



Développement d'un dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié pour la production de réseaux fluidiques complexes par moulage rapide

Mémoire

Marc-André Dussault

Maîtrise en génie mécanique
Maître ès sciences (M.Sc.)

Québec, Canada
© Marc-André Dussault, 2016

**Développement d'un dispositif d'extrusion tridimensionnelle
de sucre vitrifié pour la production de réseaux fluidiques
complexes par moulage rapide**

Mémoire

Marc-André Dussault

Sous la direction de :

André Bégin-Drolet, directeur
Jean Ruel, codirecteur

Résumé

L'objectif du vaste projet de recherche dans lequel s'inscrit ce mémoire est de guérir le diabète de type 1 en fabriquant un pancréas bioartificiel vascularisé contenant des cellules bêta (*i.e.* les cellules sécrétant l'insuline). Ce dispositif permettrait de rendre aux personnes atteintes par le diabète de type 1 la capacité de sécréter par elles-mêmes de l'insuline et de réguler leur glycémie.

La vascularisation est actuellement un enjeu de taille dans le domaine du génie tissulaire. La plupart des tissus incorporant des cellules générées par le génie tissulaire sont actuellement fortement limités en épaisseur faute d'être vascularisés adéquatement. Pour les tissus dont l'épaisseur dépasse 400 μm , la vascularisation est nécessaire à la survie de la plupart des cellules qui autrement souffriraient d'hypoxie, les empêchant ainsi d'accomplir leurs fonctions [1].

Ce mémoire présente le développement et la mise en service d'un dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié pour la vascularisation d'un pancréas bioartificiel. Ce dispositif a été développé au laboratoire de recherche sur les procédés d'impression 3D ainsi qu'au bureau de design du département de génie mécanique de l'Université Laval. Grâce à cette technique d'impression 3D novatrice et à la caractérisation du procédé, il est maintenant possible de produire rapidement et avec précision des structures temporaires en sucre vitrifié pour la fabrication de réseaux vasculaires tridimensionnels complexes. Les structures temporaires peuvent, après leur production, être utilisées pour réaliser le moulage rapide de constructions vascularisées avec des matériaux tels que du polydiméthylsiloxane (PDMS) ou des hydrogels chargés de cellules biologiques. De par la nature du matériel utilisé, les moules temporaires peuvent être facilement et rapidement dissous dans une solution aqueuse et laisser place à un réseau de canaux creux sans créer de rejets toxiques, ce qui représente un avantage majeur dans un contexte de bio-ingénierie.

Abstract

The overall goal of this broad research project, within which this master project took place, is to cure type 1 diabetes. We aim to produce a vascularized bioartificial pancreas that would be made of beta cells embedded in a hydrogel (*i.e.* insulin secreting cells). This organ would restore to type 1 diabetics the self-capacity to secrete insulin, thus to control in real time their glycaemia.

Vascularization is currently a major issue in the field of tissue engineering. Most tissues produced by TE are limited in thickness due to the lack of adequate vasculature. To engineer a tissue thicker than 400 μm , vascularization is mandatory for most of the cells to survive [1]. The lack of adequate vascularization leads to hypoxia and hinders cells to fulfill their functions.

This thesis presents the development and the commissioning of a 3D sugar glass extrusion apparatus for the vascularization of a bioartificial pancreas. This apparatus was developed at the “laboratoire de recherche sur les procédés d’impression 3D” and at the “bureau de design” in the mechanical engineering department of Université Laval. With this pioneering 3D printing technology, it is now possible to rapidly and precisely produce temporary sugar glass template that can then be used to produce complex 3D vascular networks. After the printing process, the temporary template is used as a mold for the rapid casting of vascularized constructs made with materials such as polydimethylsiloxane (PDMS) or cell-laden hydrogels. Due to the nature of the material used, the temporary lattices can be dissolved in an aqueous medium without releasing any cytotoxic byproducts and in a fast and easy fashion. This feature is a major advantage in the context of bioengineering.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	iv
Table des matières	v
Liste des tableaux	vii
Liste des figures	viii
Remerciements	xii
Avant-propos	xiii
Chapitre 1 Introduction	1
1.1 Définition du projet	4
1.1.1 Le génie tissulaire et ses limitations actuelles	6
1.1.2 Fabrication des tissus	7
1.2 Objectif et structure de ce mémoire	8
Chapitre 2 Revue de littérature	10
2.1 L'impression 3D	10
2.1.1 La fabrication par déposition de matière	11
2.1.2 Les applications médicales de l'impression 3D	11
2.2 La vascularisation de tissus issus du génie tissulaire	12
2.2.1 Stratégies permettant de vasculariser les tissus bioartificiels	12
2.2.2 La vascularisation de tissus à l'aide de structures temporaires de sucre	14
2.3 Le pancréas et le diabète	18
2.3.1 Le pancréas	18
2.3.2 Les îlots pancréatiques	20
2.3.3 Le diabète	22
2.3.4 Historique de la recherche sur diabète de type 1	23
Chapitre 3 Conception du prototype d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié	28
3.1 Cahier des charges	29
3.2 Élaboration du concept	32
3.3 Conception des principaux éléments de la tête d'impression	34
3.3.1 Le corps de la tête d'impression	36
3.3.2 Le chariot	43
3.4 Améliorations apportées à l'imprimante	46
Chapitre 4 Mise en service de l'imprimante	49
4.1 Préparation du matériel	49
4.2 Préparation nécessaire à l'impression	52
Chapitre 5 Caractérisation du procédé d'extrusion	58
5.1 Modèle théorique	58
5.2 Essais expérimentaux	63
5.2.1 Détermination des températures d'opération	64

5.2.2 Description des essais	64
5.2.3 Analyse des données expérimentales	66
5.3 Validation du modèle de prévision de l'extrusion	70
5.4 Bilan de la caractérisation du procédé d'extrusion	71
Chapitre 6 Réalisations obtenues grâce à l'impression de sucre vitrifié	73
6.1 Modèles 3D	73
6.2 Fabrication du réseau orthogonal	78
6.2.1 Treillis cubique	79
6.2.2 Impression du réseau orthogonal	80
6.2.3 Moulage rapide du réseau orthogonal	81
6.3 Fabrication et perfusion de réseaux vasculaires	83
6.3.1 Réseaux à une et trois branches	83
6.3.2 Perfusion des réseaux vasculaires à trois branches (en silicone)	84
6.3.3 Fabrication d'un réseau vasculaire tridimensionnel à quatre branches	86
6.3.4 Perfusion du réseau à quatre branches	88
6.4 Moulage rapide de blocs d'hydrogel vascularisés (sans cellules)	90
6.5 Bilan des réalisations obtenues avec le dispositif d'extrusion tridimensionnelle	91
Chapitre 7 Conclusion	92
7.1 Retour sur les objectifs initiaux et les résultats obtenus	93
7.2 Perspective pour la suite du projet	96
7.2.1 Autres applications au dispositif d'extrusion tridimensionnelle	96
Bibliographie	99

Liste des tableaux

Tableau 3.1 : Cahier des charges du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié. _____	30
Tableau 4.1 : Résumé des commandes G utilisées pour l'impression 3D de structures en sucre réalisées avec l'imprimante développée dans ce projet. _____	56
Tableau 5.1 : Rangée de filaments numéro 59 pour la caractérisation du dispositif d'extrusion tridimensionnelle. _____	66
Tableau 5.2 : Points de validation pour la validation du modèle. _____	70
Tableau 7.1 : Comparaison entre les valeurs visées au cahier des charges et les valeurs obtenues. _____	95

Liste des figures

Figure 1.1 : a) Dispositif Encaptra de ViaCyte reproduit avec permission. b) Dispositif β air de Beta-O ₂ reproduit avec permission [11].	4
Figure 1.2 : Méthodologie envisagée pour la fabrication d'un pancréas bioartificiel vascularisé.	8
Figure 2.1 : Photo d'un bloc de silicone perfusé avec du sang de rat (échelle approximative), adapté avec permission de [20].	14
Figure 2.2 : Schéma pneumatique permettant le contrôle de l'extrusion de sucre vitrifié de l'imprimante développée par Miller <i>et al.</i> [19].	16
Figure 2.3 : Structure temporaire en sucre vitrifié fabriquée par Miller et son équipe, adapté de [34].	16
Figure 2.4 : Schéma expliquant la méthode d'impression de filaments suspendus par Miller <i>et al.</i> [19]. 1. La seringue s'approche de la plaque de verre à l'extérieur du cadre de sucre vitrifié et extrude du sucre. 2. La seringue monte pour former un filament. 3. La seringue se déplace horizontalement pour étirer le filament. 4. La seringue redescend pour replier le filament sur le cadre.	16
Figure 2.5 : Blocs d'agarose (non vascularisé à gauche et vascularisé à droite) contenant des hépatocytes primaires de rats. Les cellules ont été colorées après huit jours de culture <i>in vitro</i> , les cellules vivantes sont colorées en vert et les mortes en rouge, adapté avec permission de [19].	17
Figure 2.6 : À gauche, une photo d'un bloc vascularisé de polydiméthylsiloxane (PDMS) avant l'implantation. À droite une photo d'un bloc vascularisé de PDMS prise immédiatement après l'anastomose à l'artère fémorale d'un rat, adapté avec permission de [35].	17
Figure 2.7 : Schéma de l'anatomie du pancréas (inspiré de [36,37,38]).	19
Figure 2.8 : Photographie d'un îlot pancréatique humain. Cette photo a pu être prise grâce à la générosité d'Éric Philippe, professeur au département d'anatomie et de physiologie de la Faculté de médecine de l'Université Laval qui a prêté cette tranche de pancréas monté sur une lame de microscope.	21
Figure 2.9 : Schéma d'un îlot pancréatique entouré de tissus acineux (inspiré de [4,36,38,39]).	21
Figure 2.10 : Dessin montrant une vue de coupe des villosités imaginées pour le prochain dispositif de macro-encapsulation de ViaCyte permettant d'optimiser la surface efficace pour la diffusion d'oxygène à l'intérieur de celui-ci, adapté de [44].	26
Figure 2.11 : Modélisation montrant les composants principaux du dispositif de macro encapsulation β air, adapté de [45].	26
Figure 2.12 : Dispositif de macro encapsulation Mailpan de la compagnie Defymed, reproduit avec permission.	26
Figure 3.1 : Photo d'une Airwol3D XL sans modifications.	29
Figure 3.2 : Seringue de verre Poulten & Graf GmbH de 20 ml utilisée comme réservoir pour le sucre vitrifié.	33
Figure 3.3 : Assemblage permettant de contrôler la température d'une seringue de verre pour les essais manuels d'extrusion de sucre vitrifié.	34
Figure 3.4 : Résultats des essais manuels d'extrusion.	34
Figure 3.5 : Photo de la tête d'impression de sucre vitrifié.	35
Figure 3.6 : Vue de coupe du sous-assemblage du corps de la tête d'impression.	36
Figure 3.7 : Schéma de la seringue et du support pour le calcul de pertes thermiques.	38
Figure 3.8 : Schéma de l'élément chauffant de la seringue.	40
Figure 3.9 : Schéma pneumatique du système de refroidissement.	41
Figure 3.10 : Photo montrant le positionnement des buses de refroidissement par rapport à la buse d'extrusion.	41

Figure 3.11 : Vue en coupe de la buse. _____	42
Figure 3.12 : Modélisation du sous-assemblage du chariot. _____	43
Figure 3.13 : Vue en coupe de la rotule. _____	44
Figure 3.14 : Vue de coupe du sous-assemblage du moteur. _____	45
Figure 3.15 : a) Modélisation de l'imprimante avec les modifications et les améliorations. b) Photographie de l'imprimante finale après les modifications et améliorations. _____	48
Figure 4.1 : Courbe typique de l'évolution de la température du mélange de glucose et de sucrose en fonction du temps pour la préparation du matériel en vue de l'impression. _____	52
Figure 4.2 : Sous assemblage de la seringue permettant l'aspiration du sirop. _____	53
Figure 4.3 : Sous-assemblage de la seringue après l'aspiration du sirop. _____	53
Figure 4.4 : Photos de la tête d'impression pendant son assemblage. a) Le sous-assemblage de la seringue a été placé dans le support et le système de refroidissement a été vissé au couvercle. b) Les guides, le chariot et le support des guides ont été remis en place et la butée du piston a été vissée dans la rotule. _____	54
Figure 4.5 : Photo de l'extrusion prise pendant la purge de la buse. _____	55
Figure 4.6 : Surplus de sucre vitrifié et filament extrudé lors de la purge de la buse. _____	55
Figure 5.1 : Schéma représentant l'extrusion de sucre vitrifié. _____	59
Figure 5.2 : Détail de l'écoulement du sirop dans le volume de contrôle 1. _____	60
Figure 5.3 : Schéma présentant l'irrégularité de la surface des filaments. _____	62
Figure 5.4 : Exemple de filaments extrudés utilisés pour la caractérisation du diamètre des extrusions. _____	65
Figure 5.5 : Données expérimentales obtenues où le ratio du diamètre du filament extrudé sur le diamètre de la buse (d_f/d_e) est tracé en fonction du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion à la sortie de la buse (V_f/V_e). _____	67
Figure 5.6 : a) Données expérimentales obtenues, ainsi que modèle de prédiction de l'extrusion où le ratio du diamètre du filament extrudé sur le diamètre de la buse (d_f/d_e) est tracé en fonction de l'inverse de la racine du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion (V_f/V_e) ^{-0.5} . b) Données expérimentales obtenues, ainsi que modèle de prédiction de l'extrusion où le ratio du diamètre du filament extrudé sur le diamètre de la buse (d_f/d_e) est tracé en fonction du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion (V_f/V_e). _____	68
Figure 5.7 : Écart type (σ_f) des séries en fonction du diamètre des filaments (d_f). _____	69
Figure 5.8 : Validation du modèle, les points de contrôle en fonction du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion. La zone grise représente la plage d'incertitude du modèle (plus ou moins 0.13 mm à 95%). _____	71
Figure 6.1 : a) Photo du lapin de Stanford original (une gracuseté du Stanford Computer Graphics Laboratory [55]). b) Rendu du fichier numérique une fois scanné [55]. c) Impression du lapin de Stanford en ABS à l'aide d'une imprimante Airwolf3D XL. d) Impression du lapin de Stanford en sucre vitrifié. _____	74
Figure 6.2 : a) Le lapin de Stanford en sucre vitrifié deux semaines après l'impression. b) Le lapin de Stanford en sucre vitrifié un mois après l'impression. _____	75
Figure 6.3 : a) La statue originale de sir Wilfrid Laurier en plâtre (Collections d'objets et spécimens de l'Université Laval). b) Rendu du fichier après le balayage numérique (réalisé par le Laboratoire de Vision et de Systèmes numériques de l'Université Laval). c) Reproduction de la statue en mousse de polyuréthane à l'aide d'une imprimante 3D à grande échelle (une gracuseté du Laboratoire de Robotique de l'Université Laval [56]). d) Reproduction de la statue en sucre vitrifié à l'aide du procédé développé dans ce projet. _____	77
Figure 6.4 : Modélisation 3D du réseau orthogonal devant être réalisé. _____	78
Figure 6.5 : a) Treillis cubique à un étage. b) Treillis cubique à quatre étages. _____	78

Figure 6.6 : Étapes de la fabrication du réseau orthogonal. a) Le réseau orthogonal pendant l'impression du premier étage de treillis cubique. b) Le réseau orthogonal pendant l'impression du deuxième étage de treillis cubique. c) Le réseau orthogonal à la fin de l'impression du deuxième étage de treillis cubique. d) Le réseau orthogonal immédiatement après l'impression (noter les filaments de support dans les rectangles pointillés rouges et l'entrée et la sortie du réseau dans les rectangles pointillés bleu). e) Le réseau orthogonal après avoir retiré les supports. f) Vue isométrique du réseau orthogonal après l'impression.	80
Figure 6.7 : Moulage rapide du réseau orthogonal en silicone. a) Structure temporaire en sucre vitrifié. b) Silicone coulé dans la structure temporaire en sucre vitrifié. c) Bloc de silicone à l'intérieur duquel on retrouve le réseau orthogonal, obtenu après avoir dissous le sucre vitrifié. d) Bloc de silicone avec le réseau orthogonal rempli d'eau colorée.	82
Figure 6.8 : Plusieurs versions de structures temporaires vasculaires. a) Version à une seule branche de 1 mm de diamètre (25 mm par 15 mm par 15 mm). b) Première version de bifurcation à trois branches de 1 mm de diamètre chacune (25 mm par 15 mm par 15 mm). c) Deuxième version de bifurcation à trois branches de 1 mm de diamètre (33 mm par 15 mm par 7.5 mm). d) Troisième version de bifurcation à trois branches de 1 mm de diamètre avec une entrée et sortie formées d'un seul filament de 2 mm de diamètre (40 mm par 15 mm par 7.5 mm).	83
Figure 6.9 : Perfusion manuelle d'un bloc de silicone à trois branches.	85
Figure 6.10 : Perfusion à l'aide d'une pompe péristaltique d'un bloc de silicone contenant un réseau vasculaire à trois branches.	85
Figure 6.11 : Série de photos prise à une seconde d'intervalle qui montrent la transition entre de l'eau sans colorant et de l'eau colorée pour la perfusion d'un bloc de silicone contenant un réseau à trois branches (les chiffres dans chaque photo indiquent le temps écoulé en secondes depuis le début de la série).	86
Figure 6.12 : Modélisation solide du nouveau réseau vasculaire tridimensionnel. a) Structure temporaire complète. b) Structure temporaire sans le cadre. c) Vue de dessus du réseau (échelle en mm). d) Vue de côté du réseau (échelle en mm).	87
Figure 6.13 : Réseau vasculaire tridimensionnel avec une bifurcation à quatre branches (40 mm par 15 mm par 7.5 mm). a) Structure temporaire en sucre vitrifié. b) Construction de silicone fabriquée par moulage rapide.	87
Figure 6.14 : Vue éclatée du dispositif de perfusion.	88
Figure 6.15 : Perfusion d'un bloc de silicone vascularisé à quatre branches.	89
Figure 6.16 : Série de photos prise à une seconde d'intervalle qui montrent la transition entre de l'eau non colorée et de l'eau colorée pour la perfusion d'un bloc de silicone contenant un réseau à quatre branches (les chiffres dans chaque photo indiquent le temps écoulé en secondes depuis le début de la série).	89
Figure 6.17 : a) Construction en agarose avec un réseau vasculaire à trois branches. b) Tentative de perfusion du bloc d'agarose.	91
Figure 7.1 : Différentes constructions microfluidiques. a) Moule d'une plaque contenant des microcanaux. b) Plaque de silicone contenant des microcanaux. c) Modèle microfluidique pour la simulation de l'écoulement dans un anévrisme.	97
Figure 7.2 : Fabrication d'une prothèse de visage. a) Vue de côté du moule temporaire en sucre vitrifié. b) Vue isométrique du moule temporaire en sucre vitrifié. c) Vue de côté de la construction en silicone. d) Vue isométrique de la construction en silicone.	98

À mes parents

*l'engagement est nécessaire
à l'accomplissement.*

Remerciements

Je souhaite d'abords remercier tous ceux qui m'ont aidé à réaliser mon mémoire. Merci à André Bégin-Drolet mon directeur de maîtrise, d'avoir su voir mon potentiel et de m'avoir donné ma chance. Sans toi, je ne serais certainement pas où j'en suis aujourd'hui! Je ne saurais pas comment te remercier suffisamment pour toute l'aide que tu m'as donnée. Merci aussi à Jean Ruel mon codirecteur. Je vois difficilement comment il aurait été possible d'avoir de meilleurs directeurs! Vous avez été si présent, motivant, aidant et vos judicieux conseils ont toujours su me diriger vers la solution!

Merci à mes collègues au bureau de design : Marc-André, Guillaume, Olivier, Jérôme et Marc-Antoine. Un merci tout particulier à Marc-Antoine Lepage qui m'a aidé à comprendre certains aspects de biologie, de physiologie et de médecine. Merci à Yves Jean et à Michel Dominique pour leur aide précieuse en électronique. Merci au professeur Éric Philippe qui a prêté une tranche de pancréas qui a permis de réaliser une photographie d'un îlot de Langerhans. Merci à Pierre Giovenazzo qui m'a gracieusement permis d'assister à son cours d'introduction à la physiologie humaine et pour avoir répondu à toutes mes questions. Merci à nos collaborateurs de l'Université McGill. Merci à Corinne Hoesli, Stephanie Fernandez et Richard Leask qui m'ont tellement aidé. Merci aussi à Mohamed, Mariève, Natalie, Raymond et Marc-Antoine pour leur aide et leur motivation lors de mon séjour à l'Université McGill. Merci aussi à Jordan Miller, à Leon M. Bellan, au Stanford Computer Graphics Laboratory, à la compagnie Beta-O₂, à la compagnie ViaCyte, ainsi qu'à la compagnie Defymed pour m'avoir permis de reproduire certaines de leurs figures dans mon mémoire.

Merci à India Tanguay-Doucet qui a amassé des fonds pour une bourse de Diabète Québec pour la recherche sur le diabète de type 1. C'est avec courage et motivation que cette jeune femme atteinte du diabète de type 1 a lancé une collecte de fonds. Je veux que tu saches que tu as fait une différence.

Finalement, merci à ma famille et à mes amis qui m'ont encouragé et qui m'ont offert leur support inconditionnel tout au long de ma maîtrise. Merci surtout pour votre patience dans les moments plus difficiles. Merci à Lucie, Gilles, Andréanne, Julie, David, Francis et à tous ceux que je pourrais oublier. Merci!

Avant-propos

Le projet dans lequel s'inscrit ce mémoire est le résultat d'une collaboration étroite entre le laboratoire de recherche sur les procédés d'impression 3D et le bureau de design du département de génie mécanique de l'Université Laval ainsi que le Stem Cell Bioprocessing Laboratory du département de génie chimique de l'université McGill.

Les travaux présentés dans ce mémoire ont principalement été réalisés au département de génie mécanique de l'Université Laval sous la direction des professeurs André Bégin-Drolet et Jean Ruel. Une partie de ces travaux ont cependant été réalisés au département de génie chimique de l'Université McGill au cours d'un stage de recherche à l'hiver 2016 durant lequel j'ai réalisé des expériences avec l'aide de Stéphanie Fernandez (à ce moment étudiante au doctorat) sous la supervision de la professeure Corinne Hoesli et du professeur Richard Leask.

Les résultats de ce projet de recherche ont mené à l'écriture d'un article scientifique et ont également été présentés dans le cadre de plusieurs conférences, colloques et congrès.

- Bégin-Drolet, A., Dussault, M.-A., Fernandez, S.A., Larose-Dutil, J., Leask R.L. Hoesli, C.A., et Ruel, J. « Design of a novel 3D printer head for additive manufacturing of sugar glass for tissue engineering applications ». Additive Manufacturing, soumis pour publication (juillet 2016).
- Dussault, M.-A., Bégin-Drolet, A. et Ruel, J. (Présentation) « Nouvelle méthode de fabrication de réseaux microfluidiques par moulage rapide ». 2^e symposium annuel du réseau de recherche en microfluidique de l'Université Laval, 3 juin 2016, Québec, Canada.
- Fernandez, S.A., Dussault, M.-A., Bégin-Drolet A, Ruel, J., Leask, R.L. et Hoesli, C.A. (Résumé de conférence) « Towards the fabrication of a 3D printed vascularized islet transplantation device for the treatment of type 1 diabetes ». Frontiers Bioengineering Biotechnology, 10th World Biomaterials Congress, 30 mars 2016, Montréal, Canada.
- Fernandez, S.A., Dussault, M.-A., Bégin-Drolet, A., Ruel, J., Leask, R.L. et Hoesli, C.A. (Affiche) « *Development of a 3D printed vascularized artificial pancreas to overcome hypoxia in encapsulated islets* ». 10^e retraite annuelle du CDRM, 6 février 2016, Montréal, Canada.

- Fernandez, S.A., Dussault, M.-A., Bégin-Drolet, A., Ruel, J., Leask, R.L. et Hoesli, C.A. (Affiche) « *Impression 3D d'un pancréas artificiel vascularisé pour minimiser l'hypoxie d'îlots pancréatiques encapsulés* ». 6^e assemblée générale annuelle du réseau ThéCell, 14 novembre 2014, Sherbrooke, Canada.
- Fernandez, S.A., Dussault, M.-A., Bégin-Drolet, A., Ruel, J., Leask, R.L. et Hoesli, C.A. (Présentation) « *Impression 3D d'îlots pancréatiques encapsulés et immobilisés dans des hydrogels pour le traitement cellulaire du diabète* ». Centre québécois sur les matériaux fonctionnels (CQMF), Symposium annuel, 6-7 novembre 2014, Shawinigan, Canada.

Chapitre 1

Introduction

Il est estimé qu'en 2013, 382 millions de personnes étaient atteintes du diabète et que 10.8 % des dépenses mondiales en santé, soit environ 548 milliards de dollars américains, étaient liées à cette maladie [2]. Le diabète est une maladie qui empêche la régulation normale de la glycémie. Il est caractérisé par un taux élevé de glycémie dans le sang (hyperglycémie) et par la présence de sucres dans l'urine (glycosurie). Chez une personne saine, l'insuline est produite sur demande par les cellules bêta (β) et permet le contrôle de la glycémie. Les cellules β sont situées au cœur des îlots de Langerhans du pancréas (îlots pancréatiques) et sécrètent l'insuline dans le sang en réaction au niveau de glucose dans le sang. Lorsque le taux de glucose est élevé, les cellules β sécrètent de l'insuline. Une fois dans le sang, les molécules d'insuline s'attachent à des récepteurs hormonaux situés sur la membrane des cellules des tissus cibles. Lorsqu'une molécule d'insuline s'attache à un récepteur d'une cellule, la cellule l'interprète comme un message lui indiquant d'absorber le sucre présent dans le sang. L'hormone d'insuline agit ainsi comme une clé qui ouvre une serrure à la surface des cellules et qui permet ainsi au glucose d'entrer à l'intérieur de la membrane cellulaire.

Or, lorsqu'une personne est diabétique, le signal hormonal du pancréas ne se rend pas aux cellules des tissus cibles soit à cause d'une sécrétion insuffisante d'insuline des cellules β , soit à cause d'une résistance des tissus cibles à l'insuline ou d'une combinaison de ces deux phénomènes. Il existe deux principaux types de diabète : le diabète de type 1 et le

diabète de type 2. Le plus répandu est le diabète de type 2, il est caractérisé principalement par une résistance à l'insuline. Il peut souvent être contrôlé grâce à un régime alimentaire équilibré et une bonne dose d'activité physique, mais dans beaucoup de cas il est nécessaire d'administrer des injections quotidiennes d'insulines afin de le traiter [3]. Le diabète de type 1, qui se déclare pour la plupart des cas pendant l'enfance, représente environ 15 % des cas de diabète [4]. Il est insulino-dépendant et doit impérativement être traité par l'injection quotidienne d'insuline. Les causes et les origines du diabète de type 1 sont méconnues, mais il s'agit d'une maladie auto-immune durant laquelle les cellules β produisant l'insuline sont détruites suite à un dérèglement du système immunitaire par apoptose [5]. Cette destruction, graduelle et irréversible, entraîne invariablement l'hyperglycémie, le coma diabétique puis la mort s'il n'est pas traité. Actuellement, cette forme de diabète ne peut être contrôlée que par l'injection quotidienne d'insuline ou, dans des cas particuliers, par la transplantation d'îlots pancréatiques, ce qui permet aux personnes atteintes du diabète de type 1 de survivre. L'injection d'insuline est une thérapie très contraignante, car elle impose aux personnes atteintes de surveiller leur alimentation pour toute la durée de leur vie (calculer la quantité de glucides absorbée), de mesurer leur glycémie et de s'injecter de l'insuline plusieurs fois par jour. La thérapie par transplantation d'îlots est également très contraignante notamment puisqu'elle force les patients traités à utiliser des immunosuppresseurs.

Afin de guérir le diabète de type 1, il faudrait premièrement être en mesure de redonner aux patients la capacité de sécréter de l'insuline par eux-mêmes, soit en leur greffant des îlots pancréatiques venant de donneurs décédés ou encore en générant des cellules β à partir d'autres cellules. La greffe d'îlots pancréatiques est contrainte par une réaction immunitaire peu importe la provenance de la greffe. Le système immunitaire attaque les cellules β , qu'elles soient autologues ou non. Il faut donc, en plus de greffer des cellules β , les protéger du système immunitaire soit à l'aide de la prise d'immunosuppresseurs, soit en encapsulant les îlots dans un matériau protégeant les cellules du système immunitaire, mais permettant tout de même à l'oxygène et aux nutriments de se rendre aux cellules.

Les seuls traitements possibles pour le diabète de type 1 sont la transplantation du pancréas ou la greffe d'îlot pancréatique [6]. La transplantation pancréatique est un traitement très invasif, qui comporte son lot de risques et qui nécessite la prise à vie d'immunosuppresseurs. De plus, le manque de donneurs et la nécessité de trouver un receveur et un donneur compatibles rendent l'accès à la transplantation difficile même pour

les patients éligibles [6]. La deuxième possibilité, moins invasive, est la greffe d'îlots pancréatiques. Ce traitement, bien que très prometteur, car il permettrait potentiellement de guérir le diabète de type 1, est sujet à deux limitations majeures qui limitent grandement son accessibilité : encore une fois, le manque de donneurs (chaque greffe nécessite généralement des îlots provenant d'au moins deux pancréas) et la prise d'immunosuppresseurs pour prévenir les attaques du système immunitaire [7]. Le protocole d'Edmonton décrit une technique permettant de greffer des îlots pancréatiques [7,8]. Cette technique a permis à environ 60 % des patients greffés d'être non insulino-dépendant pendant une période allant jusqu'à deux ans [8]. Bien que les résultats soient encourageants, la greffe d'îlots pancréatiques reste peu profitable puisque les problèmes associés au diabète sont remplacés par d'autres associés à la prise d'immunosuppresseurs, ainsi qu'à la longévité limitée du greffon [8].

En considérant la croissance importante du nombre de cas de diabète [2], il devient primordial d'envisager des traitements accessibles et moins contraignants permettant de guérir cette maladie. Le premier problème à résoudre provient de l'accessibilité restreinte aux îlots pancréatiques de donneurs. Une solution serait de différencier des cellules souches afin de générer des cellules β . Cette solution permettrait non seulement de combler le manque de donneurs, mais simplifierait aussi grandement l'accès aux cellules β . Plusieurs méthodes permettent maintenant de différencier certains autres types de cellules en cellules β . Notamment, les travaux de Klein *et al.* [9], présentent une nouvelle technique permettant de reprogrammer des cellules exocrines du pancréas en cellules endocrines afin qu'elles puissent produire de l'insuline, et ce sans avoir recours à la manipulation génétique.

Un autre problème majeur provient de la nécessité de prendre des immunosuppresseurs suite à une greffe. L'encapsulation des cellules fait partie des options prometteuses qui pourrait permettre de corriger ce problème. Dans cette approche, des îlots de cellules β sont encapsulés dans un matériau tel que l'alginate, qui est perméable à l'oxygène et aux nutriments, tout en empêchant une réaction auto-immune [10]. Les matériaux utilisés pour encapsuler les cellules permettent à l'oxygène de se diffuser de l'extérieur vers l'intérieur de la capsule. Ainsi, les cellules en périphérie reçoivent plus d'oxygène que celles situées au centre, ce qui limite la taille des tissus qui peuvent être fabriqués avec cette méthode. La quantité d'oxygène disponible pour les cellules β dépend de la taille des capsules, mais aussi de la densité des capsules (volume occupé par des cellules β divisé par le volume total) et de la proximité d'une source d'oxygène (vaisseau sanguin) [10].

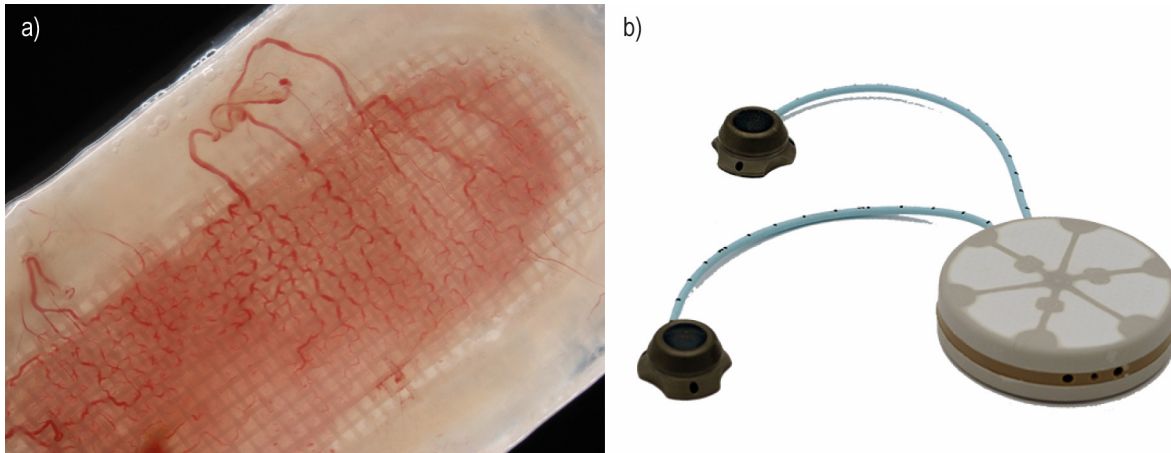


Figure 1.1 : a) Dispositif Encaptra de ViaCyte reproduit avec permission. b) Dispositif β air de Beta-O₂ reproduit avec permission [11].

Les cellules β ont besoin d'une grande quantité d'oxygène pour survivre [12] et pour cette raison, il est difficile d'assurer la survie des cellules une fois encapsulées. Les compagnies ViaCyte et Beta-O₂ ont, toutes les deux, développé des dispositifs ingénieux de macro encapsulation qui permettent d'oxygéner les cellules. Ces dispositifs sont présentés à la Figure 1.1. Le dispositif de ViaCyte attire la formation de vaisseaux sanguins autour du dispositif d'encapsulation grâce à des signaux envoyés par des cellules β . Le dispositif de Beta-O₂ nécessite quant à lui une injection régulière d'oxygène dans le dispositif à l'aide d'une seringue. Ces deux dispositifs montrent un bon potentiel et sont actuellement au stade d'essai clinique. Cependant, la quantité d'îlots pancréatiques qu'ils contiennent est insuffisante pour contrôler la glycémie d'un adulte [7,13]. Ces dispositifs pourraient être utilisés pour traiter certains cas de diabète de type 2 puisqu'ils ont généralement besoin de s'injecter une moins grande quantité d'insuline. Le développement d'un dispositif d'encapsulation d'îlots pancréatiques permettant contrôler la glycémie d'un diabétique de type 1 reste toujours un défi de taille au cœur de la communauté scientifique.

1.1 Définition du projet

L'objectif du projet de recherche dans lequel s'inscrit ce mémoire est de fabriquer un pancréas bioartificiel formé d'îlots pancréatiques constitués de cellules β sécrétant de l'insuline, dans le but de développer un traitement curatif pour les patients atteints du diabète de type 1.

Le pancréas bioartificiel envisagé serait formé de cellules souches pluripotentes (tel que décrit par Takahashi et Yamanaka [14]). Ces cellules seraient par la suite différenciées en cellules β afin qu'elles sécrètent de l'insuline. Pour qu'un tel organe permette de guérir à long terme le diabète de type 1, il doit être protégé de la réaction auto-immune du système immunitaire présente chez les patients atteints par la maladie. Il s'agit d'un des défis majeurs du projet. L'approche envisagée consiste à encapsuler des îlots de cellules β à l'intérieur de petites billes d'alginate (entre 300 μm et 1000 μm). Les capsules ainsi formées seront résistantes au système immunitaire tout en étant perméables à l'oxygène, aux nutriments nécessaires à la survie des cellules ainsi qu'aux déchets rejetés par celles-ci. L'équipe de la professeure Corinne Hoesli du département de génie chimique de l'université McGill mène présentement un important programme de recherche en vue de créer un tel pancréas bioartificiel. Notre équipe à l'Université Laval travaille conjointement avec l'équipe de la professeure Hoesli pour résoudre ce défi. Plusieurs recherches, dont les travaux de la professeure Hoesli, ont déjà démontré qu'il est possible de corriger l'hyperglycémie de souris diabétiques en leur greffant des cellules β allogéniques (provenant d'autres individus) encapsulées dans ces billes [10,15]. Dans le modèle de Hoesli *et al.* [15], les souris n'étaient pas diabétiques de type 1, leurs cellules β avaient plutôt été tuées par une injection chimique. De plus, les cellules β encapsulées étaient en fait des cellules cancéreuses qui se reproduisent sans cesse. Il reste encore beaucoup de chemin à faire afin de rendre ce modèle transférable à l'humain. Le défi principal reste toujours de protéger les cellules des attaques du système immunitaire, et ce sans qu'elles ne manquent d'oxygène dans un dispositif capable de réguler la glycémie d'un adulte.

Dans ce contexte, les capsules seront immobilisées dans un tissu vascularisé afin d'assurer un taux d'oxygénation suffisant sans diminuer la densité des cellules β dans les capsules. Cependant, la vascularisation de tissus bioartificiel *in vitro* est actuellement un enjeu majeur dans le domaine du génie tissulaire. Puisqu'aucune technique actuelle ne permet de vasculariser un tel tissu, une nouvelle technique permettant de fabriquer des réseaux vasculaires sur mesure dans le but de vasculariser un pancréas bioartificiel a dû être développée et est présentée dans ce mémoire. Cette technologie a été conçue dans le but de fabriquer les tissus rapidement afin qu'il soit possible de les perfuser le plus rapidement possible après leur fabrication. En effet, les cellules β consomment une quantité importante d'oxygène, ce qui les rends sujettes à l'hypoxie si elles ne sont pas correctement oxygénées [16].

1.1.1 Le génie tissulaire et ses limitations actuelles

Le génie tissulaire est une discipline qui s'intéresse aux tissus biologiques dans le but de comprendre les relations entre leurs fonctions et leurs structures ainsi que pour développer des substituts de tissus biologiques. Il s'agit d'un domaine de recherche multidisciplinaire ayant comme objectif de développer des procédés visant à maintenir, réparer, améliorer ou remplacer des tissus ou des organes. La composition des tissus d'ingénierie varie des matériaux biocompatibles synthétiques, aux tissus constitués uniquement de cellules vivantes. Parmi les tissus vivants que l'on peut fabriquer, on retrouve notamment la peau, la cornée et le cartilage [1]. Une des principales limitations quant à la fabrication de tissus vivants provient de la difficulté de les vasculariser, c'est-à-dire de créer un réseau interne permettant la circulation sanguine. La plupart des tissus vivants nécessitent d'être vascularisés afin que leurs cellules puissent être alimentées en oxygène et en nutriments et qu'elles puissent évacuer les déchets qu'elles produisent. L'épaisseur maximale des tissus biologiques pouvant être fabriqués est fortement limitée par la vascularisation de ceux-ci. Selon Auger *et al.* [1], il n'est généralement pas possible de fabriquer un tissu dont l'épaisseur dépasse 400 µm sans qu'il soit nécessaire de le vasculariser.

De nombreuses méthodes de fabrication de tissus biologiques ont été explorées dans le but de les vasculariser [1]. Bien que quelques-unes de ces méthodes semblent très prometteuses, la plupart sont limitées quant à leurs applications ou aux géométries des tissus qu'elles permettent de créer (ces différentes techniques sont présentées plus en détail dans le chapitre 2). L'utilisation d'échafaudages temporaires (*i.e.* des supports permettant de maintenir des cellules dans une certaine configuration) pour la fabrication de tissus est une avenue intéressante qui a déjà permis de former des réseaux vasculaires à l'intérieur de tissus conçus par le génie tissulaire pendant leur culture *in vitro* [17,18]. Dans cette méthode, une structure est utilisée en guise d'échafaudage pour les cellules. Elle a pour avantage de permettre de créer des géométries similaires à celles retrouvées dans les tissus biologiques naturels. Cependant, les tissus fabriqués avec cette méthode ont souvent tendance à rejeter des substrats toxiques [1] durant la dégradation de leur matériel. De plus, leurs propriétés mécaniques ne correspondent souvent pas aux tissus environnants ce qui peut en affecter la fonction et bien souvent, les tissus fabriqués présentent des risques de rejet suite à une greffe [1]. En utilisant un matériau biocompatible pouvant être dissout

facilement et rapidement (pas plus de quelques heures) qui ne laisserait aucun rejet néfaste à court et long terme dans l'organisme, il serait possible d'améliorer grandement la survie des cellules dans plusieurs types de tissus issus du génie tissulaire.

Miller *et al.* [19] ont proposé une méthode prometteuse pour la vascularisation des organes : le moulage rapide « *rapid casting* ». Cette méthode consiste à utiliser l'impression 3D pour fabriquer une structure temporaire en sucre vitrifié qui est dissoute une fois que des cellules ont été positionnées et maintenues en place autour d'elle. Leurs travaux ont démontré qu'il est possible de vasculariser un tissu vivant en utilisant une telle technique. Ils ont aussi observé une nette amélioration du taux de survie des cellules en perfusant les tissus (les travaux de Miller *et al.* [19] sont abordés plus en détail au chapitre 2). Cette méthode est donc apparue comme étant la meilleure pour vasculariser un pancréas bioartificiel. Le sucre est non seulement un matériau biocompatible, mais il est aussi très facile à dissoudre dans un milieu aqueux.

1.1.2 Fabrication des tissus

La Figure 1.2 présente un schéma de la méthodologie qui est envisagée pour la fabrication d'un pancréas bioartificiel vascularisé. Cette méthodologie permettra d'assurer la longévité des tissus créés par bio-ingénierie et assurera la diffusion d'insuline dans le sang. Elle est divisée en quatre étapes principales :

1. fabriquer une structure temporaire en sucre vitrifié à l'aide d'une technique de fabrication additive;
2. couler une émulsion de gel et d'îlots encapsulés dans la structure et laisser le gel se solidifier pour immobiliser les cellules;
3. dissoudre la structure temporaire de sucre pour laisser place à un réseau vasculaire de canaux creux;
4. Perfuser le pancréas bioartificiel avec du milieu de culture (liquide contenant tous les nutriments nécessaires pour la culture cellulaire *in vitro*).

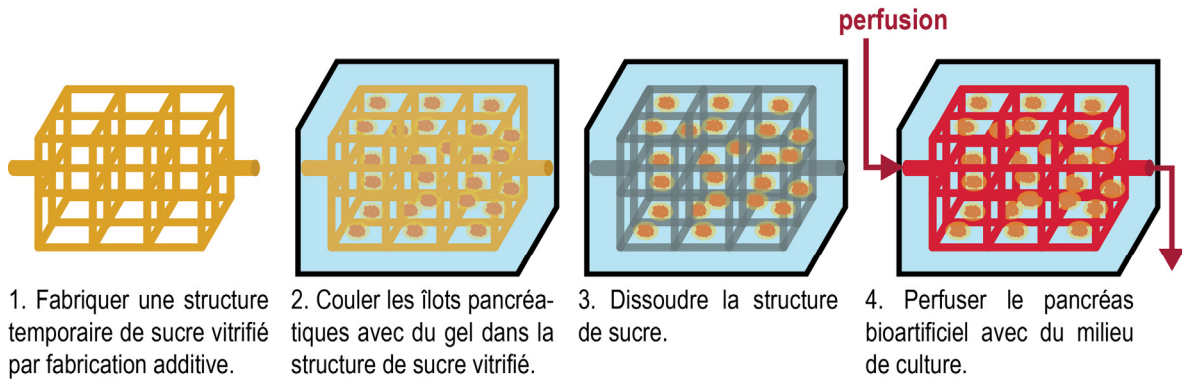


Figure 1.2 : Méthodologie envisagée pour la fabrication d'un pancréas bioartificiel vascularisé.

1.2 Objectif et structure de ce mémoire

Ce mémoire se concentre sur le développement et la mise en service d'un prototype de dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié. L'objectif de ce dispositif est de construire des structures temporaires imitant des réseaux vasculaires par impression 3D pour les utiliser à la manière de Miller *et al.* [19] afin de faire des moules rapides de pancréas bioartificiels vascularisés. Le dispositif a été développé en se basant sur une technologie d'impression 3D existante : la fabrication par dépôt de matière (FDM de l'anglais : « *fused deposition modeling* »). Il a permis de fabriquer des structures de sucre imitant des réseaux vasculaires tridimensionnels complexes.

Des informations complémentaires au sujet de ce mémoire sont présentées au Chapitre 2. Tout d'abord, une brève revue de littérature sur l'impression 3D y est présentée. Elle est suivie par une description des travaux de Bellan *et al.* [20] et Miller *et al.* [19] qui ont travaillé sur l'utilisation de structures temporaires en sucre pour la vascularisation de tissus. Finalement, une description de l'anatomie et de la physiologie du pancréas ainsi qu'une description du diabète scellent ce chapitre.

Le Chapitre 3 présente une description du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié qui a été développé dans le cadre de ce projet. Le cahier des charges du projet y est présenté ainsi que les détails de la conception du dispositif lui-même.

Suite à la conception et à la sélection des différentes composantes, le prototype a été fabriqué et mis en service. Le Chapitre 4 présente la méthode de préparation du matériel d'impression ainsi que les étapes nécessaires à l'utilisation du dispositif.

Le Chapitre 5 traite des expériences qui ont été menées afin de déterminer les conditions adéquates de fonctionnement de l'imprimante. Un modèle utilisé pour compenser le diamètre des filaments extrudés en fonction de la vitesse de déplacement de la tête d'impression et de la vitesse d'extrusion du matériel est également présenté dans ce chapitre.

Suite à la caractérisation de l'imprimante, il a été possible d'imprimer des géométries complexes. Les impressions qui ont été réalisées sont présentées au Chapitre 6. On y voit des réseaux vasculaires ainsi que des modèles d'objets tridimensionnels.

La conclusion présentée au Chapitre 7 résume les contributions du projet. Elle présente aussi un aperçu des différentes applications potentielles du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié.

Chapitre 2

Revue de littérature

Ce chapitre présente une revue de littérature sur l'impression 3D, la vascularisation dans le génie tissulaire et sur le pancréas et le diabète. Il ne s'agit pas d'une revue exhaustive, mais plutôt d'une mise en contexte nécessaire à la compréhension du projet de recherche dans lequel s'inscrit ce mémoire.

2.1 L'impression 3D

L'impression 3D a vu le jour en 1984. Cette percée technologique est due en grande partie à la contribution remarquable de Charles Hull qui en détient le premier brevet [21]. Cette technologie permet de fabriquer rapidement des objets directement à partir de modèles 3D numériques sans avoir besoin de plans et de programmes d'usinage [21]. Les imprimantes 3D fonctionnent comme les imprimantes conventionnelles, mais plutôt que d'imprimer avec de l'encre, elles impriment avec des matériaux solides, couche par-dessus couche, jusqu'à l'obtention de l'objet désiré. Les différentes technologies de fabrication additive permettent de fabriquer facilement des objets à géométries complexes, souvent impossibles à fabriquer à l'aide de méthodes de fabrication conventionnelles.

Le domaine de la fabrication additive vit actuellement une période de croissance fulgurante [22]. Il est maintenant possible d'imprimer avec une quantité toujours grandissante de matériaux à l'aide de nombreuses techniques. Il existe notamment : la stéréolithographie « *stereolithography apparatus* » (SLA) qui permet d'imprimer à partir de diverses résines liquides pouvant être polymérisée grâce à de la lumière ou à de la chaleur, la fabrication par déposition matière « *fuse deposition modeling* » (FDM) qui permet d'imprimer avec des filaments de polymères tels que l'ABS (acrylonitrile butadiène styrène)

et le PLA (acide polylactique), le frittage sélectif par laser « *selective laser sintering* » (SLS) qui permet d'imprimer à partir de matériaux en poudre comme des métaux et des polymères.

En 2005, le projet RepRap, toujours en cours, a été lancé par Adrian Bowyer [23]. Il avait pour but la création d'une imprimante 3D pouvant se répliquer par elle-même de sorte que quelqu'un en possédant une puisse en fabriquer d'autres. Ce projet a été le premier à créer une imprimante libre de droits et abordable [23]. On trouve aujourd'hui des centaines d'imprimantes 3D RepRap sur le marché et grâce à ce projet, il est accessible à tous de concevoir sa propre imprimante RepRap ou d'en modifier une.

2.1.1 La fabrication par déposition de matière

La technique FDM est probablement la technologie d'impression 3D la plus répandue. Cette technologie a été inventée par Scott Crump, le fondateur de la compagnie Stratasys, il y a un peu plus de vingt ans [24]. Cette technique est relativement simple et les matériaux qu'elle utilise sont pour la plupart faciles à produire, à entreposer et à recycler. De plus, ils sont en général beaucoup moins dispendieux que les matériaux des autres types d'imprimantes 3D.

Les imprimantes basées sur la technologie FDM utilisent habituellement des bobines de filaments de plastiques comme matériaux de base pour réaliser leurs impressions. Le filament est acheminé à la tête d'impression par un système mécanique qui est entraîné à l'aide d'un moteur pas-à-pas ou d'un servomoteur. Ce système mécanique sert à forcer le filament dans un élément chauffant qui l'amène à la température d'extrusion désirée. Le filament est ensuite extrudé plus ou moins rapidement à travers une buse qui se déplace sur trois axes (X, Y et Z) pour déposer, couche par-dessus couche, le matériel et ainsi former un objet tridimensionnel.

2.1.2 Les applications médicales de l'impression 3D

Les premières applications médicales de l'impression 3D ont eu lieu au début des années 2000 pour fabriquer des implants dentaires [25]. Les applications ont évolué et se sont diversifiées, et il est maintenant possible de fabriquer des articulations en titane sur mesures en se basant sur la morphologie du patient plutôt que d'utiliser des modèles standards qui

ne pourraient jamais s'adapter parfaitement [26]. On imprime maintenant des versions miniatures et simplifiées d'organes avec des cellules vivantes [27]. La capacité de fabriquer des organes complets permettrait certainement d'éliminer de nombreux décès attribués au manque de dons d'organes. Pour y arriver, il sera nécessaire de vasculariser ces organes puisqu'il s'agit d'un des plus grands facteurs limitants [1] et c'est l'impression 3D qui semble être la technologie la mieux placée pour permettre d'être un jour en mesure de fabriquer des organes complexes [28].

2.2 La vascularisation de tissus issus du génie tissulaire

La vascularisation de tissus bioartificiels est très importante puisque sans celle-ci, les tissus ne peuvent s'étendre principalement que sur deux dimensions. La cause principale de cette limitation est due au fait que l'oxygène ne peut se diffuser à plus de 150 à 200 μm à l'intérieur de tissus non vascularisés [29]. Cependant, dans certains cas bien précis, des tissus comme la cornée et le cartilage peuvent ne pas nécessiter d'être vascularisés puisqu'ils sont déjà avasculaires en temps normal. La taille maximale de ces tissus reste tout de même limitée [1]. Certains tissus peuvent aussi être générés *in vitro* sans vascularisation et être greffés rapidement. Suite à la greffe, le système vasculaire de l'hôte croît dans le greffon, ce qui assure sa viabilité à long terme. C'est le cas de la peau où il est possible de greffer des tissus non vascularisés ayant une épaisseur supérieure à 400 μm puisque la vascularisation se fait *in vivo* à l'intérieur de quelques semaines [30].

2.2.1 Stratégies permettant de vasculariser les tissus bioartificiels

Plusieurs techniques ont été développées dans le but de vasculariser les tissus bioartificiels. La bioimpression est l'une d'entre elles. Cette technique fait appel à l'impression 3D et permet de fabriquer des tissus avec des géométries spécifiques, en contrôlant la position, la densité et le type de cellules en fonction de l'emplacement dans le tissu [1]. Une des techniques de bioimpression utilise des mélanges d'hydrogel et de cellules. Dans cette technique, l'hydrogel sert de support aux cellules pendant l'impression. L'imprimante dépose couche par-dessus couche des filaments d'hydrogels extrudés à la manière d'une imprimante FDM. Une autre technique fait appel à des imprimantes à jet d'encre modifiées.

Ces imprimantes permettent d'imprimer directement avec des cellules plutôt qu'avec de l'encre [31]. La bioimpression reste pour l'instant relativement lente et plus la précision demandée est grande, plus les impressions sont lentes [28]. Puisque cette technologie imprime avec des cellules, l'impression est limitée par le temps, car pendant l'impression, les cellules ne sont généralement pas dans un environnement idéal et si le temps d'impression est trop long, leur survie est compromise. Ainsi, la vitesse des bioimprimantes est un des facteurs limitant la taille des tissus qu'elles peuvent fabriquer [28]. De plus, cette technique produit souvent des tissus aux propriétés mécaniques faibles. En effet, l'adhérence entre les cellules est souvent trop faible pour supporter les conditions *in vivo* [1].

Une autre technique fait appel à l'utilisation de structure de support en guise d'échafaudage pendant la culture *in vitro*. La première mention de la formation de structure semblable à des capillaires *in vitro* a été rapportée par Black *et al.* [17] en 1998. Dans leur étude, ils ont fabriqué de la peau vascularisée en infusant trois types de cellules dans une structure polymérique : des kératinocytes, des fibroblastes dermiques et des cellules endothéliales de veines ombilicales humaines « *Human Umbilical Vein Endothelial Cells* » (HUVEC). Ils ont pu observer la formation spontanée de structures semblables à des capillaires pendant la culture *in vitro*. Levenberg *et al.* [32] ont réussi à fabriquer un muscle squelettique vascularisé *in vitro* en infusant des HUVEC dans une structure très poreuse et biodégradable faite d'acide polylactique (PLLA) et de poly(acide lactique-co-glycolique) (PLGA). Les structures de supports de ces tissus posent cependant souvent des problèmes une fois qu'ils sont implantés *in vivo*. En effet, les tissus sont souvent confrontés à des réponses immunitaires et au rejet à cause de rejets toxiques dûs à la dégradation de leurs matrices [1]. L'utilisation d'une matrice temporaire facile à dissoudre pendant la culture *in vitro* et qui ne laisserait aucun déchet toxique dans les tissus permettrait certainement d'améliorer la biocompatibilité de ces tissus.

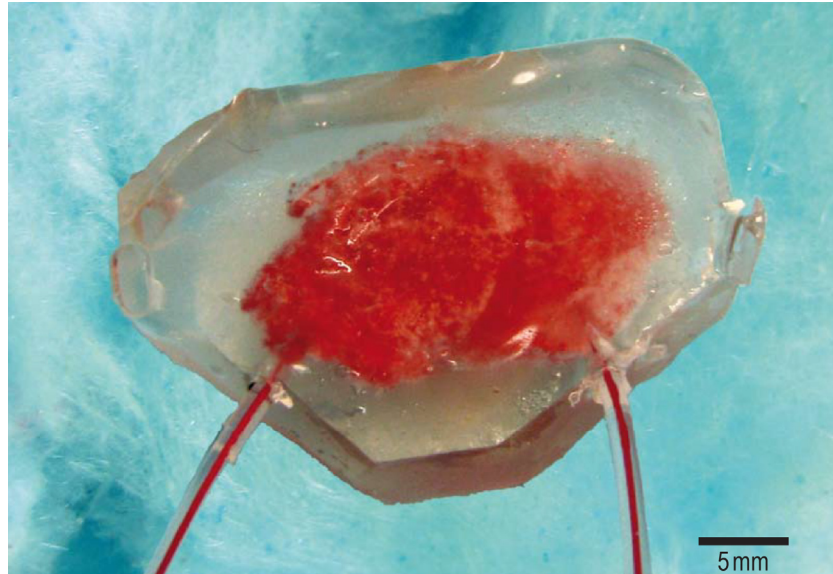


Figure 2.1 : Photo d'un bloc de silicone perfusé avec du sang de rat (échelle approximative), adapté avec permission de [20].

2.2.2 La vascularisation de tissus à l'aide de structures temporaires de sucre

C'est dans cette optique que Bellan *et al.* [20] ont proposé en 2009 d'utiliser un réseau de filaments de sucre dans le but de vasculariser des tissus. Le sucre a l'avantage d'être cytocompatible et il peut être facilement dissous dans un milieu aqueux sans l'utilisation de produits toxiques.

Ils ont utilisé des filaments de sucre étirés (de la barbe à papa) afin d'imiter un réseau vasculaire avec des canaux ayant une taille et une densité similaire à un réseau de capillaires. La Figure 2.1 présente un bloc de silicone fabriqué par Bellan *et al.* [20]. Le bloc a été moulé en utilisant des filaments de sucre reliés à deux plus gros filaments pour former une entrée et une sortie. Une fois le sucre dissous, le bloc a été perfusé avec du sang de rat. Ils ont pu remarquer une circulation relativement uniforme dans tout le bloc à des débits similaires à ce qui peut être observé à cette échelle *in vivo*. Plus récemment, le groupe de Bellan (Lee *et al.* [33]) a fabriqué des blocs d'hydrogel vascularisés contenant des cellules en utilisant la méthode développée. Leurs essais ont démontré que jusqu'à 96 % des

cellules étaient toujours vivantes après sept jours de culture *in vitro* lorsque les blocs étaient perfusés avec du milieu de culture par rapport à 60 % lorsqu'ils ne l'étaient pas.

En 2012, Miller *et al.* [19] ont publié un article dans lequel ils décrivaient une nouvelle technique permettant de fabriquer rapidement des tissus vascularisés contenant des cellules vivantes. Ils ont développé une imprimante 3D permettant d'imprimer des structures temporaires de sucre vitrifié. Ces structures temporaires avaient pour objectif d'être utilisées pour mouler des tissus vascularisés par moulage rapide tel qu'il est décrit à la section 1.1.1. Cette imprimante a été développée en se servant d'une imprimante issue du projet RepRap. La tête d'impression a été remplacée par une seringue de verre de 50 ml maintenue à 110 °C. L'extrusion du sirop contenu dans la seringue, fait de glucose, de sucrose et de dextran, était contrôlée par une pression d'azote à la surface libre de la seringue tel qu'illustré à la Figure 2.2. Ils ont imprimé des structures en sucre vitrifié imitant des réseaux vasculaires. Un exemple des constructions imprimées par l'équipe de Miller est présenté à la Figure 2.3. Les filaments suspendus qui forment le réseau vasculaire ont été fabriqués en suivant la méthode décrite à la Figure 2.4. Du sucre était d'abord extrudé directement sur la vitre à l'extérieur du cadre de sucre préalablement imprimé ; un filament était ensuite extrudé en élevant la seringue ; la seringue était ensuite déplacée horizontalement pour étirer le filament ; finalement, le filament était replié sur le cadre en abaissant la seringue sur la plaque de verre. Une fois la structure vasculaire fabriquée, certains des filaments étaient coupés à l'aide d'un fer à souder de sorte qu'il n'y ait qu'une seule entrée et une seule sortie au réseau vasculaire. Ils ont par la suite pu mouler, dans un bloc, un mélange de gel et de cellules autour des constructions temporaires en sucre. Une fois le sucre dissous, le bloc a été perfusé et la perfusion a résulté en une augmentation de la survie des cellules situées près des canaux par rapport à celles situées dans un bloc non vascularisé. Ceci démontre clairement la nécessité et les bénéfices associés à la vascularisation des tissus. La Figure 2.5 tirée de [19] montre la répartition des cellules vivantes et mortes dans un bloc d'alginate non vascularisé et dans un bloc vascularisé. Les cellules situées près des surfaces externes du bloc et près des canaux restent vivantes en raison de la diffusion de l'oxygène en provenance des canaux du bloc. Cette expérience a permis de faire la preuve de concept de cette technique. Cependant, l'imprimante développée par Miller *et al.* [19] permet seulement de construire des réseaux vasculaires bidimensionnels.

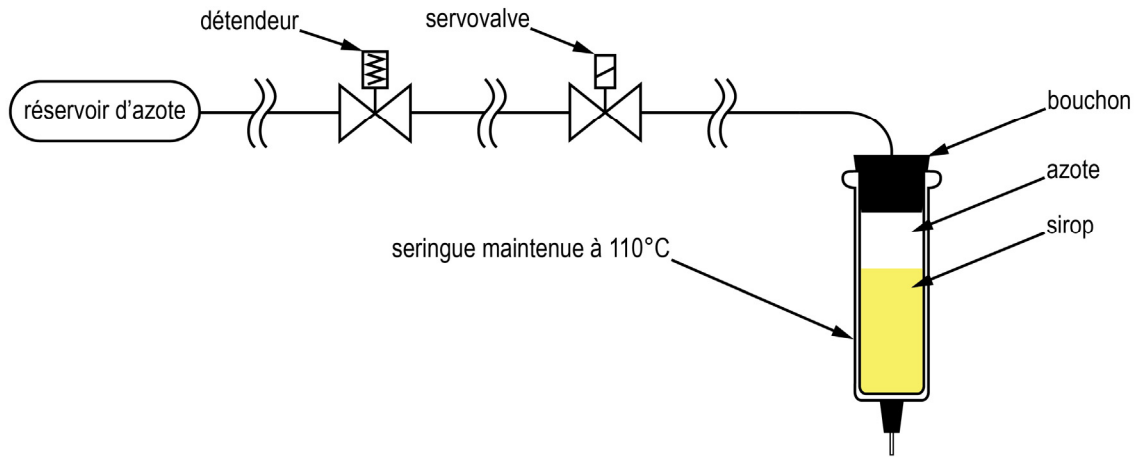


Figure 2.2 : Schéma pneumatique permettant le contrôle de l'extrusion de sucre vitrifié de l'imprimante développée par Miller *et al.* [19].

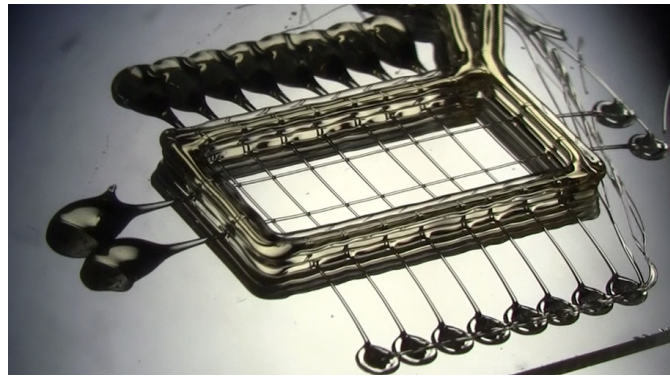


Figure 2.3 : Structure temporaire en sucre vitrifié fabriquée par Miller et son équipe, adapté de [34].

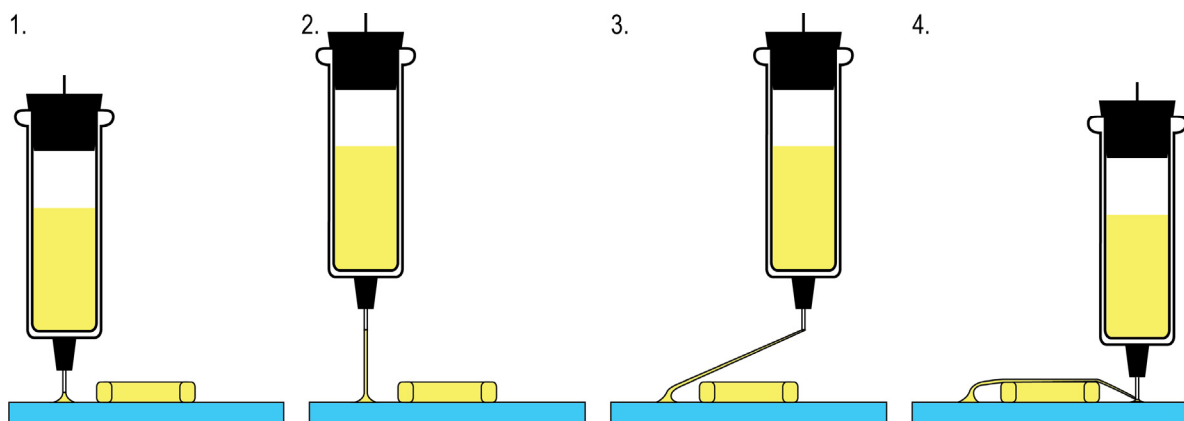


Figure 2.4 : Schéma expliquant la méthode d'impression de filaments suspendus par Miller *et al.* [19]. 1. La seringue s'approche de la plaque de verre à l'extérieur du cadre de sucre vitrifié et extrude du sucre. 2. La seringue monte pour former un filament. 3. La seringue se déplace horizontalement pour étirer le filament. 4. La seringue redescend pour replier le filament sur le cadre.

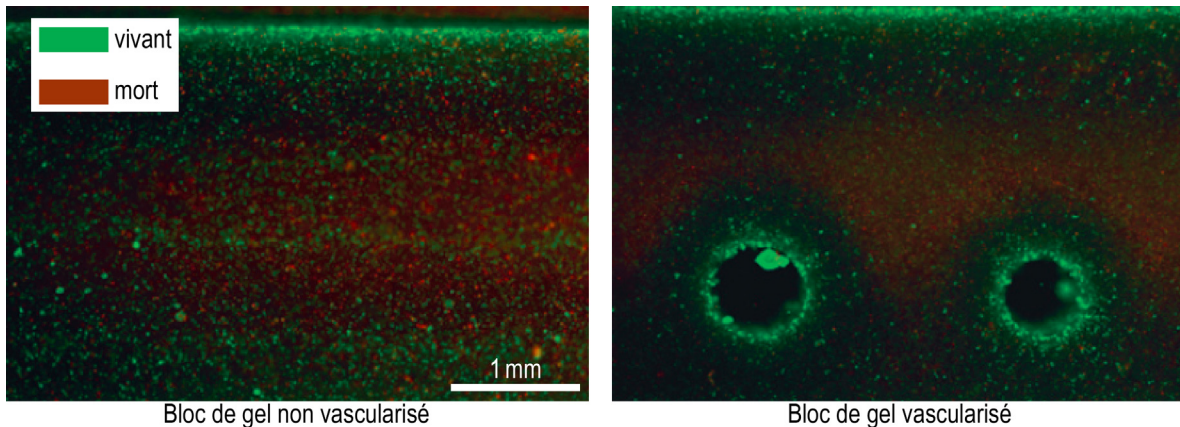


Figure 2.5 : Blocs d'agarose (non vascularisé à gauche et vascularisé à droite) contenant des hépatocytes primaires de rats. Les cellules ont été colorées après huit jours de culture *in vitro*, les cellules vivantes sont colorées en vert et les mortes en rouge, adapté avec permission de [19].

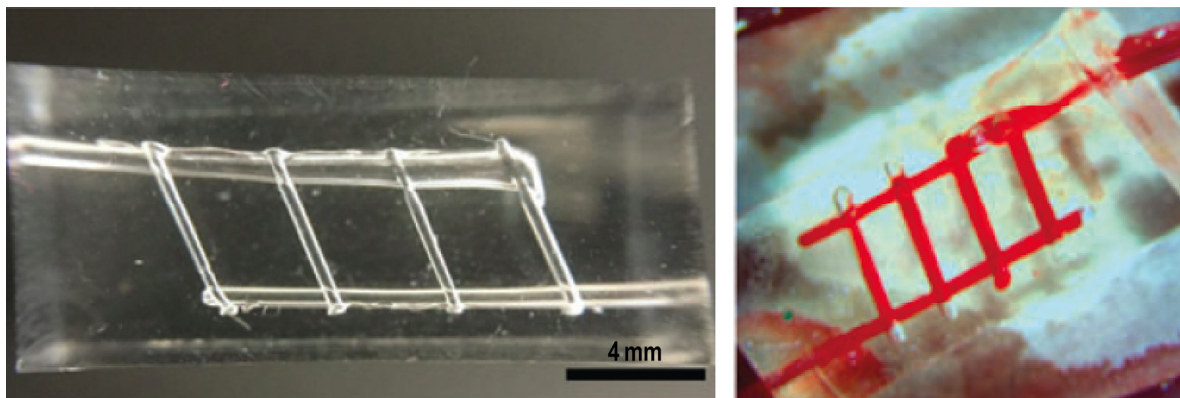


Figure 2.6 : À gauche, une photo d'un bloc vascularisé de polydiméthylsiloxane (PDMS) avant l'implantation. À droite une photo d'un bloc vascularisé de PDMS prise immédiatement après l'anastomose à l'artère fémorale d'un rat, adapté avec permission de [35].

En 2015, le groupe de Miller (Sooppan *et al.* [35]) ont greffé des blocs vascularisés à l'artère fémorale de dix rats. Les blocs étaient faits de silicone et ne contenaient pas de cellules vivantes (voir la Figure 2.6). Ils ont par la suite utilisé un imageur laser à effet Doppler afin de mesurer le débit sanguin au travers des blocs greffés. Cette expérience a permis de démontrer qu'il est possible de greffer une telle construction *in vivo* et de la perfuser à des niveaux de pression et débit normaux [35]. C'est résultats permettent de croire que des tissus semblables formés gel et de cellules vivantes pourraient éventuellement être greffés chez des humains sans risquer d'obstruer la circulation sanguine. Beaucoup de recherches doivent encore être effectuées afin de valider la viabilité de tels tissus mais, ces premiers résultats sont très encourageants.

L'utilisation de structures temporaires en sucre vitrifié pourrait bien être une révolution dans le domaine du génie tissulaire. En développant une imprimante capable de fabriquer des réseaux vasculaires plus complexes et plus précis, il pourrait devenir possible de créer des réseaux vasculaires très complexes permettant la fabrication de tissus sans qu'il n'y ait de limites géométriques. En ajoutant à une telle imprimante la capacité d'imprimer avec des cellules, il deviendrait possible d'envisager de recréer un organe complet et à l'échelle, en disposant différents types de cellules dans une configuration précise autour d'un réseau vasculaire [28]. Tout indique qu'une telle technologie pourrait permettre de fabriquer un pancréas bioartificiel, car elle permettrait de vasculariser très rapidement les cellules suite à la fabrication du tissu sans compromettre la survie des cellules.

2.3 Le pancréas et le diabète

Cette section a pour objectif de présenter la nature et les fonctions du pancréas ainsi que les caractéristiques de sa défaillance conduisant au diabète. Dans une optique de créer un pancréas bioartificiel, comme c'est le cas pour ce projet de recherche, il est important de bien comprendre le fonctionnement du pancréas biologique. Encore une fois, cette section n'a pas pour but d'être exhaustive par rapport aux fonctions et aux caractéristiques du pancréas et au diabète, mais bien pour situer le lecteur et contribuer à la compréhension globale de la problématique.

2.3.1 Le pancréas

Le pancréas est une glande mixte, c'est-à-dire qu'il sécrète à la fois dans le milieu interne et externe du corps (il exerce une fonction à la fois endocrine et exocrine). Il est situé derrière l'estomac et sous le foie, il s'étend de la rate à sa queue jusqu'au duodénum qui s'enroule autour de sa tête (voir Figure 2.7). Le conduit cholédoque transporte la bile en provenance du foie : il naît à la jonction entre le conduit hépatique commun et le conduit cystique, traverse la tête du pancréas et se connecte avec le conduit pancréatique juste avant qu'il se déverse dans le duodénum. Le pancréas est formé majoritairement de tissus acineux, qui forment la partie exocrine de la glande. C'est cette partie qui sécrète dans le milieu externe du corps soit l'intérieur du tube digestif. Les cellules des tissus acineux sont

regroupées en acinus (cavités arrondies bordées par des cellules sécrétrices qui débouchent dans le canal excréteur d'une glande). Les cellules déversent leurs enzymes (sucs pancréatiques) par exocytose dans les lumières (espace occupant l'intérieur d'un organe tubulaire) des acinus et les enzymes sont ensuite dirigées dans un réseau de canaux excréteurs qui rejoignent finalement le conduit pancréatique (ou canal de Wirsung). Leurs parois sont faites d'un épithélium et d'une couche conjonctive d'épaisseur progressivement croissante. L'épithélium et la conjonctive ont deux fonctions : ils servent à protéger les cellules des sucs pancréatiques et ils servent à maintenir la forme de l'organe, ils sont comme la peau et les os du pancréas [36].

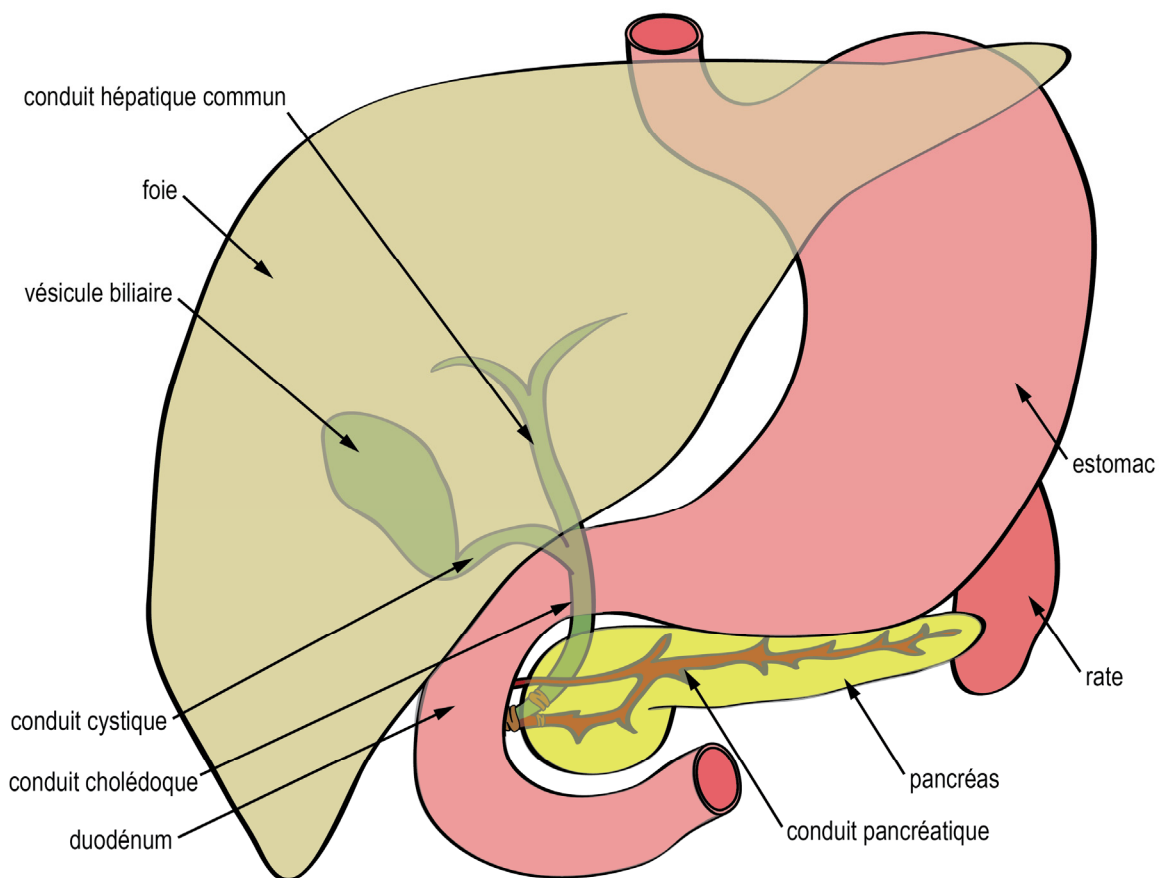


Figure 2.7 : Schéma de l'anatomie du pancréas (inspiré de [36,37,38]).

2.3.2 Les îlots pancréatiques

Les îlots pancréatiques forment la partie endocrine du pancréas. Le pancréas en contient entre un et deux millions et leur diamètre moyen est d'environ 0.3 mm. Bien que les îlots ne représentent qu'entre 1 % et 2 % de la masse totale du pancréas, ils ont besoin de 10 % du réseau de circulation sanguine du pancréas [12]. Ils sont organisés autour de petits capillaires et sont généralement traversés par au moins un capillaire. Ils sécrètent des hormones par exocytose directement dans le sang par les capillaires. Parmi ces hormones, on retrouve principalement l'insuline qui est produite par les cellules bêta (β), le glucagon produit par les cellules alpha (α) qui se trouvent en périphérie des îlots et la somatostatine produite par les cellules delta (δ). Ces cellules représentent respectivement 60 %, 25 % et 10 % des cellules des îlots pancréatiques [38,39]. Une photographie et un schéma d'îlot pancréatique sont présentés respectivement à la Figure 2.8 et Figure 2.9. Le rôle principal des îlots est de contrôler la glycémie par la sécrétion dans le sang du glucagon et de l'insuline. En temps normal, l'augmentation de la glycémie active la sécrétion de l'insuline par les cellules β . L'insuline se lie alors avec des récepteurs protéiques sur les parois de la plupart des cellules du corps humain ce qui augmente leur perméabilité au glucose. Une fois le glucose à l'intérieur des cellules, il est soit oxydé pour fournir de l'énergie ou alors transformé en glycogène et/ou en graisse [4]. Lorsque le taux de glycémie descend, la production d'insuline est inhibée. Pour sa part, le glucagon a pour principal rôle de faire augmenter le taux de glycémie dans le sang en agissant sur le foie afin qu'il dégrade ses réserves de glycogène et libère du glucose dans le sang. La production du glucagon par le pancréas est entre autres stimulée par la baisse du taux de glucose dans le sang et un haut taux d'acides aminés, ce qui se produit après un repas riche en protéines. À ce moment le glucagon n'a pas un rôle opposé à l'insuline, mais ils se complètent, car le glucagon accélère la transformation d'acides aminés en glucose [4]. Quant à elle, « la somatostatine a pour rôle d'inhiber la sécrétion de nombreuses hormones : thyrolibérine et corticolibérine (sécrétées par l'hypothalamus), thyroestimuline, somathormone (sécrétées par l'hypophyse), gastrine (sécrétée par l'estomac), insuline et glucagon (sécrétés par le pancréas). Elle diminue également les mouvements des muscles digestifs » [40].

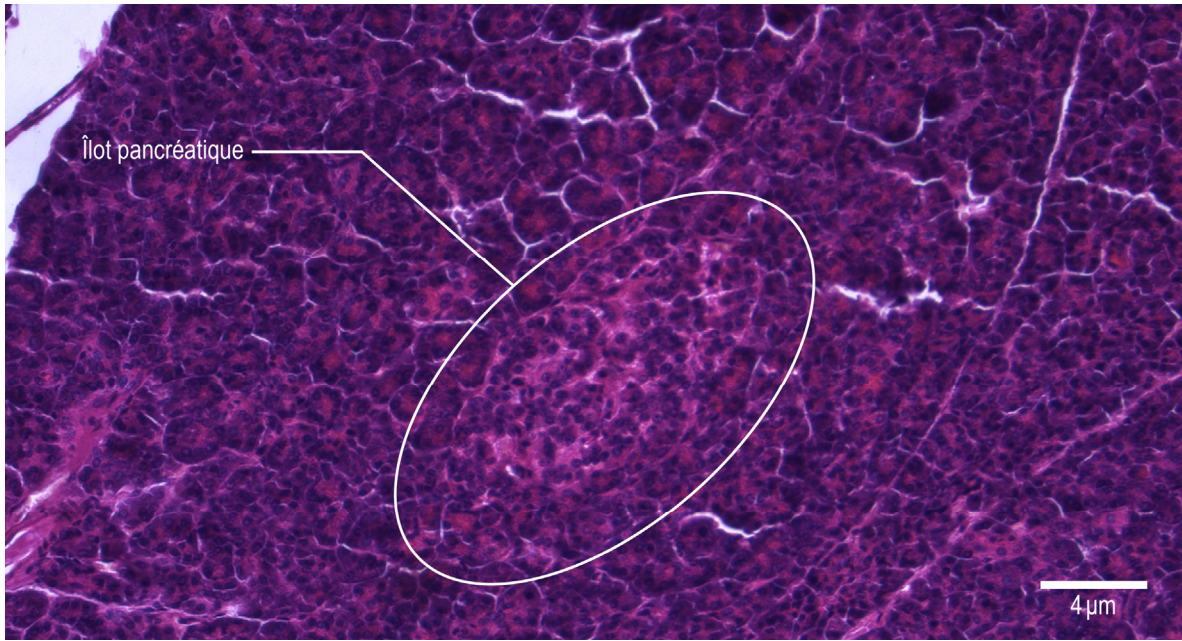


Figure 2.8 : Photographie d'un îlot pancréatique humain. Cette photo a pu être prise grâce à la générosité d'Éric Philippe, professeur au département d'anatomie et de physiologie de la Faculté de médecine de l'Université Laval qui a prêté cette tranche de pancréas monté sur une lame de microscope.

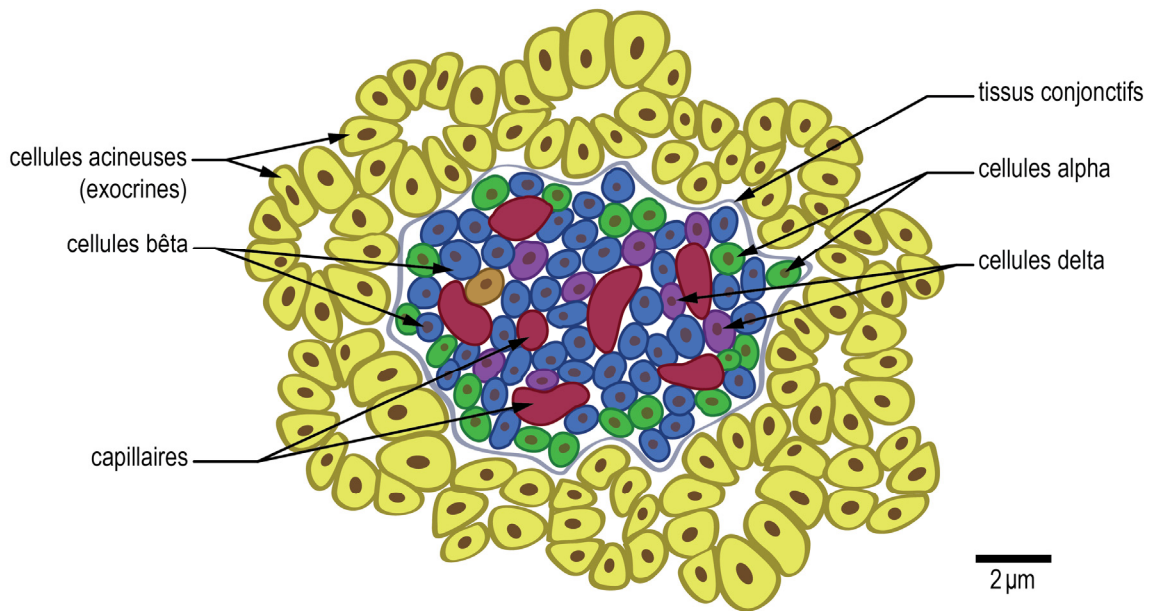


Figure 2.9 : Schéma d'un îlot pancréatique entouré de tissus acineux (inspiré de [4,36,38,39]).

2.3.3 Le diabète

Le diabète est dû à une sécrétion insuffisante d'insuline des îlots de Langerhans ou d'une résistance des tissus cibles à l'insuline. « Un diabète sucré est défini par une glycémie matinale, à jeun, supérieure à 1.26 g/L (7 millimoles par litre), ou par une glycémie supérieure à 2 g/L (11.1 millimoles par litre) au cours de la journée » [3]. Cette maladie affecte entre 5 et 8 % de la population nord-américaine et européenne et est en constante croissance [3,4].

Le diabète de type 1

Le diabète de type 1 représente une minorité des cas de diabète (environ 15 %) [4], mais comme il apparaît beaucoup plus tôt que le diabète de type 2 et qu'il n'existe actuellement aucun traitement curatif, son impact sur notre société est très grand. L'apparition de cette maladie est provoquée par des facteurs environnementaux (nutrition, infections virales, intoxications, etc.) chez des personnes ayant des prédispositions génétiques. Il se déclare le plus souvent entre l'âge de 10 et 40 ans, mais peut apparaître à n'importe quel âge [3]. Les symptômes associés au diabète de type 1 sont notamment une soif excessive, la production abondante d'urines, une perte de poids très rapide, la fatigue et une diminution de la résistance aux infections. Il peut aussi être détecté par l'apparition d'acidocétose, qui se produit lorsque de grandes quantités de graisses sont transformées en énergie (plutôt qu'en utilisant du sucre), le sang s'acidifie à mesure que les corps cétoniques s'accumulent dans le sang. S'il n'est pas traité, le diabète entraîne l'hyperglycémie, le coma puis la mort [3].

Pour créer un pancréas bioartificiel permettant de traiter le diabète de type 1, il ne serait pas nécessaire de reproduire toutes les fonctions d'un pancréas biologique, puisque le diabète de type 1 est dû à la destruction des cellules β par le système immunitaire. Il serait seulement nécessaire de produire un tissu sécréteur d'insuline résistant aux attaques du système immunitaire.

Le diabète de type 2

Le diabète de type 2, qui représente la plupart des cas de diabète, apparaît généralement à partir de l'âge de 45 ans. Il est principalement provoqué par l'obésité, le manque d'activité physique et par une prédisposition génétique. La maladie se développe dans un premier

temps par une résistance des cellules à l'insuline qui provoque une sécrétion excessive d'insuline par le pancréas. Par la suite, les cellules β s'épuisent et la production d'insuline diminue, ce qui se traduit finalement par l'hyperglycémie. Pour traiter le diabète de type 2, il est en général suffisant d'avoir un régime alimentaire équilibré et de pratiquer des activités physiques de façon régulière, mais cette solution est souvent trop exigeante pour les personnes atteintes pour qui il serait nécessaire de changer complètement leur mode de vie. Pour aider les personnes atteintes à contrôler leur glycémie, des médicaments hypoglycémifiants peuvent leur être prescrits et elles doivent parfois s'injecter des doses quotidiennes d'insuline comme le ferait un diabétique de type 1 [3].

2.3.4 Historique de la recherche sur diabète de type 1

C'est en 1921 grâce à la collaboration entre Frederick Banting, Charles Best et John Macleod de l'Hôpital général de Toronto que l'insuline a été découverte [41]. Ils ont réussi à extraire un mélange de substances contenant entre autres de l'insuline de pancréas de chiens. Cette substance a permis d'obtenir des résultats variables sur des chiens diabétiques, car l'insuline n'était pas suffisamment pure. Un chimiste, James Collip, leur est alors venu en aide et il a trouvé une meilleure façon d'isoler l'insuline. C'est en janvier 1922 qu'ont eu lieu les premières injections d'insuline [41]. Le succès fut tel que les patients qui reçurent ces injections reprirent rapidement du poids et retrouvèrent la santé. À cette époque, la mesure de la glycémie se faisait par l'urine et était peu précise, ce qui résultait en un mauvais contrôle de la glycémie. Dans les années 70 et 80, les lecteurs de glycémies mesurant le taux de sucre à l'aide de bandelettes et de gouttes de sang sont apparus. Cette nouvelle méthode de mesure de la glycémie a permis de donner un meilleur contrôle de leurs glycémies aux diabétiques et ainsi retarder l'apparition et ralentir la progression des complications majeures du diabète (cécité, atteinte des reins, gangrène et accident cérébraux vasculaires) [41].

Les traitements actuels du diabète de type 1 sont très contraignants pour les personnes atteintes et il n'existe aucun traitement curatif. Dans l'optique d'améliorer la qualité de vie des personnes touchées, plusieurs traitements expérimentaux sont actuellement étudiés dans le but de pouvoir, un jour, développer un traitement curatif. Le protocole d'Edmonton, décrit précédemment au Chapitre 1, est un traitement expérimental visant à guérir le diabète

de type 1 [7,8]. Les essais cliniques du protocole d'Edmonton sont toujours en cours et montrent des résultats encourageants. La première greffe d'îlots pancréatiques au Québec a d'ailleurs été réalisée par le docteur Steven Parasvekas avec succès en mai 2015 en suivant ce protocole [42]. Le protocole d'Edmonton se déroule comme suit : d'abord les îlots d'un pancréas sont isolés en détruisant de façon ciblée les cellules de la partie exocrine de l'organe [8,43]. Suite à l'isolation des îlots, ceux-ci sont rapidement transplantés aux patients afin d'éviter la dégradation des cellules. Une quantité d'environ 4000 îlots (environ 10 ml) est transplantée par 10 kg de masse du receveur [7]. La greffe est réalisée en injectant les îlots directement dans la veine porte du foie (il est à noter que si la quantité d'îlots est insuffisante, une deuxième greffe d'îlots provenant d'un autre pancréas aurait lieu une autre journée). Les îlots vont par la suite se loger dans des petits vaisseaux sanguins d'où ils peuvent commencer à sécréter leurs hormones. Les patients greffés doivent impérativement être soumis à un traitement strict d'immunosuppresseurs afin d'empêcher la réaction immunitaire envers le greffon, ce qui représente un désagrément de la méthode [7]. Depuis le début des années 2000, le protocole d'Edmonton a été appliqué dans plusieurs laboratoires à travers le monde. Il a permis de rendre jusqu'à 80 % des patients greffés insulino-indépendant pendant une période d'un an. Le procédé reste cependant difficile à reproduire puisqu'une grande variabilité des résultats est encore observée entre les différents laboratoires [43]. Les deux limitations majeures au protocole d'Edmonton proviennent de la rareté des donneurs, ce qui empêche l'application à grande échelle de celui-ci, et de la nécessité de prendre des immunosuppresseurs. L'immunosuppression est un traitement très exigeant et potentiellement dangereux [43], ce qui pousse à explorer d'autres traitements qui ne nécessiteraient pas la prise d'immunosuppresseurs.

Afin d'éviter les inconvénients importants dus à l'immunosuppression, d'autres traitements sont actuellement envisagés. Le dispositif de macro-encapsulation Encaptra de la compagnie ViaCyte, actuellement en essai clinique, est une des options qui permettraient de greffer des îlots pancréatiques sans avoir recours à l'immunosuppression. Ce dispositif encapsule des cellules β entre deux membranes semi-perméables. Ces membranes ont pour objectif de laisser passer l'oxygène et les nutriments nécessaires aux cellules tout en bloquant le système immunitaire [13]. Tel qu'expliqué précédemment, les cellules β ont besoin d'une grande quantité d'oxygène pour survivre [10]. Pour répondre à la demande en oxygène des cellules, la compagnie ViaCyte a plusieurs stratégies qui permettent

d'optimiser la diffusion de l'oxygène à l'intérieur de leur prochain dispositif. L'une d'entre elles est d'augmenter la surface de contact efficace du dispositif avec le corps du patient sans augmenter sa taille de façon démesurée. Pour ce faire, leur dispositif est replié sur lui-même pour former des petites villosités tel qu'il est présenté à la Figure 2.10. En plus des villosités, l'intérieur du dispositif est tapissé de fibres de silicones poreuses qui augmentent la diffusion de l'oxygène dans le dispositif. La quantité de cellules β contenue dans ce dispositif reste cependant insuffisante pour contrôler la glycémie d'un adulte. Il pourrait être nécessaire d'implanter jusqu'à huit dispositifs chez un patient afin de lui permettre de sécréter une quantité suffisante d'insuline [44].

La compagnie Beta-O₂ a elle aussi développé un dispositif d'encapsulation de cellules β . Leur dispositif, β air, est lui aussi au stade d'essai clinique. La particularité de ce dispositif est la façon dont il alimente ses cellules en oxygène. Plutôt que de tirer son oxygène des vaisseaux sanguins qui l'entourent, il est muni d'un réservoir interne qui doit être rechargé tous les jours. La Figure 2.11 présente une vue 3D explosée du dispositif β air. Les îlots pancréatiques sont maintenus dans un disque d'alginate entre deux membranes. Une membrane de téflon poreuse, dont les pores de 0.4 μ m de diamètre permettent la sécrétion d'insuline tandis qu'une membrane perméable au gaz permet à l'oxygène d'être absorbé par les cellules et au CO₂ d'être évacué. Ce concept permet d'avoir une pression relative d'oxygène autour des îlots supérieure à tout autre dispositif, ce qui permet d'avoir une très grande densité d'îlots pancréatiques à l'intérieur de ce dispositif [45]. Le dispositif de Beta-O₂ peut contenir l'équivalent de 200 000 îlots pancréatiques ce qui correspond environ à la moitié du nombre d'îlots pancréatiques qui serait nécessaire pour contrôler la glycémie d'un adulte moyen [13].

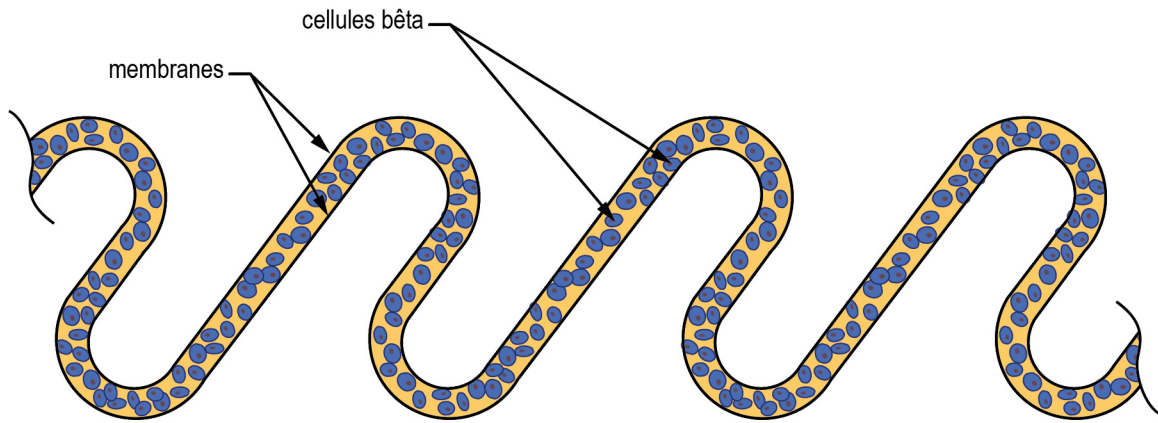


Figure 2.10 : Dessin montrant une vue de coupe des villosités imaginées pour le prochain dispositif de macro-encapsulation de ViaCyte permettant d'optimiser la surface efficace pour la diffusion d'oxygène à l'intérieur de celui-ci, adapté de [44].

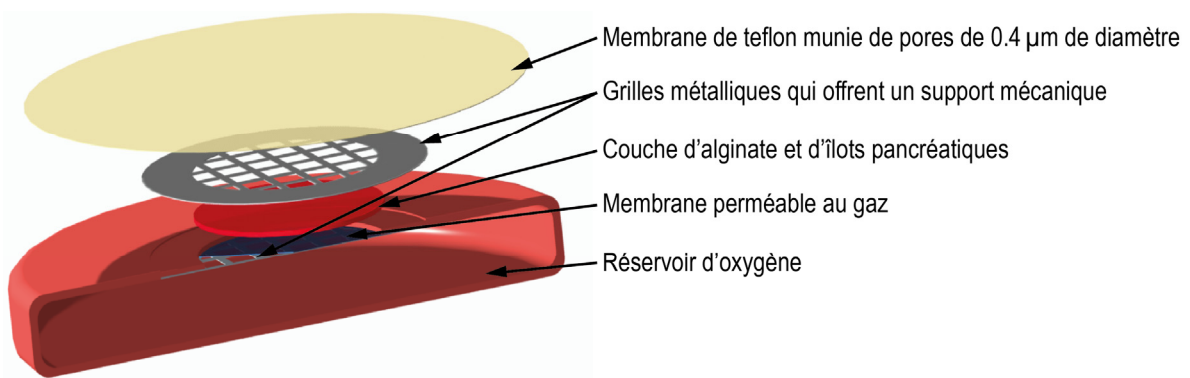


Figure 2.11 : Modélisation montrant les composants principaux du dispositif de macro encapsulation β air, adapté de [45].



Figure 2.12 : Dispositif de macro encapsulation Mailpan de la compagnie Defymed, reproduit avec permission.

La compagnie Defymed, qui est actuellement au stade d'étude préclinique avec le dispositif Mailpan, utilise une approche intéressante. Il s'agit d'une poche semi-perméable similaire au dispositif de ViaCyte auquel deux cathéters reliés à des chambres d'injections sous-cutanées ont été ajoutés (voir la Figure 2.12). Ces chambres serviront à remplacer les cellules sécrétrices d'insulines dans le dispositif sans avoir besoin de changer le dispositif au complet ni d'avoir recours à une chirurgie. Il est prévu que le dispositif ait une durée de vie utile de quatre à six ans *in vivo* alors que les cellules auront une durée de vie allant de quelques mois à un an [46,47].

Il est possible de vivre avec le diabète de type 1, mais les traitements actuellement disponibles sont très contraignants. Il n'existe aucun vrai traitement curatif et bien que certains traitements expérimentaux semblent prometteurs, ils souffrent tous de diverses limitations quant à l'accessibilité, à la présence d'effets secondaires importants ou à une sécrétion trop faible d'insuline. Le développement d'un traitement curatif pour le diabète de type 1 non contraignant est donc de plus en plus pressant et justifié.

Chapitre 3

Conception du prototype d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié

L'approche préconisée dès le début du projet était de modifier une imprimante 3D existante afin que cette dernière puisse accueillir le dispositif d'extrusion tridimensionnelle. Ce chapitre présente le cahier des charges définissant les caractéristiques requises par l'application, la conception du dispositif d'extrusion de sucre vitrifié ainsi que les améliorations apportées à l'imprimante choisie afin d'atteindre les critères de performances désirés.

L'imprimante choisie est la Airwolf3D XL (AW3D XL), présentée à la Figure 3.1. Puisqu'il s'agit d'une imprimante issue du projet RepRap [23], elle présente l'avantage d'être contrôlée par un logiciel libre de droits qui peut être assez facilement modifié. Cette imprimante a un espace de travail de 300 mm de long par 200 mm de large par 178 mm de haut. La tête d'impression se déplace suivant l'axe X (de gauche à droite) et l'axe Z (de haut en bas) alors que le lit de l'imprimante se déplace suivant l'axe Y (de l'avant à l'arrière). De plus, puisque l'architecture de cette imprimante est simple et qu'elle est facilement modifiable, de nombreuses améliorations ont pu être apportées pour faciliter l'impression de sucre vitrifié. La nouvelle tête d'impression qui a été développée a pu être intégrée à l'architecture de l'imprimante en enlevant la tête d'impression originale et en la remplaçant par la nouvelle. Ainsi, l'imprimante a été utilisée comme système de positionnement pour le nouveau dispositif d'extrusion.

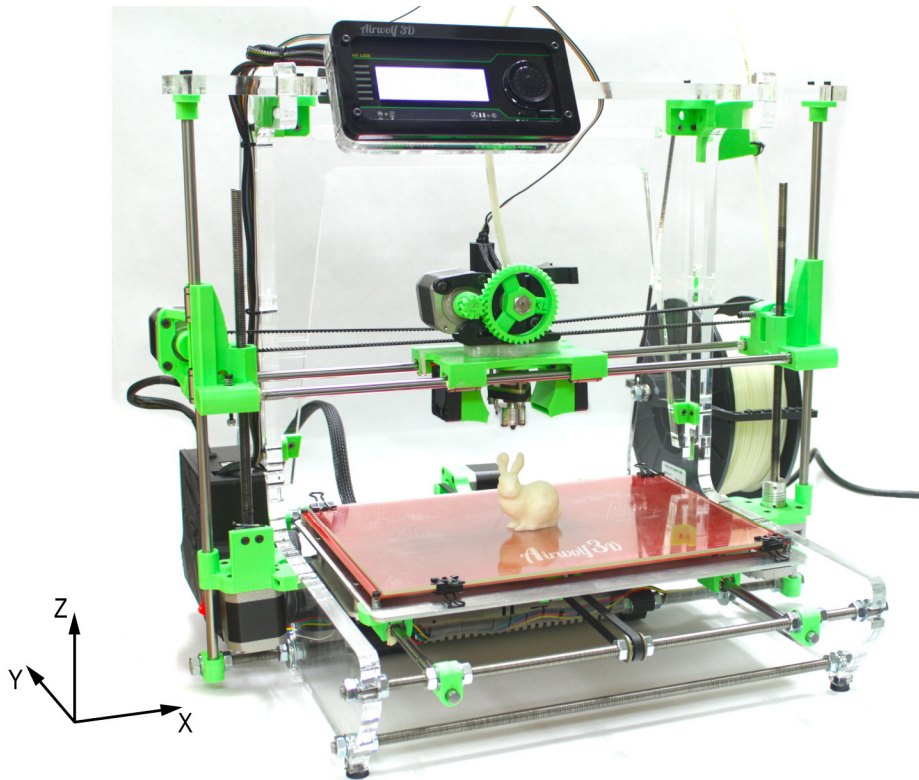


Figure 3.1 : Photo d'une Airwolf3D XL sans modifications.

3.1 Cahier des charges

Le Tableau 3.1 présente le cahier des charges du projet. Les principales exigences du projet y sont décrites.

L'objectif principal du projet était de fabriquer, en sucre vitrifié, des structures tridimensionnelles imitant des réseaux vasculaires. La tête d'impression devait être compatible avec l'imprimante Airwolf3D XL et être facile à assembler et à désassembler. Étant donné que la fabrication de structures sacrificielles permettant de reproduire un réseau vasculaire requiert une grande précision, il était impératif de s'assurer que la tête allait pouvoir être déplacée précisément dans l'espace et que l'extrusion du sucre pouvait être contrôlée avec précision. Il a été estimé que le pancréas bioartificiel aurait un volume total d'environ 15 ml pour subvenir à la glycémie d'un adulte (hydrogel, cellules et réseau vasculaire compris). Ainsi, il a été établi que le dispositif devait avoir une précision de

0.05 mm quant au positionnement de son effecteur dans son espace de travail et une précision de 0.01 mm quant à la longueur des extrusions produites.

Tableau 3.1 : Cahier des charges du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié.

<u>Caractéristique</u>	<u>Valeur visée</u>	<u>Valeur minimum</u>	<u>Valeur maximum</u>
Précision en X, Y, Z	0.05 mm	-	0.1 mm
Précision de la longueur d'extrusion	0.01mm	-	0.05 mm
Poids de la tête	850 g	-	1000 g
Débit d'extrusion	1 mm ³ /s	0.8 mm ³ /s	-
Diamètre d'extrusions	1 mm	0.5 mm	2 mm
Espace de travail	300 mm x 200 mm x 178 mm	150 mm x 150 mm x 50 mm	-
Volume de sucre	20 ml	5 ml	-
Chauffage de la seringue	130 °C	110 °C	-
Chauffage de la buse	110 °C	100 °C	-
Température externe de la tête d'impression	Moins de 60 °C	-	60 °C
Puissance électrique	Moins de 360 W	-	-
Refroidissement	Refroidir les filaments à la sortie de la buse	Ne pas déformer les filaments	Ne pas refroidir la buse
Performances	Imprimer des structures micro-vasculaires en sucre vitrifié	-	-
Géométrie	Être compatible avec l'imprimante AW3D XL	-	-

Dans le but de pouvoir déplacer l'effecteur de l'imprimante à la même vitesse avant et après sa modification, et ce sans changer les moteurs, il a été établi que la nouvelle tête d'impression devait avoir une masse similaire ou inférieure à la tête d'impression originale, soit environ 850 g. Un débit d'extrusion de $1 \text{ mm}^3/\text{s}$ a été identifié comme adéquat pour que l'imprimante puisse fonctionner à une vitesse convenable. De cette façon, il serait possible d'imprimer une structure de sucre vitrifié permettant de mouler un pancréas bioartificiel en environ une heure en estimant qu'une telle structure nécessiterait un volume de sucre vitrifié d'environ 3000 mm^3 (3 ml). Les canaux des réseaux vasculaires devaient avoir un diamètre de 1 mm, mais il était souhaitable d'être en mesure d'imprimer des filaments ayant des diamètres variant entre 0.5 mm et 2 mm. Il a fallu dans la mesure du possible garder les dimensions d'origine de l'espace de travail de l'imprimante (300 mm x 200 mm x 178 mm), mais le minimum visé était de 150 mm par 150 mm par 50 mm. Le réservoir de sucre vitrifié devait avoir un volume minimum de 5 ml et idéalement de 20 ml étant donné que le volume des structures à imprimer variait entre 1 ml et 3 ml. Le sucre vitrifié devait pouvoir être maintenu dans un état suffisamment fluide pour être extrudé. Pour ce faire, la tête d'impression a été munie de deux éléments chauffants contrôlés indépendamment et permettant de contrôler la viscosité du sucre dans le réservoir et dans la buse pour l'extrusion. La température du réservoir devait pouvoir être contrôlée entre 20°C et 130°C et la température de l'extrusion entre 20°C et 110°C . La température des surfaces externes de la tête d'impression ne devait pas dépasser 60°C , dans le but de réduire les risques de brûlures liés à l'opération de l'imprimante. En effet, puisqu'une exposition de plus de 3 s à une température de 60°C est nécessaire pour causer une brûlure au premier degré [48], en maintenant la tête d'impression à 60°C , le temps de réaction humain moyen (normalement inférieur à une demi seconde [49]) permet d'éviter une brûlure en cas de contact avec la tête d'impression en fonction. La tête d'impression devait être munie d'un système de refroidissement permettant de refroidir les filaments de sucres à la sortie de la buse sans qu'il n'y ait d'impact sur la température de la buse elle-même et sans que les filaments ne se déforment. La AW3D XL est alimentée par un bloc d'alimentation de 360 W fournissant une tension de 12 V. Après ses modifications, elle devait pouvoir être alimentée avec le même bloc d'alimentation.

3.2 Élaboration du concept

Une des premières étapes du développement du prototype a été de déterminer comment le sucre vitrifié serait contenu dans la tête d'impression et comment il serait extrudé. Contrairement aux polymères communément utilisés par les imprimantes FDM (fabrication par déposition matière ou en anglais : « Fuse Deposition Modeling »), le sucre vitrifié ne peut pas être emmagasiné facilement en bobines de filaments solides. La solution choisie, inspirée de celle développée par Miller *et al.* [19], a été de maintenir le sucre dans une seringue de verre et d'en contrôler la température à l'aide d'un élément chauffant enroulé autour de celle-ci. L'extrusion, quant à elle, a été contrôlée avec précision par le déplacement du piston dans le baril de la seringue plutôt que par une pression d'air dans la seringue tel que préconisé par Miller *et al.* [19]. Ceci a grandement amélioré la précision de l'extrusion par rapport au design proposé par ceux-ci. La Figure 3.2 présente le modèle de seringue qui a été utilisée pour le projet. Il s'agit d'une seringue de marque Poulten & Graf GmbH (achetée chez Air-Tite Products) de 20 ml munie d'un embout LUER. Elle est faite de verre de borosilicate dont le faible coefficient de dilatation thermique a permis de grandes variations de température dans la seringue sans affecter la précision de l'extrusion ni l'intégrité et l'étanchéité de la seringue elle-même. Il s'agit de la pièce centrale de la nouvelle tête d'impression autour de laquelle tous les autres composants ont été conçus.

Afin de valider le concept utilisant une seringue de verre contrôlée en température comme réservoir pour le sucre vitrifié, des essais préliminaires ont été réalisés. Le but était de confirmer qu'il était possible de maintenir le sucre à l'intérieur de la seringue dans un état suffisamment fluide pour qu'il soit extrudé en déplaçant le piston, et ce sans affecter les propriétés du sucre pendant la durée des impressions. Pour effectuer ces essais, une pièce permettant d'isoler thermiquement la seringue a été fabriquée. Un élément chauffant et une thermistance ont été installés entre la pièce isolante et la seringue. Une carte électronique RAMPS V1.4 a permis de contrôler la tension moyenne appliquée à l'élément chauffant à l'aide d'un circuit de modulation de largeur d'impulsion (MLI) et de mesurer la température grâce à la thermistance.

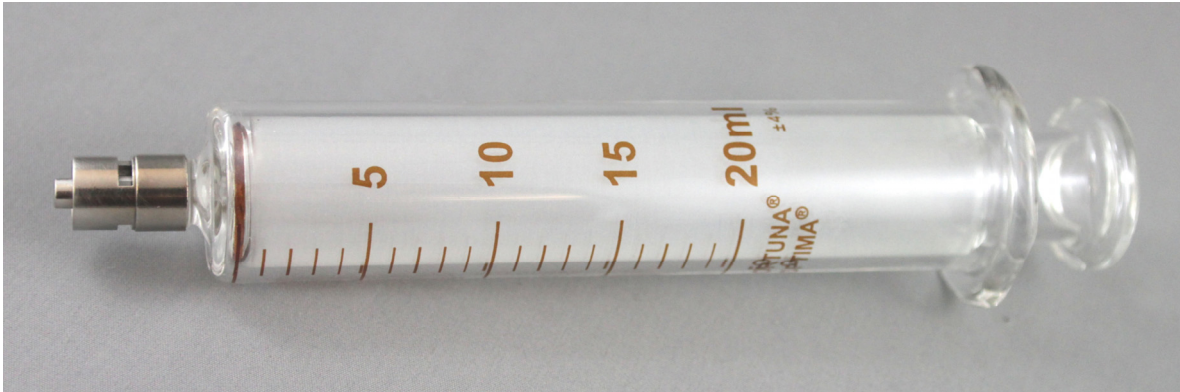


Figure 3.2 : Seringue de verre Poulten & Graf GmbH de 20 ml utilisée comme réservoir pour le sucre vitrifié.

La Figure 3.3 présente le montage réalisé pour cette expérience. Lors des essais préliminaires, un mélange de glucose et de sucrose, permettant de produire du sucre vitrifié, a été préparé en se basant sur la méthode décrite par Miller *et al.* [19]. Ce mélange a ensuite été aspiré dans la seringue préchauffée à 110 °C. Par la suite, il a été extrudé manuellement pour former des constructions tridimensionnelles. La Figure 3.4 présente une des constructions réalisées lors de cette expérience. Cela a permis de faire la preuve de ce concept et de remarquer que, visuellement et macroscopiquement, les propriétés du sucre ne semblaient pas affectées pendant les expériences. En effet, il a été observé que les propriétés qualitatives du sucre vitrifié semblaient constantes, et ce pendant toute la durée de ces premiers essais manuels. Ceci confirmait la faisabilité du principe consistant à contenir le sucre vitrifié dans une seringue à maintenue à 110°C. Ce principe fut donc considéré concluant pour la poursuite de la conception du procédé et du dispositif d'extrusion.

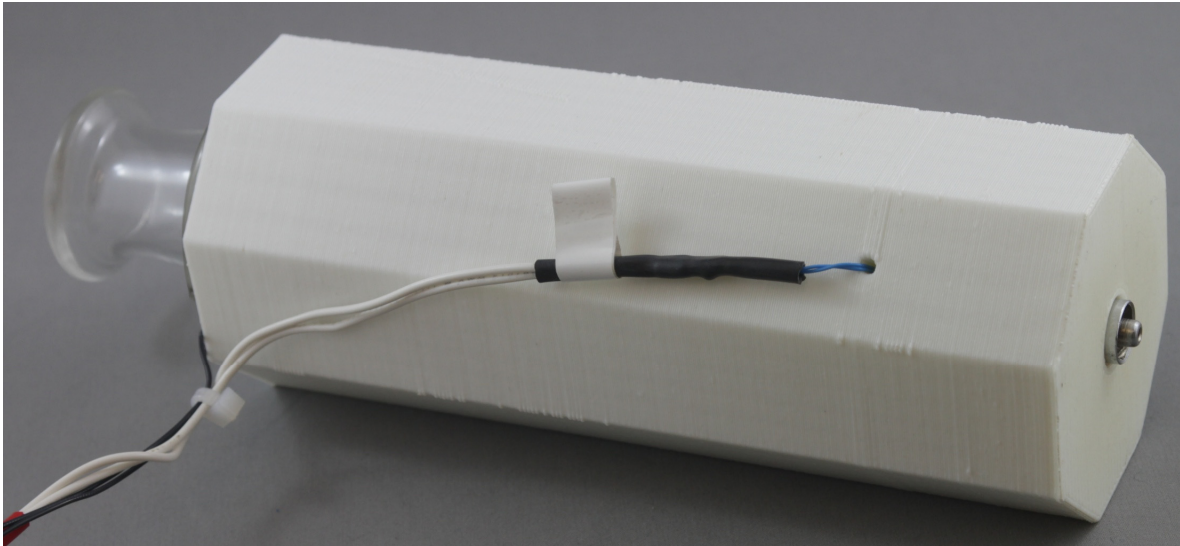


Figure 3.3 : Assemblage permettant de contrôler la température d'une seringue de verre pour les essais manuels d'extrusion de sucre vitrifié.

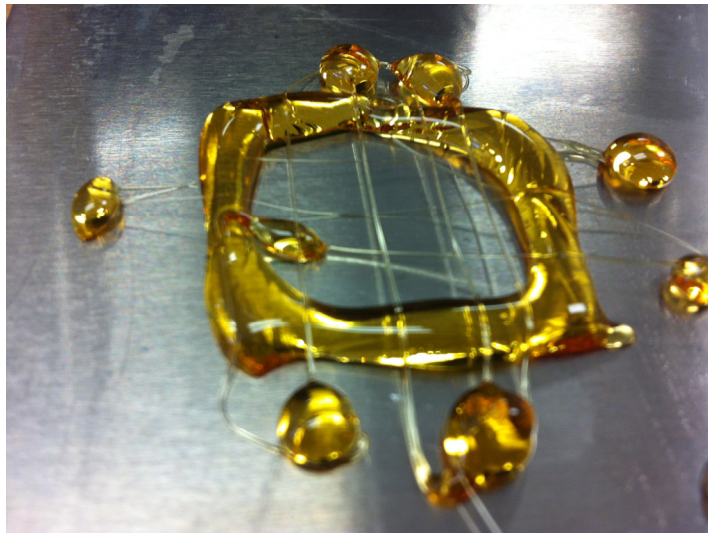


Figure 3.4 : Résultats des essais manuels d'extrusion.

3.3 Conception des principaux éléments de la tête d'impression

La conception de la tête d'impression a été l'une des étapes les plus importantes de ce projet, notamment parce que toutes les activités subséquentes en ont été directement

dépendantes. Pour ce faire, des croquis représentant les différentes parties de la tête d'impression ont d'abord été réalisés. Les pièces ont ensuite été modélisées à l'aide du logiciel de conception assistée par ordinateur ProEngineer 4.0. La tête d'impression a finalement été fabriquée et assemblée. La version finale de celle-ci est présentée à la Figure 3.5. Il s'agit d'un dispositif mobile dans l'espace qui permet de tenir une seringue, de contrôler sa température et de contrôler la course de son piston avec précision pour extruder du sucre vitrifié dans un état liquide. Elle est divisée en deux principaux sous-assemblages :

- le corps de la tête d'impression, qui est fixe par rapport à l'effecteur;
- le chariot mobile, qui contrôle la course du piston dans le baril de la seringue.

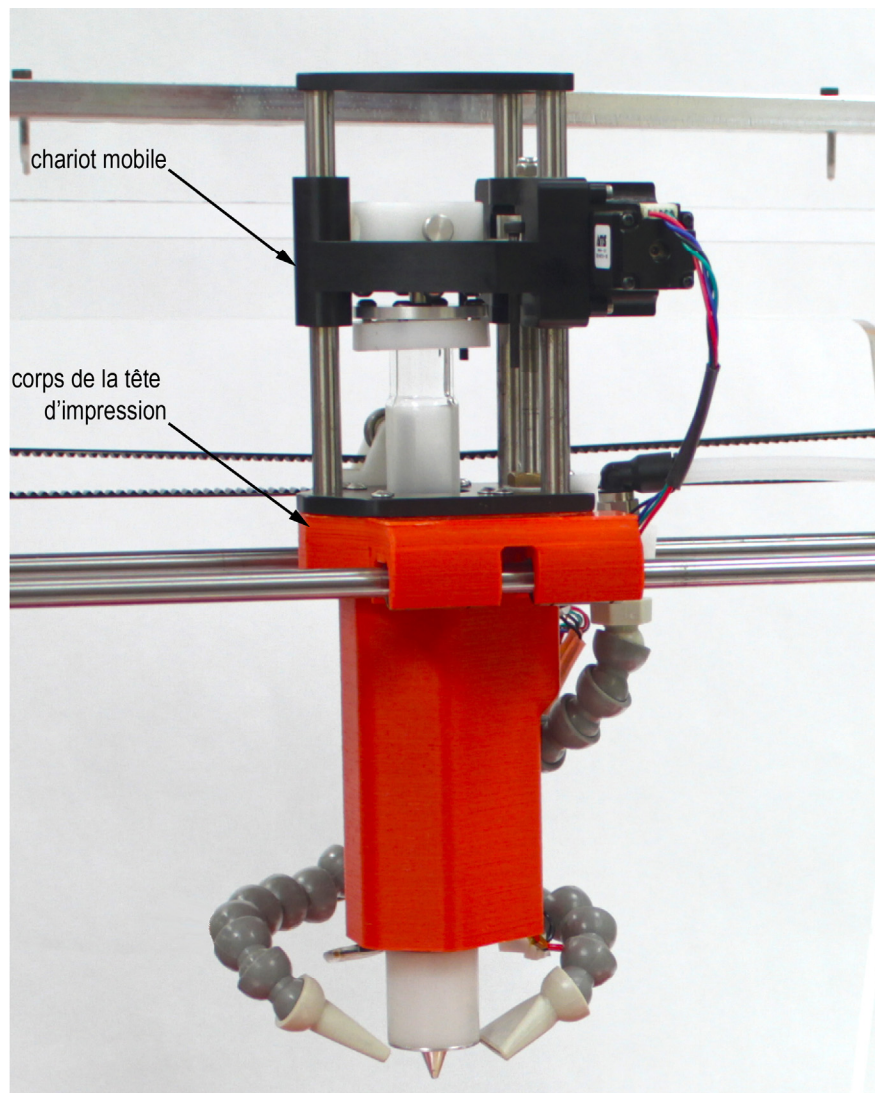


Figure 3.5 : Photo de la tête d'impression de sucre vitrifié.

3.3.1 Le corps de la tête d'impression

Le corps de la tête d'impression, présenté à la Figure 3.6, a pour fonction principale de tenir la seringue et les guides linéaires sur lesquels glisse le chariot. On y retrouve le support, le baril de la seringue, la bague de serrage, le couvercle, la bague filetée, l'élément chauffant de la seringue, le système de refroidissement, les guides linéaires et la buse.

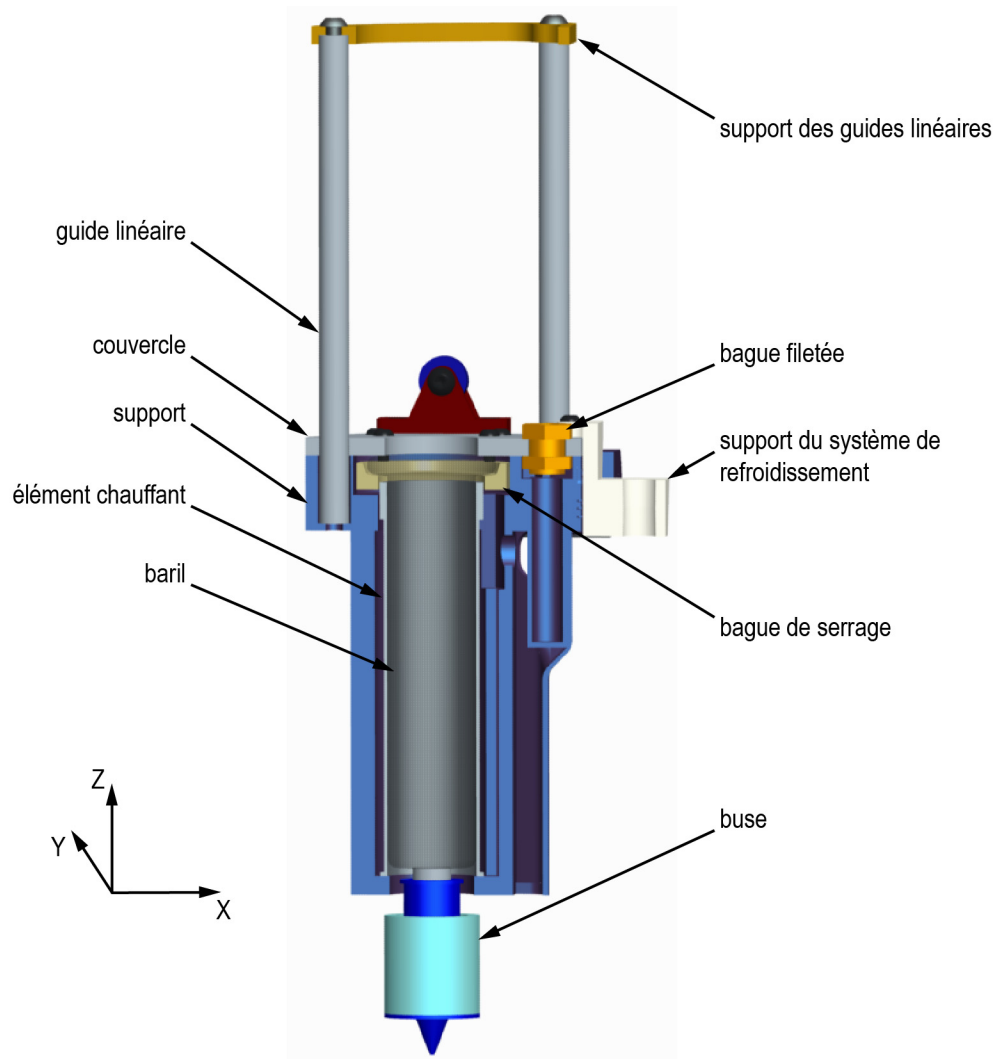


Figure 3.6 : Vue de coupe du sous-ensemble du corps de la tête d'impression.

Le support

Le support a été fabriqué en ABS par une imprimante 3D. Il s'agit de la pièce qui supporte toute la tête d'impression, cette pièce s'attache à l'imprimante et est déplacée selon les axes X et Z par celle-ci (voir Figure 3.6). Cette pièce a aussi pour fonction d'isoler thermiquement la seringue, ce qui permet de minimiser la puissance de chauffage nécessaire à maintenir la température de la seringue et de diminuer la température des surfaces externes de la tête d'impression.

Une des exigences du cahier des charges était que la température de la surface extérieure du support ne dépasse jamais 60 °C. Afin de s'assurer que cette condition soit respectée, un modèle thermique simplifié a été mis sur pied pour concevoir le support de la seringue et atteindre les performances requises (*i.e.* température de surface inférieure à 60°C). La température de la surface externe du support (T_s) a été calculée en considérant que la seringue était un cylindre de 27.6 mm de diamètre (D_1) (ceci correspondant au diamètre extérieur de l'élément chauffant) et de 110 mm de long (L). Il a été considéré que la température de la seringue était maintenue à 110 °C (T_i) et que ses extrémités étaient parfaitement isolées. La température de l'air ambiant a été estimée à 20°C (T_∞). Le support a été fabriqué en ABS avec une densité d'environ 50 %. Le support a été considéré comme étant cylindrique autour de la seringue avec un diamètre extérieur de 47.6 mm (D_6) et que sa construction interne pouvait être assimilée à trois couches cylindriques d'ABS et deux couches d'air d'épaisseurs égales. La Figure 3.7 présente le schéma qui a été utilisé pour ce calcul.

Afin d'alléger le calcul, la convection naturelle des couches d'air à l'intérieur du support ainsi que le rayonnement ont été négligés. Les propriétés de l'air à 300 K et à la pression atmosphérique ont été utilisées pour ce calcul, soit : $26.3 \times 10^{-3} \text{ W/mK}$ pour la conductivité thermique (k_{air}), $22.5 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ pour la diffusivité thermique (α), $15.9 \times 10^{-6} \text{ m}^2/\text{s}$ pour la viscosité dynamique (ν) et 0.707 pour le nombre de Prandtl (Pr) [50].

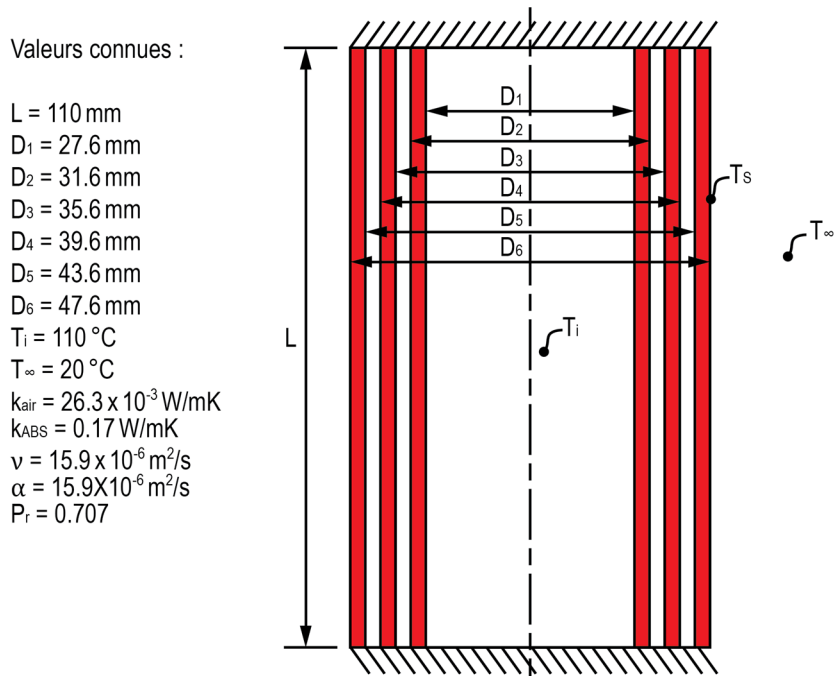


Figure 3.7 : Schéma de la seringue et du support pour le calcul de pertes thermiques.

La conductivité thermique de l'ABS (k_{ABS}) a été estimée à 0.17 W/mK . Le coefficient de convection (\bar{h}) qui a été calculé est de $5.78 \text{ W/m}^2\text{K}$, ce qui concorde avec la littérature pour un cas de convection libre. Avec ces valeurs, il a été possible de calculer la température de la surface extérieure du support. Suite à plusieurs itérations, une température T_s égale à $57.8 \text{ }^\circ\text{C}$ a été obtenue, ce qui répond aux exigences du cahier des charges.

Le baril de la seringue

Le baril de la seringue sert de réservoir pour le sucre vitrifié. Il a un diamètre intérieur de 19.3 mm et une longueur totale de 127 mm . Le baril peut contenir jusqu'à 20 ml . Tel qu'il peut être observé sur la Figure 3.2, le baril est doté, à l'une de ses extrémités, d'un embout LUER en acier inoxydable qui permet de fixer de façon étanche la buse à celui-ci. À l'autre extrémité se trouve un ourlet, utilisé pour maintenir le baril en place grâce à deux autres pièces : la bague de serrage du baril et le couvercle.

La bague de serrage du baril

La bague de serrage du baril a été fabriquée en acétal et permet de limiter le mouvement du baril de manière à ce qu'il soit fixe par rapport au couvercle. La surface de contact entre la bague et le baril est conique, ce qui permet de centrer la seringue et augmente l'aire de

contact entre les deux pièces. Une telle conception permet de diminuer les contraintes de contact sur la seringue et d'éviter qu'elle ne se brise.

Le couvercle

Le couvercle est fait d'aluminium et est vissé au support. Il assure le positionnement des guides linéaires, de la bague fileté, du système de refroidissement et du baril de la seringue. Le trou au centre du couvercle par lequel passe le piston est assez grand pour laisser passer la tête de ce dernier de sorte que s'il se coince dans le baril, il est ainsi possible de retirer la seringue de la tête d'impression sans risque de la briser.

La bague fileté

La bague fileté (acheté chez Thorlabs) est fixée au couvercle. Elle fait le lien entre le chariot et le support avec la vis 1/4-80. Afin de corriger l'erreur d'alignement entre la vis 1/4-80 et la bague fileté, deux rondelles de téflon ont été placées entre le couvercle et la bague fileté de sorte qu'elle puisse se déplacer légèrement pour corriger cette erreur.

L'élément chauffant de la seringue

L'élément chauffant de la seringue est fait d'un fil de cuivre de 9.5 m de long et d'un diamètre de 0.286 mm enroulé autour d'un cylindre d'aluminium. Dans le bas du tube d'aluminium, un trou a été prévu pour pouvoir insérer une thermistance de sorte qu'elle se trouve entre le bobinage de cuivre et la seringue (voir la Figure 3.8). La thermistance (Epcos B57540 100k) et le fil de cuivre ont été fixés avec du vernis pour les protéger et pour les empêcher de bouger. En plus du vernis, une couche de ruban adhésif Kapton® a été collée par-dessus le bobinage pour le protéger. Le fil de cuivre utilisé pour faire le bobinage présente une résistance d'environ 2.53 Ω . Sachant que l'alimentation électrique utilisée est de 12 V, la puissance de chauffage de l'élément est de 57 W.

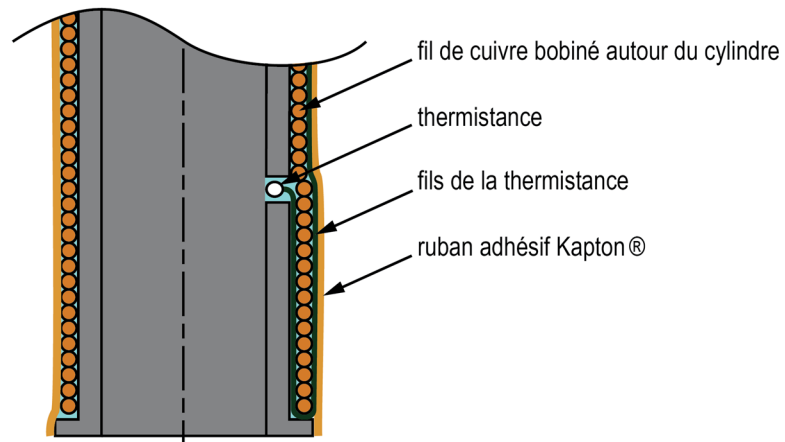


Figure 3.8 : Schéma de l'élément chauffant de la seringue.

Le système de refroidissement

Lors des premiers essais, il a été remarqué que les filaments de sucre avaient tendance à se déformer sous les effets de la gravité pendant les premières secondes suivant leur extrusion. Ceci a rapidement été attribué au fait que les filaments ne se refroidissaient pas assez rapidement à l'air libre et qu'ils conservaient le caractère viscoélastique présent à haute température. Afin de diminuer la déformation post-extrusion des filaments, un système de refroidissement fonctionnant à l'air comprimé a été ajouté à la tête d'impression. L'air comprimé est acheminé à la tête d'impression par le réseau pneumatique illustré à la Figure 3.9. L'air comprimé passe d'abord par une valve à bille et un détendeur qui réduit la pression à environ 100 kPa. L'air est ensuite asséché par un dessiccateur pour éviter que le sucre vitrifié ne soit dégradé par l'humidité présente dans l'air. Il est ensuite acheminé jusqu'à une servovalve (Bürkert 2835) asservie par un signal 0 - 12 V. La servovalve permet de contrôler le débit d'air envoyé à la tête d'impression par un tube de plastique flexible. Le tube est connecté à un coude qui est assemblé avec le support du système de refroidissement. L'air passe ensuite par un boyau ajustable. Ce boyau se sépare en deux grâce à un connecteur en « Y » et projette l'air sec à la sortie de la buse d'extrusion avec deux buses de refroidissement. Des buses plates ont été utilisées (Produit no 5307K77 acheté chez McMASTER-CARR®), car elles permettent d'avoir une convection uniforme sur les filaments extrudés sans que les jets d'air soient trop intenses et qu'ils déforment les filaments. La Figure 3.10 montre le positionnement des buses de refroidissement. Elles ont été placées de part et d'autre de la buse d'extrusion et dirigent leurs jets vers la pointe de celle-ci. Ce positionnement a permis de refroidir efficacement le sucre extrudé.

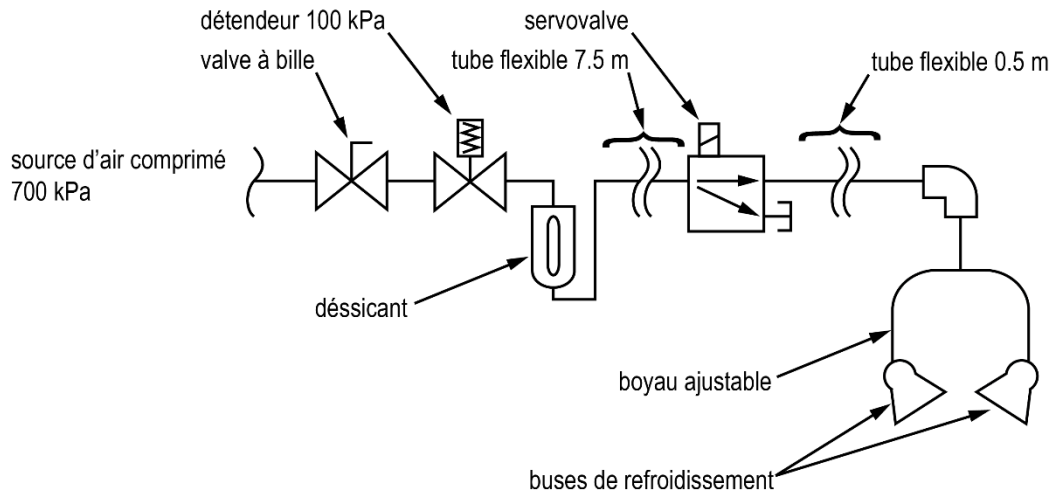


Figure 3.9 : Schéma pneumatique du système de refroidissement.

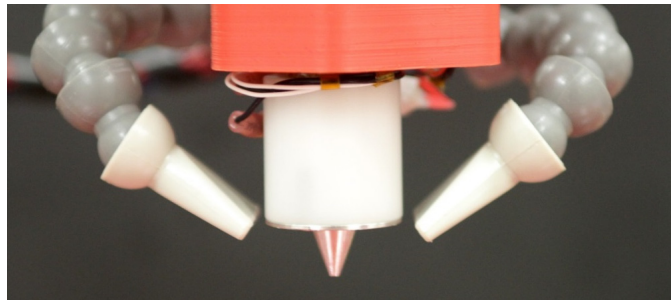


Figure 3.10 : Photo montrant le positionnement des buses de refroidissement par rapport à la buse d'extrusion.

Les guides linéaires

Afin de guider le chariot, trois tiges cylindriques rectifiées ont été utilisées comme guides linéaires. Ces derniers sont maintenus en place à leurs deux extrémités par le couvercle et le support des guides. Bien que l'utilisation de trois guides rende le système surcontraint, ils augmentent sa rigidité et la précision du guidage du chariot.

La buse

La buse est l'élément responsable de l'extrusion de filaments de sucre vitrifié en contrôlant précisément la température d'extrusion et le diamètre des filaments. Elle est constituée de cinq pièces : le corps de la buse, l'adaptateur LUER, un élément chauffant, une thermistance et l'isolant de la buse (voir la Figure 3.11).

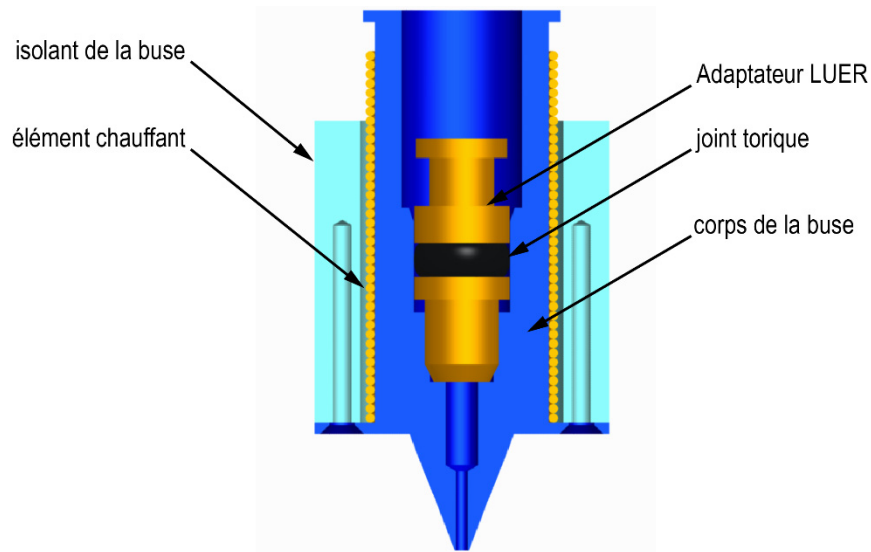


Figure 3.11 : Vue en coupe de la buse.

Lorsque le piston est actionné, le sucre est poussé à travers l'embout LUER de la seringue, puis dans l'adaptateur LUER qui est vissé dans le corps de la buse. Finalement, le sucre passe à travers le trou du corps de la buse. Un joint torique a été placé entre le corps de la buse et l'adaptateur LUER afin d'éviter qu'il n'y ait des fuites de sucre liquide pendant l'extrusion. L'élément chauffant de la buse a été fabriqué de la même façon que celui de la seringue. Un fil de cuivre de 2 m de long et de diamètre de 0.286 mm a été bobiné directement autour du corps de la buse et une thermistance (Epcos B57540 100k) a été installée sous celui-ci dans une rainure sur le corps de la buse. La résistance de cet élément chauffant est de 0.5Ω . Lorsqu'il est alimenté par une source de 12 V, cet élément dissipe 288 W de chauffage. Afin de réduire la puissance de chauffage, un circuit électronique de modulation de largeur d'impulsion (MLI) a été installé entre l'élément chauffant de la buse et la carte électronique de l'imprimante puisque celle-ci n'était pas en mesure de gérer un élément chauffant aussi puissant. Ce circuit est muni d'un potentiomètre qui permet d'ajuster le ratio entre le temps ouvert et le temps fermé du circuit de l'élément chauffant de la buse entre 0 % et 100 %. Dans le cas présent, le potentiomètre a été ajusté de sorte que la puissance maximale dissipée par l'élément chauffant soit réduite à environ 24 W, ce qui permet à la carte électronique de l'imprimante de gérer l'élément chauffant. L'orifice de la buse par lequel le sucre est extrudé présente un diamètre de 1 mm. Ce diamètre correspond au diamètre principal des filaments qui devaient être extrudés. L'angle de la pointe de la buse joue un rôle important dans la qualité des extrusions. Lorsqu'une buse dont la pointe n'est pas suffisamment aiguë était utilisée, les filaments de sucres avaient tendance à coller

au corps de la buse, ce qui avait pour conséquence de former des filaments irréguliers. Une buse dotée d'une pointe ayant un angle de 42° a été utilisée pour réaliser les expériences et cet angle a donné d'excellents résultats.

3.3.2 Le chariot

Le chariot est présenté à la Figure 3.12. Il a comme principale fonction de contrôler l'extrusion en déplaçant le piston dans la seringue. Il comprend le tablier mobile, la rotule, l'engrenage à vis sans fin, la vis 1/4-80, le support du moteur et le moteur.

Le tablier mobile

Le tablier mobile joue le rôle de support pour les différents composants du sous-assemblage du chariot. Il se déplace verticalement avec le piston. Sa position par rapport au corps de la tête d'impression est fonction de la rotation de la vis 1/4-80 dans la bague fileté.

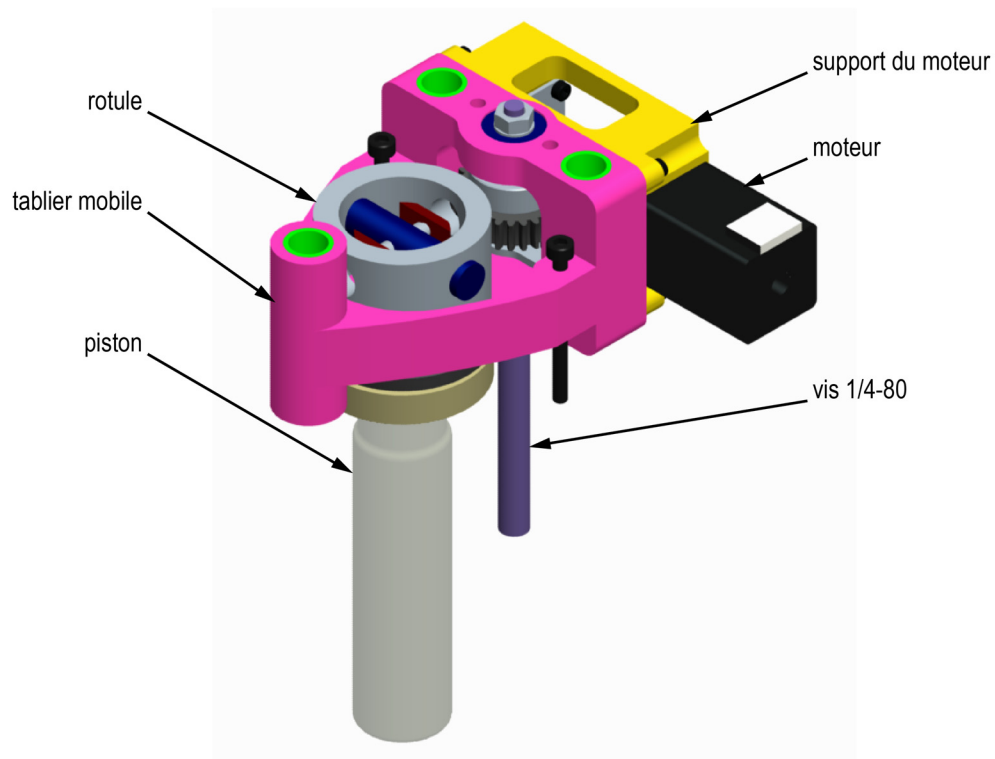


Figure 3.12 : Modélisation du sous-assemblage du chariot.

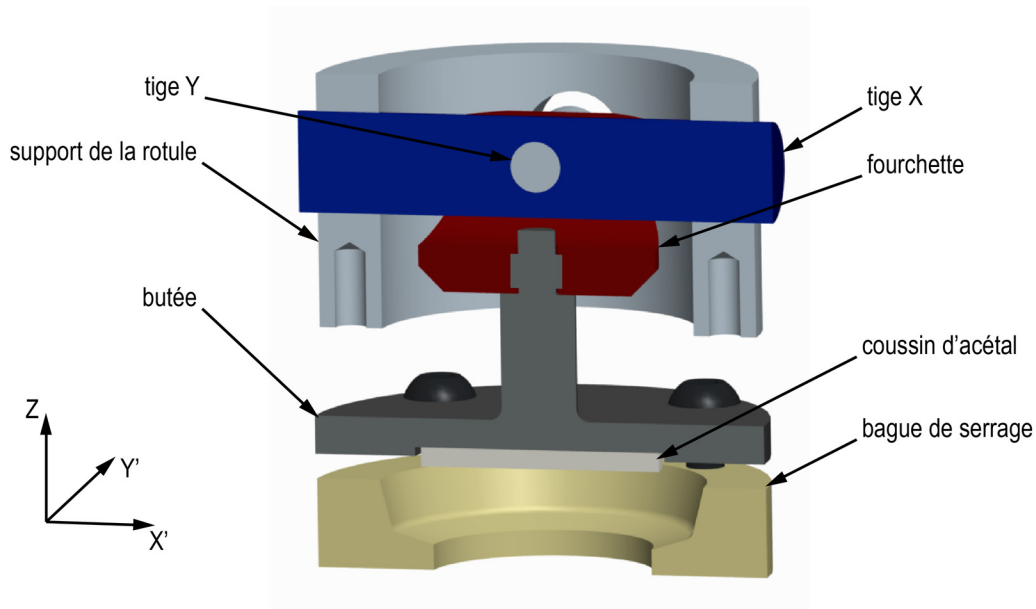


Figure 3.13 : Vue en coupe de la rotule.

La rotule

L'un des problèmes observés lors de la mise en fonction du système était l'erreur d'alignement du piston. La tête du piston était à l'origine directement appuyée sur le tablier mobile. Cependant, la tête du piston (faite de verre) n'était jamais parfaitement perpendiculaire à son axe principal et ceci avait comme conséquence d'induire des contraintes sur le verre. Lorsque le piston était assemblé dans la tête d'impression, il se brisait à cause du manque de perpendicularité de la tête. Il a donc fallu concevoir un mécanisme permettant d'offrir une certaine flexibilité mécanique. La rotule permet de compenser les erreurs d'alignement radial et axial tout en évitant la présence d'un jeu vertical. Une vue en coupe de la rotule est présentée à la Figure 3.13. Elle comporte six pièces : le support de la rotule qui se fixe sur le chariot, la tige X qui permet un déplacement radial et axial suivant l'axe X' , la tige Y qui permet un déplacement radial et axial suivant l'axe Y' , la fourchette, la butée du piston sur laquelle la tête du piston s'appuie et la bague de serrage du piston. Un coussin d'acétal a été collé sous la butée de sorte qu'il puisse se déformer légèrement pour réduire les contraintes mécaniques sur la tête du piston lorsque celui-ci était serré contre la butée. La bague de serrage du piston a été conçue selon le même principe que celui utilisé pour le baril, mais elle a été fendue en deux pour faciliter l'assemblage.

Le support du moteur

Le support du moteur est fixé au chariot par quatre vis. Il supporte le moteur pas-à-pas et la vis sans fin de l'engrenage à l'aide de deux roulements à billes. La Figure 3.14 montre une vue du sous-assemblage du moteur.

L'engrenage à vis sans fin et la vis 1/4-80

L'engrenage à vis sans fin a été conçu pour avoir un facteur de réduction de 30 pour 1. La vis sans fin est couplée au moteur grâce à un collet qui sert son l'extrémité fendue sur l'arbre du moteur. La rotation de la vis sans fin entraîne la roue dentée qui est fixée directement à la vis 1/4-80 par un autre collet. La rotation de cette dernière entraîne le déplacement vertical du chariot. Puisque le pas de la vis 1/4-80 est de 0.3175 mm, une rotation complète de l'arbre du moteur entraîne un déplacement du chariot d'un trentième de 0.3175 mm, soit 0.0106 mm.

Le moteur

On retrouve communément des moteurs pas-à-pas dans les imprimantes 3D. Ces moteurs peuvent être configurés de telle sorte qu'ils tournent par fractions de pas, ce qui augmente la résolution de la rotation de leur arbre. Un moteur a été sélectionné pour atteindre les performances du cahier des charges en tenant compte du rapport du déplacement du chariot en fonction de la rotation du moteur (0.0106 mm/tour). Un moteur pas-à-pas de format NEMA 8 faisant 200 pas par tour a été sélectionné. Ce moteur est petit et léger, ce qui a permis de respecter le critère de masse de la tête d'impression.

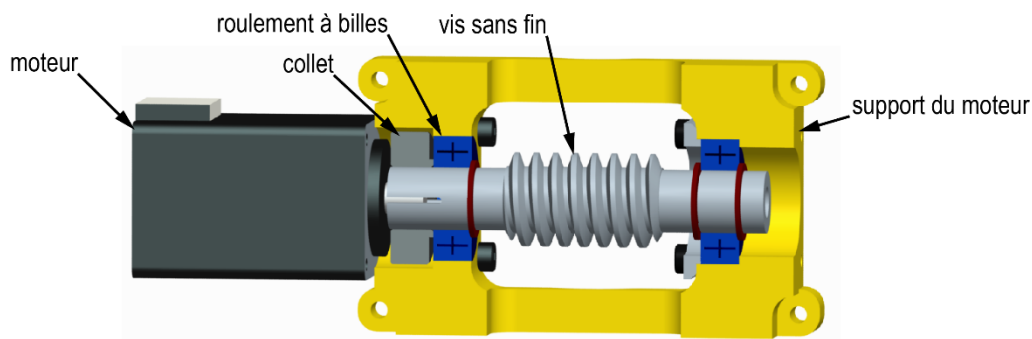


Figure 3.14 : Vue de coupe du sous-assemblage du moteur.

La rotation du moteur pas-à-pas entraîne le déplacement du chariot et du piston dans le baril de la seringue, ce qui permet d'extruder le sucre vitrifié. Puisque le diamètre interne de la seringue est de 19.3 mm (D_s) et celui de la buse est de 1 mm (D_b), le ratio entre le déplacement du piston dans la seringue et la longueur d'extrusion est de 372.5 (D_s^2/D_b^2). Sachant que la résolution d'extrusion demandée par le cahier des charges était de 0.01 mm, le moteur a été configuré pour qu'il effectue des demi-pas (400 pas par tour). Dans cette configuration, la résolution d'extrusion est de 0.01 mm/pas. L'utilisation de l'imprimante a démontré que de configurer le moteur en quart de pas donnait aussi d'excellents résultats et c'est ainsi qu'il a été configuré pour les expériences, c'est-à-dire que la résolution d'extrusion était de 0.0049 mm/pas.

3.4 Améliorations apportées à l'imprimante

La modification la plus importante qui a été apportée à l'imprimante a été de remplacer la tête d'impression. Quelques autres améliorations ont également été nécessaires pour rendre l'imprimante plus fonctionnelle afin qu'elle puisse répondre à tous les éléments du cahier des charges. Voici les principales améliorations qui ont été réalisées.

Les vis permettant le déplacement de la tête d'impression selon l'axe Z ont été remplacées. Celles d'origines étaient des tiges filetées M8 qui étaient légèrement voilées et leur rotation engendrait des déplacements non désirés de la tête d'impression selon les axes X et Y pendant les déplacements sur l'axe Z. De plus, il y avait beaucoup de friction entre ces vis et les écrous fixés aux supports de l'axe X, ce qui limitait la vitesse de déplacement selon l'axe Z. Pour corriger ce problème, les deux vis ont été remplacées par des vis trapézoïdales rectifiées (lead screw) avec un pas de 1.5 mm plutôt que 1 mm (produit no. MTSBR8-500 acheté chez MISUMI Group Inc.). Ce changement a non seulement permis de régler le problème de précision, mais il a aussi permis de tripler la vitesse de déplacement en Z, passant de 2 mm/s à 6 mm/s.

Puisque la nouvelle tête d'impression est beaucoup plus haute que l'ancienne, l'amplitude des mouvements en Z était réduite à un peu moins de 50 mm, à cause de la présence d'une plaque sur le dessus de l'imprimante originale. La plaque supérieure de l'imprimante a été remplacée par une plaque d'aluminium dont la géométrie a permis de dégager l'espace au-dessus de la tête d'impression. L'utilisation de la nouvelle plaque a permis d'avoir une

amplitude de mouvement de 80 mm sur l'axe Z. De plus, l'espace libéré a grandement facilité les manipulations d'assemblage et de désassemblage de la tête d'impression.

La carte électronique de l'imprimante a été remplacée. À l'origine, la AW3D XL était munie d'une carte RAMBo qui a été remplacée par une carte RAMPS v1.4. Bien que ces deux cartes électroniques aient des caractéristiques équivalentes, la carte RAMPS v1.4 a l'avantage d'être modulaire et facilement modifiable. Elle a entre autres permis d'ajuster le courant passant dans le bobinage du moteur pas-à-pas de la nouvelle tête d'impression et de modifier la configuration du même moteur en quart de pas sans avoir à modifier son programme. Le programme qui contrôle l'imprimante a tout de même été modifié pour s'adapter à toutes les modifications et améliorations qui ont été faites à celle-ci. Voici les principaux points qui ont été modifiés :

- Le nombre de millimètres par pas a été ajusté à 0.049 mm/pas pour le moteur contrôlant l'extrusion et à 0.000469 mm/pas pour les moteurs contrôlant le déplacement en Z (les vis d'origine qui permettaient le déplacement en Z présentaient un pas de 1mm, et les nouvelles ont plutôt un pas de 1.5 mm et les moteurs sont configurés en seizième de pas, soit 3200 pas par tour).
- Les dimensions physiques du nouvel espace de travail ont été modifiées afin d'éviter que la tête n'entre en collision avec la structure de l'imprimante.
- Les commandes de températures maximales de la buse et de la seringue ont respectivement été réglées à 115 °C et 140 °C.
- La vitesse maximale de déplacement en Z a été augmentée à 360 mm/min plutôt que 180 mm/min.

La modélisation de l'imprimante est présentée à la Figure 3.15a. Elle a entre autres permis d'estimer la masse de la tête d'impression avant sa fabrication pour s'assurer que la tête d'impression ne dépasserait pas 850 g. Il a aussi été possible de déterminer l'espace de travail final de l'imprimante après ses modifications (soit de 250 mm x 200 mm x 80 mm). La Figure 3.15b présente une photo de l'imprimante modifiée. Elle a permis, grâce à la nouvelle tête d'impression et aux améliorations qui lui ont été apportées, de fabriquer des structures tridimensionnelles de sucre vitrifié. Cependant, avant d'atteindre l'objectif qui a été fixé d'imprimer des structures imitant des réseaux vasculaires, il a fallu procéder à la mise en service et la caractérisation de l'imprimante. Cette étape a permis d'en déterminer les conditions d'opérations optimales ainsi que d'en caractériser son fonctionnement.

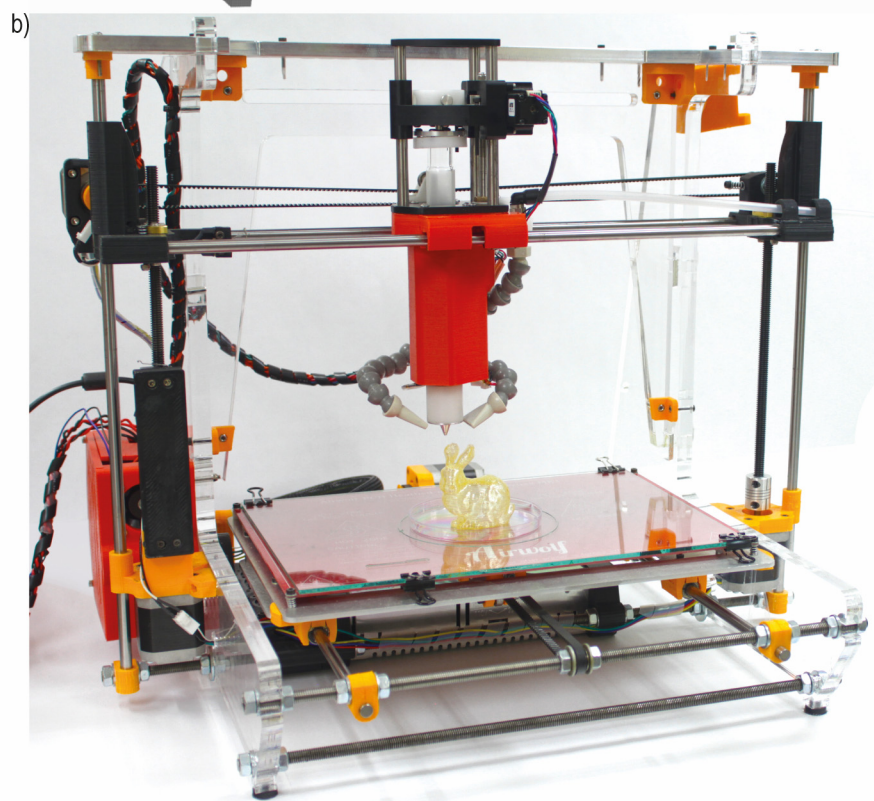
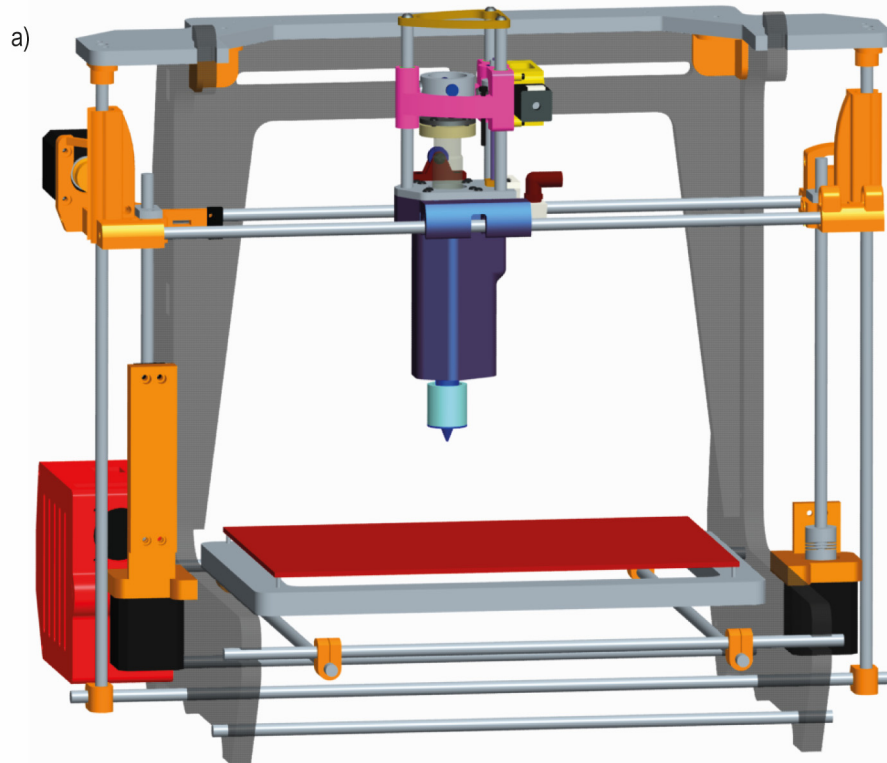


Figure 3.15 : a) Modélisation de l'imprimante avec les modifications et les améliorations. b) Photographie de l'imprimante finale après les modifications et améliorations.

Chapitre 4

Mise en service de l'imprimante

Ce chapitre présente la mise en service de l'imprimante. Contrairement aux imprimantes FDM qui utilisent en général des bobines de filaments de plastique comme matériel d'impression, il n'est pas possible d'emmagasiner du sucre vitrifié et de l'utiliser pour faire plusieurs séries d'impressions étalées sur plusieurs jours comme il est possible de le faire avec un matériau plus stable. Il a donc fallu, déterminer une méthodologie permettant de préparer l'imprimante avant chaque série d'impressions. Cette méthodologie a permis d'assurer l'uniformité des conditions d'utilisation de l'imprimante d'une fois à l'autre ainsi que d'obtenir des résultats répétables. Le protocole comprend la préparation de la solution de sucre (sirop), le remplissage du réservoir (la seringue de verre) ainsi que l'assemblage de la tête d'impression.

4.1 Préparation du matériel

La qualité du matériel est un enjeu majeur quant au fonctionnement de l'imprimante. Les caractéristiques recherchées du matériel sont les suivantes : 1) être suffisamment rigide à la température de la pièce (après dépôt et solidification) pour qu'il ne se déforme pas sous l'effet de son propre poids, 2) être suffisamment fluide pour être extrudé, 3) ne pas se dégrader pendant le temps nécessaire à l'impression.

Il est possible de fabriquer différents types de sirop à partir d'un ou plusieurs types de sucre en les mélangeant dans de l'eau puis en augmentant la température de la solution pour en évaporer l'eau. Lorsqu'ils sont refroidis, ces sirops se solidifient et deviennent des sucres vitrifiés. Les propriétés mécaniques et la stabilité du matériel après sa solidification sont influencées par la proportion massique contenue dans le sirop, des types de sucre (glucose, sucrose...) et de leurs proportions dans le mélange, des conditions de chauffage du mélange ainsi que des conditions d'extrusion et de solidification [51].

La première version de sirop qui a été testée est celle qui avait été utilisée par Miller *et al.* [19]. Il s'agit d'un mélange de glucose et de sucrose (communément utilisé dans le domaine alimentaire) à laquelle a été ajouté du dextran pour en améliorer les propriétés mécaniques. Elle consiste à mélanger 25 g de glucose, 53 g de sucrose, 10 g de dextran (86 kDa) et 50 ml d'eau filtrée par osmose inverse, puis à chauffer la solution jusqu'à 165 °C. Lors des premiers essais, il a été réalisé que le dextran était difficile à dissoudre, qu'il avait tendance à s'agglutiner et à coller aux parois du bécher pendant le chauffage. De plus, il était très difficile d'aspirer cette solution avec les seringues de verre puisqu'il se figeait dans l'embout LUER de celles-ci, même si elles avaient été préchauffées.

Dans le but de se libérer des contraintes liées à cette préparation, d'autres mélanges ont été essayés afin d'élaborer une méthodologie permettant d'obtenir du sirop facile à préparer et à manipuler. Les mêmes proportions de glucose et de sucrose ont été utilisées (25 g de glucose et 53 g de sucrose) en retirant le dextran et en utilisant de l'eau distillée (50 ml) plutôt que de l'eau filtrée par osmose inverse. Une plaque chauffante (SCIOLOGEX MS7-H550-Pro achetée chez FroggaBio) a été utilisée pour la préparation des sirops. Cette plaque chauffante était munie d'une sonde de mesure de température pouvant être plongée dans le mélange et d'un agitateur magnétique. Quelques essais ont été effectués en faisant varier la température finale et la vitesse de chauffage du mélange.

Lorsque la commande de température finale était donnée dès le début du chauffage, il est arrivé à quelques occasions, que le glucose ne se dissolvait pas complètement. Pour résoudre ce problème, une commande intermédiaire de 100 °C était d'abord donnée à la plaque chauffante dans le but de dissoudre tout le sucre. Une fois que le glucose et le sucrose étaient complètement dissous, la commande de température finale était donnée pour évaporer l'eau. De cette façon il a été possible d'obtenir un sirop homogène pour chacune des expériences.

Le temps de chauffage a une influence sur le brunissement du sucre dû à une réaction chimique de caramélisation [52]. Il a été observé que plus le temps de chauffage est long, plus il y a de brunissement. De même il a été observé que plus la température finale est élevée, plus le sirop brunit rapidement. La caramélisation rend le sucre vitrifié moins rigide, c'est-à-dire qu'il a tendance à se déformer sous son propre poids. Les essais ont démontré que si le temps de chauffage est inférieur à 75 minutes, le sirop brunit peu et cela permet d'obtenir des impressions uniformes d'une fois à l'autre.

La température finale à laquelle est chauffé le sirop influence également ses propriétés. Lorsqu'il est chauffé à une température de 165 °C ou plus, il devient plus visqueux. Lorsqu'il est ensuite refroidi à sa température d'extrusion (entre 70 °C et 110 °C), il est plus difficile à extruder avec la seringue. Il présente cependant l'avantage de moins se déformer une fois refroidi et il a été observé qu'il est par la suite affecté moins rapidement par l'humidité présente dans l'air (il se liquéfie moins rapidement au contact de l'air). Par contre plus la température de chauffage est élevée, plus le sirop brunit rapidement. Il a donc fallu déterminer une température de chauffage optimale permettant d'obtenir un matériel ne présentant pas une trop grande viscosité pour l'extrusion, mais possédant toutefois de bonnes propriétés mécaniques une fois imprimé. Une température finale de chauffage du sirop de 175 °C a été déterminée comme étant adéquate et a permis d'obtenir le résultat souhaité.

Grâce aux conclusions qui ont été tirées des essais de préparation du matériel, un protocole permettant de préparer le sirop a été élaboré :

1. Verser 25 g de glucose, 53 g de sucrose et 50 ml d'eau distillée dans un bécher de 250 ml.
2. Placer le bécher sur une plaque chauffante, ajouter un agitateur magnétique et plonger une sonde de mesure de température dans le mélange.
3. Régler la commande de chauffage à 100 °C et faire tourner l'agitateur à 400 RPM.
4. Une fois que le mélange atteint 90 °C, augmenter la commande de température à 175 °C. À ce moment, tous les éléments devraient être dissous et le mélange devrait être translucide.

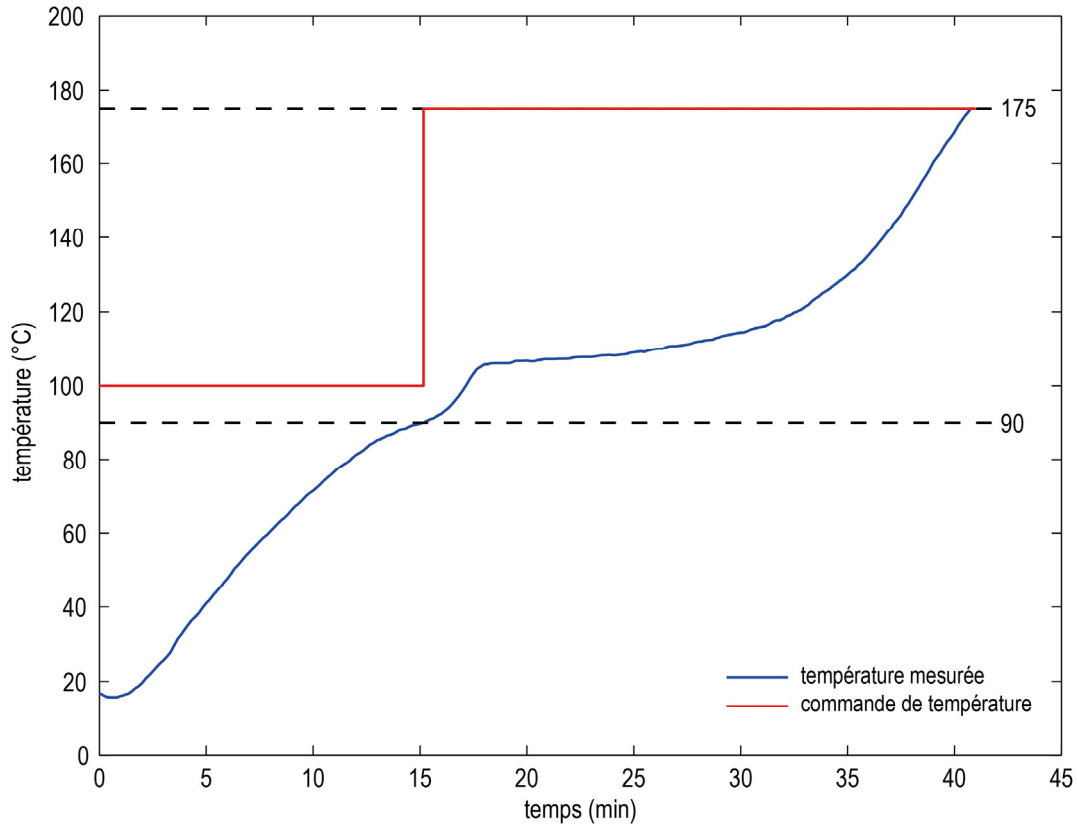


Figure 4.1 : Courbe typique de l'évolution de la température du mélange de glucose et de sucrose en fonction du temps pour la préparation du matériel en vue de l'impression.

5. Retirer le bécher de la plaque chauffante dès que la préparation atteint 175 °C. La préparation du sucre devrait durer entre 40 et 75 minutes. La Figure 4.1 présente une courbe typique de l'évolution de la commande en température et de la température mesurée du mélange pendant la préparation du matériel.

4.2 Préparation nécessaire à l'impression

Suite à la préparation du sirop, il faut l'aspirer avec la seringue de la tête d'impression. Pour ce faire, la seringue doit en premier lieu être préchauffée à 110 °C, ce qui évite que le sirop fige lors du remplissage. Il arrive fréquemment que de l'air entre dans la seringue pendant l'aspiration du sirop. L'aspiration est faite manuellement avec la seringue à l'extérieur de la tête d'impression, ce qui permet de purger l'air de la seringue après l'aspiration. La Figure 4.2 présente le sous-assemblage de la seringue dans la configuration utilisée lors de

l'aspiration sirop. Le couvercle et la butée du piston doivent être fixés à l'avance à la seringue afin de gagner du temps pendant l'assemblage de la tête d'impression. Également, pour éviter de salir la seringue pendant l'aspiration du sucre, un tube de plastique flexible était fixé directement sur l'embout LUER. Les tubes utilisés présentent une longueur de 40 mm et un diamètre intérieur de 3.175 mm (1/8"). Une fois que 15 ml de sucre sont aspirés, l'air présent dans la seringue est purgé. Ensuite, le tube fixé à l'embout LUER est remplacé temporairement par un bouchon. La Figure 4.3 présente la seringue une fois remplie, après avoir purgé l'air et avec un bouchon sur l'embout LUER.



Figure 4.2 : Sous assemblage de la seringue permettant l'aspiration du sirop.



Figure 4.3 : Sous-assemblage de la seringue après l'aspiration du sirop.

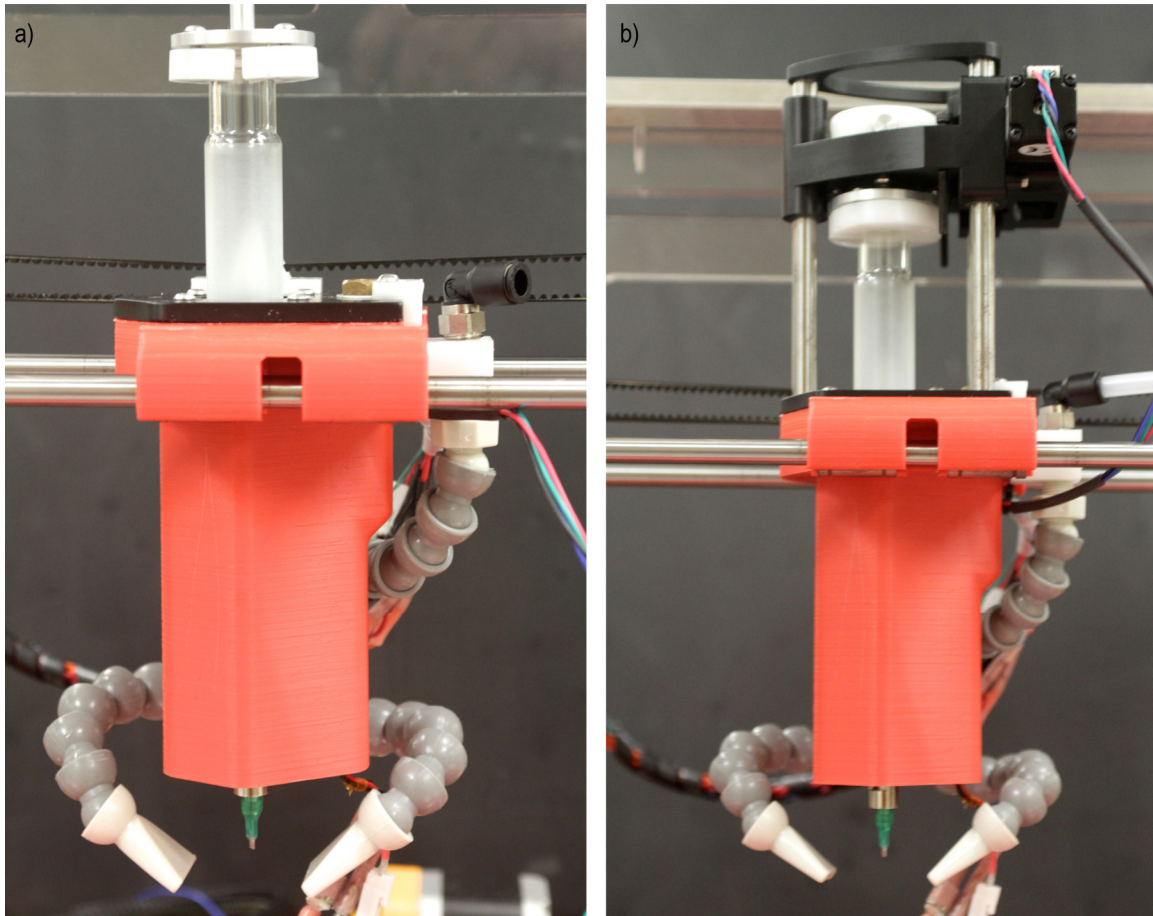


Figure 4.4 : Photos de la tête d'impression pendant son assemblage. a) Le sous-assemblage de la seringue a été placé dans le support et le système de refroidissement a été vissé au couvercle. b) Les guides, le chariot et le support des guides ont été remis en place et la butée du piston a été vissée dans la rotule.

Ensuite, la seringue est replacée dans la tête d'impression et fixée en place en vissant le couvercle au support. Par la suite, le système de refroidissement est fixé au couvercle et le chariot est placé sur les guides linéaires et la butée du piston est vissée dans la rotule (voir la Figure 4.4a et la Figure 4.4b). Finalement, le bouchon fixé à la seringue est retiré pour être remplacé par la buse. L'embout LUER de la seringue sur lequel la buse était vissée, a à l'occasion posé problème lors de l'assemblage de la tête d'impression puisqu'il se brisait facilement. De plus, il est arrivé à quelques reprises, que l'embout LUER se soit desserré durant l'impression, ce qui causait une perte d'étanchéité dans la buse et qui réduisait la précision des impressions. Il pourrait être intéressant, pour éviter les problèmes sporadiques causés par l'embout LUER, de modifier le design de la tête d'impression pour le remplacer par un autre dispositif.

L'imprimante est contrôlée à l'aide du logiciel Repetier-Host, qui permet de générer des programmes en code G et d'en programmer manuellement. Le Tableau 4.1 résume les commandes en code G qui ont été utilisées dans le cadre de ce mémoire pour la programmation des impressions. Avant de commencer les impressions, une commande d'extrusion est envoyée à l'imprimante. Cette étape permet de purger l'air présent dans la buse et de visser la vis 1/4-80 dans la bague fileté. Pendant cette étape, la température de la seringue est maintenue à 110 °C et la température de la buse à 95 °C. Pendant cette étape, environ 5 ml de sucre sont extrudés, formant ainsi un filament continu qui s'enroule en spirales dans un contenant placé sous la buse pour le recueillir. La Figure 4.5 et la Figure 4.6 présentent un tel filament extrudé lors de la purge. Après l'exécution de cette opération, il reste environ 10 ml de matériel dans la seringue pour réaliser les impressions. Enfin, au début de chaque programme d'impression la commande G28, permettant de faire la mise à zéro des axes X, Y et Z, doit être envoyée à l'imprimante.

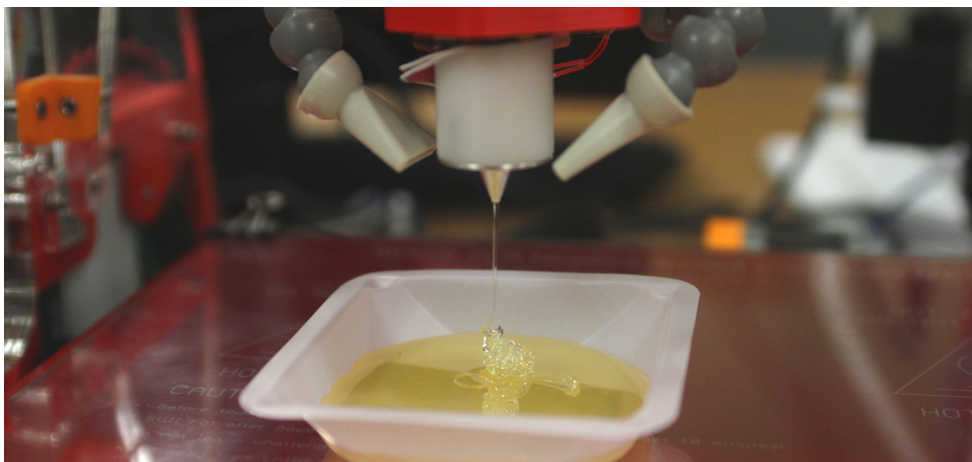


Figure 4.5 : Photo de l'extrusion prise pendant la purge de la buse.

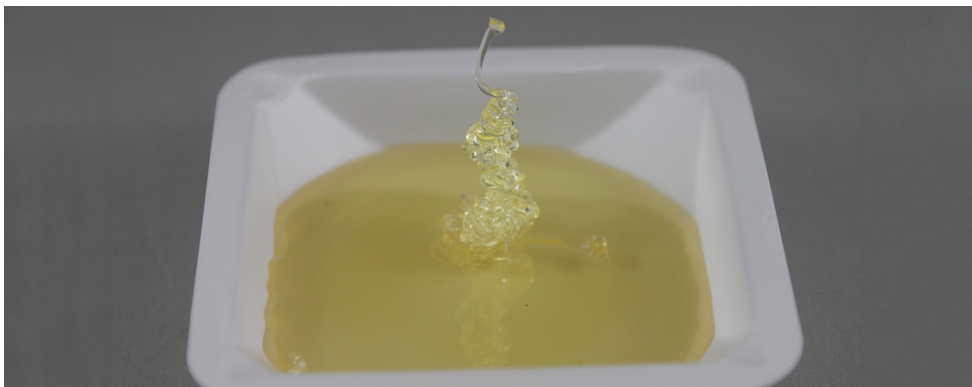


Figure 4.6 : Surplus de sucre vitrifié et filament extrudé lors de la purge de la buse.

Tableau 4.1 : Résumé des commandes G utilisées pour l'impression 3D de structures en sucre réalisées avec l'imprimante développée dans ce projet.

Commande	Description
G1	Déplacement linéaire en millimètre sur les axes X, Y, Z et E (l'axe E correspond à la longueur d'extrusion). Nomenclature : G1 Xnnn Ynnn Znnn Ennn Fnnn Où «nnn» correspond aux distances à parcourir sur les axes X, Y, Z et E et F correspond à la vitesse de déplacement en mm/min.
G2 & G3	Déplacement circulaire (sens horaire pour G2 et antihoraire pour G3 autour de l'axe Z seulement). Nomenclature : G2 Xnnn Ynnn Innn Jnnn Ennn Fnnn Où X et Y correspondent au point à atteindre sur les axes X et Y et I et J correspondent respectivement aux coordonnées du centre de rotation en X et Y relatif à la position actuelle. E correspond à la longueur d'extrusion en mm et F à la vitesse de déplacement en mm/min.
G4	Attente. Nomenclature : G4 Pnnn ou G4 Snnn Où P correspond à une attente en millisecondes et S à une attente en secondes.
G28	Retour à l'origine. Nomenclature : G28 pour aller à X=0, Y=0 puis Z=0, G28 X Z pour aller à X=0 puis Z=0, etc.
G90	Règle les déplacements en absolu par rapport à l'origine. Nomenclature : G90
G91	Règle les déplacements en relatif par rapport à la position actuelle. Nomenclature : G91
G92	Règle la position actuelle de la buse à la position désirée. Nomenclature : G92 Xnnn Ynnn Znnn Ennn
M83	Règle l'extrusion en mode relatif. Nomenclature : M83
M104	Règle la température de la buse en degré Celsius et continue le programme sans attendre d'atteindre la température visée (voir aussi M109). Nomenclature : M104 Snnn Où S correspond à la température visée en °C.
M106	Ouvre le circuit de refroidissement. Nomenclature : M106 Snnn Où S correspond à l'ouverture de la valve. Varie entre 0 et 255 (0 à 100%)
M107	Ferme le circuit de refroidissement. Nomenclature : M107
M109	Règle la température de la buse en degré Celsius et attend d'atteindre la température avant de continuer le programme (voir aussi M104). Nomenclature : M109 Snnn; attendre que la température visée soit atteinte en chauffant seulement ou M109 Rnnn; attendre que la température visée en chauffant ou en refroidissant. Où R et S correspondent à la température visée en °C.
M190	Règle la température de la seringue en degré C et attend d'atteindre la température avant de continuer le programme. Nomenclature : M190 Snnn Où S correspond à la température visée en °C.

La mise en service présentée dans ce chapitre sous forme de protocole d'utilisation permet l'utilisation du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié de telle façon que son matériel et son fonctionnement soient uniformes et répétables lors de chacune des expériences réalisées.

Chapitre 5

Caractérisation du procédé d'extrusion

La caractérisation du procédé d'extrusion de sucre vitrifié a permis d'établir un modèle de prévision de l'extrusion. Le modèle a servi à déterminer les paramètres nécessaires à l'extrusion de filaments aux diamètres spécifiques. La caractérisation a été une étape cruciale qui a rendu possible l'impression de structures temporaires nécessaire pour la fabrication de réseaux vasculaires. Ce chapitre décrit la démarche qui a été empruntée pour établir le modèle de prévision de l'extrusion.

5.1 Modèle théorique

L'élaboration d'un modèle théorique représentant le procédé d'extrusion du sucre vitrifié a servi à connaître les différents éléments et facteurs qui influencent le diamètre des extrusions. La Figure 5.1 présente un schéma du procédé d'extrusion, trois volumes de contrôle y sont compris dans des rectangles pointillés. Le volume 1 correspond à l'intérieur de la seringue où le sucre est maintenu à une température T_1 . Le volume 2 correspond à l'intérieur de la buse où la température du sucre est abaissée et maintenue à une température T_2 . Finalement, le volume 3 correspond au filament extrudé une fois refroidi à la température de la pièce T_3 (environ 20 °C). La vitesse de plongée du piston dans le baril de la seringue est contrôlée par le moteur d'extrusion et est représentée par V_p .

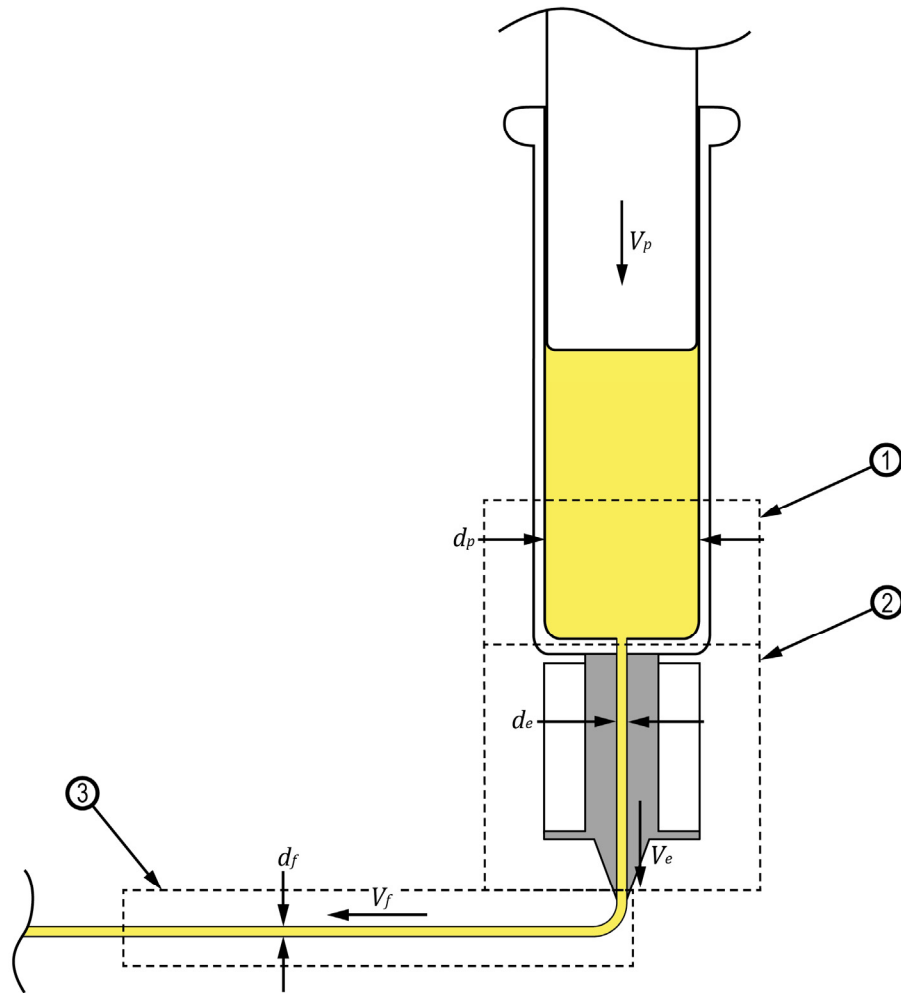


Figure 5.1 : Schéma représentant l'extrusion de sucre vitrifié.

La vitesse de l'écoulement dans la buse (vitesse d'extrusion) est représentée par V_e . La vitesse relative de la tête d'impression par rapport aux filaments extrudés (vitesse d'avance) est représentée par V_f . Le diamètre interne du baril de la seringue (19.60 mm) correspond à d_p . Le diamètre de la buse (1 mm) correspond à d_b . Finalement, d_f correspond au diamètre du filament extrudé. Le modèle est basé sur les hypothèses suivantes :

- Il y a conservation de la masse du sucre dans le système.
- Le sirop est incompressible.
- L'extrusion est en régime permanent.

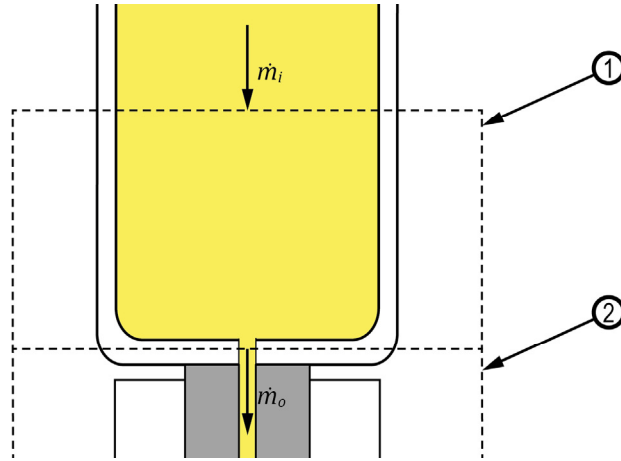


Figure 5.2 : Détail de l'écoulement du sirop dans le volume de contrôle 1.

Le théorème de transport de Reynolds a été utilisé pour modéliser le système [53].

$$\frac{dm_{sys}}{dt} = \frac{\partial m_{vc1}}{\partial t} + \dot{m}_i - \dot{m}_o \quad (5.1)$$

Où m_{sys} est la masse du système (masse totale du sucre) et m_{vc1} est la masse de sucre dans le volume de contrôle 1 de la Figure 5.1 et la Figure 5.2. La variable \dot{m}_i correspond au débit massique entrant dans le volume de contrôle 1 et \dot{m}_o correspond au débit massique sortant du volume de contrôle 1. Puisqu'il y a conservation de masse, m_{sys} est donc constante. Sachant que le volume de contrôle est fixe, la masse de sucre dans le volume 1 (m_{vc1}) est aussi constante. L'équation (5.1) devient donc :

$$0 = \dot{m}_i - \dot{m}_o \quad (5.2)$$

C'est-à-dire que le débit massique entrant dans le volume de contrôle 1 est égal au débit massique sortant du volume de contrôle 1. Le débit massique sortant du volume de contrôle 1 correspond au débit massique entrant dans le volume de contrôle 2. Puisque le volume de contrôle 2 est lui aussi fixe, le débit massique entrant dans le volume de contrôle 2 est égal au débit massique sortant du volume de contrôle 2. Comme l'extrusion est en régime permanent, la masse de sucre dans le volume de contrôle 3 est elle aussi constante et le débit massique entrant dans celui-ci est égal au débit massique sortant du volume de contrôle 2. Donc le débit massique passant par le volume de contrôle 1 (\dot{m}_1) est égal au débit massique passant par le volume de contrôle 2 (\dot{m}_2) qui est aussi égal au débit massique passant par le volume de contrôle 3 (\dot{m}_3).

$$\dot{m}_1 = \dot{m}_2 = \dot{m}_3 \quad (5.3)$$

L'équation (5.3) peut être développée pour obtenir l'équation (5.4).

$$\frac{\rho_1 V_p \pi d_p^2}{4} = \frac{\rho_2 V_e \pi d_e^2}{4} = \frac{\rho_3 V_f \pi d_f^2}{4} \quad (5.4)$$

Où ρ_1 , ρ_2 et ρ_3 sont respectivement la masse volumique du sucre dans les volumes de contrôles 1, 2 et 3 de la Figure 5.1. En isolant d_f de l'équation (5.4), on obtient l'équation (5.5).

$$d_f = \left(\frac{\rho_1 d_p^2 V_p}{\rho_3 V_f} \right)^{0.5} \quad (5.5)$$

Puisque l'imprimante est programmée en fonction de V_e et V_f , il a été décidé de reformuler l'équation (5.5) pour qu'elle soit fonction de ces deux paramètres dans le but d'en simplifier l'application lors de l'utilisation de l'imprimante. L'équation (5.6) présente la vitesse du piston (V_p) en fonction de la vitesse d'extrusion désirée (V_e).

$$V_p = \frac{\rho_2 d_e^2 V_e}{\rho_1 d_p^2} \quad (5.6)$$

La variation de densité du sirop entre le volume de contrôle 1 et le volume de contrôle 2 a été négligée étant donné la faible variation de température entre ces deux volumes (environ 15 °C). Ainsi, $\rho_1/\rho_2 \approx 1$ et l'équation (5.6) est réécrite sous la forme suivante :

$$V_p = \frac{d_e^2 V_e}{d_p^2} \quad (5.7)$$

En insérant l'équation (5.7) dans l'équation (5.5) :

$$d_f = \left(\frac{\rho_1 V_e d_e^2}{\rho_3 V_f} \right)^{0.5} \quad (5.8)$$

En estimant que ρ_1 , ρ_3 et d_e sont constants tout au long des expériences, il est possible de les isoler de l'équation (5.8) et d'obtenir :

$$d_f = d_e \left(\frac{\rho_1}{\rho_3} \right)^{0.5} \left(\frac{V_e}{V_f} \right)^{0.5} \quad (5.9)$$

Dans le but de rendre l'équation (5.9) indépendante du diamètre de la buse, le diamètre du filament a été divisé par le diamètre de la buse et on obtient l'équation (5.10) qui est maintenant sous une forme adimensionnelle.

$$\frac{d_f}{d_e} = A \left(\frac{V_e}{V_f} \right)^{0.5}, \quad \text{où} \quad A = \left(\frac{\rho_1}{\rho_3} \right)^{0.5} \quad (5.10)$$

L'équation (5.10) représente cependant un modèle simplifié, qui ne tient pas compte de tous les facteurs pouvant avoir un impact sur le diamètre des filaments extrudés. En effet, plusieurs autres facteurs peuvent influencer de façon directe ou indirecte le diamètre des extrusions.

Parmi ces facteurs, on retrouve les variations de température de la seringue, de la buse et de l'air de la pièce qui ont une influence sur la masse volumique du sirop. L'humidité absorbée par les filaments une fois extrudés pourrait également avoir une influence sur la masse et le diamètre des filaments extrudés. De plus, la déformation de certaines pièces en raison de la variation de température pourrait aussi avoir une influence sur le diamètre des extrusions par exemple, le diamètre de la seringue ou le pas de la vis 1/4-80.

À la fin des séries d'impressions, lorsque la seringue était purgée, il a été observé qu'il y avait toujours un peu de gaz dans la seringue malgré que le gaz dans la seringue ait été purgé avant qu'elle soit placée dans la tête d'impression. L'hypothèse suivante a donc été émise. Le sirop, maintenu à une température T_1 dans la seringue, relâche des gaz durant la période d'impression. Ces gaz proviennent probablement de l'évaporation de l'eau encore présente dans le mélange ou de la vaporisation de gaz dissous dans le mélange. Ce phénomène semble aussi être fonction du temps puisque plus le temps entre la mise en route de l'imprimante et la fin des impressions était long, plus il semblait y avoir du gaz lorsque la seringue était retirée de l'imprimante à la fin de la séance d'impression. Ces gaz, en prenant de l'expansion, auraient contribué à forcer du sirop vers l'extérieur de la seringue dans une situation où le piston serait maintenu en place par le montage (*i.e.* $V_p = 0$).

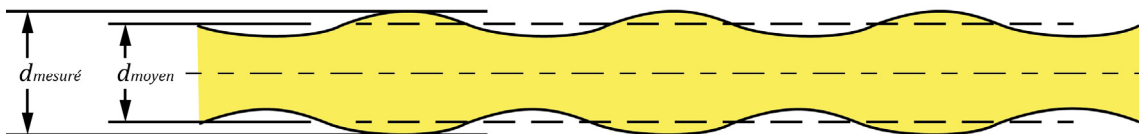


Figure 5.3 : Schéma présentant l'irrégularité de la surface des filaments.

L'irrégularité de la surface des filaments mesurés pourrait aussi avoir une influence sur la mesure des diamètres. Il a été observé qu'une succession de creux et de bosses était présente sur les filaments ayant des diamètres de 2 mm et plus, comme il est illustré à la Figure 5.3. Ce phénomène était probablement attribuable aux moteurs pas-à-pas qui servaient à déplacer la tête d'impression et qui, à basse vitesse, généraient des mouvements saccadés. Cette caractéristique géométrique était probablement aussi présente sur les filaments de plus petits diamètres, mais impossible à voir à l'œil nu.

Puisque le système d'extrusion n'était pas parfaitement rigide, il a été possible d'observer un délai entre le moment où le moteur commençait à tourner pour faire descendre le piston et le moment où le sirop était extrudé. Ce délai peut être expliqué par la présence de gaz dans la seringue (*i.e.* la compressibilité du sirop) et la déformation des composantes de la tête d'impression.

Tous ces facteurs peuvent avoir eu une influence sur le diamètre final des impressions. Il est cependant difficile de déterminer analytiquement l'influence exacte de ces paramètres et de les introduire dans un modèle mathématique. Cependant, en ajoutant une deuxième constante (B) au modèle de prédiction de l'extrusion, il a été possible de prendre en compte les différents facteurs évoqués précédemment. L'équation (5.11) présente le modèle mathématique qui a été utilisé pour prédire l'extrusion de sucre vitrifié.

$$\frac{d_f}{d_e} = A \left(\frac{V_f}{V_e} \right)^{-0.5} + B \quad (5.11)$$

5.2 Essais expérimentaux

Cette section décrit les essais expérimentaux qui ont été effectués dans le but de déterminer empiriquement les constantes A et B de l'équation (5.11). Un protocole ayant pour but d'établir une méthode précise et systématique pour imprimer et mesurer le diamètre de différents filaments a été élaboré.

5.2.1 Détermination des températures d'opération

La température d'opération de la seringue et celle de la buse ont d'abord dû être déterminées avant d'imprimer et de mesurer des filaments puisque les constantes de l'équation (5.11) en étaient dépendantes. Lors des premiers essais, la température de la seringue (T_1) et de la buse (T_2) étaient de 110 °C comme celle utilisée par Miller *et al.* [19]. Cette température était cependant trop élevée, puisqu'en sortant de la buse le sirop ne formait pas un filament continu, mais plutôt des gouttes, signe que le sirop était trop chaud. Des essais ont donc été réalisés en faisant varier la température de la buse entre 60 °C et 110 °C et la température de la seringue entre 80 °C et 110 °C. En réduisant la température de la buse en dessous de 100 °C, il a été possible d'extruder un filament continu. En fait, plus la température d'extrusion était basse, moins le filament se déformait immédiatement après avoir été extrudé. Par contre si la température d'extrusion était trop basse, l'adhérence entre le filament et la surface d'impression pouvait être compromise. De plus, ces variations de la température influençaient la viscosité du sirop, lorsqu'il était trop froid, il devenait plus visqueux ce qui limitait la vitesse d'extrusion (*i.e.* le moteur contrôlant l'extrusion atteignait le couple maximal qu'il pouvait fournir). Les différents essais réalisés ont permis de conclure qu'en maintenant la température de la seringue (T_1) à 100 °C et celle de la buse (T_2) à 85 °C, il était possible d'extruder des filaments horizontaux sans qu'ils se déforment en les refroidissant avec de l'air comprimé (sec) pendant l'impression. De plus, à cette température le sirop était suffisamment fluide pour qu'il soit possible de créer un filament continu à une vitesse d'extrusion de 50 mm/min sans atteindre le couple maximal du moteur. Le modèle de prédiction de l'extrusion a donc été calibré avec ces paramètres d'opération et ce sont ces derniers qui ont été utilisés lors de l'opération de l'imprimante (voir Chapitre 6).

5.2.2 Description des essais

Plusieurs séries de filaments telle que celle illustrée à la Figure 5.4 ont été imprimées en changeant la vitesse d'extrusion (V_e) et la vitesse d'avance (V_f) dans le but de faire varier le diamètre des filaments. Avant l'impression de chaque série de filaments, un serpentín était imprimé directement sur la plaque de verre de l'imprimante afin de s'assurer qu'il n'y avait pas d'air dans la buse et pour garantir des conditions uniformes pour toutes les impressions.

Un de ces serpents est visible dans le coin inférieur gauche de la Figure 5.4. Ensuite, plusieurs rangées de sept filaments étaient imprimées. Tous les filaments d'une même série étaient imprimés à la même vitesse d'extrusion (V_e). Seule la vitesse d'avance (V_f) était changée d'une rangée de filaments à l'autre de sorte qu'il y ait sept échantillons pour chaque combinaison de paramètres. Une vitesse d'extrusion constante pendant chaque série de plusieurs rangées permettait de s'assurer d'opérer en régime permanent réduisant ainsi les incertitudes pouvant être générées par le régime transitoire du système d'extrusion. Chaque filament avait 40 mm de long et était en contact avec le lit de l'imprimante seulement à ses extrémités tel que présenté à la Figure 5.4. Après leur impression, les filaments étaient retirés du lit de l'imprimante en coupant leurs extrémités avec des pinces. Le diamètre de chaque filament était ensuite mesuré en trois points (à environ 5 mm de chaque extrémité et au centre) à l'aide d'un pied à coulisse (Mitutoyo 500-215). Les mesures de diamètre étaient ensuite entrées dans un tableau semblable à celui présenté au Tableau 5.1 dans lequel on retrouve la date, le numéro de la rangée, la vitesse de l'extrusion (V_e), la vitesse d'avance (V_f), le diamètre du premier point (d_1), le diamètre du deuxième point (d_2), le diamètre du troisième point (d_3), le diamètre moyen de chaque filament (\bar{d}_i), le diamètre moyen des échantillons (d_f) et l'écart type des diamètres moyens des sept filaments (s_f).

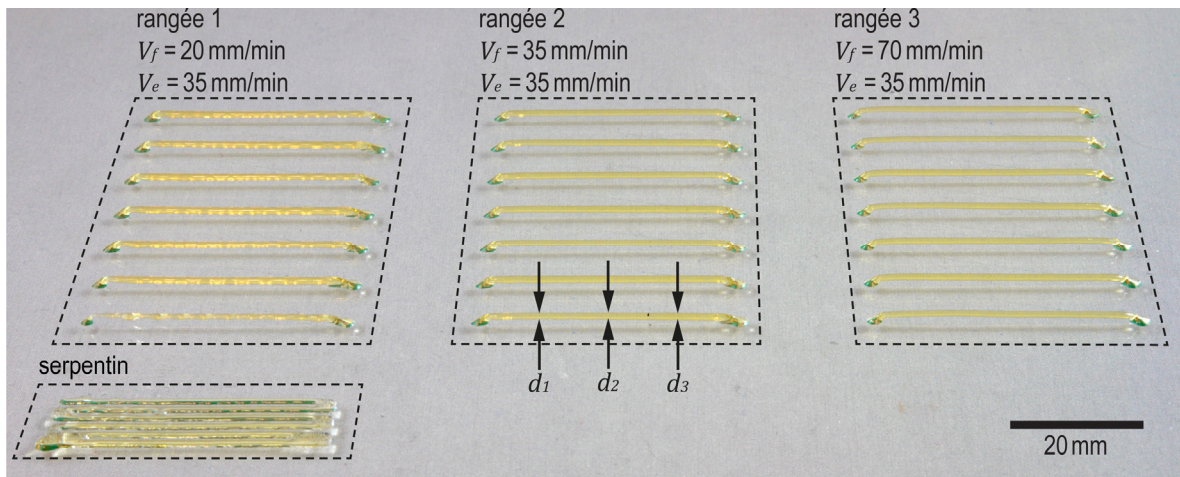


Figure 5.4 : Exemple de filaments extrudés utilisés pour la caractérisation du diamètre des extrusions.

Tableau 5.1 : Rangée de filaments numéro 59 pour la caractérisation du dispositif d'extrusion tridimensionnelle.

15-08-26	V_e	V_f	ratio	filament	d_1	d_2	d_3	\bar{d}_i
rangée no.	mm/min.	mm/min.	V_e/V_f	no.	mm	mm	mm	mm
59	35	100	0.35	1	0.49	0.53	0.53	0.52
				2	0.46	0.53	0.46	0.48
				3	0.47	0.45	0.46	0.46
				4	0.46	0.46	0.45	0.46
				5	0.47	0.45	0.45	0.46
				6	0.47	0.45	0.46	0.46
				7	0.54	0.46	0.46	0.49
							d_f	0.47
							s_f	0.02

5.2.3 Analyse des données expérimentales

La Figure 5.5 présente les points expérimentaux qui ont été obtenus à partir de 65 séries de filaments ayant des diamètres variant entre 0.35 mm et 3.16 mm. Ces mesures ont été faites sur des filaments en faisant varier la vitesse de déplacement de la tête d'impression (V_f) entre 4 et 140 mm/min et ce pour trois vitesses d'extrusion (V_e) différentes : 20 mm/min, 35 mm/min et 50 mm/min. À une vitesse d'avance (V_f) supérieure à 140 mm/min, les filaments étaient très étirés et ils se brisaient souvent pendant l'extrusion. À une vitesse d'avance (V_f) inférieure à 4 mm/min, le déplacement de la tête d'impression était très saccadé à cause des moteurs pas-à-pas. Pour cette raison il n'a pas été possible d'atteindre tous les ratios de (V_f/V_e) avec chacune des trois vitesses d'extrusion (V_e) qui ont été utilisées pour ces expériences.

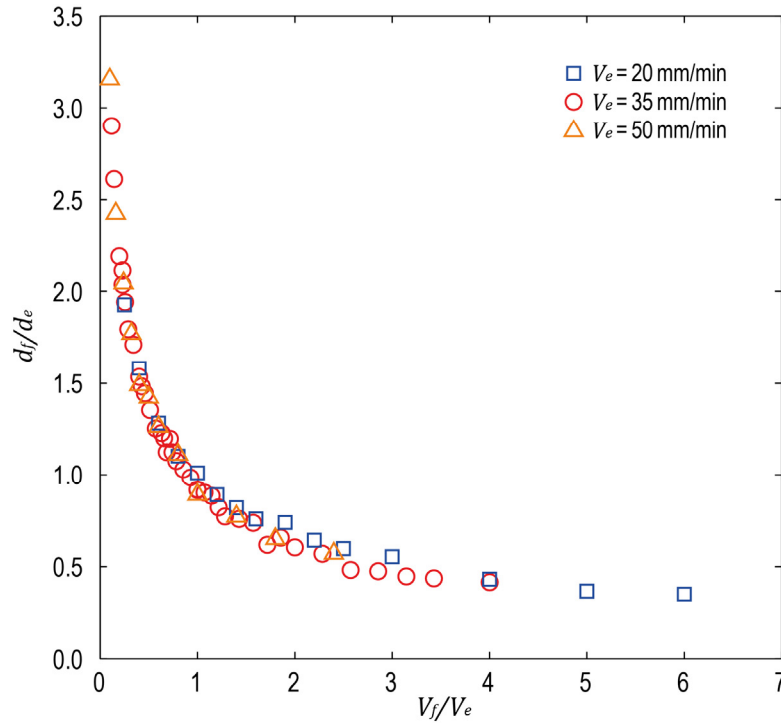


Figure 5.5 : Données expérimentales obtenues où le ratio du diamètre du filament extrudé sur le diamètre de la buse (d_f/d_e) est tracé en fonction du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion à la sortie de la buse (V_f/V_e).

Afin de déterminer les constantes A et B de l'équation (5.11), une régression linéaire a été faite sur d_f/d_e exprimé en fonction de $(V_f/V_e)^{-0.5}$ (voir la Figure 5.6a). Les constantes obtenues sont : $A = 1.025 \pm 0.008$ et $B = -0.08 \pm 0.01$ avec une fiabilité de 95 %. Tel qu'il était attendu, la constante A est environ égale à 1 puisqu'elle est fonction du ratio de masse volumique du sirop et la constante B est près de 0. L'équation du modèle d'extrusion devient alors :

$$\frac{d_f}{d_e} = 1.025 \left(\frac{V_f}{V_e} \right)^{-0.5} - 0.08 \quad (5.12)$$

La Figure 5.6b présente d_f/d_b exprimé en fonction de V_f/V_e ainsi que la courbe du modèle mathématique. Il faut noter que l'équation (5.12) représente uniquement l'extrusion de sucre vitrifié pour des conditions bien précises (température de la seringue ($T_1 = 100^\circ\text{C}$), température de la buse ($T_2 = 85^\circ\text{C}$), ainsi que la composition du sirop présenté à la section 4.1) et pour une buse d'un diamètre de 1 mm.

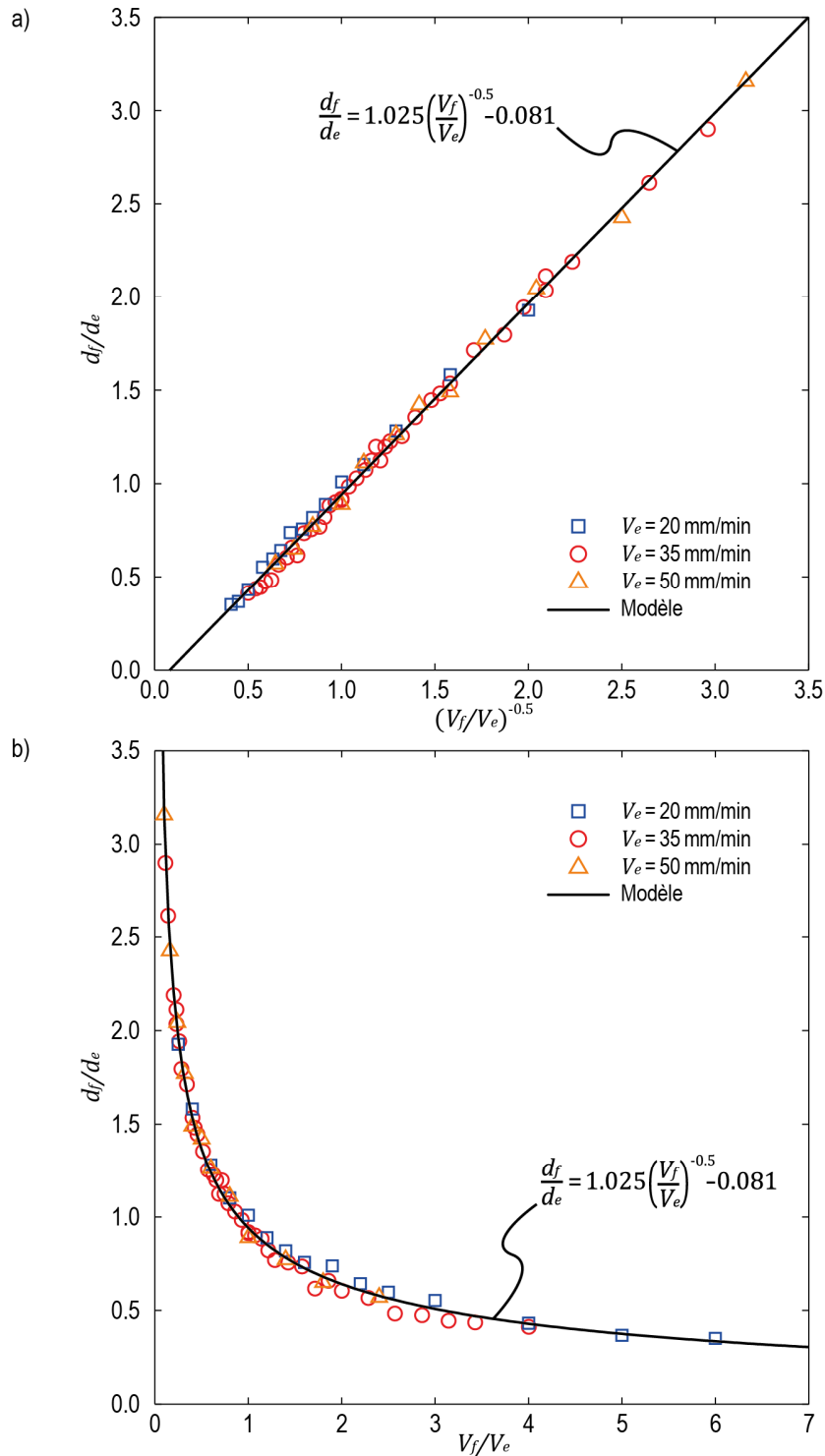


Figure 5.6 : a) Données expérimentales obtenues, ainsi que modèle de prédiction de l'extrusion où le ratio du diamètre du filament extrudé sur le diamètre de la buse (d_f/d_e) est tracé en fonction de l'inverse de la racine du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion $(V_f/V_e)^{-0.5}$. b) Données expérimentales obtenues, ainsi que modèle de prédiction de l'extrusion où le ratio du diamètre du filament extrudé sur le diamètre de la buse (d_f/d_e) est tracé en fonction du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion (V_f/V_e) .

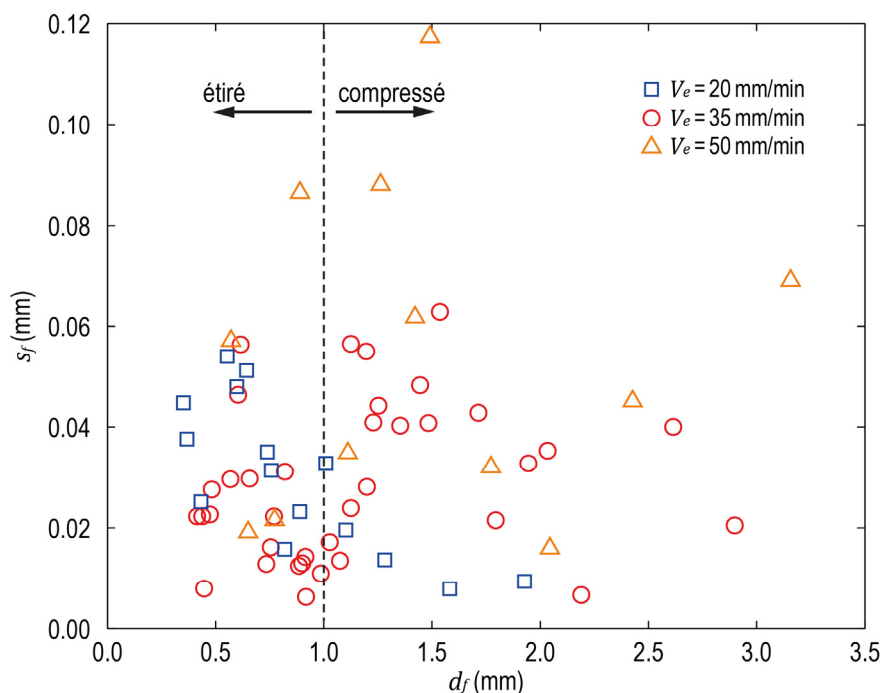


Figure 5.7 : Écart type (s_f) des séries en fonction du diamètre des filaments (d_f).

L'écart type des données a ensuite été étudié dans le but d'établir l'incertitude du procédé de fabrication de filaments de sucre vitrifié. L'écart type (s_f) en fonction du diamètre du filament extrudé (d_f) est présenté à la Figure 5.7. Il varie entre 0.01 mm et 0.12 mm et l'écart type moyen est de 0.03 mm ce qui est relativement petit en comparaison avec les diamètres des filaments extrudés (0.35 mm à 3.16 mm). Sur le graphique on peut voir que l'écart type diminue localement près de 1 mm (le diamètre de la buse). À ce diamètre, le ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion (V_f/V_e) est près de 1, donc le filament n'est ni étiré ni écrasé. Il est aussi possible de voir que l'écart type augmente avec la vitesse d'extrusion (V_e) particulièrement lorsque le filament est comprimé. Ce qui semble suggérer que l'extrusion est moins précise lorsque la vitesse d'extrusion augmente probablement parce que le moteur contrôlant l'extrusion est près de son couple maximal. En écartant les points dont la vitesse d'extrusion était de 50 mm/min, tous les autres points pris à $V_e=20$ mm/min et $V_e=35$ mm/min présentent un écart type inférieur ou égal à 0.063 mm. On peut donc estimer que pour une vitesse d'extrusion entre 20 et 35 mm/min, l'imprimante peut produire des filaments ayant un diamètre variant entre 0.5 et 3 mm avec une précision de plus ou moins 0.13 mm, ce qui représente une variation de deux écarts types. À cette échelle (0.5 à 3 mm), les filaments produits ont la taille de petites artères ou d'artéριοles.

Une variation de 0.13 mm par rapport au diamètre visé ne changerait pas l'échelle des vaisseaux ni le débit pouvant passer par ceux-ci de façon significative [54].

5.3 Validation du modèle de prévision de l'extrusion

Quelques mois après la caractérisation de l'imprimante, quelques séries filaments ont été imprimées dans le but de valider le modèle développé. Ces filaments ont été imprimés à des vitesses d'extrusion et d'avance différentes pour des diamètres désirés (d_d) variant entre 0.5 mm et 3 mm. Les résultats de la validation sont présentés à la Figure 5.8, il faut noter que ces points ne sont pas inclus dans les figures précédentes et qu'ils n'ont pas été utilisés pour calibrer le modèle (*i.e.* calculer les constantes A et B). Les paramètres de ces points de contrôle sont présentés au Tableau 5.2. Tous les points sont compris dans l'incertitude qui a été établie c'est-à-dire que le diamètre moyen (d_f), le diamètre minimal (d_{fmin}) et le diamètre maximal (d_{fmax}) sont tous compris dans l'intervalle de $d_d \pm 0.13$ mm. Cette expérience a confirmé que le modèle établi peut bien s'appliquer au procédé d'extrusion de sucre vitrifié et qu'il permet d'obtenir des résultats répétables.

Tableau 5.2 : Points de validation pour la validation du modèle.

d_d	d_f	d_{fmin}	d_{fmax}	V_e	V_f	V_f/V_e
mm	mm	mm	mm	mm/min	mm/min	-
0.50	0.54	0.53	0.56	20.00	61.38	3.07
0.75	0.77	0.74	0.80	20.00	30.11	1.51
1.00	1.04	0.99	1.07	20.00	17.82	0.89
1.50	1.51	1.46	1.54	20.00	8.35	0.42
0.65	0.63	0.60	0.67	35.00	68.02	1.94
2.00	1.99	1.94	2.04	35.00	8.44	0.24
2.50	2.55	2.53	2.57	35.00	5.49	0.16
3.00	2.98	2.94	3.02	35.00	3.86	0.11

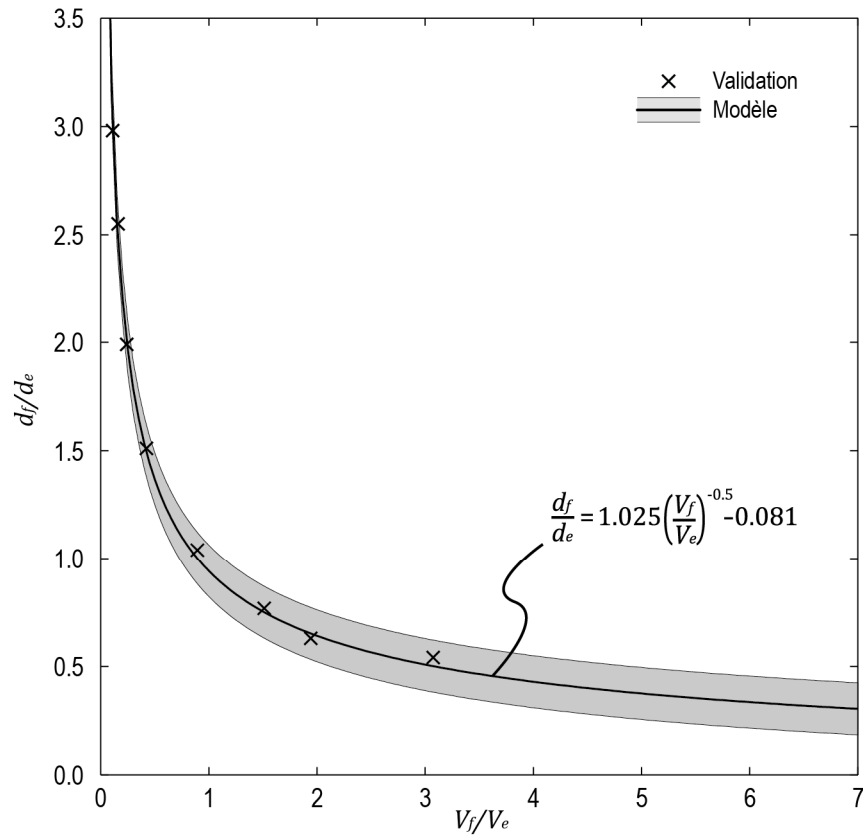


Figure 5.8 : Validation du modèle, les points de contrôle en fonction du ratio de la vitesse d'avance sur la vitesse d'extrusion. La zone grise représente la plage d'incertitude du modèle (plus ou moins 0.13 mm à 95%).

5.4 Bilan de la caractérisation du procédé d'extrusion

La caractérisation du procédé d'extrusion de sucre vitrifié a permis de bien en comprendre le fonctionnement de l'imprimante ainsi que ses limites.

Il est maintenant possible grâce au modèle d'extrusion établi, de prévoir les paramètres nécessaires pour extruder des filaments de sucre vitrifié en contrôlant leurs diamètres entre 0.5 et 3 mm avec une précision de plus ou moins 0.13 mm. Bien que l'imprimante puisse extruder sur une plage de vitesse allant de 0 à 50 mm/min, il est préférable de limiter sa vitesse d'extrusion à 35 mm/min dans le but de conserver sa précision. Il serait intéressant de prendre d'autres mesures à d'autres vitesses d'extrusion pour mieux comprendre la relation entre la vitesse d'extrusion et la précision des diamètres des filaments. Cela pourrait probablement permettre d'obtenir une meilleure précision dans certaines conditions. Il

pourrait aussi être intéressant dans l'avenir du projet d'être en mesure d'extruder des filaments aux diamètres inférieurs à 0.5 mm. Cet objectif serait certainement atteignable en réduisant le diamètre de la buse. De cette façon, les filaments seraient moins étirés et risqueraient moins de se briser ou de se déformer pendant l'impression. Par contre, il serait probablement nécessaire d'augmenter la puissance du moteur permettant l'extrusion pour compenser la perte de charge additionnelle causée par la réduction de l'orifice de la buse. Il serait recommandé de calibrer à nouveau le procédé avec cette buse.

Grâce à la caractérisation du procédé, il a été possible d'imprimer de nombreuses constructions tridimensionnelles en contrôlant leurs géométries et les diamètres de leurs filaments. Cette étape était nécessaire pour atteindre l'objectif de construire un réseau vasculaire complexe imitant des réseaux biologiques dont le diamètre des vaisseaux est variable. Le chapitre suivant présente quelques-unes des réalisations qui ont été obtenues grâce à l'imprimante de sucre vitrifié. On y retrouve notamment des constructions 3D et les réseaux vasculaires 2D et 3D qui ont été produits ainsi que la méthode avec laquelle ils ont été imprimés.

Chapitre 6

Réalisations obtenues grâce à l'impression de sucre vitrifié

Ce chapitre présente des réalisations qui ont été obtenues avec le dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié, tant pour mettre à l'essai le procédé que pour la formation de structures temporaires permettant la vascularisation d'une construction. La caractérisation du procédé d'extrusion a permis de contrôler avec précision la taille des filaments extrudés. Il a ainsi été possible d'imprimer des structures tridimensionnelles complexes pour les utiliser dans le procédé de fabrication de moulage rapide.

6.1 Modèles 3D

Les structures vasculaires sont très différentes des objets normalement fabriqués par des imprimantes 3D. C'est pourquoi, dans le but de comparer le dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié à d'autres types d'imprimantes, il a été décidé de fabriquer des objets à partir de modèles 3D numériques. Deux modèles sont présentés dans cette section. Il s'agit du lapin de Stanford et d'une statue de sir Wilfrid Laurier.



Figure 6.1 : a) Photo du lapin de Stanford original (une gracieuseté du Stanford Computer Graphics Laboratory [55]). b) Rendu du fichier numérique une fois scanné [55]. c) Impression du lapin de Stanford en ABS à l'aide d'une imprimante Airwolf3D XL. d) Impression du lapin de Stanford en sucre vitrifié.

Le lapin de Stanford, qui est présenté à la Figure 6.1, a été numérisé par Greg Turk et Mark Levoy en 1993. Il est rapidement devenu très populaire dans le domaine de la recherche en imagerie numérique [55]. Ce modèle présente plusieurs caractéristiques intéressantes pour tester une imprimante 3D, dont sa géométrie complexe et ses oreilles qui ne sont supportées que par une seule extrémité. La Figure 6.1a présente une photographie du lapin de Stanford original alors que la Figure 6.1b présente le rendu du fichier numérique. Ces deux images sont une gracieuseté du Stanford Computer Graphics Laboratory et ont été

reproduites avec autorisation [55]. La Figure 6.1c présente le lapin de Stanford imprimé en ABS à l'aide d'une imprimante Airwolf3D XL. Il mesure 53 mm de haut et il a été imprimé en 265 couches de 0.2 mm avec une buse de 0.5 mm. Cette épaisseur est l'épaisseur recommandée par le fabricant lors de l'utilisation d'une buse de 0.5 mm. La Figure 6.1d quant à elle présente le lapin de Stanford imprimé à l'aide du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié. Il mesure aussi 53 mm de haut, mais il a été imprimé en 106 couches d'une épaisseur de 0.5 mm avec une buse de 1 mm de diamètre. Le code G nécessaire pour l'impression a été généré à l'aide du logiciel Slic3r et le modèle d'extrusion décrit au chapitre précédent a été utilisé pour calculer les paramètres d'extrusions. Le code G a ensuite été modifié manuellement pour imprimer dans un plat de Pétri de 100 mm tout en évitant les collisions.

Il est possible de refroidir le sucre vitrifié rapidement après son extrusion avec de l'air comprimé, ce qui présente un avantage majeur puisque le matériel peut se solidifier rapidement. Il est ainsi possible d'imprimer au-dessus du vide des trajectoires courbes avec un minimum de déformation, les oreilles du lapin de Stanford (voir Figure 6.1) en sont un bon exemple. Cette caractéristique particulière et propre au matériel utilisé a permis d'obtenir d'excellents résultats lors de l'impression d'objets tridimensionnels avec l'imprimante de sucre vitrifié (pour l'impression d'objets tridimensionnels le refroidissement était activé en tout temps).

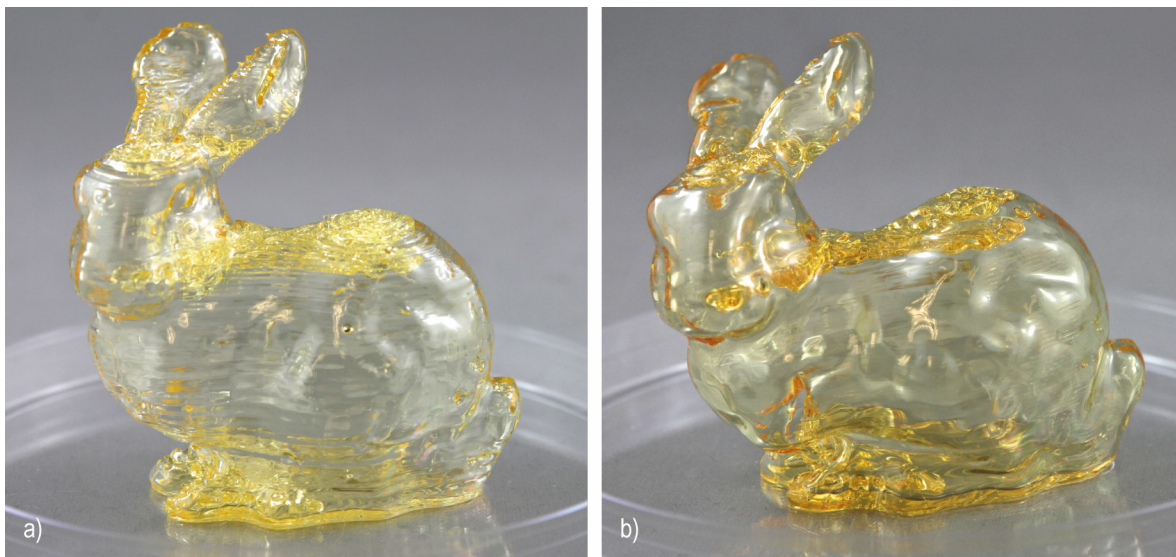


Figure 6.2 : a) Le lapin de Stanford en sucre vitrifié deux semaines après l'impression. b) Le lapin de Stanford en sucre vitrifié un mois après l'impression.

Le sucre vitrifié est un matériel hygroscopique qui absorbe l'humidité présente dans l'air, ce qui affecte la stabilité dimensionnelle des pièces produites. Afin de minimiser les impacts liés à cette caractéristique du matériel, les impressions de sucre vitrifié ont été conservées avec du dessiccateur dans des boîtes étanches à l'air lorsqu'elles n'étaient pas utilisées immédiatement après avoir été fabriquées. De cette façon, les impressions étaient protégées de l'humidité et pouvaient être conservées pendant quelques semaines, ce qui est suffisant pour l'application visée. La Figure 6.2 présente le lapin imprimé en sucre vitrifié après deux semaines (Figure 6.2a) et un après mois (Figure 6.2b) passé dans une boîte étanche. Après deux semaines, il a été remarqué que les lignes visibles à l'interface entre les couches de sucre commençaient à s'estomper graduellement et la surface devenait plus lisse, éliminant ainsi certains des défauts inhérents à la méthode de fabrication couche par couche (voir Figure 6.2a). Cette caractéristique pourrait être intéressante par exemple dans une application de moulage où un fini de surface plus lisse serait nécessaire. Par contre, il a été constaté qu'après un mois que le lapin avait commencé à s'affaisser, ce qui rappelle la nature temporaire des constructions de sucre vitrifié (Figure 6.2b).

Les mécanismes de vieillissement des structures en sucre vitrifié sont pour l'instant mal compris. Cependant il a été observé que ces mécanismes sont affectés par la température, le taux d'humidité dans l'air et par le temps d'exposition. La caractérisation de la stabilité dimensionnelle des constructions en sucre vitrifié pourrait permettre de bien comprendre le processus de vieillissement de ces structures. On pourrait ainsi, en laissant vieillir les constructions un certain temps et dans des conditions contrôlées, optimiser le lissage de leurs parois (*i.e.* le fini de surface), tout en minimisant leurs déformations.

Un autre modèle 3D a aussi été utilisé pour étudier les performances du procédé développé. Il s'agit d'une statue de sir Wilfrid Laurier, Premier ministre du Canada de 1896 à 1911. Cette statue a été gracieusement prêtée à Barnett et Gosselin [56] par les collections d'objets et spécimens de l'Université Laval. Elle a ensuite été numérisée par le Laboratoire de Vision et de Systèmes numériques de l'Université Laval à l'aide d'un appareil Go!Scan 3D de Creaform.

La Figure 6.3 présente une photo de la statue originale (Figure 6.3a), un rendu du fichier numérique (Figure 6.3b), une reproduction de la statue en mousse de polyuréthane (Figure 6.3c) réalisée par le laboratoire de robotique de l'Université Laval [56] et une reproduction de la statue en sucre vitrifié (Figure 6.3d). Ce modèle possède des éléments

difficiles à imprimer, dont la base du manteau qui est à l'horizontale et qui doit être imprimée au-dessus du vide. La statue de laurier en mousse de polyuréthane mesure 2.16 m et a été imprimée en 216 couches à l'aide d'une imprimante à grande échelle. Pour sa réalisation, Barnett et Gosselin [56] ont dû d'utiliser du matériel de support pendant l'impression. Il n'a cependant pas été nécessaire d'en utiliser pour la fabrication de la version en sucre vitrifié. En effet, même pour la base du manteau, il n'a pas été nécessaire d'ajouter de support pendant l'impression pour éviter que le sucre ne se déforme. La statue en sucre vitrifié mesure 78 mm de haut et a été imprimée en 156 couches de 0.5 mm d'épaisseur avec une buse de 1 mm. Cette impression a encore une fois montré l'excellent potentiel de l'imprimante de sucre vitrifié pour la fabrication d'objets tridimensionnels complexes.



Figure 6.3 : a) La statue originale de sir Wilfrid Laurier en plâtre (Collections d'objets et spécimens de l'Université Laval). b) Rendu du fichier après le balayage numérique (réalisé par le Laboratoire de Vision et de Systèmes numériques de l'Université Laval). c) Reproduction de la statue en mousse de polyuréthane à l'aide d'une imprimante 3D à grande échelle (une gracieuseté du Laboratoire de Robotique de l'Université Laval [56]). d) Reproduction de la statue en sucre vitrifié à l'aide du procédé développé dans ce projet.

6.2 Fabrication du réseau orthogonal

Le réseau orthogonal a été un des premiers objectifs d'impression de l'imprimante 3D de sucre vitrifié (voir Chapitre 1 Introduction, Figure 1.2 p.8). Il s'agit du réseau qui a été originalement imaginé pour vasculariser le pancréas bioartificiel. Ce réseau comporte plusieurs caractéristiques complexes et difficiles à imprimer (Figure 6.4). Il s'agissait donc d'un modèle intéressant pour mettre à l'essai et démontrer les capacités de l'imprimante de sucre vitrifié développée.

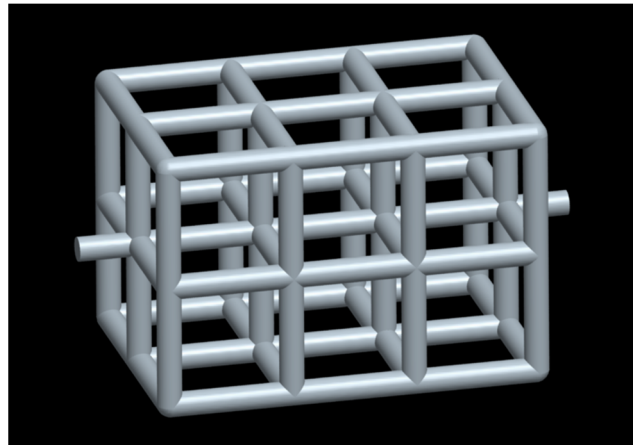


Figure 6.4 : Modélisation 3D du réseau orthogonal devant être réalisé.

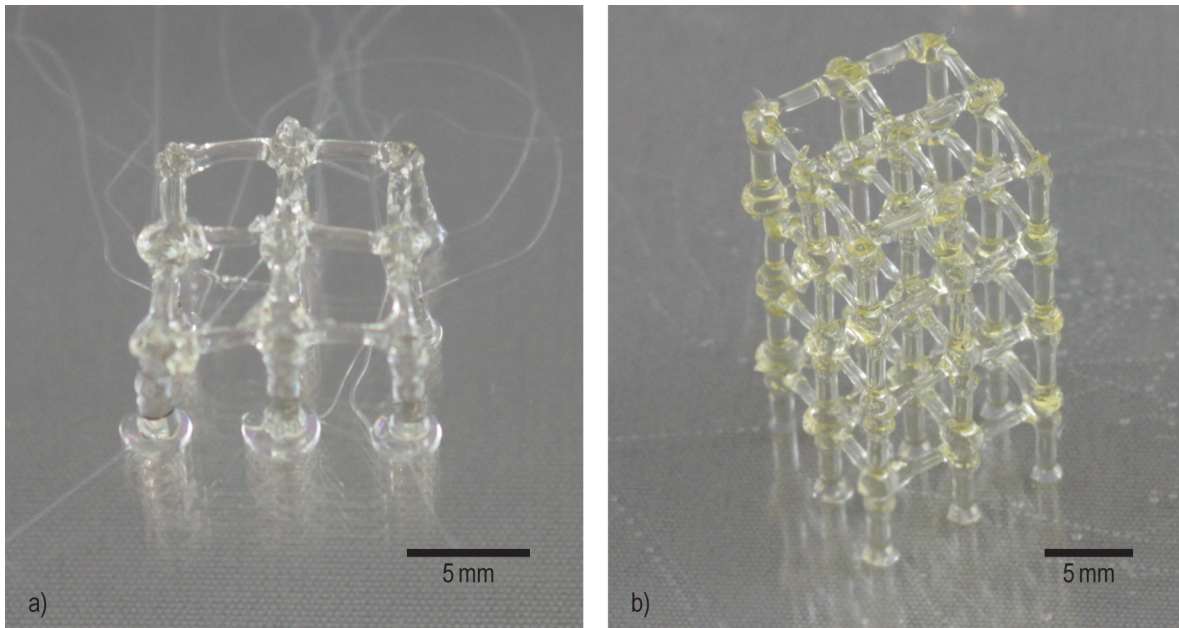


Figure 6.5 : a) Treillis cubique à un étage. b) Treillis cubique à quatre étages.

6.2.1 Treillis cubique

Dans le but de fabriquer un réseau orthogonal, il fallait d'abord être en mesure d'imprimer des treillis cubiques. Les treillis sont formés de filaments horizontaux et de filaments verticaux qui représentent les blocs élémentaires du réseau orthogonal. Le modèle mathématique décrit au Chapitre 5, a permis de maîtriser l'extrusion de ces deux types de filaments. La structure présentée à la Figure 6.5a a donc été imprimée en faisant l'assemblage de ces filaments.

Tout d'abord, neuf filaments verticaux (d'un diamètre de 1 mm et d'une hauteur de 5 mm) ont été produits. Pour leur extrusion, la buse était d'abord placée directement sur la surface d'impression. Une commande d'extrusion rapide de 110 mm^3 était ensuite exécutée (cette étape, appelée l'amorce, servait à initier l'extrusion). Par la suite, une commande était envoyée pour projeter de l'air comprimé à la sortie de la buse en ouvrant une servovalve (activation du refroidissement). En même temps, une autre commande était envoyée pour que la tête d'impression extrude un filament de 5 mm de haut et de 1 mm de diamètre. Une fois que ce filament était extrudé, une commande de rétraction était envoyée, c'est-à-dire la commande inverse de l'amorce, pour arrêter l'extrusion (*i.e.* aspirer rapidement 110 mm^3 de sucre). À ce moment, le refroidissement était désactivé et la tête d'impression effectuait un déplacement rapide dans le plan X-Y (3000 mm/min sur 50 mm) pour briser le filament. Finalement, la tête d'impression allait se positionner pour extruder le filament suivant.

Après avoir extrudé les neuf filaments verticaux, la tête d'impression a été programmée pour aller se positionner sur le dessus d'un des filaments extérieurs en vue de produire les filaments horizontaux. La commande d'amorce était ensuite exécutée, puis le refroidissement était activé. La tête d'impression se déplaçait alors d'un filament à l'autre en extrudant un filament de 1 mm de diamètre pour imprimer le quadrillage horizontal. Le refroidissement était désactivé à chaque fois que la tête d'impression croisait un filament vertical pour s'assurer que les filaments horizontaux et verticaux fusionnaient bien entre eux. La réalisation de ces étapes permettait de compléter un treillis cubique à un étage (Figure 6.5a).

Il était ensuite possible d'imprimer un deuxième étage en suivant la même procédure, puis un troisième et ainsi de suite. La Figure 6.5b montre un treillis cubique à quatre étages qui a été imprimé en suivant cette procédure.

6.2.2 Impression du réseau orthogonal

Pour le réseau orthogonal, il a été décidé d'imprimer directement dans des plats de Pétri de 100 mm plutôt que d'imprimer directement sur une vitre. L'utilisation de plats de Pétri présentait l'avantage de simplifier grandement la manipulation et l'entreposage des constructions après leur fabrication. Plutôt que d'être collés à une plaque de verre de 205 mm par 305 mm, les constructions étaient collées à des plats de Pétri de 100 mm de diamètre. Par ailleurs, dans une optique à long terme, où des cellules biologiques seraient mises en place autour des constructions en sucre, l'utilisation de plats de Pétri serait idéale et permettrait de diminuer le nombre de manipulations.

La Figure 6.6 présente différentes étapes de la fabrication du réseau orthogonal préalable au moulage rapide. D'abord, un cadre de 20 mm par 25 mm par 5 mm en sucre vitrifié était imprimé. Le cadre avait pour fonction de contenir le matériel ajouté pendant le moulage. C'est le cadre qui déterminait les dimensions extérieures finales de la construction et qui supportait les filaments qui deviendraient un réseau de canaux creux après le moulage.

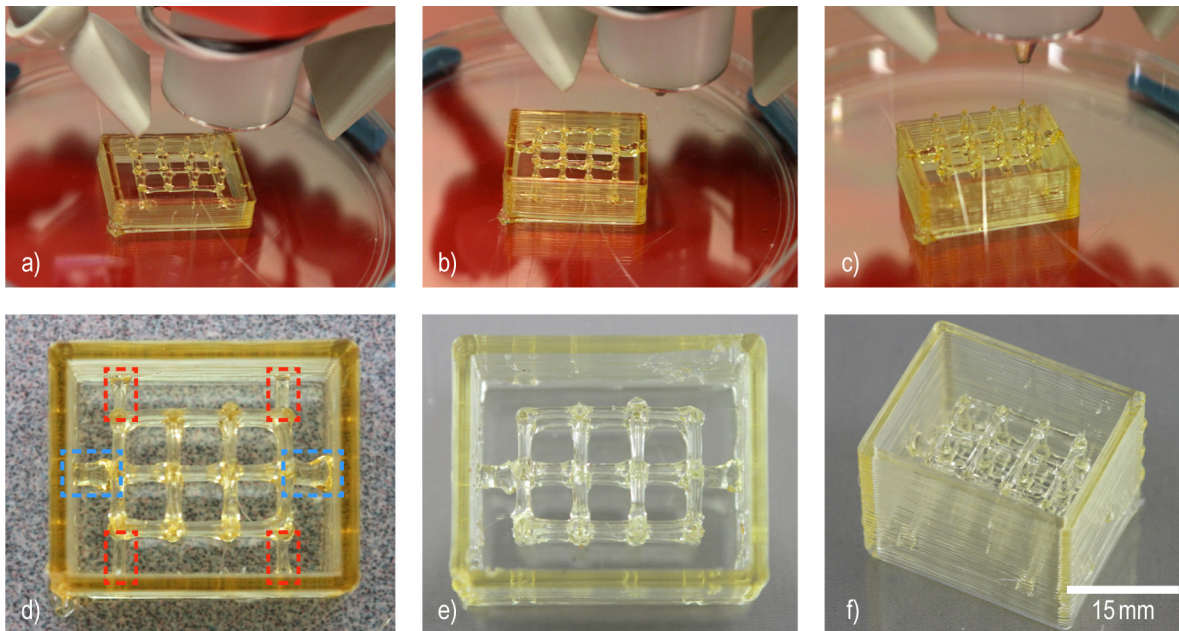


Figure 6.6 : Étapes de la fabrication du réseau orthogonal. a) Le réseau orthogonal pendant l'impression du premier étage de treillis cubique. b) Le réseau orthogonal pendant l'impression du deuxième étage de treillis cubique. c) Le réseau orthogonal à la fin de l'impression du deuxième étage de treillis cubique. d) Le réseau orthogonal immédiatement après l'impression (noter les filaments de support dans les rectangles pointillés rouges et l'entrée et la sortie du réseau dans les rectangles pointillés bleu). e) Le réseau orthogonal après avoir retiré les supports. f) Vue isométrique du réseau orthogonal après l'impression.

Ensuite, deux filaments servant de support à la structure orthogonale étaient extrudés (voir sur la Figure 6.6a et les pointillés rouge sur la Figure 6.6d). Des filaments horizontaux étaient ensuite extrudés entre les supports avec 5 mm entre chaque filament pour former un quadrillage comme il a été décrit pour les treillis cubiques. Par la suite, un filament vertical de 5 mm était extrudé sur chaque croisement du quadrillage. Après avoir imprimé les douze filaments verticaux du premier étage du réseau orthogonal, l'imprimante retournait imprimer le cadre pour le monter à une hauteur de 10 mm. Pour le deuxième étage, deux filaments reliant le réseau et le cadre étaient d'abord extrudés pour former l'entrée et la sortie (voir les pointillés bleu sur la Figure 6.6d). Ensuite, un deuxième quadrillage et des filaments verticaux sur chaque croisement étaient imprimés. Finalement, un troisième quadrillage était imprimé pour finir le réseau orthogonal et le cadre était élevé jusqu'à une hauteur de 20 mm de haut pour compléter l'impression. Tous les filaments du réseau avaient un diamètre de 1 mm sauf pour l'entrée et la sortie qui avaient 2 mm de diamètre (imprimé avec le modèle décrit au chapitre précédent en variant la vitesse d'avance par rapport à la vitesse d'extrusion). Après l'impression du réseau orthogonal, les supports temporaires étaient coupés à l'aide d'un scalpel dont la lame avait été chauffée (Figure 6.6e). Cette dernière étape terminait la fabrication de la structure temporaire en sucre vitrifié en vue de la fabrication du réseau orthogonal (voir la Figure 6.6e et la Figure 6.6f).

6.2.3 Moulage rapide du réseau orthogonal

L'étape suivant la fabrication de la structure temporaire de sucre vitrifié, a été d'utiliser cette structure pour faire le moulage rapide pour obtenir une construction du réseau orthogonal (Figure 6.7). Pour les essais préliminaires, du silicone (SYLGARD 184 de Dow Corning) a été utilisé plutôt que de l'hydrogel contenant des cellules vivantes, dans le but de simplifier l'expérience. Le moulage rapide a été fait en suivant la méthode décrite à la section 1.1.2 (p.7).

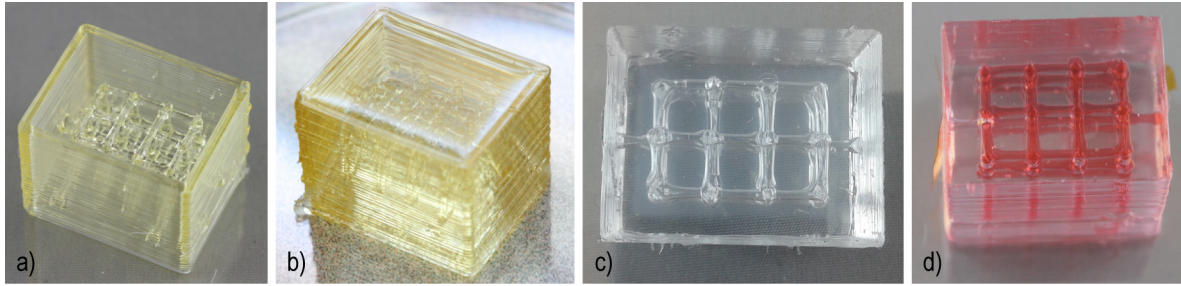


Figure 6.7 : Moulage rapide du réseau orthogonal en silicone. a) Structure temporaire en sucre vitrifié. b) Silicone coulé dans la structure temporaire en sucre vitrifié. c) Bloc de silicone à l'intérieur duquel on retrouve le réseau orthogonal, obtenu après avoir dissous le sucre vitrifié. d) Bloc de silicone avec le réseau orthogonal rempli d'eau colorée.

Le silicone a été préparé en mélangeant sa base et son durcisseur dans une proportion de dix pour un. Le mélange a ensuite été mis sous une cloche à vide et un vacuum a été appliqué pour en évacuer les bulles d'air (28 mmHg pendant environ 15 minutes). Le silicone a ensuite été versé dans la structure temporaire et à nouveau mis sous vacuum pour éliminer les bulles d'air ayant pu se former pendant la coulée (Figure 6.7b). Par la suite, la construction a été placée avec du dessiccateur dans une boîte étanche pendant 48 heures à la température de la pièce pour que le silicone durcisse. La structure temporaire était ensuite dissoute en plaçant la construction dans un bécher rempli d'eau sur un agitateur rotatif (Blotboy de Benchmark Scientific) pendant environ 20 minutes. Le sucre dissous laissait alors place à un réseau de canaux creux dans un bloc de silicone (Figure 6.7c). La Figure 6.7d présente la construction de silicone remplie d'eau colorée. Une première tentative de perfusion de la construction a été réalisée manuellement en utilisant des raccords cannelés connectés à des tubes flexibles et à une seringue. Il a cependant rapidement été constaté que la circulation dans ce réseau n'était pas du tout uniforme. En fait, la quasi-totalité de l'écoulement transigeait par le canal central à cause de la géométrie du réseau. Pour cette raison, d'autres modèles de réseaux, plus similaires à des réseaux vasculaires biologiques, ont été développés.

6.3 Fabrication et perfusion de réseaux vasculaires

6.3.1 Réseaux à une et trois branches

Dans le but d'obtenir une circulation plus uniforme dans les réseaux, de nouveaux modèles de structures temporaires ont été développés. Une circulation plus uniforme sera nécessaire pour assurer une meilleure diffusion de l'oxygène et des nutriments lorsque des cellules biologiques seront utilisées dans les constructions. Ces structures ont une géométrie plus similaire aux réseaux vasculaires biologiques (voir Figure 6.8).

La Figure 6.8a présente un réseau simplifié à une seule branche de 1 mm de diamètre. Ce modèle a été utilisé pour fabriquer des constructions à un seul canal dans le but de réaliser des essais préliminaires.

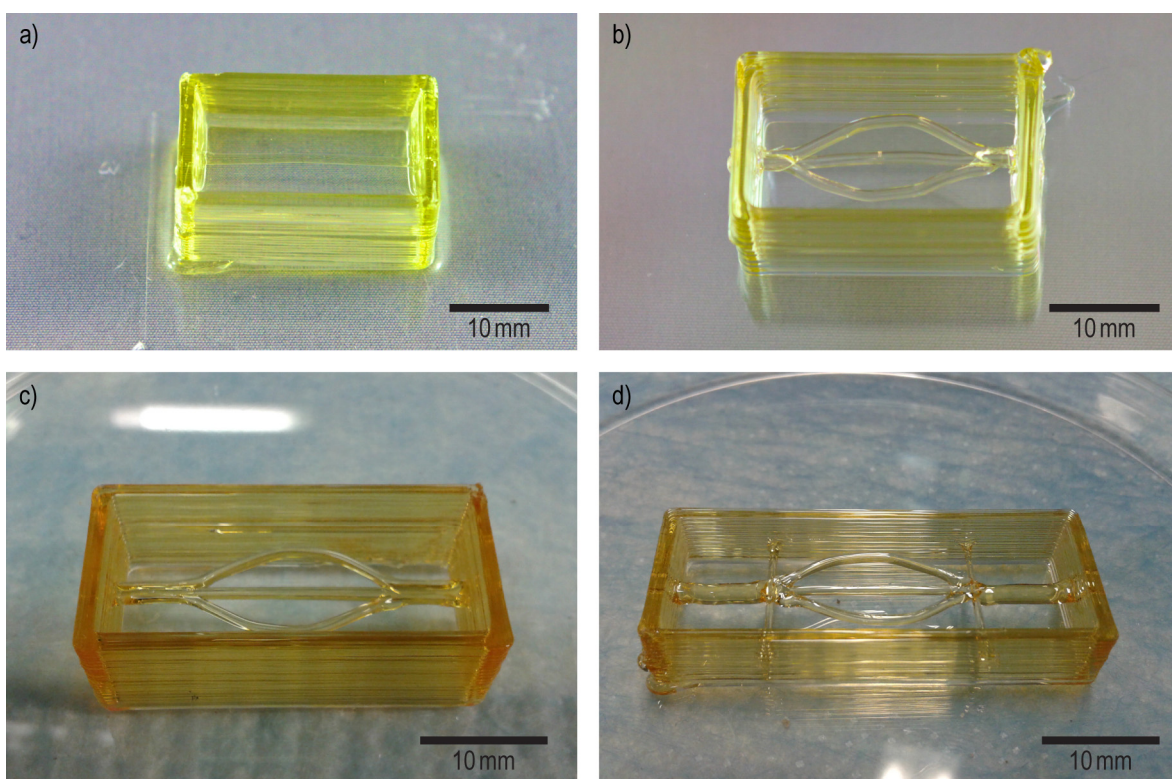


Figure 6.8 : Plusieurs versions de structures temporaires vasculaires. a) Version à une seule branche de 1 mm de diamètre (25 mm par 15 mm par 15 mm). b) Première version de bifurcation à trois branches de 1 mm de diamètre chacune (25 mm par 15 mm par 15 mm). c) Deuxième version de bifurcation à trois branches de 1 mm de diamètre (33 mm par 15 mm par 7.5 mm). d) Troisième version de bifurcation à trois branches de 1 mm de diamètre avec une entrée et sortie formées d'un seul filament de 2 mm de diamètre (40 mm par 15 mm par 7.5 mm).

Ensuite, une structure temporaire avec une bifurcation à trois branches a été réalisée (Figure 6.8b). Le réseau de cette structure comporte trois filaments de 1 mm de diamètre qui sont fusionnés à leurs extrémités de façon à ce qu'il y ait une seule entrée et une seule sortie. Dans la deuxième version du réseau avec une bifurcation à trois branches, la zone d'entrée et la zone de sortie ont été allongées pour qu'il soit plus facile d'insérer des connecteurs dans la construction finale (Figure 6.8c). La troisième version du réseau avec une bifurcation à trois branches est présentée à la Figure 6.8d. Les zones d'entrée et de sortie sont formées d'un seul filament de 2 mm de diamètre. De cette façon, leurs sections étaient circulaires. Par contre, il était nécessaire de supporter les filaments de 2 mm au niveau de la bifurcation contrairement aux autres modèles qui ne nécessitaient pas de support (les filaments de 2 mm prenaient plus de temps à refroidir et ils se déformaient lorsqu'ils n'étaient pas supportés à leurs deux extrémités). Les zones de bifurcation de cette construction étaient moins continues et auraient pu générer des zones de perturbation de l'écoulement pendant la perfusion, ce qui était indésirable. Comme il n'était pas absolument nécessaire que la section des zones d'entrée et de sortie soient circulaire, le modèle présenté à la Figure 6.8c a donc été retenu pour la suite des expériences.

6.3.2 Perfusion des réseaux vasculaires à trois branches (en silicone)

Les structures en sucre vitrifié ont par la suite été utilisées pour fabriquer des constructions en silicone par moulage rapide de la même façon que le réseau orthogonal (Figure 6.7) dans le but de les perfuser. La Figure 6.9 montre la perfusion de la première version du réseau à trois branches. Ce réseau était connecté par des raccords cannelés à des tubes flexibles. Un des tubes était connecté à une seringue qui était remplie d'eau colorée et l'autre tube était connecté à un réservoir qui permettait de récupérer l'eau. Tel qu'il a été indiqué plus tôt, il était difficile de connecter les raccords à ce modèle; soit les connexions fuyaient parce que les raccords n'étaient pas insérés assez profondément dans le bloc, soit les raccords obstruaient partiellement ou totalement certains des canaux parce qu'ils étaient trop enfoncés.

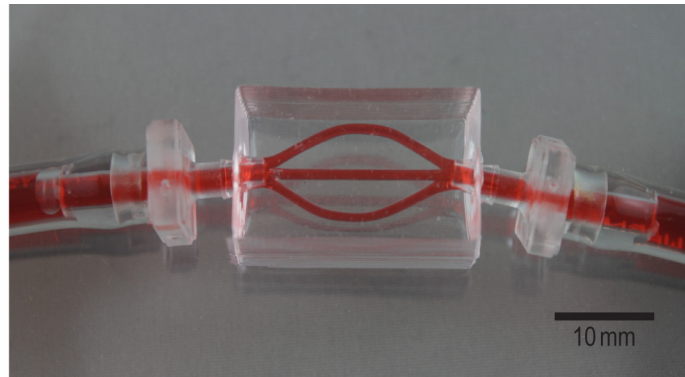


Figure 6.9 : Perfusion manuelle d'un bloc de silicone à trois branches.

La structure temporaire présentée à la Figure 6.8c a donc été utilisée pour fabriquer un bloc de silicone vascularisé. Ce bloc a été perfusé avec une pompe péristaltique (Masterflex L/S Easy-load 3) à des débits variant entre 10 et 75 $\mu\text{L/s}$ (Figure 6.10). La pompe péristaltique était connectée à deux réservoirs distincts et à une valve trois voies qui permettait de sélectionner à partir de quel réservoir le fluide était aspiré. L'un des réservoirs contenait de l'eau non colorée alors que l'autre contenait de l'eau à laquelle du colorant alimentaire avait été ajouté. En changeant la position de la valve trois voies pendant que la pompe était en fonction, il a été possible d'observer un changement de couleur graduel et uniforme des canaux. La Figure 6.11 présente une série de photos prises à 1s d'intervalle où l'on voit cette transition de couleur dans les canaux du bloc de silicone. Cette expérience a démontré que le débit était uniforme dans les différents canaux de la construction.

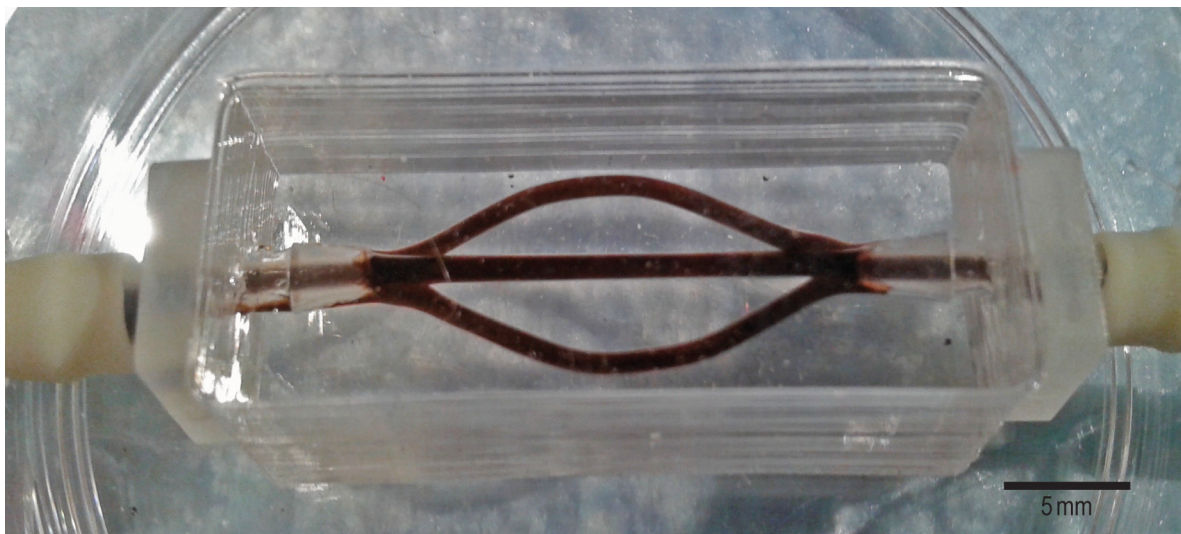


Figure 6.10 : Perfusion à l'aide d'une pompe péristaltique d'un bloc de silicone contenant un réseau vasculaire à trois branches.

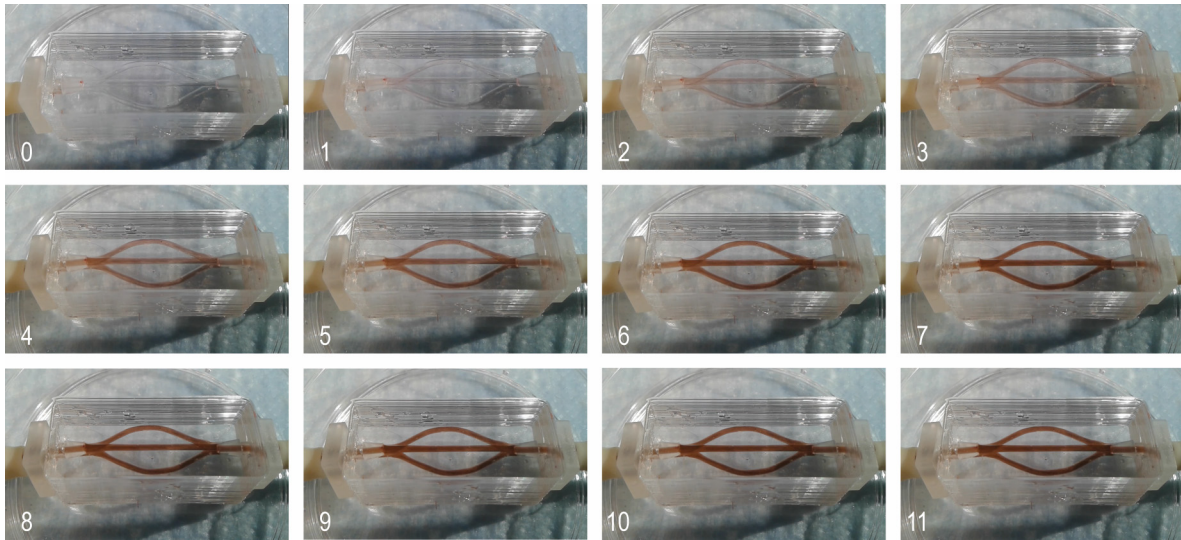


Figure 6.11 : Série de photos prise à une seconde d'intervalle qui montrent la transition entre de l'eau sans colorant et de l'eau colorée pour la perfusion d'un bloc de silicone contenant un réseau à trois branches (les chiffres dans chaque photo indiquent le temps écoulé en secondes depuis le début de la série).

6.3.3 Fabrication d'un réseau vasculaire tridimensionnel à quatre branches

Les réseaux vasculaires produits par moulage rapide de silicone ont démontré d'excellents résultats. Cependant, les canaux des réseaux produits étaient répartis uniquement sur deux dimensions et ils ne démontraient pas tout le potentiel du dispositif d'extrusion tridimensionnelle pour la création de réseaux vasculaires complexes. Pour cette raison, un nouveau modèle de réseau vasculaire tridimensionnel a été développé. Ce nouveau réseau comportait quatre branches réparties sur trois dimensions. La Figure 6.12 présente une modélisation solide de ce réseau. Le cadre qui a été conçu mesurait 40 mm par 15 mm par 7.5 mm (Figure 6.12a) et le réseau était formé de 4 filaments de 1 mm de diamètre (Figure 6.12b) qui se séparaient et se rejoignaient à 10 mm des extrémités. Les deux filaments sur le plan horizontal étaient séparés de 9.4 mm et les filaments sur le plan vertical étaient séparés de 4 mm (Figure 6.12c et Figure 6.12d). Un programme en code G a ensuite été écrit pour imprimer cette structure. La Figure 6.13a présente la structure en sucre vitrifié du réseau vasculaire à quatre branches et la Figure 6.13b présente un bloc de silicone fabriqué par moulage rapide en utilisant cette structure temporaire.

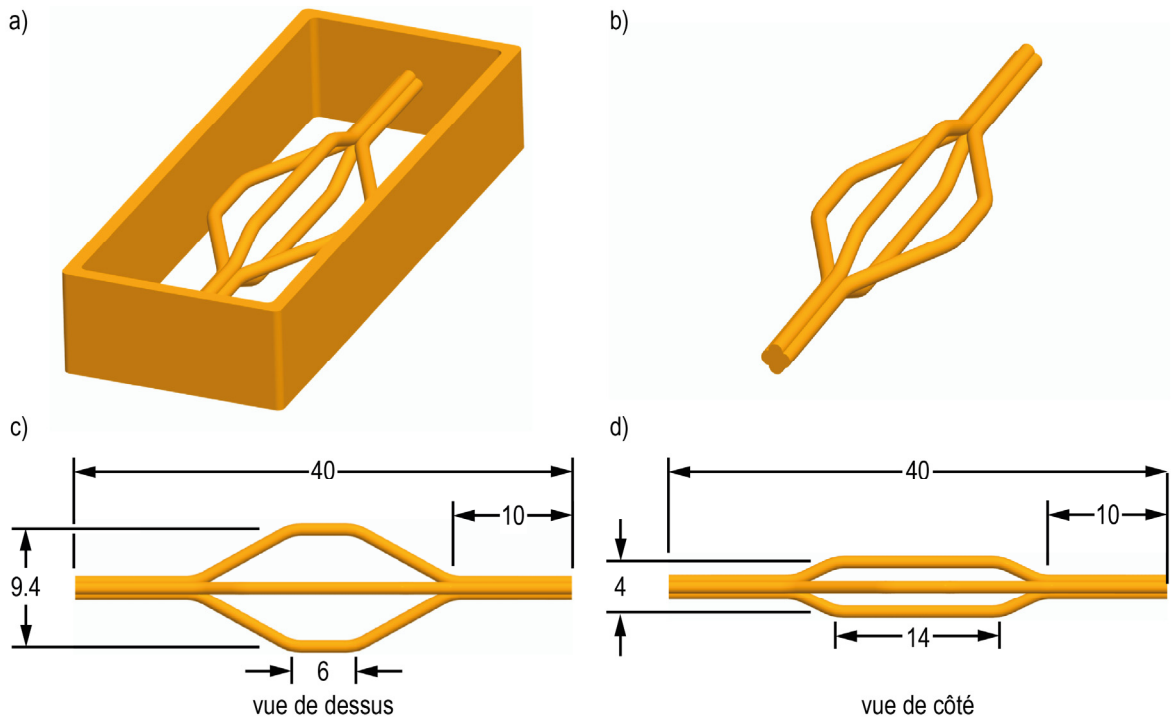


Figure 6.12 : Modélisation solide du nouveau réseau vasculaire tridimensionnel. a) Structure temporaire complète. b) Structure temporaire sans le cadre. c) Vue de dessus du réseau (échelle en mm). d) Vue de côté du réseau (échelle en mm).

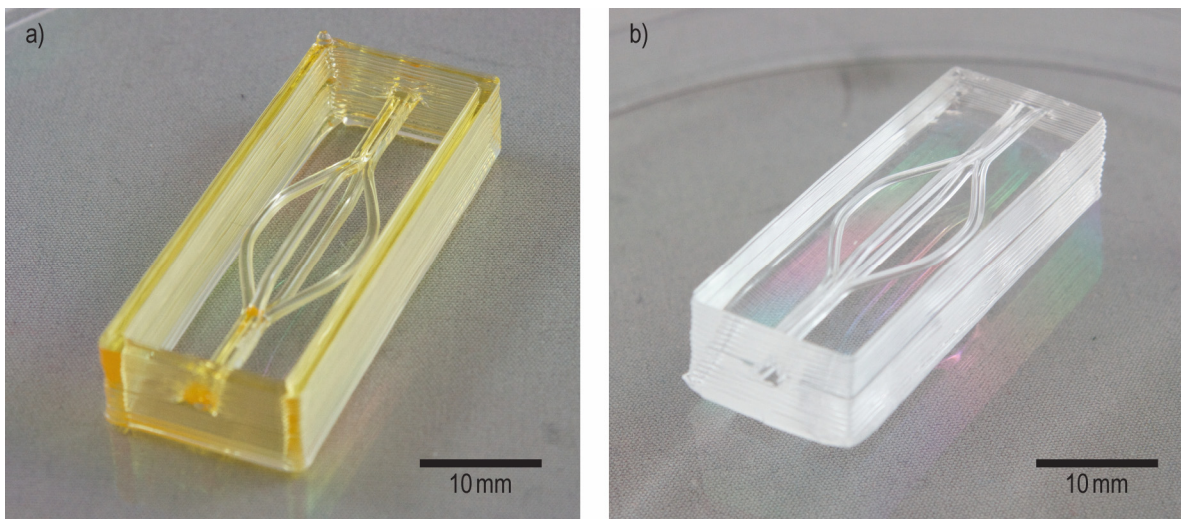


Figure 6.13 : Réseau vasculaire tridimensionnel avec une bifurcation à quatre branches (40 mm par 15 mm par 7.5 mm). a) Structure temporaire en sucre vitrifié. b) Construction de silicone fabriquée par moulage rapide.

6.3.4 Perfusion du réseau à quatre branches

La construction contenant le réseau à quatre branches et fabriquée en silicone a par la suite été perfusée avec un nouveau dispositif de perfusion conçu sur mesure (Figure 6.14). Ce dispositif a été développé pour minimiser les contraintes appliquées sur les constructions vascularisées. Plutôt que d'utiliser des raccords cannelés, deux pièces (la boîte et la porte, Figure 6.14), ont été utilisées pour connecter la construction vascularisée aux tubes flexibles. Ces deux pièces intègrent des raccords et ont été fabriquées à l'aide d'une imprimante stéréolithographique (Form 1 de Formlabs). La boîte et la porte pouvaient être assemblées en les glissant sur le plat de Pétri sans avoir à déplacer la construction. Ensuite, la boîte et la porte étaient prises en étau contre le plat de Pétri par la base et le couvercle afin de les empêcher de bouger. Finalement, le dispositif pouvait être connecté à la pompe péristaltique et perfusé (Figure 6.15).

Malgré quelques fuites, ce dispositif a permis de perfuser le réseau vasculaire à quatre branches. La Figure 6.16 présente une série de photos prises à une seconde d'intervalle où l'on voit la transition de couleur dans les canaux du bloc de silicone avec de l'eau non coloré et de l'eau colorée. Cette expérience montre, tout comme pour la perfusion du réseau à trois branches, que la circulation de l'eau était uniforme dans les canaux de ce réseau vasculaire tridimensionnel.

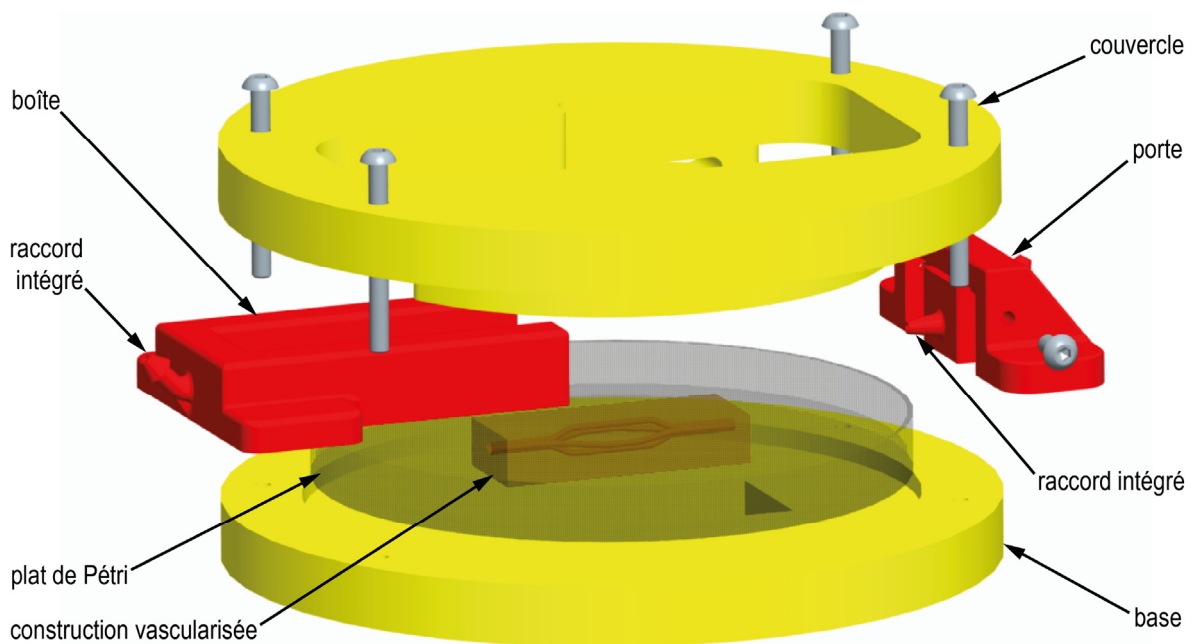


Figure 6.14 : Vue éclatée du dispositif de perfusion.

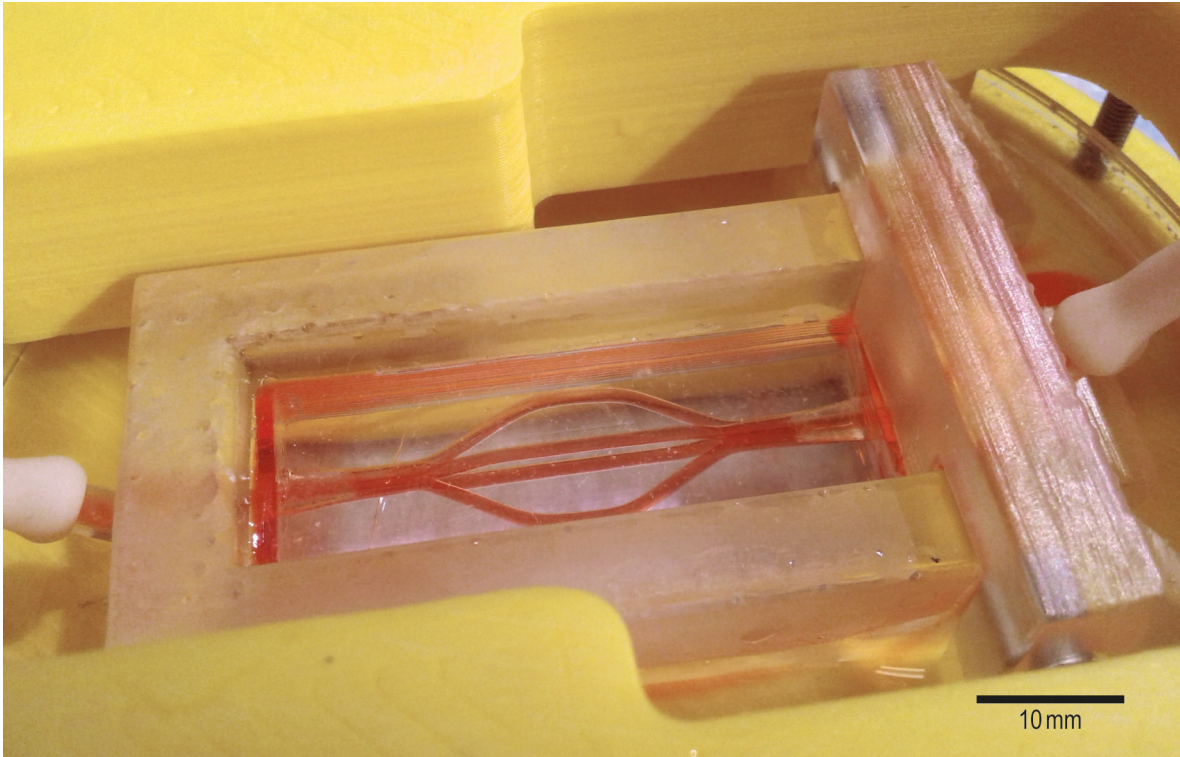


Figure 6.15 : Perfusion d'un bloc de silicone vascularisé à quatre branches.

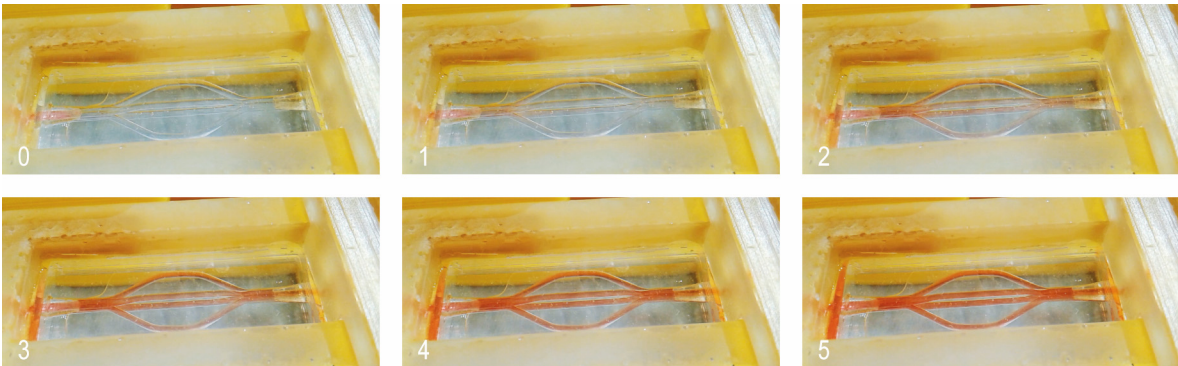


Figure 6.16 : Série de photos prise à une seconde d'intervalle qui montrent la transition entre de l'eau non colorée et de l'eau colorée pour la perfusion d'un bloc de silicone contenant un réseau à quatre branches (les chiffres dans chaque photo indiquent le temps écoulé en secondes depuis le début de la série).

6.4 Moulage rapide de blocs d'hydrogel vascularisés (sans cellules)

Des constructions en hydrogel ont par la suite été fabriquées par moulage rapide. Le moulage rapide d'hydrogel nécessitait une étape supplémentaire puisque les hydrogels sont des solutions aqueuses et ont tendance à dissoudre le sucre. Il a donc fallu protéger les structures temporaires en sucre vitrifié afin d'éviter leur dissolution prématurée. Les structures en sucre vitrifié étaient donc remplies d'une solution de chloroforme contenant 25 mg/ml de poly(acide lactique-co-glycolique) (PLGA). Après cinq minutes, la solution de chloroforme était aspirée pour laisser un revêtement de PLGA sur la structure de sucre vitrifié, ce qui protégeait la structure en sucre de l'hydrogel. Les structures temporaires pouvaient par la suite être utilisées pour faire le moulage rapide de constructions en hydrogels.

La Figure 6.17a présente un bloc d'agarose vascularisé (sans cellules). La Figure 6.17b quant à elle présente une tentative de perfusion qui a été effectuée sur ce bloc avec des raccords cannelés. Lorsque des raccords étaient insérés dans les constructions en agaroses, elles se fendaient. Même en utilisant le dispositif de perfusion, il n'a pas été possible d'obtenir de meilleurs résultats qu'avec les raccords cannelés puisque l'hydrogel n'était pas en mesure de supporter la déformation imposée par les raccords (ni les raccords cannelés, ni les raccords intégrés du dispositif de perfusion). Il faudra donc trouver un autre type d'hydrogel, plus résistant, qui permettra l'insertion de raccords afin de faciliter la perfusion et éventuellement permettre l'anastomose lors des essais *in vivo*. En parallèle, il faudra aussi améliorer le dispositif de perfusion de sorte à ce qu'il prévienne les fuites tout en minimisant les efforts appliqués sur l'hydrogel.

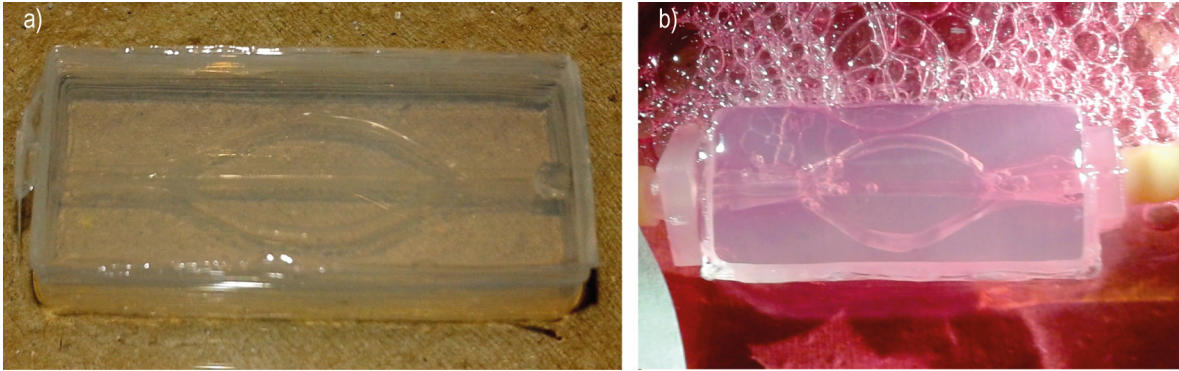


Figure 6.17 : a) Construction en agarose avec un réseau vasculaire à trois branches. b) Tentative de perfusion du bloc d'agarose.

6.5 Bilan des réalisations obtenues avec le dispositif d'extrusion tridimensionnelle

La fabrication de structures temporaires en sucre vitrifié pour la fabrication par moulage rapide de constructions vascularisées était l'objectif principal de l'imprimante qui a été développée lors de ce projet. Son utilisation a démontré sa capacité à fabriquer des géométries complexes et tridimensionnelles de toutes sortes. Du silicone et de l'hydrogel ont ensuite été coulés dans les structures en sucre vitrifié pour en faire le moulage rapide. Les constructions ainsi fabriquées ont ensuite été perfusées. Bien que pour l'instant la perfusion de constructions en hydrogel n'ait pas encore été concluante, d'excellents résultats ont été obtenus avec les structures en silicone et permettent d'entrevoir le grand potentiel de cette nouvelle technologie pour la vascularisation de tissus bioartificiels contenant des cellules vivantes.

Chapitre 7

Conclusion

Le diabète est une maladie très importante qui engendre plus de 10 % des dépenses mondiales en santé [2]. De plus, pour le diabète de type 1, il n'existe aucun traitement qui permettrait de guérir complètement les personnes atteintes par cette maladie. Ces derniers sont atteints sur une longue période qui débute généralement à l'enfance et qui se termine à la mort. Bien qu'il soit possible de traiter le diabète de type 1 par la prise régulière de la glycémie et l'injection d'insuline, ces traitements sont très contraignants et malgré ceux-ci, les personnes diabétiques peuvent être sujettes à des épisodes d'hypoglycémiques sévères qui peuvent entraîner des conséquences très graves à long terme [57].

Plusieurs projets de recherche visant à trouver de nouveaux traitements au diabète de type 1 sont en cours, mais aucun ne permet actuellement de le traiter à long terme cette maladie sans inconvénient majeur pour le patient. L'objectif principal du projet de recherche dans lequel s'inscrit ce mémoire est de fabriquer un pancréas bioartificiel vascularisé et protégé du système immunitaire. Ce dispositif aurait pour but de redonner la capacité aux patients touchés par le diabète de type 1 de sécréter de l'insuline et ce sans effets secondaires. Un tel organe, une fois implanté, permettrait non seulement aux personnes atteintes de réguler leur glycémie, mais également de le faire en temps réel et ce indépendamment de leur rythme de vie. Un tel traitement serait une réelle révolution permettant d'adresser une problématique importante en santé à l'échelle mondiale.

7.1 Retour sur les objectifs initiaux et les résultats obtenus

L'objectif de ce mémoire était de faire le développement et la mise en service d'un dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié. Ce dispositif devait être en mesure de fabriquer des structures temporaires qui permettraient, grâce au moulage rapide, de vasculariser des tissus formés de cellules vivantes contenues dans un hydrogel.

Ce mémoire a été divisé en quatre volets :

1. conception et fabrication du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié;
2. mise en service du dispositif;
3. caractérisation du procédé d'extrusion;
4. fabrication de structures temporaires en sucre vitrifié et réalisations préliminaires par moulage rapide.

La conception et la fabrication du dispositif d'extrusion tridimensionnelle de sucre vitrifié ont été réalisées en adaptant une imprimante 3D existante en changeant la tête d'impression par une nouvelle tête conçue sur mesure. La modification d'une imprimante commerciale a permis de simplifier le processus de design et de concentrer les efforts d'ingénierie sur la conception et la mise en service de la tête d'impression qui est l'organe clé de l'extrusion de sucre vitrifié.

Le dispositif d'extrusion qui a été conçu a été en mesure de remplir tous les objectifs du cahier des charges à l'exception du débit d'extrusion. Les valeurs des objectifs du cahier des charges ainsi que les valeurs obtenues sont présentées au Tableau 7.1. Malgré que le débit d'extrusion n'ait pas été atteint, l'imprimante a été en mesure de fabriquer des structures de sucre vitrifié complexes, ce qui représentait l'objectif principal de ce mémoire. Dans le but d'atteindre le débit d'extrusion demandé par le cahier des charges et d'améliorer les performances ainsi que la fiabilité de l'imprimante, il serait intéressant de changer le moteur pas-à-pas afin d'augmenter sa puissance. Cette modification permettrait d'accélérer la vitesse d'impression, mais surtout la vitesse de l'exécution des commandes d'amorce et de rétraction qui se sont révélées cruciales pour l'obtention de structures précises. De cette façon, la tête d'impression passerait moins de temps immobile pendant l'exécution de ces commandes qui causaient souvent des défauts dans les impressions. L'ajout d'un moteur

plus gros aurait cependant comme conséquence d'augmenter la masse de la tête d'impression et ainsi réduire les accélérations et décélérations. Ces désavantages seraient cependant mineurs par rapport aux avantages que pourrait procurer un tel moteur. Il pourrait aussi être intéressant de changer le modèle de seringue qui est actuellement utilisé par un autre avec un autre type de connecteur qu'un embout LUER ou d'en fabriquer une sur mesure. L'embout LUER des seringues utilisées a été un élément problématique lors des expériences qui ont été réalisées au cours du projet. Les embouts LUER avaient tendance à se briser pendant l'assemblage de la tête, ou à se desserrer au cours des impressions. L'embout LUER devait à la fois servir de support mécanique à la buse et assurer l'étanchéité de l'extrusion. Il serait pertinent pour l'avenir du projet de modifier le design de façon à ce que le support mécanique de la buse et l'étanchéité de l'extrusion soient indépendants et plus robustes.

La mise en service du dispositif a permis d'établir une méthodologie pour préparer l'imprimante avant chaque série d'impressions. Il a d'abord fallu établir un protocole de la préparation du sucre vitrifié pour s'assurer que le matériel ait toujours les mêmes propriétés. Ensuite, une méthodologie permettant de remplir la seringue et d'assembler la tête d'impression a été définie. De cette façon, les conditions d'impressions ont été contrôlées pendant toutes les expériences qui ont été réalisées, ce qui a permis d'obtenir des résultats uniformes et répétables.

La caractérisation du procédé d'extrusion a été un volet crucial dans le développement de l'imprimante. C'est à cette étape où, grâce à des essais expérimentaux, un modèle mathématique a été élaboré pour contrôler et prédire le diamètre extrusions sur une plage de 0.5 mm à 3 mm avec une précision de plus ou moins 0.13 mm. Il a également été observé qu'en diminuant la vitesse d'extrusion, la précision et la répétabilité pouvaient être améliorées.

La fabrication de structures temporaires en sucre vitrifié et les réalisations préliminaires par moulage rapide ont été l'accomplissement de ce projet de maîtrise. Grâce aux volets précédents, il a été possible d'imprimer non seulement des objets tridimensionnels, mais aussi des structures temporaires imitant des réseaux vasculaires. Les structures temporaires ont par la suite pu être utilisées pour fabriquer des constructions vascularisées en polydiméthylsiloxane (PDMS) et en agarose par moulage rapide. Des

essais préliminaires de perfusion ont par la suite été effectués sur ces constructions et ont donné des résultats très encourageants pour la suite du projet.

Tableau 7.1 : Comparaison entre les valeurs visées au cahier des charges et les valeurs obtenues.

<u>Caractéristique</u>	<u>Valeur visée</u>	<u>Valeur obtenue</u>
Précision en X, Y, Z	0.05 mm	0.05 mm
Précision de la longueur d'extrusion	0.01mm	0.005 mm
Poids de la tête	850 g	840 g
Débit d'extrusion	0.8 mm ³ /s à 1 mm ³ /s	0.65 mm ³ /s
Diamètre d'extrusions	0.5 mm à 1 mm	0.5 à 3 mm
Espace de travail	Entre 150 mm x 150 mm x 50 mm et 300 mm x 200 mm x 178 mm	300 mm x 200 mm x 80 mm
Volume de sucre	5 ml à 20 ml	10 ml
Chauffage de la seringue	110 °C à 130 °C	130 °C
Chauffage de la buse	100 °C à 110 °C	110 °C
Température externe de la tête d'impression	Moins de 60 °C	50 °C
Puissance électrique	360 W ou moins	360 W
Refroidissement	Refroidir les filaments à la sortie de la buse sans déformer les filaments ni refroidir la buse	Objectif atteint
Performances	Imprimer des structures microvasculaires en sucre vitrifié	Objectif atteint
Géométrie	Être compatible avec l'imprimante AW3D XL	Objectif atteint

7.2 Perspective pour la suite du projet

Dans un avenir rapproché, de nouvelles constructions contenant des cellules vivantes devront être fabriquées et perfusées. Il sera, à ce moment, important d'effectuer différentes expériences afin de déterminer les paramètres nécessaires (e.g. taille des canaux et espacement entre les canaux) pour que les cellules puissent accomplir leurs fonctions et rester en vie. Ces paramètres permettront de concevoir un réseau vasculaire optimisé pour la fabrication d'un pancréas bioartificiel. En parallèle, il faudra également développer un dispositif de perfusion qui permettra de faire la transition *in vitro* à *in vivo* et y adapter les structures temporaires.

7.2.1 Autres applications au dispositif d'extrusion tridimensionnelle

Le dispositif d'extrusion tridimensionnelle qui a été développé au cours de ce projet a permis de fabriquer des structures de sucre vitrifié d'une précision et d'une complexité à ce jour inégalée. Bien que cette imprimante ait été développée pour la vascularisation d'un pancréas bioartificiel, les structures temporaires en sucre vitrifié pourraient servir à vasculariser bien d'autres sortes d'éléments issus du génie tissulaire.

Par ailleurs, l'utilisation de l'imprimante de sucre vitrifié n'est pas limitée à la vascularisation de tissus bioartificiels. Grâce à la technique de moulage rapide et à la capacité de l'imprimante de fabriquer des structures autoportantes complexes, il est possible de fabriquer des réseaux microfluidiques complexes et sur mesure. De plus, le sucre présente l'avantage d'être facilement soluble dans l'eau et il ne requiert pas de solvant toxique. La Figure 7.1 présente deux applications qui ont été brièvement explorées. La Figure 7.1a et la Figure 7.1b présentent respectivement un moule en sucre vitrifié pour la fabrication d'une plaque contenant des microcanaux ainsi que la plaque en silicone réalisée avec ce moule. Cette plaque avait pour objectif de servir à la fabrication de microbilles d'alginate pour l'encapsulation de cellules. La Figure 7.1c quant à elle représente un moule en sucre vitrifié d'un canal microfluidique avec une protubérance pour la simulation de l'écoulement dans un anévrisme.

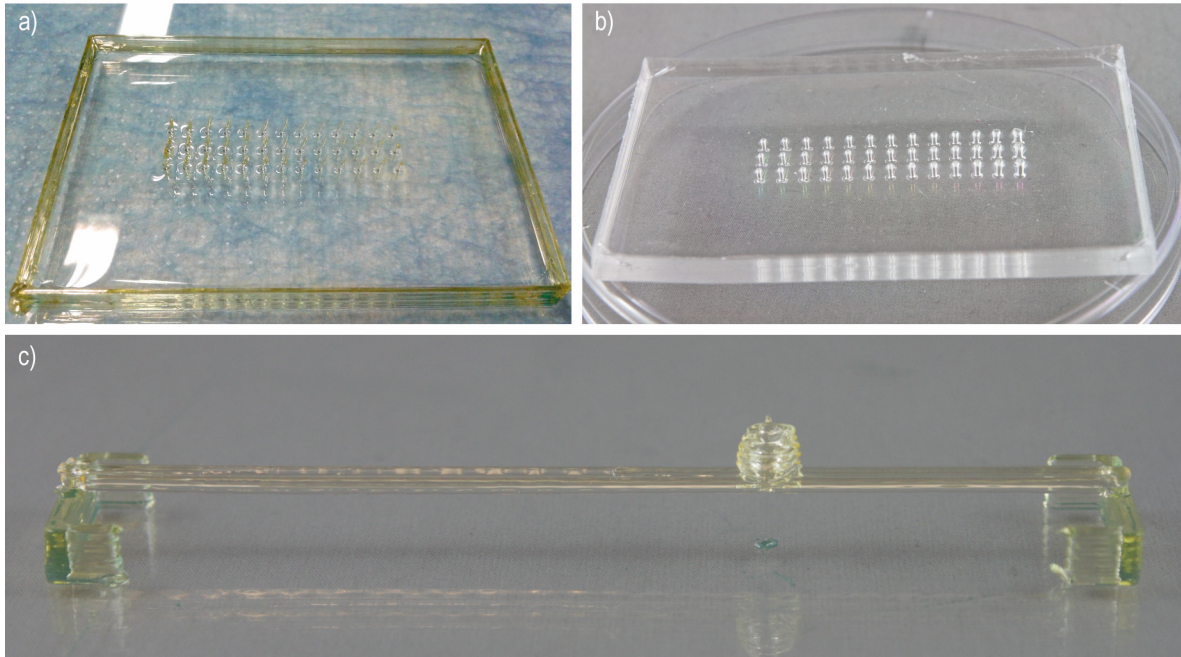


Figure 7.1 : Différentes constructions microfluidiques. a) Moule d'une plaque contenant des microcanaux. b) Plaque de silicone contenant des microcanaux. c) Modèle microfluidique pour la simulation de l'écoulement dans un anévrisme.

Les structures en sucre vitrifié pourraient aussi servir de moules temporaires à des objets tridimensionnels. La Figure 7.2 présente un exemple de ce qui pourrait être fabriqué grâce à l'imprimante de sucre vitrifié. Il s'agit du nez de Sir Wilfrid Laurier qui a été isolé à partir du modèle solide présenté à la Figure 6.3b p.77 et mis à l'échelle réelle d'un nez humain. Une telle construction pourrait servir à fabriquer des prothèses faciales pour remplacer une partie du visage d'une personne ayant subi un accident ou un cancer par exemple. Il serait possible en numérisant le visage de la personne touchée par un tel incident de reconstruire son visage à l'aide d'un ordinateur et d'imprimer un moule pour fabriquer une prothèse qui s'adapterait à la perfection avec sa morphologie tout en accélérant son procédé de fabrication [58].

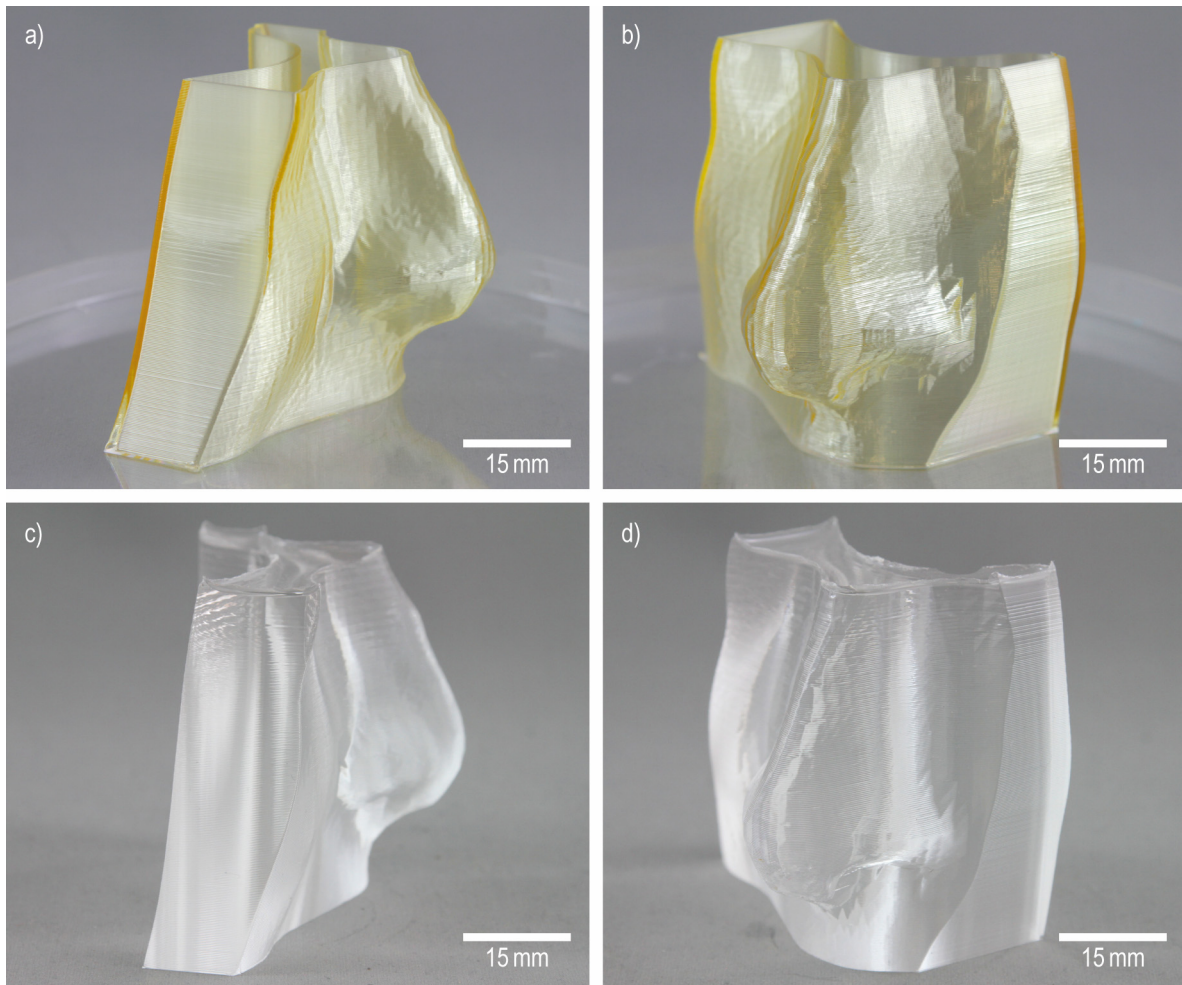


Figure 7.2 : Fabrication d'une prothèse de visage. a) Vue de côté du moule temporaire en sucre vitrifié. b) Vue isométrique du moule temporaire en sucre vitrifié. c) Vue de côté de la construction en silicone. d) Vue isométrique de la construction en silicone.

L'imprimante pourrait aussi être adaptée pour imprimer avec d'autres matériaux comme du silicone, de l'hydrogel, de l'époxy, des polymères solubles ou encore avec des matériaux comestibles pour le domaine de la confiserie. Le dispositif d'extrusion tridimensionnelle qui a été développé possède un potentiel immense pour la fabrication de constructions complexes, sur mesure et en faibles quantités. Des atouts importants qui permettront à ce nouveau procédé d'être mis à profit dans une foule d'applications autant en génie biomédical, en médecine, qu'en génie mécanique.

Bibliographie

- [1] F. Auger, L. Gibot et D. Lacroix, «The Pivotal Role of Vascularization in Tissue Engineering» *Annual Review of Biomedical Engineering*, vol. 15, p. 177-200, 2013.
- [2] Fédération internationale du diabète, *ATLAS du DIABÈTE de la FID 6e édition*, 2013.
- [3] Larousse, «Larousse médical» 2006. [En ligne]. Accès: <http://www.larousse.fr/archives/medical> [consulté le 10-09-2015].
- [4] E. N. Marieb, *Biologie humaine 2e édition*, 2008.
- [5] G. Klöppel, M. Löhr, K. Habich, M. Oberholzer et P. Heitz, «Islet pathology and the pathogenesis of type 1 and type 2 diabetes mellitus revisited» *Pathology and Immunopathology Research* 4.2, vol. 4, p. 110-125, 1985.
- [6] S. White, J. Shaw et D. Sutherland, «Pancreas transplantation» *The Lancet*, vol. 373, p. 1808-1817, 2009.
- [7] J. Shapiro, J. Lakey, E. Ryan, G. Korbitt, E. Tooth, G. Warnock, N. Kneteman et R. Rajotte, «Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen» *the New England journal of Medicine*, vol. 343, n°14, p. 230-237, 2000.
- [8] J. Shapiro, C. Ricordi, B. Hering, h. Auchincloss, R. Lindblad, R. Robertson, A. Secchi, M. Brendel, T. Berney, D. Brennan, E. Cagliero, R. Alejandro, E. Ryan, B. DiMercurio, P. Morel, K. Polonsky, J. Reems, R. Bretzel et B, «International Trial of the Edmonton Protocol for Islet Transplantation» *the New England journal of Medicine*, vol. 355, n°113, p. 1318-1329, 2006.
- [9] D. Klein, S. Álvarez-Cubela, G. Lanzoni, N. Vargas, K. Prabakar, M. Boulina, C. Ricordi, L. Inverardi, R. Pastori et J. Domínguez-Bendala, «BMP-7 Induces Adult Human Pancreatic Exocrine-to-Endocrine Conversion» *Diabetes*, vol. 64, p. 4123-4134, 2015.
- [10] S. Fernandez, A. Bégin-Drolet, J. Ruel, R. Leask, J. Piret et C. Hoesli, «bioencapsulation.net» 2014. [En ligne]. Accès: http://bioencapsulation.net/220_newsletter/BI_2014_10/Bioencap_innov_October_2014.pdf [consulté le 17-09-2015 et archivé par WebCite® <http://www.webcitation.org/6infccwA5>].
- [11] Beta-O2, [En ligne]. Accès: www.beta-o2.com [consulté le 22-02-2016 et archivé par WebCite® <http://www.webcitation.org/6ing7zGBp>].
- [12] M. Zanone, E. Favaro et G. Camussi, «From Endothelial to β Cells: Insights into Pancreatic Islet Microendothelium» *Current Diabetes Reviews*, vol. 4, 2008.
- [13] E. Dolgin, «Encapsulate this» *Nature Medicine*, vol. 20, n°11, p. 9-11, 2014.
- [14] K. Takahashi et S. Yamanaka, «Induced pluripotent stem cells in medicine and biology» *Development*, vol. 140, n°112, p. 2457-2461, 2013.
- [15] C. Hoesli, R. Kiang, D. Mocinecová, M. Speck, D. Johec Mošková, C. Donald-Hague, I. Lacík, T. Kieffer et J. Piret, «Pancreatic Cell Immobilization in Alginate Beads Produced by Emulsion and Internal Gelation» *Biotechnology and Bioengineering*, vol. 108, n°12, p. 424-434, 2011.

- [16] Y. Sato, H. Endo, H. Okuyama, T. Takeda, H. Iwahashi, A. Imagawa, K. Yamagata, I. Shimomura et M. Inoue, «Cellular Hypoxia of Pancreatic β -Cells Due to High Levels of Oxygen Consumption for Insulin Secretion in Vitro» *The journal of biological chemistry*, vol. 286, n°114, p. 12524-12532, 2011.
- [17] A. Black, F. Berthod, N. L'Heureux, L. Germain et F. Auger, «In vitro reconstruction of a human capillary-like network in a tissue-engineered skin equivalent» *The FASEB Journal*, vol. 12, p. 1331-1340, 1998.
- [18] s. Levenberg, J. Golub, M. Amit, J. Itskovitz-Eldor et R. Langer, «Endothelial Cells Derived from Human Embryonic Stem Cells» *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 99, n°17, p. 4391-4396, 2002.
- [19] J. Miller, K. Stevens, M. Yang, B. Baker, D. Nguyen, D. Cohen, E. Toro, A. Chen, P. Galie, X. Yu, R. Chaturvedi, S. Bhatia et C. Chen, «Rapid casting of patterned vascular networks for perfusable engineered three-dimensional tissues» *Nature Materials*, vol. 11, p. 768-774, 2012.
- [20] L. Bellan, S. Singh, P. Henderson, T. Porri, H. Craigheada et J. Spector, «Fabrication of an artificial 3-dimensional vascular network using sacrificial sugar structures» *The Royal Society of Chemistry*, vol. 5, n°17, p. 1354-1357, 2009.
- [21] C. Hull, «Apparatus for production of three-dimensional objects by stereolithography». US patent 1984.
- [22] T. Caffrey et T. Wohlers, «Additive Manufacturing State of the Industry» *Manufacturing engineering*, vol. 154, n°15, p. 67-78, 2015.
- [23] *Rep-rap*, [En ligne]. Accès: <http://reprap.org/> [consulté le 5-08-2015].
- [24] Statasys, «3D printing solution» [En ligne]. Accès: www.stratasys.com. [consulté le 22-03-2016 et archivé par WebCite® <http://www.webcitation.org/6inhUo02b>].
- [25] C. Lee Ventola, «Medical Applications for 3D Printing: Current and Projected Uses» *P & T*, vol. 39, n°110, p. 704-711, 2014.
- [26] «Printing new joints with a 3D printer: advancing regenerative medicine for Canadians» [En ligne]. Accès: <http://www.lunenfeld.ca/about-us/discovery-corner-stories/printing-new-joints-with-a-3d-printer-advancing-regenerative-medicine-for-canadians> [consulté le 12-08-2015].
- [27] C. Schubert, M. Van Langevaeld et L. Donoso, «Innovations in 3D printing: a 3D overview from optics to organs» *British Journal of Ophthalmology*, vol. 98, p. 159-161, 2014.
- [28] J. Miller, «The Billion Cell Construct: Will Three-Dimensional Printing Get Us There?» *PLOS Biology*, vol. 12, n°16, 2014.
- [29] J. Folkman et M. Hochberg, «Self-regulation of growth in three dimensions» *The journal of experimental medicine*, vol. 138, p. 745-753, 1973.
- [30] E. Bell, H. Ehrlich, D. Buttle et T. Nakatsuji, «Living Tissue Formed in vitro and Accepted as Skin-Equivalent Tissue of Full Thickness» *Science*, vol. 211, n°14486, p. 1052-1054, 1981.
- [31] T. Boland, T. Xu, B. Damon et X. Cui, «Application of inkjet printing to tissue engineering» *Biotechnology journal*, vol. 1, p. 910-917, 2006.
- [32] S. Levenberg, J. Rouwkema, M. Macdonald, E. Garfein, D. Kohane, D. Darland, R. Marini, C. Van Blitterswijk, R. Mulligan, P. D'Amore et R. Langer, «Engineering vascularized skeletal muscle tissue» *Nature Biotechnology*, vol. 23, n°17, p. 879-884, 2005.
- [33] J. Lee, X. Wang, S. Faley, B. Baer, D. Balikov, H. Sung et L. Bellan, «Development of 3D Microvascular Networks Within Gelatin Hydrogels Using Thermoresponsive Sacrificial Microfibers» *Advanced healthcare materials*, 2016.

- [34] Hive 76, «How to: Innovate in science with open source technology» 2012. [En ligne]. Accès: www.hive76.org/how-to-innovate-in-science-with-open-source-technology [consulté le 08-03-2016 et archivé par WebCite® <http://www.webcitation.org/6inilm6UE>].
- [35] R. Sooppan, S. Paulsen, J. Han, A. Ta, P. Dinh, A. Gaffey, C. Venkataraman, A. Trubelja, G. Hung, J. Miller et P. Atluri, «In Vivo Anastomosis and Perfusion of a Three-Dimensionally-Printed Construct Containing Microchannel Networks» *TISSUE ENGINEERING*, vol. 22, n°11, 2015.
- [36] M. Catala, J.-M. André, G. Katsanis et J. Poirier, «Histologie : organes, systèmes et appareils» [En ligne]. Accès: www.chups.jussieu.fr [consulté le 11-03-2015].
- [37] W. Ovalle et P. Nahirney, *Netter's Essential Histology*, 2008.
- [38] Guyton et Hall, *Text book of medical physiology twelfth edition*, 2011.
- [39] H. Ross et W. Pawlina, *Histology a text and atlas sixth edition*, 2011.
- [40] Larousse, «Larousse encyclopédie» [En ligne]. Accès: www.larousse.fr/encyclopedie [consulté le 22-03-2016].
- [41] Diabète Québec, «Le traitement du diabète, de 1921 à aujourd'hui» 2014. [En ligne]. Accès: <http://www.diabete.qc.ca/fr/comprendre-le-diabete/tout-sur-le-diabete/histoire-du-diabete/le-traitement-du-diabete-de-1921-a-aujourd'hui> [consulté le 22-03-2016].
- [42] A. Derfel, «Breakthrough allows Type I diabetics to live without insulin injections» 2015. [En ligne]. Accès: <http://montrealgazette.com/news/local-news/breakthrough-allows-type-i-diabetics-to-live-without-insulin-injections>. [consulté le 12-03-2016 et archivé par WebCite® <http://www.webcitation.org/6ink7WCBj>].
- [43] P. Benhamou et F. Bayle, «La greffe d'îlots pancréatiques» *La presse médicale*, vol. 33, n°114, p. 961-965, 2014.
- [44] V. So, L. Martinson, C. Green et M. Scoot, «3-dimensional large capacity cell encapsulation device assembly». US patent 2014.
- [45] B. Ludwig, B. Zimmerman, A. Steffen, K. Yavriants, D. Azarov, A. Reichel, P. Vardi, T. German, N. Shabtay, A. Rotem, Y. Evron, T. Neufeld, S. Mimon, S. Ludwig, M. Brendel, S. Bornstein et B. U., «A novel device for islet transplantation providing immune protection and oxygen supply» *Original Basic*, vol. 42, p. 918-922, 2010.
- [46] R. Bou Aoun, Interviewee, *Un pancréas artificiel biologique pour lutter contre le diabète*. [Interview]. 16 04 2014.
- [47] Defymed, «Lancement du programme européen BIOSID» [En ligne]. Accès: <http://biosid-eu.org/press-releases/>. [consulté le 31-03-2016 et archivé par WebCite® <http://www.webcitation.org/6inlDVpls>].
- [48] A. Moritz et F. Henriques, «Studies of thermal injury II: The relative importance of time and surface temperature in the causation of cutaneous burns» *The american journal of pathology*, vol. 23, n°15, p. 695-720, 1947.
- [49] P. Lele, D. Sinclair et G. Weddel, «The reaction time to touch» *The journal of physiology*, vol. 123, n°11, p. 187-203, 1954.
- [50] T. L. Bergman, A. S. Lavine, F. P. Incropera et D. P. Dewitt, *Fundamentals of Heat and mass transfer*, 7e éd., John Wiley & Sons, 2011.

- [51] M. A. Reinheimer, S. Mussati et N. J. Scenna, «Influence of product composition and operating conditions on the unsteady behavior of hard candy cooling process» *Journal of food engineering*, vol. 101, p. 409-416, 2010.
- [52] R. E. Wrolstad, *Food Carbohydrate Chemistry*, John Wiley & Sons, 2012.
- [53] B. Munson, D. Young, T. Okiishi et W. Huebesh, *Fundamentals of fluid mechanics*, Wiley, 2009.
- [54] E. Marieb et K. Hoehn, *Human Anatomy & Physiology*, Pearson Education, 2014.
- [55] G. Turk, «The Stanford Bunny» 2000. [En ligne]. Accès:
<http://www.cc.gatech.edu/~turk/bunny/bunny.html> [consulté le 26-05-2016 et archivé par WebCite®
<http://www.webcitation.org/6inkrOaXm>].
- [56] E. Barnett et C. Gosselin, «Large-scale 3D printing with a cable-suspended robot» *Additive Manufacturing*, vol. 7, p. 27-44, 2015.
- [57] L. Perlmutter, B. Flanagan, P. Shah et S. Singh, «Glycemic Control and Hypoglycemia» *Diabetes care*, vol. 31, n°110, p. 2072-2076, 2008.
- [58] M. Mello, J. Augusto Oliveira Piras, R. Takimoto, O. Cervantes, M. Abraão et L. DIB, «Facial reconstruction with a bone-anchored prosthesis following destructive cancer surgery» *Oncology Letters*, vol. 4, p. 682-684, 2012.