

Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Klinika Chirurgii Szczękowo-Twarzowej

Oral and Maxillofacial Surgery Research Lab

Université Catholique de Louvain

Zastosowanie trójwymiarowych wydruków celulozowych dla potrzeb chirurgii oczodołów

Rozprawa doktorska

Piotr Szymor

lekarz

lekarz dentysta

Promotor: prof. dr hab. n. med. Marcin Kozakiewicz

Promotor: prof Raphael A. Olszewski DDS, MD, PhD

Wstęp

Częstym rezultatem urazów twarzoczaszki jest złamanie ściany oczodołu. Powikłania takiego złamania obejmują podwójne widzenie, zapadnięcie gałki ocznej, zaburzenia czucia. W celu ich eliminacji przeprowadza się operację odprowadzenia przepukliny tkanek z zatoki szczękowej połączoną z założeniem wszczepu z materiału kośćco-zastępczego (najczęściej siatka tytanowa, polietylen) lub kości własnej pacjenta. Zadaniem takiej rekonstrukcji jest odtworzenie ciągłości ścian oczodołu. W celu uzyskania poprawy skuteczności zabiegu zaproponowano zastosowanie indywidualnie kształtowanych wszczepów odtwarzających ściany oczodołu przygotowywanych na podstawie wydruków 3D.

Dotychczas wykonane badania wykazały, że oczodoły są praktycznie symetryczne. Na podstawie obrazu tomografii komputerowej możliwe jest stworzenie wirtualnego modelu uszkodzonego oczodołu a następnie odtworzenie jego pierwotnego kształtu poprzez nałożenie lustrzanego odbicia zdrowego oczodołu. W dalszej kolejności tak stworzony model oczodołu drukowany jest przy użyciu papieru na drukarce trójwymiarowej firmy MCor Technologies. Taki model wykorzystywany śródoperacyjnie pozwala na skrócenie czasu trwania operacji, czasu dostosowywania implantu dla pacjenta, ilości powikłań oraz przede wszystkim skuteczniejszego leczenia podwójnego widzenia u pacjentów po złamaniu ściany oczodołu.

Hipotezą roboczą w pracy jest stwierdzenie, że model papierowy MCor Technologies nadaje się do użytku klinicznego w chirurgii oczodołów.

Celem pracy jest sprawdzenie czy powyższa hipoteza jest prawdziwa. W celu jej weryfikacji zostały postawione następujące pytania badawcze:

- Czy dokładność wydruku modelu czaszki jest wystarczająca?
- Czy wydruki z drukarki firmy MCor Technologies mogą być bezpiecznie zastosowane śródoperacyjnie?

Material i metody

W celu weryfikacji dokładności wydruku modeli wykonano badanie CBCT żuchwy oraz czaszki ludzkiej. Następnie na podstawie tego badania wykonano trójwymiarowe modele, które zostały wydrukowane na drukarce Matrix 300 firmy MCor Technologies. Model czaszki został wydrukowany trzykrotnie, za każdym razem dokonywana była zmiana płaszczyzny w której odbywało się drukowanie. Wykonano analizę odległości pomiędzy wybranymi punktami antropometrycznymi na żuchwie oraz czaszce oraz analogicznymi

punktami na wydrukach przy użyciu ramienia pomiarowego MicroScribe G2X 3D (Revware Inc., Raleigh, NC, USA). Ponadto w celu lepszej weryfikacji dokładności odwzorowania płaszczyzn oczodołów, wykonano skanowanie trójwymiarowe czaszki oraz jej modeli i następnie porównano powstałe różnice pomiędzy zeskanowaną czaszką, jej wirtualnym modelem powstałym na podstawie CBCT oraz zeskanowanym wydrukiem.

W celu weryfikacji możliwości bezpiecznego zastosowania śródoperacyjnego wydruków z drukarki firmy MCor Technologies sprawdzono wpływ sterylizacji na stabilność kształtu wydruków oraz testy cytotoksyczności wydruków.

W celu określenia wpływu sterylizacji na stabilność kształtu wydruków przygotowano, a następnie wydrukowano 30 bloczków o wymiarach 1x2x3cm. Wykonano trzykrotnie pomiary każdego z bloczków w każdej z płaszczyzn przy użyciu suwmiarki z dokładnością do 0,05mm. W dalszej kolejności bloczki podzielono losowo na 3 grupy po 10 bloczków i poddano je procesowi sterylizacji przy użyciu promieniowania, zimnej plazmy oraz tlenu etylenu a następnie ponownie wykonano trzykrotne pomiary każdego z bloczków.

W celu określenia możliwości użycia wydruków w kontakcie z krwią wykonano testy cytotoksyczności wydruków. W tym celu przygotowano i wydrukowano 60 krążków o średnicy 14mm i wysokości 3mm. Krążki zostały podzielone na 2 grupy: pokrytą klejem tkankowym Dermabond (firmy Ethicon) oraz bez takiego pokrycia. Następnie dokonano dalszego podziału w zależności od użytej metody sterylizacji (plazma, tlenek etylenu, promieniowanie) w rezultacie uzyskując 6 grup po 10 krążków. Krążki badanych materiałów umieszczono w jałowej sześciodołkowej płytce do hodowli komórkowych i zalano 3ml kompletnego Fibroblas Basal Medium. Po 24 godzinach medium zawierające substancje uwolnione z badanych krążków dodano do hodowli komórkowych. Kontrolą negatywną były komórki traktowane 50 % etanolem. Technikę zaczerpnięto z normy PN-EN-ISO 10993-12. Krążki badanych materiałów umieszczono w jałowej 6-dołkowej płytce do hodowli komórkowych, a następnie wysiano na nie komórki w liczbie 8×10^4 kom/ml/dołek w 3ml medium wzrostowego. Po 24 godzinie inkubacji hodowle przepłukiwano dwukrotnie DPBS i dodawano 3ml mieszaniny barwników fluorescencyjnych kalceina/etydyna w PBS według protokołu (LIVE/DEAD Viability/Cytotoxicity Kit, Molecular Probes No. L3224, Life Technologies, Waltham, USA). Po 30 minutach inkubacji preparaty przepłukiwano DPBS i dokonywano obserwacji pod mikroskopem fluorescencyjnym Olympus GX71 (Olympus, Tokyo, Japonia)

Zebrane wyniki poddano analizie statystycznej. Założony poziom istotności wynosił $p < 0,05$.

Wyniki

Dla żuchwy ludzkiej i jej modelu zmierzona ramieniem pomiarowym średnia różnica względna (%) dla 2016 pomiarów wynosiła $1,87 \pm 3,14\%$, zaś średnia różnica bezwzględna $0,36 \pm 0,29\text{mm}$. Dla pomiarów wykonanych ramieniem pomiarowym na czaszce ludzkiej oraz jej modelach stwierdzono, że średnia różnica względna obliczona na podstawie 231 pomiarów odległości wynosiła $2,28 \pm 2,83\%$ dla modelu przeciętego wzdłuż płaszczyzny strzałkowej, $2,12 \pm 2,87\%$ dla modelu przeciętego wzdłuż płaszczyzny czołowej i $2,35 \pm 3,26\%$ dla modelu przeciętego wzdłuż płaszczyzny osiowej. Średnia różnica bezwzględna wynosiła odpowiednio $0,76 \pm 0,58\text{mm}$; $0,76 \pm 0,63\text{mm}$; $0,82 \pm 0,64\text{mm}$. Analiza wariancji ANOVA średnich bezwzględnych oraz względnych różnic wykazała brak istotnej statystycznie różnicy pomiędzy modelami. Przy nakładaniu zeskanowanej czaszki oraz jej modeli średnia ilość punktów pomiarowych wygenerowanych na ścianach oczodołów wynosiła $804,43 \pm 19,39$. Średnie zmierzone odchylenie pomiędzy czaszką a wirtualnym modelem wynosiło $0,15 \pm 0,11\text{mm}$, pomiędzy modelem wirtualnym a modelem przeciętym wzdłuż płaszczyzny osiowej $0,13 \pm 0,09\text{mm}$, czołowej $0,11 \pm 0,07\text{mm}$, strzałkowej $0,22 \pm 0,16\text{mm}$. Analogicznie różnice zmierzone między czaszką a wydrukowanymi modelami wynosiły odpowiednio: $0,20 \pm 0,14\text{mm}$, $0,18 \pm 0,14\text{mm}$, $0,35 \pm 0,28\text{mm}$.

W uzyskanych wynikach nie stwierdzono istotnych statystycznie różnic pomiędzy wymiarami bloczków przed i po sterylizacji. Ponadto nie stwierdzono rozklejania się modeli.

W badaniu XTT wszystkie próbki wykazały wysoką cytotoksyczność względem linii komórkowej pierwotnych ludzkich fibroblastów w porównaniu do próbki kontrolnej (+). Analiza wariancji ANOVA potwierdziła, że pokrycie próbek cyjanoakrylanem 2-oktylu pozwoliło w sposób istotny statystycznie poprawić efekty biologiczne niezależnie od wybranej metody sterylizacji. W barwieniu próbek przy użyciu kalceiny i etydyny ze względu na silną fluorescencję tła jaką wykazywały krążki badanej substancji niemożliwe było wykonanie dokładnych pomiarów liczości komórek wybarwionych fluorescencyjnie. Ponadto próbki nie pokryte cyjanoakrylanem 2-oktylu silnie absorbowały medium wzrostowe co powodowało ich wzrost objętości i rozwarstwienie próbek.

Dyskusja

Różnice pomiędzy preparatem anatomicznym żuchwy ludzkiej a jej trójwymiarowym wydrukiem może być wynikiem błędów, które mogły powstać na każdym z kolejnych etapów przygotowania modelu: zaczynając od komputerowej tomografii stożkowej poprzez automatyczną segmentację, przygotowanie modelu do druku, sam proces drukowania, etap uwalniania modelu z nadmiarowego papieru aż kończąc na zastosowanych metodach pomiarów. Obserwowane wyniki są porównywalne z innymi badaniami dotyczącymi dokładności wytwarzania modeli przy użyciu technik szybkiego prototypowania.

Model przygotowany do użycia jako szablon śródoperacyjny, powinien cechować się możliwie jak najmniejszym efektem cytotoksycznym. Niestety użyte w doświadczeniu papierowe wydruki wykazały się cytotoksycznością. Pokrycie modeli klejem Dermabond w znaczący sposób obniżyło niekorzystne efekty biologiczne próbek, chociaż ich nie wyeliminowało. Co więcej próbki zabezpieczone w ten sposób nie chłonęły medium wzrostowego i nie uległy rozwarstwieniu w trakcie badań barwienia kalceiną/etydyną. Jednakże wymagane są dalsze badania dotyczące możliwości zabezpieczenia modeli w celu wykorzystania ich śródoperacyjnego.

Wnioski

Uzyskane rezultaty pozwalają na poparcie hipotezy badawczej iż model papierowy MCor Technologies nadaje się do użytku klinicznego w chirurgii oczodołów.