau 6.3. Dans ce cas, la valeur moyenne de la PDF est assez similaire ($\bar{\psi} = 1,66$ pour le comportement newtonien et $\bar{\psi} = 1,67$ pour les autres), mais une différence est clairement visible dans la valeur de l'écart type. Le comportement de Herschel-Bulkley donne le plus grand écart type avec $\sigma = 1,45$ par rapport au comportement newtonien ($\sigma = 1,31$) et au comportement de Cross ($\sigma = 1,32$). Cela signifie que les valeurs de PDF dans le comportement HB sont plus dispersées autour de la valeur moyenne, conduisant à une diminution de l'anisotropie des constituants, avec une différence de l'écart-type d'environ 11 % par rapport à l'anisotropie du comportement newtonien.

Les résultats de l'étude de cas test mettent en évidence que la distribution des taux de cisaillement a une influence sur l'orientation des constituants. Près de la paroi (à $y = 2$), où le taux de cisaillement est plus élevé, les constituants s'alignent progressivement le long de la direction d'écoulement et atteignent l'état d'équilibre plus rapidement que les constituants situés là où le taux de cisaillement est le plus faible (près de l'axe symétrique à $y = 0$). En sortie du canal, l'orientation des constituants est étudiée en trois points : losange, cercle et étoile, correspondant du taux de cisaillement le plus élevé au taux de cisaillement le plus bas. À partir d'un taux de cisaillement de $1,17s^{-1}$, l'orientation finale des constituants ne dépend plus des comportements rhéologiques de l'hydrogel. Cependant, uniquement pour les taux de cisaillement inférieurs à $10^{-4}s^{-1}$ dans le cas du comportement de Herschel-Bulkley, une diminution de l'anisotropie des constituants est observée (diminution d'environ 11 % par rapport aux autres comportements). Pour nous rapprocher des conditions expérimentales, un modèle géométrique représentatif d'une seringue utilisée pour la bioimpression de TEC sera étudié dans la section 3.

2.3 Étude de la sensibilité du maillage d'éléments finis sur l'orientation des constituants

L'investigation finale du cas de test porte sur la sensibilité du maillage d'éléments finis à l'orientation des constituants. Une analyse de la PDF en trois points différents (losange bleu, cercle noir et étoile rouge, comme décrits plus haut) a été réalisée dans le cas du comportement newtonien en utilisant quatre tailles de maillages d'éléments finis : plus fin, fin, normal et grossier. Ces quatre tailles de maillage sont paramétrées par défaut dans Comsol Multiphysics et le nombre de triangles est présenté dans le tableau 6.4.

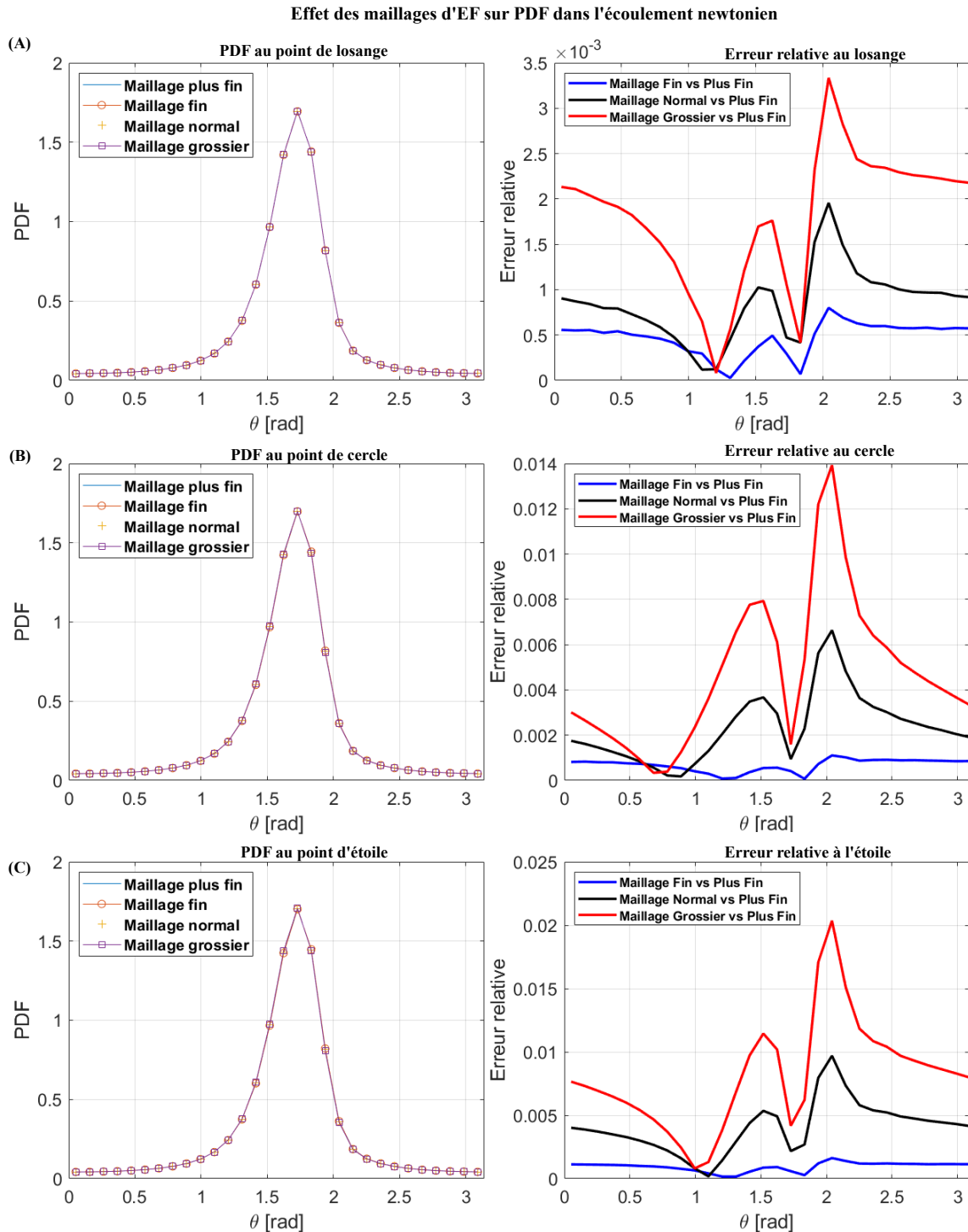


FIGURE 6.6 – Analyse de la sensibilité de quatre types de maillages d'éléments finis sur l'orientation des constituants dans l'écoulement newtonien. (A) PDF au point de losange ; (B) PDF au point de cercle ; (C) PDF au point d'étoile.

Pour étudier la sensibilité du maillage d'éléments finis sur l'orientation des constituants, les paramètres de simulation sont maintenus constants, notamment les conditions aux limites (entrée à pression fixe $P_{in} = 380$ Pa, sortie à pression $P_{out} = 1$ atm), le coefficient

2. Orientation des constituants dans un écoulement de Poiseuille à travers un canal plan

d'interaction $C_I = 0,01$ et le nombre de variables pour la fonction PDF qui reste $N = 30$. La solution de la PDF du maillage le plus fin est considérée comme la solution de référence. La figure 6.6 à gauche présente la distribution de l'orientation des constituants pour différents maillages d'éléments finis, tandis que la figure 6.6 à droite montre les erreurs relatives pour les autres maillages (fin, normal, grossier) par rapport à la solution de référence (maillage le plus fin). La superposition complète des courbes de la PDF aux trois points évalués indique que le type de maillage n'a aucun impact sur l'orientation finale des constituants. La moyenne et l'écart type de la PDF ont été calculés. Les résultats montrent qu'aux trois points de calcul : losange, cercle et étoile, la valeur moyenne de la PDF et l'écart type sont identiques à $\bar{\psi} = 1,66$ et $\sigma = 1,32$, respectivement.

De plus, la figure 6.6 à droite présente les courbes d'erreurs relatives de la PDF pour les maillages fin, normal et grossier par rapport à la solution de référence (maillage le plus fin). Les résultats mettent en évidence que le maillage fin présente la plus faible perturbation par rapport le maillage normal et grossier. Plus précisément, la formulation 6.2 permet de calculer les erreurs relatives de la PDF pour les maillages :

$$E_{rr} = \frac{|\psi_M - \psi_{ref}|}{\psi_{ref}}. \quad (6.2)$$

où

ψ_M est la solution de la PDF dans chaque maillage fin, normal et grossier ;

ψ_{ref} est la solution de référence de la PDF du maillage le plus fin.

Maillage	Nombre de triangles	Temps de calcul	E_{rr} maximal au losange	E_{rr} maximal au cercle	E_{rr} maximal à l'étoile
Fin	6637	4 min 4s	0,08	0,11	0,16
Normal	3323	2 min	0,20	0,66	0,97
Grossier	1677	1 min 2s	0,33	1,40	2,04

TABLEAU 6.4 – Erreur relative maximale des maillages fin, normal et grossier par rapport au maillage le plus fin.

Les résultats présentés dans le tableau 6.4 montrent l'erreur relative maximale des maillages fin, normal et grossier par rapport au maillage de référence (le maillage le plus fin). Pour le point de losange, l'erreur relative du maillage fin est de 0,08, ce qui équivaut à 8 %. Cela signifie que le maillage fin est précis à 92 % par rapport au maillage de référence. En revanche, les erreurs du maillage normal et grossier sont de 0,20 et 0,33, ce qui correspond à des précisions de 80 % et 67 % par rapport au maillage de référence, respectivement. Ainsi, le maillage fin présente la plus grande précision, avec 92 %.

Pour le point de cercle, l'erreur relative du maillage fin est de 0,11, soit 11%. Cela signifie que le maillage fin est précis à 89 % par rapport au maillage de référence. En revanche, les erreurs du maillage normal et grossier sont de 0,66 (soit 66 %) et 1,40 (soit 140 %), respectivement. Cela indique que le maillage normal est précis à 34 % par rapport au maillage de référence, tandis que le maillage grossier présente une imprécision de -40 %,

ce qui signifie que la valeur calculée dans ce maillage est bien inférieure à celle attendue par rapport au maillage de référence. Ainsi, le maillage fin est le plus précis, avec une précision de 89 %.

Pour le point d'étoile, l'erreur relative du maillage fin est de 0,16, soit 16 %. Cela signifie que le maillage fin est précis à 84 % par rapport au maillage de référence. En revanche, les erreurs du maillage normal et grossier sont de 0,97 (soit 97 %) et 2,04 (soit 204 %), respectivement. Cela indique que le maillage normal est précis à 3 % par rapport au maillage de référence, tandis que le maillage grossier présente une imprécision de -104 %. Ainsi, le maillage fin est le plus précis, avec une précision de 84 %.

Les résultats des études de sensibilité des maillages indiquent clairement que le maillage fin offre la plus grande stabilité de calcul et la plus grande précision par rapport aux maillages normaux et grossiers. Par conséquent, le maillage fin est retenu pour tous les calculs d'orientation des constituants.

3 Orientation des constituants dans les hydrogels à travers une seringue lors du procédé d'extrusion

Afin de prédire l'orientation des constituants dans l'hydrogel lors de la bioimpression 3D par extrusion, il est essentiel de simuler des conditions d'impression similaires à celles d'un processus expérimental. C'est la raison pour laquelle un modèle numérique basé sur les conditions réelles d'extrusion a été mis en place. Dans cette section, l'étude de l'orientation des constituants sera effectuée en utilisant la géométrie d'une seringue à buse tubulaire de 200 μm de diamètre interne. Tous les paramètres d'extrusion, similaires à ceux que l'on rencontre dans le processus d'élaboration d'un construit d'ingénierie tissulaire, sont décrits en détail dans la section 4 du chapitre 5 afin d'éviter la mort cellulaire [113]. L'étude d'orientation des constituants est menée pour les quatre comportements rhéologiques correspondant aux quatre hydrogels caractérisés dans le cadre de ce travail, à l'exception du comportement newtonien qui correspond à une base de référence, comme dans le cas test du canal plan : le comportement rhéologique newtonien, comportement rhéologique de Herschel-Bulkley pour FAG et comportement rhéologique de Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement.

Les résultats de simulation sont représentés sur la figure 6.7 où la couleur d'arrière-plan correspond à la distribution du taux de cisaillement et les ellipses au premier plan représentent l'orientation moyenne des constituants. Une fois encore, les ellipses en forme de cercle à l'entrée illustrent l'orientation isotrope des constituants appliqués à l'équation de Fokker-Planck, qui correspond au BC1' du côté gauche du modèle appliqué à l'équation de Fokker-Planck, de sorte que $\psi = 1/\pi$ pour les quatre comportements rhéologiques. Les ellipses sont ensuite aplaties et allongées, montrant un alignement préférentiel indiqué par l'orientation de leur axe principal. Ces ellipses s'alignent progressivement le long de la direction d'extrusion (la direction de l'écoulement), mais pas complètement *i.e.* $\theta \neq \pi/2$. La raison de ce phénomène est due à l'interaction entre les constituants modélisée par le

3. Orientation des constituants dans les hydrogels à travers une seringue lors du procédé d'extrusion

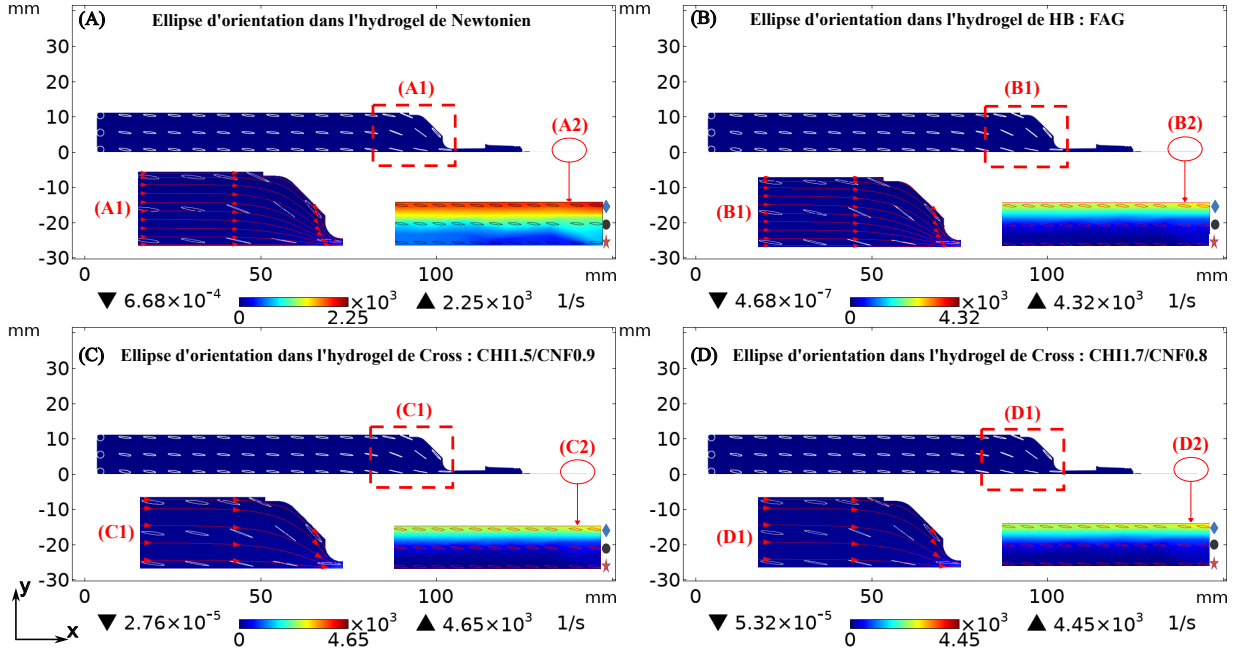


FIGURE 6.7 – Distribution du taux de cisaillement dans une seringue à buse tubulaire avec un coefficient d'interaction $C_I = 0.01$. L'orientation moyenne des constituants est représentée par les ellipses. (A) comportement newtonien; (B) comportement non newtonien de Herschel-Bulkley (FAG) et (C) et (D) comportement non newtonien de Cross (CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement).

coefficient d'interaction $C_I = 0,01$ qui est non nul comme précédemment discuté dans la section 2 pour le cas test du canal plan. De plus, dans les figures 6.4A1, B1, 1 et D1, à proximité du rétrécissement de la seringue, on observe que les constituants s'écartent davantage des lignes de courant représentées par des flèches rouges par rapport au côté gauche. Ce phénomène est dû à l'effet de venturi dans cette zone, ce qui génère un petit tourbillon qui affecte l'orientation des constituants, entraînant ainsi une déviation par rapport aux lignes de courant [218]. Ensuite, près de la constriction de la seringue, le long de la ligne centrale, les constituants s'alignent dans la direction d'extrusion [219]. Par ailleurs, l'orientation des constituants près de la sortie de la seringue est représentée dans les zones A2, B2, C2 et D2. Les résultats montrent qu'une orientation privilégiée est observée pour les quatre comportements rhéologiques, les constituants s'alignent le long de la direction d'extrusion, mais pas complètement $\theta \neq \pi/2$. Comme dans l'étude du test cas de la section précédente, l'observation selon laquelle les constituants ne sont pas complètement orientés dans la direction d'extrusion est due au coefficient d'interaction non nul entre les constituants *i.e.* $C_I = 0,01$. Cette problématique sera analysée dans la prochaine section, lors de l'étude du paramètre C_I .

Les figures 6.8A-D illustrent l'influence des niveaux de taux de cisaillement sur l'orientation des constituants à la sortie de la seringue lors du processus d'extrusion permettant une analyse quantitative et une comparaison entre les quatre comportements rhéologiques. La distribution de PDF du taux de cisaillement le plus élevé au taux de cisaillement le

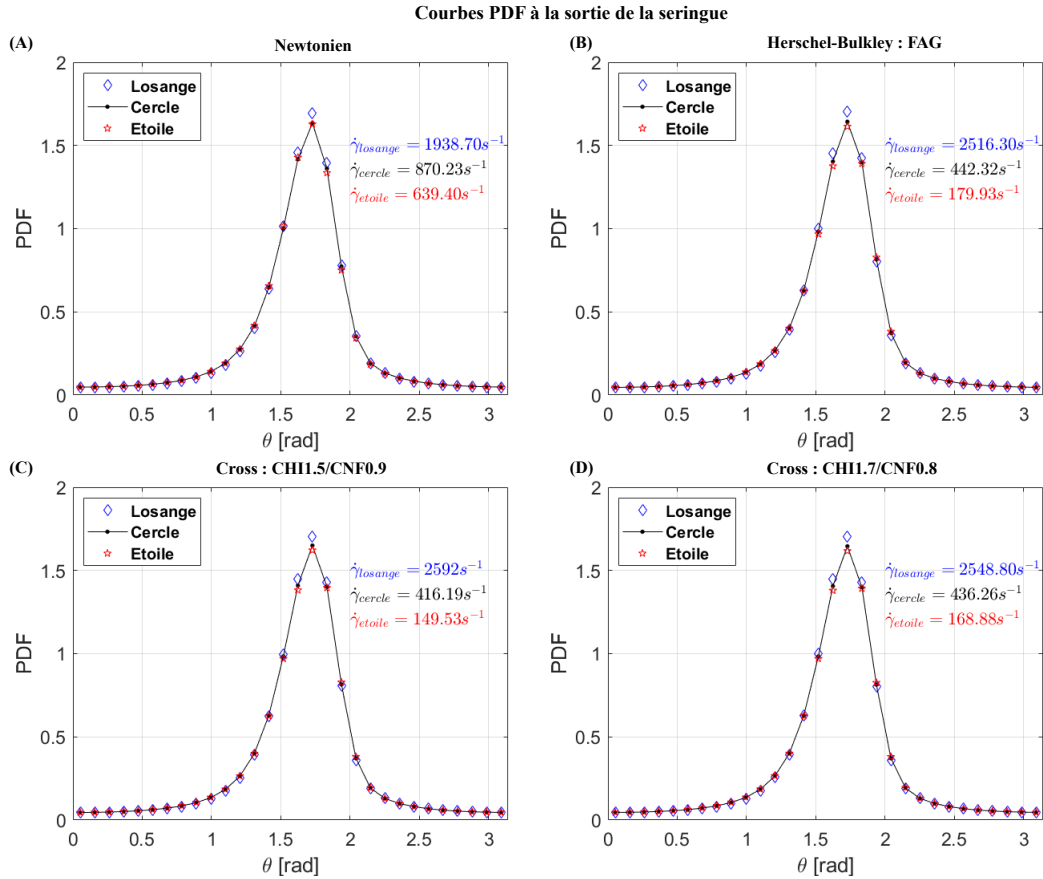


FIGURE 6.8 – Courbes de la PDF d'orientation des constituants aux trois points représentés dans la figure 6.7 : losange bleu, cercle noir et étoile rouge. (A) Comportement newtonien ; (B) Comportement de Herschel-Bulkley ; (C) et (D) Comportement de Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et CHI1.7/CNF0.8, respectivement.

plus bas (correspondant du losange bleu, cercle noir et étoile rouge sur la figure 6.7) pour le comportement newtonien, le comportement de Herschel-Bulkley de FAG, le comportement de Cross de CHI1.5/CNF0.9 et de CHI1.5/CNF0.9 respectivement. Les courbes de comparaison de la PDF à la sortie de la seringue sont présentées sur la figure 6.8.

Les résultats des courbes PDF dans la figure 6.8 mettent en évidence une orientation strictement identique des constituants entre les quatre comportements rhéologiques. Contrairement au cas test (figure 6.4) du point du losange bleu où le taux de cisaillement est le plus élevé, les constituants sont légèrement plus alignés vers la direction de l'extrusion par rapport aux constituants soumis à un taux de cisaillement plus faible (la moyenne et l'écart-type au point losange bleu du cas test sont 1,66 et 1,32, respectivement, tandis que ceux du cas de la seringue sont 1,66 et 1,34). De plus, les différences entre les valeurs de la PDF au niveau du point de losange bleu sont négligeables, mais il est intéressant de noter qu'elles sont de l'ordre de grandeur de celles observées dans la figure 6.4, en particulier en ce qui concerne les valeurs de taux de cisaillement. Pour le comportement newtonien, on observe une augmentation d'un ordre de grandeur du taux de cisaillement à la sortie de la seringue par rapport à celui dans le canal ($\dot{\gamma}_{\text{seringue}} = 1938.70s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{\text{canal}} = 225.47s^{-1}$).

3. Orientation des constituants dans les hydrogels à travers une seringue lors du procédé d'extrusion

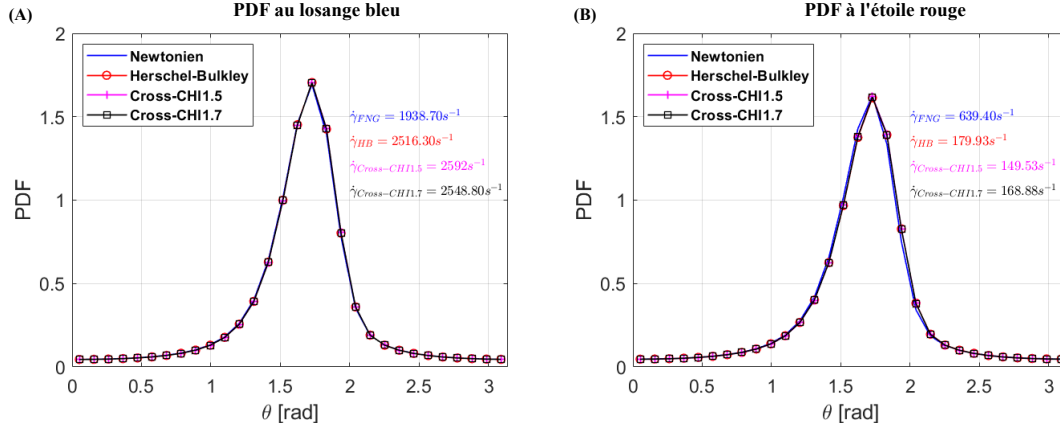


FIGURE 6.9 – Courbes PDF comparées entre le comportement newtonien, Herschel-Bulkley de FAG, Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8 aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, respectivement.

Concernant le comportement de Herschel-Bulkley pour l'hydrogel de FAG, il y a une augmentation quasiment un facteur trois du taux de cisaillement à la sortie de la seringue par rapport à celui dans le canal ($\dot{\gamma}_{seringue} = 2516.30s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{canal} = 744.28s^{-1}$). En ce qui concerne le comportement de Cross pour les deux hydrogels de CHI, il y a une augmentation d'environ un ordre de grandeur du taux de cisaillement à la sortie de la seringue par rapport à celui dans le canal ($\dot{\gamma}_{seringue} = 2592s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{canal} = 343.31s^{-1}$).

Afin de faciliter l'étude de l'influence du comportement rhéologique, la figure 6.9 présente une comparaison de l'orientation des constituants entre les quatre comportements rhéologiques aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, où le gradient du taux de cisaillement est le plus élevé et le plus faible, respectivement. Les résultats des courbes de la PDF mettent en évidence que le comportement de l'hydrogel n'affecte pas la distribution de l'orientation des constituants. Une orientation privilégiée des constituants est observée à la sortie de la seringue. La plupart des constituants s'alignent vers la direction d'extrusion à $\theta \approx 1.7$ rad. La PDF moyenne et l'écart-type calculés aux points de losange et d'étoile sont présentés dans le tableau 6.5. Les résultats montrent que les comportements rhéologiques des hydrogels donnent la PDF moyenne similaire. Une légère différence dans l'écart type au point d'étoile, $\sigma_{étoile} = 1,36$ par rapport à $\sigma_{losange} = 1,34$ au point de

Comportement rhéologique	Moyenne $\bar{\psi}$		Ecart-type σ	
	Losange	Etoile	Losange	Etoile
Newtonien	1,66	1,65	1,34	1,36
Herschel-Bulkley (FAG)	1,66	1,66	1,34	1,36
Cross (CHI1.5/CNF0.9)	1,66	1,66	1,34	1,36
Cross (CHI1.7/CNF0.8)	1,66	1,66	1,34	1,36

TABLEAU 6.5 – Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point de losange et d'étoile pour les comportements rhéologiques.

losange, entraîne une légère anisotropie des constituants, mais pas de manière significative (seulement environ 1,5 %). Cela peut s'expliquer par le fait que le niveau du taux de cisaillement est inférieur d'un ordre de grandeur au point d'étoile par rapport au point de losange.

L'étude de l'orientation des constituants dans des conditions réelles d'impression par extrusion est très utile et fournit un aperçu de la relation entre l'orientation des constituants, les conditions d'impression et le comportement rhéologique des hydrogels. Les résultats de la simulation montrent que lorsque des conditions d'extrusion sont appliquées (un débit d'entrée de 5 $\mu\text{l/s}$, et une pression de sortie nulle), l'orientation finale des constituants à la sortie de la seringue ne dépend plus du comportement rhéologique de l'hydrogel à partir d'un taux de cisaillement minimal de $149,53\text{s}^{-1}$ (figure 6.9B). Il convient de rappeler les résultats du cas test de la section 2, où même à partir d'un taux de cisaillement de $1,17\text{s}^{-1}$, l'orientation finale des constituants a surmonté le comportement rhéologique de l'hydrogel.

Cependant, les propriétés rhéologiques des hydrogels influencent la distribution des contraintes de cisaillement lors de l'impression. Même si, dans le cadre de cette thèse, les hydrogels utilisés ne contiennent pas de cellules, en réalité, la contrainte de cisaillement pendant l'impression est un facteur essentiel pour la survie cellulaire [220]. À titre d'exemple, l'étude menée par Lemarie *et al.*, [113] a examiné la relation entre la contrainte de cisaillement résultant de l'impression par extrusion et la survie des cellules fibroblastes. Leurs résultats indiquent que, dans des conditions d'extrusion réalistes, la contrainte de cisaillement maximale dans la buse tubulaire atteignait 5 687 Pa, conduisant à une population cellulaire viable d'environ 85 %. Comme mentionné précédemment dans ce travail, le niveau de taux de cisaillement est limité par le processus expérimental de bioimpression 3D basé sur l'extrusion pour éviter la mort cellulaire. Les résultats de simulation obtenus dans cette étude sont donc assez similaires à ceux de Lemarie. La distribution des contraintes de cisaillement dans l'hydrogel FAG varie de 1 790 Pa à 5 761 Pa, tandis que celle de l'hydrogel CHI/CNF varie de 269 Pa à 803 Pa.

Comme le montrent les résultats de simulation dans le cas test du canal et l'impression par extrusion réelle dans une seringue, les constituants ont tendance à s'aligner le long de la direction d'extrusion à un angle proche de $\pi/2$, mais pas complètement. Cette observation peut être expliquée par l'influence du coefficient d'interaction C_I dans le modèle de Folgar-Tucker (équation 5.5). Conformément aux prédictions du modèle Folgar-Tucker, des valeurs non nulles de C_I ont tendance à aléatoirement orienter les constituants, ce qui empêche leur alignement complet le long de l'extrusion. Par conséquent, il est particulièrement intéressant d'étudier l'influence du coefficient d'interaction C_I dans la modélisation numérique pour prédire les orientations potentielles des constituants. Cette étude sera présentée dans la section suivante.

4 Influence du coefficient d'interaction C_I sur l'orientation des constituants

4.1 Influence du coefficient C_I sur l'orientation des constituants dans le cas test du canal plan

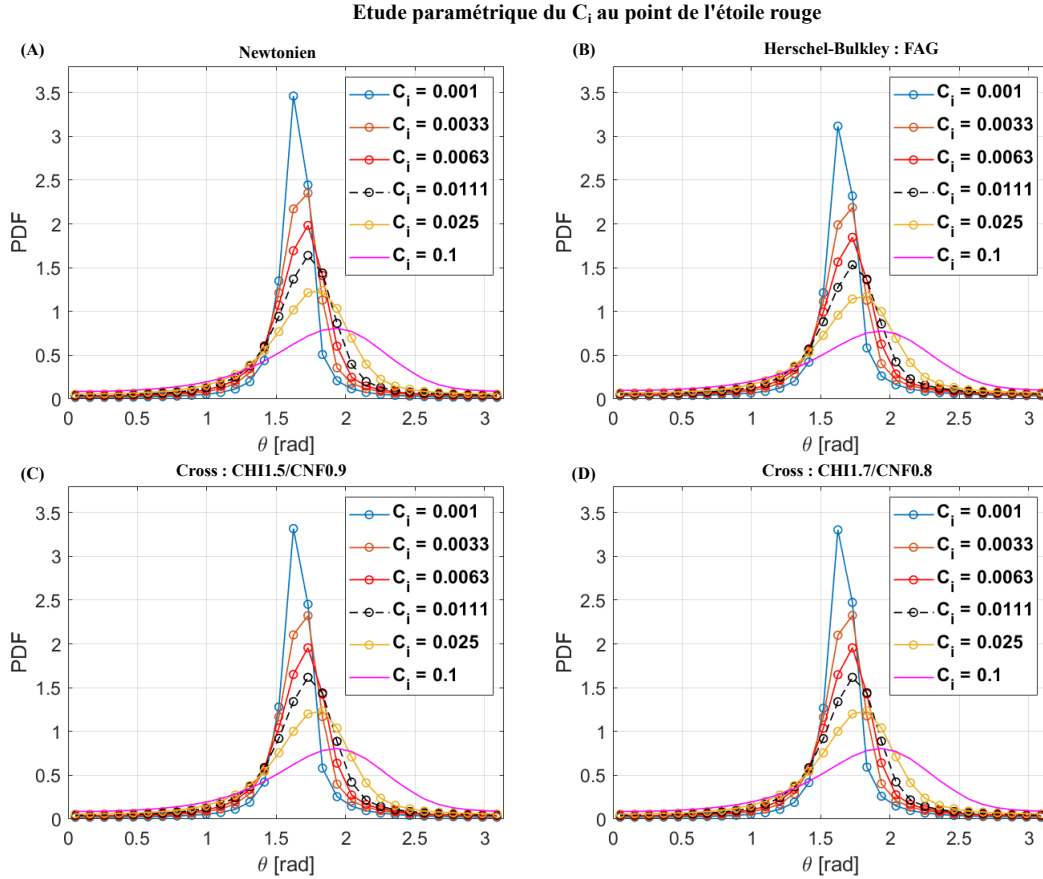


FIGURE 6.10 – Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge du canal plan représenté dans la figure 6.3. La PDF est calculée avec $C_I \in [0,001 ; 0,1]$ pour (A) le comportement newtonien ; (B) le comportement Herschel-Bulkley de FAG ; (C) et (D) le comportement Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8, respectivement.

Dans l'équation de Fokker-Planck (équation 5.5), l'interaction entre les constituants est exprimée par le coefficient d'interaction C_I . Ce coefficient décrit par Folgar et Tucker permet de prendre en compte l'interaction entre les constituants en régime non diluée comme dans les hydrogels visqueux utilisés dans cette étude. Les travaux de Folgar et Tucker [180] ont mis en évidence que l'orientation des constituants tend vers une isotropie d'orientation avec une augmentation de C_I . Les résultats obtenus à partir du modèle développé sont cohérents avec ceux de Folgar et Tucker, comme l'illustre l'orientation des ellipses tracées dans la figure 6.3, qui ne s'alignent pas parfaitement le long des lignes de courant pour une valeur fixe de $C_I = 0,01$. Par conséquent, une étude paramétrique de C_I a été réalisée dans ce travail afin d'évaluer l'effet du coefficient d'interaction C_I sur la

prédiction de l'orientation des constituants.

La figure 6.10 présente une étude paramétrique du coefficient d'interaction C_I pour les comportements rhéologiques, à savoir le comportement newtonien, Herschel-Bulkley pour l'hydrogel de FAG, et Cross pour l'hydrogel de CHI/CNF. Cette étude est menée au point de l'étoile rouge représenté à la figure 6.3. Il convient de noter que les résultats de simulation dans le cas test ont montré que, avec la valeur fixe $C_I = 0,01$, l'orientation finale des constituants n'est plus influencée par le comportement rhéologique de l'hydrogel au point de losange, où le taux de cisaillement est le plus élevé (ce résultat est illustré dans la figure 6.5A). Par conséquent, dans cette section, l'étude paramétrique de C_I est menée au point de l'étoile rouge, où le taux de cisaillement est le plus faible.

Les résultats illustrés dans la figure 6.10 soulignent que l'augmentation du coefficient d'interaction C_I induit une distribution de la PDF plus large et plus dispersée, conduisant à une anisotropie moins prononcée de l'orientation des constituants pour tous les comportements rhéologiques (newtonien, Herschel-Bulkley pour FAG, Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et Cross pour CHI1.5/CNF0.9). L'orientation des constituants θ passe de $\approx \pi/2$ à $3\pi/4$ lorsque C_I augmente de 0,001 à 0,1.

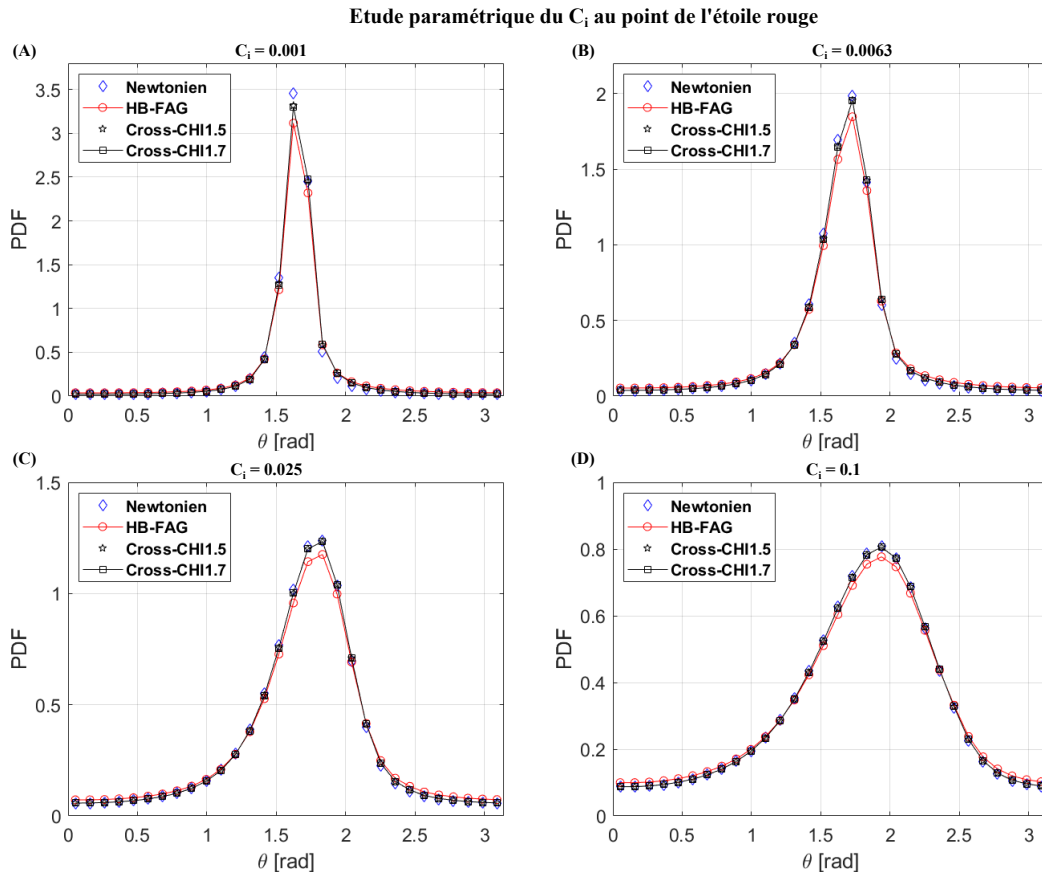


FIGURE 6.11 – Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge du canal plan représenté dans la figure 6.3. Les courbes PDF sont comparées entre les comportements aux quatre valeurs de C_I . (A) $C_I = 0,001$; (B) $C_I = 0,0063$; (C) $C_I = 0,025$ et (D) $C_I = 0,1$.

Pour étudier l'influence du comportement de l'hydrogel, une comparaison a été effectuée au point étoile rouge pour les quatre comportements rhéologiques avec un coefficient C_I fixé, à savoir 0.001, 0.0063, 0.025, et 0.1, respectivement, comme illustré à la figure 6.11. Les résultats indiquent qu'avec le coefficient d'interaction le plus petit, $C_I = 0,001$ (figure 6.11A), l'anisotropie des constituants est la plus élevée. Dans ce cas, les constituants ont tendance à s'orienter dans la direction de l'extrusion, c'est-à-dire dans la direction de l'écoulement, avec $\theta = \pi/2$ rad. À mesure que C_I augmente, l'anisotropie des constituants diminue, et les constituants ne sont plus orientés dans la direction de l'extrusion, c'est-à-dire $\theta \neq \pi/2$ rad. Dans tous les cas, les comportements de newtonien et de Cross présentent une anisotropie légèrement plus élevée que le comportement de Herschel-Bulkley.

Comportement rhéologique	CI = 0,001		CI=0,0063		CI=0,025		CI=0,1	
	$\bar{\psi}$	σ	$\bar{\psi}$	σ	$\bar{\psi}$	σ	$\bar{\psi}$	σ
Newtonien	1,63	0,88	1,65	1,21	1,69	1,52	1,76	1,88
Herschel-Bulkley (FAG)	1,64	1,12	1,66	1,37	1,69	1,63	1,76	1,95
Cross (CHI1.5/CNF0.9)	1,64	0,92	1,66	1,23	1,70	1,52	1,76	1,89
Cross (CHI1.7/CNF0.8)	1,64	0,92	1,66	1,23	1,70	1,52	1,77	1,89

TABLEAU 6.6 – Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point d'étoile pour chaque coefficient d'interaction donné.

Plus précisément, le tableau 6.6 présente la valeur moyenne de la PDF par rapport θ et l'écart-type dans chaque cas du coefficient C_I . Les résultats montrent que lorsque C_I est fixe, les valeurs moyennes de PDF sont similaires pour tous les comportements rhéologiques. Cependant, le comportement de Herschel-Bulkley présente le plus grand écart type par rapport au comportement newtonien et Cross. Le fait que la valeur de l'écart type soit plus grande pour Herschel-Bulkley signifie que les valeurs de PDF dans ce comportement sont plus dispersées autour de la moyenne, ce qui conduit à une anisotropie réduite des constituants. Par exemple, lorsque $C_I = 0,001$, $\sigma_{HB} = 1,12$ par rapport à $\sigma_{Ntn} = 0,88$, représentant un écart de 27 %; lorsque $C_I = 0,0063$, $\sigma_{HB} = 1,37$ par rapport à $\sigma_{Ntn} = 1,21$, représentant un écart de 13 %; lorsque $C_I = 0,025$, $\sigma_{HB} = 1,63$ par rapport à $\sigma_{Ntn} = 1,52$, représentant un écart de 7 % et lorsque $C_I = 0,1$, $\sigma_{HB} = 1,95$ par rapport à $\sigma_{Ntn} = 1,89$, représentant un écart de 4 %. De plus, il est intéressant de noter que lorsque le comportement rhéologique de l'hydrogel reste le même, les coefficients de C_I varient de faible à élevé dans la plage $C_I = [0,001 - 0,1]$. La valeur moyenne minimale de la PDF est obtenue pour le comportement newtonien à $C_I = 0,001$ avec $\bar{\psi} = 1,63$, tandis que la valeur moyenne maximale de la PDF est obtenue pour le comportement Cross à $C_I = 0,1$ avec $\bar{\psi} = 1,77$, soit un écart de 8,6 %. De même, la valeur minimale de l'écart-type est obtenue pour le comportement newtonien à $C_I = 0,001$ avec $\sigma = 0,88$, tandis que la valeur maximale de l'écart-type est obtenue pour le comportement Herschel-Bulkley à $C_I = 0,1$ avec $\sigma = 1,95$, soit un écart de 121,6 %.

Les résultats de l'étude paramétrique de C_I dans le cas test mettent en évidence que C_I joue un rôle central sur l'orientation des constituants. À mesure que le coefficient C_I

augmente, les valeurs moyennes de PDF et l'écart-type augmentent également, ce qui signifie que les courbes PDF deviennent plus larges et plus dispersées, conduisant à une anisotropie moins prononcée de l'orientation des constituants pour tous les comportements rhéologiques. En outre, les résultats soulignent que le comportement rhéologique du FAG présente toujours une anisotropie inférieure à celle des propriétés rhéologiques du newtonien et du Cross. Dans la section suivante, une étude paramétrique de C_I sur l'orientation des constituants est réalisée dans le cas de l'application de conditions réelles d'extrusion dans une seringue.

4.2 Influence du coefficient C_I sur l'orientation des constituants dans le cas de la seringue

Une étude paramétrique du coefficient d'interaction C_I a été réalisée au point de l'étoile rouge, comme indiqué dans la figure 6.12. Conformément à la littérature [180], et suite à l'étude précédente sur le canal plan, les constituants sont plus susceptibles d'être alignés avec de petites valeurs de C_I . Lorsque C_I augmente, la distribution de la PDF devient plus

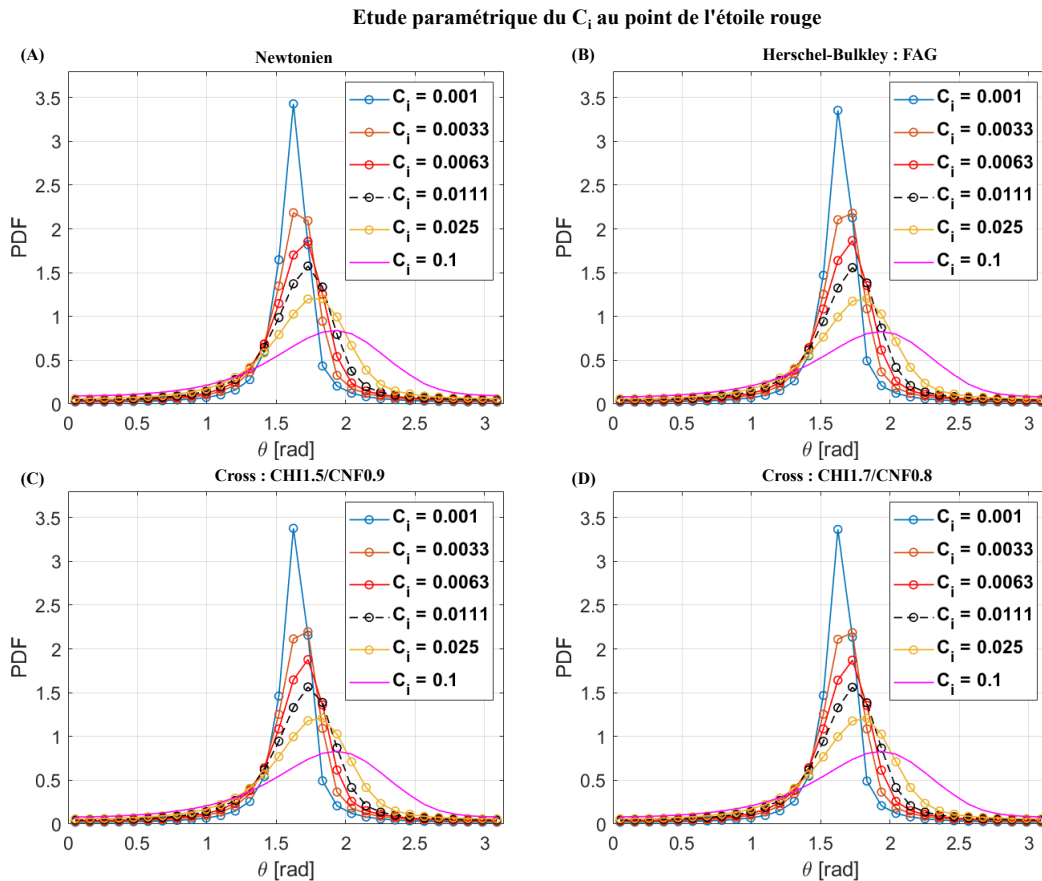


FIGURE 6.12 – Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge de la seringue à buse tubulaire représenté dans la figure 6.7. La PDF est calculée avec $C_I \in [0.001; 0.1]$ pour (A) le comportement newtonien; (B) le comportement Herschel-Bulkley de FAG; (C) et (D) le comportement Cross de CHI1.5/CNF0.9 et Cross de CHI1.7/CNF0.8, respectivement.

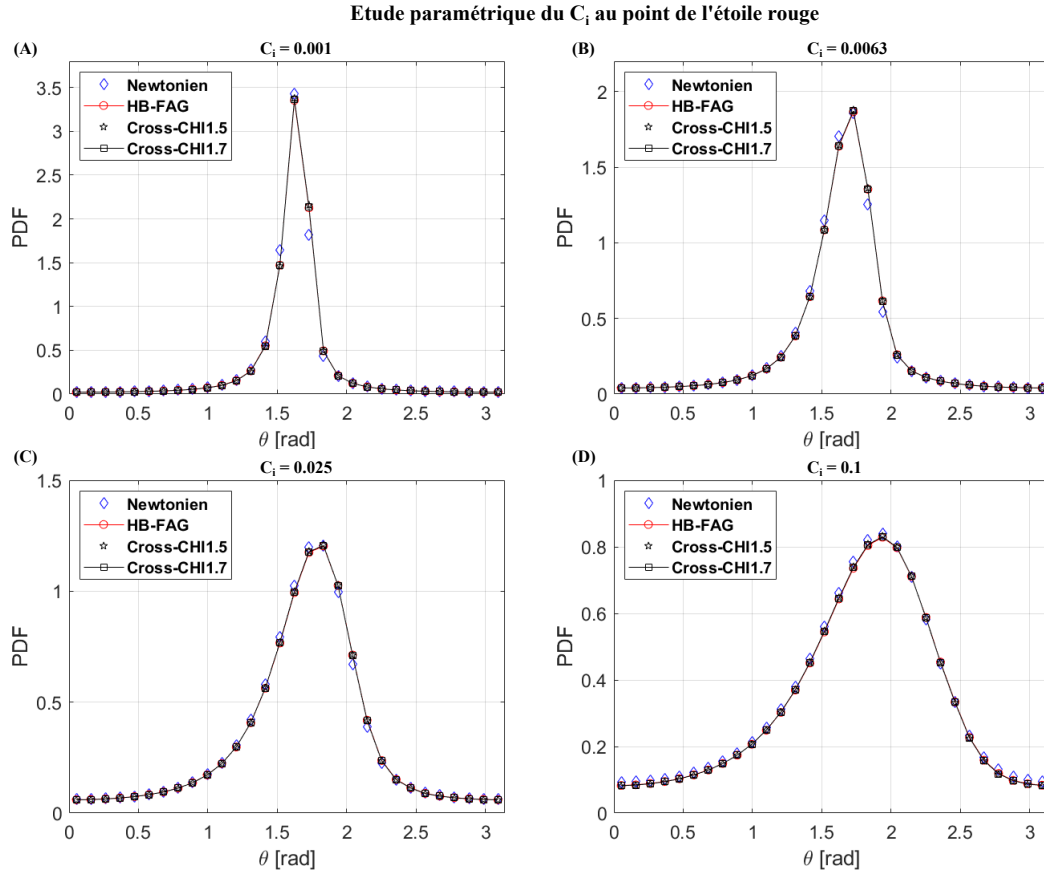


FIGURE 6.13 – Etude paramétrique du coefficient d'interaction C_I au point étoile rouge représenté dans la figure 6.7. Les courbes PDF sont comparées entre les comportements aux quatre valeurs de C_I . (A) $C_I = 0.001$; (B) $C_I = 0.0063$; (C) $C_I = 0.025$ et (D) $C_I = 0.1$.

large et plus dispersée, ce qui conduit à une anisotropie moins prononcée de l'orientation des constituants pour tous les comportements rhéologiques (newtonien, Herschel-Bulkley pour FAG, Cross pour CHI1.5/CNF0.9 et Cross pour CHI1.5/CNF0.9, respectivement). L'orientation des constituants θ passe de $\approx \pi/2$ à $3\pi/4$ lorsque C_I augmente de 0,001 à 0,1.

Pour étudier l'influence du comportement de l'hydrogel, une comparaison a été effectuée au point étoile rouge pour les quatre comportements rhéologiques avec un coefficient C_I fixé, à savoir 0.001, 0.0063, 0.025, et 0.1, respectivement, comme illustré à la figure 6.13. Contrairement au cas test (figure 6.11), les résultats de cette étude soulignent que les comportements rhéologiques de l'hydrogel n'affectent plus l'orientation finale des constituants à la sortie de la seringue.

Plus précisément, le tableau 6.7 présente la valeur moyenne de la PDF par rapport θ et l'écart-type dans chaque cas du coefficient C_I . Les résultats montrent que lorsque C_I est fixe, les valeurs moyennes de PDF et l'écart-type sont similaires pour tous les comportements rhéologiques. Ces résultats suggèrent que pour la seringue à buse tubulaire, l'orientation des constituants n'est pas affectée par les comportements rhéologiques de

Comportement rhéologique	CI = 0,001		CI=0,0063		CI=0,025		CI=0,1	
	$\bar{\psi}$	σ	$\bar{\psi}$	σ	$\bar{\psi}$	σ	$\bar{\psi}$	σ
Newtonien	1,61	0,96	1,64	1,27	1,68	1,56	1,75	1,94
Herschel-Bulkley (FAG)	1,62	0,95	1,64	1,27	1,68	1,55	1,76	1,89
Cross (CHI1.5/CNF0.9)	1,62	0,94	1,65	1,26	1,68	1,55	1,76	1,88
Cross (CHI1.7/CNF0.8)	1,62	0,95	1,65	1,26	1,68	1,55	1,76	1,88

TABLEAU 6.7 – Moyenne et écart-type de la PDF au niveau du point d'étoile pour chaque coefficient d'interaction donné.

l'hydrogel. De plus, il est intéressant de noter que lorsque le comportement rhéologique de l'hydrogel reste le même, les coefficients de C_I varient de faible à élevé dans la plage $C_I = [0,001 - 0,1]$. La valeur moyenne minimale de la PDF est obtenue pour le comportement newtonien à $C_I = 0,001$ avec $\bar{\psi} = 1,61$, tandis que la valeur moyenne maximale de la PDF est obtenue pour le comportement de Herschel-Bulkley et Cross à $C_I = 0,1$ avec $\bar{\psi} = 1,76$, soit un écart de 9,3 %. De même, la valeur minimale de l'écart-type est obtenue pour le comportement de Cross à $C_I = 0,001$ avec $\sigma = 0,94$, tandis que la valeur maximale de l'écart-type est obtenue pour le comportement newtonien à $C_I = 0,1$ avec $\sigma = 1,94$, soit un écart de 106,3 %. Dans ce cas, les constituants induisent un alignement le plus élevé à $C_I = 0,001$ par rapport celui à $C_I = 0,1$.

Une fois plus, les résultats de l'étude paramétrique de C_I dans le cas de la seringue mettent en évidence que C_I joue un rôle central sur l'orientation des constituants. À mesure que le coefficient C_I augmente, les valeurs moyennes de PDF et l'écart-type augmentent également, ce qui signifie que les courbes PDF deviennent plus larges et plus dispersées, conduisant à une anisotropie moins prononcée de l'orientation des constituants pour tous les comportements rhéologiques. De plus, les résultats soulignent que C_I a surmonté le comportement rhéologique de l'hydrogel sur l'orientation des constituants.

Les résultats de l'étude paramétrique de C_I sur l'orientation dans le cas test et dans la seringue ont démontré que le coefficient d'interaction C_I joue un rôle essentiel sur l'orientation des constituants. Une autre attention sera portée sur l'influence de la géométrie sur l'orientation des constituants qui sera présenté dans la section suivante.

5 Influence de la géométrie sur l'orientation des constituants

Cette section vise à étudier l'influence de la géométrie sur l'orientation finale des constituants. Pour ce faire, deux types de buses, conique et tubulaire, sont utilisés dans cette étude. Ces deux buses ont le même diamètre interne (200 μm). Toutes les conditions aux limites pour sont identiques pour les deux géométries et détaillées dans la section 4.

La figure 6.14 présente une comparaison de l'orientation des constituants dans la buse conique entre les quatre comportements rhéologiques aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, où le gradient du taux de cisaillement est le plus élevé et le plus faible, respectivement. Les résultats des courbes de la PDF mettent en évidence que le comportement de l'hydrogel n'affecte pas la distribution de l'orientation des constituants au

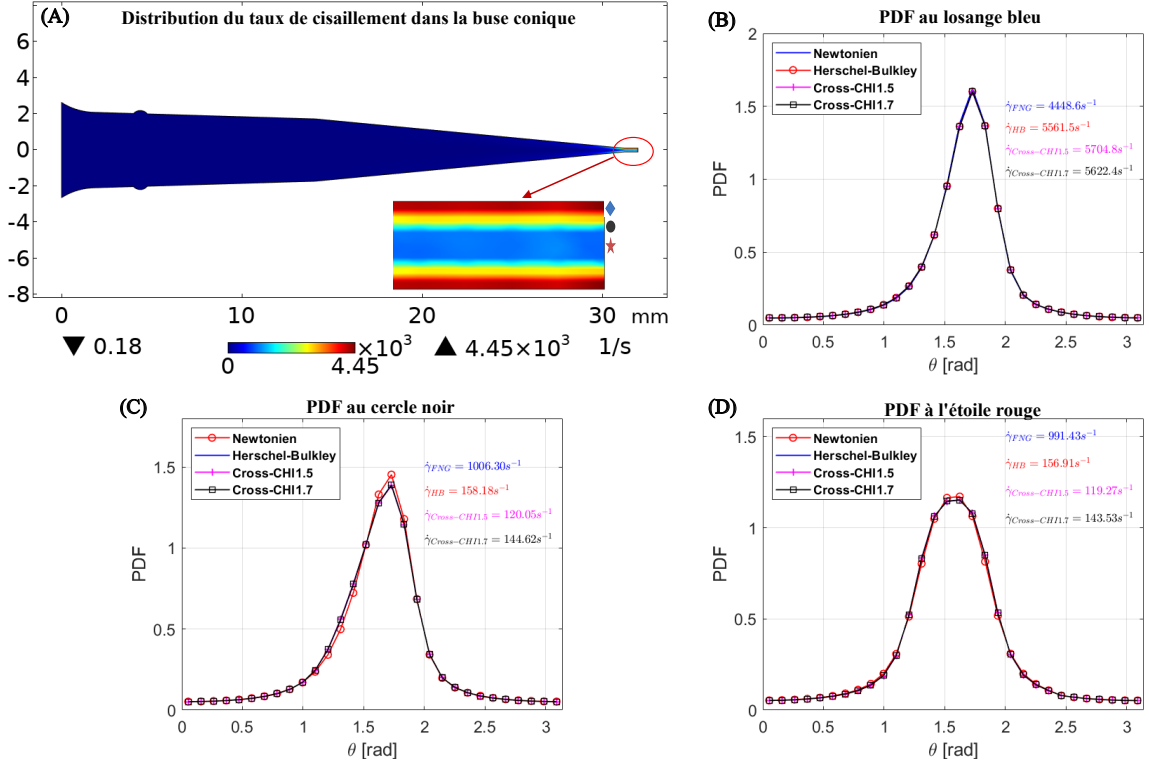


FIGURE 6.14 – Orientation des constituants dans la buse conique pour le comportement newtonien, Herschel-Bulkley pour FAG et Cross pour CHI/CNF. La PDF est évaluée sur trois points : losange bleu, cercle noir et étoile rouge dans la figure 6.14A. (B) Résultats de la PDF au point de losange bleu ; (C) Résultats de la PDF au point de cercle noir et (D) Résultats de la PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$.

point du losange bleu où le gradient du taux de cisaillement est le plus élevé. Tous les constituants s'orientent vers la direction de l'écoulement (figure 6.14B). Cependant, au point du cercle noir (figure 6.14C), les constituants sont plus alignés pour le comportement newtonien par rapport les comportements de Herschel-Bulkley et Cross. Ceci s'explique en examinant les valeurs du taux de cisaillement. Il y a un ordre de grandeur dans le comportement newtonien par rapport aux comportements de Herschel-Bulkley et Cross ($\dot{\gamma}_{FNG} = 1006.30s^{-1}$ vs $\dot{\gamma}_{HB} = 158.18s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{Cross-CHI1.5/CNF0.9} = 120.05s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{Cross-CHI1.7/CNF0.8} = 144.62s^{-1}$). Une analyse similaire peut être appliquée au point de l'étoile rouge (figure 6.14D). Les constituants sont plus alignés pour le comportement newtonien par rapport les comportements de Herschel-Bulkley et Cross et il y a un ordre de grandeur dans le comportement newtonien par rapport aux comportements de Herschel-Bulkley et Cross ($\dot{\gamma}_{FNG} = 991.43s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{HB} = 156.91s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{Cross-CHI1.5/CNF0.9} = 119.27s^{-1}$ vs. $\dot{\gamma}_{Cross-CHI1.7/CNF0.8} = 143.53s^{-1}$).

La figure 6.15 présente une comparaison de l'orientation des constituants dans la buse tubulaire entre les quatre comportements rhéologiques aux points du losange bleu et de l'étoile rouge, où le gradient du taux de cisaillement est le plus élevé et le plus faible, respectivement. Les résultats des courbes de la PDF sont similaires à ceux du cas de la buse conique illustrant que le comportement de l'hydrogel n'affecte pas la distribution de l'orien-

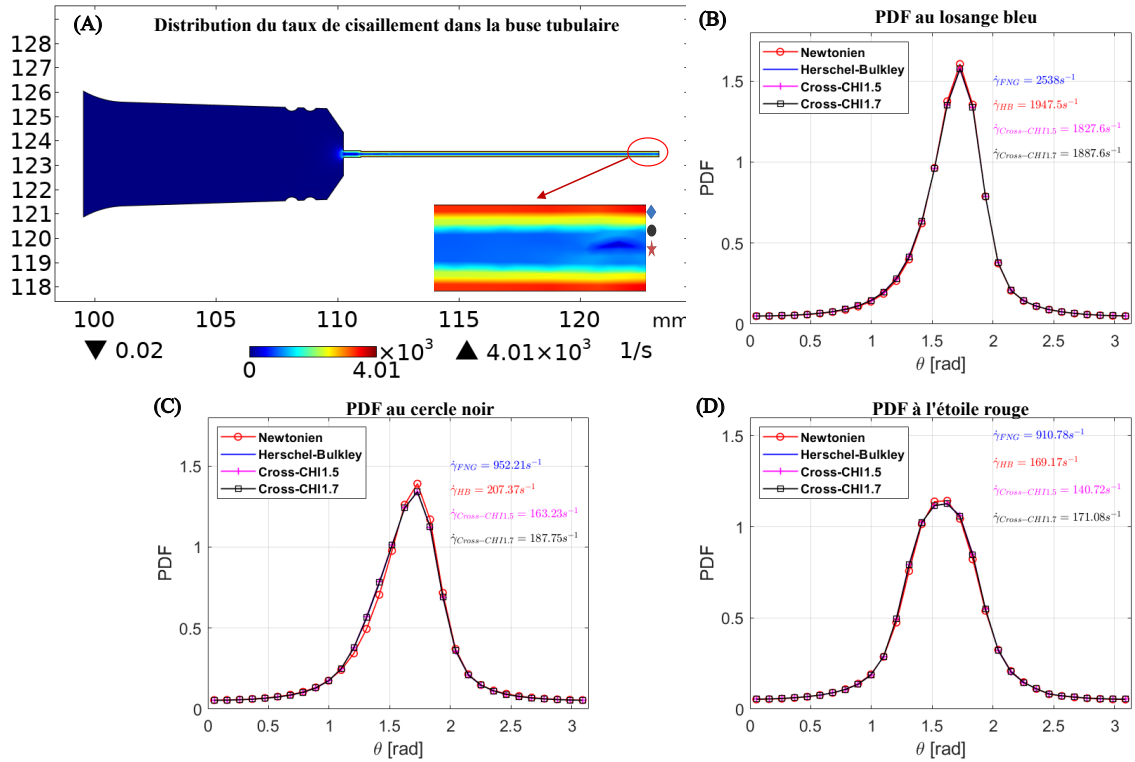


FIGURE 6.15 – Orientation des constituants dans la buse tubulaire le comportement newtonien, Herschel-Bulkley pour FAG et Cross pour CHI/CNF. La PDF est évaluée sur trois points : losange bleu, cercle noir et étoile rouge dans la figure 6.15A. (B) Résultats de la PDF au point de losange bleu; (C) Résultats de la PDF au point de cercle noir et (D) Résultats de la PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$.

tation des constituants au point du losange bleu où le gradient du taux de cisaillement est le plus élevé. Tous les constituants s'orientent vers la direction de l'écoulement (figure 6.15B). Cependant, au point du cercle noir et étoile rouge (figure 6.15C-D), les constituants sont légèrement plus alignés dans le cas du comportement newtonien par rapport aux comportements de Herschel-Bulkley et Cross lorsqu'il y a un ordre de grandeur dans le comportement newtonien par rapport aux comportements de Herschel-Bulkley et Cross.

Pour mieux discriminer l'influence de la géométrie de la buse de la seringue sur l'orientation finale des constituants, une étude a été menée pour deux comportements de l'hydrogel (newtonien et Herschel-Bulkley) en trois points (losange, cercle et étoile) à la sortie de la buse où le gradient du taux de cisaillement est le plus élevé et le plus faible, respectivement.

La figure 6.16 montre une comparaison de l'orientation des constituants entre les deux types de buses dans le cas de l'écoulement newtonien. Les résultats des courbes de la PDF indiquent que le type de buse n'a aucun impact sur la distribution de l'orientation des constituants. Plus précisément, le tableau 6.8 présente la valeur moyenne de la PDF par rapport à θ et l'écart-type pour le comportement newtonien dans chaque buse. Les résultats montrent que l'influence de la forme de la buse sur l'orientation des constituants est négligeable. L'écart maximal entre les deux buses n'est que de 1,4 %.

La figure 6.17 montre une comparaison de l'orientation des constituants entre les deux

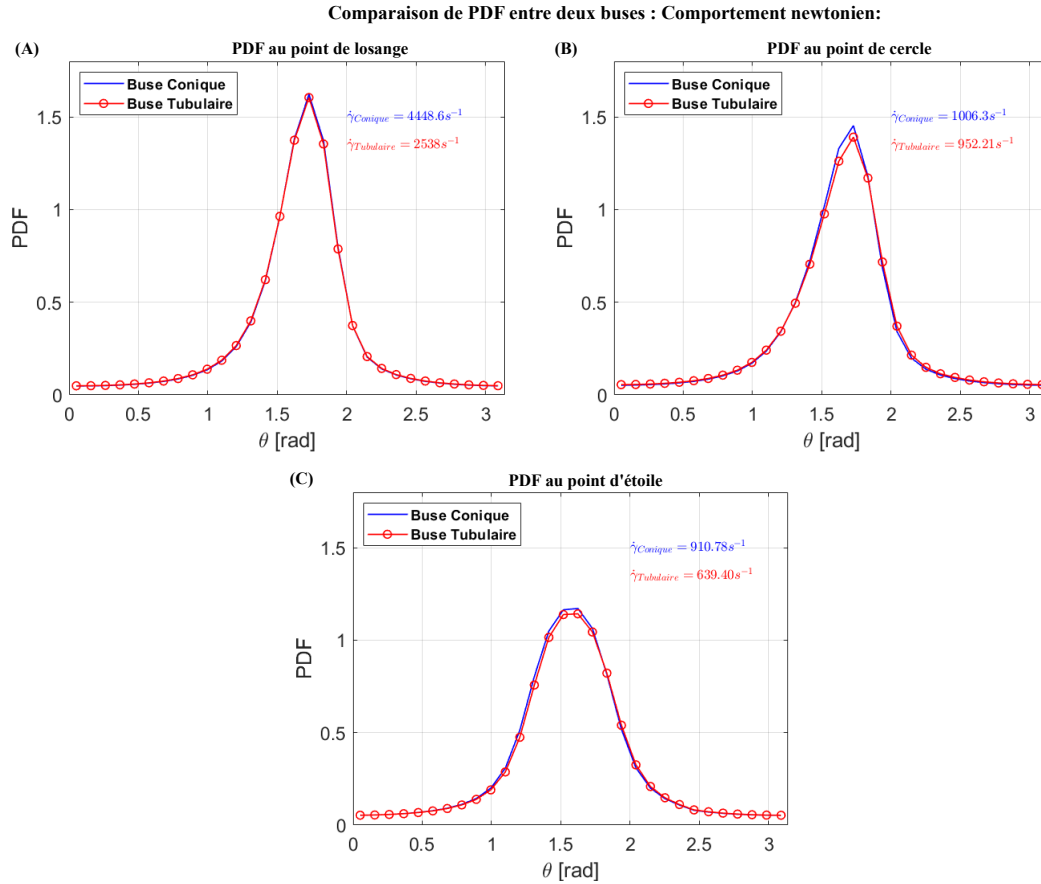


FIGURE 6.16 – Influence de la buse sur l'orientation des constituants pour le comportement newtonien. (A) PDF au point de losange bleu; (B) PDF au point de cercle noir et; (C) PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$.

Type de la buse	Losange		Cercle		Etoile	
	ψ	σ	ψ	σ	ψ	σ
Conique	1,66	1,37	1,63	1,44	1,57	1,45
Tubulaire	1,66	1,39	1,63	1,46	1,57	1,45

TABLEAU 6.8 – Moyenne et écart-type de la PDF dans le comportement newtonien pour chaque buse.

types de buse dans le cas de l'écoulement de Herschel-Bulkley. Les résultats des courbes de la PDF sont similaires à ceux du cas de l'écoulement newtonien. Les résultats des courbes de la PDF indiquent que le type de buse n'a aucun impact sur la distribution de l'orientation des constituants. Plus précisément, le tableau 6.9 présente la valeur moyenne de la PDF par rapport à θ et l'écart-type pour le comportement de Herschel-Bulkley dans chaque buse. Les résultats montrent que l'influence de la forme de la buse sur l'orientation des constituants est négligeable. L'écart maximal entre les deux buses n'est que de 1,4 %.

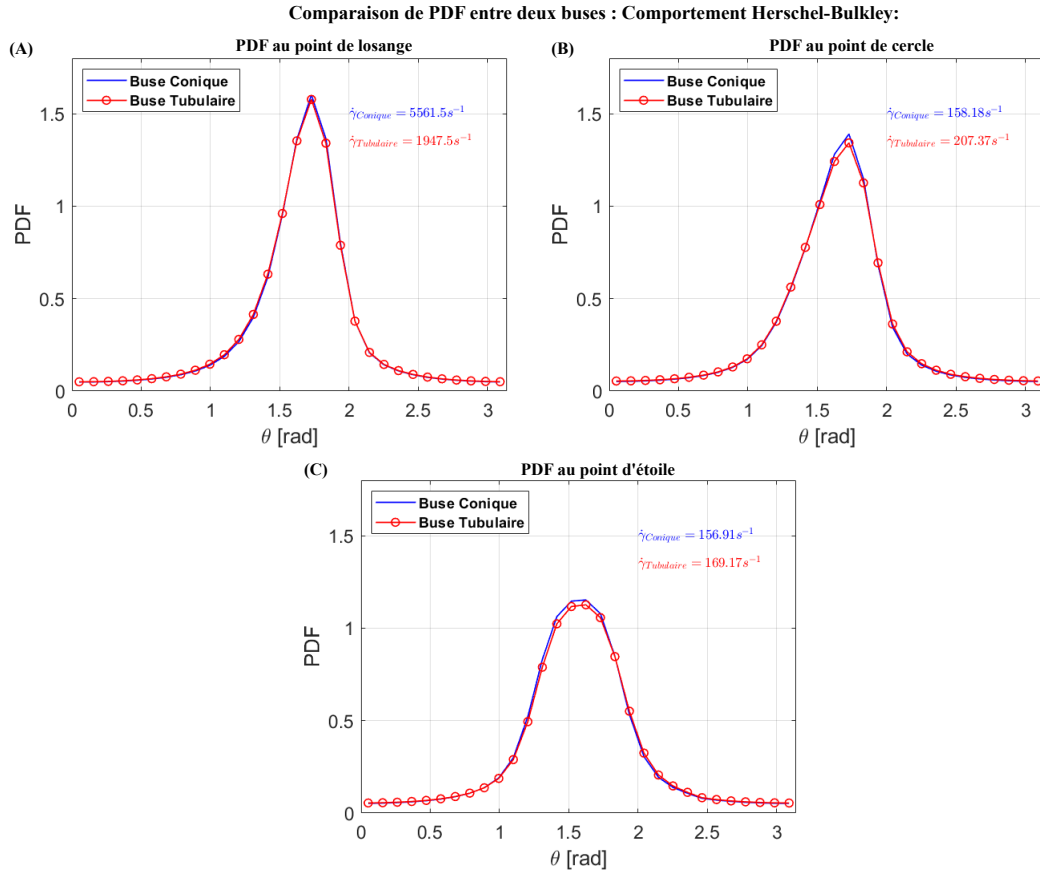


FIGURE 6.17 – Influence de la buse sur l'orientation des constituants pour le comportement de Herschel-Bulkley. (A) PDF au point de losange bleu ; (B) PDF au point de cercle noir et ; (C) PDF au point d'étoile rouge. Le coefficient de l'interaction $C_I = 0.01$.

Type de la buse	Losange		Cercle		Etoile	
	ψ	σ	ψ	σ	ψ	σ
Conique	1,66	1,39	1,62	1,43	1,57	1,45
Tubulaire	1,65	1,40	1,62	1,45	1,57	1,46

TABLEAU 6.9 – Moyenne et écart-type de la PDF dans le comportement de Herschel-Bulkley pour chaque buse.

6 Conclusion

L'étude de l'orientation des constituants dans un cas test de *benchmark*, à savoir la modélisation de l'écoulement de l'hydrogel de type de Poiseuille à travers un canal plan a permis d'analyser les performances du modèle développé ainsi que l'impact qualitatif des paramètres sur l'orientation finale des constituants. Les résultats du *benchmark* sont en bon accord avec les observations numériques disponibles dans la littérature, ce qui confirme que la capacité du modèle développé à calculer l'orientation des constituants par rapport au comportement rhéologique de l'hydrogel et du coefficient d'interaction C_I , qui représente l'interaction entre les constituants. Le modèle développé a également été utilisé pour la première fois dans la modélisation d'un processus expérimental de bioimpression

3D par extrusion afin de calculer l'orientation des constituants de différents hydrogels induite par l'écoulement à travers une seringue équipée d'une buse tubulaire. Ces études sont en cours de révision dans la revue scientifique « *Journal of Bioprinting* » [221]. Les résultats numériques obtenus révèlent que la distribution du taux de cisaillement ainsi que le comportement de l'hydrogel n'ont pratiquement aucune influence sur l'orientation finale des constituants à la sortie de la seringue, en utilisant des paramètres d'impression typiques, c'est-à-dire à des taux de cisaillement faibles. La plupart des constituants sont alignés dans le sens de l'extrusion, mais avec un léger écart par rapport à l'axe en raison de la présence du coefficient C_I , qui est non nul. En outre, il convient de noter que le paramètre du coefficient d'interaction C_I joue un rôle clé dans l'orientation des constituants, comme cela a été démontré par une étude paramétrique de C_I . Cette étude montre que plus le coefficient C_I est élevé, plus les constituants se dispersent par rapport à la direction d'extrusion. Il a été montré que le coefficient d'interaction C_I a la capacité de surmonter le comportement rhéologique de l'hydrogel en ce qui concerne l'orientation des constituants dans le modèle. Par ailleurs, il est important de noter qu'un coefficient d'interaction C_I non nul empêche les constituants de s'orienter complètement le long de l'écoulement du fluide. Cela signifie que θ ne peut pas atteindre $\pi/2$, principalement en raison de la nécessité de garantir la convergence numérique du modèle. L'exploration du coefficient C_I pourrait avoir des implications pratiques pour le processus de bioimpression, car elle suggère que l'ajustement du coefficient C_I permet de contrôler le degré d'anisotropie souhaité lors de l'impression des hydrogels de manière spécifique. Finalement, une analyse de la sensibilité de l'orientation des constituants en fonction de la forme de la buse a été menée. Les résultats ont clairement montré que l'influence de la forme de la buse sur l'orientation finale des constituants n'est pas significative, car l'écart maximal entre les deux buses est de 1,4 % et donc quasi-négligeable.

Conclusions générales et perspectives

1 Conclusions générales

Cette section examine la réalisation des objectifs de recherche qui ont été proposés dans le cadre de ce travail de thèse, à savoir le développement d'une approche numérique permettant de prédire l'orientation des constituants induite par l'écoulement lors du processus d'extrusion.

La revue de la littérature effectuée dans la première partie a permis d'établir le contexte de la thèse et de formuler la problématique. Le chapitre 1 a introduit les principes de l'ingénierie tissulaire (IT) inspirée par les domaines de l'ingénierie et des sciences de la vie, visant à développer des substituts biologiques capables de restaurer ou de maintenir la fonction de tissus spécifiques. Ensuite, la bioimpression 3D a été présentée comme une technique de fabrication de constructions d'ingénierie tissulaire (TEC), avec une emphase sur la technologie d'extrusion utilisée dans ce projet pour créer des TEC en utilisant des hydrogels comme échafaudage. Une attention particulière est portée sur les hydrogels de FAG et CHI/CNF afin d'étudier leurs comportements rhéologiques et de représenter ces hydrogels à travers des lois mathématiques pour simuler le processus d'extrusion. Le chapitre 2 a présenté une revue de la relation entre l'anisotropie de l'échafaudage et l'activité cellulaire, mettant en évidence l'importance des propriétés de l'échafaudage sur le comportement cellulaire, notamment l'orientation des constituants de l'échafaudage qui joue un rôle crucial dans l'ancrage et le guidage des cellules, tout en déterminant les propriétés mécaniques de la structure imprimée. Une approche numérique permettrait de mieux comprendre les effets directs des conditions d'extrusion et le comportement rhéologique de l'hydrogel sur l'orientation des constituants. Le chapitre 3 a présenté différentes approches pour modéliser et étudier l'orientation des constituants dans un fluide. L'analyse de la littérature a montré que l'équation pertinente est celle de Fokker-Planck de la théorie cinétique permettant de calculer la probabilité de l'orientation d'une population des constituants dans un volume élémentaire représentatif. Cette approche a été retenue en vue de résoudre le problème couplé entre le comportement rhéologique de l'hydrogel et l'orientation des constituants. En effet, l'équation de Fokker-Planck sert de pont entre le

niveau de description microscopique et macroscopique. Elle offre un calcul moins coûteux tout en préservant les propriétés du système, car elle permet de modéliser l'évolution de la fonction de densité de probabilité d'une population de constituants.

La seconde partie du manuscrit a abordé le développement d'un modèle numérique visant à prédire l'orientation des constituants de l'hydrogel induite par l'écoulement et détaille les résultats issus de l'exploitation du modèle. Le chapitre 4 traite des études rhéologiques de deux hydrogels sélectionnés, à savoir le FAG et le CHI/CNF. Ces hydrogels ont été préparés et caractérisés expérimentalement. Les propriétés rhéologiques ainsi obtenues ont démontré une bonne concordance avec les valeurs disponibles dans la littérature. La caractérisation rhéologique des hydrogels a mis en évidence une excellente adéquation des modèles mathématiques de Herschel-Bulkley et de Cross aux données expérimentales pour les hydrogels FAG et CHI/CNF, respectivement. Ces modèles permettent de modéliser les écoulements des hydrogels dans le cadre de simulations numériques en vue d'étudier l'orientation des constituants induite par l'écoulement.

Les chapitres 5 et 6 s'inscrivent au cœur du projet de thèse consistant à établir une stratégie numérique pour résoudre l'équation de Fokker-Planck dans le chapitre 5 et les résultats obtenus dans chapitre 6. En effet, la résolution numérique de cette équation est complexe puisqu'il s'agit d'une équation à cinq degrés de liberté : trois degrés de liberté pour le domaine spatial (x, y, z) et deux degrés de liberté pour le domaine de configuration $(\theta$ et $\phi)$ couplées à un problème de mécanique des fluides en 3D. La résolution de cette équation a donc demandé une attention particulière et la formulation d'hypothèses (problème stationnaire avec deux degrés de liberté pour le domaine spatial et un degré de liberté pour le domaine de configuration) pour réduire le nombre de degrés de liberté. La stratégie adoptée pour résoudre l'équation de Fokker-Planck a reposé sur la méthode des volumes finis. La discrétisation unidimensionnelle par volumes finis de l'espace des configurations a permis d'aboutir à un système matriciel de problèmes d'éléments finis 2D couplés. À l'aide des interfaces existantes de COMSOL Multiphysics, à savoir l'interface d'écoulement laminaire et l'interface d'équations aux dérivées partielles (PDE), le couplage entre la mécanique des écoulements de l'hydrogel non newtonien et l'orientation des constituants a été résolu simultanément.

Enfin, le chapitre 6 a présenté des résultats numériques de l'orientation des constituants. La première analyse de l'orientation des constituants a été conçue comme un test de *benchmark* visant à évaluer les performances de la simulation ainsi que l'impact qualitatif des paramètres du modèle. Les résultats du test de *benchmark* étaient en accord avec les données numériques disponibles dans la littérature, confirmant ainsi la capacité du modèle développé à calculer l'orientation des constituants. Par ailleurs, la nouveauté de ce travail réside dans l'utilisation, pour la première fois, de l'approche numérique développée dans un processus expérimental de bioimpression 3D par extrusion afin de calculer l'orientation des constituants induite par l'écoulement dans les hydrogels, à travers une seringue équipée d'une buse tubulaire. Le modèle développé a permis de calculer simultanément le comportement rhéologique de l'hydrogel et l'orientation des constituants, ainsi que d'étendre

et d'appliquer des comportements rhéologiques réalistes et complexes dans les calculs numériques d'hydrogels, tels que le comportement Herschel-Bulkley pour l'hydrogel de FAG et le comportement Cross pour les hydrogels de CHI/CNF. L'ensemble des simulations réalisées dans ce cas a permis de faire un bilan du modèle développé. Il est à noter que la distribution du taux de cisaillement ainsi que le comportement rhéologique de l'hydrogel n'ont pratiquement aucune influence sur l'orientation finale des constituants à la sortie de la buse, lorsque des paramètres d'impression typiques sont utilisés, c'est-à-dire à des taux de cisaillement faibles. Dans ces conditions, la plupart des constituants sont alignés dans la direction de l'extrusion. De plus, une analyse de la sensibilité de l'orientation des constituants a été menée pour deux types de buses : conique et tubulaire. Les résultats ont clairement démontré qu'à des taux de cisaillement faibles (condition d'impression), l'influence de la forme de la buse sur l'orientation finale des constituants n'est pas significatif. Néanmoins, dans le contexte des simulations présentées dans ce chapitre, il est essentiel de noter qu'un paramètre exerce une influence significative sur l'orientation des constituants dans le modèle numérique : le coefficient d'interaction des constituants C_I . Les conclusions sur l'analyse du coefficient C_I ont mis en évidence que ce coefficient a la capacité de prévaloir sur les comportements rhéologiques des hydrogels en ce qui concerne l'orientation des constituants dans le modèle de prédiction. Une valeur plus élevée du coefficient C_I se traduit par une dispersion accrue des constituants par rapport à la direction d'extrusion. À l'inverse, un coefficient C_I plus bas entraîne un alignement des constituants dans le sens de l'extrusion, conduisant ainsi à une anisotropie maximale des constituants. Cette observation a des implications pratiques pour le processus de bioimpression, car elle suggère que l'ajustement du coefficient C_I permet de contrôler le degré d'anisotropie souhaité lors de l'impression des constituants de manière spécifique. À notre connaissance, il n'existe aucun modèle numérique permettant d'obtenir la valeur exacte de C_I pour les interactions des constituants dans l'hydrogel utilisé dans ce travail. Dans la suite, un modèle pertinent sera présenté pour calculer C_I en fonction de la fraction volumique et des caractéristiques géométriques (longueur et diamètre) des constituants.

En conclusion, ce travail de doctorat a permis le développement d'un modèle numérique permettant de prédire la distribution des constituants d'un hydrogel au cours de l'extrusion dans un contexte d'IT. Ce modèle a simultanément pris en compte le couplage entre le comportement rhéologique de l'hydrogel et l'orientation des constituants, ce qui constitue l'aspect novateur de ce travail de thèse. Le modèle numérique a ainsi fourni une solide base de données pour mieux comprendre la relation entre les propriétés de l'hydrogel, les conditions d'extrusion, la géométrie des buses et l'orientation des constituants lors de l'écoulement.

2 Perspectives

Les perspectives sur les plans numériques et expérimentaux qui suivent sont dérivées des résultats obtenus grâce à la réalisation des objectifs de l'étude, ainsi que des aspects

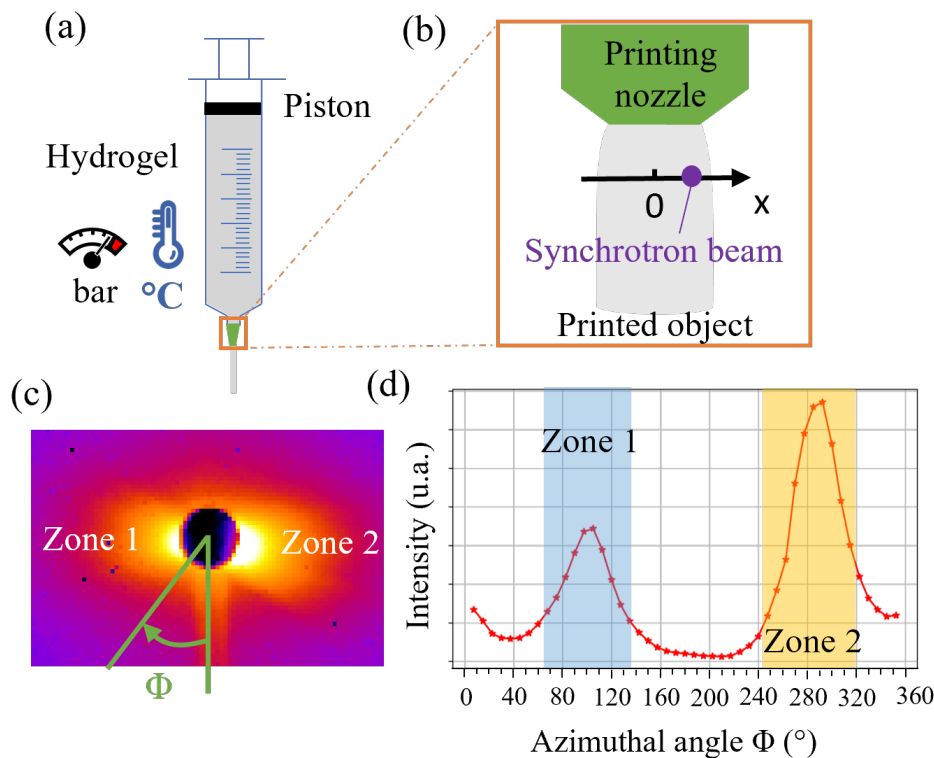


FIGURE 7.18 – (a) Schéma de l’expérience réalisée à l’ESRF. Un extrudat d’hydrogel est soumis à un rayonnement synchrotron sous l’effet d’une pression contrôlée à une température fixe de 21°C. (b) Définition des positions relatives x du faisceau synchrotron dans l’extrudat. (c) Image de diffraction SAXS sur le bord de l’échantillon avec une valeur d’intensité q fixe et une valeur $x/R = 1$ où x est la position relative du faisceau par rapport au centre de l’extrudat et R est le rayon de la buse d’impression. (d) Tracé de l’intensité à une valeur q donnée où la zone 1 est la zone d’intérêt pour l’orientation de l’hydrogel donné et la zone 2 correspond à l’artefact de réflexion sur la surface de l’extrudat.

globaux liés au travail effectué.

- **Du point de vue expérimental :**

Une analyse expérimentale des données du synchrotron à rayons X est en cours pour quantifier l’orientation des constituants et valider la prédiction du modèle numérique [222]. Dans cette expérience schématisée figure 7.18, une installation de bioimpression a été mise en place pour étudier les extrudats *in situ* au rayonnement synchrotron. L’objectif principal était d’étudier *in situ* l’effet des paramètres d’impression sur l’anisotropie de la formulation de l’hydrogel, c’est-à-dire l’orientation des constituants de l’hydrogel lors de l’extrusion. Le principe de l’expérience consistait à capturer des images « *Wide Angle X-ray Scattering* » (WAXS) et « *Small-Angle X-ray Scattering* » (SAXS) à différentes positions dans l’extrudat (position relative x) *in situ* à la sortie de la buse lors de l’extrusion des filaments visqueux. Cela a permis la cartographie d’orientation du réseau des chaînes polymères (alginate, gélatine) et des nanofibres de cellulose (CNF) introduits dans le système visqueux. Pour quantifier l’orientation, le facteur d’orientation apparent de Herman f_H est ensuite

calculé pour chaque position x . L'évolution de f_H par rapport aux valeurs de position x est obtenue pour cartographier l'orientation dans l'extrudat [105, 223]. Cette campagne réalisée en octobre 2022 représente un important travail de post-traitement et est en cours d'analyse [222]. Les résultats issus de l'expérience de l'ESRF seront confrontés avec les résultats du modèle numérique développé. Une attention particulière sera portée sur la condition d'extrusion. Dans le modèle numérique, un débit constant est appliqué en tant que la condition d'extrusion réelle, alors que dans l'expérience de l'ESFR, la condition d'extrusion est pilotée par la pression.

• **Du point de vue numérique :**

(i) : Modélisation instationnaire de l'équation de Fokker-Planck et les équations de Navier-Stokes.

La résolution de l'équation de Fokker-Planck dans ce travail de thèse a permis de développer le premier modèle numérique capable de calculer et de prédire l'orientation des constituants induite par l'écoulement dans un hydrogel dans le domaine de la bioimpression. Étant donné la complexité numérique inhérente à cette équation, qui exigerait la résolution d'une équation de Fokker-Planck à cinq degrés de liberté (trois degrés de liberté de spatiales et deux degrés de liberté de configurations) associée à un problème de mécanique des fluides en trois dimensions. La phase initiale de toute simulation devrait donc impliquer une version stabilisée du problème le plus complexe. Par conséquent, le modèle de calcul a été restreint à l'écoulement stationnaire et l'orientation des constituants en 1D afin de simplifier la problématique. Pour la première perspective de l'approche numérique, il est évident de passer du problème stationnaire à un problème instationnaire. À ce stade, l'équation de Fokker-Planck instationnaire s'écrit comme suit :

$$\frac{\partial \psi}{\partial t} + \vec{u} \cdot \nabla_x \psi + \frac{\partial}{\partial \vec{p}} \cdot (\psi \vec{p}) - D_r \frac{\partial^2 \psi}{\partial \theta^2} = 0 \quad (7.3)$$

et les équations de Navier-Stokes instationnaires et incompressibles sont données par :

$$\begin{aligned} \nabla \cdot \vec{u} &= 0, \\ \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} + \rho \nabla \vec{u} \cdot \vec{u} &= -\nabla q + \nabla \cdot [\mu (\nabla \vec{u} + \nabla \vec{u}^T)]. \end{aligned} \quad (7.4)$$

(ii) : Description tridimensionnelle de l'orientation des constituants : extension du modèle à deux variables de configuration (θ et ϕ).

La deuxième perspective de l'approche numérique vise à décrire l'orientation tridimensionnelle des constituants. Cette étape permettra de décrire toutes les orientations possibles des constituants dans le domaine des configurations. Chaque état d'orientation possible d'un constituant correspond donc à un point qui se trouve sur la surface d'une sphère unitaire comme illustrée à la figure 7.19A.

La discrétisation de l'équation de Fokker-Planck doit être effectuée sur une surface 2D où $\delta\theta$ et $\sin\theta\delta\phi$ sont les longueurs des bords (figure 7.19B). Il convient d'établir un système d'équations algébriques linéaires du point nodal général P est ses voisins, de manière

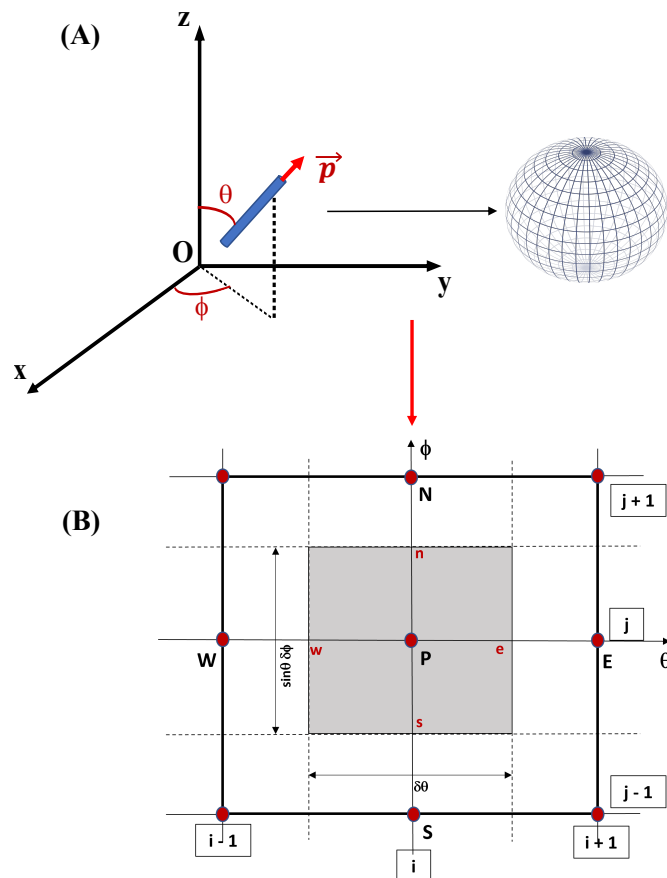


FIGURE 7.19 – (A) Schéma de description de l'orientation d'un constituant est représentée par le vecteur unitaire \vec{p} . Toutes les orientations possibles du vecteur \vec{p} en 3D sont définies sur une sphère unitaire; (B) Schéma de discrétisation par volumes finis dans le domaine de la configuration. P, E, W, S, et N représentent les nœuds de volumes finis, w , e , s et n indiquent les bords du volume de contrôle, respectivement.

similaire au processus de discrétisation en 2D décrit dans l'équation 5.7. La distinction réside dans le fait qu'au lieu d'une discrétisation unidimensionnelle, l'équation de Fokker-Planck sera discrétisée sur la surface de la sphère unitaire.

$$\sin \theta \times \delta \phi \times \delta \theta \times \vec{u} \cdot \nabla_x \psi_P + a_P \psi_P - a_W \psi_W - a_E \psi_E - a_N \psi_N - a_S \psi_S = 0 \quad (7.5)$$

(iii) : Étude du coefficient d'interaction C_I .

La troisième perspective de la méthode numérique concerne spécifiquement le coefficient d'interaction C_I . Les résultats issus des simulations ont révélé que le coefficient d'interaction C_I joue un rôle central dans l'orientation des constituants. D'un point de vue pratique, lorsqu'on cherchera à imprimer des constituants dans un hydrogel dans une direction spécifique, l'ajustement du paramètre C_I s'avère essentiel pour atteindre cet objectif. De nombreuses études ont été menées pour expliquer la signification physique du coefficient d'interaction C_I . Un modèle particulièrement pertinent pour étudier C_I est le modèle de Phan-Thien [186]. En effet, ce modèle permet de calculer C_I en fonction des propriétés

des constituants, notamment la fraction volumique des constituants et les caractéristiques géométriques telles que la longueur et le diamètre des constituants.

$$C_I = 0.0184 \exp(-0.7148a_r f_v) \quad (7.6)$$

Où :

a_r est le facteur de forme d'un constituant,

f_r est la fraction volumique des constituants dans l'hydrogel.

Le modèle de Phan-Thien permet de calculer le coefficient d'interaction C_I en fonction des propriétés des constituants. En modifiant les paramètres tels que le diamètre, la longueur ou le volume des constituants, il est possible d'obtenir la valeur souhaitée de C_I , ce qui permet de régler la direction d'extrusion des constituants dans l'hydrogel et constituerait une extension pertinente du modèle.

(iv) : Calcul de l'orientation des constituants dans un écoulement avec le gonflement. Dans le cadre des simulations de ce projet, les orientations des constituants ont été calculées à la sortie de la buse. Ainsi, une dernière perspective de l'approche numérique consiste à modéliser l'écoulement en sortie de buse prenant en compte le gonflement caractérisé expérimentalement. Cette approche permettrait une meilleure correspondance numérique avec la réalité expérimentale, facilitant ainsi l'étude de l'orientation des constituants lors du gonflement (voir figure 7.20). Dans ce cas, la modélisation de l'écoulement inclut non seulement le fluide à l'intérieur de la seringue, mais aussi une courte section d'extrudat après la buse, ce qui permettrait de prédire le gonflement de la filière à la sortie de la buse.

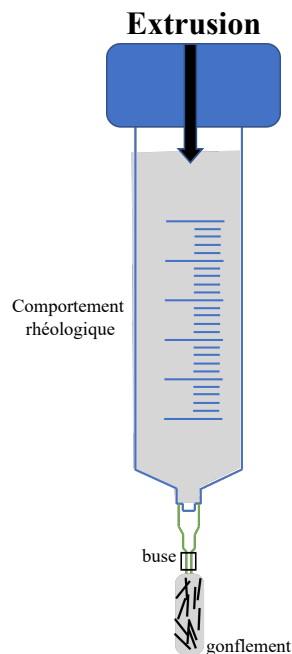


FIGURE 7.20 – Schématisation du gonflement à la sortie de la buse lors du procédé d'extrusion.

Annexe

1 Schémas de différenciation *upwind* et *power law*

Les schémas de différenciation *upwind* et *power law* nous permettent de calculer les coefficients de la forme de discrétisation de l'équation de Fokker-Planck 5.7 suivante :

$$a_P = a_E + a_W + F_e - F_w$$

$$a_E = D_e \max \left[0, \left(1 - 0.1 \left| \frac{F_e}{D_e} \right| \right)^5 \right] + \max [-F_e, 0]$$

$$a_W = D_w \max \left[0, \left(1 - 0.1 \left| \frac{F_w}{D_w} \right| \right)^5 \right] + \max [F_w, 0]$$

Où F_e et F_w représentent le mouvement d'un constituant à la face est et ouest du volume de contrôle, respectivement. Les valeurs F_e et F_w sont déterminées à partir de l'équation de Jeffery 5.6 qui suit :

$$F_e = \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} 0 & W_{12} \\ -W_{12} & 0 \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_e + \lambda \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} D_{11} & D_{12} \\ D_{12} & -D_{11} \end{pmatrix}_e \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_e$$

$$F_w = \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} 0 & W_{12} \\ -W_{12} & 0 \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_w + \lambda \begin{pmatrix} \cos\theta & -\sin\theta \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} D_{11} & D_{12} \\ D_{12} & -D_{11} \end{pmatrix}_w \begin{pmatrix} \sin\theta \\ \cos\theta \end{pmatrix}_w$$

et $D_e = D_w = D_r / \delta\theta$

2 Discrétisation de l'équation de Fokker-Planck sur le volume de contrôle

L'équation de Fokker-Planck 5.5 est intégrée sur le volume de contrôle :

$$\int_{\text{CV}} u \cdot \nabla_x \psi dV + \int_{\text{CV}} \nabla_{p \cdot} (\psi \dot{p}) dV - \int_{\text{CV}} D_r \nabla_p^2 \psi dV = 0 \quad (8.7)$$

Utilisant la théorème de convergence :

$$\oint_{\mathbb{S}} n(u \cdot \nabla_x \psi) dS + \oint_{\mathbb{S}} n(\psi \dot{p}) dS - \oint_{\mathbb{S}} n(D_r) \frac{\partial \psi}{\partial \theta} dS = 0 \quad (8.8)$$

On pose :

$$\begin{aligned} A &= \oint_{\mathbb{S}} n(u \cdot \nabla_x \psi) dS \\ &= \delta \theta \cdot u \cdot \nabla_x \psi_P \end{aligned}$$

Et

$$\begin{aligned} B &= \oint_{\mathbb{S}} n(\psi \dot{p}) dS - \oint_{\mathbb{S}} n(D_r) \frac{\partial \psi}{\partial \theta} dS \\ &= (\psi \dot{p})_e - (\psi \dot{p})_w - \left(D_r \frac{\partial \psi}{\partial \theta} \right)_e + \left(D_r \frac{\partial \psi}{\partial \theta} \right)_w \end{aligned}$$

Dans l'expression B on pose : $\dot{p} = F$ alors $\dot{p}_e = F_e$ et $\dot{p}_w = F_w$

$$D = \frac{D_r}{\delta \theta} \text{ alors } D_e = D_w = \frac{D_r}{\delta \theta}$$

L'expression B devient :

$$B = F_e \psi_e - F_w \psi_w - D_e (\psi_E - \psi_P) + D_w (\psi_P - \psi_W) \quad (8.9)$$

Utilisant les schémas de différenciation *upwind* et *power-law* dans l'annexe 1, l'expression B devient :

$$\begin{aligned} B &= \left((D_w - \frac{F_w}{2}) + (D_e + \frac{F_e}{2}) \right) \psi_P - (D_w + \frac{F_w}{2}) \psi_W - (D_e - \frac{F_e}{2}) \psi_E \\ &= \left((D_w + \frac{F_w}{2}) + (D_e - \frac{F_e}{2}) + \frac{F_e}{2} - \frac{F_w}{2} \right) \psi_P - (D_w + \frac{F_w}{2}) \psi_W - (D_e - \frac{F_e}{2}) \psi_E \\ &= a_P \psi_P - a_W \psi_W - a_E \psi_E \end{aligned}$$

Où :

$$a_P = a_E + a_W + F_e - F_w$$

$$a_E = D_e \max \left[0, \left(1 - 0.1 \left| \frac{F_e}{D_e} \right| \right)^5 \right] + \max [-F_e, 0]$$

$$a_W = D_w \max \left[0, \left(1 - 0.1 \left| \frac{F_w}{D_w} \right| \right)^5 \right] + \max [F_w, 0]$$

Finalelement, on obtient la discrétisation de l'équation de Fokker-Planck (équation 5.7) :

$$\delta\theta \cdot \vec{u} \cdot \nabla_x \psi_P + a_P \psi_P - a_W \psi_W - a_E \psi_E = 0$$

Liste des publications

Article en cours de révision Journal of Bioprinting

V.T. MAI, R. CHATELIN, E.-J. COURTIAL, C. BOULOCHER, R. RIEGER. "Numerical modeling of hydrogel scaffold anisotropy during extrusion-based 3D printing for tissue engineering". <http://arxiv.org/abs/2310.02734>.

Articles à comité de lecture

Hugo Marchal-Chaud, Romain Rieger, **Van Than Mai**, Edwin-Joffrey Courtial, Mélanie Ottenio, Catherine Bonnefont-Rebeix, Karine Bruyère, Caroline Boulocher. "Contactless mechanical stimulation of tissue engineered constructs : Development and validation of an air-pulse device". Biomaterials Advances.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2023.213401>

Conférences avec *proceedings*

V.T. MAI, R. RIEGER, R. CHATELIN, E.-J. COURTIAL, C. BOULOCHER. "A numerical prediction of fiber orientation in hydrogels for extrusion-based 3D printing". Conférence de Congrès Français de Mécanique, 2022. <https://cfm2022.fr/themes-scientifiques/s35-mecanique-des-fluides-complexes>.

Proposal à comité de lecture

Anatole Morcos, Laurent David, Guillaume Sudre, **Van Than Mai**, Tuan Anh Tran, Anayancy Osorio Madrazo, Edwin-Joffrey Courtial, Pierre Bruyère, Caroline Boulocher, Romain Rieger. "Structural anisotropy characterization of fiber reinforced hydrogels scaffolds during extrusion-based 3D printing for soft tissue repair". European Synchrotron Radiation Facility.

DOI: <https://doi.org/10.15151/ESRF-ES-932918813>

Bibliographie

- [1] C. M. Smith, A. L. Stone, R. L. Parkhill, R. L. Stewart, M. W. Simpkins, A. M. Kachurin, W. L. Warren, and S. K. Williams, “Three-dimensional bioassembly tool for generating viable tissue-engineered constructs,” *Tissue engineering*, vol. 10, no. 9-10, pp. 1566–1576, 2004. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1089/ten.2004.10.1566>
- [2] Y.-J. Seol, H.-W. Kang, S. J. Lee, A. Atala, and J. J. Yoo, “Bioprinting technology and its applications,” *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, vol. 46, no. 3, pp. 342–348, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1093/ejcts/ezu148>
- [3] I. T. Ozbolat and M. Hospodiuk, “Current advances and future perspectives in extrusion-based bioprinting,” *Biomaterials*, vol. 76, pp. 321–343, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2015.10.076>
- [4] C. Colosi, S. R. Shin, V. Manoharan, S. Massa, M. Costantini, A. Barbeta, M. R. Dokmeci, M. Dentini, and A. Khademhosseini, “Microfluidic bioprinting of heterogeneous 3d tissue constructs using low-viscosity bioink,” *Advanced materials*, vol. 28, no. 4, pp. 677–684, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/adma.201503310>
- [5] A. Faulkner-Jones, C. Fyfe, D.-J. Cornelissen, J. Gardner, J. King, A. Courtney, and W. Shu, “Bioprinting of human pluripotent stem cells and their directed differentiation into hepatocyte-like cells for the generation of mini-livers in 3d,” *Biofabrication*, vol. 7, no. 4, p. 044102, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5090/7/4/044102>
- [6] A. Schwab, R. Levato, M. D’Este, S. Piluso, D. Eglin, and J. Malda, “Printability and shape fidelity of bioinks in 3d bioprinting,” *Chemical reviews*, vol. 120, no. 19, pp. 11 028–11 055, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00084>
- [7] Y. Zhang and P. Habibovic, “Delivering mechanical stimulation to cells : state of the art in materials and devices design,” *Advanced Materials*, vol. 34, no. 32, p. 2110267, 2022. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/adma.202110267>

- [8] K. M. Yamada, A. D. Doyle, and J. Lu, “Cell–3D matrix interactions : recent advances and opportunities,” *Trends Cell Biol.*, vol. 32, no. 10, pp. 883–895, Oct. 2022. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2022.03.002>
- [9] O. Chaudhuri, J. Cooper-White, P. A. Janmey, D. J. Mooney, and V. B. Shenoy, “Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour,” *Nature*, vol. 584, no. 7822, pp. 535–546, Aug. 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2612-2>
- [10] K. Sano, Y. Ishida, and T. Aida, “Synthesis of Anisotropic Hydrogels and Their Applications,” *Angew. Chem. Int. Ed.*, vol. 57, no. 10, pp. 2532–2543, Mar. 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/anie.201708196>
- [11] E. Prince and E. Kumacheva, “Design and applications of man-made biomimetic fibrillar hydrogels,” *Nat. Rev. Mater.*, vol. 4, pp. 99–115, Feb. 2019. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/s41578-018-0077-9>
- [12] J. Azaiez, K. Chiba, F. Chinesta, and A. Poitou, “State-of-the-Art on numerical simulation of fiber-reinforced thermoplastic forming processes,” *Arch. Comput. Methods Eng.*, vol. 9, no. 2, pp. 141–198, Jun. 2002. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/BF02736650>
- [13] J. Proy, F. Massa, D. Notta-Cuvier, F. Lauro, T. Tison, and G. Spingler, “Integrating fibers and injection molding process variability in short-natural-fiber-reinforced thermoplastics behavior : A review,” *Mater. Today Commun.*, vol. 29, p. 102785, Dec. 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102785>
- [14] R. Lanza, R. Langer, and J. Vacanti, *Principles of Tissue Engineering*. Elsevier, Academic Press, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398358-9.04001-5>
- [15] A. Bonneau and C. Monchaud, “La transplantation d’organes en france,” *Actualités Pharmaceutiques*, vol. 60, no. 605, pp. 18–20, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2021.02.005>
- [16] D. Letourneur and L. Bordenave, “Ingénierie tissulaire-une approche multidisciplinaire,” *médecine/sciences*, vol. 33, no. 1, pp. 46–51, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1051/medsci/20173301008>
- [17] J. P. Vacanti and R. Langer, “Tissue engineering : the design and fabrication of living replacement devices for surgical reconstruction and transplantation,” *The lancet*, vol. 354, pp. S32–S34, 1999. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(99\)90247-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(99)90247-7)
- [18] F. J. O’Brien, “Biomaterials & scaffolds for tissue engineering,” *Materials today*, vol. 14, no. 3, pp. 88–95, 2011. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(11\)70058-X](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(11)70058-X)
- [19] C. M. Nelson and J. Tien, “Microstructured extracellular matrices in tissue engineering and development,” *Current opinion in biotechnology*, vol. 17, no. 5, pp. 518–523, 2006. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2006.08.011>

- [20] L. J. Pourchet, A. Thepot, M. Albouy, E. J. Courtial, A. Boher, L. J. Blum, and C. A. Marquette, "Human skin 3d bioprinting using scaffold-free approach," *Advanced Healthcare Materials*, vol. 6, no. 4, p. 1601101, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/adhm.201601101>
- [21] X. Cui, K. Breitenkamp, M. Finn, M. Lotz, and D. D. D'Lima, "Direct human cartilage repair using three-dimensional bioprinting technology," *Tissue Engineering Part A*, vol. 18, no. 11-12, pp. 1304–1312, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2011.0543>
- [22] F. P. Melchels, M. A. Domingos, T. J. Klein, J. Malda, P. J. Bartolo, and D. W. Hutmacher, "Additive manufacturing of tissues and organs," *Progress in polymer science*, vol. 37, no. 8, pp. 1079–1104, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.11.007>
- [23] Y. S. Nam, J. J. Yoon, and T. G. Park, "A novel fabrication method of macroporous biodegradable polymer scaffolds using gas foaming salt as a porogen additive," *Journal of Biomedical Materials Research : An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, vol. 53, no. 1, pp. 1–7, 2000. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(2000\)53:1<1::AID-JBM1>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(2000)53:1<1::AID-JBM1>3.0.CO;2-R)
- [24] S. H. Oh, S. G. Kang, E. S. Kim, S. H. Cho, and J. H. Lee, "Fabrication and characterization of hydrophilic poly (lactic-co-glycolic acid)/poly (vinyl alcohol) blend cell scaffolds by melt-molding particulate-leaching method," *Biomaterials*, vol. 24, no. 22, pp. 4011–4021, 2003. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00284-9](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00284-9)
- [25] C. Li, C. Vepari, H.-J. Jin, H. J. Kim, and D. L. Kaplan, "Electrospun silk-bmp-2 scaffolds for bone tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 27, no. 16, pp. 3115–3124, 2006. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.01.022>
- [26] J. Yu, S. A. Park, W. D. Kim, T. Ha, Y.-Z. Xin, J. Lee, and D. Lee, "Current advances in 3d bioprinting technology and its applications for tissue engineering," *Polymers*, vol. 12, no. 12, p. 2958, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/polym12122958>
- [27] S. J. Hollister, "Porous scaffold design for tissue engineering," *Nature materials*, vol. 4, no. 7, pp. 518–524, 2005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/nmat1421>
- [28] V. Lee, G. Singh, J. P. Trasatti, C. Bjornsson, X. Xu, T. N. Tran, S.-S. Yoo, G. Dai, and P. Karande, "Design and fabrication of human skin by three-dimensional bioprinting," *Tissue Engineering Part C : Methods*, vol. 20, no. 6, pp. 473–484, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1089/ten.tec.2013.0335>
- [29] Y. E. Choonara, L. C. du Toit, P. Kumar, P. P. Kondiah, and V. Pillay, "3d-printing and the effect on medical costs : a new era?" *Expert review of*

- pharmacoeconomics & outcomes research*, vol. 16, no. 1, pp. 23–32, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1586/14737167.2016.1138860>
- [30] A. Arslan-Yildiz, R. El Assal, P. Chen, S. Guven, F. Inci, and U. Demirci, “Towards artificial tissue models : past, present, and future of 3d bioprinting,” *Biofabrication*, vol. 8, no. 1, p. 014103, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/1/014103>
- [31] P. S. Gungor-Ozkerim, I. Inci, Y. S. Zhang, A. Khademhosseini, and M. R. Dokmeci, “Bioinks for 3d bioprinting : an overview,” *Biomaterials science*, vol. 6, no. 5, pp. 915–946, 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1039/C7BM00765E>
- [32] M. Guvendiren, J. Molde, R. M. Soares, and J. Kohn, “Designing biomaterials for 3d printing,” *ACS biomaterials science & engineering*, vol. 2, no. 10, pp. 1679–1693, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.6b00121>
- [33] S. Ji and M. Guvendiren, “Recent advances in bioink design for 3d bioprinting of tissues and organs,” *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, vol. 5, p. 23, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3389/fbioe.2017.00023>
- [34] D. Chimene, R. Kaunas, and A. K. Gaharwar, “Hydrogel bioink reinforcement for additive manufacturing : a focused review of emerging strategies,” *Advanced materials*, vol. 32, no. 1, p. 1902026, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/adma.201902026>
- [35] M. Whitaker, “The history of 3d printing in healthcare,” *The Bulletin of the Royal College of Surgeons of England*, vol. 96, no. 7, pp. 228–229, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1308/147363514X13990346756481>
- [36] D. Clucas and J. Egas, “Additive manufactured functional prime mover,” *Energy Procedia*, vol. 110, pp. 136–142, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2017.03.118>
- [37] M. K. Włodarczyk-Biegun and A. Del Campo, “3d bioprinting of structural proteins,” *Biomaterials*, vol. 134, pp. 180–201, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.04.019>
- [38] S. V. Murphy and A. Atala, “3d bioprinting of tissues and organs,” *Nature biotechnology*, vol. 32, no. 8, pp. 773–785, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/nbt.2958>
- [39] L. Pourchet, “Développement d’une bio-encre pour la bioimpression 3d de tissus vivants : étude de la formulation et caractérisation du développement tissulaire,” Ph.D. dissertation, Université de Lyon, 2018. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-02065562>
- [40] K. Christensen, C. Xu, W. Chai, Z. Zhang, J. Fu, and Y. Huang, “Freeform inkjet printing of cellular structures with bifurcations,” *Biotechnology and bioengineering*, vol. 112, no. 5, pp. 1047–1055, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/bit.25501>

-
- [41] J. Bohandy, B. Kim, and F. Adrian, “Metal deposition from a supported metal film using an excimer laser,” *Journal of Applied Physics*, vol. 60, no. 4, pp. 1538–1539, 1986. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1063/1.337287>
- [42] J. A. Barron, B. R. Ringeisen, H. Kim, B. J. Spargo, and D. B. Chrisey, “Application of laser printing to mammalian cells,” *Thin Solid Films*, vol. 453, pp. 383–387, 2004. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2003.11.161>
- [43] N. Jones *et al.*, “Science in three dimensions : the print revolution,” *Nature*, vol. 487, no. 7405, pp. 22–23, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/487022a>
- [44] B. Guillotin, A. Souquet, S. Catros, M. Duocastella, B. Pippenger, S. Bellance, R. Bareille, M. Rémy, L. Bordenave, J. Amédée *et al.*, “Laser assisted bioprinting of engineered tissue with high cell density and microscale organization,” *Biomaterials*, vol. 31, no. 28, pp. 7250–7256, 2010. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.05.055>
- [45] R. Landers, U. Hübner, R. Schmelzeisen, and R. Mülhaupt, “Rapid prototyping of scaffolds derived from thermoreversible hydrogels and tailored for applications in tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 23, no. 23, pp. 4437–4447, 2002. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(02\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(02)00139-4)
- [46] C. C. Chang, E. D. Boland, S. K. Williams, and J. B. Hoying, “Direct-write bioprinting three-dimensional biohybrid systems for future regenerative therapies,” *Journal of Biomedical Materials Research Part B : Applied Biomaterials*, vol. 98, no. 1, pp. 160–170, 2011. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.b.31831>
- [47] S. Khalil and W. Sun, “Biopolymer deposition for freeform fabrication of hydrogel tissue constructs,” *Materials Science and Engineering : C*, vol. 27, no. 3, pp. 469–478, 2007. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.msec.2006.05.023>
- [48] L. Ning and X. Chen, “A brief review of extrusion-based tissue scaffold bio-printing,” *Biotechnology journal*, vol. 12, no. 8, p. 1600671, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/biot.201600671>
- [49] J. M. Unagolla and A. C. Jayasuriya, “Hydrogel-based 3d bioprinting : A comprehensive review on cell-laden hydrogels, bioink formulations, and future perspectives,” *Applied materials today*, vol. 18, p. 100479, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100479>
- [50] D. M. Kirchmayer, R. Gorkin Iii *et al.*, “An overview of the suitability of hydrogel-forming polymers for extrusion-based 3d-printing,” *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 3, no. 20, pp. 4105–4117, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1039/C5TB00393H>
- [51] J.-C. Fricain, H. De Olivera, R. Devillard, J. Kalisky, M. Remy, V. Kériquel, D. Le Nihounen, A. Grémare, V. Guduric, A. Plaud *et al.*, “Impression 3d en médecine régénératrice et ingénierie tissulaire,” *médecine/sciences*, vol. 33, no. 1, pp. 52–59, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1051/medsci/20173301009>

- [52] A. B. Dababneh and I. T. Ozbolat, “Bioprinting technology : a current state-of-the-art review,” *Journal of Manufacturing Science and Engineering*, vol. 136, no. 6, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1115/1.4028512>
- [53] R. Chang, J. Nam, and W. Sun, “Effects of dispensing pressure and nozzle diameter on cell survival from solid freeform fabrication–based direct cell writing,” *Tissue Engineering Part A*, vol. 14, no. 1, pp. 41–48, 2008. [Online]. Available : <http://doi.org/10.1089/ten.a.2007.0004>
- [54] K. Nair, M. Gandhi, S. Khalil, K. C. Yan, M. Marcolongo, K. Barbee, and W. Sun, “Characterization of cell viability during bioprinting processes,” *Biotechnology Journal : Healthcare Nutrition Technology*, vol. 4, no. 8, pp. 1168–1177, 2009. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/biot.200900004>
- [55] M. Guvendiren, H. D. Lu, and J. A. Burdick, “Shear-thinning hydrogels for biomedical applications,” *Soft matter*, vol. 8, no. 2, pp. 260–272, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1039/C1SM06513K>
- [56] E. Boccardi, I. Belova, G. Murch, A. Boccaccini, and T. Fiedler, “Oxygen diffusion in marine-derived tissue engineering scaffolds,” *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*, vol. 26, pp. 1–9, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5531-2>
- [57] W. E. Teo, W. He, and S. Ramakrishna, “Electrospun scaffold tailored for tissue-specific extracellular matrix,” *Biotechnology Journal*, vol. 1, 2006. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/biot.200600044>
- [58] S. Naghieh and X. Chen, “Printability—a key issue in extrusion-based bioprinting,” *Journal of Pharmaceutical Analysis*, vol. 11, no. 5, pp. 564–579, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.02.001>
- [59] M. Maisani, “Conception et développement d’hydrogels pour l’ingénierie tissulaire appliquée au tissu osseux,” Ph.D. dissertation, Université de Bordeaux ; Université Laval (Québec, Canada), 2017. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-02306692>
- [60] R. Khoeni, H. Nosrati, A. Akbarzadeh, A. Eftekhari, T. Kavetsky, R. Khalilov, E. Ahmadian, A. Nasibova, P. Datta, L. Roshangar *et al.*, “Natural and synthetic bioinks for 3d bioprinting,” *Advanced NanoBiomed Research*, vol. 1, no. 8, p. 2000097, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/anbr.202000097>
- [61] L. Almany and D. Seliktar, “Biosynthetic hydrogel scaffolds made from fibrinogen and polyethylene glycol for 3d cell cultures,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 15, pp. 2467–2477, 2005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.06.047>
- [62] K. Y. Lee and D. J. Mooney, “Hydrogels for tissue engineering,” *Chemical reviews*, vol. 101, no. 7, pp. 1869–1880, 2001. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/cr000108x>
- [63] B. H. Thomas, J. C. Fryman, K. Liu, and J. Mason, “Hydrophilic–hydrophobic hydrogels for cartilage replacement,” *Journal of the mechanical behavior of*

- biomedical materials*, vol. 2, no. 6, pp. 588–595, 2009. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2008.08.001>
- [64] J. Zhu and R. E. Marchant, “Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds,” *Expert review of medical devices*, vol. 8, no. 5, pp. 607–626, 2011. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1586/erd.11.27>
- [65] S. Ricard-Blum and F. Ruggiero, “The collagen superfamily : from the extracellular matrix to the cell membrane,” *Pathologie Biologie*, vol. 53, no. 7, pp. 430–442, 2005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2004.12.024>
- [66] E. Hesse, T. E. Hefferan, J. E. Tarara, C. Haasper, R. Meller, C. Krettek, L. Lu, and M. J. Yaszemski, “Collagen type i hydrogel allows migration, proliferation, and osteogenic differentiation of rat bone marrow stromal cells,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 94, no. 2, pp. 442–449, 2010. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32696>
- [67] M. Hospodiuk, M. Dey, D. Sosnoski, and I. T. Ozbolat, “The bioink : A comprehensive review on bioprintable materials,” *Biotechnology advances*, vol. 35, no. 2, pp. 217–239, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2016.12.006>
- [68] B. Chevally and D. Herbage, “Collagen-based biomaterials as 3d scaffold for cell cultures : applications for tissue engineering and gene therapy,” *Medical and Biological Engineering and Computing*, vol. 38, no. 2, pp. 211–218, 2000. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/BF02344779>
- [69] C. Liu, Z. Xia, Z. Han, P. Hulley, J. Triffitt, and J. Czernuszka, “Novel 3d collagen scaffolds fabricated by indirect printing technique for tissue engineering,” *Journal of Biomedical Materials Research Part B : Applied Biomaterials : An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, vol. 85, no. 2, pp. 519–528, 2008. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.b.30975>
- [70] J. Y. Park, J.-C. Choi, J.-H. Shim, J.-S. Lee, H. Park, S. W. Kim, J. Doh, and D.-W. Cho, “A comparative study on collagen type i and hyaluronic acid dependent cell behavior for osteochondral tissue bioprinting,” *Biofabrication*, vol. 6, no. 3, p. 035004, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5082/6/3/035004>
- [71] S. Vanaei, M. Parizi, F. Salemizadehparizi, and H. Vanaei, “An overview on materials and techniques in 3d bioprinting toward biomedical application,” *Engineered Regeneration*, vol. 2, pp. 1–18, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.engreg.2020.12.001>
- [72] A. Mallik, N. Sakib, A. Zaman, S. Rahman, M. Islam, S. Islam, P. Haque, and M. Rahman, “Benefits of renewable hydrogels over acrylate-and acrylamide-based hydrogels,” *Cellulose-Based Superabsorbent Hydrogels*, pp. 197–243, 2019. [Online]. Available : https://doi.org/10.1007/978-3-319-76573-0_10-1

- [73] E. Okonkwo, C. Ezeanyanaso, O. Ofoegbu, E. Ali, and N. Iyamu, "Extraction and characterization of gelatin from cow bones : Using substitute demineralizing agent (h₂so₄," *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, vol. 13, no. 2, pp. 189–191, 2007. [Online]. Available : <https://doi.org/10.4314/gjpas.v13i2.16692>
- [74] S. Petros, T. Tesfaye, and M. Ayele, "A review on gelatin based hydrogels for medical textile applications," *Journal of Engineering*, vol. 2020, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1155/2020/8866582>
- [75] M. Sebastian, "Industrial gelatin manufacture–theory and practice," 2014. [Online]. Available : http://www.123library.org/book_details/?id=13040
- [76] M. Echave, P. Sánchez, J. Pedraz, and G. Orive, "Progress of gelatin-based 3d approaches for bone regeneration," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 42, pp. 63–74, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.04.012>
- [77] K. Su and C. Wang, "Recent advances in the use of gelatin in biomedical research," *Biotechnology letters*, vol. 37, no. 11, pp. 2139–2145, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s10529-015-1907-0>
- [78] W. Aljohani, M. W. Ullah, X. Zhang, and G. Yang, "Bioprinting and its applications in tissue engineering and regenerative medicine," *International journal of biological macromolecules*, vol. 107, pp. 261–275, 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.171>
- [79] A. Skardal and A. Atala, "Biomaterials for integration with 3-d bioprinting," *Annals of biomedical engineering*, vol. 43, no. 3, pp. 730–746, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s10439-014-1207-1>
- [80] A. Leucht, A.-C. Volz, J. Rogal, K. Borchers, and P. Kluger, "Advanced gelatin-based vascularization bioinks for extrusion-based bioprinting of vascularized bone equivalents," *Scientific reports*, vol. 10, no. 1, pp. 1–15, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62166-w>
- [81] C. Yung, L. Wu, J. Tullman, G. Payne, W. Bentley, and T. Barbari, "Transglutaminase crosslinked gelatin as a tissue engineering scaffold," *Journal of Biomedical Materials Research Part A : An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, vol. 83, no. 4, pp. 1039–1046, 2007. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.a.31431>
- [82] M. Di Giuseppe, N. Law, B. Webb, R. A. Macrae, L. J. Liew, T. B. Sercombe, R. J. Dilley, and B. J. Doyle, "Mechanical behaviour of alginate-gelatin hydrogels for 3d bioprinting," *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, vol. 79, pp. 150–157, 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2017.12.018>
- [83] W. Aljohani, L. Wenchao, M. Ullah, X. Zhang, and G. Yang, "Application of Sodium Alginate Hydrogel," *IOSR Journal of Biotechnology and Biochemistry*, vol. 03, pp. 19–31, May 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.9790/264X-03031931>

- [84] S. N. Pawar and K. J. Edgar, “Alginate derivatization : A review of chemistry, properties and applications,” *Biomaterials*, vol. 33, no. 11, pp. 3279–3305, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.007>
- [85] Q. Chen, X. Tian, J. Fan, H. Tong, Q. Ao, and X. Wang, “An interpenetrating alginate/gelatin network for three-dimensional (3d) cell cultures and organ bioprinting,” *Molecules*, vol. 25, no. 3, p. 756, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/molecules25030756>
- [86] K. Y. Lee and D. J. Mooney, “Alginate : properties and biomedical applications,” *Progress in polymer science*, vol. 37, no. 1, pp. 106–126, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003>
- [87] M. A. LeRoux, F. Guilak, and L. A. Setton, “Compressive and shear properties of alginate gel : effects of sodium ions and alginate concentration,” *Journal of Biomedical Materials Research : An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, vol. 47, no. 1, pp. 46–53, 1999. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199910\)47:1<46::AID-JBM6>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199910)47:1<46::AID-JBM6>3.0.CO;2-N)
- [88] K. K. Lai, R. Renneberg, and W. C. Mak, “High efficiency single-step biomaterial-based microparticle fabrication via template-directed supramolecular coordination chemistry,” *Green Chemistry*, vol. 18, no. 6, pp. 1715–1723, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1039/C5GC02424B>
- [89] P. Rastogi and B. Kandasubramanian, “Review of alginate-based hydrogel bioprinting for application in tissue engineering,” *Biofabrication*, vol. 11, no. 4, p. 042001, 2019. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab331e>
- [90] M. Mobaraki, M. Ghaffari, A. Yazdanpanah, Y. Luo, and D. Mills, “Bioinks and bioprinting : A focused review,” *Bioprinting*, vol. 18, p. e00080, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00080>
- [91] S. Ahn, H. Lee, L. J. Bonassar, and G. Kim, “Cells (mc3t3-e1)-laden alginate scaffolds fabricated by a modified solid-freeform fabrication process supplemented with an aerosol spraying,” *Biomacromolecules*, vol. 13, no. 9, pp. 2997–3003, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/bm3011352>
- [92] K. Markstedt, A. Mantas, I. Tournier, H. Martínez Ávila, D. Hagg, and P. Gatenholm, “3d bioprinting human chondrocytes with nanocellulose–alginate bioink for cartilage tissue engineering applications,” *Biomacromolecules*, vol. 16, no. 5, pp. 1489–1496, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.5b00188>
- [93] T. Xu, C. Baicu, M. Aho, M. Zile, and T. Boland, “Fabrication and characterization of bio-engineered cardiac pseudo tissues,” *Biofabrication*, vol. 1, no. 3, p. 035001, 2009. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5082/1/3/035001>

- [94] B. Duan, L. A. Hockaday, K. H. Kang, and J. T. Butcher, “3d bioprinting of heterogeneous aortic valve conduits with alginate/gelatin hydrogels,” *Journal of biomedical materials research Part A*, vol. 101, no. 5, pp. 1255–1264, 2013. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34420>
- [95] L. Y. Koo, D. J. Irvine, A. M. Mayes, D. A. Lauffenburger, and L. G. Griffith, “Co-regulation of cell adhesion by nanoscale rgd organization and mechanical stimulus,” *Journal of cell science*, vol. 115, no. 7, pp. 1423–1433, 2002. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1242/jcs.115.7.1423>
- [96] E. Ruoslahti, “Rgd and other recognition sequences for integrins,” *Annual review of cell and developmental biology*, vol. 12, 1996. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.12.1.697>
- [97] J. W. Weisel, “Fibrinogen and fibrin,” *Advances in protein chemistry*, vol. 70, pp. 247–299, 2005. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0065-3233\(05\)70008-5](https://doi.org/10.1016/S0065-3233(05)70008-5)
- [98] B. A. de Melo, Y. A. Jodat, E. M. Cruz, J. C. Benincasa, S. R. Shin, and M. A. Porcionatto, “Strategies to use fibrinogen as bioink for 3d bioprinting fibrin-based soft and hard tissues,” *Acta Biomaterialia*, vol. 117, pp. 60–76, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2020.09.024>
- [99] C. Walker and D. Royston, “Thrombin generation and its inhibition : a review of the scientific basis and mechanism of action of anticoagulant therapies,” *British journal of anaesthesia*, vol. 88, no. 6, pp. 848–863, 2002. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1093/bja/88.6.848>
- [100] I. Juhan-Vague and M. Hans, “Du fibrinogène à la fibrine et sa dissolution,” *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*, vol. 187, no. 1, pp. 69–84, 2003. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0001-4079\(19\)34081-6](https://doi.org/10.1016/S0001-4079(19)34081-6)
- [101] N. E. Hudson, “Biophysical mechanisms mediating fibrin fiber lysis,” *BioMed research international*, vol. 2017, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1155/2017/2748340>
- [102] A. Fatimi, O. V. Okoro, D. Podstawczyk, J. Siminska-Stanny, and A. Shavandi, “Natural hydrogel-based bio-inks for 3d bioprinting in tissue engineering : A review,” *Gels*, vol. 8, no. 3, p. 179, 2022. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/gels8030179>
- [103] A. Borzacchiello, L. Ambrosio, P. Netti, L. Nicolais, C. Peniche, A. Gallardo, and J. San Roman, “Chitosan-based hydrogels : synthesis and characterization,” *Journal of Materials Science : Materials in Medicine*, vol. 12, no. 10, pp. 861–864, 2001. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1023/A:1012851402759>
- [104] F. Dupasquier, “Hydrogels physiques de chitosane pour la régénération in vivo du tissu cutané après brûlures du troisième degré,” Ph.D. dissertation, Université Claude Bernard-Lyon I, 2011. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-00830801>
- [105] A. Kamdem Tamo, I. Doench, L. Walter, A. Montembault, G. Sudre, L. David, A. Morales-Helguera, M. Selig, B. Rolauuffs, A. Bernstein *et al.*, “Development

- of bioinspired functional chitosan/cellulose nanofiber 3d hydrogel constructs by 3d printing for application in the engineering of mechanically demanding tissues,” *Polymers*, vol. 13, no. 10, p. 1663, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/polym13101663>
- [106] A. Ribeiro, M. M. Blokzijl, R. Levato, C. W. Visser, M. Castilho, W. E. Hennink, T. Vermonden, and J. Malda, “Assessing bioink shape fidelity to aid material development in 3d bioprinting,” *Biofabrication*, vol. 10, no. 1, p. 014102, 2017. [Online]. Available : <https://10.1088/1758-5090/aa90e2>
- [107] M. Sarker and X. Chen, “Modeling the flow behavior and flow rate of medium viscosity alginate for scaffold fabrication with a three-dimensional bioplotter,” *Journal of Manufacturing Science and Engineering*, vol. 139, no. 8, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1115/1.4036226>
- [108] F. P. Melchels, W. J. Dhert, D. W. Hutmacher, and J. Malda, “Development and characterisation of a new bioink for additive tissue manufacturing,” *Journal of Materials Chemistry B*, vol. 2, no. 16, pp. 2282–2289, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1039/C3TB21280G>
- [109] J. Jia, D. J. Richards, S. Pollard, Y. Tan, J. Rodriguez, R. P. Visconti, T. C. Trusk, M. J. Yost, H. Yao, R. R. Markwald *et al.*, “Engineering alginate as bioink for bioprinting,” *Acta biomaterialia*, vol. 10, no. 10, pp. 4323–4331, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2014.06.034>
- [110] N. Lagneau, “Conception d’hydrogels à la composition et aux propriétés mécaniques ajustables pour l’étude des interactions cellules-matériaux et l’amélioration de la thérapie cellulaire de l’arthrose,” Ph.D. dissertation, Nantes Université, 2022.
- [111] N. Paxton, W. Smolan, T. Böck, F. Melchels, J. Groll, and T. Jungst, “Proposal to assess printability of bioinks for extrusion-based bioprinting and evaluation of rheological properties governing bioprintability,” *Biofabrication*, vol. 9, no. 4, p. 044107, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aa8dd8>
- [112] J. Malda, J. Visser, F. P. Melchels, T. Jüngst, W. E. Hennink, W. J. Dhert, J. Groll, and D. W. Hutmacher, “25th anniversary article : engineering hydrogels for biofabrication,” *Advanced materials*, vol. 25, no. 36, pp. 5011–5028, 2013. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/adma.201302042>
- [113] L. Lemarié, A. Anandan, E. Petiot, C. Marquette, and E.-J. Courtial, “Rheology, simulation and data analysis toward bioprinting cell viability awareness,” *Bioprinting*, vol. 21, p. e00119, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2020.e00119>
- [114] E. Mitsoulis, S. Abdali, and N. Markatos, “Flow simulation of herschel-bulkley fluids through extrusion dies,” *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, vol. 71, no. 1, pp. 147–160, 1993. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/cjce.5450710120>

- [115] V. H. Mouser, F. P. Melchels, J. Visser, W. J. Dhert, D. Gawlitta, and J. Malda, “Yield stress determines bioprintability of hydrogels based on gelatin-methacryloyl and gellan gum for cartilage bioprinting,” *Biofabrication*, vol. 8, no. 3, p. 035003, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/3/035003>
- [116] D. Chimene, C. W. Peak, J. L. Gentry, J. K. Carrow, L. M. Cross, E. Mondragon, G. B. Cardoso, R. Kaunas, and A. K. Gaharwar, “Nanoengineered ionic-covalent entanglement (nice) bioinks for 3d bioprinting,” *ACS applied materials & interfaces*, vol. 10, no. 12, pp. 9957–9968, 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/acsami.7b19808>
- [117] F. P. Melchels, M. M. Blokzijl, R. Levato, Q. C. Peiffer, M. De Ruijter, W. E. Hennink, T. Vermonden, and J. Malda, “Hydrogel-based reinforcement of 3d bioprinted constructs,” *Biofabrication*, vol. 8, no. 3, p. 035004, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5090/8/3/035004>
- [118] Y. Naito, T. Shinoka, D. Duncan, N. Hibino, D. Solomon, M. Cleary, A. Rathore, C. Fein, S. Church, and C. Breuer, “Vascular tissue engineering : towards the next generation vascular grafts,” *Advanced drug delivery reviews*, vol. 63, no. 4-5, pp. 312–323, 2011. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.03.001>
- [119] M. Zolti, Z. Ben-Rafael, R. Meiom, M. Shemesh, D. Bider, S. Mashiach, and R. N. Apte, “Cytokine involvement in oocytes and early embryos,” *Fertility and sterility*, vol. 56, no. 2, pp. 265–272, 1991. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0015-0282\(16\)54483-5](https://doi.org/10.1016/S0015-0282(16)54483-5)
- [120] J. Sanz-Ezquerro, A. Munsterberg, and S. Stricker, “Editorial : Signaling pathways in embryonic development. front cell dev biol 5 : 76,” 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00076>
- [121] O. Jeon and E. Alsberg, “Photofunctionalization of alginate hydrogels to promote adhesion and proliferation of human mesenchymal stem cells,” *Tissue Engineering Part A*, vol. 19, no. 11-12, pp. 1424–1432, 2013. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2012.0581>
- [122] G. Sabbatier, “Conception et élaboration d’échafaudages de nanofibres à dégradation contrôlée pour des applications en médecine régénératrice vasculaire,” Ph.D. dissertation, Université de Haute Alsace-Mulhouse; Université Laval (Québec, Canada), 2015. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-01652106v1>
- [123] D. Dado and S. Levenberg, “Cell-scaffold mechanical interplay within engineered tissue,” in *Seminars in cell & developmental biology*, vol. 20, no. 6. Elsevier, 2009, pp. 656–664. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.semcd.2009.02.001>
- [124] K. H. Vining and D. J. Mooney, “Mechanical forces direct stem cell behaviour in development and regeneration,” *Nature reviews Molecular cell biology*, vol. 18, no. 12, pp. 728–742, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.108>
- [125] H.-I. Chang and Y. Wang, “Cell responses to surface and architecture of tissue engineering scaffolds,” in *Regenerative medicine and tissue engineering-cells and*

- biomaterials*. InTechOpen, 2011. [Online]. Available : <https://doi.org/10.5772/21983>
- [126] D. E. Ingber, “Cellular mechanotransduction : putting all the pieces together again,” *The FASEB journal*, vol. 20, no. 7, pp. 811–827, 2006. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1096/fj.05-5424rev>
- [127] S. Fusco, V. Panzetta, V. Embrione, and P. A. Netti, “Crosstalk between focal adhesions and material mechanical properties governs cell mechanics and functions,” *Acta biomaterialia*, vol. 23, pp. 63–71, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2015.05.008>
- [128] A. Higuchi, Q.-D. Ling, Y. Chang, S.-T. Hsu, and A. Umezawa, “Physical cues of biomaterials guide stem cell differentiation fate,” *Chemical reviews*, vol. 113, no. 5, pp. 3297–3328, 2013. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/cr300426x>
- [129] H. A. Declercq, T. Desmet, P. Dubruel, and M. J. Cornelissen, “The role of scaffold architecture and composition on the bone formation by adipose-derived stem cells,” *Tissue Engineering Part A*, vol. 20, no. 1-2, pp. 434–444, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2013.0179>
- [130] S. J. Sequeira, D. A. Soscia, B. Oztan, A. P. Mosier, R. Jean-Gilles, A. Gadre, N. C. Cady, B. Yener, J. Castracane, and M. Larsen, “The regulation of focal adhesion complex formation and salivary gland epithelial cell organization by nanofibrous plga scaffolds,” *Biomaterials*, vol. 33, no. 11, pp. 3175–3186, 2012. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.01.010>
- [131] C. O. Urrutia, M. V. Dominguez-García, J. Flores-Estrada, A. Laguna-Camacho, J. Castillo-Cadena, and M. V. Flores-Merino, “Mechanical stimulation of cells through scaffold design for tissue engineering,” *Scaffolds Tissue Eng. Technol. Clin. Appl*, vol. 147, p. 9925, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.5772/intechopen.69925>
- [132] M. Aragona, T. Panciera, A. Manfrin, S. Giulitti, F. Michielin, N. Elvassore, S. Dupont, and S. Piccolo, “A mechanical checkpoint controls multicellular growth through yap/taz regulation by actin-processing factors,” *Cell*, vol. 154, no. 5, pp. 1047–1059, 2013. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.07.042>
- [133] R. El-Ayoubi, C. DeGrandpré, R. DiRaddo, A.-M. Yousefi, and P. Lavigne, “Design and dynamic culture of 3d-scaffolds for cartilage tissue engineering,” *Journal of biomaterials applications*, vol. 25, no. 5, pp. 429–444, 2011. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1177/0885328209355332>
- [134] E. Y. Salinas, J. C. Hu, and K. Athanasiou, “A guide for using mechanical stimulation to enhance tissue-engineered articular cartilage properties,” *Tissue Engineering Part B : Reviews*, vol. 24, no. 5, pp. 345–358, 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2018.0006>
- [135] R. L. Mauck, S. B. Nicoll, S. L. Seyhan, G. A. Ateshian, and C. T. Hung, “Synergistic action of growth factors and dynamic loading for articular cartilage

- tissue engineering,” *Tissue engineering*, vol. 9, no. 4, pp. 597–611, 2003. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1089/107632703768247304>
- [136] C. A. Powell, B. L. Smiley, J. Mills, and H. H. Vandenburg, “Mechanical stimulation improves tissue-engineered human skeletal muscle,” *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, vol. 283, no. 5, pp. C1557–C1565, 2002. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00595.2001>
- [137] J. L. Drury and D. J. Mooney, “Hydrogels for tissue engineering : scaffold design variables and applications,” *Biomaterials*, vol. 24, no. 24, pp. 4337–4351, 2003. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0142-9612\(03\)00340-5](https://doi.org/10.1016/S0142-9612(03)00340-5)
- [138] T. Guo, J. P. Ringel, C. G. Lim, L. G. Bracaglia, M. Noshin, H. B. Baker, D. A. Powell, and J. P. Fisher, “Three dimensional extrusion printing induces polymer molecule alignment and cell organization within engineered cartilage,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 106, no. 8, pp. 2190–2199, 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.a.36426>
- [139] C.-M. Lo, H.-B. Wang, M. Dembo, and Y.-l. Wang, “Cell movement is guided by the rigidity of the substrate,” *Biophysical journal*, vol. 79, no. 1, pp. 144–152, 2000. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0006-3495\(00\)76279-5](https://doi.org/10.1016/S0006-3495(00)76279-5)
- [140] D. Karamichos, R. Brown, and V. Mudera, “Complex dependence of substrate stiffness and serum concentration on cell-force generation,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A : An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, vol. 78, no. 2, pp. 407–415, 2006. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.a.30814>
- [141] C. Chaubaroux, “Revêtements à base de collagène pour la fonctionnalisation de biomatériaux,” Ph.D. dissertation, Strasbourg, 2013. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-01062185>
- [142] B. Chan and K. Leong, “Scaffolding in tissue engineering : general approaches and tissue-specific considerations,” *European spine journal*, vol. 17, pp. 467–479, 2008. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00586-008-0745-3>
- [143] P. Weiss, “In vitro experiments on the factors determining the course of the outgrowing nerve fiber,” *Journal of Experimental Zoology*, vol. 68, no. 3, pp. 393–448, 1934. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jez.1400680304>
- [144] —, “Experiments on cell and axon orientation in vitro : the role of colloidal exudates in tissue organization,” *Journal of Experimental Zoology*, vol. 100, no. 3, pp. 353–386, 1945. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jez.1401000305>
- [145] G. Dunn *et al.*, “Some aspects of contact guidance,” 1978. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(78\)90196-9](https://doi.org/10.1016/0014-4827(78)90196-9)
- [146] P. Clark, P. Connolly, A. Curtis, J. Dow, and C. Wilkinson, “Topographical control of cell behaviour : I. simple step cues,” *Development*, vol. 99, no. 3, pp. 439–448, 1987. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1242/dev.99.3.439>

-
- [147] G. Thrivikraman, A. Jagiello, V. K. Lai, S. L. Johnson, M. Keating, A. Nelson, B. Schultz, C. M. Wang, A. J. Levine, E. L. Botvinick *et al.*, “Cell contact guidance via sensing anisotropy of network mechanical resistance,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 118, no. 29, p. e2024942118, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1073/pnas.2024942118>
- [148] M. Werner, N. A. Kurniawan, and C. V. Bouten, “Cellular geometry sensing at different length scales and its implications for scaffold design,” *Materials*, vol. 13, no. 4, p. 963, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/ma13040963>
- [149] U. Gedde, *Polymer physics*. Springer Science & Business Media, 1995. [Online]. Available : https://doi.org/10.1007/978-94-011-0543-9_9
- [150] K. M. Yamada, A. D. Doyle, and J. Lu, “Cell-3d matrix interactions : Recent advances and opportunities,” *Trends in Cell Biology*, 2022. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2022.03.002>
- [151] O. Chaudhuri, J. Cooper-White, P. A. Janmey, D. J. Mooney, and V. B. Shenoy, “Effects of extracellular matrix viscoelasticity on cellular behaviour,” *Nature*, vol. 584, no. 7822, pp. 535–546, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2612-2>
- [152] X. Li, Z. Chen, H. Zhang, Y. Zhuang, H. Shen, Y. Chen, Y. Zhao, B. Chen, Z. Xiao, and J. Dai, “Aligned scaffolds with biomolecular gradients for regenerative medicine,” *Polymers*, vol. 11, no. 2, p. 341, 2019. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/polym11020341>
- [153] D. Karamichos, N. Lakshman, and W. M. Petroll, “Regulation of corneal fibroblast morphology and collagen reorganization by extracellular matrix mechanical properties,” *Investigative ophthalmology & visual science*, vol. 48, no. 11, pp. 5030–5037, 2007. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1167/iovs.07-0443>
- [154] Y. Liu, Y. Ji, K. Ghosh, R. A. Clark, L. Huang, and M. H. Rafailovich, “Effects of fiber orientation and diameter on the behavior of human dermal fibroblasts on electrospun pmma scaffolds,” *Journal of Biomedical Materials Research Part A : An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, vol. 90, no. 4, pp. 1092–1106, 2009. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/jbm.a.32165>
- [155] F. Yang, R. Murugan, S. Wang, and S. Ramakrishna, “Electrospinning of nano/micro scale poly (l-lactic acid) aligned fibers and their potential in neural tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 26, no. 15, pp. 2603–2610, 2005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.06.051>
- [156] B. Jourdain, C. Le Bris, T. Lelièvre, and F. Otto, “Long-time asymptotics of a multiscale model for polymeric fluid flows,” *Archive for Rational Mechanics and Analysis*, vol. 181, pp. 97–148, 2006. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00205-005-0411-4>

- [157] M. Kröger and J. Vermant, “The structure and rheology of complex fluids,” *Applied Rheology*, vol. 10, no. 3, pp. 110–111, 2000. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1515/arh-2000-0024>
- [158] G. Cidonio, M. Glinka, J. Dawson, and R. Oreffo, “The cell in the ink : Improving biofabrication by printing stem cells for skeletal regenerative medicine,” *Biomaterials*, vol. 209, pp. 10–24, 2019. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.04.009>
- [159] R. B. Bird, R. C. Armstrong, and O. Hassager, “Dynamics of polymeric liquids. vol. 1 : Fluid mechanics,” 1987. [Online]. Available : <https://www.osti.gov/biblio/6164599>
- [160] R. I. Tanner, *Engineering rheology*. OUP Oxford, 2000, vol. 52.
- [161] C. Xu, M. Zhang, Y. Huang, A. Ogale, J. Fu, and R. R. Markwald, “Study of droplet formation process during drop-on-demand inkjetting of living cell-laden bioink,” *Langmuir*, vol. 30, no. 30, pp. 9130–9138, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1021/la501430x>
- [162] M. Brillinger and K. A. Pendl, “Non newtonian material behaviour in extrusion based 3d printing : Investigation of critical process parameters,” in *6th World Congress on Mechanical, Chemical, and Material Engineering*, 2020, pp. 1–10. [Online]. Available : <https://doi.org/10.11157/mmme20.117>
- [163] W. W. Graessley, *Polymeric liquids & networks : structure and properties*. Garland Science, 2003. [Online]. Available : <https://doi.org/10.4324/9780203506127>
- [164] R. G. Larson, “The structure and rheology of complex fluids,” (*No Title*), 1999.
- [165] E. Pruliere, “Modélisation de la microstructuration dans les polymères chargés. application à la mise en forme.” Ph.D. dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I, 2007. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-00265341>
- [166] C. Binetruy, F. Chinesta, and R. Keunings, *Flows in Polymers, reinforced polymers and composites : A multi-Scale approach*. Springer, 2015. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/978-3-319-16757-2>
- [167] T. McLeish, “Dynamics of polymeric liquids, vol. 2 : kinetic theory, 2nd ed. : by r.b. bird, c.f. curtiss, r.c. armstrong and o. hassager, john wiley and sons, new york, ny, 1987, isbn 0-471-01596-2, 437 pp.,” *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, vol. 33, no. 1, pp. 111–117, 1989. [Online]. Available : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0377025789800242>
- [168] M. Doi, S. F. Edwards, and S. F. Edwards, *The theory of polymer dynamics*. oxford university press, 1988, vol. 73.
- [169] H. C. Öttinger and H. C. Öttinger, “Stochastic processes, polymer dynamics, and fluid mechanics,” *Stochastic Processes in Polymeric Fluids : Tools and Examples for Developing Simulation Algorithms*, pp. 1–15, 1996. [Online]. Available : https://doi.org/10.1007/978-3-642-58290-5_1

-
- [170] R. Keunings, “On the peterlin approximation for finitely extensible dumbbells,” *Journal of non-newtonian fluid mechanics*, vol. 68, no. 1, pp. 85–100, 1997. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0377-0257\(96\)01497-8](https://doi.org/10.1016/S0377-0257(96)01497-8)
- [171] —, “Micro-macro methods for the multiscale simulation of viscoelastic flow using molecular models of kinetic theory,” *Rheology reviews*, pp. 67–98, 2004.
- [172] P. Degond and H. Liu, “Kinetic models for polymers with inertial effects,” *arXiv preprint arXiv :0901.1909*, 2009. [Online]. Available : <https://doi.org/10.48550/arXiv.0901.1909>
- [173] R. Bird, A. Giacomin, A. Schmalzer, and C. Aumnate, “Dilute rigid dumbbell suspensions in large-amplitude oscillatory shear flow : Shear stress response,” *The Journal of Chemical Physics*, vol. 140, no. 7, p. 074904, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1063/1.4862899>
- [174] L. M. Jbara and A. J. Giacomin, “Orientation distribution function pattern for rigid dumbbell suspensions in any simple shear flow,” *Macromolecular Theory and Simulations*, vol. 28, no. 1, p. 1800046, 2019. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/mats.201800046>
- [175] M. Doi and S. F. Edwards, “Dynamics of rod-like macromolecules in concentrated solution. part 1,” *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, vol. 74, pp. 560–570, 1978. [Online]. Available : <http://dx.doi.org/10.1039/F29787400560>
- [176] —, “Dynamics of rod-like macromolecules in concentrated solution. part 2,” *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 2*, vol. 74, pp. 918–932, 1978. [Online]. Available : <http://dx.doi.org/10.1039/F29787400918>
- [177] G. B. Jeffery, “The motion of ellipsoidal particles immersed in a viscous fluid,” *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing papers of a mathematical and physical character*, vol. 102, no. 715, pp. 161–179, 1922. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1098/rspa.1922.0078>
- [178] S. Mason and R. S. J. Manley, “Particle motions in sheared suspensions : orientations and interactions of rigid rods,” *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, vol. 238, no. 1212, pp. 117–131, 1956. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1098/rspa.1956.0207>
- [179] B. Trevelyan and S. Mason, “Particle motions in sheared suspensions. i. rotations,” *Journal of Colloid Science*, vol. 6, no. 4, pp. 354–367, 1951. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0095-8522\(51\)90005-0](https://doi.org/10.1016/0095-8522(51)90005-0)
- [180] F. Folgar and C. L. Tucker III, “Orientation behavior of fibers in concentrated suspensions,” *Journal of reinforced plastics and composites*, vol. 3, no. 2, pp. 98–119, 1984. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1177/073168448400300201>
- [181] S. G. Advani and C. L. Tucker III, “The use of tensors to describe and predict fiber orientation in short fiber composites,” *Journal of rheology*, vol. 31, no. 8, pp. 751–784, 1987. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1122/1.549945>

- [182] H. Brenner, “Rheology of a dilute suspension of axisymmetric brownian particles,” *International journal of multiphase flow*, vol. 1, no. 2, pp. 195–341, 1974. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0301-9322\(74\)90018-4](https://doi.org/10.1016/0301-9322(74)90018-4)
- [183] P. Arp and M. SG, “Interactions between two rods in shear flow.” 1977.
- [184] A. Redjeb, “Simulation numérique de l’orientation de fibres en injection de thermoplastique renforcé,” Ph.D. dissertation, École Nationale Supérieure des Mines de Paris, 2007. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-00332719/>
- [185] R. S. Bay and C. L. Tucker III, “Fiber orientation in simple injection moldings. part ii : Experimental results,” *Polymer composites*, vol. 13, no. 4, pp. 332–341, 1992. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/pc.750130410>
- [186] N. Phan-Thien, X. Fan, R. Tanner, and R. Zheng, “Folgar–tucker constant for a fibre suspension in a newtonian fluid,” *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, vol. 103, no. 2-3, pp. 251–260, 2002. [Online]. Available : [10.1016/S0377-0257\(02\)00006-X](https://doi.org/10.1016/S0377-0257(02)00006-X)
- [187] G. Beaume, “Modélisation et simulation numérique directe de l’écoulement d’un fluide complexe,” *Mines ParisTech, PhD Thesis*, 2008. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-00472328/>
- [188] Y. Yamane, Y. Kaneda, and M. Dio, “Numerical simulation of semi-dilute suspensions of rodlike particles in shear flow,” *Journal of non-newtonian fluid mechanics*, vol. 54, pp. 405–421, 1994. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0377-0257\(94\)80033-2](https://doi.org/10.1016/0377-0257(94)80033-2)
- [189] H. Miled, “Modélisation de l’orientation de fibres induite par l’écoulement et comportement élastique anisotrope à l’état solide,” Ph.D. dissertation, École Nationale Supérieure des Mines de Paris, 2010. [Online]. Available : <https://hal.science/pastel-00712985/>
- [190] G. L. Hand, “A theory of anisotropic fluids,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 13, no. 1, pp. 33–46, 1962. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1017/S0022112062000476>
- [191] E. Hinch and L. Leal, “Constitutive equations in suspension mechanics. part 1. general formulation,” *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 71, no. 3, pp. 481–495, 1975. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1017/S0022112075002698>
- [192] C. Devillard, “Développement de tissus vasculaires par bioimpression 3d,” Ph.D. dissertation, Université de Lyon, 2021. [Online]. Available : <https://hal.science/tel-03770219>
- [193] A. Montembault, K. Tahiri, C. Korwin-Zmijowska, X. Chevalier, M.-T. Corvol, and A. Domard, “A material decoy of biological media based on chitosan physical hydrogels : application to cartilage tissue engineering,” *Biochimie*, vol. 88, no. 5, pp. 551–564, 2006. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2006.03.002>

-
- [194] I. Doench, T. Ahn Tran, L. David, A. Montembault, E. Viguiier, C. Gorzelanny, G. Sudre, T. Cachon, M. Louback-Mohamed, N. Horbelt *et al.*, “Cellulose nanofiber-reinforced chitosan hydrogel composites for intervertebral disc tissue repair,” *Biomimetics*, vol. 4, no. 1, p. 19, 2019. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/biomimetics4010019>
- [195] P. Duan, N. Kandemir, J. Wang, and J. Chen, “Rheological characterization of alginate based hydrogels for tissue engineering,” *MRS Advances*, vol. 2, pp. 1309–1314, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1557/adv.2017.8>
- [196] T. Labonté-Dupuis, “Influence des propriétés rhéologiques et des paramètres d’extrusion sur les structures créées par bio-impression 3d,” Ph.D. dissertation, École de technologie supérieure, 2021. [Online]. Available : <https://espace.etsmtl.ca/id/eprint/2951>
- [197] J. K. Hwang and H. H. Shin, “Rheological properties of chitosan solutions,” *Korea-Australia Rheology Journal*, vol. 12, no. 3-4, pp. 175–179, 2000. [Online]. Available : <https://www.cheric.org/research/tech/periodicals/view.php?seq=280249>
- [198] W. W. Graessley, “The entanglement concept in polymer rheology,” *The entanglement concept in polymer rheology*, pp. 1–179, 2005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/BFb0031037>
- [199] G. Gillispie, P. Prim, J. Copus, J. Fisher, A. G. Mikos, J. J. Yoo, A. Atala, and S. J. Lee, “Assessment methodologies for extrusion-based bioink printability,” *Biofabrication*, vol. 12, no. 2, p. 022003, 2020. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1088/1758-5090/ab6f0d>
- [200] I. Doench, M. E. Torres-Ramos, A. Montembault, P. Nunes de Oliveira, C. Halimi, E. Viguiier, L. Heux, R. Siadous, R. M. Thiré, and A. Osorio-Madrado, “Injectable and gellable chitosan formulations filled with cellulose nanofibers for intervertebral disc tissue engineering,” *Polymers*, vol. 10, no. 11, p. 1202, 2018. [Online]. Available : <https://doi.org/10.3390/polym10111202>
- [201] L. Wenger, S. Strauß, and J. Hubbuch, “Automated and dynamic extrusion pressure adjustment based on real-time flow rate measurements for precise ink dispensing in 3d bioprinting,” *Bioprinting*, vol. 28, p. e00229, 2022. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.bprint.2022.e00229>
- [202] S. R. Strand, S. Kim, and S. J. Karrila, “Computation of rheological properties of suspensions of rigid rods : stress growth after inception of steady shear flow,” *Journal of non-newtonian fluid mechanics*, vol. 24, no. 3, pp. 311–329, 1987. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/0377-0257\(87\)80044-7](https://doi.org/10.1016/0377-0257(87)80044-7)
- [203] W. C. Jackson, S. G. Advani, and C. L. Tucker, “Predicting the orientation of short fibers in thin compression moldings,” *Journal of composite materials*, vol. 20, no. 6, pp. 539–557, 1986. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1177/002199838602000603>

- [204] M. Kamal and A. Mutel, “The prediction of flow and orientation behavior of short fiber reinforced melts in simple flow systems,” *Polymer composites*, vol. 10, no. 5, pp. 337–343, 1989. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/pc.750100510>
- [205] R. S. Bay, *Fiber orientation in injection-molded composites : A comparison of theory and experiment*. University of Illinois at Urbana-Champaign, 1991.
- [206] K.-H. Han and Y.-T. Im, “Modified hybrid closure approximation for prediction of flow-induced fiber orientation,” *Journal of Rheology*, vol. 43, no. 3, pp. 569–589, 1999. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1122/1.551002>
- [207] Z. Kun and L. Jian-zhong, “Research on the behavior of fiber orientation probability distribution function in the planar flows,” *Journal of Zhejiang University-SCIENCE A*, vol. 6, no. 4, pp. 257–264, 2005. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/BF02842053>
- [208] J. Férec, *Étude et modélisation du comportement rhéologique de suspensions de fibres rigides en régime non-dilué*. École polytechnique de Montréal, 2008. [Online]. Available : <https://publications.polymtl.ca/8182/>
- [209] Q. Zhang, X. Gao, and W. Shi, “Numerical research on the three-dimensional fiber orientation distribution in planar suspension flows,” *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, vol. 34, pp. 307–316, 2017. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170341s20140184>
- [210] D. Mezi, G. Ausias, S. G. Advani, and J. Férec, “Fiber suspension in 2d nonhomogeneous flow : The effects of flow/fiber coupling for newtonian and power-law suspending fluids,” *Journal of Rheology*, vol. 63, no. 3, pp. 405–418, 2019. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1122/1.5081016>
- [211] H. K. Versteeg and W. Malalasekera, *An introduction to computational fluid dynamics : the finite volume method*. Pearson education, 2007.
- [212] M. C. Altan, S. Subbiah, S. I. Güçeri, and R. B. Pipes, “Numerical prediction of three-dimensional fiber orientation in hele-shaw flows,” *Polymer Engineering & Science*, vol. 30, no. 14, pp. 848–859, 1990. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/pen.760301408>
- [213] I. T. Ozbolat, H. Chen, and Y. Yu, “Development of ‘multi-arm bioprinter’ for hybrid biofabrication of tissue engineering constructs,” *Robotics and Computer-Integrated Manufacturing*, vol. 30, no. 3, pp. 295–304, 2014. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1016/j.rcim.2013.10.005>
- [214] B. E. VerWeyst and C. L. Tucker III, “Fiber suspensions in complex geometries : Flow/orientation coupling,” *The Canadian Journal of Chemical Engineering*, vol. 80, no. 6, pp. 1093–1106, 2002. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/cjce.5450800611>
- [215] J. Azaiez and R. Guénette, “Numerical modelling of the flow of fibre suspensions through a planar contraction,” *The Canadian Journal of Chemical*

- Engineering*, vol. 80, no. 6, pp. 1115–1125, 2002. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/cjce.5450800613>
- [216] K. Chiba, K. Yasuda, and K. Nakamura, “Numerical solution of fiber suspension flow through a parallel plate channel by coupling flow field with fiber orientation distribution,” *Journal of non-newtonian fluid mechanics*, vol. 99, no. 2-3, pp. 145–157, 2001. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0377-0257\(01\)00118-5](https://doi.org/10.1016/S0377-0257(01)00118-5)
- [217] P. Wilms, J. Wieringa, T. Blijdenstein, K. van Malssen, and R. Kohlus, “Quantification of shear viscosity and wall slip velocity of highly concentrated suspensions with non-newtonian matrices in pressure driven flows,” *Rheologica Acta*, vol. 60, no. 8, pp. 423–437, 2021. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1007/s00397-021-01281-5>
- [218] J. Azaiez, R. Guenette, and A. Ait-Kadi, “Investigation of the abrupt contraction flow of fiber suspensions in polymeric fluids,” *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, vol. 73, no. 3, pp. 289–316, 1997. [Online]. Available : [https://doi.org/10.1016/S0377-0257\(97\)00047-5](https://doi.org/10.1016/S0377-0257(97)00047-5)
- [219] A. Redjeb, L. Silva, and P. Laure, “Numerical simulation of fiber orientation in injection molding process,” in *Proceeding of PPS-21*, Leipzig, Germany, 2005. [Online]. Available : https://math.unice.fr/~laure/articles/ARedjeb_PLaure_LSilva_MVincent_TCoupez_PPS2005.pdf
- [220] A. Blaeser, D. F. Duarte Campos, U. Puster, W. Richtering, M. M. Stevens, and H. Fischer, “Controlling shear stress in 3d bioprinting is a key factor to balance printing resolution and stem cell integrity,” *Advanced healthcare materials*, vol. 5, no. 3, pp. 326–333, 2016. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1002/adhm.201500677>
- [221] V. MAIa, R. CHATELIN, E. COURTIAL, C. BOULOCHER, and R. RIEGER, “Numerical modeling of hydrogel scaffold anisotropy during extrusion-based 3d printing for tissue engineering vt maia, b, r. chatelinc, e.-j. courtiald, c. boulochere, r. riegera, b.” [Online]. Available : <http://arxiv.org/abs/2310.02734>
- [222] A. Morcos, L. David, G. Sudre, R. Rieger, A.-T. Tran, A. Osorio-Madrado, E.-J. Courtial, P. Bruyère, C. Boulocher *et al.*, “Structural anisotropy characterization of fiber-reinforced hydrogels scaffolds during extrusion-based 3d printing for soft tissue repair.” Ph.D. dissertation, Ecole Centrale Lyon; VetAgro Sup, 2023. [Online]. Available : <https://doi.org/10.15151/ESRF-ES-932918813>
- [223] P. Munier, S. E. Hadi, M. Segad, and L. Bergström, “Rheo-saxs study of shear-induced orientation and relaxation of cellulose nanocrystal and montmorillonite nanoplatelet dispersions,” *Soft Matter*, vol. 18, no. 2, pp. 390–396, 2022. [Online]. Available : <https://doi.org/10.1039/D1SM00837D>