

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER**  
**FACULTE DE SANTE**  
**DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNEE : 2024

THESE 2024 TOU3 2135

**THESE**

**POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Présentée et soutenue publiquement  
par

**OLIVIER CORENTIN**

**QUELLE CONTRIBUTION ATTENDRE DE LA BIO-IMPRESSIION FACE AUX ENJEUX DE  
L'ONCOLOGIE ?**

Date de soutenance  
13/12/2024

Directeur de thèse : PEYRO-SAINT-PAUL Hélène

**JURY**

Président : COUDERC Bettina  
1er assesseur : FULLANA-GIROD Sophie  
2ème assesseur : FACON Chloé  
3ème assesseur : PIENKOWSKI Arthur

**PERSONNEL ENSEIGNANT**  
**du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé**  
**au 04/11/2024**

**Professeurs Emérites**

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire	M. PARINI A. Physiologie
M. BENOIST H.	Immunologie	
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie	
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire	
M. SALLES B.	Toxicologie	

**Professeurs des Universités**

**Hospitalo-Universitaires**

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie – Virologie
M. PUISSET F. (*)	Pharmacie Clinique
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B. (Directrice-adjointe)	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

**Universitaires**

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie Analytique
Mme BOUTET E.	Toxicologie – Sémiologie
Mme COLACIOS C. (*)	Immunologie
Mme COSTE A.	Parasitologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Doyen-directeur)	Physiologie
Mme DERA EVE C.	Chimie Thérapeutique
Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme WHITE-KONING M.	Mathématiques

## Maîtres de Conférences des Universités

### Hospitolo-Universitaires

Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
Mme ROUCH L(*)	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

### Universitaires

M. ANTRAYGUES Kevin	Chimie Thérapeutique
Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BROUILLET F(*)	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie – Virologie
Mme COMPAGNE Nina	Chimie Pharmaceutique
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
M. FARGE Thomas	Physiologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A. (*)	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S (*)	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
Mme ROYO J.	Chimie Analytique
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme VANSTEEELANDT M.	Pharmacognosie

(\*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

## Enseignants non titulaires

### Assistants Hospitolo-Universitaires

Mme CLARAZ P.	Pharmacie Clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme DINTILHAC A.	Droit Pharmaceutique
Mme GERAUD M.	Biochimie
M. GRACIA M.	Pharmacologie
Mme PETIT A-E.	Pharmacie Clinique
Mme PEREZ P.	Hématologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie Clinique

### Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme CROSSAY E.	Pharmacognosie
Mme GRISETI H.	Biochimie
Mme MONIER M.	Microbiologie
M. SAOUDI M.	Pharmacie Galénique

# REMERCIEMENTS

*A Madame la présidente du jury,*

**Le Professeur Bettina COUDERC,**

Merci de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.

C'est grâce à l'un de vos cours en UE de Master 1 de Biotechnologie et Ingénierie Biomédicale que j'ai décidé de continuer dans la filière Industrie et que j'en suis là aujourd'hui professionnellement.

Soyez assuré de ma profonde considération.

***A ma directrice de thèse,***

**Le Docteur Hélène PEYRO-SAINT-PAUL,**

Je te remercie sincèrement et te suis très reconnaissant d'avoir accepté de diriger mon travail de thèse.

Tu m'as toujours accompagné, guidé et suivi durant mon parcours dans le vaste monde de l'industrie Pharmaceutique et c'est en partie grâce à toi que j'en suis là aujourd'hui.

Vois au travers de ce travail, le témoignage de ma sincère admiration professionnelle.

*A mes jurys,*

**Le Professeur Sophie GIROD FULLANA,**

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse et espère que ce travail vous intéressera. Merci également pour ces années à la Faculté de Pharmacie.

**Le Docteur Chloé FACON,**

Je te remercie sincèrement d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse.  
Merci de ton accueil et ton soutien lors de mes premiers jours chez Trois Prime, qui m'ont permis de vivre pleinement cette expérience professionnelle.  
Soit assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

**Le Docteur Arthur PIENKOWSKI,**

Je te remercie également d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse.  
Bien que nous ayons pris des voies professionnelles un peu différentes, nous avons toujours partagé cette passion de l'innovation en santé. J'espère donc que ce travail pourra t'intéresser.

**A Teresa**, Endlich bin ich frei von dieser Doktorarbeit, die mir seit unserem Kennenlernen an den Fersen klebte! Wir werden das kommende Jahr endlich zu zweit und dann zu dritt genießen können. Ich danke dir für deine Unterstützung und deine Liebe. Ich kann es kaum erwarten, diese unerwartete Reise mit dir fortzusetzen!

**A mon fils**, bien que tu ne sois pas encore parmi nous, saches que beaucoup de personnes t'aiment déjà très fort. En espérant que tu sois un jour fier de ton cher père qui a passé sa thèse en te voyant grandir un peu plus chaque jour dans le ventre de ta mère.

**A mes très chers parents**, ça y est, enfin nous y sommes ! J'espère que vous serez fiers de moi autant que je suis fier d'avoir deux parents aussi merveilleux que vous. Merci pour votre soutien et votre amour indéfectible. Merci pour ces 31 parfaites années que j'ai eu la chance de vivre auprès de vous et Raphaël. Il n'est pas possible d'espérer mieux que cette famille qui s'agrandira un peu plus l'an prochain. Je sais que vous serez d'extraordinaires grands parents. Je vous aime (et qu'il est doux à mon oreille de ne bientôt plus entendre papa râler).

**A mon frère Raphaël**, qui a toujours été un exemple pour moi de droiture et de réussite. Merci d'être et de rester toujours mon grand frère avec qui je peux faire des warhammers un matin de Noël, me battre en armure dans le jardin et faire des balades en calèche en Allemagne avec un peu de Glühwein. Je t'aime mon frérot.

**A Claire(2D2)**, je ne te remercierai jamais assez d'avoir réussi à te débarrasser de ce poster de Marilyn Monroe qui hante encore mes nuits. Merci pour ces moments partagés ensemble et merci de faire perdre Raph aux jeux de sociétés, c'est un réel plaisir pour moi.

**A Manou**, sans qui rien de tout ça n'aurait été possible. En espérant que le pacte signé ensemble continuera encore le temps qu'il faudra. Je t'aime très fort ma petite Manou et merci de nous avoir donné cette belle famille.

**A la famille Olivier**, Michou, Natou, Gaëlle, SébAstien, Elio, Enora, Hélène, Yanould, Anaïs et Loïc, il va falloir trouver une nouvelle chanson pour mes 35 ans ! Je vous aime tous très fort et vous remercie pour ces moments familiaux qui me sont chers.

**A mes cousines Julie et Claire**, ainsi que leurs chers et tendres Alex, Vincent et Lisa, merci pour cette troupe d'impro'cousinade, il me tarde que l'on remette ça tous ensemble chaque année.

**A mes cousins**, Lucie, Chris, Fafa et Dominique, merci pour votre soutien et votre foi dans cette thèse, nous pouvons enfin célébrer ça correctement !

**A ma famille at large**, Paul, Emilie, Sébastien, Clémence, Nani, Pascale, Christine, Babeth, Kinou, merci pour votre soutien !

**A ma belle-famille**, David, Jessi, HeinzG et Ula, Vielen Dank für Ihre Gastfreundschaft und Liebe von Anfang an. Ich bin sehr glücklich, dass ich jetzt ein bisschen mehr zur Familie gehöre.

**A mon très cher Vincent Guy**, mon FDC, qui a toujours été là pour moi et qui arrive encore à me supporter malgré mes appels quotidiens pour des séances gratuites. Je souhaite que nos aventures continuent indéfiniment et que nos fils deviennent à leurs tours meilleurs amis pour continuer la saga. Merci d'être qui tu es. (Forever LAF).

**A Clairon et Louis**, je suis si heureux de vous connaître et de pouvoir passer des moments avec vous, surtout sous ce rayon de soleil qui vient frotter le museau à notre endroit favori que tu connais bien Clairon (imagine toi avec un petit café bien chaud entre les mains).

**A Fatima et Yo**, merci Fatou d'être là après toute ces années, je suis si heureux que tu sois dans ma vie et bientôt dans celle de mon fils. J'espère que tu l'aideras aussi à se déconstruire et à être une bonne personne cultivée et engagée.

**A Simouss, Marin et Léoncho**, merci pour tous ces moments d'amitiés que nous partageons depuis de belles années, et merci d'avoir ouvert le bal de cette bande de bébé avec votre petit Léon.

**A Marmou, M. Rosetta et Annita**, muchas graçias claro que si ! Nous rejoignons enfin la bande parentale et il me tarde de vivre tout ça avec vous. Vivement la saison 4 du chalet en 2025, le bowling risque d'être mouvementé.

**A Morgan, Moune et le petit Marceau**, merci à tous les trois pour tous ces moments (mention spéciale à la cave du downtown factory), je vous souhaite tout le bonheur possible pour ces belles années à venir.

**A Ambroise, Marion et Felix**, mes amis Albigeo-Bretons qui j'espère seront toujours partant pour l'aventure malgré cette bande qui s'agrandit de jour en jour !

**A mes amis Gaguou (MP/Ours blanc), Yanos (Ours brun), et Oscarito**, vivement les prochains excès de folie a coup de Nerfs.

**A mes amis d'enfance Thomas, Victor et Lucas**, qui malgré les années et la distance restent présents.

**A Valentin**, mon frère de folie, merci de partager toutes les mêmes passions que moi. Nous célébrons 2024 en tant que Docteurs MhMh. Vivement le prochain Duel au sommet avec nos Chantelames ! Tu seras un super tonton maître d'arme. Et a Sarah que j'ai le plaisir de connaître et qui a été d'une aide précieuse pour organiser ta thèse.

**A BK**, mon éternelle binôme avec qui je souhaite encore philosopher sur la vie pendant longtemps. Merci de m'offrir de nouvelles perspectives et ce depuis nos belles années de détectives botanistes.

**A Raph Bouyou**, et sa petite famille qui s'agrandit ! Merci de nourrir cette amitié comme tu le fais (et maintenir ce sacré Valou).

**A Victor Vladimir**, mon très cher ami qui fait honneur à la Couronne ! C'est un plaisir de vous avoir parmi nous à la Capitale et de pouvoir échanger sur les KPIs de la vie.



**Aux collabZ et associés**, Adri, Marlon Momo, le H, Soso, Chachoux, Améyey, Santak, Léo, merci pour ces années et ces souvenirs précieux d'un temps qui semblait si simple !

**A Arthur, Agathe et Achille (AAA)**, merci pour ces moments passés ensemble à Paris dans une vie qui me semble si lointaine. Arthuro, merci à toi mon pote pour tous ces moments depuis la Paces, en passant par quelques cases Fac partagées ensemble et enfin cette colloc' improbable mais si géniale. Merci de détester les nouveaux StarWars autant que moi, il me tarde que nos fils s'affrontent à coups de sabre lasers.

**A mes amis de l'ESCP, Fanny (et Gab), Joyce (et Jo), Romane, François (et Léa)**, merci pour cette folle année d'école et cette amitié qui s'est scellée dans trop de bars Londoniens et Singapouriens. Que cela continue encore longtemps !

**A mes boys de la SKEP, Loulou, Thibaut, Julien, Polo, Thomas, Robin, François, Deniss, Vikye**, je ne sais toujours pas si je suis resté dans le coma depuis ce départ à moto au Vietnam ou si l'appartement maudit de Londres a eu raison de nous, mais en tout cas, je garderai à vie ces souvenirs partagés avec les génies du SinkTank de la SKEP.

**A mes girlz Awawawa, Nourituch, Klowey and Dédéy vintage**, que dire à part merci d'être là pour de vrai dans la vie et là pour moi quand je vous fais des podcasts de l'enfer suivi d'une « nose pic ». « L'expérience » 3P n'aurais pas été la même sans vous et je suis si heureux de vous y avoir rencontré et de continuer à faire la fiesta (et des prises de kravmaga sur Nourit awawa). Vous êtes les bests et j'espère qu'on pourra toujours faire la fêt, la fêt, la fêt tous ensemble.

**A mes ex-collègues de 3P**, JC, Edouardo, Lina, Soraya, Salim, Seb, Thibz, Ouerdia, Polé, Bassim, avec qui j'ai partagé de beaux moments.

**A mes collègues de Lundbeck, Lolo la magie, Freddo et Jojopariso**, merci d'avoir été là et d'être là pour moi au quotidien dans cette folle aventure !

# TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS .....	4
TABLE DES ABREVIATIONS .....	13
INTRODUCTION.....	15
PARTIE 1 - IMPRESSION 3D EN SANTE AVEC DES MATERIAUX INERTES .....	16
A.    IMPRESSION 3D : CONCEPT GENERAL ET TECHNIQUES.....	16
I.    Origines et évolution de l'impression 3D .....	17
1)    Les années 80 : invention des trois principales méthodes d'impression 3D .....	17
2)    Les années 90 à 2010 : innovations et démocratisation de l'impression 3D .....	18
II.   Techniques d'impression 3D .....	19
1)    Un principe de base.....	19
2)    Des approches techniques multiples.....	20
B.    APPLICATIONS DE L'IMPRESSION 3D EN SANTE AVEC DES MATERIAUX INERTES .....	22
I)    Pour un usage externe .....	22
1)    Matériel médical.....	22
2)    Prothèses et orthèses .....	22
3)    Modèles anatomiques et instruments chirurgicaux.....	24
II)   Pour un usage interne .....	25
1)    Implants .....	25
2)    Production de médicaments.....	26
PARTIE 2 – BIO-IMPRESSON : IMPRESSION 3D EN SANTE AVEC DES MATERIAUX VIVANTS.....	29
A.    CONCEPT GENERAL ET TECHNIQUES DE LA BIO-IMPRESSON.....	29
I)    Origine et évolution .....	29
II)   Techniques de bio-impression.....	30
1)    Bio-impression par extrusion.....	30
2)    Bio-impression basée sur des gouttelettes.....	31
3)    Bio-impression basée sur la photopolymérisation .....	33
4)    Analyse comparative des techniques de bio-impression .....	34
B.    APPLICATIONS MEDICALES DE LA BIO-IMPRESSON .....	35
I)    En recherche expérimentale et pharmaceutique .....	37
1)    Modélisation de tissus biologiques.....	37
2)    Découverte et développement des médicaments.....	38
II)   En clinique .....	40

1) Traitement des brûlures et cicatrisation des plaies.....	40
2) Remplacement des tissus osseux et cartilagineux.....	40
PARTIE 3 - QUEL ROLE POUR LA BIO-IMPRESSION EN ONCOLOGIE ?.....	42
A. RECHERCHE FONDAMENTALE ET PHARMACEUTIQUE EN ONCOLOGIE .....	42
I) Reproduction du microenvironnement tumoral (MET) .....	43
1) Composition du MET .....	43
2) MET et bio-impression.....	43
II) Mécanismes des métastases .....	44
III) Mécanismes de résistance .....	45
1) Cancer du sein .....	45
2) Glioblastome.....	46
3) Cancer colo-rectal.....	46
IV) Recherche et développement de médicaments .....	47
V) Une étape indispensable de recherche translationnelle .....	48
B. BIO-IMPRESSION ET ONCOLOGIE CLINIQUE.....	49
PARTIE 4 – DEFIS ET PERSPECTIVES DE LA BIO-IMPRESSION.....	52
A. DEFIS TECHNIQUES .....	52
I. Défis liés à la technologie cellulaire.....	52
II. Défis liés à la technologie de fabrication.....	53
1. Matériel utilisé.....	53
2. Biomimétisme .....	54
III. Défis liés à la maturation des tissus.....	55
B. DEFIS REGLEMENTAIRES.....	55
I. Réglementation de l'impression 3D en santé.....	55
1) Cadre réglementaire de la FDA .....	55
a) Documents de travail proposés par la FDA.....	55
b) Position des parties prenantes sur la proposition réglementaire 'impression 3D PoC (Point of Care) » .....	56
2) Cadre réglementaire de l'Union Européenne .....	57
a) Requis réglementaires pour atteindre la mise sur le marché .....	57
b) Requis en phase post mise sur le marché.....	58
c) Fabrication sur le lieu de soins (PoC).....	58
d) Droits de propriété intellectuelle .....	59
e) Protection et confidentialité des données .....	59
II. Réglementation de la bio-impression .....	60
1) Classification du risque .....	61

2) Normes et contrôle de la qualité .....	61
3) Fabrication sur le lieu de soins (Point of care) .....	61
4) Matériaux et logiciels .....	62
5) Propriété légale du tissu bio-imprimé .....	62
6) Un cadre réglementaire qui doit évoluer .....	63
C. PERSPECTIVES DE LA BIO-IMPRESSION .....	64
I) Optimisation des techniques de bio-impression.....	64
II) Surveillance post-commercialisation .....	64
III) Dériveres potentielles de la bio-impression .....	65
1) Marchandisation des tissus et organes .....	65
2) Transhumanisme .....	66
3) Enjeux éthiques .....	66
CONCLUSION .....	67
BIBLIOGRAPHIE.....	68

# TABLE DES ABREVIATIONS

ABS : Acrylonitrile butadiène styrène  
AP-HP : Assistance Publique-Hôpitaux de Paris  
ATMP : « Advanced therapy medicinal products » (Médicaments de thérapie avancée)  
BHE : Barrière Hémato-Encéphalique  
BPF : Bonnes pratiques de fabrication  
CAF : « Carcinoma-associated fibroblasts » (Fibroblastes associés au cancer)  
CAO : Conception Assistée par Ordinateur  
CBER : « Center for Biologics Evaluation and Research » (Centre d'évaluation et de recherche sur les produits biologiques de la FDA)  
CDER : « Center for Drug Evaluation and Research » (Centre d'évaluation et de recherche sur les médicaments de la FDA)  
CDRH : « Center for Devices and Radiological Health » (Centre pour les dispositifs et la santé radiologique de la FDA)  
CE : Commission Européenne / Marquage CE (commercialisés dans l'UE)  
CIH : Normes du Conseil international d'harmonisation  
CLIP : « Continuous Liquid Interface Production » (Production continue d'interface liquide)  
dECM : « Decellularized Extracellular Matrix » (Matrice extracellulaire dé-cellularisée)  
DLP : « Digital light processing » (Traitement numérique de la lumière)  
DMD : « Direct Metal Deposition » (Dispositif à miroir numérique)  
DMLS : « Direct Metal Laser Sintering » (Frittage direct de métaux par laser)  
DPI : Droits de propriété intellectuelle  
FDA : « Food and Drug Administration » (Agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux)  
FDM : « Fused Deposition Modeling » (Dépôt de fil fondu)  
FFF : « Fused Filament Fabrication » (autre procédé de type dépôt de fil fondu)  
FRESH : « Freeform Reversible Embedding of Suspended Hydrogel » (Technique d'incorporation réversible de formes libres d'hydrogels suspendus)  
GAM : « Glioma-associated macrophages » (Macrophages associés au glioblastome)  
HTS : « High-Throughput Screening » (Criblage à haut débit)  
IA : Intelligence artificielle  
IPSC : « Induced pluripotent stem cells » (Cellules souches pluripotentes induites)  
IRM : Imagerie par résonance magnétique  
ISO : Normes de l'Organisation internationale de normalisation  
LAB : « Laser-Assisted Bioprinting » (Bio-impression assistée par laser)  
LCD : « Liquid-crystal display » (Système de projection à cristaux liquides)  
MDPS : « Medical Device Production Systems » (Systèmes de production de dispositifs médicaux)  
MDR : « Medical Device Regulation » (Règlement relatif aux dispositifs médicaux)  
MEC : Matrice extracellulaire  
MET : Microenvironnement tumoral  
MJM : « Multi-jet modeling » (Modelage à jets multiples)  
ML : « Machine learning » (Apprentissage automatique)  
MIT : « Massachusetts Institute of Technology » (Institut de technologie du Massachusetts)  
NGB : « Next-Génération Bioprinting » (Bio-impression de nouvelle génération)  
OBJ : Format de fichier informatique contenant la description d'une géométrie 3D

PEG : Polyéthylène glycol  
PLA : Acide polylactique  
PoC : « Point of care » (Lieu de soin)  
R&D : Recherche & Développement  
RGPD : Règlement général sur la protection des données  
RSNA : « Radiological Society of North America » (Société radiologique d'Amérique du Nord)  
SARS-CoV-2 : « Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 » (Coronavirus du syndrome respiratoire aigu sévère 2)  
SLA : Stéréolithographie  
SLS : « Sintering Laser System » (Frittage laser sélectif)  
SPIRIT : « Sequential printing in reversible ink template strategy » (Impression séquentielle dans un modèle d'encre réversible)  
STL : « Standard Triangle Language » ou « Standard Tessellation Language » (Langage de triangulation standard)  
TGA : « Therapeutic Goods Administration » (Administration des produits thérapeutiques Australienne)  
UE : Union Européenne  
UV : Ultra-Violet  
2, 3 et 4D : Deux, trois et quatre dimensions  
3DPoC : « 3D printing at the point of care » (Impression 3D de dispositifs médicaux sur le lieu de soins)

# INTRODUCTION

Étant un grand amateur de science-fiction, j'ai toujours été fasciné par la manière dont y est représenté le progrès médical. Entre les « caissons régénérants » du film *Elysium* (Neil Blomkamp, 2014) qui peuvent diagnostiquer et traiter quasiment toutes les maladies, le téléchargement de conscience dans une nouvelle enveloppe corporelle pour vivre éternellement dans le livre *Altered Carbon* (Richard Morgan, 2002, adapté en série en 2018) ou encore les nanorobots qui régénèrent le corps humain instantanément en cas de blessure dans le film « *Bloodshot* » (David S. F. Dave Wilson, 2020), les exemples ne manquent pas et ont un point commun : les avancées technologiques. Dans ces univers, ces technologies contribuent toutes à tendre vers une « santé parfaite », où une personne est exempte de douleur ou de maladies et peut jouir d'une longévité accrue.

Cependant, nous ne vivons pas dans un tel monde, où les maladies et la mortalité n'existent plus. Au contraire, certaines pathologies ne cessent d'augmenter dans la population, notamment les cancers <sup>1</sup>. Malgré les progrès de ces dernières années dans ce domaine, il reste encore des enjeux majeurs, de trois ordres : mieux comprendre les cancers et leur survenue, mieux les dépister et mieux les traiter.

Pour y faire face, il faut compter sur les efforts des acteurs de la santé qui contribuent continuellement à l'émergence d'innovations scientifiques. En effet, l'émergence et l'essor des biotechnologies, de la robotique, de l'intelligence artificielle ou encore du big data, transforment progressivement l'écosystème de santé et nous rapprochent chaque jour un peu plus d'un meilleur contrôle des pathologies, sinon du monde sanitaire de la science-fiction.

La bio-impression fait partie de ces technologies qui promettent d'opérer un progrès dans le monde de la santé. Fondée sur la méthode de fabrication additive (impression 3D) permettant d'imprimer couche par couche des tissus biologiques « à volonté », cette technologie séduit de plus en plus d'acteurs du monde médical. Création d'organes ou de parties d'organes artificiels pour la médecine régénératrice, transplantation, pratique chirurgicale, ou encore développement d'utilisations in vitro pour servir de modèles expérimentaux en recherche fondamentale, les possibilités et opportunités de la bio-impression sont nombreuses, et paraissent même infinies.

Il est donc intéressant de confronter cette technologie de « quasi-science-fiction » à la réalité et de se poser la question suivante : comment le potentiel de création « infinie » et sur-mesure de tissus artificiels de la bio-impression pourrait-il contribuer à résoudre les enjeux de l'oncologie ?

# PARTIE 1 - IMPRESSION 3D EN SANTE AVEC DES MATERIAUX INERTES

Posons quelques définitions et éléments de contexte principaux de cette technologie de bio-impression, afin de mieux comprendre son origine et ses principes.

Il existe de nombreuses propositions de définitions pour la bio-impression ou « bioprinting », mais nous pouvons prendre celle du cabinet de conseil Alcimed qui les résume assez bien : « *La bio-impression est une application biomédicale des technologies utilisant les principes de l'impression 3D afin de produire artificiellement des tissus biologiques vivants. Assistée par ordinateur, la constitution de tissus se fait à partir d'assemblage, couches par couches, de cellules vivantes et autres produits biologiques, le tout constituant une bio-encre. On peut parler d'impression 4D puisque la dimension temporelle est à considérer : par des processus d'auto-organisation, les cellules imprimées vont migrer afin de créer un tissu fonctionnel.* » <sup>2</sup>.

Définition qui peut également être complétée par celle du grand dictionnaire terminologique de l'Office québécois de la langue française : « *La bio-impression est fondée sur les procédés de fabrication additive : elle est réalisée à l'aide d'une bio-imprimante, qui fonctionne le plus souvent en déposant des cellules vivantes par couches successives sur un substrat. L'impression 3D d'une structure biologique est généralement séparée en deux grandes phases : la phase d'impression proprement dite, puis la phase de maturation, durant laquelle les cellules assemblées évoluent et interagissent entre elles de manière à former un tissu viable.* » <sup>3</sup>.

D'après ces deux définitions, la bio-impression met en œuvre de nombreux concepts : fabrication additive, bio-encre, bio-imprimante, impression 3D ou encore phase de maturation, témoignant de la complexité technique et scientifique de cette nouvelle technologie.

Afin d'appréhender ces notions et de rentrer plus en détails dans l'origine et le fonctionnement de la bio-impression, il est nécessaire de s'intéresser aux procédés de fabrication additive qui lui servent de base et qui renvoient à ce que l'on appelle plus communément l'impression tridimensionnelle (3D).

## A. IMPRESSION 3D : CONCEPT GENERAL ET TECHNIQUES

Le terme générique de « fabrication additive » englobe tous les processus permettant la création d'objets par ajout de matière, grâce à un procédé de fabrication thermomécanique appelé « extrusion » qui consiste à compresser un matériau pour le contraindre à traverser une filière afin de produire en continu un extrudât qui, en se superposant couche après couche, vient former l'objet souhaité.

Contrairement aux procédés de fabrication traditionnels (usinage) dits « soustractifs » par réduction ou soustraction de matériau (perçage, fraisage, tournage, etc.), qui restent lents, coûteux et limités en termes de conceptions possibles, en particulier sur les formes complexes, la fabrication additive offre un procédé rapide, peu coûteux, automatisé et beaucoup plus libre en termes de création.



La fabrication additive renvoie généralement à l'impression 3D qui utilise une « imprimante 3D » pour créer des objets tridimensionnels de manière automatisée et reproductible à partir de modèles numériques. L'imprimante 3D dépose des couches successives de matériaux, comme du plastique, du métal, ou d'autres composites (polymères...), pour construire un objet physique.

Il devient donc possible, pour toute personne possédant une imprimante 3D, de réaliser n'importe quel objet, technique et/ou artistique, plus ou moins complexe géométriquement, de très petite ou de très grande taille, rapidement, facilement et à moindre coût, pour une production en petites séries.

## **I. Origines et évolution de l'impression 3D**

### **1) Les années 80 : invention des trois principales méthodes d'impression 3D**

Le concept de fabrication additive naît dans les années 1980 au Japon, avec les expérimentations en prototypage rapide du Docteur Hideo Kodama de l'Institut Municipal de Recherche Industrielle de Nagoya. Ce fut l'un des premiers à décrire une approche de la production « couche par couche », posant ainsi les bases de la Stéréolithographie (SLA), une technique utilisant une résine photosensible qui devient solide lorsqu'elle est soumise à la lumière. Toutefois, à cause d'une date butoir de dépôt manquée, aucune demande de brevet n'a pu être faite à cette époque <sup>4</sup>.

Ce n'est que quatre ans plus tard, en juillet 1984, qu'une équipe de chercheurs français, composée de Jean-Claude André, Olivier de Witte et Alain le Méhauté, s'intéresse à la SLA et dépose le premier brevet de « fabrication additive » au nom de l'entreprise CILAS ALCATEL. Faute d'opportunités commerciales, le brevet est ensuite abandonné par la société <sup>4</sup>.

Deux ans plus tard, Charles Hull, un ingénieur américain également féru de cette technique, dépose le premier brevet pour la Stéréolithographie, un procédé de prototypage rapide permettant de fabriquer des objets solides à partir d'un modèle géométrique numérique, qui marque le point de départ de l'essor de l'impression 3D moderne. Ce brevet jouera un rôle important dans la naissance de la société « 3D Systems », l'une des premières entreprises à commercialiser cette technologie aujourd'hui devenue un acteur principal de l'impression 3D. De plus, l'entreprise sera à l'origine du format de fichier informatique « STL » pour « Standard Triangle Language » ou « Standard Tessellation Language » utilisé encore aujourd'hui pour décrire les objets dans les trois dimensions de l'espace <sup>5</sup>.

En 1987, l'entreprise DTM Corp introduit le procédé de frittage laser sélectif (SLS ou Sintering Laser System). Cette nouvelle méthode de fabrication additive permet de fabriquer des objets couche par couche par la fusion de grains de poudre polymères à l'aide d'un laser. Le brevet pour cette technique sera déposé en 1997 par Carl Deckard de l'Université du Texas.

Un an plus tard, la société américaine Stratasys développe une nouvelle technologie, également basée sur le dépôt de couches successives, appelée FDM » pour « Fused Deposition Modeling » ou « dépôt de fil fondu ». Ce procédé est à l'origine des imprimantes 3D domestiques utilisées aujourd'hui <sup>6</sup>.

C'est ainsi qu'en une décennie, les trois principales méthodes de fabrication additives sont brevetées, posant les bases de la technologie d'impression 3D.

## 2) Les années 90 à 2010 : innovations et démocratisation de l'impression 3D

A partir des années 90, le secteur de l'impression 3D évolue fortement avec l'apparition de nouvelles techniques. Par exemple, le Massachusetts Institute of Technology (MIT) développe le « multi-jet modeling » ou MJM, pour « modelage à jets multiples », semblable à l'imprimante à jet d'encre classique mais utilisant des photopolymères comme matériau d'impression. Le procédé de frittage laser sélectif SLS est adapté également pour fusionner des bases de poudres métalliques avec un laser beaucoup plus puissant pour donner naissance à la technique de « DMLS » (Direct Metal Laser Sintering)<sup>5</sup>.

Durant cette période, de nombreuses autres techniques voient le jour mais c'est seulement en 1996 que le terme « d'imprimante 3D » sera utilisé la première fois pour désigner les nouvelles machines fabriquées par les sociétés Stratasys et 3D Systems : « Genisys » et « l'Actua 2100 »<sup>7</sup>.

Toutefois, ce sont les années 2000 qui marquent véritablement un tournant dans la démocratisation de l'impression 3D. En effet, les progrès réalisés dans le domaine de l'informatique, l'utilisation d'internet et l'expiration de brevets des différentes techniques de fabrication additive, permettent une utilisation par les particuliers de ces imprimantes 3D réservées jusqu'alors au monde industriel.

L'impression 3D a connu un nouvel essor en 2005 grâce au projet « RepRap » (*replicable rapid prototyper*) du Dr Adrian Bowyer (professeur en génie mécanique de l'Université de Bath au Royaume-Uni). Il développe un modèle d'imprimante 3D financièrement abordable. Ce projet « open-source » a largement stimulé la diffusion des imprimantes 3D de bureau (utilisant la technologie FDM principalement), et la constitution de communautés de « makers », c'est-à-dire de particuliers utilisant des imprimantes 3D pour des usages personnels<sup>8</sup>.

A la même période, plusieurs brevets clés des différents procédés d'impression 3D tombent, comme celui du dépôt de fil (FDM) en 2009 ou ceux détenus par les sociétés Stratasys et 3D Systems, qui expirent en 2014. L'expiration de ces brevets a non seulement permis de baisser considérablement le prix des imprimantes 3D et d'accroître leur visibilité sur les marchés grand public mais a également permis d'ouvrir la voie à une large vague d'innovations pour d'autres entreprises<sup>8</sup>.

Par exemple la société Carbon3D et sa technologie « CLIP » présentée en 2015<sup>8</sup>, permettent une impression 3D sept fois plus rapide. Il y a aussi création de nouveaux matériaux d'impression 3D utilisables dans de nombreux secteurs comme celui du bâtiment avec la startup française XtreeE, qui imprime en 3D du béton, la société Redefine Meat qui imprime des steaks végétaux (reproduisant le goût, la texture et l'apparence de la viande traditionnelle) ou encore et on y reviendra la startup française Poietis qui a développé un procédé de bio-impression de tissus humains, notamment de la peau à des fins de recherches cosmétopharmaceutiques et de greffes.

Ainsi, en cinquante ans, la technologie de fabrication additive a largement évolué et s'est implantée, à la fois dans le secteur industriel, en tant que technique de prototypage et de

production fiable, et dans le grand public, qui s'est approprié cette technologie, par le biais des mouvements de « makers » et des nouvelles structures comme les « Fablab » (contraction de l'anglais « fabrication laboratory », lieu collaboratif mettant à disposition différents outils mécaniques et informatiques pour la conception et la réalisation d'objets) en tant qu'outil de production rapide d'objets uniques à bas coût. Cette technologie progresse constamment, tout comme ses usages. De plus en plus de secteurs prennent en considération ses avantages techniques et pratiques et commencent à l'intégrer dans leurs processus de production.

C'est donc en toute logique que le secteur médical s'est lui aussi intéressé au potentiel de l'impression 3D et à ce qu'elle pourrait apporter dans le domaine de la santé.

Toutefois, avant de rentrer plus en détails dans les exemples concrets de l'impression 3D appliquée au domaine médical, il est important de comprendre comment cette technologie fonctionne.

## **II. Techniques d'impression 3D**

### **1) Un principe de base**

Comme évoqué, il existe de nombreux procédés de fabrication additive et d'impression 3D, dont les trois principaux qui sont le dépôt de matière, la solidification par la lumière et l'agglomération par collage. La différence des procédés se situe essentiellement dans la manière dont sont déposés et traités les couches et les matériaux utilisés.

Toutefois, si les techniques employées diffèrent sur la forme, le principe de base reste toujours le même : superposer successivement des couches de matière par une imprimante 3D, selon les coordonnées tridimensionnelles XYZ (largeur, profondeur, hauteur) du fichier 3D de l'objet que l'on souhaite créer. Les couches de matières superposées deviennent ensuite solides et forment progressivement l'objet souhaité.

Le processus de base de l'impression 3D se fait en plusieurs étapes <sup>9</sup> :

- Conception du modèle à reproduire. Cela consiste à créer un modèle 3D numérique de l'objet souhaité à l'aide de logiciels de Conception Assistée par Ordinateur (CAO), ou par l'accès à des modèles 3D existants téléchargeables ou grâce au scan 3D de l'objet directement. Ce modèle est ensuite converti en un fichier compatible avec l'imprimante 3D, généralement dans un format informatique spécial (STL ou OBJ, qui contient la description d'une géométrie 3D de l'objet).
- Phase de préparation : Le fichier est préparé pour l'impression, ce qui peut inclure l'ajout de structures de support, la définition des paramètres d'impression (comme la résolution de couche), et la découpe du modèle en couches individuelles que l'on appelle «slicing». Cette partie permet de découper le modèle 3D en une multitude de fines couches horizontales grâce à un logiciel dédié (« slicer »), pour ensuite être exporté en format d'impression 3D («G-code») qui permet à l'imprimante 3D de savoir où et quand déposer du matériau.

- Phase d'impression : l'imprimante 3D commence à créer l'objet en déposant et/ou en solidifiant le matériau couche par couche correspondant chacune à la forme 2D exacte de l'objet à ses différents niveaux de hauteur. Une fois l'impression terminée, l'objet peut nécessiter une phase de post-traitement, comme l'élimination des impuretés ou des supports, le polissage ou l'application d'une finition.

Donc pour faire de l'impression 3D, il suffit de disposer d'une imprimante 3D, de matériaux consommables (filament, poudre...), d'un fichier 3D de l'objet, d'un logiciel de "slicing" pour transmettre les indications à l'imprimante et d'un ordinateur.

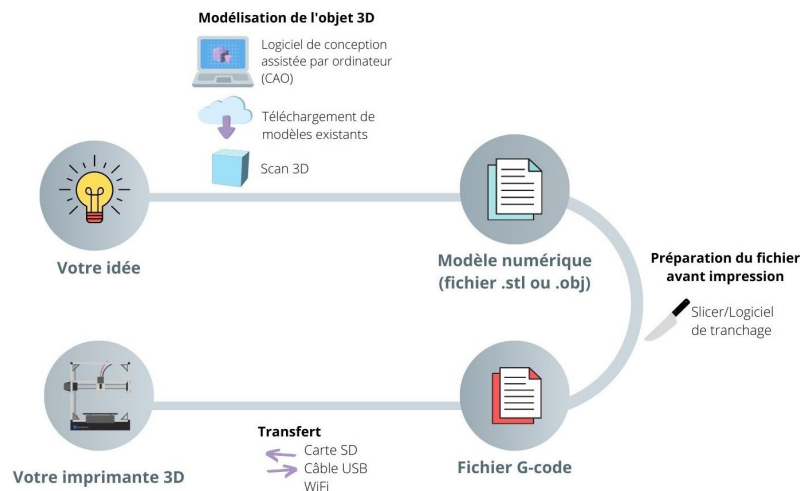


Figure 1 : Processus d'impression d'un objet 3D <sup>9</sup>.

## 2) Des approches techniques multiples

Aujourd'hui, il existe de nombreuses techniques d'impression 3D, chacune utilisant différents matériaux et méthodes pour créer des objets. Sans être exhaustif et rentrer dans les détails de chaque technique, en voici les principales <sup>10</sup> :

- Stéréolithographie (SLA) : Utilise un laser pour durcir une résine photosensible, couche par couche, en suivant un modèle numérique.
- Modélisation par Dépôt de Filament (FDM) : La méthode la plus courante pour les imprimantes 3D grand public. Elle fait fondre un filament de plastique (comme l'Acrylonitrile butadiène styrène dit ABS ou le PLA pour acide polylactique) et le dépose couche par couche.
- Frittage Sélectif par Laser (SLS) : Utilise un laser pour fritter (fusionner) des particules de poudre (souvent en plastique, en céramique ou en métal) pour former une structure solide.
- Frittage Laser Direct de Métal (DMLS) et Fusion Laser Sélective (SLM) : Similaires au SLS mais spécifiques aux métaux. Un laser fait fondre les particules de métal pour créer une pièce solide.
- PolyJet/MultiJet : Dépose de minuscules gouttelettes de photopolymère sur une plateforme de construction, qui sont ensuite durcies par exposition à la lumière UV.

- Binder Jetting ou jet de liant : Dépose un liant liquide sur une poudre de matériau pour former une couche solide, puis répète le processus couche par couche.
- Fused Filament Fabrication (FFF) ou Dépôt de fil fondu : Similaire au FDM, mais souvent utilisé pour des matériaux autres que les thermoplastiques.

Ces technologies possèdent chacune leurs spécificités et sont adaptées à différents types d'industries et de cas d'usage. Toutefois, elles présentent également certaines limites.

D'un point de vue technique, l'impression 3D dépend du choix des matériaux disponibles qui peut être limité en fonction des paramètres de compatibilité d'impression (résistance à la température et aux chocs, rigidité, flexibilité, conductivité électrique...). Le temps d'impression peut également être assez lent pour certaines pièces du fait de la taille de l'objet, la résolution souhaitée et la technologie d'impression utilisée. Les objets imprimés en 3D peuvent également présenter une qualité de surface inférieure à celle obtenue avec des méthodes traditionnelles de fabrication nécessitant des finitions supplémentaires. La taille des objets imprimables peut être limitée du fait de la taille des modèles « standards » des imprimantes 3D ne permettant pas de pièces volumineuses. Cette technologie présente aussi des limites économiques. En effet, le coût de certains matériaux, des imprimantes 3D et de leur maintenance peut également être conséquent <sup>11</sup>.

Du fait de ces limites, l'impression 3D est une solution prometteuse pour la fabrication de certains objets, mais elle ne peut, pour le moment, remplacer complètement les méthodes traditionnelles de fabrication industrielle.

Considérant les exemples que nous avons pu voir et malgré certaines limites, la fabrication additive et l'impression 3D représentent une révolution dans le domaine de la production et de la fabrication, permettant de passer rapidement de la conception intellectuelle puis numérique à l'objet physique avec une flexibilité et une précision inégalées. La diversité des techniques et des matériaux utilisables permet de nombreuses applications, de la création en série de petites pièces aux objets de grande complexité géométrique. Désormais, cette technologie se retrouve dans des secteurs très variés, comme l'aérospatial, l'automobile, la construction de bâtiments, la cuisine, l'art et bien sûr, la médecine.

En effet, le domaine médical est en constante évolution, cherchant à utiliser les nouvelles technologies afin de mieux répondre aux différentes pathologies présentées par chaque patient individuel, avec l'objectif d'une prise en charge médicale personnalisée. L'impression 3D, par sa simplicité de principe et ses atouts techniques, devient alors une solution de plus en plus attractive.

Nous allons désormais nous intéresser aux différentes applications de l'impression 3D dans le domaine de la santé en distinguant deux perspectives : l'impression 3D avec des matériaux « inertes » et l'impression 3D avec des matériaux « vivants » aussi dénommée bio-impression, et ceci avec l'objectif d'utiliser les objets 3D produits soit en usage externe, soit en usage interne. Cette segmentation nécessaire souligne les défis, mais aussi bien sûr les espoirs, inhérents à l'utilisation de l'impression 3D en santé.

## **B. APPLICATIONS DE L'IMPRESSION 3D EN SANTE AVEC DES MATERIAUX INERTES**

### **I) Pour un usage externe**

#### **1) Matériel médical**

Un des avantages majeurs de l'impression 3D est la rapidité avec laquelle on passe d'une idée à un objet créé et donc de pouvoir produire des petites séries de prototypes. Atout majeur qui a été mis à contribution durant la pandémie de Covid-19, où toutes les structures de soins ont été confrontées à des pénuries critiques de biens médicaux essentiels (équipements de protection individuelle, ventilateurs...) à cause d'une trop forte demande et de difficultés d'approvisionnement (fabrication et transport).

La flexibilité et la rapidité du procédé d'impression 3D ont permis de répondre aux besoins de nombreux hôpitaux pendant cette période critique.

Par exemple, la société britannique Photocentric a transformé son entrepôt en une usine rationalisée, où 45 imprimantes grand format ont fabriqué plus de 50 000 masques de protection par jour pendant la pandémie. En plus de la rapidité de production, cela montre également que l'impression 3D médicale n'est plus réservée au prototypage, mais permet de produire en quantités significatives, à n'importe quel moment ou endroit et pour un prix compétitif <sup>12</sup>.

Autre exemple, l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) a mis en place au sein de sa structure, durant la pandémie, une véritable « imprimerie 3D » de 60 imprimantes. En quelques jours et directement sur place, les machines purent produire rapidement et massivement des visières de protection, des masques, des raccords, des poignées de porte sans contact ou encore des valves pour respirateur <sup>13</sup>.

Bien que ce procédé puisse répondre à de fortes demandes en très peu de temps, les pièces fabriquées ne remplacent pas encore celles fabriquées par des procédés classiques, plus longs mais plus sécurisés et assurant la qualité finale, la production de très grands volumes et à bas coût.

#### **2) Prothèses et orthèses**

Un autre avantage significatif de l'impression 3D est son potentiel de personnalisation. Dès qu'un objet est modélisable en 3D, il devient possible de l'imprimer. Dès lors, cette technologie devient très utile pour répondre à des besoins en santé particuliers que nous listerons ci-dessous.

Orthèses et prothèses font partie des dispositifs médicaux orthopédiques qui viennent corriger et/ou soulager des pathologies articulaires ou musculaires. L'utilisation de ces dispositifs médicaux est très largement répandue dans la population. Dans le monde, de nombreuses personnes doivent subir une amputation d'un membre à la suite d'un événement traumatique.

La plupart des prothèses et des orthèses traditionnelles ne sont disponibles qu'en quelques tailles conventionnelles et ne correspondent pas forcément aux spécificités morphologiques de chaque patient. Cela concerne particulièrement le cas des prothèses pour enfants, qu'il faut ajuster fréquemment pendant la période de croissance. Il est important aussi de retenir qu'une prothèse ou orthèse mal adaptée peut provoquer des douleurs ou des lésions cutanées locales. Ces effets secondaires de la non-adaptation conduisent ainsi à des coûts supplémentaires (consultations, interventions chirurgicales par ex.), et surtout affectent considérablement la santé et la qualité de vie des patients. Face à ces difficultés, des dispositifs sur mesure existent bien sûr, mais restent très coûteux, avec des délais de production de l'ordre de plusieurs mois, ce qui limite leur usage à très peu de patients.

C'est ainsi que l'impression 3D vient répondre à ces problématiques de précision, d'ajustement et de personnalisation, de rapidité de production et de maîtrise des coûts.

Il existe aujourd'hui beaucoup d'entreprises d'impression 3D qui se sont spécialisées dans la création de ces prothèses comme Psyonic, qui a développé "Ability Hand", une main bionique. Cette prothèse conçue pour le membre supérieur est homologuée par la Food and Drug Administration (FDA) américaine et couverte par Medicare (assurance maladie réservée aux personnes âgées et aux invalides). La méthode de production utilisée permet de baisser le prix pour le rendre plus accessible aux patients tout en utilisant des matériaux durables dans le temps. De plus, la société américaine collecte les retours patients afin d'adapter ses modèles et concevoir rapidement de nouveaux produits ou fonctionnalités <sup>14</sup>.

On retrouve également des initiatives telles que "e-NABLE" qui permettent à des communautés de "makers" à travers le monde, de se former et de fabriquer des prothèses imprimées en 3D. Les participants partagent gratuitement des informations et des modèles libres de droits afin que les patients puissent obtenir une prothèse sur mesure correspondant à leurs besoins pour un prix abordable (une cinquantaine de dollars) <sup>15</sup>.

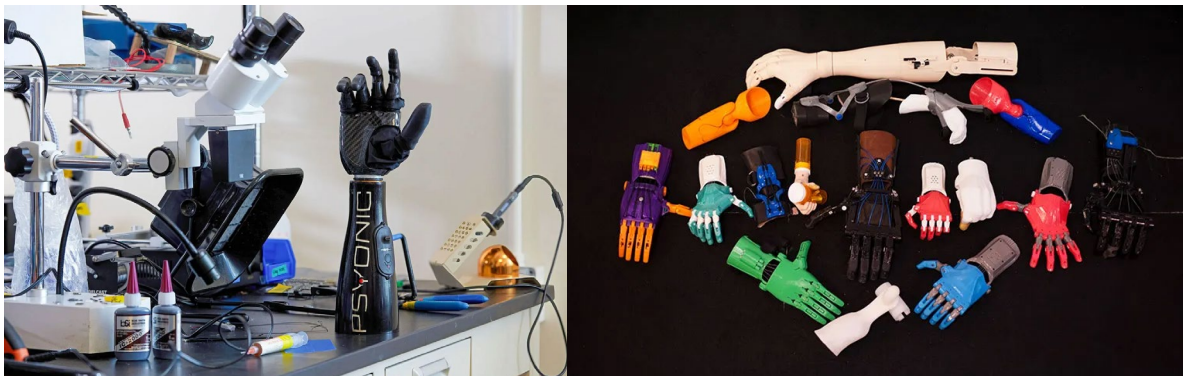


Figure 2 : Photos des prothèses Psyonic (à gauche) et e-NABLE (à droite)

La start-up française *Skelenn* souhaite quant à elle, remplacer les plâtres traditionnels par des orthèses imprimées en 3D, adaptées à la morphologie du patient. Ils proposent un dispositif produisant une contention efficace, aéré, léger, non encombrant, waterproof, sans danger pour la peau, personnalisable, esthétique, et produit en quelques jours <sup>16</sup>.

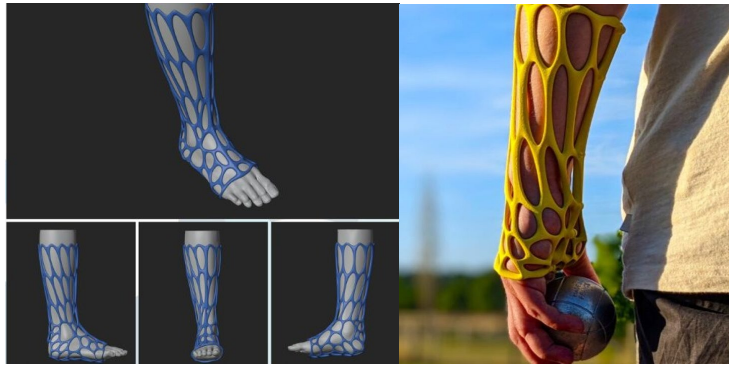


Figure 3 : Plans 3D et photos des prothèses Skelell

Depuis 2016, la Fondation Médecins Sans Frontières utilise l'impression 3D pour différents projets dont celui de la conception de masques compressifs du visage pour les grands brûlés. Un mauvais traitement et un suivi incomplet peuvent en effet entraîner de graves séquelles (douleurs, hyperesthésies cutanées, malformations...) et ce des mois après l'accident. Le fait de pouvoir produire des masques personnalisés, de manière rapide, et sur place, sans besoin d'impliquer des professionnels ultrasécialisés traditionnels, permet une meilleure prise en charge de ces patients <sup>17</sup>.

### 3) Modèles anatomiques et instruments chirurgicaux

Les techniques de numérisation et d'imagerie en 3D (scanner à ultrasons, imagerie par résonance magnétique, tomodensitométrie), permettent aujourd'hui d'imprimer en 3D des modèles extrêmement précis, à l'échelle d'un organe ou d'une partie du corps, pour un patient donné.

Ces modèles anatomiques ont au moins trois avantages en chirurgie. Tout d'abord, ils peuvent servir en consultation préopératoire, pour mieux expliquer aux patients et leurs proches la procédure chirurgicale choisie, contribuant à l'obtention d'un consentement éclairé. Ensuite, ils peuvent être utilisés pour assurer une formation plus complète aux étudiants en médecine, qui peuvent mieux observer, manipuler et comprendre des modèles anatomiques spécifiques (tumeurs, fractures...) issus de la pratique réelle. Enfin, le fait que ces modèles reproduisent fidèlement les spécificités anatomiques du patient, permet aux chirurgiens de mieux visualiser, planifier et répéter une intervention avant de la réaliser, et de pratiquer un geste chirurgical potentiellement moins invasif ou plus rapide <sup>18, 19, 20</sup>.

A l'instar des modèles anatomiques personnalisés, l'impression 3D contribue également à produire de nouveaux instruments chirurgicaux tels que des guides de coupes adaptés à l'anatomie du patient, qui facilitent et réduisent la durée des procédures. Il est également possible d'adapter certains instruments chirurgicaux (forceps, écarteurs...) aux besoins spécifiques d'un chirurgien ou d'une opération. Ce procédé est d'autant plus intéressant car il permet une amélioration continue des outils grâce aux retours pratiques des chirurgiens.

Il existe de plus en plus d'applications en lien avec ces modèles anatomiques (reproduction du système nerveux, cardio-vasculaire, digestif, génito-urinaire, crânio-facial...) qui suscitent de grandes attentes dans l'amélioration de la qualité des soins, de l'approche et des résultats chirurgicaux pour les patients <sup>21</sup>.





Figure 4 : Photos de dispositifs anatomiques réalistes imprimés en 3D (crédits photo : Phoenix Children's Hospital et <sup>22</sup>)

## II) Pour un usage interne

### 1) Implants

L'impression 3D médicale permet aujourd'hui aux chirurgiens de concevoir des implants personnalisés qui sont utilisés pour remplacer ou renforcer les organes ou les tissus concernés. La possibilité de créer des structures complexes avec une grande précision a amélioré en particulier la production d'implants orthopédiques personnalisés, dont le bénéfice à long terme semble meilleur en termes de réduction de l'effet « stress shielding » (réduction de la densité osseuse), de stimulation de l'ostéogénèse, et d'incidence de complications. Cependant ces résultats proviennent d'essais cliniques limités et monocentriques, et devront être confirmés <sup>23</sup>.

Nous pouvons prendre l'exemple de la société australienne CSIRO Lab 22 qui a pu développer les premières côtes et sternum imprimés en 3D pour remplacer celles d'un patient diagnostiqué d'un sarcome au niveau de la poitrine <sup>24</sup>.

En avril 2024, la société américaine 3D Systems a annoncé que la FDA avait délivré son autorisation pour leur solution d'implant crânien « VSP® PEEK » imprimé en 3D et destiné aux procédures de cranioplastie. En plus d'utiliser un matériau de haute qualité (biocompatibilité, résistances aux fluides corporels, stabilité face aux températures...), la production de cet implant nécessite beaucoup moins de matériaux que les modèles traditionnels et peut surtout être adapté à l'anatomie de chaque patient <sup>25</sup>.

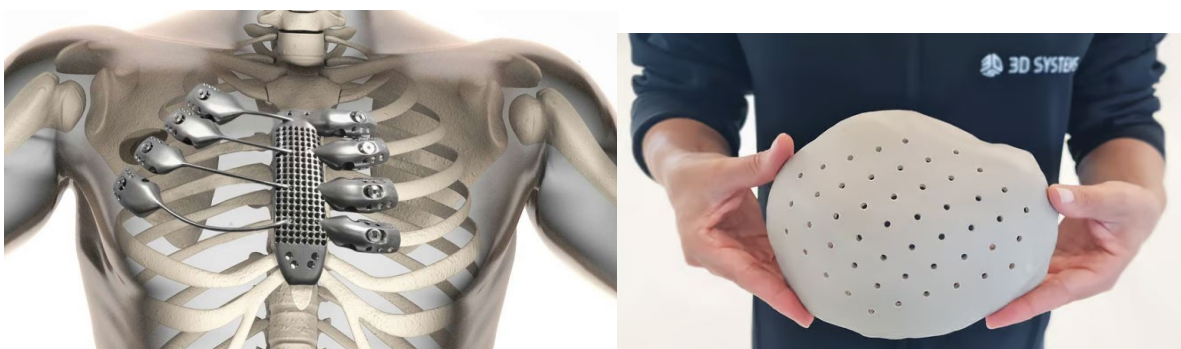


Figure 5 : Côtes et sternum imprimés en 3D à gauche<sup>24</sup> et implant crânien de 3D Systems à droite <sup>25</sup>.

L'impression 3D induit également des changements dans le secteur dentaire, que ce soit dans l'orthodontie, dans l'implantologie ou dans le domaine des prothèses dentaires.

Les laboratoires dentaires peuvent désormais remplacer les dents manquantes avec des implants personnalisés plus esthétiques avec une meilleure précision, un minimum d'inconfort et de manière plus rapide. De plus, cette technologie permet un meilleur contrôle de la structure de l'implant et permet de travailler avec des matériaux résistants, fiables et biocompatibles tels que les céramiques, les polymères et les composites.

Le succès de cette technologie séduit de plus en plus de professionnels ce qui peut se refléter dans le marché de l'impression 3D dentaire qui est en pleine expansion et qui devrait atteindre une valeur de 9,5 milliards de dollars d'ici 2027. Par exemple, Stratasys, un fabricant américano-israélien d'imprimantes 3D, a développé une nouvelle imprimante 3D, la "J5 DentaJet" dédiée aux laboratoires dentaires, qui permettrait de produire au minimum 5 fois plus de prothèses et d'implants que les machines concurrentes, allant jusqu'à 41 implants par jour <sup>26</sup>.



Figure 6 : Imprimante Stratasys à gauche et prothèses et implants dentaires à droite <sup>26</sup>.

## 2) Production de médicaments

Les avantages de l'impression 3D pourraient théoriquement s'appliquer au développement de nouveaux médicaments et répondre à certaines problématiques actuelles dans ce domaine.

Tout d'abord en termes de production, on pourrait imaginer que les pharmacies ou les hôpitaux impriment leurs traitements sur place, à la demande et directement disponibles pour les patients (optimisation des stocks, réduction du temps de transport et d'attente...). De plus, cela permettrait de produire des médicaments personnalisés qui prennent en compte les caractéristiques individuelles des patients. On pourrait ainsi adapter le dosage, la formulation (mode de délivrance, taille, forme, couleur, goûts...) et la composition (association de principes actifs...) d'un traitement, notamment pour des patients de pédiatrie ou de gériatrie.

Plusieurs équipes de recherche ou de laboratoires pharmaceutiques, se sont donc intéressés à cette technologie.

*Apricia Pharmaceutical*, fut l'une des premières sociétés à concrétiser la production de médicaments grâce à la fabrication additive, avec le SPRITAM®, commercialisé en 2015. La FDA a donné son autorisation pour ce traitement par voie orale de l'épilepsie. La technologie

permet d'obtenir une formulation poreuse (comprenant le principe actif, le lévétiracétam et des excipients) dont la dissolution, dans la bouche avec une simple gorgée d'eau, est plus rapide que celle d'un comprimé traditionnel <sup>27</sup>.

Il y aussi l'exemple de l'Institut Gustave Roussy et de la société anglaise de biotechnologie FabRx, qui ont collaboré pour créer des comprimés personnalisés et imprimés en 3D, combinant plusieurs principes actifs dans le cadre du traitement d'un cancer du sein localisé. Le but est ici de développer un seul comprimé associant le principe actif anticancéreux et les molécules contre les effets secondaires, afin d'améliorer les taux d'adhésion au traitement et la qualité de vie des patientes atteintes de la maladie <sup>28</sup>.

Les responsables du projet, de l'hôpital Gustave Roussy, Maxime Annereau, pharmacien responsable et la Dr Barbara Pistilli, oncologue et cheffe du comité de pathologie mammaire ont déclaré : « *Pour réduire le risque de récurrence, de nombreuses femmes atteintes d'un cancer du sein localisé sont traitées par hormonothérapie pendant cinq ans. Elles doivent souvent prendre d'autres traitements pour gérer les effets secondaires. Prendre tous ces traitements dans un seul comprimé imprimé en 3D avec un dosage personnalisé devrait améliorer l'adhésion au traitement. Cette collaboration va nous permettre d'aller encore plus loin en médecine personnalisée et de proposer à nos patients un médicament sur-mesure* » <sup>28</sup>.

Afin d'évaluer l'efficacité, l'acceptabilité et l'adhésion au traitement par rapport à la prise en charge classique, ces comprimés seront testés dans une étude clinique multicentrique pilotée par Gustave Roussy. Ce projet vient s'inscrire dans le programme « INTERLACE », qui a pour objectif de transformer la prise en charge des patientes en rémission d'un cancer du sein par la personnalisation des soins et ce, grâce au développement de nouveaux outils thérapeutiques (33).

Avec ce même objectif de lutter contre la non-observance des traitements anti-cancéreux (pour le cancer du sein) et dans le cadre de l'étude clinique « OPERA », l'Institut Gustave Roussy a pu produire, avec l'aide d'une imprimante 3D pharmaceutique (M3DIMAKER 2), un médicament combinant à la fois une hormonothérapie (tamoxifène) et des antidépresseurs, (venlafaxine ou duloxétine). Ces médicaments répondaient aux exigences de qualité et au taux de production nécessaire pour l'étude (40 000 unités requises)<sup>29</sup>.

Toujours à Gustave Roussy, deux imprimantes 3D ont déjà été installées dans la pharmacie de l'établissement pour produire des antibiotiques dont l'arôme, le dosage et la forme ont été personnalisés afin de faciliter leur prise par les patients pédiatriques atteints d'une tumeur cancéreuse rare, le sarcome des tissus mous.

D'après le pharmacien responsable Maxime Annereau, cette innovation est née d'un besoin : « *Les pédiatres de l'hôpital nous rapportaient que l'antibiotique, prescrit sous forme buvable, pour prévenir les effets indésirables de la chimiothérapie, suscitait le rejet en raison d'un goût très mauvais* ». L'imprimante 3D permet alors de changer le goût du médicament mais aussi de « *créer une texture plus ludique* » en créant des petites boules de pâte contenant l'antibiotique ayant « *une texture nounours Haribo, qui se mâche et dont le goût du principe actif, associé à des excipients adaptés, a été masqué par un arôme menthe* » explique le pharmacien qui précise qu'ils seront capables de produire 60 antibiotiques à l'heure soit 500 doses par jour. » De plus, le procédé d'impression permet également d'adapter les doses à la morphologie des patients en programmant des doses différentes à la demande <sup>30</sup>.

Nous pouvons également citer une étude clinique sur la prise en charge des maladies rares pédiatriques où la formulation de médicaments à mâcher a pu être contrôlée par impression 3D. Ainsi en plus d'inclure des arômes adaptés aux préférences des patients, cela a permis de doser précisément la quantité de principe actif, ici des acides aminés seuls ou combinés (citrulline, isoleucine, valine), afin d'améliorer l'observance des enfants <sup>31</sup>.

Les avancées dans l'impression 3D de médicaments sur-mesure et produits à la demande, améliorant l'observance du patient et l'efficacité du traitement, pourraient donc se développer de plus en plus et concerner de nombreux autres publics, notamment en gériatrie.



Figure 7 : Comprimés imprimés en 3D <sup>32, 33</sup>.

Néanmoins, malgré des avantages majeurs en personnalisation et rapidité de production, l'impression 3D présente également de nombreuses limites opérationnelles. En effet, un objet 3D personnalisé requiert du « temps-homme » dédié, avec l'implication de professionnels formés au préalable à cette technique, augmentant le coût de production. Le prix des imprimantes 3D représente un réel investissement pour toute structure voulant en faire l'acquisition (et l'entretien). De plus, les objets créés ayant une finalité médicale, de nombreuses questions réglementaires se posent, que cela soit pour le contrôle de leur processus de fabrication ou pour la validation de leur efficacité et de leur sécurité.

Nous pouvons constater que les applications de l'impression 3D avec des matériaux inertes concernent aujourd'hui de nombreux domaines de la santé. Mais qu'en est-il de l'impression 3D avec des matériaux vivants ?

# PARTIE 2 – BIO-IMPRESSION : IMPRESSION 3D EN SANTE AVEC DES MATERIAUX VIVANTS

## A. CONCEPT GENERAL ET TECHNIQUES DE LA BIO-IMPRESSION

### I) Origine et évolution

Depuis l'invention de l'impression 3D en 1986 par Charles Hull, de nombreux autres pionniers ont perçu l'opportunité de combiner cette technologie à la modélisation cellulaire pour construire des structures biologiques. Comme les travaux de Klebe en 1988, qui utilisa la technique de "cytoscribing" impliquant une imprimante à jet d'encre commandée par ordinateur pour déposer des protéines d'adhésion cellulaire et des anticorps monoclonaux sur un substrat.

À la fin des années 1990, les scientifiques ont commencé à mettre au point des techniques de bio-impression en 2D avec des cellules vivantes en utilisant ces techniques de micro-positionnement, ce qui a rendu possible la fabrication de tissus complexes. Depuis, la technologie de bio-impression a rapidement évolué :

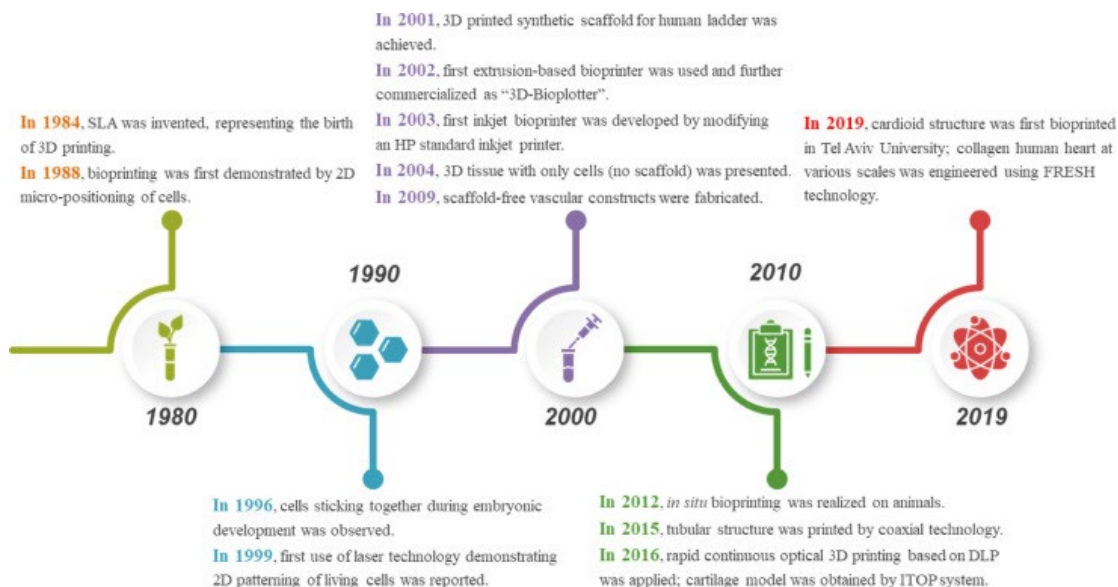


Figure 8 : Chronologie de l'évolution de la technologie de la bio-impression<sup>34</sup>

En 2003, Thomas Boland, un scientifique de l'Université d'El Paso, a modifié une imprimante à jet d'encre pour déposer des cellules vivantes dans une boîte de Petri. Cette expérience a ouvert la voie à la création de structures cellulaires organisées, marquant le début de la bio-impression moderne. En 2004, le Dr Forgacs, futur fondateur d'Organovo (une des plus grandes entreprises actuelles dans la bio-impression), a permis avec son modèle de bio-imprimante, l'utilisation des cellules vivantes, sans échafaudage cellulaire. Les années suivantes ont vu l'introduction de nombreux nouveaux produits de bio-impression, tels que



l'impression de peau et l'injection d'hépatocytes dans du collagène (2010), l'impression de cartilage articulaire et de foie artificiel (2012), l'intégration de tissus dans le système circulatoire (2014), et même la génération de valves cardiaques (2016)<sup>34, 35</sup>.

## **II) Techniques de bio-impression**

Le processus de bio-impression suit des étapes similaires à celles de l'impression 3D, avec des adaptations spécifiques pour les matériaux biologiques, notamment la sélection et la combinaison des biomatériaux qui vont former la « bio-ink » ou « bio-encre », généralement des hydrogels chargés de cellules et/ou d'autres biomatériaux qui soutiennent et nourrissent les cellules pendant et après l'impression. La sélection de ces bio-encres est cruciale pour garantir la biocompatibilité, l'imprimabilité et les propriétés mécaniques de la structure finale.

Une fois les matériaux sélectionnés, vient la phase de « Bioprinting » ou de bio-impression via une bio-imprimante qui va déposer la bio-encre couche par couche pour construire la structure désirée. La précision et la vitesse d'impression sont essentielles pour maintenir la viabilité des cellules et créer des structures complexes, comme les vaisseaux sanguins ou les réseaux de capillaires dans les tissus. C'est pourquoi la configuration appropriée des paramètres d'impression doit être confirmée en amont de l'impression.

Enfin arrive l'étape de fonctionnalisation ou de maturation. Après l'impression, la structure imprimée est généralement placée dans un bioréacteur, un environnement contrôlé où les cellules peuvent se développer, interagir, et se différencier pour former un tissu fonctionnel. Ce processus de maturation peut prendre plusieurs jours à plusieurs semaines.

Pour résumer, trois composants principaux sont essentiels pour réaliser une bio-impression, à savoir une bio-encre, une bio-imprimante et un processus ou technique d'impression qui peut varier en fonction du type de tissu ou de structure à créer.

Nous pouvons citer les trois modalités les plus utilisées dans ce domaine

### **1) Bio-impression par extrusion**

Cette méthode polyvalente (« Extrusion-Based Bioprinting ») utilise le même principe que l'impression 3D (dépôt automatisé, précis et continu de filament sur la base de fichiers CAO) utilisant un réservoir de matériaux à température contrôlée qui extrude la bio-encre à travers une fine buse en appliquant différentes forces d'extrusion (temps de pression, de déplacement...). Cette approche permet d'utiliser des bio-encres à haute densité cellulaire, plus rentables et facilitant la fabrication de structures 3D complexes composées de différents types de cellules et de matériaux.

Il existe deux principaux types de mécanismes d'extrusion : les systèmes pneumatiques (à pression) qui utilisent l'air comprimé pour générer une force et pousser la bio-encre hors de la seringue, et les systèmes mécaniques (à déplacement) utilisant des pistons ou des mécanismes à vis pour distribuer directement la bio-encre à partir du réservoir de matériau<sup>34</sup>.

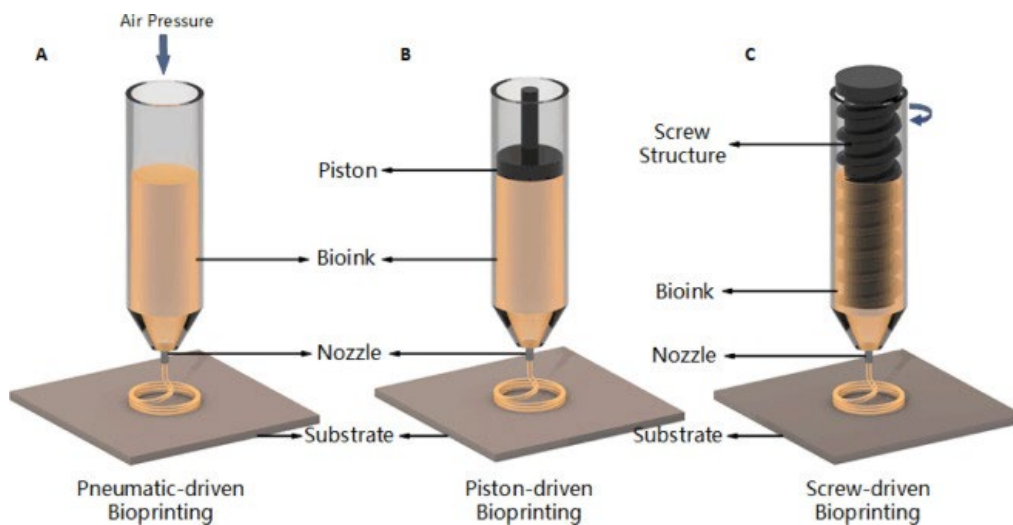


Figure 9 : Principes de la bio-impression par extrusion<sup>34</sup>

## 2) Bio-impression basée sur des gouttelettes

Cette technique (« Droplet-Based Bioprinting ») utilise de la bio-encre sous forme de « gouttelettes » qui se superposent facilitant la construction spatiale de populations cellulaires hétérogènes et leur positionnement précis à des endroits prédéfinis. Cette approche comprend la bio-impression par jet d'encre, par éjection acoustique et par micro-valve<sup>36</sup>.

La bio-impression par jet d'encre exploite la gravité, la pression atmosphérique et la mécanique des fluides de la bio-encre pour éjecter des gouttelettes sur un substrat récepteur. Elle se divise elle-même en trois catégories : par jet d'encre continu (« Continuous-inkjet bioprinting »), par jet d'encre à la demande (« Drop-on-demand inkjet bioprinting ») et par jet d'encre électrohydrodynamique (« Electrohydrodynamic jet bioprinting »)<sup>36</sup>.

Dans la bio-impression à jet d'encre continu, la solution de bio-encre est forcée sous pression à travers une buse, et se décompose ensuite en un flux de gouttelettes.

La bio-impression par jet d'encre à la demande se compose d'une ou plusieurs tête(s) d'impression, chambre(s) à fluide et buse(s). La bio-encre stockée dans la chambre à fluide va être éjectée sous forme de gouttelettes à travers l'orifice de la buse grâce à des impulsions de pression produites par trois mécanismes utilisant des actionneurs thermiques, piézoélectriques ou électrostatiques. Les bio-imprimantes à jet d'encre à la demande ne génèrent des gouttelettes que lorsque c'est nécessaire, ce qui les rend plus économiques et plus faciles à contrôler pour les produits biologiques<sup>36</sup>.

Contrairement aux techniques qui nécessitent une pression élevée pour l'éjection des gouttelettes à travers l'orifice étroit d'une buse, nocive pour les cellules, les bio-imprimantes électro-hydrodynamiques utilisent un champ électrique pour générer les gouttelettes, ce qui diminue cette pression. Dans ce modèle, la bio-encre est introduite à travers une buse métallique de telle sorte qu'elle forme un ménisque sphérique à l'extrémité de la buse. Une tension électrique est alors appliquée entre la buse et le substrat, générant un champ électrique qui conduit à l'accumulation d'ions mobiles près de la surface du ménisque de bio-encre suspendue. Lorsque les contraintes électrostatiques deviennent trop élevées, les

gouttelettes de bio-encre sont éjectées. Une des limites de cette technique est qu'elle produit plutôt un flux de nombreuses gouttelettes plutôt qu'une seule gouttelette, ce qui n'est pas adapté aux applications de bio-impression nécessitant un placement très précis des cellules<sup>36</sup>.

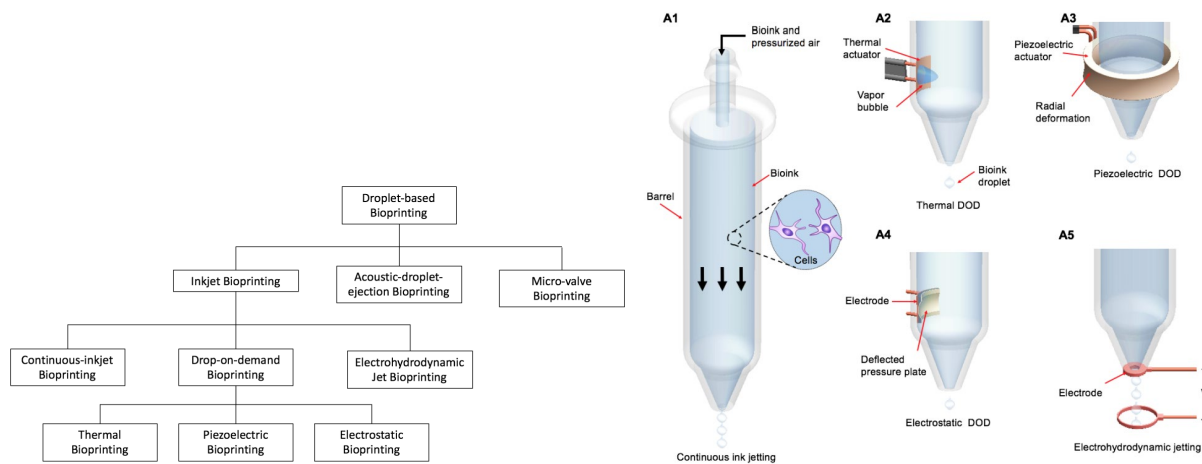


Figure 10 : Organigramme (à gauche) et illustrations (à droite) des différents types de bio-impression basée sur des gouttelettes avec la bio-impression en jet continu (A1), la bio-impression par jet d'encre à la demande avec actionneur thermique (A2), piézoélectrique (A3), électrostatique (A4) et la bio-impression électro-hydrodynamique (A5)<sup>36</sup>.

La bio-impression acoustique utilise un champ acoustique pour éjecter des gouttelettes d'un réservoir de bio-encre « ouvert ». Contrairement aux autres méthodes, cela permet de ne pas exposer la bio-encre à des facteurs de stress néfastes (chaleur, pression, tension, contrainte de cisaillement...). Une bio-imprimante acoustique se compose de canaux micro-fluidiques 2D, dans lesquels la bio-encre va se déplacer sous l'effet des ondes acoustiques, jusqu'à être éjectée sous formes de gouttelettes à la sortie des canaux. Il existe toutefois quelques limites dans cette technique, comme des perturbations dues aux mouvements du « générateur » d'onde impactant la formation des gouttelettes et/ou générant une mauvaise éjection des bio-encres à viscosité élevée<sup>36</sup>.

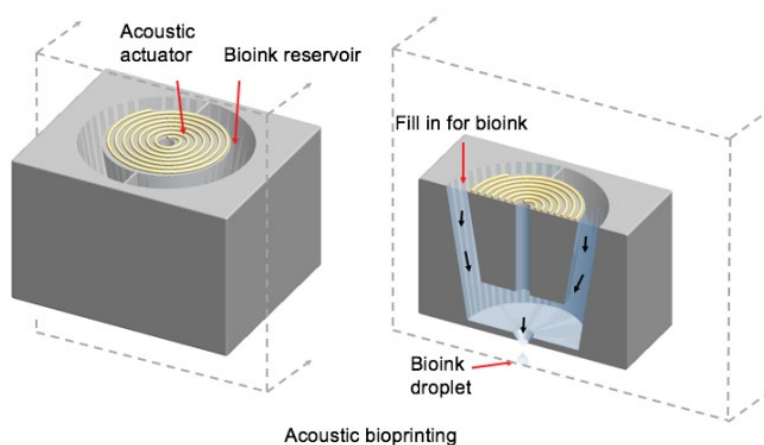


Figure 11 : Système de bio-impression acoustique.

La bio-impression par micro-valve utilise une valve électromécanique pour générer des gouttelettes. La bio-encre placée dans la « chambre à fluide » est pressurisée et l'orifice de la buse qui est fermée par une micro-valve composée d'une bobine d'électro-aimant et d'un



piston. La bobine de la valve génère un champ magnétique lorsqu'une impulsion de tension est appliquée et le champ magnétique tire le piston vers le haut. En conséquence, la buse est débloquée et la bio-encre est éjectée lorsque la contre-pression est suffisamment importante pour surmonter la tension superficielle au niveau de l'orifice. Les paramètres du procédé (pression pneumatique, géométrie de la buse, concentration cellulaire, constituants de la bio-encre) déterminent le volume des gouttelettes ainsi que la viabilité cellulaire<sup>36</sup>.

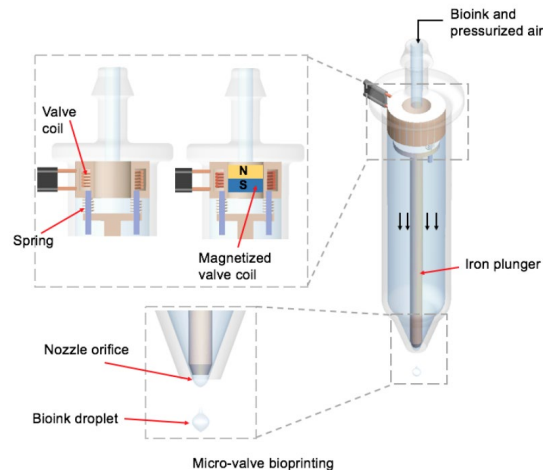


Figure 12 : Système de bio-impression par micro-valve<sup>36</sup>.

### 3) Bio-impression basée sur la photopolymérisation

Cette technique exploite le potentiel des matériaux photosensibles à subir une photopolymérisation, un phénomène qui permet de solidifier de la résine liquide grâce à une lumière ultra-violette (UV), de manière contrôlée et précise. En fonction des différents modes de « balayage » de la lumière, cette technique peut être classée en deux catégories : la stéréolithographie (SLA) et le traitement numérique de la lumière ou DLP (pour « digital light processing »)<sup>37</sup>.

Une bio-imprimante SLA contient un réservoir à bio-encre doté d'une plate-forme qui se déplace de haut en bas. Lors de l'impression d'une couche, la plate-forme se déplace vers la surface de la solution de bio-encre et le liquide se solidifie sous l'effet d'un faisceau laser mobile contrôlé par ordinateur. Lorsqu'une couche est complètement bio-imprimée via la polymérisation « point par point », la plate-forme se déplace jusqu'à ce que l'objet bio-imprimé soit terminé ligne par ligne et couche par couche. En raison de sa haute résolution, la SLA est souvent utilisée pour imprimer des échafaudages tissulaires précis dont la géométrie et la structure poreuse sont contrôlables<sup>37</sup>.

Bien que proches, les techniques de SLA et DLP se différencient par le mode de structuration de la lumière. La SLA est associée à un faisceau laser, tandis que la DLP est basée sur la photopolymérisation 2D à l'aide d'un dispositif à miroir numérique (DMD) ou d'un système de projection à cristaux liquides (LCD). La lumière projetée est alors focalisée par une lentille pour atteindre le réservoir de bio-encre qui va se photo-réticuler en un seul « temps » et ainsi de suite jusqu'à ce que l'ensemble de l'objet soit bio-imprimé couche par couche<sup>37</sup>.

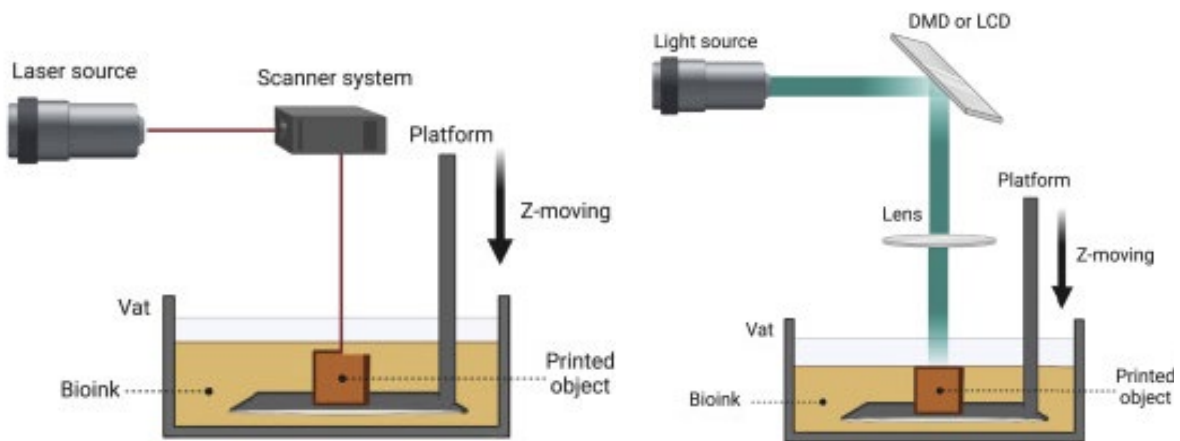


Figure 13 : Systèmes de bio-impression SLA (à gauche) et DLP (à droite)<sup>37</sup>.

#### 4) Analyse comparative des techniques de bio-impression

La bio-impression par extrusion est la méthode la plus utilisée à l'heure actuelle du fait de la simplicité de mise en œuvre et de ses caractéristiques techniques (réticulation sensible à la température et cisaillement des fluides) qui permettent un écoulement de biomatériaux, en douceur, à température ambiante et une solidification à basse température. A cela s'ajoute l'imprimabilité d'une très large gamme de matériaux biocompatibles (agrégats cellulaires, hydrogels chargés de cellules...) avec une large gamme de viscosité, ce qui permet d'utiliser des bio-encres à haute densité cellulaire. Toutefois, la précision de cette méthode est généralement limitée à 100  $\mu\text{m}$  (inférieure à celui des autres approches biologiques) et la sélection de la bio-encre dépend des propriétés recherchées (gélification, durcissement, cisaillement). De plus, sa viabilité cellulaire est inférieure à celle de l'impression à jet d'encre (force de cisaillement qui affecte la survie cellulaire), surtout lorsque la densité cellulaire est élevée <sup>34</sup>.

La bio-impression à base de gouttelettes est la technologie la moins coûteuse (similaire aux imprimantes à jet d'encre traditionnelles) mais qui présente une haute précision, une vitesse rapide et qui est compatible avec une large variété de matériaux biologiques. Une imprimante de ce type peut également être équipée de plusieurs buses pour imprimer de manière simultanée différents biomatériaux, ce qui augmente considérablement la vitesse d'impression et la capacité de combinaisons biologiques. Cependant, cette approche présente certaines limites comme son incapacité à imprimer des matériaux à haute viscosité ou à densité cellulaire physiologique (faible pression). A cela s'ajoute un plus fort risque de boucher les buses et de potentiels dommages mécaniques ou thermiques pouvant être causés aux cellules lors du processus d'impression<sup>34</sup>.

La bio-impression basée sur la photopolymérisation, grâce à son mode d'impression sans buse, ne présente pas de risque de blocage de ces buses par les cellules/biomatériaux. Cette méthode sans contact ne causera pas non plus de dommage mécanique aux cellules et pourra utiliser une large sélection de matériaux. Cependant, la plupart des résines photosensibles sont toxiques pour les cellules. Elle peut imprimer de la bio-encre avec une densité cellulaire, une vitesse et une précision élevées. Néanmoins, le coût de ces bio-imprimantes est relativement élevé et leur utilisation peut être lente et compliquée. De plus, lorsque le dispositif

d'impression contient une couche d'absorption laser métallique, l'évaporation de la couche peut provoquer l'apparition de résidus métalliques dans les structures bio-imprimées finales <sup>34</sup>.

La bio-impression est une technologie qui évolue vite, s'appuyant sur un panel d'approches techniques pour imprimer le « vivant », ce qui permettra de sélectionner la meilleure approche technique en fonction des caractéristiques de l'objet biologique à imprimer.

## **B. APPLICATIONS MEDICALES DE LA BIO-IMPRESSON**

L'intérêt grandissant pour la bio-impression en médecine peut se lire à la fois dans le nombre d'études et d'articles parus sur le sujet ces dernières années (presque 5000 publications sur PubMed depuis 2019) et également dans l'apparition de multiples sociétés industrielles qui ont vu le jour dans ce domaine. Nous pouvons mentionner quelques entreprises leaders de la bio-impression médicale à travers le monde : Organovo, Sciperio/nScript, BioDevices, Allevi (États-Unis), Cellink (Suède/États-Unis), Aspect Biosystems (Canada), EnvSIONTEC (Allemagne), RegenHu (Suisse), Poetis (France), Rokit (Corée du Sud), 3D Bioprinting Solutions (Russie), etc.<sup>38</sup>.

Les investissements et le développement de cette technologie sont motivés par plusieurs objectifs, dont des utilisations cliniques comme la reconstitution ou la régénération des tissus, la cicatrisation des plaies ou la réponse à la pénurie chronique des organes pour transplantation. De même on peut imaginer remplacer à terme les méthodes de recherche conventionnelles tels que les modèles animaux, in vitro ou in vivo, qui ne permettent pas d'appréhender toutes les caractéristiques essentielles de la physiologie humaine. Ces axes prometteurs pourraient permettre d'approfondir les mécanismes physio-pathologiques des maladies, de raccourcir le processus de découverte et de développement des médicaments, avec pour but ultime peut-être d'imaginer une médecine passant beaucoup plus vite de l'hypothèse au lit du malade (« from bench to bedside » pour les Anglo-saxons) et encore plus personnalisée.

Bien que la bio-impression n'en soit encore qu'à ses débuts en raison de la complexité de la reproduction de matériel vivant, des avancées majeures commencent à ouvrir la voie à de nombreuses applications médicales aussi bien dans la recherche biomédicale que clinique, illustrées dans la figure ci-dessous.

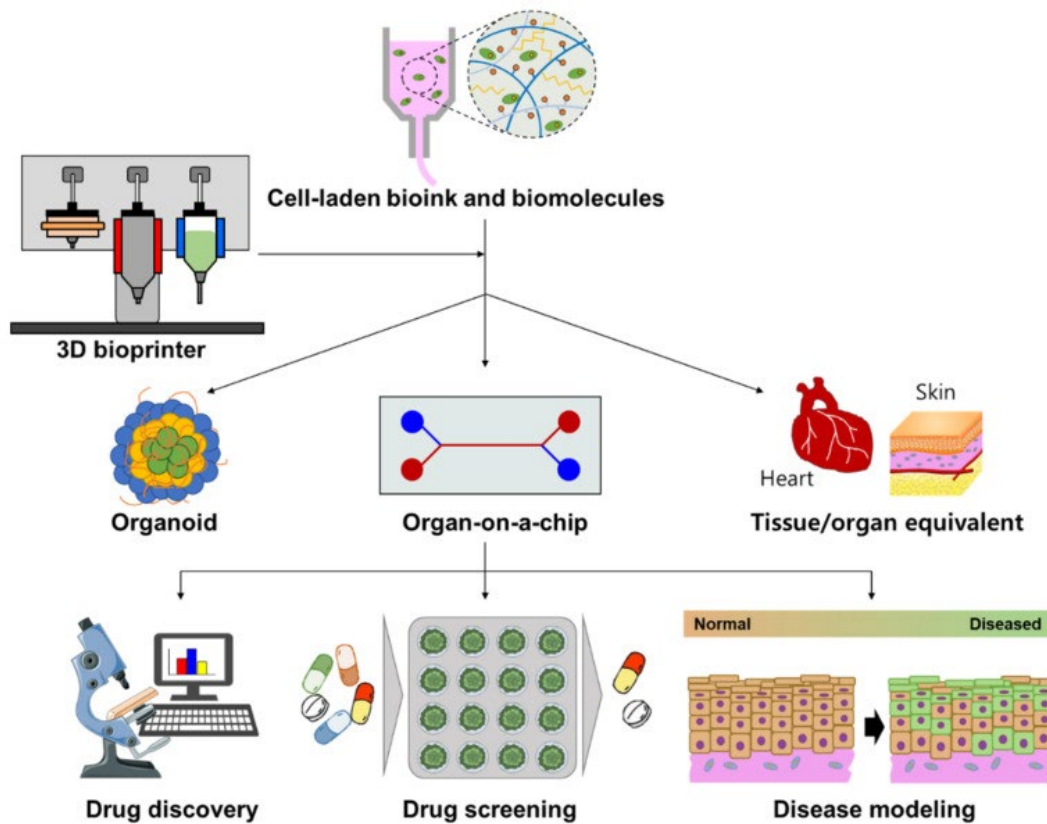


Figure 14 : Applications médicales en bio-impression 3D, basée sur différents types de cultures cellulaires en 3D : organoïdes, organes sur puce et des équivalents de tissus/organes <sup>39</sup>.

Parmi ces exemples de cultures cellulaires, on retrouve les organoïdes, qui peuvent se définir, d'après le consensus établi par la communauté scientifique, comme : « *[une] structure tridimensionnelle dérivée de cellules souches pluripotentes ou multipotentes, de cellules progénitrices qui s'auto-renouvellent et s'auto-organisent grâce à des interactions cellule-cellule et cellule-matrice reproduisant, in vitro, certains aspects architecturaux et fonctionnels des tissus natifs* » <sup>40</sup>.

Il existe différents types d'organoïdes, dont les « sphéroïdes », désignant un agrégat cellulaire, également formé en 3D, qui adopte une forme plus ou moins sphérique. Ou encore des organoïdes tumoraux, ou tumoroides, formés à partir de biopsies de tumeurs ou de pièces de résection chirurgicale. Généralement de forme sphérique, ces structures sont similaires à la tumeur primitive (caractéristiques histologiques, mutations d'oncogènes, marqueurs tumoraux), ont la capacité de reproduire le MET humain (organisation spatiale et interactions cellulaires) <sup>41</sup>.

Nous pouvons également mentionner les organes sur puce (« organ-on-a-chip ») qui sont, d'après Leung et al. <sup>42</sup> : « des systèmes contenant des tissus miniatures artificiels ou naturels cultivés à l'intérieur de puces microfluidiques ». Ces puces sont conçues pour contrôler les microenvironnements cellulaires et maintenir des fonctions spécifiques aux tissus afin de mieux imiter la physiologie humaine.

## **I) En recherche expérimentale et pharmaceutique**

### **1) Modélisation de tissus biologiques**

La bio-impression permet aujourd'hui de produire des tissus biologiques humains artificiels, qui représentent une réelle opportunité en recherche biomédicale, notamment pour mieux étudier les mécanismes biologiques des tissus considérés comme « sains » mais surtout pour mieux reproduire et comprendre les mécanismes physiopathologiques de certaines maladies.

Tout d'abord, il est désormais possible d'imprimer du tissu cutané. En effet, la nature relativement fine de la peau (environ 2,5 mm), sa simplicité structurale, combinée à un accès facile aux sources cellulaires, facilite le processus de bio-impression. Bien qu'on ne puisse pas encore reproduire entièrement les propriétés morphologiques, biochimiques et physiologiques de la peau native, il devient possible aujourd'hui d'imprimer des zones allant jusqu'à 100 cm<sup>2</sup> de peau en moins de 35 minutes<sup>43</sup>.

La bio-impression permet aussi de reproduire des modèles de certaines maladies cutanées. Par exemple, un modèle de dermatite atopique a pu être bio-imprimé, présentant les caractéristiques spécifiques de la pathologie (hyperplasie, spongiose, cytokines pro-inflammatoires, protéines de différenciation...). Il existe également d'autres modèles pathologiques comme le mélanome que nous aborderons plus tard<sup>43</sup>.

Un autre exemple est celui du tissu cartilagineux, structure avasculaire et non innervée avec une densité relativement faible de chondrocytes. Par exemple, le dépôt de chondrocytes humains dans une bio encre adaptée permet d'imprimer des structures cartilagineuses de forme anatomique, comme une oreille humaine et un ménisque de mouton, avec une fidélité et une stabilité biologiques élevées<sup>43</sup>.

Bien que l'os soit le tissu solide le plus souvent transplanté, les techniques traditionnelles de bio-fabrication de tissu osseux présentent des limites importantes (rareté des matériaux autologues disponibles, morbidités présentes chez le donneur). Des efforts ont donc été menés pour développer la bio-impression dans ce domaine<sup>43</sup>.

Le tissu neuronal est également concerné par la bio-impression. Une équipe de chercheurs a réussi à créer un tissu neural biomimétique en 3D avec une technique de SLA et une bio-encre appropriée, démontrant une adhérence, une survie et une prolifération améliorées des cellules neuronales<sup>44</sup> par rapport aux modèles classiques in vitro. Une autre approche a également été développée pour reproduire au mieux la structure 3D complexe du cerveau humain en incluant des hydrogels chargés de cellules neuronales en combinaison avec une bio-imprimant à extrusion. Ce modèle a pu démontrer des performances supérieures à celles des modèles 2D comparables du cerveau humain et constitue une plateforme qui devrait permettre de mieux comprendre les lésions cérébrales ou les maladies neurodégénératives<sup>45</sup>.

La bio-impression peut également être utilisée pour étudier les interactions hôte-pathogène impliquées dans les maladies infectieuses et servir de plateforme pertinente pour tester des traitements. Par exemple, il a été possible d'imprimer du tissu respiratoire humain pour étudier l'infection pulmonaire par le SARS-CoV-2 et tester des médicaments antiviraux potentiels.<sup>46, 47</sup>

De nombreux autres tissus ont fait l'objet de développements spécifiques de modèles bio-imprimés : tissu vasculaire<sup>48</sup>, musculosquelettique<sup>49</sup>, ou cardiaque, dont des exemples sont illustrés ci-dessous :

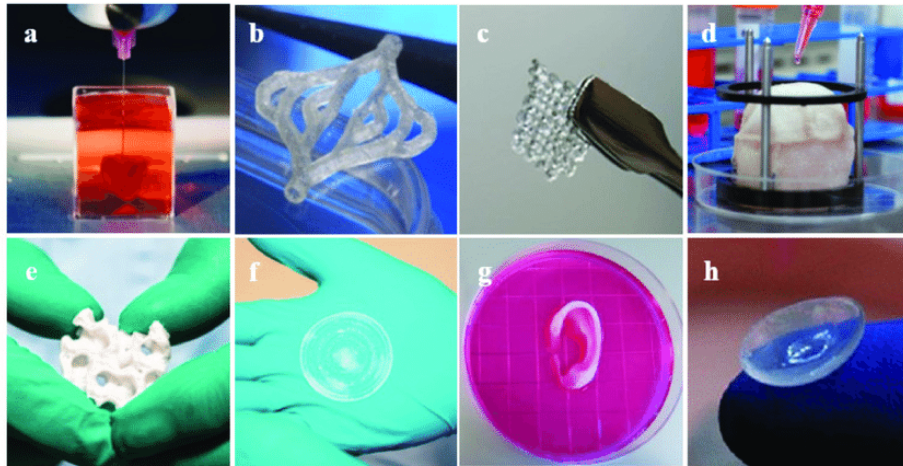


Figure 15 : Exemples de tissus bio-imprimés en 3D : (a) cœur<sup>50</sup>, (b) vaisseaux sanguins<sup>51</sup>, (c) cellules ovariennes<sup>52</sup>, (d) vessie<sup>53</sup>, (e) os<sup>54</sup>, (f) peau<sup>54</sup>, (g) oreille<sup>53</sup> et (h) cornée<sup>55</sup>.

## 2) Découverte et développement des médicaments

La bio-impression peut également jouer un rôle dans le processus de découverte et de développement des médicaments.

La découverte d'un médicament passe par une première étape dite de sélection d'une « cible », c'est-à-dire un élément biologique (molécule, gène, récepteur, protéine, cellule...) qui est lié à la physiopathologie d'une maladie. Si la liaison d'une cible avec un agent thérapeutique permet une réponse biologique mesurable, cela permet d'émettre l'hypothèse d'une utilité thérapeutique pour cette cible. La bio-impression, du fait de sa capacité à créer des modèles biomimétiques précis de maladies complexes, permet d'en reproduire la pathogenèse et la physiopathologie. Par exemple, un modèle bio-imprimé de fibrose pulmonaire a pu démontrer la pertinence pharmacologique de certains marqueurs en tant que cibles médicamenteuses potentielles<sup>56</sup>. Il existe de nombreux autres modèles montrant des résultats similaires avec du tissu musculosquelettique (imitant les conditions de vieillissement)<sup>57</sup>, du tissu de dermatite atopique<sup>58</sup> ou du tissu de fibrose hépatique<sup>59</sup>.

La deuxième étape est la sélection de ce qu'on appelle les « candidats médicaments », c'est-à-dire des composés et/ou molécules ayant un effet thérapeutique souhaité sur une cible sélectionnée de la maladie. Pour se faire, il faut tester des milliers de composés de manière rapide et rentable telle que le criblage à haut débit ou HTS (pour *High-Throughput Screening*), pour identifier un composé dit « lead » présentant les meilleures caractéristiques thérapeutiques potentielles. La bio-impression peut être utilisée pour créer rapidement des modèles de tissus hautement miniaturisés à incorporer dans les systèmes HTS. Par exemple, une équipe de chercheurs a pu tester 46 composés appliqués en topique sur un modèle de peau bio-imprimé imitant le tissu cutané humain<sup>60</sup>.

La troisième étape, celle des études précliniques a pour but de prédire l'activité du médicament chez l'homme. Elle est réalisée sur des modèles non humains (modèles animaux *in vivo* ou cultures cellulaires *in vitro*) qui ne miment pas complètement la physiologie ou la pathologie humaine. L'utilisation actuelle de cultures 2D pour les études précliniques, ne permet pas de prédire solidement la diffusion, l'efficacité et la sécurité des médicaments. Ce manque de précision biomimétique peut potentiellement faire échouer la sélection de la molécule « lead » (dites « tête de série », ayant le plus de probabilité d'être pertinentes médicalement).

Les modèles animaux *in vivo*, quant à eux, ne sont pas totalement transposables aux conditions pathologiques chez l'homme, et ne sont donc pas parfaitement prédictifs de la réponse possible chez l'homme. Cela contribue à une faible fiabilité translationnelle et à des taux élevés d'échec dans le développement de médicaments. A cela s'ajoute le coût et les préoccupations éthiques associés à l'utilisation de modèles animaux, ce qui conduit à réduire l'expérimentation animale de manière progressive.

Dans ce contexte, la bio-impression devient une alternative à ces deux modèles traditionnels, *in vitro* et *in vivo*. Les modèles bio-imprimés à partir de cellules humaines reproduisant avec plus de précision que les cultures 2D l'architecture des tissus *in vivo* pourraient ainsi faciliter la détection de l'efficacité et de la toxicité d'un candidat médicament. On retrouve de nombreux exemples de ces tests médicamenteux sur des modèles de tissus de foie, de cœur, musculosquelettiques et surtout tumoraux<sup>61, 62, 63, 64</sup>.

Les étapes précoces du développement d'un candidat médicament, et les bénéfices potentiels de la bio-impression, peuvent être résumés par la figure ci-dessous :

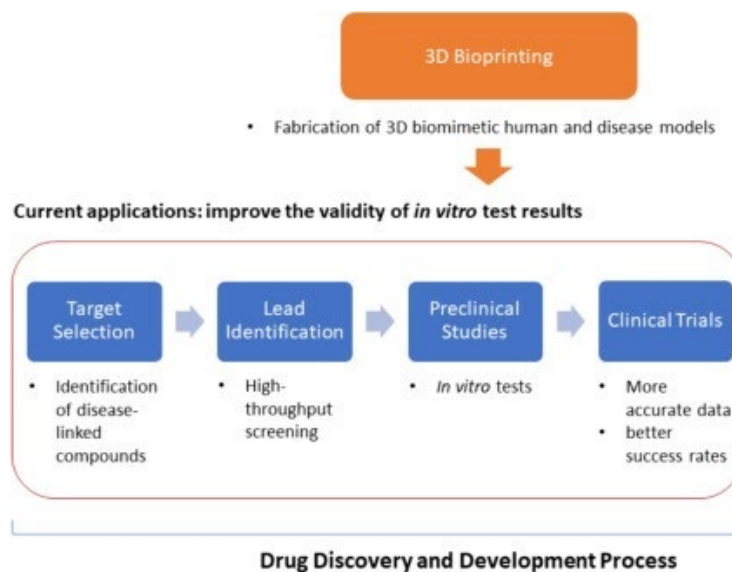


Figure 16 : Processus de découverte et développement des médicaments<sup>65</sup>.



## II) En clinique

### 1) Traitement des brûlures et cicatrisation des plaies

La prise en charge des plaies cutanées, notamment pour les cas complexes de cicatrisation (escarres diabétiques, veineuses, aspect esthétique...) ou de brûlure, est complexe et souvent insuffisante et se fait traditionnellement grâce à des greffes de peau de donneurs ou provenant du patient. La bio-impression de peau représente alors une alternative en produisant des tissus de manière rapide et à moindre coût pour les patients. Il existe d'ailleurs aujourd'hui des bio-imprimantes de peau développées dans cet objectif et qui se basent sur deux stratégies<sup>66</sup>.

Tout d'abord la technique de bio-impression « ex vivo » (par jet d'encre, extrusion, laser) qui consiste à créer une construction cutanée, mûrie in vitro si nécessaire, puis greffée sur la plaie du patient. Dans cette approche, tous les composants (fibroblastes humains, plasma, le chlorure de calcium...) nécessaires à la formation du derme sont déposés en même temps, puis des kératinocytes humains sont placés sur cette première couche pour créer l'épiderme<sup>67</sup>.

Nous pouvons également citer la société Française Poietis qui, depuis 2014, développe une plateforme de bio-impression de tissus humains combinant Laser-Assisted Bioprinting (LAB) & Bio-extrusion<sup>68</sup>, avec un robot « point of care » conforme aux Bonnes Pratiques de Fabrication, et un premier produit de grade clinique, PoieSkin, permettant la production de lambeaux cutanés de 40 cm<sup>2</sup>. Après une étude de preuve de concept in vivo sur un modèle de souris<sup>69</sup>, la startup a débuté en 2022 un premier essai clinique de phase I à l'hôpital de la Conception de Marseille. Cette étude devrait permettre de s'assurer que cette peau autologue bio-imprimée grâce à leur plateforme de bio-impression robotisée « NGB » (Next-Génération Bioprinting), puisse être greffée chez l'humain<sup>70</sup>.

Ces modèles de peau ont pu démontrer des résultats prometteurs en termes de cicatrisation des plaies ainsi que dans la reproduction des formations microvasculaires des couches dermiques<sup>71, 72</sup>.

L'autre approche est la bio-impression dite « in situ », où les cellules cutanées sont directement imprimées sur la plaie du patient<sup>73</sup>. Une équipe a mis au point une bio-imprimante qui imprime une bio-encre spécifique (fibroblastes, collagène I, fibrinogène, thrombine) directement dans la plaie, goutte après goutte. Cette méthode réalisée sur des souris, a démontré une cicatrisation plus rapide que les modèles témoins (3 semaines au lieu de 5)<sup>74</sup>. On peut retrouver d'autres études utilisant la technique in situ, avec des résultats encore plus prometteurs grâce à l'utilisation des cellules de peau autologues des patients, qui une fois intégrées dans une bio-encre appropriée, peuvent être implantées dans la zone blessée<sup>75</sup>.

Toutefois, l'utilisation de la bio-impression 3D en clinique reste limitée par le délai d'obtention d'un nombre suffisant de cellules à imprimer, et donc de fabrication de la surface de tissu requise, le recouvrement cutané chez les patients souffrant de brûlures étendues devant être fait le plus rapidement possible.

### 2) Remplacement des tissus osseux et cartilagineux

De nombreux résultats encourageants ont été réalisés concernant pour la reproduction du cartilage (biomimétisme mécanique similaire, bonne viabilité cellulaire) ainsi que pour les



reproductions osseuses (différenciation ostéogénique, prolifération cellulaire, croissance des cellules vasculaires...) avec des techniques de bio-impression<sup>76, 77, 78</sup>.

La bio-impression a été utilisée pour fournir des substrats de remplacement osseux, en créant des « échafaudages » poreux, permettant de reproduire une résistance à la force similaire à celle de l'os naturel, une meilleure compatibilité in vivo et une régénération de la vascularisation par rapport aux méthodes non bio-imprimées<sup>79</sup>.

Il est également possible de bio-imprimer des échafaudages 3D biodégradables puis de les cultiver pour former une greffe osseuse. Cette méthode peut favoriser la régénération de la structure osseuse in vivo chez le patient lui-même<sup>80</sup>.

La question qui se pose maintenant, est de savoir si les nombreux avantages offerts par la bio-impression, dans la recherche et la clinique, peuvent également s'appliquer au domaine de l'oncologie.

# **PARTIE 3 - QUEL ROLE POUR LA BIO-IMPRESSSION EN ONCOLOGIE ?**

Depuis ces dix dernières années, on observe une diminution globale de la mortalité par cancer avec un taux de guérison (aucun signe de rechute décelé sur 10 ans après le traitement) qui progresse. Ces avancées sont le résultat d'années d'investissements et de recherche en oncologie qui permettent d'améliorer jour après jour la prise en charge des patients. Toutefois, le cancer constitue toujours la première cause de mortalité prématurée en France (et deuxième cause dans le monde), son incidence a augmenté de manière significative ces 20 dernières années et il existe encore de nombreux cancers avec un pronostic défavorable et un taux de survie très bas.

Les objectifs et les défis associés, auxquels l'oncologie fait face aujourd'hui sont de deux ordres :

- « Mieux comprendre » le processus d'oncogenèse et de développement des cancers, en recherche fondamentale ou translationnelle, en particulier pour les processus tumoraux intrinsèques, le microenvironnement tumoral, les mécanismes d'invasion et métastases et le développement des résistances aux anti-cancéreux.
- « Mieux soigner » sur le versant clinique en optimisant les traitements existants, en luttant contre les résistances aux traitements et en développant de nouvelles solutions thérapeutiques.

Le troisième défi de l'oncologie, à savoir mieux dépister, paraît pour le moment peu accessible aux technologies de bio-impression.

## **A. RECHERCHE FONDAMENTALE ET PHARMACEUTIQUE EN ONCOLOGIE**

Pour faire de la recherche en oncologie, il est nécessaire de pouvoir reproduire le tissu tumoral afin d'étudier ses spécificités. Traditionnellement, cela se fait à l'aide de cultures de cellules monocouches en deux dimensions (2D). Bien qu'ils présentent de nombreux avantages, notamment leur simplicité et leur faible coût, ces modèles 2D n'ont pas la capacité de reproduire l'intégralité du microenvironnement tumoral. En effet, ils ne peuvent pas modéliser avec précision toutes les caractéristiques essentielles des tumeurs, telles que la morphologie et le profil génétique des cellules cancéreuses, la diaphonie (voies de signalisations cellulaires) et les interactions entre les composants de l'environnement cellulaire tumoral.

La question posée maintenant est de savoir si la bio-impression, grâce à ses processus automatisés capables d'assembler dans l'espace plusieurs types de cellules et de biomatériaux avec reproductibilité et précision, permet de mieux reproduire des modèles de cancer in vitro que les méthodes 2D conventionnelles.

## **I) Reproduction du microenvironnement tumoral (MET)**

### **1) Composition du MET**

Le microenvironnement du cancer est connu pour sa complexité, tant dans sa composition cellulaire hétérogène que dans sa nature dynamique contribuant au développement tumoral, ce qui en fait un réel enjeu de recherche en oncologie. Comme évoqué, le MET comprend des cellules immunitaires, des cellules stromales, de la matrice extracellulaire (MEC), ainsi que des réseaux de vaisseaux sanguins et lymphatiques, qui vont tous d'une manière ou d'une autre, être impliqués dans la survie et/ou la progression du cancer<sup>81,82</sup>.

La progression des tumeurs s'accompagne souvent d'une augmentation continue de la vascularisation des tissus. Ce processus est souvent médié par des facteurs de croissance qui favorisent l'angiogenèse et induisent la prolifération, l'activation et la génération de vaisseaux lymphatiques. De plus, l'interaction entre la MEC et le système lymphatique, peut également influencer la formation, la croissance et la métastase des tumeurs<sup>83-85</sup>.

### **2) MET et bio-impression**

La bio-impression permet de reproduire la rigidité de la MEC, qui joue un rôle majeur dans le comportement métastatique des cellules cancéreuses. Il a également été possible d'imiter la distribution spatiale de certains facteurs biochimiques pour imiter le microenvironnement tumoral natif. Cependant, pour obtenir ce contrôle spatial, il est nécessaire d'utiliser des approches et des matériaux aux propriétés spécifiques (densité, biocompatibilité, interactions cellule-matériau...). La bio-impression est aussi capable, grâce à différentes modalités techniques, d'intégrer des réseaux vasculaires dans ses modèles tumoraux. Cela permet entre autres, d'étudier l'invasion cellulaire et l'angiogenèse retrouvées dans le MET<sup>86</sup>.

Nous pouvons tout d'abord mentionner de nombreuses applications pour le cancer du sein. Les travaux menés par Langer et al.<sup>87</sup> ont développé un modèle de tumeur bio-imprimée hétérocellulaire (notamment avec des cellules cancéreuses dérivées de patientes), qui a pu reproduire les différents aspects des tissus néoplasiques et les réponses cellulaires du microenvironnement tumoral. De même, un modèle complexe de cancer du sein a permis de déchiffrer les interactions cellules cancéreuses/cellules de la matrice ; ce modèle combinait en effet la bio-impression de cellules cancéreuses sur des sphéroïdes eux-mêmes bio-imprimés à partir d'adipocytes et maturés<sup>88</sup>.

Reid et al.<sup>89</sup> ont observé que la bio-impression augmentait de manière significative la formation de tumoroïdes dans les gels de collagène 3D et permettait la production précise de réseaux de tumoroïdes lors de l'étude de la tumorigenèse du cancer du sein. Ils ont également constaté que les organoïdes bio-imprimés pouvaient imiter avec précision les conditions in vivo.

L'hépatocarcinome a également été étudié par l'équipe de Chen et al.<sup>90</sup> qui a réussi, grâce à une bio-encre spécifique (dECM de foie combiné à de la gélatine méthacrylée) et une bio-imprimante basée sur la photopolymérisation, à créer un bio-modèle de foie présentant des caractéristiques mécaniques cliniquement pertinentes du tissu cirrhotique. Ce qui a permis d'étudier le comportement de différentes cellules cancéreuses du foie dans des environnements fibrotiques spécifiques. Un autre modèle d'hépatocarcinome en 3D a été

produit avec une méthode SLA et en modelant des dECM de foie ce qui a permis de créer une plateforme pour l'étude de la progression de ce cancer<sup>91</sup>.

Afin de mieux reproduire le microenvironnement pancréatique, l'équipe de Sears et al.<sup>92</sup> a créé un modèle organotypique d'adénocarcinome pancréatique bio-imprimé à l'aide de cellules cancéreuses du pancréas dans un microenvironnement composé de cellules endothéliales et de cellules stellaires du pancréas. Dans une autre étude, Langer et al.<sup>93</sup> ont réussi à bio-imprimer des tumeurs « sans échafaudage » en utilisant des cellules dérivées de patients pour examiner si la croissance et le développement des cellules pancréatiques pouvaient être reproduit *in vitro*. Ce modèle a permis d'imiter de nombreuses caractéristiques de la tumeur, notamment la réponse aux signaux extrinsèques et la morphologie *in vivo*.

Le glioblastome est la forme agressive la plus courante de cancer affectant le système nerveux central. Afin de mieux en comprendre ses mécanismes physiopathologiques, un modèle bio-imprimé de « glioblastome sur puce », a été créé à partir de cellules de glioblastome dérivées de patients et de cellules endothéliales co-cultivées dans un environnement dECM. Dans ce modèle, une structure de stroma cancéreux a été développée, maintenant l'apport d'oxygène et imitant le MET tumoral *in vivo*<sup>94</sup>. Dans le but d'étudier l'interaction cellulaire, l'équipe de Heinrich et al.<sup>95</sup> a mis au point un modèle de mini-cerveau bio-imprimé, intégrant des macrophages associés au glioblastome (GAM) et des cellules de glioblastome. Dans ce modèle, on observe des modifications des GAM et de transcriptions, comparables à l'analyse transcriptomique de plus de 150 patients atteints de ce cancer, démontrant que les macrophages induisaient la prolifération et l'invasion des cellules de glioblastome.

Il existe de nombreux autres exemples de modèles tumoraux 3D reproduisant le MET de certains cancers comme le cholangiocarcinome<sup>96</sup>, le cancer colorectal<sup>97</sup>, le cancer du poumon<sup>98</sup> et le mélanome<sup>99</sup>.

## **II) Mécanismes des métastases**

Les métastases tumorales impliquent un processus en cascade complexe, au cours duquel les cellules cancéreuses se détachent de la tumeur primaire, infiltrant la membrane basale, pénètrent dans les vaisseaux lymphatiques et sanguins (aidées par des fibroblastes et des macrophages), puis s'échappent des vaisseaux sanguins et s'extravasent plus tard dans des tissus distants et les colonisent. Simuler la physiologie des événements métastatiques tumoraux de manière réaliste en 3D est encore un défi pour la modélisation *in vitro*.

La bio-impression est donc devenue une méthode de choix largement utilisée pour construire des modèles 3D de métastases tumorales<sup>100-102</sup>. Elle peut notamment, outre imiter les structures tissulaires complexes, maintenir la viabilité cellulaire tout en simulant le microenvironnement tumoral. On retrouve par exemple la création de bio-encre (à base de dECM) plus résistantes qui peuvent mieux imiter l'environnement des métastases tumorales<sup>103-105</sup>. Les travaux de Wang et al.<sup>106</sup> ont permis de cultiver un modèle 3D de cancer durant 28 jours et qui a conservé son intégrité structurelle et ses capacités d'invasion, similaires à celles des tissus naturels.

Cette approche permet également d'imprimer des membranes fonctionnelles spécifiques, offrant une activité cellulaire et une reproductibilité élevée pour la fabrication *in vitro* de

structures telles que la barrière hémato-encéphalique (BHE)<sup>107</sup> ou les alvéoles pulmonaires<sup>108</sup>, permettant une meilleure simulation des environnements complexes des cancers du cerveau et des poumons.

Les modèles de tumeurs métastatiques nécessitent de reproduire le comportement métastatique des cellules tumorales. Le comportement métastatique fait référence à la cascade complexe de métastases tumorales mais aussi à la série de changements fonctionnels et phénotypiques des cellules tumorales au cours du processus métastatique<sup>109-112</sup>.

La bio-impression 3D permet une manipulation en quatre dimensions (4D) de certaines variables. Par exemple, Meng et al.<sup>113</sup> ont bio-imprimé des structures tumorales via le placement précis de cellules vivantes, de biomatériaux fonctionnels et de capsules de libération programmables. Ces dernières peuvent manipuler de manière dynamique le gradient de molécules de signalisation pour moduler le comportement cellulaire à un niveau local, ce qui permet de mieux modéliser la formation des métastases cancéreuses.

Cependant, on observe une limite dans ces modèles qui est la difficulté de reproduction des systèmes vasculaires associés aux métastases.

### **III) Mécanismes de résistance**

Les tumeurs malignes présentent une hétérogénéité intra-tumorale correspondant à l'hétérogénéité cellulaire et moléculaire intrinsèque au sein du tissu tumoral et du MET. Ce phénomène est fréquemment amplifié par des pressions sélectives, et notamment par des thérapies qui conduisent à l'acquisition de profils de résistance aux médicaments et à l'échec thérapeutique. De plus, l'hétérogénéité intra-tumorale peut être considérée comme un processus dynamique (modifications génétiques, morphologiques et phénotypiques dans l'espace et au fil du temps) qui impose une adaptation thérapeutique continue.

Pour étudier le comportement biologique des cellules tumorales, en particulier les mécanismes conduisant à l'échappement thérapeutique et à la résistance aux médicaments, divers modèles de cancers ont pu être réalisés grâce à la bio-impression.

#### **1) Cancer du sein**

Nous pouvons prendre un exemple de cette technologie appliquée à la pharmacorésistance du cancer du sein. Grâce à une bio-imprimante à extrusion et une bio-encre à double hydrogel, une équipe de chercheurs a pu co-cultiver des cellules souches/matrices mésenchymateuses dérivées de cellules adipeuses avec des cellules primaires de cancer du sein positives pour un récepteur au facteur de croissance épidermique humain afin d'étudier leur réponse à la doxorubicine. Ces modèles de cancer du sein bio-imprimés en 3D ont permis de mieux reproduire les conditions in vivo comparé à des cultures cellulaires en 2D<sup>114</sup>.

Song et al.<sup>115</sup> ont également réussi à bio-imprimer des sphéroïdes de cancer du sein résistants aux médicaments dans un milieu d'alginate-gélatine. Pendant la culture 3D, le phénotype des sphéroïdes de cancer du sein résistants aux médicaments, caractérisés par une forte expression de certains gènes spécifiques, a été maintenu. Ce système s'est montré rapide et

capable de réaliser en une seule étape une évaluation quantitative in situ, ce qui en fait une stratégie intéressante pour caractériser les modèles résistants aux traitements in vitro<sup>115</sup>.

## 2) Glioblastome

On peut retrouver d'autres études, où des modèles bio-imprimés par extrusion, en utilisant des cellules souches de gliome humain encapsulées dans des hydrogels à base d'alginate ou de gélatine afin d'étudier la résistance aux médicaments qui s'est avérée plus pertinente pour les modèles 3D par rapport aux modèles 2D<sup>116,117</sup>. De plus, la bio-impression par jet d'encre a également été utilisée pour imprimer un modèle basé sur une co-culture de cellules d'hépatome et de gliome afin d'observer l'activité anticancéreuse du médicament tégafur sur les cellules du gliome<sup>118</sup>. Des modèles tumoraux bio-imprimés ont également été développés pour reproduire les propriétés des cellules souches du gliome qui sont un médiateur important de la résistance aux traitements. Ici aussi, le modèle 3D a permis de mettre en évidence une différence marquée dans la résistance aux médicaments et la tumorigénicité in vivo des cellules comparées au modèle 2D<sup>119</sup>.

## 3) Cancer colo-rectal

Des modèles de cancers colo-rectaux peuvent également être produits en bio-impression. Par exemple, des chercheurs ont pu mettre en co-culture des cellules cancéreuses, des fibroblastes associés au cancer et des cellules endothéliales associées aux tumeurs, pour construire un modèle bio-imprimé en 3D de cancer colorectal permettant des interactions inter-cellulaires dans le réseau tissulaire. Ce modèle tumoral 3D montrait des caractéristiques physiologiques similaires à celles trouvées in vivo, présentant une résistance élevée aux médicaments, et était compatible avec une surveillance à long terme et une évaluation fonctionnelle<sup>120</sup>.

Les deux équipes d'Adam W Perriman et de Victoria Sarafian ont utilisé des lignées cellulaires de cancers colo-rectaux pour la bio-impression afin d'évaluer la résistance au traitement des médicaments chimiothérapeutiques courants (5-fluorouracile, oxaliplatine et irinotécan) et de la radiothérapie. Comparé à la culture 2D, le modèle de culture cellulaire bio-imprimé en 3D a affiché une plus forte résistance à la radiothérapie et à la chimiothérapie<sup>121,122</sup>.

Mao et al.<sup>123</sup> ont pu construire un modèle 3D multicellulaire composé de cellules cancéreuses, de macrophages associés à la tumeur et de cellules endothéliales. Par rapport au modèle bio-imprimé en 3D à cellule unique, ce modèle multicellulaire a présenté une plus forte résistance aux médicaments de chimiothérapie (5-FU, oxaliplatine, irinotécan). Ce modèle a également simulé plus précisément le MET contribuant à une étude plus approfondie des mécanismes de chimiorésistance tumorale par le biais d'interactions intercellulaires.

Il existe de nombreux autres modèles tumoraux bio-imprimés que cela soit pour l'étude des résistances dans le cancer du poumon<sup>124,125</sup>, de l'utérus<sup>126,127</sup> ou encore pour le cholangiocarcinome<sup>128</sup>.

## IV) Recherche et développement de médicaments

Bien que l'un des défis majeurs en oncologie soit de trouver de nouveaux traitements, il faut garder en tête que le processus de découverte et de développement d'un médicament peut durer environ 15 ans et que seuls 9,6 % des médicaments parviennent à l'étape des essais cliniques<sup>129</sup>. Ce faible taux de réussite peut s'expliquer, en partie, par l'utilisation de cultures 2D ou des modèles animaux pour les études précliniques, qui ne sont pas totalement fiables. Contrairement aux tissus bio-imprimés qui ont démontré leur pertinence en tant que modèle alternatif pour ces études<sup>130</sup>.

Intéressons-nous donc désormais aux dernières applications de la bio-impression dans la découverte et le développement de médicaments en oncologie, qui est devenu le sujet d'intérêt de nombreux articles scientifiques ces dernières années. Nous aborderons certains exemples de modèles biomimétiques de cancers utilisés dans la sélection des cibles thérapeutiques, les systèmes de criblage à haut débit pour l'identification des candidats médicaments, les modèles de tissus *in vitro* pour les études précliniques et les essais cliniques dans ce domaine.

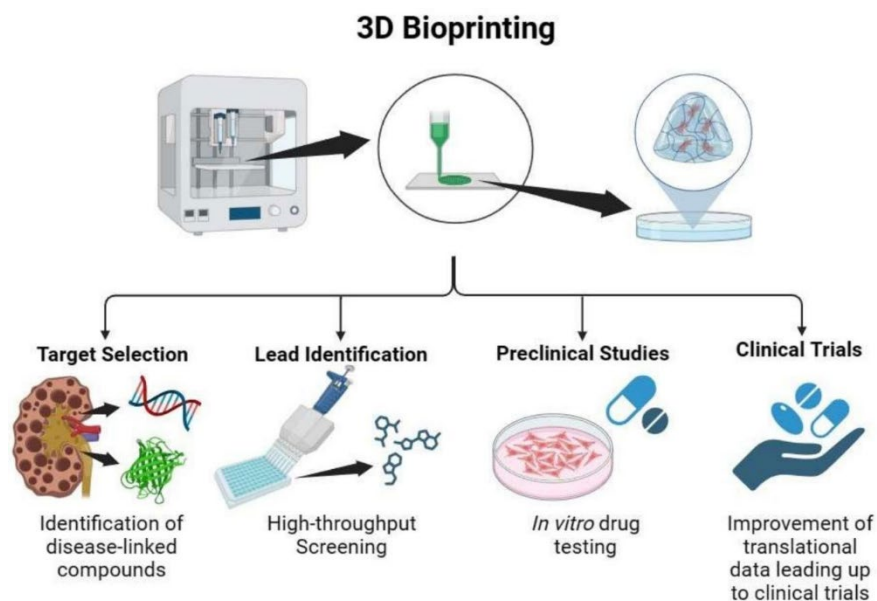


Figure 17 : Applications de la bio-impression 3D dans la découverte et le développement de médicaments<sup>131</sup>.

La bio-impression peut être utilisée dans l'identification de leads dans le domaine de l'oncologie en utilisant des systèmes HTS.

Par exemple, Baillargeon et al.<sup>132</sup> ont pu tester plus de 150 000 composés (environ 15 000 par jour) grâce à des sphéroïdes de cellules cancéreuses du pancréas bio-imprimées compatibles avec le système HTS. Ce modèle a également permis de reproduire certaines valeurs d'intérêt pharmaceutique, comme la concentration inhibitrice semi-maximale ou CI50 (mesure de la concentration d'un médicament ou d'un composé nécessaire pour inhiber de 50 % un processus biologique ou biochimique particulier) lors des tests de faisabilité pour le criblage de médicaments. Toutefois, le coût de cette méthode est trois fois plus élevé que celui des modèles 2D traditionnels.

Ce même système HTS a été utilisé par une autre équipe pour identifier environ 700 composés d'intérêt (sur 150 000) qui présentaient des sélectivités différentes pour les cellules cancéreuses du pancréas. De plus, lors de tests ultérieurs, 4 composés ont présenté des résultats prometteurs en termes d'efficacité. Cela permet de montrer que la bio-impression peut évaluer la relation structure-activité et qu'elle est susceptible d'identifier plus rapidement des « têtes de série » pertinentes pour la suite des tests<sup>133</sup>.

Li et al.<sup>134</sup> ont développé des modèles de tumeurs mammaires bio-imprimées pouvant être utilisés dans des productions à grande échelle à un coût très faible. Cette étude a permis pour la première fois d'évaluer la relation structure-activité dans le phénomène de résistance aux médicaments dans les cellules cancéreuses du sein.

Mazzaglia et al.<sup>135</sup> a créé des tumoroïdes contenant des fibroblastes associés au cancer (CAF) à l'aide d'une bio-imprimante à extrusion. Ce tumoroïde avait une structure reflétant les tumeurs in vivo et présentait une plus grande hétérogénéité des CAF par rapport aux cultures 2D. D'autres tests utilisant l'immunothérapie (anti-CTLA4) ont montré une plus grande migration des cellules immunitaires vers le site de la tumeur par rapport au modèle 2D contrôle. Ces résultats sont cohérents avec les observations réalisées dans le cadre d'études sur l'homme, ce qui souligne l'applicabilité possible de ce tumoroïde aux tests de médicaments.

On peut également citer d'autres travaux qui ont permis de développer un modèle de cancer bio-imprimé, utilisant une bio-encre imitant la matrice tissulaire in vivo, qui s'est avéré capable de mieux prédire les effets du 5-fluorouracile sur les cellules cancéreuses des mammifères par rapport aux cultures 2D, soulignant la pertinence de la bio-impression dans le développement de modèles in vitro pour les tests de médicaments anticancéreux<sup>136</sup>.

On peut également citer les travaux de Sun et al.<sup>137</sup> qui ont produit des modèles de cellules de carcinome hépatocellulaire, sur lesquelles ils ont pu tester les effets des agents chimiothérapeutiques (cisplatine, sorafénib et régorafénib), sur le cancer du foie. Les résultats ont démontré une corrélation avec les essais cliniques, soulignant la fiabilité des modèles bio-imprimés en 3D pour prédire les observations cliniques. De même, Miranda et al.<sup>138</sup> ont observé dans un modèle 3D de cancer de la vessie des IC50 plus élevées pour le cisplatine dans le modèle 3D en comparaison au modèle 2D. Ils ont aussi pu disséquer les mécanismes de sensibilisation au cisplatine par l'addition d'un glycoalcaloïde au milieu, ainsi qu'une diminution de la production de métalloprotéases compatible avec un impact sur la migration des cellules tumorales.

Au total, bien que ces systèmes de criblages bio-imprimés nécessitent encore d'autres études pour optimiser leur séquence opérationnelle et leur coût de production, la puissance de leur automatisation et leur précision biomimétique les rendent plus pertinents et prédictifs des réponses des patients, et devraient leur permettre à terme de remplacer les modèles 2D moins représentatifs de la biologie complète des tumeurs, et d'accélérer ainsi l'identification de nouveaux candidats médicaments pertinents.

## **V) Une étape indispensable de recherche translationnelle**

Les travaux développés dans le cadre de la recherche fondamentale ou de la recherche et développement pharmaceutique laissent espérer que les modèles 3D bio-imprimés pourraient



être utiles à terme au lit du patient pour optimiser les traitements. Cependant, peu de domaines médicaux requièrent une sélection précise et individualisée d'un schéma thérapeutique optimal, en dehors de l'infectiologie (sur l'identification de l'agent infectieux et de son profil de sensibilité, bien couverts par les méthodes de bactériologie actuelles) et de l'oncologie (sur les caractéristiques de la tumeur du patient). Dans les autres domaines thérapeutiques, l'arsenal thérapeutique est plus réduit, et les ajustements sont liés aux indications et aux caractéristiques physiologiques des patients (âge, poids, interactions). Seule l'oncologie semble être une candidate au développement de modèles 3D bio-imprimés.

Deux études prospectives sont en cours dans des cancers hématologiques (Pardee et al.<sup>139</sup>), et dans le cancer colorectal (Mao et al.<sup>140</sup>). Des modèles bio-imprimés seront développés à partir de cellules tumorales des patients inclus. La confrontation des résultats de réponse ou résistance observés sur les modèles avec la réponse clinique des patients permettra d'identifier a posteriori le meilleur modèle possible (2 par exemple sont testés par Mao et al) en termes de potentiel prédictif.

Des études de ce type sont des préalables au passage des modèles 3D bio-imprimés en routine, mais il existe en fait déjà des projets en cours sur leur utilisation en pratique clinique oncologique, que nous décrirons par la suite.

## **B. BIO-IMPRESSION ET ONCOLOGIE CLINIQUE**

Encore aujourd'hui, le choix d'un traitement anticancéreux parmi toutes les molécules ayant fait preuve de leur efficacité dans le type de tumeur d'un patient se fait de façon presque probabiliste, en fonction des résultats des études cliniques et de tests d'orientation encore peu performants.

Ces méthodes de « drug sensitivity testing » sont en effet encore limitées dans la qualité prédictive de leurs résultats. Elles sont basées aujourd'hui essentiellement sur des approches de génomique in vitro (pharmacogénomique, « next generation sequencing ») et sur l'analyse de biomarqueurs (en particulier pour l'établissement d'un pronostic), voire sur l'utilisation de modèles de xénogreffes dérivées de patient, dont le déploiement est difficile sinon impossible en situation clinique <sup>141</sup>.

La supériorité des modèles 3D bio-imprimés sur les modèles classiques 2D constatée en recherche expérimentale ou translationnelle, la relative facilité du déploiement de ces méthodes, et la rapidité de production des nouvelles imprimantes font de la bio-impression un outil attractif dans le cadre de la médecine de précision en oncologie, et plusieurs applications cliniques ont déjà été publiées. La rapidité est un élément essentiel pour l'utilité clinique des méthodes de drug sensitivity testing. Il faut en effet pouvoir mettre en œuvre le traitement anticancéreux dans un temps court après la biopsie diagnostique, ou la chirurgie initiale, la durée maximale acceptée aujourd'hui dans les recommandations de pratique clinique étant de l'ordre de 2 ou 3 semaines.

Un nombre croissant d'équipes ont ainsi publié des travaux sur la validation préliminaire, ou l'usage en routine, de la bio-impression 3D, dont le principe général est illustré dans la figure ci-dessous :

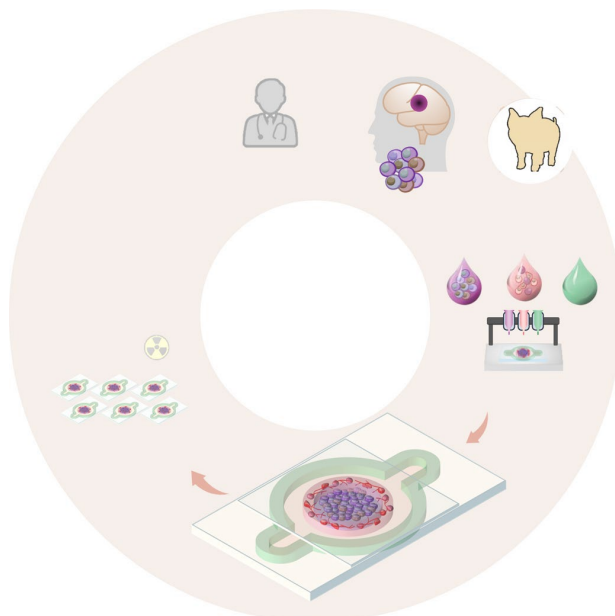


Figure 18 : Utilisation de la bio-impression pour sélectionner la combinaison thérapeutique optimale pour un patient individuel, cas du glioblastome <sup>142</sup>

Parmi ces travaux, nous en retiendrons 3 qui nous paraissent les plus avancés.

Yi et al. <sup>142</sup> ont ainsi développé un modèle 3D bio-imprimé de glioblastome sur puce à partir de cellules de patients, qui reconstitue la structure, les propriétés biochimiques et biophysiques des tumeurs d'origine. Ce modèle, qui peut être établi en seulement une à deux semaines, a permis pour un patient de tester la résistance à la chimiothérapie par temozolomide et radiothérapie, et différentes combinaisons thérapeutiques de seconde ligne.

Steinberg et al. <sup>143</sup> ont mis au point un modèle 3D bio-imprimé sur puce de différentes tumeurs du tube digestif. L'utilisation de la micro-fluidique et d'encres optimisées leur a permis de reproduire des conditions quasi-physiologiques (en particulier paramètres biophysiques et MET) et donc d'améliorer le potentiel prédictif de ces modèles. Ceci a été confirmé par la mise en évidence de résistances sur les modèles 3D concordantes avec les résistances observées en clinique chez les patients desquels les cellules provenaient.

Un troisième travail d'intérêt est celui de Peterziel et al. <sup>144</sup> qui décrit (figure 19) la mise en œuvre dans le cadre d'une étude clinique internationale multicentrique en oncologie pédiatrique, INFORM, d'un modèle de sphéroïdes 3D pour tester la sensibilité à une librairie de 75 molécules pertinentes dans les tumeurs pédiatriques.

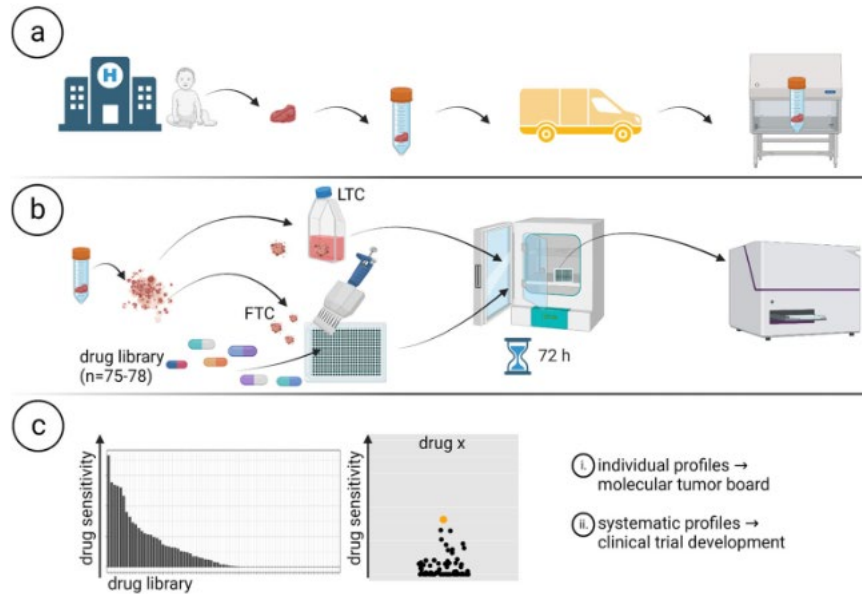


Figure 19 : schéma d'organisation de l'étude INFORM pour le modèle de drug sensitivity (a- collecte et expédition des échantillons, b- préparation des sphéroïdes à partir des cellules de chaque patient, c- production des rapports de sensibilité aux molécules de la librairie pour la réunion de concertation pluridisciplinaire) <sup>144</sup>

L'intervalle de temps entre prélèvement et disponibilité des données pour analyse était en médiane de 20 jours (dont 7 jours pour la croissance des sphéroïdes), puis en médiane 12 jours pour l'analyse et la production du rapport final. Pour soixante-deux pour cent des patients, les résultats de sensibilité thérapeutique étaient disponibles en moins de 14 jours. Cette étude a confirmé 2 résultats importants, au-delà de la faisabilité de cette technique en « quasi-routine » clinique : le profil de sensibilité sur sphéroïde correspondait toujours à celui obtenu en profilage moléculaire classique, et, surtout, la technique sphéroïde apportait des informations pertinentes dans 80% des cas où le profil moléculaire était muet. Il reste cependant des progrès significatifs à apporter, aux méthodes de laboratoire d'une part -puisque des modèles de sphéroïdes n'ont pu être établis que pour 69 cas sur les 132 prélèvements tissulaires collectés dont 89 seulement de viabilité suffisante-, et aux corrélations entre sensibilité thérapeutique sur sphéroïde et réponse clinique d'autre part, qui dans la publication n'ont été analysées que pour 3 cas. Par ailleurs, aucune décision thérapeutique n'était prise dans INFORM sur la base des résultats sphéroïde.

Ainsi, il apparaît possible, dès aujourd'hui, d'utiliser les modèles bio-imprimés 3D pour tester en « quasi-temps réel » la sensibilité des tumeurs à différents traitements. Il manque encore une validation de ces données préliminaires sur des études cliniques de grande taille, et où la décision thérapeutique sera prise sur le résultat des modèles. On pourra alors mettre en œuvre une médecine de précision à l'échelle clinique en oncologie, et utiliser au mieux l'arsenal thérapeutique disponible (même si plusieurs travaux récents montrent qu'il y a à ce jour plus d'anomalies moléculaires que de médicaments approuvés et disponibles, par exemple Massard et al. <sup>145</sup> et Bertucci et al. <sup>146</sup>).

Malgré les avantages réels de la bio-impression dans le domaine médical, il ne faut pas perdre de vue qu'elle présente encore des limites et qu'elle soulève de nombreuses questions quant à sa réglementation. Il existe actuellement certains défis qu'il faudra surmonter avant de pouvoir exploiter le plein potentiel de cette technique.

# PARTIE 4 – DEFIS ET PERSPECTIVES DE LA BIO-IMPRESSION

## A. DEFIS TECHNIQUES

Malgré les rapides progrès de la bio-impression, il reste encore de nombreux défis techniques à surmonter avant de pouvoir imprimer des tissus et/ou des organes totalement fonctionnels. D'après les travaux de recherche de Wu et al.<sup>147</sup>, répondre à ces défis nécessite des avancées dans trois types de technologies :

- La technologie cellulaire : permettant l'acquisition de cellules fonctionnelles pour des applications cliniques
- La technologie de fabrication : intégrant les cellules et les biomatériaux pour développer une configuration spatiale efficace
- La technologie de maturation des tissus : assurant l'intégration biologique et mécanique de la construction bio-imprimée avec l'organe natif après l'implantation

Intéressons-nous plus en détails à ces différents défis illustrés ci-dessous.

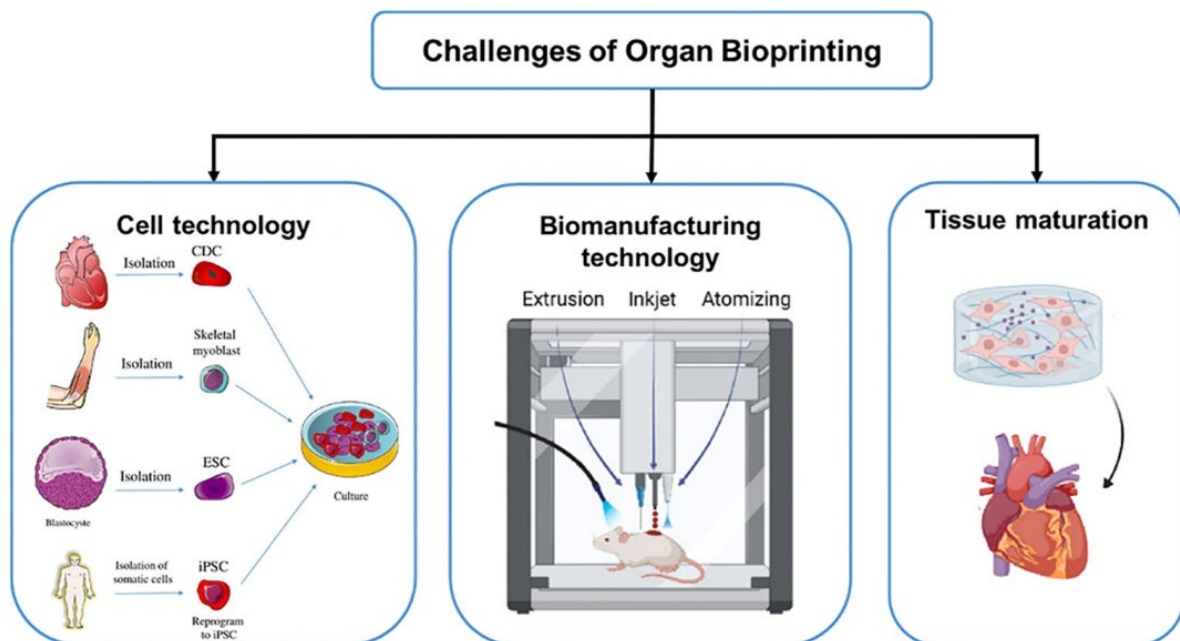


Figure 20 : Avancées technologiques nécessaires à la bio-impression de tissus et/ou d'organes totalement fonctionnels <sup>147</sup>

### I. Défis liés à la technologie cellulaire

Lors du développement d'un organe bio-imprimé, il est primordial de reproduire avec précision la composition cellulaire spécifique de l'organe cible, les cellules de soutien, le réseau vasculaire et les cellules immunitaires pour obtenir une fonctionnalité aussi proche que possible de l'organe biologique. Pour cela il faut utiliser plusieurs techniques d'isolement cellulaire à partir de tissus vivants <sup>148,149</sup>.

Les cellules souches représentent ici une alternative intéressante car elles peuvent être considérées comme une source inépuisable de cellules pour remplacer les tissus et organes malades ou endommagés. Il existe d'ailleurs de nombreuses études mentionnant l'utilisation des cellules souches dans la bio-impression. Mais leur utilisation se heurte aux limites connues de l'accès aux cellules souches <sup>150</sup>.

Les cellules souches pluripotentes induites (iPSC), pouvant être produites en quantité illimitée et obtenues par reprogrammation génétique de cellules adultes différenciées provenant de différents tissus de l'organisme, sont utilisables en bio-impression. Bien qu'elles présentent un risque de tumorigénicité lié à leur processus de différenciation, elles ont néanmoins l'avantage d'être issues du patient lui-même et donc de réduire le risque immunitaire puisqu'utilisées dans le cadre de transplantations autologues<sup>151</sup>.

## **II. Défis liés à la technologie de fabrication**

### **1. Matériel utilisé**

Malgré leur plus large déploiement, les bio-imprimantes restent coûteuses, et la vitesse de production des bio-objets 3D reste lente.

Le défi principal reste cependant le maintien de l'intégrité cellulaire pendant le processus de bio-impression. Un nouveau procédé, la bio-impression volumétrique tomographique, pourrait réduire le temps d'impression/ La technique d'incorporation réversible de formes libres d'hydrogels suspendus ou FRESH (pour « Freeform Reversible Embedding of Suspended Hydrogel »), permettrait de mieux préserver les cellules imprimées tout au long du processus d'impression<sup>152, 153</sup>.

Il n'existe à ce jour pas de méthode de suivi « in process », c'est-à-dire pendant l'impression elle-même, des caractéristiques biologiques des cellules imprimées, et en particulier de leur viabilité. Ces caractéristiques biologiques ne sont vérifiées qu'après impression. Pouvoir détecter rapidement les mauvais calibrages et les adapter directement permettrait d'économiser les coûts et les efforts de production. De tels systèmes de vérification « in process » existent en fabrication additive métallique où des caméras infrarouges peuvent détecter les différences de chaleur et adapter et/ou arrêter le processus si une anomalie est détectée. On pourrait donc imaginer un système similaire de surveillance des cellules pendant l'impression (cellules fluorescentes détectées par des systèmes optiques, électriques, électroniques etc. au moment de leur impression...)<sup>154</sup>.

Les bio-encres sont essentielles au processus de bio-impression et nécessitent des caractéristiques optimisées (viscosité, biocompatibilité, spécificités tissulaires...) pour assurer leur imprimabilité.

Les bio-encres sont principalement composées de deux types d'hydrogels, les polymères naturels (collagène, gélatine, alginate, fibrine...) et des polymères synthétiques (notamment polyéthylène glycol (PEG)). Les polymères naturels, d'origine animale et végétale, sont plus couramment utilisés, mais pourraient provoquer des réactions immunologiques<sup>155, 156</sup> et présentent une variabilité inter-lots difficile à maîtriser(56). Les polymères synthétiques ont des

propriétés plus facilement optimisables et une faible variation de lot, mais manquent de molécules bioactives ou de sites d'adhésion cellulaire.

Bien qu'il existe désormais une multitude de bio-encres spécifiques aux tissus ou aux cellules, il n'existe pas encore de bio-encre universelle pour fabriquer tous les tissus<sup>157</sup>. La plupart de ces bio-encres ne passent que des tests de viabilité cellulaire de base (biocompatibilité, viabilité cellulaire post-bio-impression) alors que de nombreuses autres fonctions cellulaires peuvent être influencées par la bio-encre. Cette dernière peut par exemple favoriser la viabilité cellulaire post-impression, mais pas la différenciation cellulaire. Par conséquent, l'évaluation des bio-encres basée sur des applications spécifiques ou une évaluation complète rigoureuse des diverses fonctions cellulaires deviendra rapidement nécessaire. Effectuer des études à long terme des bio-encres permettra également d'évaluer la biocompatibilité ou les fonctions cellulaires, mais aussi l'évolution des propriétés de la bio-encre au fil du temps (dégradabilité, défaillances structurelles, interactions cellulaires...)<sup>158, 159</sup>.

Selon le type de processus de bio-impression, les paramètres choisis peuvent influencer les propriétés des constructions bio-imprimées (pression et vitesse l'extrusion, l'énergie thermique ou les fréquences vibratoires pour le jet d'encre) comme la viabilité et les caractéristiques biologiques des cellules imprimées. Il devient donc nécessaire de standardiser autant que possible les paramètres du processus de bio-impression, pour assurer une bonne répétabilité et reproductibilité du processus de bio-impression, nécessaire à un passage sécurisé de ces technologies en pratique clinique.<sup>160-162</sup>.

## 2. Biomimétisme

Outre la très grande diversité des cellules à bio-imprimer pour un organe spécifique, la distribution spatiale doit être reproduite pour garantir le bon fonctionnement de l'organe bio-imprimé. L'imitation de l'architecture complexe de l'organe cible peut se faire via des techniques de bio-impression de haute précision, notamment la technique de la 2PP (induite par laser femtoseconde) pour créer des structures 3D à l'échelle microscopique. Bien que ces techniques permettent une micro-/nano-fabrication 3D, leurs applications en bio-impression sont encore limitées (temps de production lent et disponibilité des biomatériaux)<sup>163-166</sup>.

La vérification de la qualité de la reproduction de la structure spatiale biologique de l'organe fait appel à des techniques d'imagerie précises (tomodensitométrie, IRM, scanners, microscopes confocaux ou électroniques à balayage, tomographie par cohérence optique) avec leurs avantages et inconvénients (résolution, comptabilité, altération de l'intégrité et viabilité cellulaire). Cette étape représente un coût conséquent et peut également altérer la bio-activité des constructions bio-imprimées<sup>167-169</sup>.

Malgré les avancées techniques actuelles, l'incorporation d'un réseau vasculaire fonctionnel dans une construction bio-imprimée reste un défi, et limite l'obtention d'un organe bio-imprimé fonctionnel. Il existe cependant de nouvelles techniques de bio-impression (bio-impression « coaxiale » qui permettent de distribuer simultanément deux ou plusieurs bio-encres disposées de manière concentrique dans un seul filament) ou de nouvelles bio-encres (de type SPIRIT pour « Sequential printing in reversible ink template strategy ») qui contribuent à améliorer la reproduction des systèmes vasculaires biomimétiques<sup>170-172</sup>.

### **III. Défis liés à la maturation des tissus**

Une fois les organes bio-imprimés, ils doivent être cultivés in vitro afin d'assurer la maturation suffisante du tissu avant greffe. C'est-à-dire de fournir aux cellules les conditions nécessaires pour leur permettre de proliférer, de communiquer entre-elles et avec la matrice extracellulaire, de sécréter leurs propres composants matriciels et d'exécuter des fonctions biologiques naturelles, afin de faciliter l'intégration dans le tissu hôte.

Toutefois, la maturation des tissus dans le processus d'incubation après la bio-impression reste encore très complexe à réussir. En effet, la plupart des milieux de culture traditionnels ne peuvent maintenir spécifiquement la croissance que d'un seul type de cellule, alors que la culture in vitro d'organes (à forte diversité cellulaire) nécessite un milieu de co-culture optimal pour soutenir la prolifération, la différenciation et le maintien des différents phénotypes cellulaires. Des dispositifs micro-fluidiques, permettant la création de systèmes d'organes sur puce, facilitent la maturation des tissus pour des organes miniaturisés<sup>173-175</sup>, mais cette étape de maturation reste encore un défi actuellement pour des organes de taille biologique.

## **B. DEFIS REGLEMENTAIRES**

### **I. Réglementation de l'impression 3D en santé**

#### **1) Cadre réglementaire de la FDA**

Pour la FDA, dans le cadre des dispositifs médicaux, le CDRH (pour « Center for Devices and Radiological Health »), ne réglemente pas les imprimantes 3D elles-mêmes et ne propose pour l'instant que des orientations provisoires et susceptibles d'évoluer pour les processus de fabrication de ces dispositifs.

Hors du domaine des dispositifs médicaux, on peut noter que depuis que le Spritam® a été approuvé par la FDA en 2015, le CDER (pour « Center for Drug Evaluation and Research »), s'implique également de plus en plus dans l'élaboration de directives officielles sur l'impression en 3D de produits pharmaceutiques<sup>176</sup>. Enfin, à ce jour, le CBER (pour « Center for Biologics Evaluation and Research »), qui réglemente les produits biologiques, n'a ni publié de directives spécifiques sur l'utilisation de la bio-impression ni approuvé de produits biologiques imprimés en 3D.

#### **a) Documents de travail proposés par la FDA**

La FDA a proposé en 2016 un document de travail sur l'utilisation de l'impression 3D pour des dispositifs médicaux de façon générale (Technical Considerations for Additive Manufactured Devices). Cette proposition peut servir pour guider les industriels 3D, mais n'est pas encore finalisée.

En 2021, la FDA a proposé un cadre réglementaire spécifique de l'impression 3D de dispositif médicaux sur le lieu de soins (littéralement « 3D printing at the point of care » ou 3DPoC). Cette proposition, ouverte à commentaires des parties prenantes, n'est à ce jour pas finalisée.

Cette proposition se développe en trois scénarii, regroupés dans le tableau ci-dessous <sup>176</sup> :

Description du scénario	Entité concevant/développant le dispositif	Entité utilisant le système d'impression 3D pour produire des dispositifs	Entité responsable du respect des exigences réglementaires applicables
Établissement de soins de santé utilisant un système de production de dispositifs médicaux	Fabricant traditionnel	Établissement de soins de santé	Fabricant traditionnel
Fabricant traditionnel installé sur le site de l'établissement de santé ou à proximité	Fabricant traditionnel	Fabricant traditionnel, y compris tout fabricant contractuel potentiel	Fabricant traditionnel, y compris tout fabricant contractuel potentiel
Établissement de santé assumant toutes les responsabilités du fabricant traditionnel	Établissement de soins de santé	Établissement de soins de santé	Établissement de soins de santé

#### **b) Position des parties prenantes sur la proposition réglementaire 'impression 3D PoC (Point of Care) »**

L'impression 3D représentant le contexte le plus complexe, en particulier car le plus décentralisé, c'est sur elle que nous concentrerons notre analyse.

Pour noter d'abord qu'en l'absence d'une version finale de la FDA sur le cadre réglementaire applicable, certaines organisations médicales et sociétés professionnelles ont choisi de publier leurs propres recommandations, comme la « Radiological Society of North America (RSNA) » en 2018 pour les modèles anatomiques imprimés en 3D <sup>177</sup>.

Par ailleurs, « The Pew Charitable Trusts », une organisation à but non lucratif indépendante et non gouvernementale visant à « améliorer les politiques publiques, informer le public et stimuler la vie civique », a mené une analyse réglementaire sur la fabrication des 3DPoC en 2021. Il en ressort que le cadre de la FDA ne fournit pas encore suffisamment de détails sur la manière dont les réglementations seront appliquées aux structures fabriquant les 3DPoC <sup>176</sup>.

Le rapport du « Pew » mentionne tout d'abord un besoin de mieux définir les niveaux de risque. Le « risque minimal » et la liste des produits qui s'y réfèrent ne sont pas encore clairement définis. Par exemple, les modèles anatomiques peuvent être considérés à faible risque si cela concerne les domaines d'éducation ou de formation, mais à risque modéré lorsqu'ils servent à prendre des décisions concernant le diagnostic ou le traitement. Pour garantir la qualité, la sécurité et l'efficacité des dispositifs, « The Pew » considère qu'il faudrait rendre les établissements de santé responsables de la gestion des risques, des processus d'assurance qualité et du signalement des événements indésirables.



Sachant que l'impression 3D devient plus largement connue et adoptée, « The Pew » prévoit une potentielle sur-sollicitation de la FDA qui pourrait ne plus disposer d'assez de ressources pour superviser chaque site de fabrication des 3DPoC. L'une des solutions proposées serait de prévoir une collaboration entre la FDA et d'autres organisations externes pour leur confier une partie de la surveillance.

Bien que le document de travail de la FDA évolue, ces actions sont considérées par « The Pew » comme trop lentes comparées à la vitesse à laquelle se développe l'impression 3D. Ce retard dans la réglementation représente en soi un risque pour la sécurité des patients car ces initiatives peuvent être déployées par des prestataires ayant une expérience limitée de la technologie et/ou des exigences réglementaires associées à la fabrication d'un dispositif médical.

## **2) Cadre réglementaire de l'Union Européenne**

L'approche suivie par les autorités européennes est basée sur une segmentation temporelle, analysant et proposant ce qui devrait être requis avant et après la mise sur le marché.

### **a) Requis réglementaires pour atteindre la mise sur le marché**

La réglementation des dispositifs médicaux avant leur mise sur le marché dans l'UE repose sur une classification des risques similaire à celle des Etats-Unis (classe I – risque faible, classe II – risque modéré, classe III – risque élevé). Le nouveau règlement de l'UE sur les dispositifs médicaux (Medical Device Regulation, *UE 2017/745*) appliqué depuis 2021 ne mentionnait initialement pas directement les dispositifs médicaux imprimés en 3D ou les dispositifs personnalisés.

Une revue récente a analysé les points encore ouverts pour une réglementation européenne des objets en 3D printing <sup>178</sup>.

Certaines questions ont donc été laissées en suspens, notamment de savoir si ces dispositifs doivent faire l'objet d'une autorisation de mise sur le marché ou d'une certification avant d'être commercialisé. Question envisagée déjà pour la réglementation des imprimantes 3D elles-mêmes (abandonnée depuis) puis pour les logiciels utilisés dans la chaîne de production qui peuvent être considérés comme « logiciel en tant que dispositif médical » dans le MDR dans la mesure où ils peuvent influencer la prise de décision médicale.

Les spécifications concernant les dispositifs personnalisés pourraient être utilisées pour les 3D ou 3DPoC. En effet le MDR prévoit pour certains dispositifs sur mesure, une exemption de certaines exigences telles que l'obtention du marquage CE (article 52.8 et annexe XIII). Mais cette exemption fait encore l'objet de débats. Par ailleurs, à la différence de la FDA qui dispose de pouvoirs limités sur les activités des établissements de santé, le MDR de l'UE réglemente à la fois les dispositifs qui sont « mis sur le marché » par des industriels et ceux qui sont fabriqués et utilisés dans les établissements de santé <sup>178</sup>.

## **b) Requis en phase post mise sur le marché**

Après la mise sur le marché d'un dispositif, il existe des exigences générales en matière de surveillance et de contrôle mais aussi des questions sur la responsabilité associée aux produits. Cette dernière se concentre sur les « défauts » d'un produit, qui peuvent résulter de n'importe quelle étape dans la chaîne de production. Dans le cas des dispositifs 3D, cela pourrait concerner l'imagerie initiale, les conceptions numériques originales, les fichiers numériques, les imprimantes et les matériaux utilisés.

De plus, le modèle de production décentralisé et fractionné du processus d'impression 3D complique la gestion des risques car l'attribution de la responsabilité peut varier si les différents composants du dispositif sont réalisés en interne ou par des fournisseurs externes, par exemple, si l'encre utilisée dans l'imprimante 3D d'un hôpital provient d'une société extérieure. Il devient donc difficile de déterminer exactement qui est le « fabricant », quel est le « produit final », la définition d'un « défaut » et comment délimiter les responsabilités attribuables des acteurs.

Pour répondre à ces questions, la directive européenne sur la responsabilité associée aux produits (EU Product Liability Directive) de 2022 propose de nouvelles définitions s'inscrivant dans le contexte de l'ère numérique. Le « produit » inclut les biens immatériels (logiciels, fichiers et services numériques, connectivité, données...), le « dommage » peut inclure les pertes matérielles résultant de la corruption de données et le « fabricant » devient tout « opérateur économique qui a modifié le produit de manière substantielle en dehors du contrôle du fabricant ».

Dans ce cadre de la directive actuelle, la responsabilité des produits ne porterait pas nécessairement sur le processus détaillé, mais sur celui qui a livré le produit « final » normalement responsable de l'intégrité du produit final et donc d'un défaut potentiel du produit. Dans le cas des produits imprimés en 3D, la multiplicité des acteurs intervenant dans la chaîne de production (industriel pour l'imprimante ou l'encre par ex, l'établissement de santé pour l'impression ou la construction du modèle numérique), car on ne sait pas très bien si c'est le laboratoire, l'établissement de santé ou le chirurgien qui livre le produit final, complexifie l'analyse, et peut amener la notion de co-responsabilité.

La directive européenne prévoit également des moyens de défense légitimes pour la responsabilité associée aux produits pour les dispositifs médicaux en 3D. Il existe une défense fondée sur les « risques de développement » associés à un produit et qui ne pouvaient pas être identifiés en l'état des connaissances scientifiques et techniques de l'époque.

## **c) Fabrication sur le lieu de soins (PoC)**

Ces questions motivent le développement de cadres réglementaires plus adaptés autour de la fabrication de ces produits 3D sur les lieux de soins, comme au Royaume-Uni, où le concepteur du système de fabrication 3DPoC (une société de biotechnologie) assumerait le rôle de fabricant et par conséquent, obtiendrait l'autorisation de mise sur le marché, recruterait les hôpitaux et fournirait l'équipement et la formation adéquats.

La « Therapeutic Goods Administration » Australienne, envisage un cadre pour réglementer la fabrication de type POC par le « statut de système de production de dispositifs médicaux » ou MDPS (pour « Medical Device Production Systems »), défini comme un « ensemble de matières premières et d'équipements de production principaux spécifiquement destinés à être utilisés ensemble et par un prestataire de soins de santé, ou un établissement de soins de santé, pour produire un type spécifique de dispositif médical, afin de traiter ses patients ». Ce système, se rapprochant de l'approche réglementaire « basée sur les processus » permettrait aux prestataires de soins de santé ou aux établissements de santé de produire des dispositifs médicaux sans assumer le rôle de « fabricant », et ne nécessiterait donc pas de certification de l'évaluation de la conformité <sup>179</sup>.

#### **d) Droits de propriété intellectuelle**

Les droits de propriété intellectuelle (DPI) comprennent différents types de droits, dont les droits d'auteur, les brevets, les marques et les dessins et modèles. Ces droits permettent de conférer un usage exclusif (reproduction, diffusion) et une protection (utilisation, vente, importation...) à des œuvres ou des inventions. Ces droits sont cependant d'application complexe dans le cadre de l'impression 3D, en particulier lorsque les utilisations sont en impression PoC <sup>180</sup>.

Le statut juridique des fichiers CAO utilisés et des données de conception qui en résultent est encore en débat. En effet, un modèle 3D peut être considéré comme une œuvre d'art en soi, indépendamment de l'artefact physique qu'il représente, et donc bénéficier d'une protection par le droit d'auteur. Bien que ce fichier ne soit pas directement éligible à un brevet ou une protection des droits des dessins et modèles, il est possible que les données qu'il contient le soient. De plus le fait que qu'il soit téléchargeable ou qu'il ait un signe distinctif le démarquant des autres fichiers peut apporter une protection en tant que service ou marque <sup>180</sup>.

Les éléments utilisés dans l'impression 3D (imprimantes et scanner 3D, logiciels, données...) sont généralement couverts par les DPI (secret commercial, accords contractuels, droits d'auteurs...). Par conséquent, il est important pour un fabricant de déterminer ce statut pour l'ensemble des éléments impliqués dans le processus pour garantir ses droits de fabrication ou de commercialisation.

Pour se protéger d'éventuelles plaintes pour contrefaçon, il existe deux exceptions qui peuvent être utilisées pour l'impression 3D : l'utilisation privée et non commerciale et l'utilisation à des fins de recherche et d'expérimentation. Cela donne l'opportunité à tout un chacun d'adapter et/ou d'améliorer les modèles 3D, contribuant à l'innovation. La question de l'urgence peut également se poser, avec l'exemple du matériel médical imprimé par les hôpitaux et non par le fabricant « légitime » durant la pandémie de COVID-19, qui a pu s'accompagner de conflits en matière de DPI <sup>178</sup>.

#### **e) Protection et confidentialité des données**

La phase de numérisation 3D, nécessaire à la personnalisation d'un dispositif, fournit des données d'imagerie et de CAO spécifiques d'un patient donné qui se rapprochent alors des « données à caractère personnel » définies comme « toute information concernant une personne physique identifiée ou identifiable ». Ces données relèvent alors du Règlement

général sur la protection des données (RGPD) de 2018 et ce même si elles sont pseudonymisées, car elles « pourraient être attribuées à une personne physique par l'utilisation d'informations supplémentaires »<sup>181, 182</sup>.

De manière générale, le RGPD régit « le traitement des données à caractère personnel de personnes vivantes par des moyens entièrement ou partiellement automatisés ». Le terme « traitement » est défini comme « toute opération ou tout ensemble d'opérations effectuées sur des données à caractère personnel » et comprend, entre autres, la collecte, l'enregistrement, la structuration, la conservation, l'adaptation ou la modification, l'extraction et l'utilisation de ces données. Ce champ d'application englobe alors la distribution des données entre les différentes entités impliquées dans le processus d'impression 3D et faisant parti de l'UE<sup>181</sup>.

Le RGPD mentionne également deux principes, celui de « limitation des finalités » selon lequel « les données collectées ne peuvent être utilisées qu'aux fins spécifiées et explicites et ne peuvent être traitées ultérieurement d'une manière « incompatible » avec ces fins », et celui de « minimisation des données » qui stipule que le traitement doit être « adéquat et limité à ce qui est nécessaire au regard des finalités poursuivies ». De plus, ces données doivent être détruites lorsque leur conservation n'est plus nécessaire ou lorsque la personne concernée retire son consentement.

Les informations récoltées durant l'imagerie 3D peuvent aussi relever du domaine des données biométriques, résultant « d'un traitement technique spécifique relatif aux caractéristiques physiques, physiologiques ou comportementales d'une personne physique, qui permet ou confirme l'identification unique de cette personne physique [...], telles que les images faciales » et/ou celui des données relatives à la santé, comprenant les informations en lien avec « l'état de santé physique ou mentale de la personne concernée ». Ces qualifications impliquent une prise de consentement explicite de la personne concernée par le responsable du traitement des données, avant de procéder à l'imagerie médicale et aux étapes ultérieures, ce qui peut alourdir le processus d'impression 3D<sup>183</sup>.

Au total, le cadre réglementaire de l'impression 3D en santé est encore en construction, pour intégrer l'ensemble des contraintes de validation, fabrication et suivi de la sécurité des dispositifs 3D-imprimés. De même l'établissement ou l'ajustement de règles de propriété intellectuelle et de protection des données personnelles est en cours. On peut espérer que la FDA et l'Union Européenne établiront dans un avenir suffisamment proche les cadres appropriés pour un développement maîtrisé de l'impression 3D en santé.

## **II. Réglementation de la bio-impression**

Le processus de bio-impression se base sur l'impression 3D en santé, et en partage donc les aspects réglementaires que nous avons abordé précédemment.

Mais la bio-impression amène une complexité supplémentaire par l'inclusion de cellules vivantes dans le processus de fabrication. Par conséquent elle hérite également des problématiques rencontrées avec la médecine régénérative, l'ingénierie tissulaire, les biomatériaux et l'utilisation des cellules souches. Cette technologie représente donc un défi

pour les régulateurs car les cadres réglementaires traditionnels n'intègrent pas ces spécificités de la bio-impression<sup>184</sup>.

## **1) Classification du risque**

La bio-impression, même en tant que sous-catégorie de l'impression 3D en santé, ne s'inscrit actuellement dans aucun cadre réglementaire existant et les régulateurs fournissent peu de recommandations spécifiques<sup>185</sup>.

Les constructions bio-imprimées combinent plusieurs éléments (cellules, biomatériaux, facteurs de croissance...) dépendant de classifications et de voies réglementaires différentes. L'approche habituelle pour ces situations consiste à évaluer le produit « final » en fonction de son indication d'utilisation et de son mode d'action principal. Ceci rend complexe la détermination du statut réglementaire final du futur dispositif.

La plupart des autorités réglementaires classent la bio-imprimante comme simple outil aidant à la fabrication de produits médicaux et non comme un dispositif médical en soi. Toutefois le MDPS de la TGA Australienne peut couvrir tout le processus de fabrication d'un produit bio-imprimé où l'imprimante serait évaluée, approuvée et réglementée en tant que dispositif médical<sup>186</sup>.

## **2) Normes et contrôle de la qualité**

Un autre obstacle à la réglementation des produits bio-imprimés est le manque relatif de normes spécifiques pour caractériser les processus de bio-impression. Traditionnellement, ces normes comprennent les BPF, les normes du Conseil international d'harmonisation (CIH), les normes de l'Organisation internationale de normalisation (ISO) et d'autres normes techniques. À ce jour, des normes n'ont été proposées que pour la bio-impression par extrusion et pour un « guide standard pour la caractérisation des hydrogels utilisés en médecine régénérative ». L'élaboration et la mise à jour des normes devient de plus en plus nécessaire pour la production de ces produits bio-imprimés, notamment sur le lieu de soins (« Point of care »).

Pour les produits bio-imprimés, la conformité à la norme « Exigences générales relatives au transport de cellules à usage thérapeutique » (ISO 21973:2020) peut être exigée car ces produits impliquent le transport de cellules vivantes entre l'hôpital (où elles sont prélevées sur un patient) et la structure industrielle où elles sont cultivées et imprimées finalement dans une construction tissulaire. Il faut noter que cette même norme peut ne pas être applicable si la construction tissulaire est bio-imprimée sur le site de l'hôpital, <sup>187</sup>.

Il est également difficile de démontrer les performances et de contrôler la qualité, donc d'établir la balance bénéfice/risque, des produits spécifiques à un patient fabriqués à la demande, ce qui correspond à cette notion de « lots d'un seul »<sup>188</sup>).

## **3) Fabrication sur le lieu de soins (Point of care)**

Comme pour l'impression 3D, les questions autour du « fabricant » et de la responsabilité en cas de défaut du produit sont fondamentales dans la réglementation des produits bio-imprimés. Toutefois, l'attribution de ce rôle peut être ambiguë dans les cas où les étapes de

bio-impression et de culture peuvent avoir lieu sur le « lieu du soin » (Point of care), plutôt que dans un établissement de biotechnologie spécialisé. Si, dans ces situations, l'établissement de santé est considéré comme le fabricant, il pourrait être soumis à des exigences en matière d'évaluation de la conformité (audit des BPF et du système de gestion de la qualité), en particulier si le produit est considéré comme « thérapeutique ».

#### **4) Matériaux et logiciels**

Contrairement à l'industrie traditionnelle des dispositifs médicaux, les propriétés des matériaux utilisés en bio-impression ne sont ni strictement définies ni normalisées. En effet, il existe peu de matériaux de bio-impression de qualité médicale sur le marché, certifiés pour une utilisation clinique chez l'homme.

La bio-impression comprend de nombreux logiciels communs à l'impression 3D (reconstructions numériques de l'imagerie médicale 3D, segmentation anatomique et détection des artefacts, CAO, analyse des éléments finis, découpage d'un objet numérique 3D en couches imprimables...) et spécifiques comme ceux associés aux systèmes de culture dynamiques (fournissant une charge mécanique périodique à une construction imprimée).

#### **5) Propriété légale du tissu bio-imprimé**

Dans le cadre traditionnel, la transplantation de tissus ou d'organes est rendue possible par le don d'organe, venant de personnes décédées ayant consenti préalablement à ce choix, ou de donateurs dits « altruistes » qui peuvent donner des tissus ou organes non-vitaux. Il existe aujourd'hui un cadre juridique sur le don d'organe commun au domaine de l'ingénierie tissulaire, comme le fait d'apporter une information claire et transparente au futur donneur pour avoir son consentement éclairé ou encore une prévention de l'utilisation de cellules ou de tissus donnés à des fins autres que celles prévues et communiquées au donneur.

Si la bio-impression d'organes sur mesure à partir des cellules d'un patient donné devient possible, cela permettrait de remplacer quasi-totalement le don d'organe. Toutefois, si pour quelque raison que ce soit, le tissu ou l'organe provenant des cellules du patient, ne peut pas être utilisé, que devient-il ou à qui appartient-il ? S'agira-t-il d'une propriété du patient, des professionnels de santé, de la structure médicale, de l'entreprise qui l'a bio-imprimé ou encore d'une propriété partagée ?

Ce débat sur la propriété des cellules a été réactivé sur un exemple précis, celui de la lignée cellulaire HeLa, une lignée de cellules cancéreuses stable en culture largement utilisée en recherche médicale dans des travaux très significatifs dont le développement de la vaccination poliomyélite, ou des travaux fondamentaux en oncologie. Cette lignée provient de la mise en culture initiale, en 1951, de cellules isolées à partir d'une tumeur agressive du col de l'utérus affectant une jeune américaine, Henrietta Lacks. Ces cellules avaient été prélevées et mises en culture sans que la patiente en soit informée. La publication de la séquence de ces cellules en 2013 déclenche une action des descendants de Henrietta Lacks, qui demandent au moins que la mention de l'origine des cellules HeLa soit mentionnée dans toutes les publications les utilisant, et obtiennent quelques réparations symboliques<sup>189</sup>. Les descendants ont depuis poursuivi deux industriels et obtenu des réparations financières restées confidentielles de l'un d'eux<sup>190</sup>.

Cet exemple spécifique de l'utilisation répétée d'un biomatériau collecté sans autorisation du patient illustre les complexités légales et réglementaires auxquelles pourraient se heurter la bio-impression, en l'absence de cadre bien établi.

## **6) Un cadre réglementaire qui doit évoluer**

Les défis réglementaires futurs dans le domaine de la bio-impression pourront être multiples et liés aux changements que va connaître l'industrie biomédicale dues à l'intégration des nouvelles technologies, l'incorporation de l'intelligence artificielle (IA) dans les processus de production et l'accélération du rythme de la recherche.

Tout d'abord, il est possible de prévoir qu'il y aura de moins en moins de distinctions entre les logiciels, le matériel et les produits biologiques avec l'arrivée de des produit combinés de plus en plus complexes. L'ajout potentiel d'une conception médicale personnalisée basée sur l'IA pourrait réduire considérablement le coût des produits sur mesure, en sachant que cela pourra s'accompagner de nouvelles considérations techniques et réglementaires <sup>191,192</sup>.

La production de modèles tissulaires in vitro et/ou de systèmes d'organes sur puce en R&D, soit en tant que précurseurs, soit en tant que substituts des modèles animaux, pourrait permettre la découverte et le développement de nouvelles thérapies avec une rapidité sans précédent. L'accélération du rythme de la R&D pourrait donc se faire au dépend du cadre réglementaire actuel plutôt axé sur le type de produit <sup>193</sup>.

En conséquence, les réglementations pourraient devenir progressivement obsolètes, inadéquates et potentiellement obstructives pour le déploiement de nouvelles innovations prometteuses. Cette absence d'harmonisation internationale pourrait également provoquer certaines « dérives » réglementaires comme le développement d'un « tourisme thérapeutique ou médical » dans des juridictions non réglementées, comme avec les cellules souches. En effet, profitant du battage médiatique autour de la recherche sur ces cellules, on a pu observer des cliniques proposer des « thérapies à base de cellules souches » non éprouvées à leurs patients. <sup>194</sup>.

Les risques liés à la cybersécurité vont probablement devenir une préoccupation majeure du fait de l'utilisation croissante de matériel informatique (logiciels, imprimantes...) dans la prestation de soins de santé.

Ces évolutions futures de la bio-impression, mettent en exergue la nécessité d'instaurer d'un cadre réglementaire harmonisé, plus flexible, capable de s'adapter aux progrès rapides tout en garantissant la sécurité et l'efficacité de ces technologies médicales prometteuses.

On constate qu'il existe encore une grande marge de progression avant une diffusion et une utilisation universelle de cette technologie. Malgré ces limites, il est intéressant de considérer les perspectives que peut offrir la bio-impression dans le domaine de la santé. Nous aborderons donc dans cette dernière partie des voies d'améliorations pour la bio-impression et les opportunités médicales auxquelles elle peut prétendre, ainsi que les possibles dérives d'utilisation qui pourraient lui incomber.

## **C. PERSPECTIVES DE LA BIO-IMPRESSION**

### **I) Optimisation des techniques de bio-impression**

Malgré des progrès récents, cette technologie présente encore de nombreuses limites à la fois liées au processus d'impression 3D, à l'utilisation de matériaux « vivants » et au domaine de l'oncologie. Par conséquent, il n'est pas encore possible de reproduire actuellement le tissu tumoral dans toute sa complexité. Toutefois, il y a de plus en plus d'études qui essayent et proposent des optimisations « techniques » afin de se rapprocher au plus près des modèles cancéreux tumoraux.

Par exemple, la notion d'impression « 4D » devient une technologie émergente intéressante. En effet, en ajoutant la dimension du « temps » à la bio-impression, les objets sont imprimés avec des matériaux qui peuvent se déformer de manière autonome, changer de forme de manière dynamique et présenter des fonctionnalités en réponse à des stimuli externes tels que la température, l'humidité, la lumière, etc. Cette capacité d'auto-transformation confère aux objets imprimés une plus grande flexibilité et adaptabilité<sup>195,196</sup>. Cette capacité pourrait donc répondre à certaines limites rencontrées avec les modèles « traditionnels » (évolution cellulaire et tissulaire, étude des métastases...).

L'intelligence artificielle est aujourd'hui largement utilisée en recherche médicale. Cette technologie pourrait permettre d'améliorer le processus de bio-impression. Tout d'abord, elle pourrait optimiser les paramètres de bio-impression et contrôler automatiquement l'ensemble du processus de fabrication pour identifier des défauts en temps réel (cellules mal positionnées, couches déformées et des écarts de forme...). Le machine learning (ML) a un grand potentiel pour minimiser les coûts, raccourcir le temps de fabrication et améliorer la qualité des processus de bio-impression 3D. En croisant toutes les métadonnées (collectées à partir de l'histologie, de la géométrie des tissus, du profil moléculaire, de l'immunochimie et de l'imagerie clinique...), elle pourrait également contribuer à améliorer la formulation des bio-encres et créer des modèles virtuels destinés au diagnostic des maladies et à la planification chirurgicale<sup>197,198</sup>.

### **II) Surveillance post-commercialisation**

La bio-impression pourrait également jouer un rôle dans la surveillance post-commercialisation en permettant la fabrication de tissus biomimétiques ou de modèles de maladies qui peuvent ensuite être utilisés pour tester la sécurité à long terme des médicaments. Cela pourrait être similaire au modèle utilisé dans les études précliniques mais impliquerait une période expérimentale beaucoup plus longue et forcément dépendante de la viabilité cellulaire.

On peut également imaginer de pouvoir répliquer des effets indésirables signalés à l'aide de modèle de tissu ou de maladie bio-imprimés afin de vérifier si le médicament, ou d'autres facteurs, sont à l'origine de l'effet indésirable.

De même, cette méthode peut également être utilisée pour les interactions médicamenteuses signalées, proposant ainsi une stratégie complémentaire de surveillance de la sécurité des médicaments en post-commercialisation.



Des études seront nécessaires pour démontrer et étayer ces applications potentielles, mais ces possibilités peuvent contribuer aux applications futures de la bio-impression 3D.

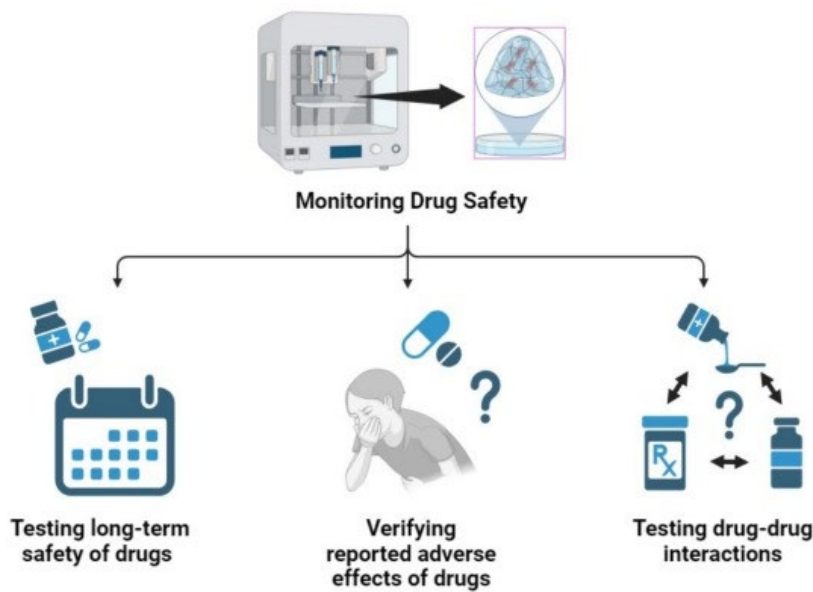


Figure 21 : Applications potentielles de la bio-impression 3D dans la surveillance post-commercialisation <sup>199</sup>

### III) Dérives potentielles de la bio-impression

Comme évoqué en introduction, la bio-impression fait partie des technologies pouvant révolutionner l'accès à la santé comme on put le décrire les œuvres de science-fiction. Ces œuvres comptent également des univers « dystopiques » où l'on évoque de nombreuses dérives possibles de l'utilisation de ces technologies. Explorons certains de ces scénarios impliquant la bio-impression.

#### 1) Marchandisation des tissus et organes

Si l'on imagine que dans le futur, la technologie de bio-impression est totalement mature et que la production d'organes artificiels fonctionnels soit devenue une réalité, il est probable qu'on retrouverait alors des établissements ou des entreprises spécialisés dans lesquels on pourrait acheter un organe pour remplacer un défaillant, comme un produit de consommation courante. Se poserait alors la question du coût et de l'équité de l'accès à ces produits. Ce qui amène à réfléchir aux problèmes d'inégalité économique et sociale de l'accès au soin.

On peut faire ici un parallèle avec le film *Repo Men* (2010) dans lequel il est devenu possible de prolonger et améliorer la vie humaine à l'aide d'organes artificiels extrêmement sophistiqués mais coûteux, élaborés par une société privée. Le scénario montrait que si les personnes "greffées" ne sont plus à même d'honorer les échéances du crédit auquel elles ont souscrit pour se payer l'organe, la société envoie alors ses agents spécialisés, les « Repo Men », pour reprendre la « marchandise », sans se préoccuper du confort ou de la survie de leurs clients insolubles.

## 2) Transhumanisme

La bio-impression soulève des questions liées aux projets biotechnologiques d'« amélioration humaine », à l'extension de la jeunesse voire à l'« immortalité technologique » d'un être humain<sup>200</sup>.

Ces programmes d'« immortalité technologique » peuvent renvoyer soit aux technologies de transfert de conscience (déchargement de la personnalité humaine comme dans l'œuvre d'*Altered Carbon*) soit aux technologies de rajeunissement (arrêt du programme de vieillissement). La bio-impression de nouveaux organes pouvant remplacer de « vieux » organes, fait partie des méthodes de rajeunissement, ce qui soulève la question des indications et des limites de ces technologies. La bio-impression est pertinente car elle permet à la fois de répondre au besoin de transplantation d'organes et de pénurie de dons d'organes dans le monde mais également de remplacer certains organes (défaillants, présentant une tumeur...) dans un but thérapeutique et/ou d'amélioration de la qualité de vie. Se poserait alors la question d'une « gradation » transhumaniste avec d'un côté une vision modérée, « prudente » qui reconnaît les risques sociaux du changement humain, comparée à une vision radicale qui ne reconnaît aucune limite à l'amélioration technologique d'un être humain (« human enhancement »)<sup>200</sup>.

On pourrait prendre l'exemple du film *The Island (2005)* qui aborde à la fois l'idée de « marchandisation biologique » et le sujet « d'immortalité technologique ». Il y est dépeint une société, dans un futur assez proche, qui a recours au clonage de personnes humaines afin de récolter et de transplanter des organes « sains » chez la personne qui s'est fait cloner. Ainsi les personnes fortunées pouvant se permettre ce procédé, peuvent se faire remplacer n'importe quel organe et/ou s'éviter des processus biologiques considérés comme « inconfortables » (accouchement par mère porteuse clonée...) afin de jouir d'une longévité et d'une qualité de vie optimale.

Pour ce qui est du transhumaniste radical, on peut retrouver ce concept dans le manga *Ghost in the Shell (1989)*, qui évoque cette volonté de l'être humain à « s'augmenter » indéfiniment, aussi bien physiquement que neurologiquement (implants et prothèses cybernétiques...) pour améliorer ses capacités (rapidité, vision nocturne...).

## 3) Enjeux éthiques

Bien que ces exemples de dérives potentielles puissent prendre un caractère extrême, la réflexion éthique reste indispensable pour accompagner les transformations techniques dans le soin.

En plus des questions éthiques soulevées par l'utilisation de matériel vivant dans la bio-impression (notamment des cellules souches), il serait intéressant de considérer la mise en place d'un cadre bioéthique international afin d'anticiper les différentes perspectives de cette technologie et prévoir des actions ou des réglementations adéquates.

# CONCLUSION

Depuis ces dernières décennies, la technologie d'impression 3D a révolutionné le secteur de la santé et ce, dans plusieurs domaines.

Grâce à ses nombreux avantages, notamment ses capacités d'automatisation et de personnalisation, cette technologie permet désormais d'imprimer des prothèses, des modèles anatomiques, des implants ou encore des médicaments « sur-mesure », amenant une réelle valeur ajoutée dans la prise en charge des patients.

En utilisant des matériaux vivants comme « bio-encre », l'impression 3D, devenue bio-impression, permet de créer de manière précise et réaliste des modèles tissulaires, servant de base à de nombreuses avancées dans la recherche (expérimentale, pharmaceutique) et la clinique. Que cela soit par l'étude des mécanismes physiopathologiques (reproduction de maladies), l'accélération du processus de découverte et de développement de médicaments (sélection de cibles thérapeutiques, criblage médicamenteux, alternative aux modèles 2D et animaux) ou le traitement des plaies ou des brûlures (greffes de peau artificielle), la bio-impression permet de répondre à de plus en plus de problématiques médicales

C'est également le cas en oncologie, où cette approche permet de reproduire différents modèles tumoraux, le MET, les métastases ou les mécanismes de résistances aux traitements anticancéreux, ce qui contribue à mieux comprendre la physiopathologie du cancer. Outre le fait que cette technique facilite le processus de recherche et développement de médicaments, elle offre également l'opportunité de pouvoir tester plus rapidement les traitements anticancéreux sur des modèles tumoraux dérivés de patients, ouvrant la voie à une médecine plus personnalisée.

Certes, la bio-impression connaît encore de nombreuses limites techniques (biomimétisme, maturation des tissus...), toutefois, elles peuvent être potentiellement surmontées grâce aux avancées technologiques constantes (IA, impression coaxiale...). On peut également s'attendre à ce que les institutions et/ou gouvernements s'adaptent d'une manière ou d'une autre pour mettre en place un cadre réglementaire adapté à l'utilisation de la bio-impression.

Dès lors, et sans rentrer dans le domaine de la science-fiction, il devient envisageable de considérer que la bio-impression jouera un rôle clef dans la médecine du futur ou médecine des 6P qui devient personnalisée, préventive, prédictive, participative, pertinente (basée sur les preuves) et pluri-parcours (pluriprofessionnelle et incluant le parcours de soin)<sup>201</sup>.

# BIBLIOGRAPHIE

1. Cancer : une charge toujours plus lourde dans le monde et des besoins en services croissants. <https://www.who.int/fr/news/item/01-02-2024-global-cancer-burden-growing--amidst-mounting-need-for-services>.
2. Alcimed. La bio-impression, une révolution à venir ? *Alcimed* <https://www.alcimed.com/fr/insights/la-bio-impression-une-revolution-a-venir/> (2019).
3. bio-impression. <https://vitrinelinguistique.oqlf.gouv.qc.ca/fiche-gdt/fiche/26529101/bio-impression>.
4. L'histoire Fascinante de l'Impression 3D. *Prodways Group* <https://www.prodways-group.com/blog/lhistoire-fascinante-de-limpression-3d>.
5. Universalis, E. IMPRESSION 3D : Historique de l'impression 3D. *Encyclopædia Universalis* <https://www.universalis.fr/encyclopedie/impression-3d/2-historique-de-l-impression-3d/>.
6. 3D Prod va vous conter... l'histoire de l'impression 3D - 3D Prod. <https://www.3dprod.com/impression-3d-retour-vers-futur/> (2017).
7. L'impression 3D : histoire et principes fondateurs | 3Dilla. <https://fr.3dilla.com/dossier/histoire-fonctionnement/>.
8. Histoire de l'impression 3D : Origines et Évolution. *Sculpteo* <https://www.sculpteo.com/fr/centre-apprentissage/les-bases-impression-3d/histoire-impression-3d/>.
9. L'impression 3D | Trousses à outils. <https://toolbox.hub-charleroi.be/fiche/limpression-3d>.
10. Impression 3D, c'est quoi et comment ça marche ? | Dassault Systèmes®. <https://www.3ds.com/fr/make/guide/process/3d-printing>.
11. boivin, yohann. Les limites de l'impression 3D. *NGI* <https://myngi.fr/les-limites-de-limpression-3d/> (2023).
12. Impression 3D médicale. *Dassault Systèmes* <https://www.3ds.com/fr/make/solutions/industries/medical-3d-printing> (2022).
13. Digitale, U. Covid-19 : L'AP-HP se dote de 60 imprimantes 3D pour pallier la pénurie de matériel médical. (2020).
14. Des prothèses avancées rendues accessible : comment PSYONIC a développé une main bionique grâce à la fabrication additive. *Formlabs* <https://formlabs.com/fr/blog/psyonic-protheses-avancees-impression-3d/>.
15. e-NABLE Devices. *Enabling The Future* <https://enablingthefuture.org/e-nable-devices/> (2019).
16. Rencontre avec Skeleenn : la start-up qui veut mettre fin à l'inconfort des plâtres grâce à l'impression 3D. <https://www.primante3d.com/orthese-skeleenn-12012023/>.
17. Programme 3D | La Fondation MSF. <https://fondation.msf.fr/fr/projets/programme-3d> (2024).
18. Impression 3D médicale. *Dassault Systèmes* <https://www.3ds.com/fr/make/solutions/industries/medical-3d-printing> (2022).
19. Modèles anatomiques « hautement réalistes » - Fondation Hôpital Saint-Joseph. <https://www.fhsj.fr/recherche-et-innovation/innovations-et-recherche-preclinique/modeles-anatomiques-hautement-realistes/> (2022).
20. W, M. Le marché des modèles anatomiques imprimés en 3D est en pleine croissance. *3Dnatives* <https://www.3dnatives.com/modeles-anatomiques-imprimes-en-3d-19012021/> (2021).
21. Cornejo, J. *et al.* Anatomical Engineering and 3D Printing for Surgery and Medical Devices: International Review and Future Exponential Innovations. *BioMed Res. Int.* **2022**, 6797745 (2022).

22. K, Y. L'impression 3D multi-matériaux de Stratasys s'installe dans un autre hôpital. *3D ADEPT MEDIA* <https://3dadept.com/limpression-3d-multi-materiaux-de-stratasys-sinstalle-dans-un-autre-hopital/> (2019).
23. Wu, Y. *et al.* An overview of 3D printed metal implants in orthopedic applications: Present and future perspectives. *Heliyon* **9**, e17718 (2023).
24. Comment l'impression 3D impacte le secteur médical ? *Sculpteo* <https://www.sculpteo.com/fr/centre-apprentissage/toutes-les-applications-impression-3d/impact-impression-3d-secteur-medical/>.
25. 3D Systems Announces FDA Clearance for World's First 3D-Printed PEEK Cranial Implants | 3D Systems. <https://www.3dsystems.com/press-releases/3d-systems-announces-fda-clearance-worlds-first-3d-printed-peek-cranial-implants> (2024).
26. Digitale, U. Stratasys lance une imprimante 3D dédiée à la fabrication de prothèses et implants dentaires. (2021).
27. Gruber, J. FDA Approves First 3DP Drug Product. *Apreece* <https://apreece.com/resources/press/fda-approves-the-first-3d-printed-drug-product/> (2015).
28. Des comprimés personnalisés et imprimés en 3D pour le traitement du cancer du sein. <https://www.gustaveroussy.fr/fr/comprimés-personnalisés-imprimés-3d-traitement-cancer-sein>.
29. Denis, L. *et al.* Developing an innovative 3D printing platform for production of personalised medicines in a hospital for the OPERA clinical trial. *Int. J. Pharm.* **661**, 124306 (2024).
30. Prak, S. Des enfants soignés grâce à des médicaments personnalisés imprimés en 3D. *Capital.fr* <https://www.capital.fr/economie-politique/des-enfants-soignes-grace-a-des-medicaments-personnalisés-imprimés-en-3d-1499748> (2024).
31. Rodríguez-Pombo, L. *et al.* Paediatric clinical study of 3D printed personalised medicines for rare metabolic disorders. *Int. J. Pharm.* **657**, 124140 (2024).
32. Gustave Roussy et FabRx collaborent pour développer l'impression 3D de comprimés composés de plusieurs médicaments au dosage individualisé. *Gustave Roussy* <https://www.gustaveroussy.fr/fr/gustave-roussy-et-fabrx-collaborent-pour-developper-limpression-3d-de-comprimés-composés-de>.
33. à 07h04, P. F. M. L. 4 février 2022. Lutte contre le cancer : ici, on imprime des médicaments «sur mesure». *leparisien.fr* <https://www.leparisien.fr/societe/sante/lutte-contre-le-cancer-ici-on-imprime-des-medicaments-sur-mesure-04-02-2022-ZZGCFGEV25B4BG7QBIN3LGKH2U.php> (2022).
34. Gu, Z., Fu, J., Lin, H. & He, Y. Development of 3D bioprinting: From printing methods to biomedical applications. *Asian J. Pharm. Sci.* **15**, 529–557 (2020).
35. Mendoza-Cerezo, L., Jesús, M. R.-R., Macías-García, A., Marcos-Romero, A. C. & Díaz-Parralejo, A. Evolution of bioprinting and current applications. *Int. J. Bioprinting* **9**, 742 (2023).
36. Gudapati, H., Dey, M. & Ozbolat, I. A comprehensive review on droplet-based bioprinting: Past, present and future. *Biomaterials* **102**, 20–42 (2016).
37. Li, W. *et al.* Stereolithography apparatus and digital light processing-based 3D bioprinting for tissue fabrication. *iScience* **26**, 106039 (2023).
38. Kirillova, A., Bushev, S., Abubakirov, A. & Sukikh, G. Bioethical and Legal Issues in 3D Bioprinting. *Int. J. Bioprinting* **6**, 272 (2020).
39. Gao, G., Ahn, M., Cho, W.-W., Kim, B.-S. & Cho, D.-W. 3D Printing of Pharmaceutical Application: Drug Screening and Drug Delivery. *Pharmaceutics* **13**, 1373 (2021).
40. Marsee, A. *et al.* Building consensus on definition and nomenclature of hepatic, pancreatic, and biliary organoids. *Cell Stem Cell* **28**, 816–832 (2021).
41. Chneiweiss, H. *et al.* Pour une bonne compréhension et un bon usage du terme « organoïdes ». *médecine/sciences* **39**, 876–878 (2023).

42. Leung, C. M. *et al.* A guide to the organ-on-a-chip. *Nat. Rev. Methods Primer* **2**, 1–29 (2022).
43. Murphy, S. V., De Coppi, P. & Atala, A. Opportunities and challenges of translational 3D bioprinting. *Nat. Biomed. Eng.* **4**, 370–380 (2020).
44. Fabrication of a Highly Aligned Neural Scaffold via a Table Top Stereolithography 3D Printing and Electrospinning | Tissue Engineering Part A.  
<https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ten.tea.2016.0353?journalCode=tea>.
45. Lozano, R. *et al.* 3D printing of layered brain-like structures using peptide modified gellan gum substrates. *Biomaterials* **67**, 264–273 (2015).
46. Harb, A., Fakhreddine, M., Zaraket, H. & Saleh, F. A. Three-Dimensional Cell Culture Models to Study Respiratory Virus Infections Including COVID-19. *Biomimetics* **7**, 3 (2022).
47. Frontiers | In Vitro Modelling of Respiratory Virus Infections in Human Airway Epithelial Cells – A Systematic Review.  
<https://www.frontiersin.org/journals/immunology/articles/10.3389/fimmu.2021.683002/full>.
48. Kolesky, D. B. *et al.* 3D Bioprinting of Vascularized, Heterogeneous Cell-Laden Tissue Constructs. *Adv. Mater.* **26**, 3124–3130 (2014).
49. Costantini, M. *et al.* Microfluidic-enhanced 3D bioprinting of aligned myoblast-laden hydrogels leads to functionally organized myofibers *in vitro* and *in vivo*. *Biomaterials* **131**, 98–110 (2017).
50. 3D Printing of Personalized Thick and Perfusable Cardiac Patches and Hearts - Noor - 2019 - Advanced Science - Wiley Online Library.  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.201900344>.
51. Fraunhofer's 3D Bioprinted Blood Vessels - 3D Printing Industry.  
<https://3dprintingindustry.com/news/fraunhofer-3d-bioprinted-blood-vessels-pumps-new-life-bioprinted-organ-research-57283/>.
52. 3-D printed ovaries produce healthy offspring - Northwestern Now.  
<https://news.northwestern.edu/stories/2017/may/3-d-printed-ovaries-offspring/>.
53. Replacement Organs and Tissue - Wake Forest Institute for Regenerative Medicine. *Wake Forest University School of Medicine* <https://school.wakehealth.edu/research/institutes-and-centers/wake-forest-institute-for-regenerative-medicine/research/replacement-organs-and-tissue>.
54. Upside-down 3D-printed skin and bone, for humans to Mars.  
[https://www.esa.int/Enabling\\_Support/Space\\_Engineering\\_Technology/Upside-down\\_3D-printed\\_skin\\_and\\_bone\\_for\\_humans\\_to\\_Mars](https://www.esa.int/Enabling_Support/Space_Engineering_Technology/Upside-down_3D-printed_skin_and_bone_for_humans_to_Mars).
55. Bioengineered Cornea. *Pandorum Technologies* <https://pandorum.com/bioengineered-cornea/> (2021).
56. Kang, D., Lee, Y., Kim, W., Lee, H.-R. & Jung, S. 3D pulmonary fibrosis model for anti-fibrotic drug discovery by inkjet-bioprinting. *Biomed. Mater.* **18**, 015024 (2022).
57. Mestre, R. *et al.* 3D-bioengineered model of human skeletal muscle tissue with phenotypic features of aging for drug testing purposes. *Biofabrication* **13**, 045011 (2021).
58. Liu, X., Michael, S., Bharti, K., Ferrer, M. & Song, M. J. A biofabricated vascularized skin model of atopic dermatitis for preclinical studies. *Biofabrication* **12**, 035002 (2020).
59. Bioprinted liver provides early insight into the role of Kupffer cells in TGF- $\beta$ 1 and methotrexate-induced fibrogenesis | PLOS ONE.  
<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0208958>.
60. Wei, Z. *et al.* Two-Dimensional Cellular and Three-Dimensional Bio-Printed Skin Models to Screen Topical-Use Compounds for Irritation Potential. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **8**, (2020).
61. Mimicking Native Liver Lobule Microarchitecture In Vitro with Parenchymal and Non-parenchymal Cells Using 3D Bioprinting for Drug Toxicity and Drug Screening Applications | ACS Applied Materials & Interfaces. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsami.2c00312>.

62. Design and Fabrication of Mature Engineered Pre-Cardiac Tissue Utilizing 3D Bioprinting Technology and Enzymatically Crosslinking Hydrogel. <https://www.mdpi.com/1996-1944/15/22/7928>.
63. Alave Reyes-Furrer, A. *et al.* Matrigel 3D bioprinting of contractile human skeletal muscle models recapitulating exercise and pharmacological responses. *Commun. Biol.* **4**, 1–12 (2021).
64. Mazzaglia, C. *et al.* Deployable extrusion bioprinting of compartmental tumoroids with cancer associated fibroblasts for immune cell interactions. *Biofabrication* **15**, 025005 (2023).
65. Yang, K. *et al.* Recent applications of three-dimensional bioprinting in drug discovery and development. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **214**, 115456 (2024).
66. Javid, M. & Haleem, A. 3D bioprinting applications for the printing of skin: A brief study. *Sens. Int.* **2**, 100123 (2021).
67. Michael, S. *et al.* Tissue Engineered Skin Substitutes Created by Laser-Assisted Bioprinting Form Skin-Like Structures in the Dorsal Skin Fold Chamber in Mice. *PLOS ONE* **8**, e57741 (2013).
68. Poietis, la deeptech qui développe l'impression 3D de tissus humains. <https://bigmedia.bpifrance.fr/portraits/poietis-la-deeptech-qui-developpe-limpression-3d-de-tissus-humains>.
69. Abellan Lopez, M. *et al.* In vivo efficacy proof of concept of a large-size bioprinted dermo-epidermal substitute for permanent wound coverage. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **11**, (2023).
70. Denn, A. L. Poietis lance son essai clinique de greffe d'une peau imprimée en 3D à Marseille. *Maddyness - Le média pour comprendre l'économie de demain* <https://www.maddyness.com/2021/11/25/poietis-essai-clinique-greffe-impression-3d/> (2021).
71. 3D bioprinting of functional human skin: production and in vivo analysis - IOPscience. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1758-5090/9/1/015006>.
72. A tunable hydrogel system for long-term release of cell-secreted cytokines and bioprinted in situ wound cell delivery - Skardal - 2017 - Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.b.33736>.
73. 3D Human Skin Bioprinting: A View from the Bio Side: Journal of 3D Printing in Medicine: Vol 2, No 3. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.2217/3dp-2018-0008>.
74. Binder, K. W. *et al.* In situ bioprinting of the skin for burns. *J. Am. Coll. Surg.* **211**, S76 (2010).
75. Albanna, M. *et al.* In Situ Bioprinting of Autologous Skin Cells Accelerates Wound Healing of Extensive Excisional Full-Thickness Wounds. *Sci. Rep.* **9**, 1856 (2019).
76. Bioactive nanoparticles stimulate bone tissue formation in bioprinted three-dimensional scaffold and human mesenchymal stem cells - Gao - 2014 - Biotechnology Journal - Wiley Online Library. <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/biot.201400305>.
77. 3D Bioprinting Human Chondrocytes with Nanocellulose–Alginate Bioink for Cartilage Tissue Engineering Applications | Biomacromolecules. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.5b00188>.
78. Holmes, B., Bulusu, K., Plesniak, M. & Zhang, L. G. A synergistic approach to the design, fabrication and evaluation of 3D printed micro and nano featured scaffolds for vascularized bone tissue repair. *Nanotechnology* **27**, 064001 (2016).
79. Inverse 3D Printing with Variations of the Strand Width of the Resulting Scaffolds for Bone Replacement. <https://www.mdpi.com/1996-1944/14/8/1964>.
80. Gabetti, S. *et al.* An automated 3D-printed perfusion bioreactor combinable with pulsed electromagnetic field stimulators for bone tissue investigations. *Sci. Rep.* **12**, 13859 (2022).
81. Catalano, V. *et al.* Tumor and its microenvironment: A synergistic interplay. *Semin. Cancer Biol.* **23**, 522–532 (2013).

82. Hanahan, D. & Coussens, L. M. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* **21**, 309–322 (2012).
83. Achen, M. G., McColl, B. K. & Stacker, S. A. Focus on lymphangiogenesis in tumor metastasis. *Cancer Cell* **7**, 121–127 (2005).
84. Apte, R. S., Chen, D. S. & Ferrara, N. VEGF in Signaling and Disease: Beyond Discovery and Development. *Cell* **176**, 1248–1264 (2019).
85. Giantonio, B. J. *et al.* Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **25**, 1539–1544 (2007).
86. Datta, P., Dey, M., Ataie, Z., Unutmaz, D. & Ozbolat, I. T. 3D bioprinting for reconstituting the cancer microenvironment. *Npj Precis. Oncol.* **4**, 1–13 (2020).
87. Langer, E. M. *et al.* Modeling Tumor Phenotypes In Vitro with Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Rep.* **26**, 608-623.e6 (2019).
88. Bioprinting and Differentiation of Adipose-Derived Stromal Cell Spheroids for a 3D Breast Cancer-Adipose Tissue Model. <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/4/803>.
89. Reid, J. A. *et al.* A 3D bioprinter platform for mechanistic analysis of tumoroids and chimeric mammary organoids. *Sci. Rep.* **9**, 7466 (2019).
90. Rapid 3D bioprinting of decellularized extracellular matrix with regionally varied mechanical properties and biomimetic microarchitecture - ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014296121830663X?via%3Dihub>.
91. Ma, X. *et al.* Deterministically patterned biomimetic human iPSC-derived hepatic model via rapid 3D bioprinting. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **113**, 2206–2211 (2016).
92. Sears, R., Allen-Petersen, B. & Langer, E. Three-dimensional bioprinted pancreatic tumor model. (2016).
93. Langer, E. M. *et al.* Modeling Tumor Phenotypes *In Vitro* with Three-Dimensional Bioprinting. *Cell Rep.* **26**, 608-623.e6 (2019).
94. Yi, H.-G. *et al.* A bioprinted human-glioblastoma-on-a-chip for the identification of patient-specific responses to chemoradiotherapy. *Nat. Biomed. Eng.* **3**, 509–519 (2019).
95. Heinrich, M. A. *et al.* 3D-Bioprinted Mini-Brain: A Glioblastoma Model to Study Cellular Interactions and Therapeutics. *Adv. Mater.* **31**, 1806590 (2019).
96. Mao, S. *et al.* Bioprinting of patient-derived in vitro intrahepatic cholangiocarcinoma tumor model: establishment, evaluation and anti-cancer drug testing. *Biofabrication* **12**, 045014 (2020).
97. Chen, H. *et al.* 3D printed *in vitro* tumor tissue model of colorectal cancer. *Theranostics* **10**, 12127–12143 (2020).
98. Tumor-like lung cancer model based on 3D bioprinting | 3 Biotech. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13205-018-1519-1>.
99. 3D-Printed Collagen Scaffolds Promote Maintenance of Cryopreserved Patients-Derived Melanoma Explants. <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/3/589>.
100. Nothdurfter, D. *et al.* 3D bioprinted, vascularized neuroblastoma tumor environment in fluidic chip devices for precision medicine drug testing. *Biofabrication* **14**, 035002 (2022).
101. Marino, A. *et al.* A 3D Real-Scale, Biomimetic, and Biohybrid Model of the Blood-Brain Barrier Fabricated through Two-Photon Lithography. *Small* **14**, 1702959 (2018).
102. Tang, M., Rich, J. N. & Chen, S. Biomaterials and 3D Bioprinting Strategies to Model Glioblastoma and the Blood–Brain Barrier. *Adv. Mater.* **33**, 2004776 (2021).
103. Santis, M. D. *et al.* Development of a hybrid alginate-ECM hydrogel as a potential bioink for 3D bioprinting. *Eur. Respir. J.* **52**, (2018).



104. Abaci, A. & Guvendiren, M. Designing Decellularized Extracellular Matrix-Based Bioinks for 3D Bioprinting. *Adv. Healthc. Mater.* **9**, 2000734 (2020).
105. Erdem, A. *et al.* 3D Bioprinting of Oxygenated Cell-Laden Gelatin Methacryloyl Constructs. *Adv. Healthc. Mater.* **9**, 1901794 (2020).
106. Wang, X. *et al.* Tumor-like lung cancer model based on 3D bioprinting. *3 Biotech* **8**, 501 (2018).
107. Tang, M., Rich, J. N. & Chen, S. Biomaterials and 3D Bioprinting Strategies to Model Glioblastoma and the Blood–Brain Barrier. *Adv. Mater.* **33**, 2004776 (2021).
108. Grigoryan, B. *et al.* Multivascular networks and functional intravascular topologies within biocompatible hydrogels. *Science* **364**, 458–464 (2019).
109. Marino, A. *et al.* A 3D Real-Scale, Biomimetic, and Biohybrid Model of the Blood-Brain Barrier Fabricated through Two-Photon Lithography. *Small* **14**, 1702959 (2018).
110. Wang, Y. *et al.* Metastasis-on-a-chip mimicking the progression of kidney cancer in the liver for predicting treatment efficacy. *Theranostics* **10**, 300–311 (2020).
111. A bioprinted human-glioblastoma-on-a-chip for the identification of patient-specific responses to chemoradiotherapy | Nature Biomedical Engineering. <https://www.nature.com/articles/s41551-019-0363-x>.
112. Bersini, S. *et al.* A combined microfluidic-transcriptomic approach to characterize the extravasation potential of cancer cells. *Oncotarget* **9**, 36110–36125 (2018).
113. Meng, F. *et al.* 3D Bioprinted In Vitro Metastatic Models via Reconstruction of Tumor Microenvironments. *Adv. Mater.* **31**, 1806899 (2019).
114. Wang, Y. *et al.* 3D Bioprinting of Breast Cancer Models for Drug Resistance Study. *ACS Biomater. Sci. Eng.* **4**, 4401–4411 (2018).
115. Hong, S. & Song, J. M. 3D bioprinted drug-resistant breast cancer spheroids for quantitative *in situ* evaluation of drug resistance. *Acta Biomater.* **138**, 228–239 (2022).
116. Wang, X. *et al.* Coaxial extrusion bioprinted shell-core hydrogel microfibers mimic glioma microenvironment and enhance the drug resistance of cancer cells. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **171**, 291–299 (2018).
117. 3D bioprinted glioma stem cells for brain tumor model and applications of drug susceptibility - IOPscience. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1758-5090/8/4/045005>.
118. Zhang, J. *et al.* A novel approach for precisely controlled multiple cell patterning in microfluidic chips by inkjet printing and the detection of drug metabolism and diffusion. *Analyst* **141**, 2940–2947 (2016).
119. 3D bioprinted glioma cell-laden scaffolds enriching glioma stem cells via epithelial–mesenchymal transition - Wang - 2019 - Journal of Biomedical Materials Research Part A - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jbm.a.36549>.
120. Chen, H. *et al.* 3D printed *in vitro* tumor tissue model of colorectal cancer. *Theranostics* **10**, 12127–12143 (2020).
121. Johnson, P. A. *et al.* A rapid high throughput bioprinted colorectal cancer spheroid platform for *in vitro* drug- and radiation-response. *Biofabrication* **15**, 014103 (2022).
122. Sbirkov, Y. *et al.* A Colorectal Cancer 3D Bioprinting Workflow as a Platform for Disease Modeling and Chemotherapeutic Screening. *Front. Bioeng. Biotechnol.* **9**, (2021).
123. Study on drug screening multicellular model for colorectal cancer constructed by three-dimensional bioprinting technology. <https://accscience.com/journal/IJB/9/3/10.18063/ijb.694>.
124. Gebeyehu, A. *et al.* Polysaccharide hydrogel based 3D printed tumor models for chemotherapeutic drug screening. *Sci. Rep.* **11**, 372 (2021).
125. Choi, Y. *et al.* 3D bioprinted vascularized lung cancer organoid models with underlying disease capable of more precise drug evaluation. *Biofabrication* **15**, 034104 (2023).

126. Zhao, Y. *et al.* Three-dimensional printing of Hela cells for cervical tumor model in vitro. *Biofabrication* **6**, 035001 (2014).
127. Zhao, Y. *et al.* Three-dimensional printing of Hela cells for cervical tumor model in vitro. *Biofabrication* **6**, 035001 (2014).
128. Mao, S. *et al.* Bioprinting of patient-derived in vitro intrahepatic cholangiocarcinoma tumor model: establishment, evaluation and anti-cancer drug testing. *Biofabrication* **12**, 045014 (2020).
129. How long a new drug takes to go through clinical trials. *Cancer Research UK* <https://www.cancerresearchuk.org/about-cancer/find-a-clinical-trial/how-clinical-trials-are-planned-and-organised/how-long-it-takes-for-a-new-drug-to-go-through-clinical-trials> (2014).
130. 3D bioprinting: novel approaches for engineering complex human tissue equivalents and drug testing | Essays in Biochemistry | Portland Press. <https://portlandpress.com/essaysbiochem/article/65/3/417/229421/3D-bioprinting-novel-approaches-for-engineering>.
131. Yang, K. *et al.* Recent applications of three-dimensional bioprinting in drug discovery and development. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **214**, 115456 (2024).
132. Baillargeon, P. *et al.* Automating a Magnetic 3D Spheroid Model Technology for High-Throughput Screening. *SLAS Technol.* **24**, 420–428 (2019).
133. Fernandez-Vega, V. *et al.* Lead identification using 3D models of pancreatic cancer. *SLAS Discov.* **27**, 159–166 (2022).
134. 3D bioprinted breast tumor model for structure–activity relationship study | Bio-Design and Manufacturing. <https://link.springer.com/article/10.1007/s42242-020-00085-5>.
135. Mazzaglia, C. *et al.* Deployable extrusion bioprinting of compartmental tumoroids with cancer associated fibroblasts for immune cell interactions. *Biofabrication* **15**, 025005 (2023).
136. Bioelectrical Analysis of Various Cancer Cell Types Immobilized in 3D Matrix and Cultured in 3D-Printed Well. <https://www.mdpi.com/2079-6374/9/4/136>.
137. Sun, L. *et al.* Application of a 3D Bioprinted Hepatocellular Carcinoma Cell Model in Antitumor Drug Research. *Front. Oncol.* **10**, (2020).
138. Miranda, M. A. *et al.* Cytotoxic and chemosensitizing effects of glycoalkaloidic extract on 2D and 3D models using RT4 and patient derived xenografts bladder cancer cells. *Mater. Sci. Eng. C* **119**, 111460 (2021).
139. Wake Forest University Health Sciences. *Novel 3D Hematological Malignancy Organoid Platform to Study Disease Biology and Perform Chemosensitivity Assays for Patient-Specific Care*. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT03890614> (2024).
140. Peking Union Medical College Hospital. *Validation of the Three-Dimensional Bioprinted Tumor Models as a Predictive Method of the Response to Chemotherapy for Colorectal Cancer With or Without Liver Metastases*. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04755907> (2022).
141. Lu, D.-Y. & Lu, T.-R. Drug sensitivity testing, a unique drug selection strategy. *Adv. Biomark. Sci. Technol.* **2**, 59–66 (2020).
142. Yi, H.-G. *et al.* A bioprinted human-glioblastoma-on-a-chip for the identification of patient-specific responses to chemoradiotherapy. *Nat. Biomed. Eng.* **3**, 509–519 (2019).
143. Steinberg, E. *et al.* A fully 3D-printed versatile tumor-on-a-chip allows multi-drug screening and correlation with clinical outcomes for personalized medicine. *Commun. Biol.* **6**, 1–14 (2023).
144. Peterziel, H. *et al.* Drug sensitivity profiling of 3D tumor tissue cultures in the pediatric precision oncology program INFORM. *NPJ Precis. Oncol.* **6**, 94 (2022).
145. Massard, C. *et al.* High-Throughput Genomics and Clinical Outcome in Hard-to-Treat Advanced Cancers: Results of the MOSCATO 01 Trial. *Cancer Discov.* **7**, 586–595 (2017).
146. Bertucci, F. *et al.* Prospective high-throughput genome profiling of advanced cancers: results of the PERMED-01 clinical trial. *Genome Med.* **13**, 87 (2021).

147. Wu, Y., Qin, M. & Yang, X. Organ bioprinting: progress, challenges and outlook. *J. Mater. Chem. B* **11**, 10263–10287 (2023).
148. Herzenberg, L. A. *et al.* The history and future of the fluorescence activated cell sorter and flow cytometry: a view from Stanford. *Clin. Chem.* **48**, 1819–1827 (2002).
149. Fong, C. Y., Peh, G. S. L., Gauthaman, K. & Bongso, A. Separation of SSEA-4 and TRA-1-60 labelled undifferentiated human embryonic stem cells from a heterogeneous cell population using magnetic-activated cell sorting (MACS) and fluorescence-activated cell sorting (FACS). *Stem Cell Rev. Rep.* **5**, 72–80 (2009).
150. Ong, C. S. *et al.* 3D bioprinting using stem cells. *Pediatr. Res.* **83**, 223–231 (2018).
151. Biofabrication methods for reconstructing extracellular matrix mimetics - PMC. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10500422/>.
152. Gehlen, J., Qiu, W., Schädli, G. N., Müller, R. & Qin, X.-H. Tomographic volumetric bioprinting of heterocellular bone-like tissues in seconds. *Acta Biomater.* **156**, 49–60 (2023).
153. 3D bioprinting of collagen to rebuild components of the human heart | Science. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aav9051>.
154. In situ volumetric imaging and analysis of FRESH 3D bioprinted constructs using optical coherence tomography - IOPscience. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1758-5090/ac975e>.
155. Li, J., Wu, C., Chu, P. K. & Gelinsky, M. 3D printing of hydrogels: Rational design strategies and emerging biomedical applications. *Mater. Sci. Eng. R Rep.* **140**, 100543 (2020).
156. Gasperini, L., Mano, J. F. & Reis, R. L. Natural polymers for the microencapsulation of cells. *J. R. Soc. INTERFACE* **11**, 20140817 (2014).
157. Skardal, A. Perspective: “Universal” bioink technology for advancing extrusion bioprinting-based biomanufacturing. *Bioprinting* **10**, e00026 (2018).
158. The effect of source animal age upon extracellular matrix scaffold properties - ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0142961210011580?via%3Dihub>.
159. 3D Bioprinting of human Mesenchymal Stem Cells in a novel tunic decellularized ECM bioink for Cartilage Tissue Engineering - ScienceDirect. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2589152922001405?via%3Dihub>.
160. Kesti, M., Fisch, P., Pensalfini, M., Mazza, E. & Zenobi-Wong, M. Guidelines for standardization of bioprinting: a systematic study of process parameters and their effect on bioprinted structures. *BioNanoMaterials* **17**, 193–204 (2016).
161. Adhikari, J. *et al.* Effects of Processing Parameters of 3D Bioprinting on the Cellular Activity of Bioinks. *Macromol. Biosci.* **21**, 2000179 (2021).
162. Study on parameter optimization of 3D bioprinting of hybrid bio-inks | The International Journal of Advanced Manufacturing Technology. [https://link.springer.com/article/10.1007/s00170-021-08561-7?utm\\_source=getftr&utm\\_medium=getftr&utm\\_campaign=getftr\\_pilot&getftr\\_integrator=tfo](https://link.springer.com/article/10.1007/s00170-021-08561-7?utm_source=getftr&utm_medium=getftr&utm_campaign=getftr_pilot&getftr_integrator=tfo).
163. Raimondi, M. T. *et al.* Three-dimensional structural niches engineered via two-photon laser polymerization promote stem cell homing. *Acta Biomater.* **9**, 4579–4584 (2013).
164. Worthington, K. S. *et al.* Two-photon polymerization for production of human iPSC-derived retinal cell grafts. *Acta Biomater.* **55**, 385–395 (2017).
165. Tao, Y. *et al.* Monolayer heterojunction interactive hydrogels for high-freedom 4D shape reconfiguration by two-photon polymerization. *Int. J. Bioprinting* **9**, 678 (2023).
166. Fabrication of fibrin scaffolds with controlled microscale architecture by a two-photon polymerization–micromolding technique - IOPscience. <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1758-5082/4/1/015001>.

167. Nanostructured 3D bioprinting of PLA with bioglass-CNT scaffolds for osseous tissue graft manufacturing - ScienceDirect.  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2238785423004052>.
168. Fujimoto, J. G., Pitris, C., Boppart, S. A. & Brezinski, M. E. Optical coherence tomography: an emerging technology for biomedical imaging and optical biopsy. *Neoplasia N. Y. N* **2**, 9–25 (2000).
169. Wang, L., Xu, M., Luo, L., Zhou, Y. & Si, P. Iterative feedback bio-printing-derived cell-laden hydrogel scaffolds with optimal geometrical fidelity and cellular controllability. *Sci. Rep.* **8**, 2802 (2018).
170. Novel Size-Variable Dedicated Rodent Oxygenator for ECLS Animal Models—Introduction of the “RatOx” Oxygenator and Preliminary In Vitro Results - PMC.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10144398/>.
171. Microfluidic bioprinting of tough hydrogel-based vascular conduits for functional blood vessels | Science Advances. <https://www.science.org/doi/10.1126/sciadv.abq6900>.
172. Fang, Y. *et al.* Expanding Embedded 3D Bioprinting Capability for Engineering Complex Organs with Freeform Vascular Networks. *Adv. Mater. Deerfield Beach Fla* **35**, e2205082 (2023).
173. Paschos, N. K., Brown, W. E., Eswaramoorthy, R., Hu, J. C. & Athanasiou, K. A. Advances in tissue engineering through stem cell-based co-culture. *J. Tissue Eng. Regen. Med.* **9**, 488–503 (2015).
174. Miki, Y. *et al.* The advantages of co-culture over mono cell culture in simulating in vivo environment. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **131**, 68–75 (2012).
175. Battiston, K. G., Cheung, J. W. C., Jain, D. & Santerre, J. P. Biomaterials in co-culture systems: towards optimizing tissue integration and cell signaling within scaffolds. *Biomaterials* **35**, 4465–4476 (2014).
176. FDA’s Regulatory Framework for 3D Printing of Medical Devices at the Point of Care Needs More Clarity. <https://pew.org/3zkHsSS> (2022).
177. Chepelev, L. *et al.* Radiological Society of North America (RSNA) 3D printing Special Interest Group (SIG): guidelines for medical 3D printing and appropriateness for clinical scenarios. *3D Print. Med.* **4**, 11 (2018).
178. Pettersson, A. B. V. *et al.* Core Legal Challenges for Medical 3D Printing in the EU. *Healthcare* **12**, 1114 (2024).
179. Regulation impact statement: Proposed regulatory scheme for personalised medical devices, including 3D-printed devices. (2019).
180. Contrefaçon dans le cadre de l’impression 3D : diagnostic et remèdes. *INPI.fr*  
<https://www.inpi.fr/valoriser-vos-actifs/le-mag/contrefacon-dans-le-cadre-de-l-impression-3d-diagnostic-et-remedes> (2017).
181. REGULATION (EU) 2016/ 679 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL - of 27 April 2016 - on the protection of natural persons with regard to the processing of personal data and on the free movement of such data, and repealing Directive 95/ 46/ EC (General Data Protection Regulation).
182. The new EU General Data Protection Regulation: what the radiologist should know | Insights into Imaging. <https://link.springer.com/article/10.1007/s13244-017-0552-7>.
183. Kuner, C., Bygrave, L. A., Docksey, C., Drechsler, L. & Tosoni, L. The EU General Data Protection Regulation: A Commentary/Update of Selected Articles. *SSRN Electron. J.* (2021) doi:10.2139/ssrn.3839645.

184. Gilbert, F., O’Connell, C. D., Mladenovska, T. & Dodds, S. Print Me an Organ? Ethical and Regulatory Issues Emerging from 3D Bioprinting in Medicine. *Sci. Eng. Ethics* **24**, 73–91 (2018).
185. Nissan, A. M. Regulating the Three-Dimensional Future: How the FDA Should Structure a Regulatory Mechanism for Additive Manufacturing (3D Printing). *Boston Univ. J. Sci. Technol. Law* **22**, 267 (2016).
186. Consultation: Proposed regulatory scheme for personalised medical devices, including 3D-printed devices. (2019).
187. Mladenovska, T., Choong, P. F., Wallace, G. G. & O’Connell, C. D. The Regulatory Challenge of 3D Bioprinting. *Regen. Med.* **18**, 659–674 (2023).
188. Hourd, P., Medcalf, N., Segal, J. & Williams, D. J. A 3D bioprinting exemplar of the consequences of the regulatory requirements on customized processes. *Regen. Med.* **10**, 863–883 (2015).
189. Jordan, B. L’héritage d’Henrietta Lacks: Chroniques génomiques. *médecine/sciences* **37**, 1189–1193 (2021).
190. Ultragenyx must face Henrietta Lacks family lawsuit over HeLa cell profits | Reuters. <https://www.reuters.com/legal/litigation/ultragenyx-must-face-henrietta-lacks-family-lawsuit-over-hela-cell-profits-2024-05-20/>.
191. A review on patient-specific facial and cranial implant design using Artificial Intelligence (AI) techniques: Expert Review of Medical Devices: Vol 18, No 10. <https://www.tandfonline.com/doi/10.1080/17434440.2021.1969914>.
192. The practical implementation of artificial intelligence technologies in medicine | Nature Medicine. <https://www.nature.com/articles/s41591-018-0307-0>.
193. From In Vivo to In Vitro: The Medical Device Testing Paradigm Shift-Web of Science Core Collection. <https://www.webofscience.com/wos/woscc/full-record/WOS:000414297700003>.
194. Tracking the Rise of Stem Cell Tourism: Regenerative Medicine: Vol 5, No 1. <https://www.tandfonline.com/doi/10.2217/rme.09.70>.
195. Mahmud, M. A. P., Tat, T., Xiao, X., Adhikary, P. & Chen, J. Advances in 4D-printed physiological monitoring sensors. *Exploration* **1**, 20210033 (2021).
196. 4D-Printed Dynamic Materials in Biomedical Applications: Chemistry, Challenges, and Their Future Perspectives in the Clinical Sector | Journal of Medicinal Chemistry. <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jmedchem.9b02115>.
197. Machine Assisted Experimentation of Extrusion-Based Bioprinting Systems. <https://www.mdpi.com/2072-666X/12/7/780>.
198. Lee 2020 Biofabrication 12 035018 | PDF | Physical Sciences | Materials. <https://fr.scribd.com/document/723133435/Lee-2020-Biofabrication-12-035018>.
199. Yang, K. *et al.* Recent applications of three-dimensional bioprinting in drug discovery and development. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **214**, 115456 (2024).
200. Kirillova, A., Bushev, S., Abubakirov, A. & Sukikh, G. Bioethical and Legal Issues in 3D Bioprinting. *Int. J. Bioprinting* **6**, 272 (2020).
201. La médecine : vision d’aujourd’hui et de demain. <https://www.leem.org/la-medecine-vision-daujourd'hui-et-de-demain>.

## **TITLE : HOW CAN BIOPRINTING CONTRIBUTE TO THE CHALLENGES IN ONCOLOGY?**

### **ABSTRACT :**

Bioprinting is a technology that uses the principles of 3D printing, enabling biological tissues to be printed layer by layer “at will”. This innovation promises major advances in the healthcare sector: from the creation of artificial organs or parts of organs for regenerative medicine, transplantation, and surgical practice, to the development of in vitro uses as experimental models in fundamental research, the possibilities, and opportunities of bioprinting are numerous, and even seem infinite. The question is whether this technology can really be applied to the various fields of healthcare, particularly oncology. Numerous studies on the subject have demonstrated that bioprinting enables tissue models to be created precisely and realistically, providing the basis for numerous advances in research and clinical practice. Whether to study pathophysiological mechanisms, accelerate the drug discovery and development process, or treat wounds and burns, bioprinting is providing answers to a growing number of medical problems. In oncology, this approach enables us to better reproduce different tumor models, the tumor microenvironment, metastasis, or mechanisms of resistance to anti-cancer treatments, thus contributing to a better understanding of cancer pathophysiology. In addition to facilitating the drug research and development process, bioprinting enables cancer treatments to be tested more rapidly on patient-derived tumor models, paving the way for more personalized medicine. Although there are still many technical and regulatory limits to be overcome, it is possible to envisage this technology playing a key role in the future of medicine.

---

## **RESUME en français**

La bio-impression est une technologie qui utilise les principes de l'impression 3D, permettant d'imprimer couche par couche des tissus biologiques « à volonté ». Cette innovation promet de grandes avancées dans le secteur de la santé : création d'organes ou de parties d'organes artificiels pour la médecine régénératrice, transplantation, pratique chirurgicale, ou encore développement d'utilisations in vitro pour servir de modèles expérimentaux en recherche fondamentale, les possibilités et opportunités de la bio-impression sont nombreuses, et paraissent même infinies. La question qui se pose alors est de savoir si cette technologie peut réellement être appliquée aux différents domaines de la santé, notamment en oncologie. De nombreuses études sur le sujet ont pu démontrer que la bio-impression permet de créer de manière précise et réaliste des modèles tissulaires, servant de base à de nombreuses avancées dans la recherche et la clinique. Que cela soit par l'étude des mécanismes physiopathologiques, l'accélération du processus de découverte et de développement de médicaments ou le traitement des plaies ou des brûlures, la bio-impression permet de répondre à de plus en plus de problématiques médicales. En oncologie, cette approche permet de mieux reproduire différents modèles tumoraux, le micro-environnement tumoral, les métastases ou les mécanismes de résistances aux traitements anticancéreux, ce qui contribue à mieux comprendre la physiopathologie du cancer. En plus de faciliter le processus de recherche et développement de médicaments, la bio-impression permet de pouvoir tester plus rapidement les traitements anticancéreux sur des modèles tumoraux dérivés de patients, ouvrant la voie à une médecine plus personnalisée. Bien qu'il existe encore de nombreuses limites techniques ou réglementaires à surmonter, il est possible d'envisager que cette technologie jouera un rôle clef dans le futur de la médecine.

---

**Titre et résumé en Anglais :** voir au recto de la dernière page de la thèse

---

**DISCIPLINE administrative :** Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

---

**MOTS-CLES :** Bio-impression ; Impression 3D ; Oncologie ; Médecine personnalisée ; Bio-encre ; Bio-imprimante ; Recherche et développement ; Organoïdes ; Micro-environnement tumoral ; Réglementation

---

## **INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :**

Faculté des Sciences Pharmaceutiques Université Toulouse III Paul Sabatier  
35 chemin des Maraîchers 31062 TOULOUSE

**Directeur de thèse :** PEYRO-SAINT-PAUL Hélène