

Élaboration d'un substitut osseux sur mesure par prototypage rapide

Alexis Plaud

▶ **To cite this version:**

Alexis Plaud. Élaboration d'un substitut osseux sur mesure par prototypage rapide. Chirurgie. 2015. dumas-01237580

HAL Id: dumas-01237580

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01237580

Submitted on 3 Dec 2015

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

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

Université de Bordeaux
Collège des Sciences de la Santé
UFR des Sciences Odontologiques

Année 2015 N° 78

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN CHIRURGIE DENTAIRE

Présentée et soutenue publiquement par

Alexis PLAUD

Né le 21 août 1988 à Périgueux (24), France

Le 27/11/2015

Elaboration d'un substitut osseux sur mesure par prototypage rapide

Directeur de thèse

Docteur Sylvain CATROS

Membres du jury

Président	M. Jean-Christophe FRICAIN	Professeur des Universités
Directeur	M. Sylvain CATROS	Maître de Conférences des Universités
Rapporteur	M. Raphael DEVILLARD	Maître de Conférences des Universités
Assesseur	M. Bruno ELLA NGUEMA	Maître de Conférences des Universités

UNIVERSITE DE BORDEAUX

Président	M.	Manuel TUNON de LARA
Directeur de Collège des Sciences de la Santé	M.	Jean-Luc PELLEGRIN

COLLEGE DES SCIENCES DE LA SANTE
UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE DES SCIENCES ODONTOLOGIQUES

Directrice	Mme	BERTRAND Caroline	58-02
Directrice Adjointe – Chargée de la Formation initiale	Mme	ORIEZ-PONS Dominique	58-01
Directeur Adjoint – Chargé de la Recherche	M.	FRICAIN Jean-Christophe	57-02
Directeur Adjoint – Chargé des Relations Internationales	M.	LASSERRE Jean-François	58-02

ENSEIGNANTS DE L'UFR

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mme	Caroline	BERTRAND	Prothèse dentaire	58-02
Mme	Marie-José	BOILEAU	Orthopédie dento-faciale	56-02
Mme	Véronique	DUPUIS	Prothèse dentaire	58-02
M.	Jean-Christophe	FRICAIN	Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique	57-02

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme	Elise	ARRIVÉ	Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale	56-03
Mme	Cécile	BADET	Sciences biologiques	57-03
M.	Etienne	BARDINET	Orthopédie dento-faciale	56-02
M.	Michel	BARTALA	Prothèse dentaire	58-02
M.	Cédric	BAZERT	Orthopédie dento-faciale	56-02
M.	Christophe	BOU	Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale	56-03
Mme	Sylvie	BRUNET	Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique	57-02
M.	Sylvain	CATROS	Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique	57-02
M.	Stéphane	CHAPENOIRE	Sciences anatomiques et physiologiques	58-03
M.	Jacques	COLAT PARROS	Sciences anatomiques et physiologiques	58-03
M.	Jean-Christophe	COUTANT	Sciences anatomiques et physiologiques	58-03
M.	François	DARQUE	Orthopédie dento-faciale	56-02
M.	François	DE BRONDEAU	Orthopédie dento-faciale	56-02
M.	Yves	DELBOS	Odontologie pédiatrique	56-01
M.	Raphael	DEVILLARD	Odontologie conservatrice- Endodontie	58-01
M.	Emmanuel	D'INCAU	Prothèse dentaire	58-02
M.	Bruno	ELLA NGUEMA	Sciences anatomiques et physiologiques	58-03
M.	Dominique	GILLET	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01
M.	Jean-François	LASSERRE	Prothèse dentaire	58-02
M.	Yves	LAUVERJAT	Parodontologie	57-01
Mme	Odile	LAVIOLE	Prothèse dentaire	58-02
M.	Jean-Marie	MARTEAU	Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique	57-02

Mme	Javotte	NANCY	Odontologie pédiatrique	56-01
M.	Adrien	NAVAUD	Prothèse dentaire	58-02
Mme	Dominique	ORIEZ	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01
M.	Jean-François	PELI	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01
M.	Philippe	POISSON	Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale	56-03
M.	Patrick	ROUAS	Odontologie pédiatrique	56-01
M.	Johan	SAMOT	Sciences biologiques	57-03
Mme	Maud	SAMPEUR	Orthopédie dento-faciale	56-02
M.	Cyril	SEDARAT	Parodontologie	57-01
Mme	Noélie	THEBAUD	Sciences biologiques	57-03
M.	Eric	VACHEY	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01

ASSISTANTS

Mme	Audrey	AUSSEL	Sciences biologiques	57-03
M.	Wallid	BOUJEMAA AZZI	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01
M.	Julien	BROTHIER	Prothèse dentaire	58-02
M.	Mathieu	CONTREPOIS	Prothèse dentaire	58-02
M.	Guillaume	CRESTE	Prothèse dentaire	58-02
Mme	Clarisse	DE OLIVEIRA	Orthopédie dento-faciale	56-02
M.	Cédric	FALLA	Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale	56-03
M.	Guillaume	FENOUL	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01
Mme	Elsa	GAROT	Odontologie pédiatrique	56-01
M.	Nicolas	GLOCK	Sciences anatomiques et physiologiques	58-03
Mme	Sandrine	GROS	Orthopédie dento-faciale	56-02
Mme	Olivia	KEROUREDAN	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-02
Mme	Alice	LE NIR	Sciences anatomiques et physiologiques	58-03
Mme	Karine	LEVET	Prévention épidémiologie – Economie de la santé – Odontologie légale	56-03
M.	Alexandre	MARILLAS	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01
Mme	Marie	MEDIO	Orthopédie dento-faciale	56-02
Mme	Darrène	NGUYEN	Sciences biologiques	57-03
Mme	Alice	NOUREDDINE	Prothèse dentaire	58-02
Mme	Chloé	PELOURDE	Orthopédie dento-faciale	56-02
Mme	Candice	PEYRAUD	Odontologie pédiatrique	56-01
M.	Jean-Philippe	PIA	Prothèse dentaire	58-02
M.	Mathieu	PITZ	Parodontologie	57-01
Mme	Charlotte	RAGUENEAU	Prothèse dentaire	58-02
M.	Clément	RIVES	Odontologie conservatrice – Endodontie	58-01
M.	Francois	ROUZE L'ALZIT	Prothèse dentaire	58-02
M.	François	VIGOUROUX	Parodontologie	57-01

A notre Président de thèse

Monsieur le Professeur Jean-Christophe FRICAIN
Professeur des Universités – Praticien Hospitalier
Directeur adjoint de l'UFR des Sciences Odontologiques – Chargé de la Recherche
Sous-section Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique 57-02

Merci pour l'honneur que vous me faites en acceptant la présidence de cette thèse. J'ai eu le plaisir d'assister à vos cours magistraux au cours de mon cursus universitaire et à vos enseignements cliniques lors de mes vacations au CHU. Je retire de votre enseignement de riches connaissances qui m'aideront dans ma pratique de futur chirurgien-dentiste.
Je vous remercie également de m'avoir accueilli au sein de l'unité Inserm BIOTIS 1026 pendant mon stage de Master 1 et mes travaux de thèse qui m'ont permis de m'initier à la recherche scientifique et d'y prendre goût.

Veuillez trouver l'expression de mes remerciements les plus sincères et de mon plus profond respect.

A notre Directeur de thèse

Monsieur le Docteur Sylvain CATROS
Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Sous-section Chirurgie buccale – Pathologie et thérapeutique 57-02

Je vous remercie d'avoir accepté de diriger cette thèse et de m'avoir guidé tout au long de ce travail. Je vous remercie également pour votre disponibilité, votre perpétuelle bonne humeur et vos précieux conseils et réponses à mes interrogations et doutes durant ce travail. Je garderai un très bon souvenir de ces mois passés au laboratoire, malgré les difficultés et les échecs que j'ai pu rencontrer. Comme l'a dit Thomas Alva Edison, « Je n'ai pas échoué. J'ai simplement trouvé 10 000 solutions qui ne fonctionnent pas ». Cette expérience de travaux de recherche a été très enrichissante et me sera, j'en suis certain, très utile dans mon avenir professionnel.
Je vous remercie également pour tous vos enseignements théoriques et pratiques lors de ces 3 années passées au CHU.

Je vous prie de trouver dans ce travail toute l'expression de ma gratitude et de ma reconnaissance.

A notre Rapporteur de thèse

Monsieur le Docteur Raphael DEVILLARD
Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Sous-section Odontologie conservatrice- Endodontie 58-01

Je vous suis reconnaissant d'avoir accepté de collaborer à ce travail en tant que rapporteur.
Comme vous me l'aviez fait pressentir au début, le fab@home aura eu raison de moi ! Mais je ne regrette pas d'avoir tenté l'expérience et de l'avoir poussé dans ses derniers retranchements.
Je vous remercie pour votre enseignement depuis les premières cavités de Black en séance de travaux pratiques jusqu'aux principes de l'ingénierie tissulaire au laboratoire, en n'oubliant pas toutes les vacations cliniques au CHU.

Je vous prie de trouver dans ce travail une marque de profond respect et de reconnaissance.

A notre Assesseur

Monsieur le Docteur Bruno ELLA NGUEMA
Maître de Conférences des Universités – Praticien Hospitalier
Sous-section Sciences anatomiques et physiologiques 58-03

Je vous prie d'accepter mes plus sincères remerciements pour m'avoir fait l'honneur de faire partie de ce jury de thèse.
Je n'ai malheureusement pas pu bénéficier de votre enseignement pratique au CHU mais j'ai eu le plaisir d'assister à vos cours magistraux.
Je vous remercie de m'avoir accueilli au sein du laboratoire d'anatomie de l'université et d'avoir mis à notre disposition les pièces osseuses sans lesquelles ce travail n'aurait pas été possible.

Je vous prie de trouver dans ce travail une marque de mon plus profond respect.

Merci,

A Joëlle Amédée qui m'a accueilli au sein de l'unité BIOTIS-laboratoire Inserm 1026 pour mon stage de Master 1 et mes travaux de recherche ;

A toutes les personnes avec qui j'ai pu travailler au sein du laboratoire, et en particulier Jérôme et Murielle, pour votre disponibilité et vos précieux conseils ;

Au Docteur Laurent Hauret et son équipe, avec qui nous avons réalisé toute l'imagerie médicale présente dans ce travail ;

A tous les membres du fablab Coh@bit de l'IUT de Bordeaux et en particulier Adrien avec qui j'ai travaillé sur les aspects d'infographie tridimensionnelle et d'impression 3D ;

A la société Global D pour la mise à disposition du matériel d'ostéosynthèse.

Table des matières

1. INTRODUCTION 9

1.1 L'os alvéolaire 9

1.2 Les techniques conventionnelles de réparation osseuse en chirurgie orale 10

1.2.1 Préservation du volume osseux 10

1.2.2 Greffes 10

a) Autogène 10

b) Allogène 11

c) Synthétique 11

1.3 Ingénierie tissulaire 11

1.3.1 Définition 11

1.3.2 Les scaffolds 13

1.3.3 Les facteurs de croissance 14

1.3.4 Les cellules 15

1.4 Fabrication de scaffolds sur mesure 17

1.4.1 Conception 18

1.4.2 Fabrication 19

1.4.2.1 Fabrication soustractive (Usinage) 19

1.4.2.2 Fabrication Additive (Impression 3D) 19

2. ETUDE EXPERIMENTALE: ELABORATION D'UN SUBSTITUT OSSEUX SUR MESURE PAR PROTOTYPAGE RAPIDE 22

2.1 Objectif 22

2.2 Matériels et méthodes 22

2.2.1 Préparation des défauts osseux 22

2.2.2 Acquisition des données radiologiques 23

2.2.3 Reconstruction 3D 24

2.2.4 Conception CAO des blocs de substitution 26

2.2.5 Les outils de post-traitement et de réparation 29

2.2.6 Impression des blocs 32

2.2.7 Mise en place des blocs de substitution 35

2.2.8 Imagerie des pièces osseuses après ostéosynthèse 37

2.3 Résultats 40

2.3.1 Analyse macroscopique 40

2.3.2 Analyse radiologique 41

2.3.3 Matériel utilisé et notion de coût 41

3. DISCUSSION 42

3.1 Reconstruction 3D anatomique 42
3.2 Architecture externe 43
3.3 Structure interne 43
3.4 Mise en place chirurgicale et aspects cliniques 44
3.5 Perspectives: Ingénierie tissulaire, de la recherche fondamentale aux applications cliniques 44
4. CONCLUSION 48
BIBLIOGRAPHIE 49
LISTE DES ABREVIATIONS 55
INDEX DES TABLEAUX ET ILLUSTRATIONS 56

1. INTRODUCTION

Les pertes de substances de la sphère maxillo-faciale, qu'elles soient d'origine traumatique, infectieuse, tumorale ou congénitale, représentent une part importante de l'activité chirurgicale.
Dans le domaine de la chirurgie orale, les pertes de substance de l'os alvéolaire sont fréquentes et posent des problèmes pour la réhabilitation de la fonction masticatoire et de l'esthétique du patient.
Différentes stratégies pour réparer ces pertes de substance sont déjà utilisées depuis longtemps par les cliniciens mais elles présentent un certain nombre de limites qui justifient la mise au point de nouvelles méthodes de reconstruction.

1.1 L'os alvéolaire

Au maxillaire comme à la mandibule, le tissu osseux alvéolaire est le support des dents et se compose d'une corticale externe d'os compact et d'une partie interne d'os trabéculaire (ou spongieux). L'os alvéolaire est un tissu conjonctif minéralisé très vascularisé et innervé. Il est composé de cellules noyées dans une matrice extracellulaire avec une phase organique et une phase minérale. Le périoste, qui tapisse l'os cortical est composé de deux couches cellulaires dont une couche interne ostéogène dans laquelle on retrouve des précurseurs endothéliaux et ostéoblastiques.
Les cellules ostéoclastiques et ostéoblastiques sont impliquées dans le remodelage continu du tissu osseux au sein d'unités morphogénétiques osseuses (Bone Morphogenetic Unit = BMU). On retrouve des ostéoclastes sur les sites actifs de remodelage osseux. Ce sont des cellules plurinucléées issues du tissu hématopoïétique qui naissent de la fusion de préostéoclastes et qui réalisent des lacunes de résorption. Les ostéoblastes sont responsables de la synthèse d'une matrice ostéoïde qui se minéralise ensuite par dépôt d'ions calcium et phosphate pour former un tissu osseux mature.
Ces capacités de remodelage et de cicatrisation du tissu osseux vont être utilisées dans les différentes stratégies de réparation des pertes osseuses alvéolaires.

L'os alvéolaire est le support des dents, et les extractions dentaires, aussi atraumatiques soient-elles, vont entraîner une résorption au niveau de la crête alvéolaire : « L'os alvéolaire vit et meurt avec les dents ».

Ainsi, une revue systématique de la littérature de Tan et al (1) montre une perte osseuse horizontale moyenne de 3.79mm et une perte osseuse verticale moyenne de 1.24mm à 6 mois après l'extraction. La résorption est plus importante sur le versant vestibulaire que palatin/lingual. La résorption, plus rapide dans les premiers 3 à 6 mois, continue progressivement, tout au long de la vie.

1.2 Les techniques conventionnelles de réparation osseuse en chirurgie orale

1.2.1 Préservation du volume osseux

La première stratégie pour réparer des pertes de substance est d'éviter au maximum la résorption osseuse alvéolaire qui suit l'extraction en réalisant une régénération osseuse guidée (ROG) (2). Pour ce faire, après l'extraction, des matériaux de comblement osseux peuvent être utilisés pour limiter la résorption (3–5), ainsi que des membranes qui peuvent être mises en place afin de limiter la colonisation des cellules gingivales dans le défaut osseux et permettre l'ostéogenèse.

Ces membranes peuvent être non résorbables (6), nécessitant une réouverture chirurgicale afin de les retirer, ou résorbables (7,8).

Cette technique de ROG s'adresse le plus souvent à des pertes de substance de faible étendue, lorsque trois à quatre parois osseuses sont présentes autour du défaut à reconstruire (7,9–11).

1.2.2 Greffes

Lorsque le volume de la crête osseuse est trop faible ou qu'il manque des parois corticales nécessaires à un comblement alvéolaire, on a recours à des techniques de greffes par blocs pour reconstruire un volume osseux suffisant. Il peut s'agir de blocs d'os autogène, allogène ou synthétique (alloplastique).

a) Autogène

C'est un bloc issu du prélèvement d'os sur le même individu. Le prélèvement peut être intra ou extra oral. Il s'agit de la technique de référence, le « gold standard » car le transplant est ostéoconducteur, ostéoinducteur et ostéogène.

Mais il présente des inconvénients : il s'agit d'une technique en 3 temps opératoires, à savoir prélèvement au site donneur, taille/ajustage du greffon, et fixation du greffon sur le site receveur. Le principal inconvénient de cette technique est la morbidité au site donneur et la quantité limitée d'os disponible (surtout pour les prélèvements intra oraux). (12–14)

b) Allogène

C'est un bloc issu d'un prélèvement sur un autre individu de la même espèce. Ce sont des bio banques de tissu osseux traité.

Les avantages sont les suivants : une quantité non limitée d'os disponible, une technique en 2 temps opératoires (ajustage du bloc et fixation), pas de morbidité du site donneur. De plus certains de ces blocs ont un potentiel ostéoinductif (15).

Les inconvénients sont l'introduction de la possibilité d'une réaction immunitaire ou d'une transmission de pathogènes du donneur au receveur. (12–14)

c) Synthétique

Il s'agit d'un bloc de matériau biocompatible (essentiellement des phosphates de calcium ou des bioverres). Il n'y a aucun risque infectieux lié au matériau et c'est une technique en 2 temps opératoires mais le succès de la greffe est plus limité, le matériau ne possédant que des capacités d'ostéoconduction. (16)

	temps opératoire	quantité disponible	Propriétés biologiques	Limite
autogène	**3 temps**	**Limitée**	**Ostéoconduction Ostéoinduction Ostéogénèse**	**Morbidité**
allogène	**2 temps**	**Illimitée**	**Ostéoconduction Ostéoinduction(+/-)**	**Risque infectieux et immunitaire**
synthétique	**2 temps**	**Illimitée**	**Ostéoconduction**	**Efficacité moindre**

Tableau 1 : Propriétés des différentes greffes osseuses

1.3 Ingénierie tissulaire

1.3.1 Définition

L'ingénierie tissulaire (IT) a été définie par Langer et Vacanti comme « l'ensemble des techniques et des méthodes s'inspirant des principes de l'ingénierie et des sciences de la vie, utilisées pour développer des substituts biologiques pouvant restaurer, maintenir ou améliorer les fonctions des tissus » (17).

Elle est basée sur l'utilisation de 3 composants, une matrice faisant fonction d'échafaudage (« scaffold »), des cellules souches et des facteurs de croissance.

Le schéma « classique » de l'IT comprend les étapes suivantes : prélèvement de cellules chez l'hôte qui sont mises en culture pour prolifération et différenciation, ensemencement des cellules sur un scaffold avec des biomolécules, et maturation dans un bioréacteur avant réimplantation du greffon chez l'hôte.

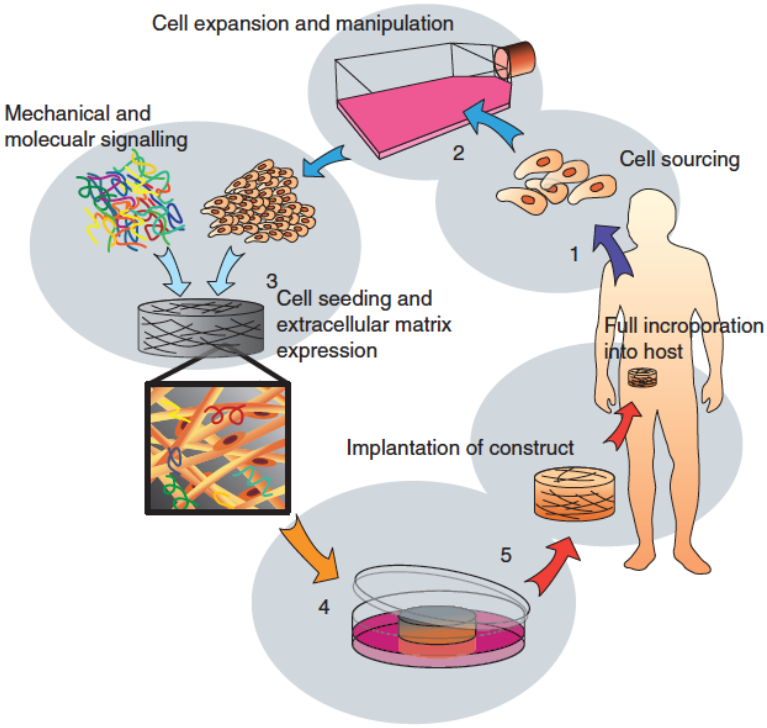


Figure 1 : Schéma général de l'ingénierie tissulaire d'après Blitterswijk (18). Les cellules sont prélevées puis manipulées in vitro (prolifération, différenciation) et sont ensemencées sur un scaffold avec des facteurs de croissance, puis après maturation il y a réimplantation du greffon chez le patient.

En chirurgie orale et maxillo-faciale, l'Ingénierie Tissulaire Osseuse (ITO) a pour but de dépasser les limites des techniques conventionnelles, à savoir la morbidité induite des autogreffes et les échecs d'intégration des greffes de taille importante (19).

1.3.2 Les scaffolds

La matrice utilisée doit répondre à un cahier des charges précis. Le scaffold idéal doit posséder les caractéristiques suivantes (20) :

- *Biocompatible* : c'est sa capacité à s'intégrer aux tissus biologiques et à entraîner une réponse appropriée de l'hôte.

- *Biorésorbable* : il doit être résorbable dans le temps et avoir un taux de résorption adapté à la physiologie du tissu auquel il est intégré et à la cinétique de formation de néo tissu.

- *Propriétés mécaniques* : *in vitro*, il doit avoir des propriétés mécaniques suffisantes pour résister à la pression hydrostatique et assurer le maintien de l'espace nécessaire à la croissance des cellules et à leur production de matrice extra cellulaire.
In vivo, il doit pouvoir résister aux manipulations cliniques et avoir des propriétés mécaniques proches de celles du tissu osseux qui subit continuellement des contraintes mécaniques. Le module de Young est de l'ordre de 15 à 20 GPa pour l'os cortical et de 0,1 à 2 GPa pour l'os trabéculaire. Cette hétérogénéité est difficile à reproduire au sein du scaffold pour avoir des propriétés mécaniques idéales.

- *Porosité* : sa structure interne doit avoir des pores interconnectés d'au moins 100 microns pour permettre la diffusion de nutriments et d'oxygène essentiels à la survie des cellules (21). On retrouve dans la littérature une grande variation des tailles de pore des scaffolds utilisés mais une taille d'environ 300 microns semble idéale pour la formation du tissu osseux (22). La microporosité du scaffold est aussi un point important, une surface plus rugueuse permet d'obtenir une migration et une adhérence des cellules ostéogéniques (23). La porosité joue donc un rôle important sur les capacités d'ostéoconduction du scaffold.

Les scaffolds utilisés en ITO sont des phosphates de calcium, des bioverres, des polymères naturels et synthétiques, et des composites associant des polymères avec des phosphates de calcium (24).

- *Les phosphates de calcium*: Le phosphate de calcium (CaP) est le constituant principal de la partie inorganique du tissu osseux. Les scaffolds utilisés sont de l'hydroxyapatite (HA), du beta-tricalcium phosphate (β-TCP) ou un mélange d'HA et de β-TCP, nommé biphasic calcium phosphate (BCP).

- *Les polymères*: Ils peuvent être d'origine naturelle ou synthétique. Parmi les polymères naturels utilisés en ITO on retrouve le chitosane, le collagène, l'alginate, la fibrine, la soie, l'acide hyaluronique. Pour les polymères synthétiques il existe le polycaprolactone (PCL), l'acide polylactique (PLA), l'acide polyglycolique (PGA) ou encore l'acide poly lactique co glycolique (PLGA).

- *Les composites:* ces polymères sont utilisés pour tirer avantage des caractéristiques mécaniques et physiologiques de chacun des constituants. On retrouve par exemple dans la littérature des études utilisant des scaffolds à base de TCP/PCL pour des greffes d'apposition mandibulaire chez le cochon et le chien (14,25), ou à base de PLGA/TCP pour traiter des défauts de calvaria chez la brebis (26).

1.3.3 Les facteurs de croissance

Les biomolécules utilisées en ITO sont représentées essentiellement par les Bone Morphogenic Proteins (BMP) de la famille du TGF béta. Ces protéines sont ostéoinductrices et permettent notamment la différenciation et la prolifération des progéniteurs ostéoblastiques (27). Des études ont montré l'intérêt des BMP-2 et BMP-7 dans la reconstruction osseuse mandibulaire de défauts de taille importante en chirurgie maxillo-faciale (28) ainsi qu'en chirurgie orale pré implantaire (29,30). La limite principale à l'utilisation des BMP, outre le coût élevé, est le risque éventuel de migration de ces molécules à distance du site d'implantation entraînant des proliférations cellulaires non contrôlées (31).
La vascularisation des greffons étant un point critique dans le succès de ces traitements, les facteurs de croissance endothéliaux comme le VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) sont aussi utilisés pour promouvoir l'angiogenèse et la vascularisation des produits d'ingénierie tissulaire (PIT) (32).

1.3.4 Les cellules

Les cellules autologues différenciées prélevées dans l'os représentent une source de cellules qui n'ont pas beaucoup de capacité de différenciation et de prolifération et qui sont en quantité limitée.

L'utilisation de cellules en ITO se tourne donc plutôt vers les cellules souches mésenchymateuses (MSC), les cellules souches pluripotentes induites (iPS) et les cellules souches embryonnaires (ESC).

Cellules souches mésenchymateuses (MSC)

Les cellules souches adultes sont retrouvées un peu partout dans l'organisme dans des micro-environnements appelés "niches" de cellules souches. On retrouve des MSC essentiellement dans la moelle osseuse et le tissu adipeux. Elles sont présentes en petite quantité (fraction de 0,001% à 0,01% parmi les cellules de la moelle osseuse) il faut donc les trier et les amplifier en culture cellulaire.

Ces cellules sont multipotentes, elles ne peuvent pas former tous les tissus mais on peut obtenir plusieurs lignées de cellules dont les adipocytes, les chondrocytes et les ostéoblastes (33). Les mécanismes de différenciation des MSC en lignée ostéoblastique sont bien connus dans des modèles de culture cellulaire en 2D et sont sous le contrôle des facteurs de transcriptions cfa1/runx2, osterix, Dlx5. Ils sont moins connus dans des modèles de culture en 3D. L'addition de facteurs ostéogéniques (BMP) et l'ensemencement de ces cellules sur des matrices 3D dans des conditions dynamiques de culture (perfusion pour un apport de nutriment et une élimination des déchets), au sein de bioréacteurs mimant les contraintes mécaniques (compression, étirement, cisaillement) du tissu osseux sont utilisés pour différencier les MSC vers une lignée ostéoblastique (34).

Cellules souches pluripotentes induites (iPS) :

Ces cellules qui sont des ESC-like (c'est à dire qui ressemblent à des cellules souches embryonnaires) sont le fruit du travail de chercheurs japonais à l'Université de Kobé, travail qui a valu à M . Shinya Yamanaka le prix Nobel de médecine en 2012. Il s'agit de prélever pratiquement n'importe quelle cellule adulte différenciée et de la reprogrammer génétiquement pour la rendre pluripotente. Les cellules sont reprogrammées par la transduction de 4 gènes (Oct3/4, Sox2, c-Myc, Klf4) via des vecteurs rétroviraux (35). Elles ont les mêmes capacités de prolifération-différenciation que les ESC, sans en posséder les inconvénients. Elles ont tout de même certaines

limites, à commencer par le fait que leur utilisation est encore récente, des interrogations sont donc encore en suspens. Il semblerait que la reprogrammation ne soit pas complète, des modifications du génome acquises au cours de la vie de la cellule persistant après la reprogrammation (modifications épigénétiques).
De même on peut se demander si la reprogrammation ne pourrait pas elle même induire des modifications génétiques qui pourraient altérer le fonctionnement de ces cellules par la suite (36).
Il existe également un problème dans leur processus de production, un phénomène de mort cellulaire programmée qui limite le nombre de cellules iPS produites (37).

Cellules souches embryonnaires (ESC) :

Les ESC sont pluripotentes, elles peuvent donc se différencier vers une lignée ostéoblastique sous l'influence de facteurs ostéogéniques. C'est une source de cellules intéressante au vu de leur capacité infinie de prolifération et de différenciation mais qui présente des limites. En effet leur caractère allogénique pose des problèmes techniques pour éviter les rejets immunologiques. Elles soulèvent également des problèmes éthiques et réglementaires. (33)

La communication cellulaire étant un mécanisme important dans le développement de tout tissu, des modèles de co-culture de cellules de lignée ostéoblastique et endothéliale ont également été utilisés pour mieux comprendre les mécanismes de communication (38). Le fait d'utiliser des cellules ostéoblastiques en co-culture avec des cellules endothéliales pourrait permettre de stimuler à la fois l'ostéogénèse et l'angiogenèse du tissu néoformé.

Malgré l'avancée importante des recherches et des résultats intéressants retrouvés dans la littérature, l'IT dans son schéma classique comme évoqué précédemment avec l'obtention d'un greffon mature issu de cellules autologues reste actuellement difficilement applicable en clinique avec des PIT sous forme commerciale utilisables dans la pratique quotidienne en chirurgie orale. Les principaux freins de l'IT étant le coût et le temps de la mise en œuvre d'un tel traitement.

Mais l'apport de l'IT et de tous ses champs de recherches pluridisciplinaires est indéniable et notamment au niveau du scaffold qu'on peut envisager d'utiliser seul en chirurgie orale comme substitut osseux.

1.4 Fabrication de scaffolds sur mesure

De très nombreuses méthodes sont utilisées pour la fabrication de scaffold en général. Ce dernier doit répondre à un cahier des charges bien spécifique en fonction du tissu que l'on cherche à reconstruire.

En ce qui concerne le tissu osseux, la structure interne (pores interconnectés et microporosité) est primordiale. Pour les applications de recherche fondamentale *in vitro,* la structure externe n'a que peu d'importance en général. Mais pour des applications cliniques, la conception d'une architecture externe bien précise prend tout son sens pour arriver à des substituts uniques sur mesure parfaitement adaptés à la morphologie du défaut tissulaire à reconstruire. L'avantage d'un substitut sur mesure par rapport à un bloc standard est qu'il permet de diminuer le temps opératoire puisqu'il ne nécessite pas d'être taillé manuellement en per-opératoire. Son adaptation et sa stabilité sont améliorées permettant d'obtenir une meilleure interface avec l'os.

Deux méthodes, dérivées de l'industrie des matériaux, sont utilisées pour la fabrication de ces scaffolds sur mesure : l'usinage d'un bloc de biomatériau (Méthode Soustractive) et l'impression en trois dimensions (Fabrication Additive).

Ces deux méthodes font appel à des techniques de CAD/CAM (Computer Aided Design/Computer Aided Manufacturing) ou CAO/FAO en français (Conception et Fabrication Assistée par Ordinateur).

En effet si les deux méthodes diffèrent par leur technique de fabrication, elles nécessitent en premier lieu une étape de conception qui est similaire.

La conception peut reposer sur le dessin d'une forme précise (plan, cotes..) ou plus généralement, comme nous le verrons par la suite, à l'aide d'images tomographiques.

La réalisation de ces matériaux sur mesure suit le schéma suivant :

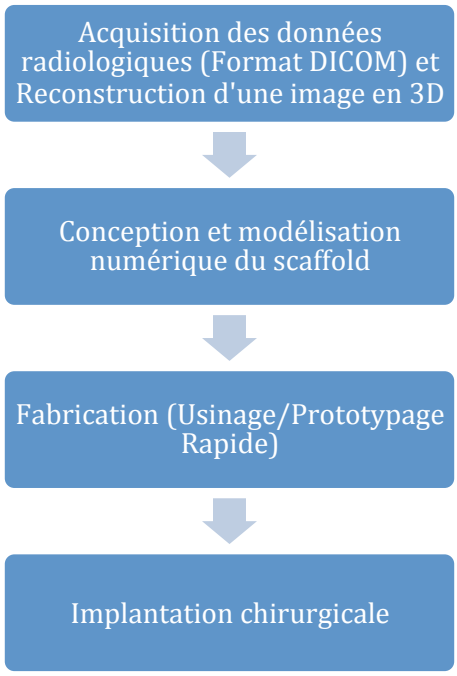


Figure 2 : Processus de fabrication des scaffolds

1.4.1 Conception

La première étape est donc l'acquisition de données radiologiques par tomodensitométrie. Puis les images au format DICOM (Digital Imaging and Communications in Medicine) sont importées dans un logiciel pour analyse et reconstruction 3D des coupes. On retrouve principalement dans la littérature les logiciels Mimics® (39–42), Amira® (43,44), OneScan 3D® (45), et Osirix® (46).
Par des moyens de seuillages de contraste, des reconstructions virtuelles en 3 dimensions des structures anatomiques d'intérêt (ici le tissu osseux) sont obtenues et sont exportées, en général au format STL (Stereolithography, 3Dsystem).

Le modèle anatomique virtuel est ensuite importé dans un logiciel d'infographie tridimensionnelle, dédié à la conception et au design du scaffold adapté au défaut osseux. On retrouve essentiellement dans la littérature les logiciels Rhinoceros®, Onescan 3D®, Geomagic Freeform®.

Une fois le modèle 3D du scaffold achevé, un autre fichier STL est généré afin d'être utilisé durant la phase de fabrication.

1.4.2 Fabrication

1.4.2.1 Fabrication soustractive (Usinage)

La fabrication du scaffold est obtenue par utilisation du fichier STL pour guider la découpe d'un bloc sur une station d'usinage à commande numérique par ordinateur.
Il s'agit donc d'une méthode soustractive.
On retrouve dans la littérature plusieurs études dans lesquelles des blocs usinés sont utilisés chez l'Homme pour traiter des défauts osseux mandibulaires postérieurs verticaux (42), horizontaux (40), des défauts mandibulaires antérieurs (39), et des défauts maxillaires mixtes (45). Concernant les études, l'une porte sur un échantillon de 10 patients (n=10) (45) et les autres sont le rapport d'un cas (n=1) (39,40,42).
Les matériaux utilisés sont des phosphates de calcium biphasiques (70% β-TCP/ 30% HA) (Biocer) (39), de l'Hydroxyapatite (Biocoral) (41,42,45), ou des blocs allogéniques (Botiss Maxgraft®)(40).

1.4.2.2 Fabrication Additive (Impression 3D)

Concernant la technique d'impression 3D, et contrairement à l'usinage, il s'agit d'une méthode de fabrication regroupant un grand nombre de techniques différentes :

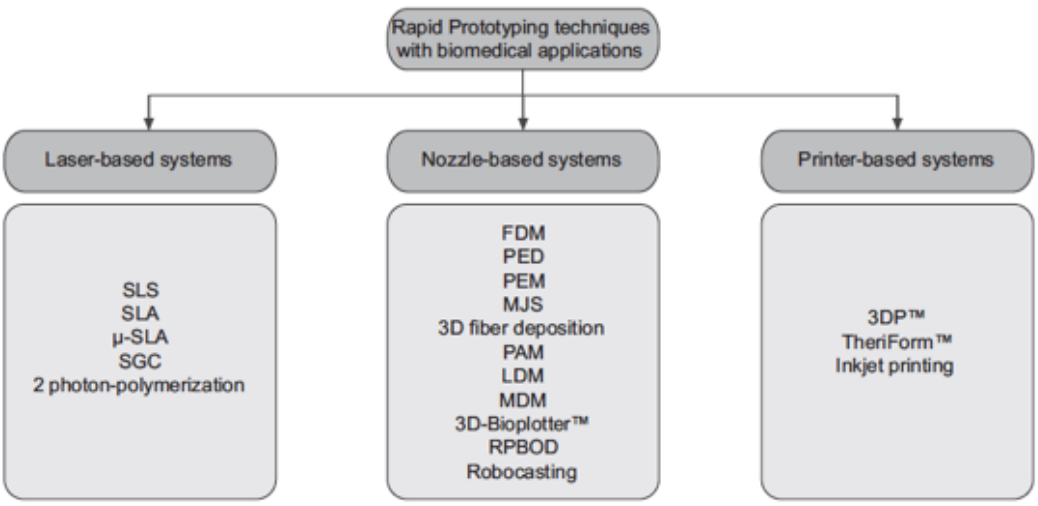


Figure 3 : Les techniques de prototypage rapide d'après (47)

Le principe de base, commun à toutes ces techniques, est qu'il s'agit d'une méthode additive, couche par couche. On raisonne ici par addition de couches de matière pour produire l'objet final. Le fichier STL est donc importé dans un logiciel "slicer" ou trancheur qui va redécouper l'objet à fabriquer en un certain nombre de couches.

Les principales techniques de prototypage rapide utilisées pour obtenir des scaffolds en ITO sont les suivantes : (48–50)

-*SLS (Selective Laser Sintering)* : une poudre est frittée grâce à un laser
-*SLA (Stereolithography)* : un liquide photosensible est polymérisé grâce à une source de lumière UV.
-*FDM (Fuse Deposition Modeling)* : un filament est chauffé puis extrudé grâce à une buse ou aiguille puis il durcit par refroidissement après déposition.
-*3D plotting* : extrusion d'un matériau visqueux grâce à une seringue. Nécessite ou non un post-traitement pour la prise complète du matériau.

On peut également citer les techniques d'*inkjet printing* (impression jet d'encre) et de laser LAB (*Laser-Assisted Bioprinting*) qui ne permettent pas de produire à elles seules des scaffolds en ITO mais qui sont utilisées pour organiser des éléments biologiques au sein de scaffolds.
Les scaffolds produits par prototypage rapide peuvent être de différente nature. A noter qu'un même matériau peut être utilisé via des techniques différentes (énoncées ci dessus).

On retrouve :

- *des phosphates de calcium* : de l'α-TCP/HA (Osteoflux®) utilisé pour traiter des défauts de calvaria chez des brebis adultes (n=12) (51), de l'HA/TCP (30/70) pour réaliser des comblements sinusiens chez la brebis (n=6) (52) (53), de l'HA dans le traitement de larges défauts osseux cranio faciaux chez 8 patients (54).

- *des polymères et copolymères* : du PCL utilisé pour la reconstruction de condyle mandibulaire chez le cochon (43,55) ainsi que pour le comblement d'alvéoles d'extraction dentaire chez l'homme (n=6) (56) ; des copolymères PLA/PGA utilisés pour

la reconstruction de condyles et de défauts mandibulaires chez le cochon (n=6) (57,58); des copolymères PCL/TCP 80/20 (Osteopore®) pour traiter des défauts mandibulaires chez le cochon(n=6) (59) et le chien (n=8) (25).

2. ETUDE EXPERIMENTALE: ELABORATION D'UN SUBSTITUT OSSEUX SUR MESURE PAR PROTOTYPAGE RAPIDE

2.1 Objectif

L'objectif de ce travail était de réaliser un bloc de substitution osseuse adapté à un défaut osseux mandibulaire à partir d'images radiologiques des pièces osseuses et par une technique de prototypage rapide.

2.2 Matériels et méthodes

2.2.1 Préparation des défauts osseux

Pour réaliser ce travail nous avons utilisé 4 hémi-mandibules et 1 mandibule complète issues de cadavres humains (mis à disposition par le laboratoire d'anatomie de l'Université de Bordeaux). Les édentements étaient variables selon les pièces anatomiques. Les pièces osseuses utilisées étaient sèches, c'est à dire sans tissus mous, ceux-ci ayant été disséqués au préalable.

Des défauts osseux ont été réalisés avec une fraise à os et un disque montés sur une pièce à main. Plusieurs défauts (à raison de 1 par pièce osseuse sur 3 hémi-mandibules ; 2 hémi-mandibules ainsi que la mandibule complète n'ayant pas été retouchées car elles présentaient déjà des résorptions osseuses suffisantes) ont été réalisés pour simuler des pertes de substance pouvant être rencontrées en clinique, à savoir des défauts :

- *horizontaux* : amincissement ou perte d'une corticale
- *verticaux* : diminution de la hauteur de crête par rapport à la ligne des collets des dents adjacentes
- *mixtes* : combinant les deux précédents

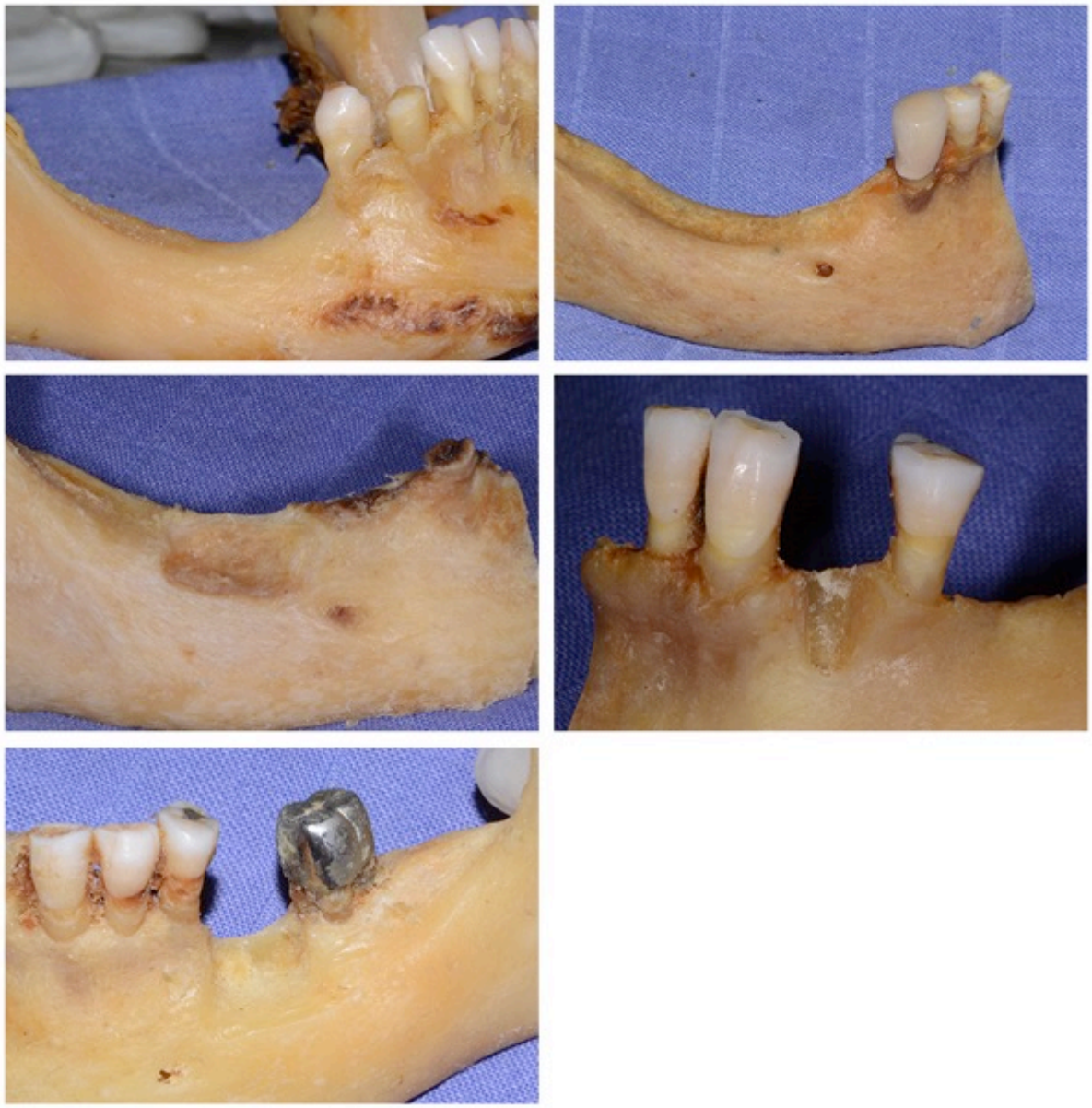


Figure 4 *: Vues des pièces anatomiques (4 hémi-mandibules, 1 mandibule complète) après réalisation des défauts osseux*

2.2.2 Acquisition des données radiologiques

L'imagerie des pièces osseuses a été réalisée par tomographie volumétrique numérisée à faisceaux coniques ou CBCT (Cone Beam Computed Tomography) avec un Newtom VGI (QR, Bologna). L'épaisseur des coupes était de 0.2mm.

L'intérêt de ce type de matériel par rapport au scanner classique est qu'il produit des voxels isotropes ou isométriques, ce qui limite les déformations géométriques lors des reconstructions en 3D. Les images des coupes ont été sauvegardées au format médical standard DICOM.

2.2.3 Reconstruction 3D

Les images DICOM ont été importées dans le logiciel Osirix® (Figure 5). Après analyse des coupes en 2D, un seuillage au niveau du contraste a été réalisé grâce à une fenêtre définie par le niveau de la fenêtre NF et la largeur de la fenêtre LF (Figure 6).

Le NF définit le centre de la fenêtre et le LF représente le pouvoir de discrimination entre deux structures proches. Le NF doit être au plus proche de la structure d'intérêt, et pour ce qui est du tissu osseux le LF doit être assez large.

Une attention particulière doit être apportée au seuillage et surtout au centre de la fenêtre qui modifie les contours du modèle et qui donc permet d'obtenir un modèle plus ou moins proche de la situation anatomique réelle.

Des ROI (Region Of Interest) peuvent être définies afin de ne visualiser que la zone anatomique qui nous intéresse.

La reconstruction 3D a été effectuée grâce à l'outil « Visu 3D en rendu surfacique » (Figure 7). Le paramètre de résolution de rendu a été porté au maximum.

Le modèle 3D surfacique a ensuite été exporté au format OBJ ou STL.

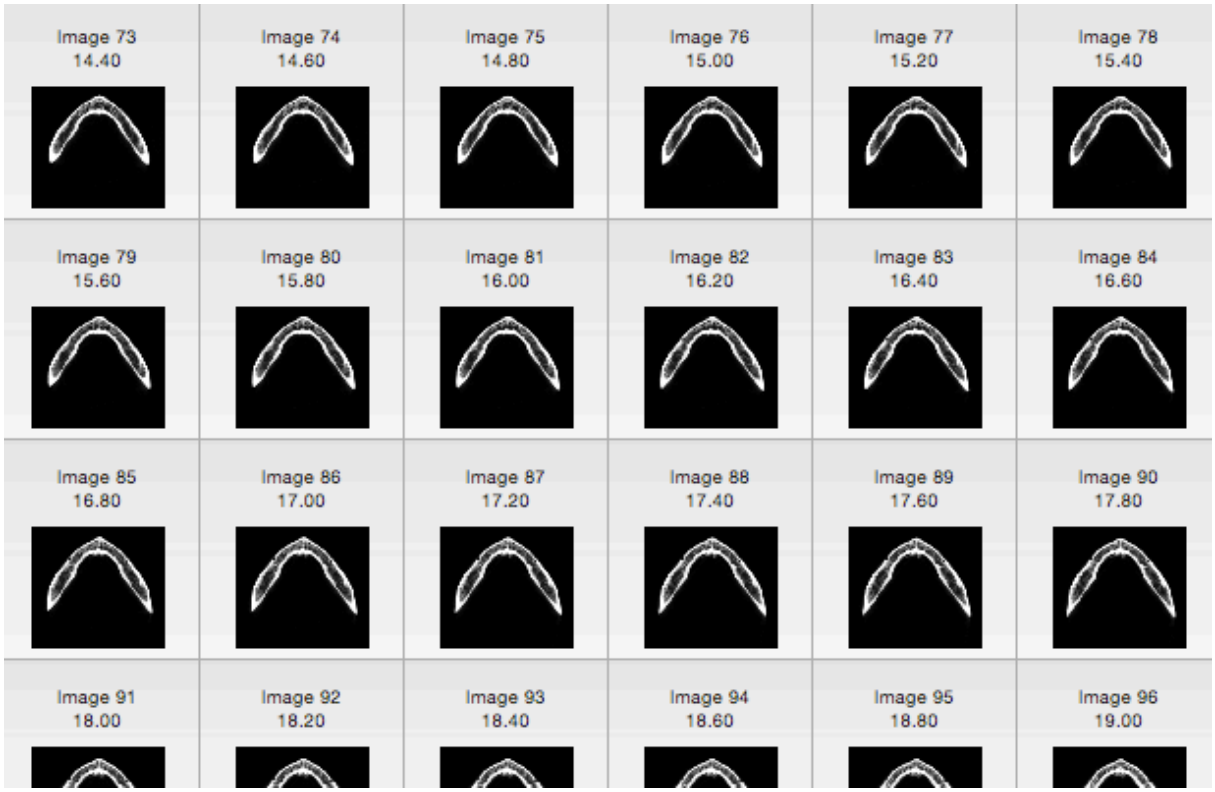


Figure 5 : Coupes axiales de mandibule complète utilisées pour la reconstruction 3D

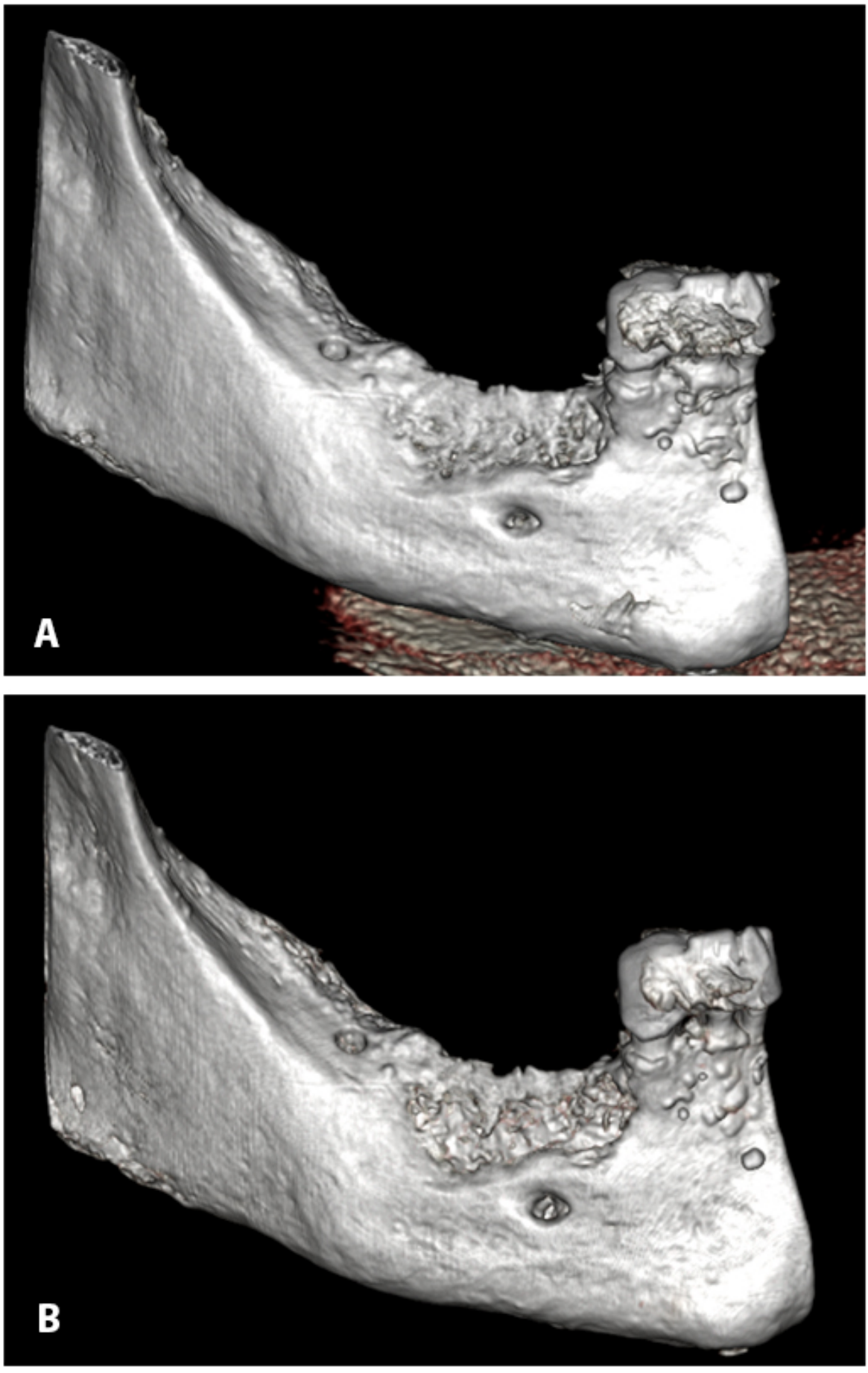


Figure 6 : Influence du seuillage (NF/LF) sous Osirix®. (A) : NF=717, (B) : NF=1021

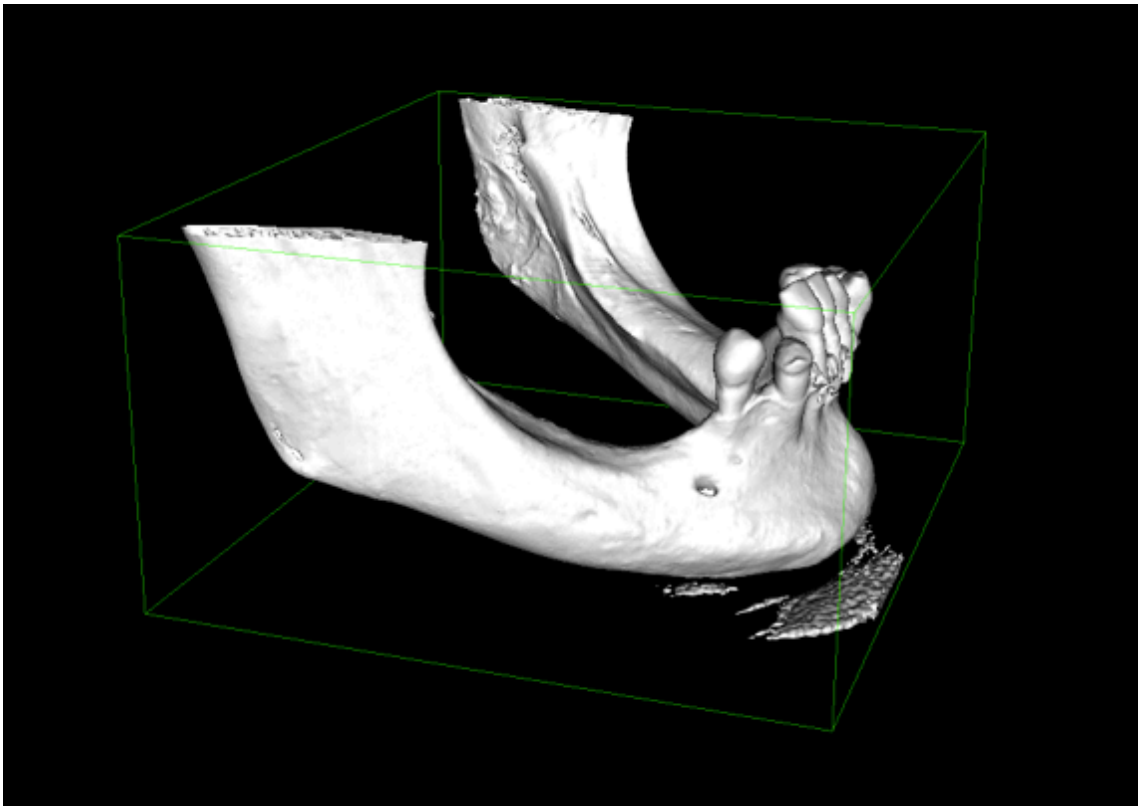


Figure 7: Rendu 3D surfacique avant export sous Osirix®

2.2.4 Conception CAO des blocs de substitution

La conception des blocs a été réalisée grâce au logiciel Meshmixer®. Les rendus surfaciques ont été importés dans le logiciel puis un remaillage du modèle a été effectué. En effet les solides complexes en infographie tridimensionnelle sont modélisés par un réseau de mailles (des polygones avec des sommets, des faces et des arrêtes, le « mesh » en anglais). Les polygones peuvent être de nature et de nombre différents, modélisant l'objet avec plus ou moins de détails. Le maillage est ce qui va permettre de réaliser des calculs et autres opérations sur le solide.

Le niveau de mesh a donc été élevé au maximum pour travailler sur un modèle avec la plus grande finesse de détails (Figure 8). Pour la mandibule complète, on est passé de 136 060 faces (polygones) en basse résolution à 2 884 472 faces après remaillage. Ces pièces osseuses représentent donc des solides très complexes. Une fois le maillage satisfaisant, le modèle a été converti en un solide. Il s'agit d'une étape indispensable à la réalisation des opérations ultérieures.

Le bloc adapté à la crête osseuse a été réalisé par des opérations booléennes : un solide de type parallélépipède (Figure 9a) a été imbriqué dans la crête osseuse présentant la résorption (Figure 9b), les dimensions du parallélépipède ont été ajustées pour correspondre aux crêtes puis le volume d'intersection des deux solides (parallélépipède et mandibule) a été soustrait au volume du parallélépipède : on a obtenu un bloc parfaitement adapté à la surface de la crête avec laquelle il est en contact (Figure 9c). Une opération de remaillage a également été effectuée sur le bloc.

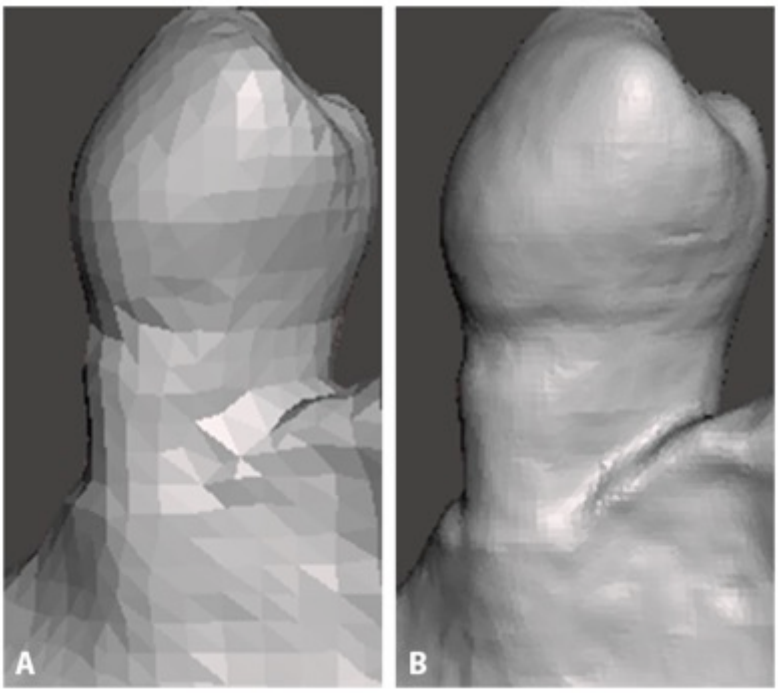


Figure 8 : Opération de remaillage sous Meshmixer®. (A) : maillage original. (B) : résultat obtenu après remaillage

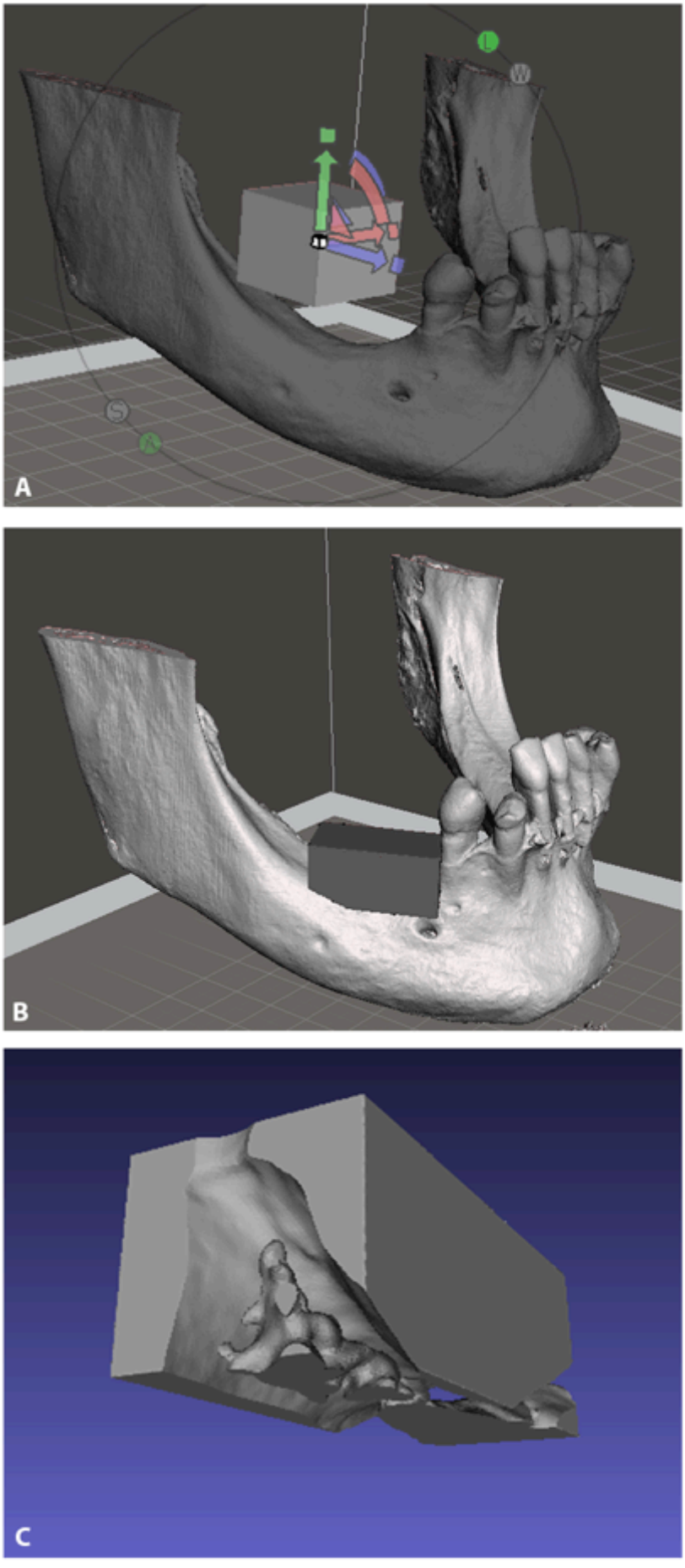


Figure 9 : (A) : Création du solide. (B) : Solide mis en forme et imbriqué dans la mandibule. (C) : Résultat obtenu après soustraction booléenne des solides

2.2.5 Les outils de post-traitement et de réparation

Les reconstructions issues d'images radiologiques nécessitent obligatoirement d'être retraitées. En effet les images de scanner sont le résultat des différentes densités rencontrées par le faisceau de rayons X, on obtient donc un gigantesque nuage de points qui vont faire apparaître lors du maillage des problèmes supplémentaires aux artefacts radiologiques classiques. Il s'agit essentiellement de trous dans le maillage avec des polygones manquants et de nuages de points parasites.

Pour cela plusieurs algorithmes et opérations manuelles ont été utilisés :
- les fichiers exportés par Osirix® ont d'abord été retravaillés manuellement sous le logiciel Meshlab® (suppression de nuages de points parasites) (Figure 10) ;
- puis un algorithme de réparation a été appliqué sous Netfabb® (Figure 11) ;
- et enfin un deuxième algorithme de réparation est venu terminer le processus sous Meshmixer® grâce à l'outil Inspector (Figure 13).

Des étapes semblables ont été réalisées pour traiter le bloc. L'opération booléenne de soustraction crée des volumes non désirés sur la pièce. Cela est dû aux vides ou zones hypodenses de la structure osseuse à l'intérieur de la mandibule. Ces volumes ont été retirés manuellement sous Meshlab® (Figure 12).
Puis comme précédemment un algorithme de réparation a été appliqué au bloc sous Netfabb®. L'outil Inspector Meshmixer® a également été utilisé.

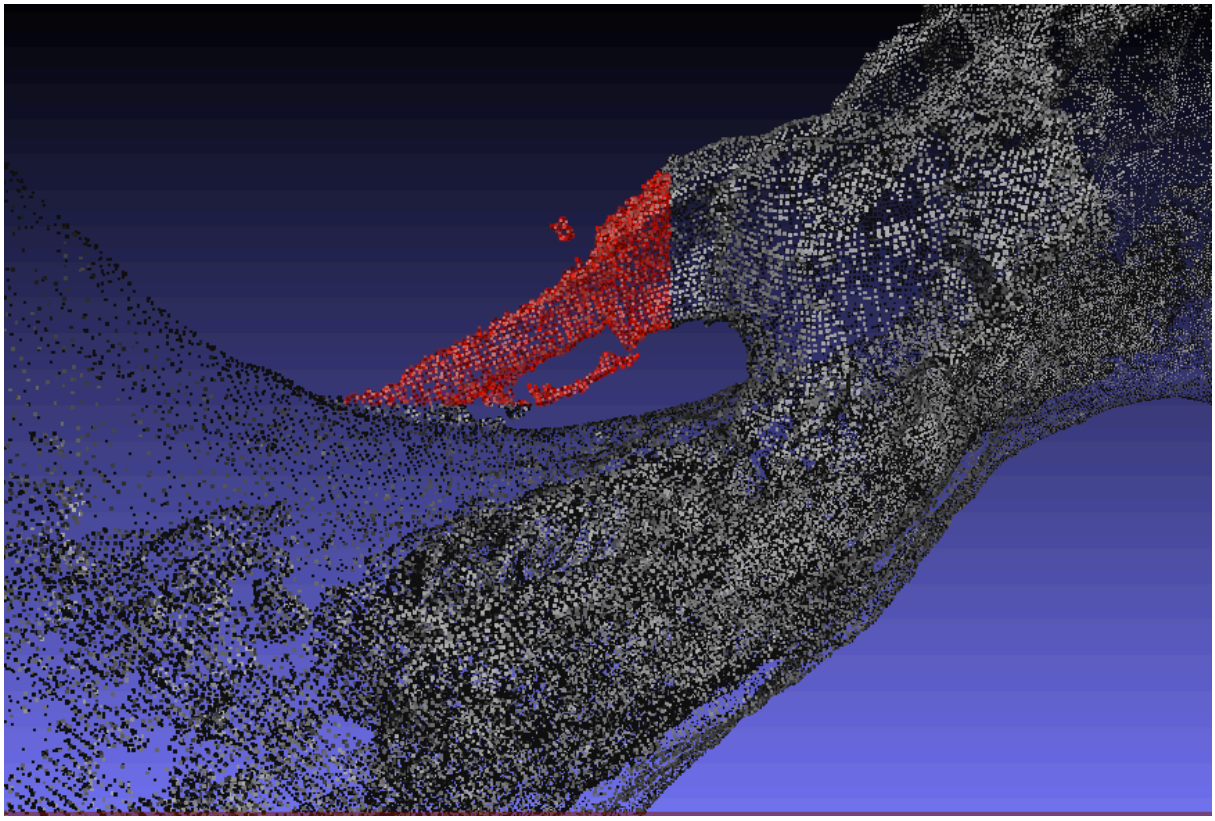


Figure 10: Suppression de nuage de points parasites (dus à des artefacts radiologiques liés à la présence de métal) sous Meshlab®

	X	Y	Z
Minimum:	1.06	8.55	0.00
Maximum:	66.81	79.08	51.40
Size:	65.74	70.53	51.40

Volume:	20.4457 cm³	Area:	193.6206 cm²
Points:	369990	Edges:	1111809
Triangles:	741024	Shells:	343
Holes:	29	Bad edges:	0
Boundary edges:	546	Boundary Length:	153.43 mm
Flipped triangles:	234		
Surface is closed:			No
Surface is orientable:			Yes

	Min:	Max:	Ø:	Dev:
Edges/Point	2.00	21.00	6.01	1.39
Triangles/Edge	1.00	2.00	2.00	0.02
Triangle Quality	0.00	1.00	0.75	0.21
Edge Length	0.00	3.60	0.26	0.14

	X	Y	Z
Minimum:	1.06	8.55	0.00
Maximum:	66.81	79.08	51.40
Size:	65.74	70.53	51.40

Volume:	21.0255 cm³	Area:	196.0996 cm²
Points:	369337	Edges:	1110912
Triangles:	740608	Shells:	231
Holes:	0	Bad edges:	0
Boundary edges:	0	Boundary Length:	0.00 mm
Flipped triangles:	0		
Surface is closed:			Yes
Surface is orientable:			Yes

	Min:	Max:	Ø:	Dev:
Edges/Point	3.00	24.00	6.02	1.38
Triangles/Edge	2.00	2.00	2.00	0.00
Triangle Quality	0.00	1.00	0.75	0.21
Edge Length	0.00	12.38	0.26	0.17

Figure 11: Analyse sous Netfabb® avant (gauche) et après (droite) application de l'algorithme de réparation

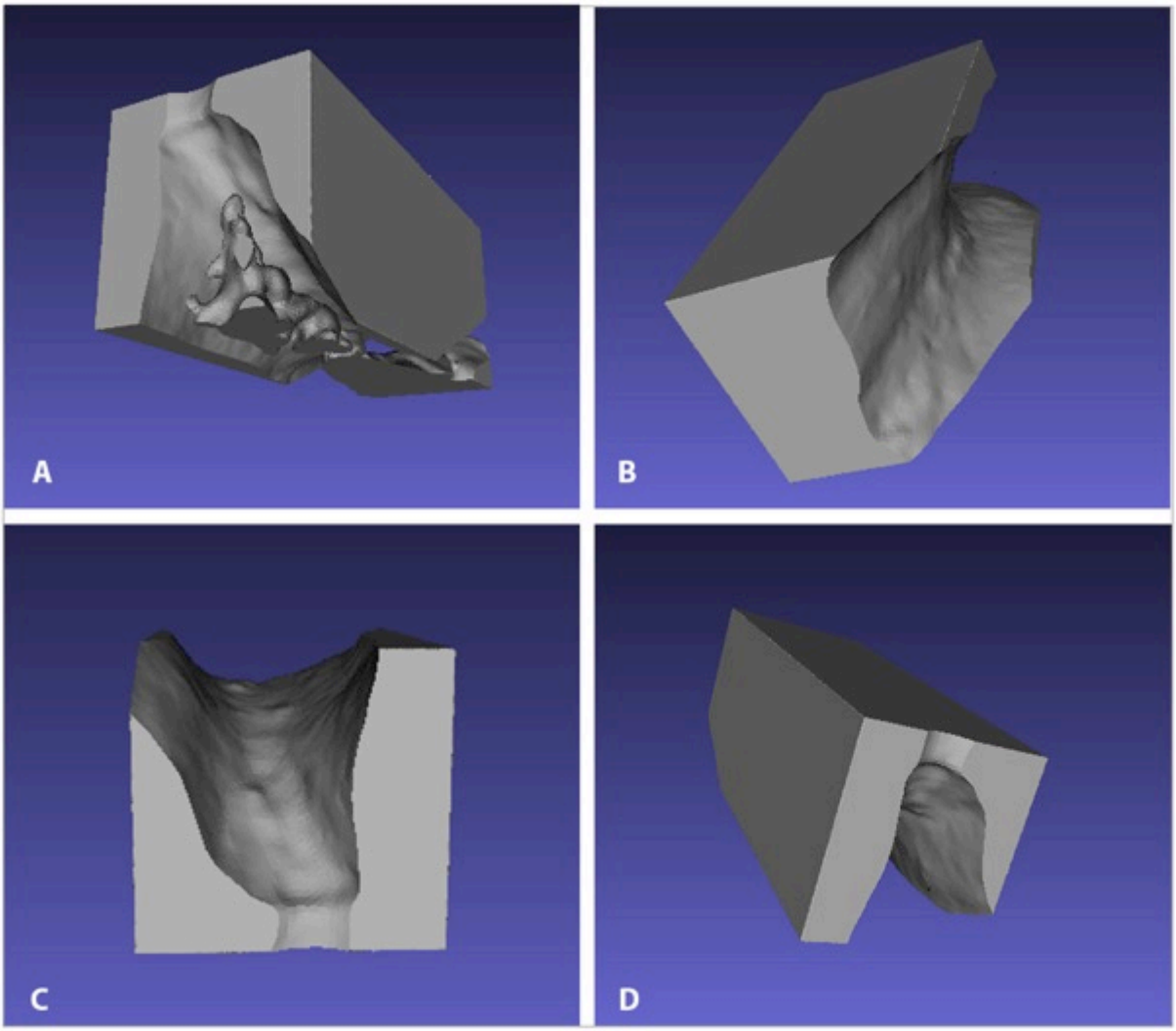


Figure 12 : (A) : Bloc obtenu après soustraction booléenne des solides. (B)(C)(D) : Vues du bloc après nettoyage des volumes parasites sous Meshlab®

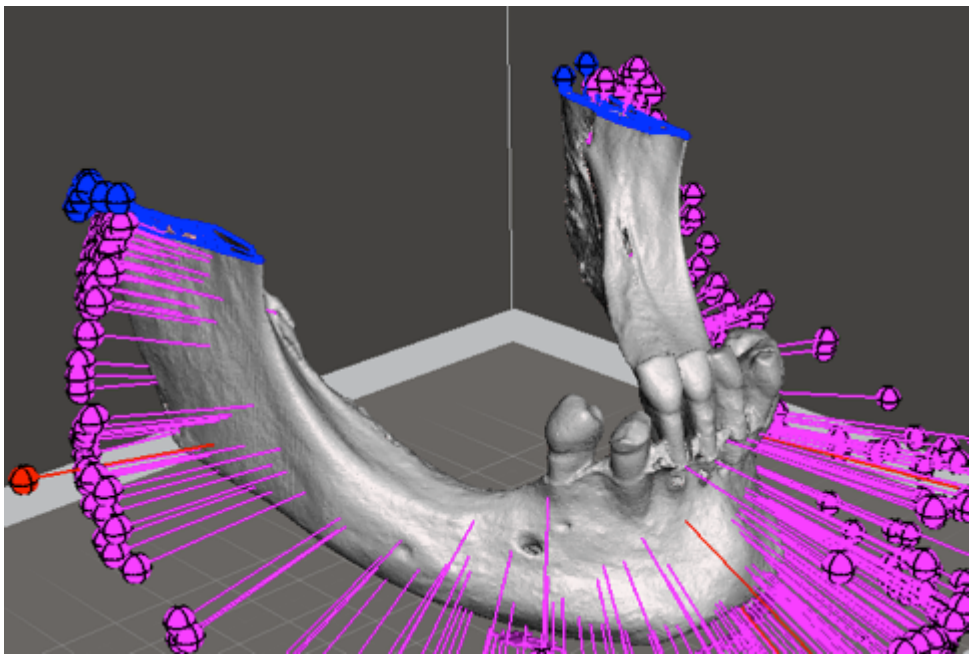


Figure 13 *: Application de l'outil Inspector sous Meshmixer®*

2.2.6 Impression des blocs

La fabrication a été réalisée au fablab Coh@bit et Techshop de l'IUT Bordeaux 1 avec une imprimante conçue par la société D33D (Bordeaux).

L'imprimante utilisée est de type FDM : un filament de PLA est chauffé et extrudé via une buse sur un lit receveur. La buse peut bouger selon deux axes : un axe horizontal Ox et un axe vertical Oz. Le lit bouge selon un axe horizontal Oy.

Après avoir conçu et réparé les blocs virtuellement, les fichiers ont été importés dans le logiciel Repetier Host® qui permet de générer le processus de fabrication couche par couche de l'objet et de contrôler l'imprimante.

Le bloc est placé sur le lit virtuel de l'imprimante (Figure 14), le volume est découpé par le trancheur (slicer) et en fonction de la densité voulue du matériau et du diamètre du fil déposé, un chemin d'impression par couche est tracé.

Différents paramètres ont été réglés afin d'obtenir un profil d'impression :

-Température de chauffe du filament (210°C) ;

-Température du lit receveur (60°C) ;

-Vitesse de déplacement de la buse d'extrusion ;

-Diamètre du fil déposé désiré ;

-Débit de matière déposée.

La buse utilisée a un diamètre de 0,4 mm. On lui a indiqué un diamètre de fil déposé désiré de 0,1 mm, l'imprimante va donc « tricher » en réduisant le débit de matière ou en accélérant la vitesse de déplacement de la buse afin d'étirer le fil déposé. On a donc obtenu une précision de détail qui se situe entre 0,1 et 0,4mm.

Le temps d'impression des blocs était de l'ordre de 1 heure. Ce temps peut varier énormément en fonction du type de pièce, et de la précision et de la densité interne voulue.

Les blocs, une fois imprimés, ont été mesurés à l'aide d'un pied à coulisse pour vérifier l'absence d'erreur au niveau des dimensions entre la phase de conception et de fabrication (Figure 17).

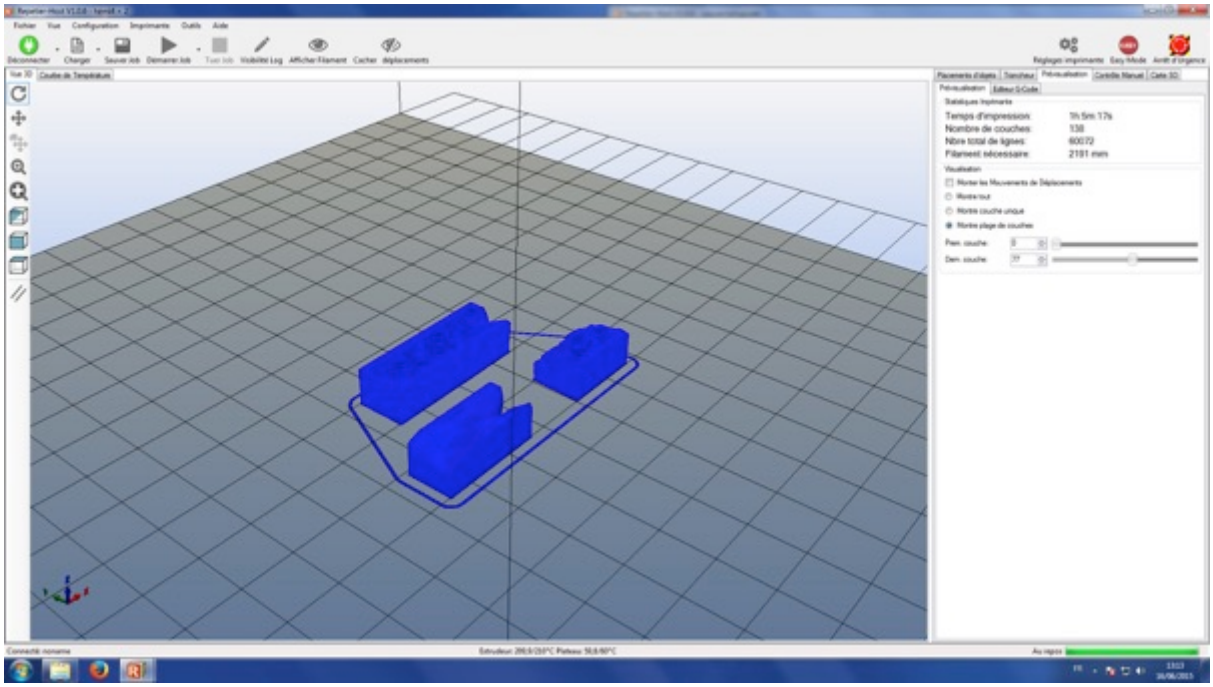


Figure 14: Placement des blocs sur le lit virtuel et découpage par le trancheur

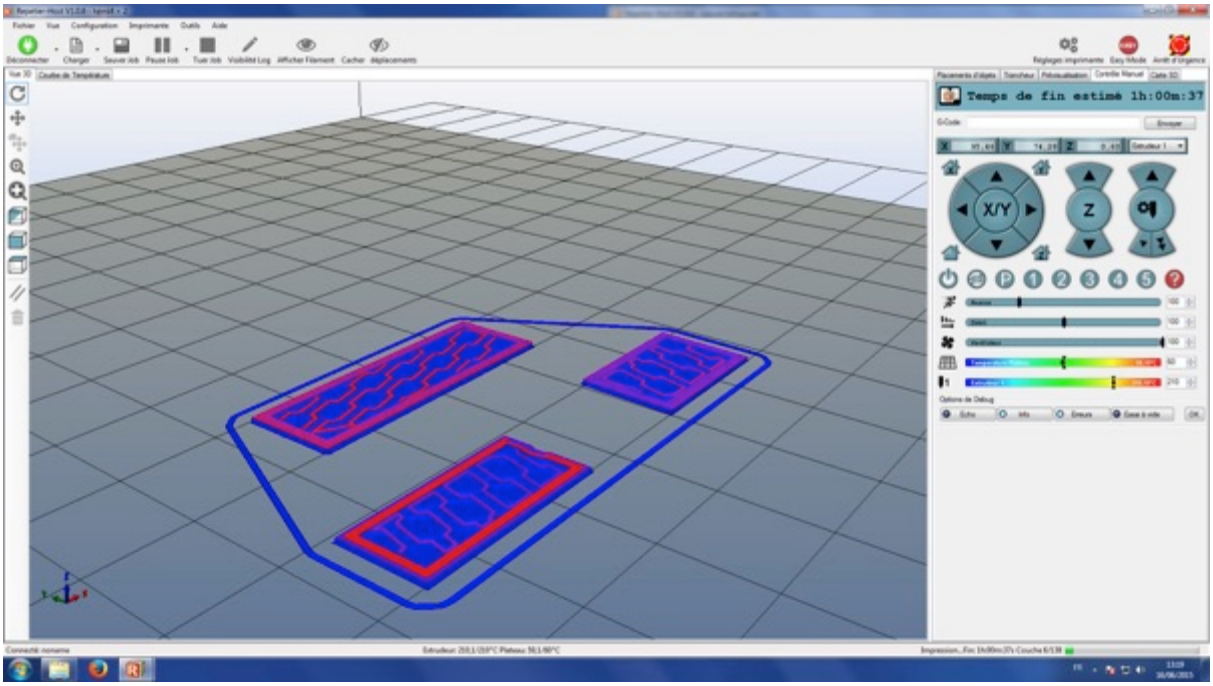


Figure 15 : Suivi de l'impression en direct, couche par couche

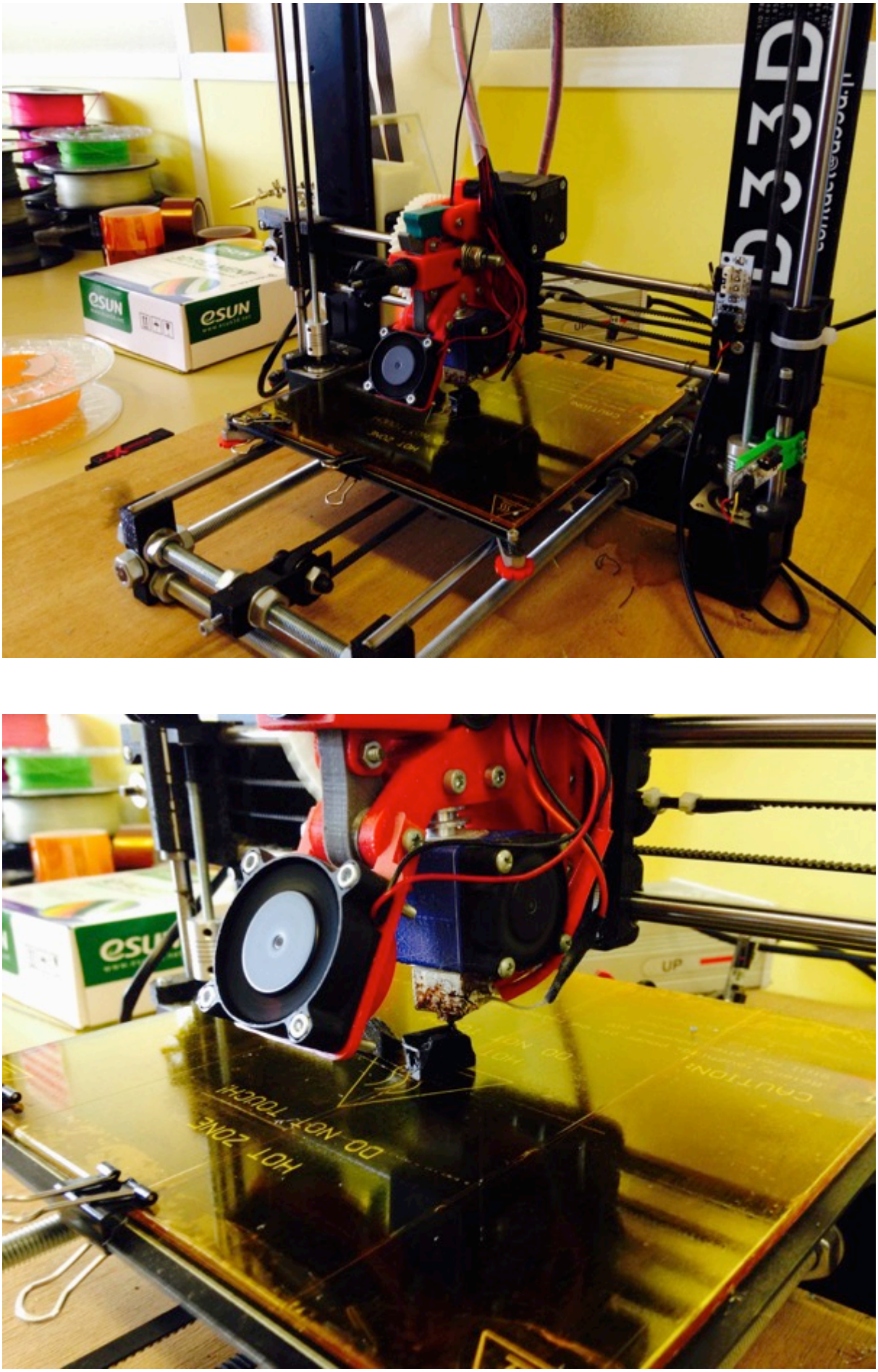


Figure 16: Impression 3D des blocs

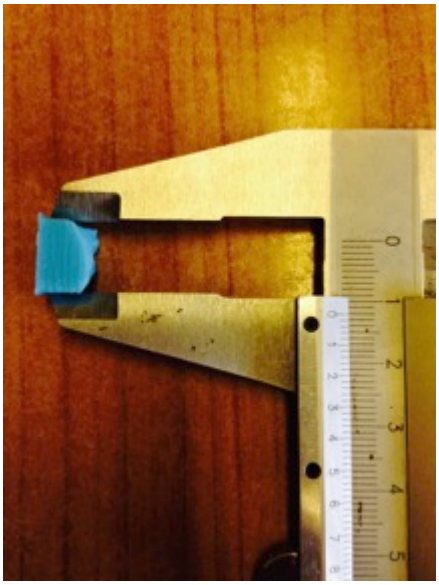


Figure 17 : Mesures au pied à coulisse du bloc après impression

2.2.7 Mise en place des blocs de substitution

Les blocs imprimés ont été positionnés sur les crêtes osseuses. Une fois le positionnement correct trouvé, des vis d'ostéosynthèse ont été placées à travers le bloc et vissées dans l'os sous jacent afin d'assurer la fixation du bloc de substitution.
Sur la mandibule complète, le bloc de substitution a été fixé côté droit et la technique « gold standard » de greffe autogène d'apposition a été réalisée côté droit : un prélèvement d'os autogène a été effectué sur l'angle mandibulaire droit grâce à un disque et une fraise à os sur pièce à main. Il a ensuite été retaillé pour l'adapter à la crête osseuse droite puis fixé à l'aide de vis d'ostéosynthèse.

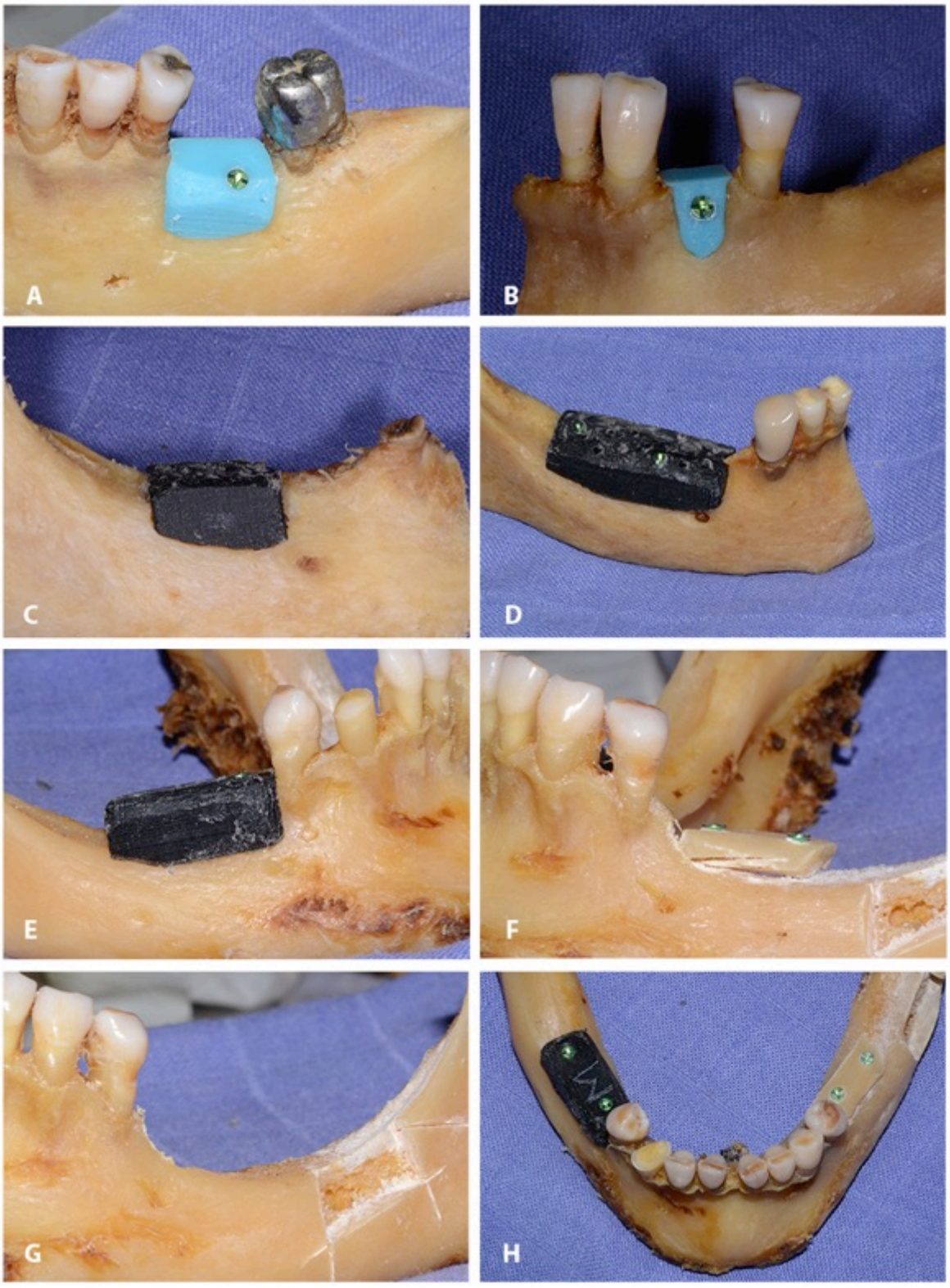


Figure 18 *: Mise en place chirurgicale. (A) (B) (C) (D) (E) : Ostéosynthèse des blocs de PLA. (F) : Ostéosynthèse du bloc d'os autogène. (G) : Prélèvement ramique d'os autogène. (H) : Ostéosynthèse des blocs de PLA et d'os autogène sur la mandibule complète*

2.2.8 Imagerie des pièces osseuses après ostéosynthèse

Des CBCT post-opératoires ont été réalisés dans les mêmes conditions que ceux réalisés en pré-opératoire.

Les coupes ont été analysées sous Osirix® afin de voir l'ajustage global des blocs sur les crêtes osseuses (Figure 19 et 20). Plusieurs mesures de longueur ont été effectuées sur les différentes coupes (axiales, sagittales, frontales) afin d'estimer l'ajustage global entre le bloc et la crête osseuse (Figure 21).

Pour le bloc autogène des mesures ont été réalisées sur des coupes coronales tous les 2mm (7 coupes) avec 3 points de mesure par coupe (un point lingual, un central et un vestibulaire) (Figure 22).

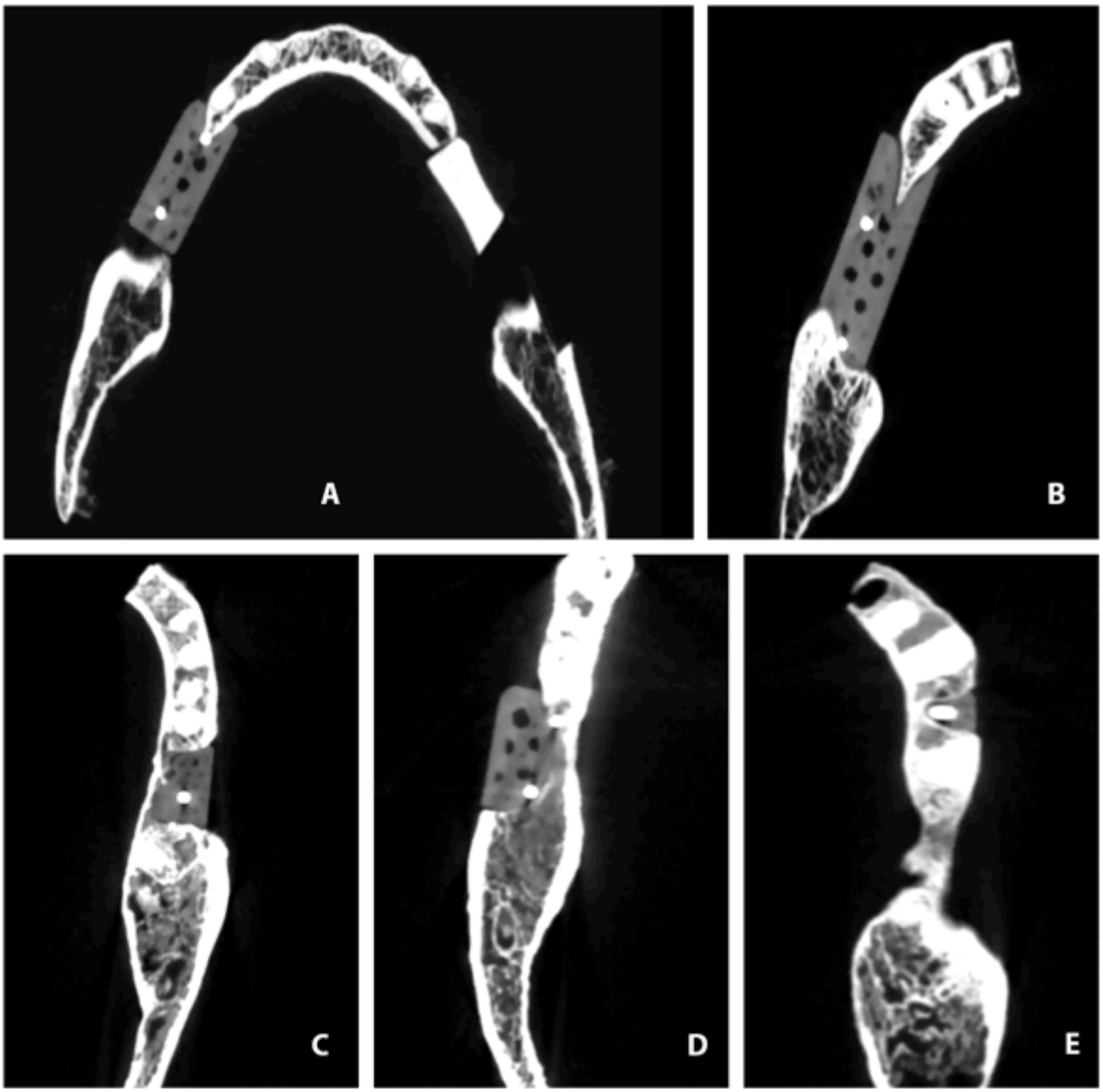


Figure 19 : CBCT post-opératoires en coupes axiales. (A) : Vue du bloc de PLA (à gauche) et du bloc autogène (à droite) sur la mandibule complète. (B) (C) (D) (E) : Vues des blocs de PLA sur les hémi-mandibules

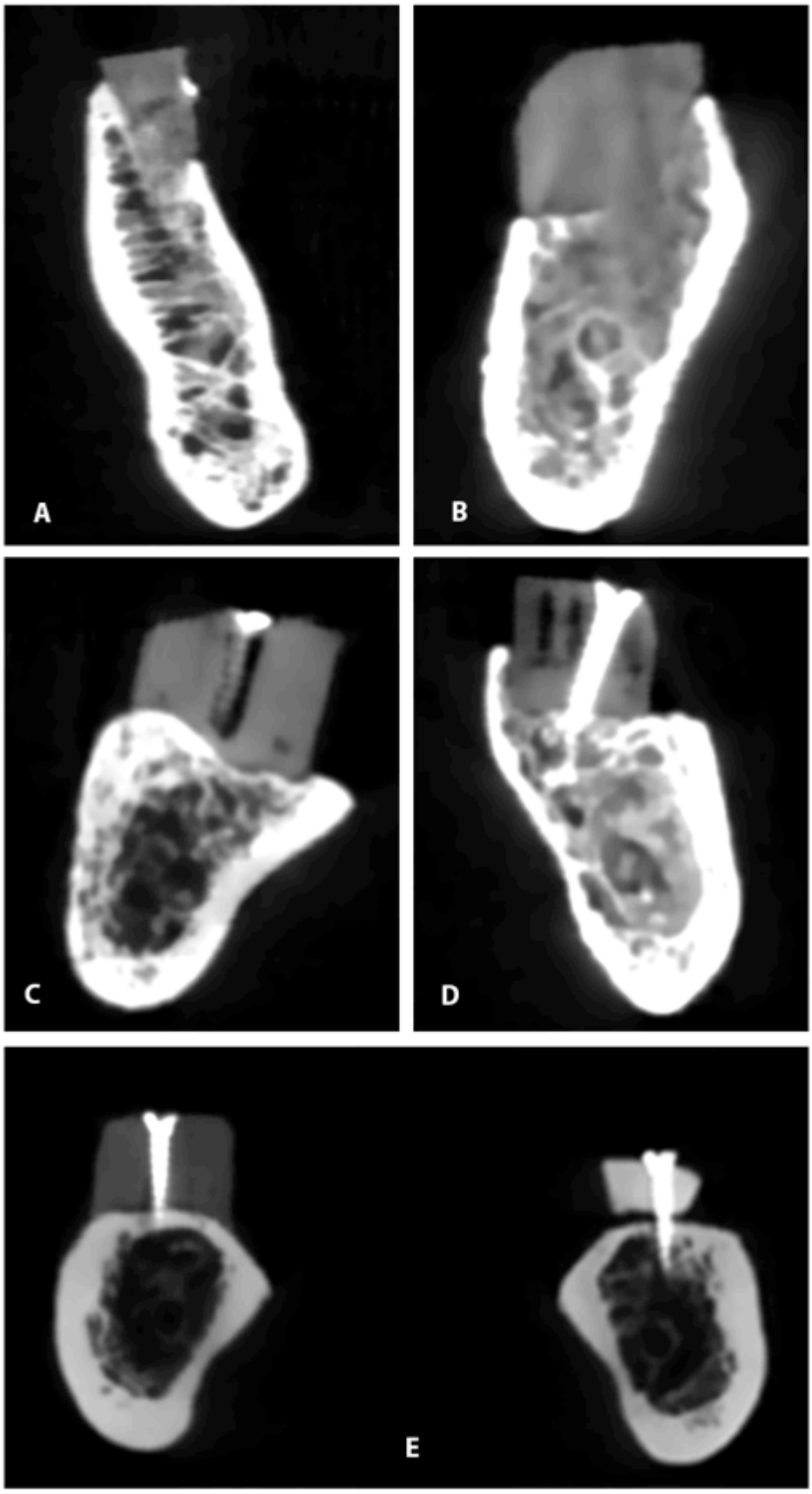


Figure 20: CBCT post-opératoires en coupes coronales. (A) (B) (C) (D) : Vues des blocs de PLA sur les hémi-mandibules. (E) : Vue du bloc de PLA (à gauche) et du bloc autogène (à droite) sur la mandibule complète

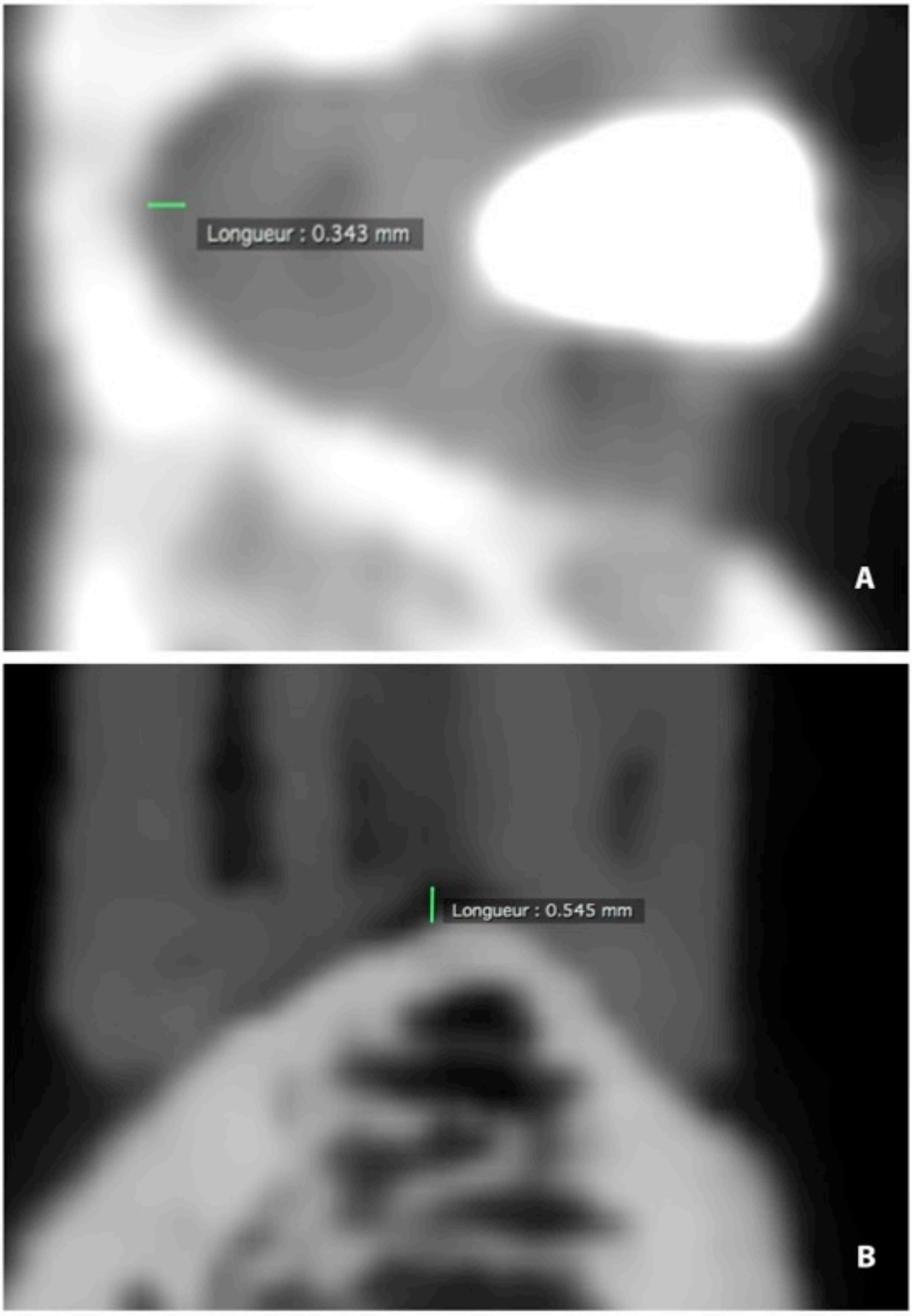


Figure 21 : Mesures de l'ajustage sur les CBCT post opératoires. (A) : Vue d'une hémi-mandibule en coupe axiale (scaffold). (B) : Vue d'une hémi-mandibule en coupe coronale (scaffold)

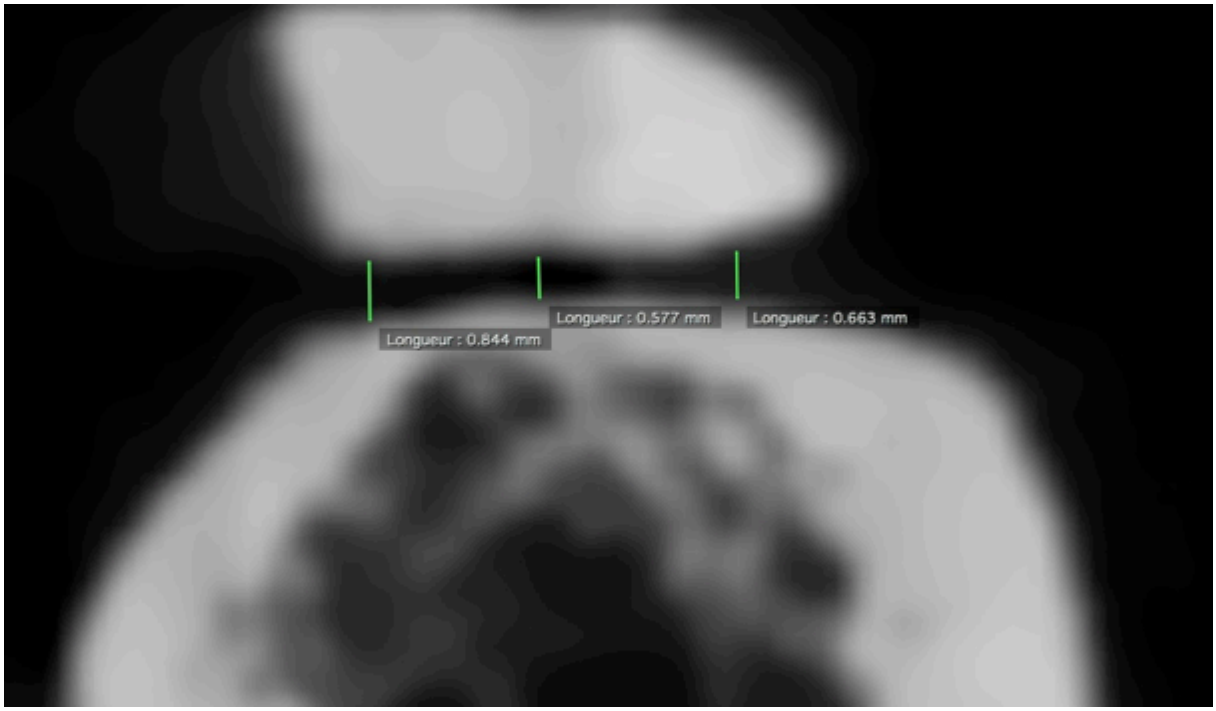


Figure 22 : Mesure de l'ajustage sur les CBCT post opératoires : Vue de la mandibule complète en coupe coronale (prélèvement autogène)

2.3 Résultats

2.3.1 Analyse macroscopique

Nous n'avons pas noté de problème majeur de déformation géométrique durant le processus de conception et de fabrication grâce aux longueurs mesurées au pied à coulisse sur les blocs après impression.

Les blocs ont été facilement replacés dans leur position sur les crêtes avec une bonne stabilité primaire. Un bloc a nécessité d'être retaillé (polissage de la face en contact avec la crête osseuse) afin d'améliorer son adaptation et sa stabilité. Il est fort probable que le manque d'ajustage de ce bloc soit dû à l'induction d'erreurs dans la microstructure de surface de l'os lors du traitement de l'image (seuillage, réparation des modèles, opération de remaillage) ayant entraîné des micro-volumes en excès à la surface du bloc lors des opérations booléennes.

L'insertion des blocs fabriqués sur mesure était très rapide et simple, en comparaison avec le prélèvement ramique.

2.3.2 Analyse radiologique

Au niveau radiologique, les CBCT de contrôle montraient un ajustage précis des blocs de substitution lors du balayage des différentes coupes. Cet ajustage était plus précis que la résolution obtenue avec les CBCT et n'a donc pas permis de réaliser une mesure moyenne de l'ajustage des blocs. Des mesures de longueur ont donc été effectuées au niveau des zones les moins adaptées, ou l'espace était plus important entre les blocs et la surface de l'os. Ces mesures montraient un espacement des blocs aux crêtes osseuses compris entre 200 et 600 microns. Ces zones représentaient une part minime de toute la surface de contact entre l'os et le bloc. Tout le reste de la surface présentait un ajustage plus précis que la résolution du CBCT. Ceci nous a permis d'évaluer l'ajustage global des blocs imprimés à moins de **200 microns**.

En ce qui concerne le bloc autogène, celui ci était beaucoup moins bien adapté, ce qui nous a permis de réaliser des mesures (21 points de mesure) (Tableau 2) et d'objectiver une moyenne de l'ajustage de **590 microns**.

	Coupes	1	2	3	4	5	6	7
Point								
lingual		0,5	0,67	0,84	0,86	0,81	0,7	0,84
centre		0,28	0,32	0,58	0,58	0,68	0,54	0,38
vestibulaire		0,34	0,14	0,66	1,1	0,28	0,28	0,99

Tableau 2 : Mesures d'ajustage (en mm) effectuées sur le bloc autogène

2.3.3 Matériel utilisé et notion de coût

Les logiciels utilisés pour l'analyse des clichés radiologiques, les reconstructions 3D des pièces osseuses et la conception des blocs de substitution, sont tous des logiciels gratuits. L'imprimante utilisée a un coût de quelques milliers d'euros et les fournitures nécessaires à la réalisation d'un bloc s'élèvent à moins de 10 euros.

Les instruments chirurgicaux utilisés sont des instruments classiques d'une trousse chirurgicale maxillo-faciale d'ostéosynthèse.

3. DISCUSSION

L'objectif de ce travail était de réaliser un substitut osseux sur mesure par une technique d'impression 3D à partir d'images radiologiques. En effet le succès général des technologies d'impression 3D intéresse également le domaine médical. La fabrication de scaffolds par prototypage rapide est retrouvée dans de nombreuses études, et notamment en chirurgie maxillo-faciale (56), mais la modélisation sur mesure de scaffolds adaptés à des défauts complexes cranio-faciaux, à partir d'images radiologiques est très peu retrouvé dans la littérature (54), d'où l'intérêt de ce travail.

La méthode de fabrication par impression 3D a pour intérêt principal de pouvoir contrôler à la fois la structure interne mais aussi l'architecture externe du scaffold, et ce, en une seule étape de fabrication. On peut également réaliser plus facilement qu'avec d'autres méthodes de fabrication une structure interne complexe hétérogène pour s'adapter aux contraintes biologiques et mécaniques avec une approche biomimétique (47).
Il existe cependant un certain nombre de limites qui sont apparues dans cette approche expérimentale.

3.1 Reconstruction 3D anatomique

La reconstruction 3D du modèle anatomique à partir des images radiologiques utilisée ici est basée sur la discrimination en densité entre les structures tissulaires au moyen de seuillage de densités (ici il s'agissait de mandibules sèches mais sur un patient vivant il faut prendre en compte toutes les structures des tissus mous avoisinants). Il s'agit donc d'une interprétation de l'opérateur et des erreurs peuvent apparaître lors de ce processus. En modifiant la fenêtre de densité on élimine les tissus mous qui ne nous intéressent pas mais on peut également supprimer accidentellement des zones osseuses moins minéralisées : cette étape est donc à réaliser de façon très minutieuse pour obtenir un modèle au plus proche de la situation anatomique réelle.
Plusieurs approches différentes (interface Med CAD, rétro ingénierie, conversion de voxel 3D en fichiers STL) sont possibles pour obtenir des modèles anatomiques virtuels en 3D à partir de l'imagerie médicale (60).

3.2 Architecture externe

L'objectif principal de ce travail était d'obtenir un bloc qui s'adapte parfaitement au défaut osseux. Nous avons donc concentré nos efforts sur la réalisation de la face du bloc en contact avec la crête osseuse, pour assurer un positionnement facile avec une bonne stabilité primaire ainsi que le meilleur ajustage possible. Il s'agissait là du point clé et de la difficulté majeure de ce travail. Ces caractéristiques ont été validées lors de la mise en place des blocs : sur les 5 blocs imprimés en 3D, excepté un qui a nécessité de légères retouches, les 4 autres blocs se positionnaient aisément sur la crête dans la position voulue et ils possédaient une bonne stabilité primaire avant ostéosynthèse.

Bien que nous n'ayons pu réaliser des mesures précises pour obtenir une valeur moyenne de l'ajustage des blocs, nous avons obtenu un ajustage satisfaisant évalué sur la majeure partie de la surface à moins de 200 microns.

Il serait intéressant de réaliser des travaux complémentaires pour évaluer précisément l'ajustage en utilisant des micro-scanners (micro-CT) qui bénéficient d'une résolution plus importante et de réaliser des statistiques comparatives des mesures obtenues.

Les contours extérieurs du bloc sont assez grossiers, cela est dû au fait que nous avons utilisé exclusivement des solutions logicielles gratuites qui ne sont pas les outils les plus adaptés pour le design extérieur de la pièce. Cela tient également au fait que tout ce travail a été réalisé par nos soins: un design extérieur plus adapté pourrait être réalisé assez facilement avec le savoir-faire d'infographistes 3D.

Certaines solutions logicielles semblent être également plus intuitives et plus adaptées pour ce type de travail mais restent très onéreuses. On peut citer Geomagic Freeform® ou encore Mimics Materialise® qui possèdent des outils très intéressants et qui sont retrouvés dans la littérature pour des applications biomédicales de reconstructions 3D anatomiques et de design d'implants (60–63).

3.3 Structure interne

Dans ce travail l'architecture interne du scaffold a été délaissée car il n'y avait aucune interaction prévue avec des cellules, donc la structure interne n'avait ici aucun intérêt. Mais une architecture interne optimale pour l'ostéogenèse, avec des pores, est tout à fait envisageable avec ce type de technologie et ne présente pas de difficultés majeures de réalisation. Seul le temps de production de la pièce peut augmenter selon la complexité de la structure désirée.

3.4 Mise en place chirurgicale et aspects cliniques

Comme nous l'avons vu, la mise en place des blocs fabriqués par prototypage rapide est aisée et bénéficie d'un ajustage précis. Elle ne nécessite pas de compétences avancées en chirurgie outre la réalisation d'un lambeau d'épaisseur totale afin d'exposer le défaut osseux et la maîtrise des méthodes de fermeture.

Concernant la technique « gold standard » de prélèvement d'os autogène, elle nécessite beaucoup plus de dextérité de la part du chirurgien pour le prélèvement et pour la taille du bloc, elle est donc opérateur-dépendant. Elle est aussi dépendante de chaque cas (particularités anatomiques au site donneur, type de défaut osseux, pathologies du patient).

Les mesures effectuées dans notre travail vont dans le sens d'un ajustage beaucoup plus précis avec un bloc obtenu par prototypage rapide qu'avec un prélèvement d'os autogène.

La technique de prélèvement d'os autogène possède également plusieurs inconvénients : la morbidité du site donneur (infection, saignement, douleur, œdème, lésions des structures vasculo-nerveuses), la résorption et le risque d'infection du greffon (64–67). En effet plus le temps de mise en forme du greffon est long, plus le risque d'infection de ce greffon est élevé.

Les recherches actuelles s'orientent donc vers des solutions alternatives afin de simplifier cette procédure assez lourde (surtout lorsqu'elle vise à placer des implants dentaires) afin de diminuer le temps opératoire, les complications, et l'inconfort pour le patient. L'utilisation de blocs fabriqués par prototypage rapide fait partie de ces solutions alternatives et permettrait de s'affranchir des problèmes inhérents à la technique de greffe autogène.

3.5 Perspectives: Ingénierie tissulaire, de la recherche fondamentale aux applications cliniques

Quel peut être le devenir de ces blocs réalisés par prototypage rapide ?

Dans notre travail nous avons utilisé du PLA pour la réalisation des blocs. Les polymères de PLA sont utilisés, seuls ou combinés avec d'autres polymères ou avec des phosphates de calcium, pour la production de scaffolds en ITO (24,68,69).

Ces blocs peuvent donc servir de scaffold, support pour la recherche en ITO sous plusieurs thématiques de recherche *in vitro* ou *in vivo*:
- ensemencement cellulaire (modèles de cultures en 3D) manuel ou organisé par laser LAB (Laser-Assisted Bioprinting) (70) ;
- en co-culture de lignées ostéogéniques et endothéliales ;
- en réalisant un bloc scindé en plusieurs couches (à l'étape de conception) afin de faire un ensemencement cellulaire en 2D puis en réassemblant ces couches (technique « sandwich ») pour le comparer à un ensemencement cellulaire direct en 3D du bloc complet ;
- essai clinique *in vivo* sur le petit animal dans des défauts osseux, avec ou non l'ajout de différents facteurs de croissance et biomolécules ; comparaison avec un bloc autogène, allogène ou synthétique taillé à la main.

Ces propositions ne constituent pas une liste exhaustive mais sont des exemples de possibles utilisations de ces blocs.

Il est aussi aisément envisageable de remplacer le PLA par d'autres types de biomatériaux. En effet comme nous l'avons vu l'approche est semblable dans toute la partie de conception et de traitement de l'image, seule la méthode de fabrication peut différer et présenter ses contraintes propres. Il existe un très grand nombre de matériaux utilisables par prototypage rapide (liste non exhaustive) (47,48) :
- phosphates de calcium (HA, TCP, BCP) ;
- bioverres ;
- polymères (PCL, PGA, PLA, PEG, alginate, collagène) ;
- matériaux mixtes combinant ces derniers.

Il est possible également avec certaines machines d'utiliser deux matériaux différents (non mélangés) pour obtenir une structure hybride complexe avec une répartition spatiale des matériaux organisée et choisie, dans une approche biomimétique.

Si l'on se replace dans un contexte plus clinique, ces blocs peuvent être utilisés comme des greffes personnalisées, et ce de différentes manières, comme résumé dans le schéma suivant :

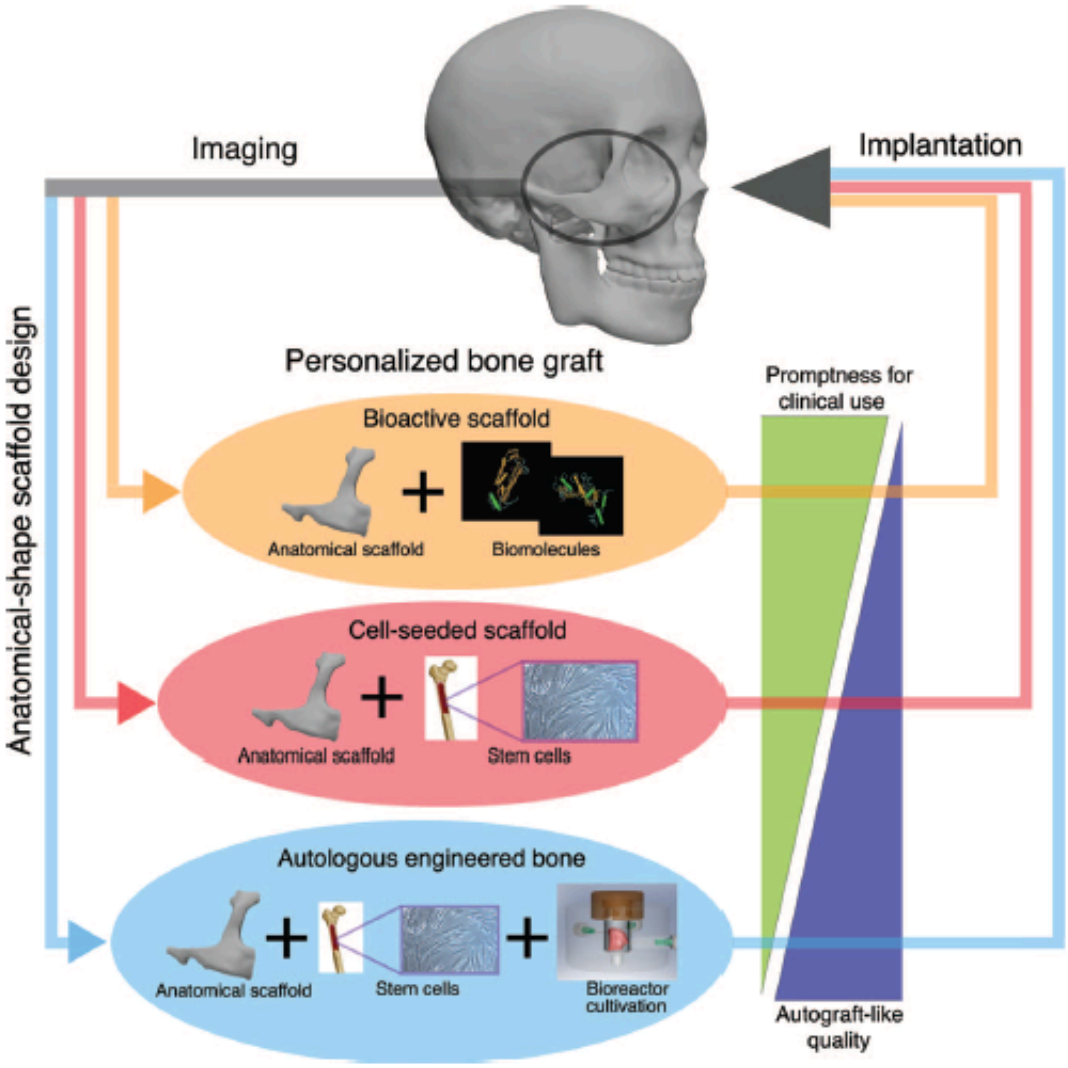


Figure 23 : Schéma illustrant l'utilisation de greffes personnalisées réalisées grâce à des scaffolds d'après (71)

On peut envisager d'implanter le scaffold seul ou combiné à des biomolécules, lui conférant des capacités d'ostéoinduction en plus de ses caractéristiques propres d'ostéoconduction.

Il peut être également pré-ensemencé de cellules souches avant l'implantation afin d'avoir un potentiel ostéogénique intrinsèque.

Et dernier cas, illustrant l'ingénierie tissulaire dans sa forme la plus complexe, il peut être ensemencé avec des cellules souches et mis en culture dans un bioréacteur (mimant des conditions *in vivo*) afin d'obtenir de l'os quasiment physiologique qui serait implanté comme un tissu à part entière.

On peut rajouter également la possibilité de pré-vasculariser les greffons *in vivo* avant réimplantation. (72)

La procédure s'alourdit considérablement du premier au dernier cas, avec une augmentation importante du temps et du coût. Mais ces stratégies peuvent être intéressantes sur des cas compliqués dans lesquels des patients sont en échec thérapeutique avec les méthodes conventionnelles de réparation.

Du fait de la complexité des ces procédures, pour ce qui est de la chirurgie orale pré implantaire, on peut imaginer des applications cliniques avec des scaffolds non ensemencés (on parle de stratégies cell-free dans la littérature).
Une étude montre des résultats intéressants en testant un matériau synthétique de BCP (Osteoflux®, Vivosdental) réalisé par prototypage rapide, comme scaffold pour promouvoir une augmentation osseuse verticale dans des modèles de calvaria chez la brebis. Ce matériau est comparé avec un substitut osseux particulaire d'origine bovine (Bio-Oss®, Geistlich Pharma) et un substitut synthétique de β-TCP pur (Ceros®, Thommen Medical) (51).
Ce matériau pourrait par exemple être utilisé dans une démarche similaire à la nôtre afin de produire un bloc sur mesure et faire l'objet d'un essai, chez l'animal puis l'homme, afin de traiter des défauts osseux mandibulaires ou maxillaires dans une optique pré-implantaire.

4. CONCLUSION

Nous avons donc pu établir durant ce travail un protocole à partir du traitement de l'image jusqu'à la fabrication, avec un process à très faible coût, afin d'obtenir des scaffolds sur mesure adaptés aux crêtes osseuses édentées avec un ajustage très satisfaisant.

Le protocole comprend l'acquisition de données radiologiques par examen tomodensitométrique, le traitement de ces données et la reconstruction anatomique en 3D, la conception par infographie tridimensionnelle d'un bloc sur mesure, et la fabrication de ces blocs par des techniques de prototypage rapide.

Ce protocole est modulable, on peut y ajouter et modifier des étapes, notamment au niveau du design de l'architecture interne, ou du matériau utilisé pour la production du scaffold.

Les perspectives de recherche en lien avec le prototypage rapide et les scaffolds sur mesure à partir d'images radiologiques sont nombreuses et présentent un réel intérêt clinique.

On peut se laisser aller à imaginer dans un futur proche, avec l'avancée des recherches, une utilisation au cabinet dentaire semblable à la CFAO prothétique où le chirurgien dentiste, à partir d'images tomographiques du patient, réaliserait un bloc osseux de substitution informatiquement qui serait ensuite fabriqué en laboratoire puis implanté chirurgicalement avant la mise en place d'implants.

Dans ce contexte, en plus des progrès à réaliser au niveau des scaffolds produits, des solutions logicielles simples à l'instar de celles utilisées pour la chirurgie guidée devront émerger pour rendre ce schéma possible.

Le but escompté de ces recherches étant de simplifier les procédures actuelles, de pallier les limites des procédures existantes et d'offrir de meilleures thérapeutiques aux patients, moins invasives, et garantissant davantage de confort.

BIBLIOGRAPHIE

1. Tan WL, Wong TLT, Wong MCM, Lang NP. A systematic review of post-extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. Clin Oral Implants Res. 2012 Feb;23:1–21.

2. Pagni G, Pellegrini G, Giannobile WV, Rasperini G. Postextraction Alveolar Ridge Preservation: Biological Basis and Treatments. Int J Dent. 2012;2012:1–13.

3. Araújo M, Linder E, Wennström J, Lindhe J. The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. Int J Periodontics Restorative Dent. 2008 Apr;28(2):123–35.

4. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. J Periodontol. 2000 Jun;71(6):1015–23.

5. Artzi Z, Tal H, Dayan D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets: 2. Histochemical observations at 9 months. J Periodontol. 2001 Feb;72(2):152–9.

6. Pinho MN, Roriz VLM, Novaes AB, Taba M, Grisi MFM, de Souza SLS, et al. Titanium membranes in prevention of alveolar collapse after tooth extraction. Implant Dent. 2006 Mar;15(1):53–61.

7. Luczyszyn SM, Papalexiou V, Novaes AB, Grisi MFM, Souza SLS, Taba M. Acellular dermal matrix and hydroxyapatite in prevention of ridge deformities after tooth extraction. Implant Dent. 2005 Jun;14(2):176–84.

8. Neiva R, Pagni G, Duarte F, Park CH, Yi E, Holman LA, et al. Analysis of tissue neogenesis in extraction sockets treated with guided bone regeneration: clinical, histologic, and micro-CT results. Int J Periodontics Restorative Dent. 2011 Oct;31(5):457–69.

9. Collins JR, Jiménez E, Martínez C, Polanco RT, Hirata R, Mousa R, et al. Clinical and Histological Evaluation of Socket Grafting Using Different Types of Bone Substitute in Adult Patients: Implant Dent. 2014 Jul;1.

10. Lekovic V, Camargo PM, Klokkevold PR, Weinlaender M, Kenney EB, Dimitrijevic B, et al. Preservation of alveolar bone in extraction sockets using bioabsorbable membranes. J Periodontol. 1998 Sep;69(9):1044–9.

11. de Carvalho PSP, de Carvalho MCA, Ponzoni D. Reconstruction of alveolar bone defect with autogenous bone particles and osseointegrated implants: Histologic analysis and 10 years monitoring. Ann Maxillofac Surg. 2015;5(1):135–9.

12. Salgado AJ, Coutinho OP, Reis RL. Bone Tissue Engineering: State of the Art and Future Trends. Macromol Biosci. 2004 Aug 9;4(8):743–65.

13. Matassi F, Nistri L, Paez DC, Innocenti M. New biomaterials for bone regeneration. Clin Cases Miner Bone Metab. 2011;8(1):21–4.

14. Yeo A, Cheok C, Teoh SH, Zhang ZY, Buser D, Bosshardt DD. Lateral ridge augmentation using a PCL-TCP scaffold in a clinically relevant but challenging micropig model. Clin Oral Implants Res. 2012 Dec;23(12):1322–32.

15. Wei L, Miron RJ, Shi B, Zhang Y. Osteoinductive and Osteopromotive Variability among Different Demineralized Bone Allografts. Clin Implant Dent Relat Res. 2015 Jun;17(3):533–42.

16. Kinoshita Y, Maeda H. Recent Developments of Functional Scaffolds for Craniomaxillofacial Bone Tissue Engineering Applications. Sci World J. 2013;2013:1–21.

17. Langer R, Vacanti JP. Tissue engineering. Science. 1993 May 14;260(5110):920–6.

18. Blitterswijk CA van, Moroni L, Rouwkema J, Siddappa R, Sohier J. Tissue engineering – an introduction. In: Blitterswijk C van, Thomsen P, Lindahl A, Hubbell J, Williams DF, Cancedda R, et al., editors. Tissue Engineering. Burlington: Academic Press; 2008. p. xii – xxxvi.

19. Catros S, Guillemot F, Amédée J, Fricain J-C. Ingénierie tissulaire osseuse en chirurgie buccale et maxillo-faciale : applications cliniques. Médecine Buccale Chir Buccale. 2010 Nov;16(4):227–37.

20. Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. Trends Biotechnol. 2012 Oct;30(10):546–54.

21. Rouwkema J, Rivron NC, van Blitterswijk CA. Vascularization in tissue engineering. Trends Biotechnol. 2008 Aug;26(8):434–41.

22. Murphy CM, Haugh MG, O'Brien FJ. The effect of mean pore size on cell attachment, proliferation and migration in collagen-glycosaminoglycan scaffolds for bone tissue engineering. Biomaterials. 2010 Jan;31(3):461–6.

23. Albrektsson T, Johansson C. Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. Eur Spine J Off Publ Eur Spine Soc Eur Spinal Deform Soc Eur Sect Cerv Spine Res Soc. 2001 Oct;10 Suppl 2:S96–101.

24. Bose S, Roy M, Bandyopadhyay A. Recent advances in bone tissue engineering scaffolds. Trends Biotechnol. 2012 Oct;30(10):546–54.

25. Rai B, Ho KH, Lei Y, Si-Hoe K-M, Jeremy Teo C-M, Yacob K bin, et al. Polycaprolactone-20% Tricalcium Phosphate Scaffolds in Combination With Platelet-Rich Plasma for the Treatment of Critical-Sized Defects of the Mandible: A Pilot Study. J Oral Maxillofac Surg. 2007 Nov;65(11):2195–205.

26. Yu D, Li Q, Mu X, Chang T, Xiong Z. Bone regeneration of critical calvarial defect in goat model by PLGA/TCP/rhBMP-2 scaffolds prepared by low-temperature rapid-prototyping technology. Int J Oral Maxillofac Surg. 2008 Oct;37(10):929–34.

27. Cao X, Chen D. The BMP signaling and in vivo bone formation. Gene. 2005 Aug 29;357(1):1–8.

28. Herford AS, Boyne PJ. Reconstruction of mandibular continuity defects with bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2). J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg. 2008 Apr;66(4):616–24.

29. Schuckert K-H, Jopp S, Osadnik M. Modern bone regeneration instead of bone transplantation: a combination of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and platelet-rich plasma for the vertical augmentation of the maxillary bone-a single case report. Tissue Eng Part C Methods. 2010 Dec;16(6):1335–46.

30. Cochran DL, Jones AA, Lilly LC, Fiorellini JP, Howell H. Evaluation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in oral applications including the use of endosseous implants: 3-year results of a pilot study in humans. J Periodontol. 2000 Aug;71(8):1241–57.

31. Carter TG, Brar PS, Tolas A, Beirne OR. Off-label use of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) for reconstruction of mandibular bone defects in humans. J Oral Maxillofac Surg Off J Am Assoc Oral Maxillofac Surg. 2008 Jul;66(7):1417–25.

32. Wernike E, Montjovent M-O, Liu Y, Wismeijer D, Hunziker EB, Siebenrock K-A, et al. VEGF incorporated into calcium phosphate ceramics promotes vascularisation and bone formation in vivo. Eur Cell Mater. 2010;19:30–40.

33. Jukes JM, van Blitterswijk CA, de Boer J. Skeletal tissue engineering using embryonic stem cells. J Tissue Eng Regen Med. 2010 Mar;4(3):165–80.

34. Vinatier C, Bordenave L, Guicheux J, Amédée J. [Stem cells for osteoarticular and vascular tissue engineering]. Médecine Sci MS. 2011 Mar;27(3):289–96.

35. Li F, Bronson S, Niyibizi C. Derivation of murine induced pluripotent stem cells (iPS) and assessment of their differentiation toward osteogenic lineage. J Cell Biochem. 2009 Dec 28;109(4):643–52.

36. IPS, la nouvelle révolution cellulaire [Internet]. [cited 2015 Jul 15]. Available from: http://www.inserm.fr/thematiques/biologie-cellulaire-developpement-et-evolution/dossiers-d-information/cellules-pluripotentes-induites-ips

37. Ozmadenci D, Féraud O, Markossian S, Kress E, Ducarouge B, Gibert B, et al. Netrin-1 regulates somatic cell reprogramming and pluripotency maintenance. Nat Commun [Internet]. 2015 Jul 8 [cited 2015 Jul 15];6. Available from: http://www.nature.com/ncomms/2015/150708/ncomms8398/full/ncomms8398.html

38. Grellier M, Bordenave L, Amédée J. Cell-to-cell communication between osteogenic and endothelial lineages: implications for tissue engineering. Trends Biotechnol. 2009 Oct;27(10):562–71.

39. Mangano FG, Zecca PA, van Noort R, Apresyan S, Iezzi G, Piattelli A, et al. Custom-Made Computer-Aided-Design/Computer-Aided-Manufacturing Biphasic Calcium-Phosphate Scaffold for Augmentation of an Atrophic Mandibular Anterior Ridge. Case Rep Dent. 2015;2015:1–11.

40. Jacotti M, Barausse C, Felice P. Posterior Atrophic Mandible Rehabilitation With Onlay Allograft Created With CAD-CAM Procedure: A Case Report. Implant Dent. 2014 Feb;23(1):22–8.

41. Yano K, Namikawa T, Uemura T, Hoshino M, Wakitani S, Takaoka K, et al. Regenerative repair of bone defects with osteoinductive hydroxyapatite fabricated to match the defect and implanted with combined use of computer-aided design, computer-aided manufacturing, and computer-assisted surgery systems: a feasibility study in a canine model. J Orthop Sci. 2012 Jul;17(4):484–9.

42. Figliuzzi M, Mangano FG, Fortunato L, De Fazio R, Macchi A, Iezzi G, et al. Vertical Ridge Augmentation of the Atrophic Posterior Mandible With Custom-Made, Computer-Aided Design/Computer-Aided Manufacturing Porous Hydroxyapatite Scaffolds: J Craniofac Surg. 2013 May;24(3):856–9.

43. Ciocca L, De Crescenzio F, Fantini M, Scotti R. CAD/CAM and rapid prototyped scaffold construction for bone regenerative medicine and surgical transfer of virtual planning: A pilot study. Comput Med Imaging Graph. 2009 Jan;33(1):58–62.

44. Klammert U, Gbureck U, Vorndran E, Rödiger J, Meyer-Marcotty P, Kübler AC. 3D powder printed calcium phosphate implants for reconstruction of cranial and maxillofacial defects. J Cranio-Maxillofac Surg. 2010 Dec;38(8):565–70.

45. Mangano F, Macchi A, Shibli JA, Luongo G, Iezzi G, Piattelli A, et al. Maxillary Ridge Augmentation with Custom-Made CAD/CAM Scaffolds. A 1-Year Prospective Study on 10 Patients. J Oral Implantol. 2014 Oct;40(5):561–9.

46. Frame M, Huntley JS. Rapid Prototyping in Orthopaedic Surgery: A User's Guide. Sci World J. 2012;2012:1–7.

47. Billiet T, Vandenhaute M, Schelfhout J, Van Vlierberghe S, Dubruel P. A review of trends and limitations in hydrogel-rapid prototyping for tissue engineering. Biomaterials. 2012 Sep;33(26):6020–41.

48. Bose S, Vahabzadeh S, Bandyopadhyay A. Bone tissue engineering using 3D printing. Mater Today. 2013 Dec;16(12):496–504.

49. Melchels FPW, Feijen J, Grijpma DW. A review on stereolithography and its applications in biomedical engineering. Biomaterials. 2010 Aug;31(24):6121–30.

50. Daule VMR. Rapid prototyping and its application in dentistry. J Dent Allied Sci. 2013;2(2):57–61.

51. Carrel J-P, Wiskott A, Moussa M, Rieder P, Scherrer S, Durual S. A 3D printed TCP/HA structure as a new osteoconductive scaffold for vertical bone augmentation. Clin Oral Implants Res. 2014 Oct;n/a – n/a.

52. Mangano C, Barboni B, Valbonetti L, Berardinelli P, Martelli A, Muttini A, et al. In vivo behavior of a custom-made 3D synthetic bone substitute in sinus augmentation procedure in sheep. J Oral Implantol. 2013;

53. Barboni B, Mangano C, Valbonetti L, Marruchella G, Berardinelli P, Martelli A, et al. Synthetic Bone Substitute Engineered with Amniotic Epithelial Cells Enhances Bone

Regeneration after Maxillary Sinus Augmentation. He X, editor. PLoS ONE. 2013 May 17;8(5):e63256.

54. Brie J, Chartier T, Chaput C, Delage C, Pradeau B, Caire F, et al. A new custom made bioceramic implant for the repair of large and complex craniofacial bone defects. J Cranio-Maxillofac Surg. 2013 Jul;41(5):403–7.

55. Williams JM, Adewunmi A, Schek RM, Flanagan CL, Krebsbach PH, Feinberg SE, et al. Bone tissue engineering using polycaprolactone scaffolds fabricated via selective laser sintering. Biomaterials. 2005 Aug;26(23):4817–27.

56. Goh BT, Teh LY, Tan DBP, Zhang Z, Teoh SH. Novel 3D polycaprolactone scaffold for ridge preservation - a pilot randomised controlled clinical trial. Clin Oral Implants Res. 2015 Mar;26(3):271–7.

57. Meyer U, Runte C, Dirksen D, Stamm T, Fillies T, Joos U, et al. Image-based biomimetric approach to design and fabrication of tissue engineered bone. Int Congr Ser. 2003 Jun;1256:726–32.

58. Meyer U, Büchter A, Hohoff A, Stoffels E, Szuwart T, Runte C, et al. Image-based extracorporeal tissue engineering of individualized bone constructs. Int J Oral Maxillofac Implants. 2005 Dec;20(6):882–90.

59. Yeo A, Cheok C, Teoh SH, Zhang ZY, Buser D, Bosshardt DD. Lateral ridge augmentation using a PCL-TCP scaffold in a clinically relevant but challenging micropig model. Clin Oral Implants Res. 2012 Dec;23(12):1322–32.

60. Sun W, Starly B, Nam J, Darling A. Bio-CAD modeling and its applications in computer-aided tissue engineering. Comput-Aided Des. 2005 Sep;37(11):1097–114.

61. Tan P, Chen J, Li P, Guo J, Tang W, Long J, et al. [Improving Threshold Segmentation in 3D Reconstruction of Mandible CT Image]. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban. 2015 May;46(3):458–62.

62. Harrysson OL, Hosni YA, Nayfeh JF. Custom-designed orthopedic implants evaluated using finite element analysis of patient-specific computed tomography data: femoral-component case study. BMC Musculoskelet Disord. 2007;8(1):91.

63. Sun W, Starly B, Darling A, Gomez C. Computer-aided tissue engineering: application to biomimetic modelling and design of tissue scaffolds. Biotechnol Appl Biochem. 2004;39(1):49–58.

64. Al-Nawas B, Schiegnitz E. Augmentation procedures using bone substitute materials or autogenous bone - a systematic review and meta-analysis. Eur J Oral Implantol. 2014;7 Suppl 2:S219–34.

65. Chiapasco M, Zaniboni M. Failures in jaw reconstructive surgery with autogenous onlay bone grafts for pre-implant purposes: incidence, prevention and management of complications. Oral Maxillofac Surg Clin N Am. 2011 Feb;23(1):1–15, v.

66. Esposito M, Grusovin MG, Felice P, Karatzopoulos G, Worthington HV, Coulthard P. The efficacy of horizontal and vertical bone augmentation procedures for dental implants - a Cochrane systematic review. Eur J Oral Implantol. 2009;2(3):167–84.

67. Sbordone L, Toti P, Menchini-Fabris GB, Sbordone C, Piombino P, Guidetti F. Volume changes of autogenous bone grafts after alveolar ridge augmentation of atrophic maxillae and mandibles. Int J Oral Maxillofac Surg. 2009 Oct;38(10):1059–65.

68. Petrovic V, Zivkovic P, Petrovic D, Stefanovic V. Craniofacial bone tissue engineering. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol. 2012 Sep;114(3):e1–9.

69. Tanodekaew S, Channasanon S, Kaewkong P, Uppanan P. PLA-HA Scaffolds: Preparation and Bioactivity. Procedia Eng. 2013;59:144–9.

70. Catros S. Etude de la Micro-Impression d'Eléments Biologiques par Laser pour l'Ingénierie du Tissu Osseux [Thèse de doctorat]. [Bordeaux, France]: École doctorale des Sciences chimiques; 2010.

71. Bhumiratana S, Vunjak-Novakovic G. Concise Review: Personalized Human Bone Grafts for Reconstructing Head and Face. Stem Cells Transl Med. 2012 Jan 1;1(1):64–9.

72. Warnke PH, Springer ING, Wiltfang J, Acil Y, Eufinger H, Wehmöller M, et al. Growth and transplantation of a custom vascularised bone graft in a man. Lancet Lond Engl. 2004 Sep 28;364(9436):766–70.

LISTE DES ABREVIATIONS

BCP	Biphasic calcium phosphate
BMP	Bone morphogenic proteins
BMU	Bone morphogenetic unit
CAD	Computer aided design
CAM	Computer aided manufacturing
CAO	Conception assistée par ordinateur
CaP	Phosphate de calcium
CBCT	Cone beam computed tomography
DICOM	Digital imaging and communications in medicine
ESC	Cellules souches embryonnaires
FAO	Fabrication assistée par ordinateur
FDM	Fuse deposition modeling
HA	Hydroxyapatite
iPS	Cellules souches pluripotentes induites
IT	Ingénierie Tissulaire
ITO	Ingénierie tissulaire osseuse
LAB	Laser-assisted bioprinting
LF	Largeur de la fenêtre
MSC	Cellules souches mésenchymateuses
NF	Niveau de la fenêtre
PCL	Polycaprolactone
PEG	Polyéthylène glycol
PGA	Acide polyglycolique
PIT	Produit d'ingénierie tissulaire
PLA	Acide polylactique
PLGA	Acide poly (lactique co glycolique)
ROG	Régénération osseuse guidée
ROI	Région d'intérêt
SLA	Stereolithography
SLS	Selective laser sintering
TCP	Tricalcium phosphate
TGF	Tissue growth factor
VEGF	Vascular endothelial growth factor
α-TCP	Alpha tricalcium phosphate
β-TCP	Béta tricalcium phosphate

INDEX DES TABLEAUX ET ILLUSTRATIONS

Tableau 1 : Propriétés des différentes greffes osseuses 11
Tableau 2 : Mesures d'ajustage (en mm) effectuées sur le bloc autogène 41

Figure 1 : Schéma général de l'ingénierie tissulaire d'après Blitterswijk (18). Les cellules sont prélevées puis manipulées in vitro (prolifération, différenciation) et sont ensemencées sur un scaffold avec des facteurs de croissance, puis après maturation il y a réimplantation du greffon chez le patient. 12
Figure 2 : Processus de fabrication des scaffolds 18
Figure 3 : Les techniques de prototypage rapide d'après (47) 19
Figure 4 : Vues des pièces anatomiques (4 hémi-mandibules, 1 mandibule complète) après réalisation des défauts osseux 23
Figure 5 : Coupes axiales de mandibule complète utilisées pour la reconstruction 3D ... 24
Figure 6 : Influence du seuillage (NF/LF) sous Osirix®. (A) : NF=717, (B) : NF=1021 25
Figure 7: Rendu 3D surfacique avant export sous Osirix® 26
Figure 8 : Opération de remaillage sous Meshmixer®. (A) : maillage original. (B) : résultat obtenu après remaillage 27
Figure 9 : (A) : Création du solide. (B) : Solide mis en forme et imbriqué dans la mandibule. (C) : Résultat obtenu après soustraction booléenne des solides ... 28
Figure 10: Suppression de nuage de points parasites (dus à des artefacts radiologiques liés à la présence de métal) sous Meshlab® 30
Figure 11: Analyse sous Netfabb® avant (gauche) et après (droite) application de l'algorithme de réparation 30
Figure 12 : (A) : Bloc obtenu après soustraction booléenne des solides. (B)(C)(D) : Vues du bloc après nettoyage des volumes parasites sous Meshlab® 31
Figure 13 : Application de l'outil Inspector sous Meshmixer® 31
Figure 14: Placement des blocs sur le lit virtuel et découpage par le trancheur 33
Figure 15 : Suivi de l'impression en direct, couche par couche 33
Figure 16: Impression 3D des blocs 34
Figure 17 : Mesures au pied à coulisse du bloc après impression 35

Figure 18 : Mise en place chirurgicale. (A) (B) (C) (D) (E) : Ostéosynthèse des blocs de PLA. (F) : Ostéosynthèse du bloc d'os autogène. (G) : Prélèvement ramique d'os autogène. (H) : Ostéosynthèse des blocs de PLA et d'os autogène sur la mandibule complète 36
Figure 19 : CBCT post-opératoires en coupes axiales. (A) : Vue du bloc de PLA (à gauche) et du bloc autogène (à droite) sur la mandibule complète. (B) (C) (D) (E) : Vues des blocs de PLA sur les hémi-mandibules 37
Figure 20: CBCT post-opératoires en coupes coronales. (A) (B) (C) (D) : Vues des blocs de PLA sur les hémi-mandibules. (E) : Vue du bloc de PLA (à gauche) et du bloc autogène (à droite) sur la mandibule complète 38
Figure 21 : Mesures de l'ajustage sur les CBCT post opératoires. (A) : Vue d'une hémi-mandibule en coupe axiale (scaffold). (B) : Vue d'une hémi-mandibule en coupe coronale (scaffold) 39
Figure 22 : Mesure de l'ajustage sur les CBCT post opératoires : Vue de la mandibule complète en coupe coronale (prélèvement autogène) 40
Figure 23 : Schéma illustrant l'utilisation de greffes personnalisées réalisées grâce à des scaffolds d'après (71) 46

Alexis PLAUD le 27/11/2015
Thèse pour l'obtention du DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR en CHIRURGIE DENTAIRE 2015 - n°78

Vu, Le Président du Jury,

Date, Signature :

Vu, la Directrice de l'UFR des Sciences Odontologiques,

Date, Signature :

Vu, le Président de l'Université de Bordeaux,

Date, Signature :

Discipline : Chirurgie Orale

Elaboration d'un substitut osseux sur mesure par prototypage rapide

Résumé: Les pertes de substances de l'os alvéolaire sont très fréquentes dans le domaine de la chirurgie orale. Elles posent des problèmes quant à la réhabilitation de la fonction et de l'esthétique du patient. Les techniques conventionnelles de réparation des pertes de substance osseuse présentent certains risques et limites, à savoir la morbidité des prélèvements et la reconstruction limitée à des petites ou moyennes étendues avec les autogreffes, et un risque infectieux et immunologique toujours possible pour les allogreffes. Elles présentent également des difficultés de mise en forme et d'adaptation aux défauts osseux.
Les nouvelles méthodes d'impression 3D permettent de réaliser des matrices osseuses avec une architecture externe adaptée à un défaut osseux tout en contrôlant la structure interne (porosité). Ces matrices peuvent être utilisées à des fins cliniques ou pour la recherche en ingénierie tissulaire. L'objectif de ce travail était de réaliser des matrices osseuses sur mesure en PLA grâce à une technique d'impression 3D (de type FDM) et à partir d'images radiologiques.

Mots-clés: Prototypage rapide, Ingénierie tissulaire osseuse, Régénération osseuse

Custom made bone substitute engineered by rapid prototyping

Summary: The alveolar bone defects are frequent in the field of the oral surgery. They raise problems for the rehabilitation of function and aesthetics of the patient. Conventional techniques for the repair of bone defects present some risks and limitations, namely the morbidity of the bone samples and the reconstruction limited to small or average areas with autografts, and an infectious and immunological risk always possible for allografts. They also present difficulties of shaping and adaptation to the bone defects.
The new methods of 3D printing allow to realize bone scaffolds with a better control of the internal and external architecture. These scaffolds can be used for clinical purposes or for research in tissue engineering. The aim of this work was to design and fabricate custom PLA bone scaffolds through a 3D printing technique (FDM) and from radiological images.

Key-words: Rapid prototyping, Bone tissue engineering, Bone regeneration

Université de Bordeaux – Collège des Sciences de la Santé
UFR des Sciences Odontologiques
16-20 Cours de la Marne
33082 BORDEAUX CEDEX