

Titre: Conception de moules polymères hydrosolubles pour la préparation d'hydrogels macroporeux servant de pièges à cellules cancéreuses résiduelles du glioblastome multiforme
Title:

Auteur: Lisa Delattre
Author:

Date: 2025

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Delattre, L. (2025). Conception de moules polymères hydrosolubles pour la préparation d'hydrogels macroporeux servant de pièges à cellules cancéreuses résiduelles du glioblastome multiforme [Mémoire de maîtrise, Polytechnique Montréal]. PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/62784/>
Citation:

 **Document en libre accès dans PolyPublie**
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/62784/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Nick Virgilio, & Mélanie Girard
Advisors:

Programme: Génie chimique
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

**Conception de moules polymères hydrosolubles pour la préparation
d'hydrogels macroporeux servant de pièges à cellules cancéreuses résiduelles
du glioblastome multiforme**

LISA DELATTRE

Département de génie chimique

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

Génie chimique

Février 2025

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Conception de moules polymères hydrosolubles pour la préparation d'hydrogels macroporeux servant de pièges à cellules cancéreuses résiduelles du glioblastome multiforme

présenté par **Lisa DELATTRE**

en vue de l'obtention du diplôme de *Maîtrise ès sciences appliquées*

a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

Olivier HENRY, président

Nick VIRGILIO, membre et directeur de recherche

Mélanie GIRARD, membre et codirectrice de recherche

Basil FAVIS, membre

REMERCIEMENTS

Je tiens tout d'abord à exprimer ma profonde gratitude à mon directeur de maîtrise, le professeur Nick Virgilio, sans qui je ne serais pas ici aujourd'hui. Il m'a permis de faire mes premiers pas dans le monde de la recherche lors d'un stage, et depuis, je n'ai jamais cessé d'approfondir mes connaissances dans ce domaine. Grâce à lui, j'ai pu évoluer rapidement en bénéficiant d'opportunités remarquables, telles que la publication d'un article et la participation à la conférence canadienne en génie chimique, avant même d'être aux études supérieures. Je le remercie énormément pour sa disponibilité et la confiance qu'il m'a accordée tout au long de mon parcours universitaire.

J'aimerais également remercier ma codirectrice de maîtrise, Mélanie Girard, qui m'a offert un regard neuf et extérieur sur le projet, me permettant ainsi de poser les bonnes questions et de surmonter les défis rencontrés.

Un grand merci à mes collègues de laboratoire, et particulièrement à Arthur Lassus, Paniyan Talebpour et Vaiana Moreau, pour leurs retours constructifs, leur aide précieuse lors des expériences et les nombreuses discussions enrichissantes qui ont contribué à la qualité de ce travail. Une pensée spéciale pour mon binôme de la première session, Guillaume Bruneau, qui m'a apporté motivation et soutien pour entamer ce projet d'envergure.

Je suis également reconnaissante envers les techniciens, notamment Martine Lamarche et Gino Robin, pour leur disponibilité et les ressources nécessaires apportées tout au long du projet. Sans oublier, Matthieu Gauthier, qui a été d'une très grande aide en laboratoire, sur qui on peut toujours compter et qui permet le bon déroulement des expériences en donnant son regard technique et averti sur les différents projets.

Je souhaite également exprimer ma reconnaissance à mes amis, qui m'ont permis de garder le moral tout au long de ce parcours et ont rendu cette expérience plus agréable.

Je tiens aussi à adresser mes plus sincères remerciements à ma famille, et particulièrement à mes parents, qui m'ont permis d'aller aussi loin dans mon cheminement académique. Ils sont d'un soutien sans faille.

Enfin, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon conjoint pour sa patience, sa compréhension, son soutien et ses encouragements tout au long de mes études. Il a été mon pilier durant mes moments de doute et m'a donné la force ainsi que la motivation d'arriver au bout de ce projet.

RÉSUMÉ

Le glioblastome multiforme (GBM) est une tumeur cérébrale maligne très agressive, représentant la majorité des tumeurs du système nerveux central (SNC), avec une survie médiane de seulement 15 mois. Les traitements actuels, incluant la chirurgie, la radiothérapie et la chimiothérapie, sont souvent limités par les récurrences dues aux cellules cancéreuses résiduelles infiltrant les tissus environnants. La Gliotrappe, une technologie innovante, vise à traiter ce problème en capturant ces cellules résiduelles après la résection tumorale. Conçue sous forme d'hydrogels macroporeux biocompatibles à base d'alginate et de chitosane, elle doit permettre d'attirer les cellules cancéreuses et de les maintenir dans l'hydrogel grâce aux pores interconnectés, pour ensuite faciliter une radiothérapie ciblée à dose élevée, minimisant ainsi les dommages aux tissus sains environnants.

Cependant, la fabrication actuelle de ces hydrogels poreux nécessite l'utilisation de solvants organiques pour dissoudre le moule polymère, dont les résidus peuvent être toxiques pour les cellules et tissus biologiques. Ainsi, **ce projet de maîtrise propose une contribution originale** en surmontant cette problématique par la conception de moules polymères hydrosolubles sensibles à la température, permettant d'utiliser de l'eau pour leur extraction.

Ce projet s'appuie sur le comportement thermosensible du polyalcool de vinyle (PVA) pour son utilisation dans la fabrication de moules poreux permettant la formation d'hydrogels. Le choix du grade de PVA a constitué la première étape clé. En effet, le PVA sélectionné gonfle significativement à basse température ($< 50\text{ }^{\circ}\text{C}$) sans se dissoudre, mais se dissout rapidement à des températures plus élevées ($\geq 50\text{ }^{\circ}\text{C}$). Ce comportement thermosensible permet d'utiliser le PVA comme moule, en injectant des solutions gélifiantes à basse température, puis en dissolvant le moule à haute température une fois le gel formé.

La conception des moules à porosité continue en PVA a constitué la deuxième étape du projet. Une attention particulière a été portée sur l'analyse des mélanges poly(styrène)/PVA (PS/PVA) pour développer une structure co-continue. Le mélange PS/PVA montre une morphologie co-continue à une composition spécifique (61/39 %vol), avec un grossissement des phases par l'application d'un recuit statistique. Toutefois, la zone de co-continuité de ce mélange est restreinte, malgré la faible tension interfaciale. Cela pourrait en revanche être dû à la forte instabilité thermique du PVA dont la viscosité augmente significativement et rapidement avec le temps.

Enfin, la troisième étape du projet a consisté à concevoir des hydrogels d'alginate poreux dans les moules en PVA produits. Les hydrogels d'alginate macroporeux ont été réalisés en injectant une solution gélifiante dans les moules poreux en PVA à très basse température ($< 5\text{ }^{\circ}\text{C}$), suivie de leur extraction à $70\text{ }^{\circ}\text{C}$. Les hydrogels produits présentent une taille moyenne de pores de $128\text{ }\mu\text{m}$, idéale pour la colonisation cellulaire, provenant de moules ayant subi un recuit de 30 minutes. Les caractéristiques structurales des moules (forme et taille des pores) sont fidèlement reproduites dans les hydrogels.

Ainsi, ce travail présente une méthode innovante pour fabriquer des hydrogels macroporeux en utilisant des moules en PVA hydrosolubles issus d'un mélange co-continu avec le polystyrène. Cette approche élimine l'usage de solvants organiques et permet la production de structures poreuses précises, entièrement interconnectées et adaptées aux applications biomédicales. La méthode offre des perspectives prometteuses dans la diversification des formulations des gels, l'amélioration des procédés, ainsi que l'exploration d'applications innovantes, telles que l'impression 3D pour des géométries complexes.

ABSTRACT

Glioblastoma multiforme (GBM) is a highly aggressive malignant brain tumor, representing the majority of central nervous system (CNS) tumors, with a median survival of only 15 months. Current treatments, including surgery, radiotherapy, and chemotherapy, are often limited by recurrences due to residual cancer cells infiltrating the surrounding tissues. The Gliotrappe, an innovative technology, aims to address this issue by capturing these residual cells after tumor resection. Designed as a biocompatible macroporous hydrogel made of alginate and chitosan, it has to be capable of attracting cancer cells and maintaining them in a matrix comprising a network of interconnected pores. This will facilitate afterwards a high-dose targeted radiotherapy while minimizing damage to healthy tissues.

However, the current fabrication of these porous hydrogels requires the use of organic solvents to dissolve the polymer mold, and the residues can be harmful to biological tissues and cells. Thus, **this master's project makes an original contribution** by overcoming this issue through the design of thermally sensitive water-soluble polymer molds, allowing their extraction with water.

This thesis is based on the thermosensitive behavior of polyvinyl alcohol (PVA) for use in the production of porous molds, enabling the formation of porous hydrogels. The selection of the PVA grade was a key first step. Specifically, the chosen PVA swells significantly at low temperatures ($< 50^{\circ}\text{C}$) without dissolving, but dissolves rapidly at higher temperatures ($\geq 50^{\circ}\text{C}$). This thermosensitive behavior allows PVA to be used as a mold: gelling solutions are injected at low temperatures to prevent PVA dissolution, followed by mold dissolution at high temperatures once the gel is formed.

The design of PVA molds with a continuous porosity was the second step of the project. Special attention was given to the analysis of poly(styrene)/PVA (PS/PVA) blends to develop a co-continuous structure. The PS/PVA blend exhibits a co-continuous morphology at a specific composition (61/39 vol%), with phase coarsening achieved through the application of quiescent annealing. However, the co-continuity region of this blend is limited despite the low interfacial tension. This could, however, be attributed to the high thermal instability of PVA, whose viscosity increases significantly and rapidly over time.

Finally, the third stage of the project involved the design of macroporous alginate hydrogels using the porous PVA molds. Macroporous alginate hydrogels were fabricated by injecting a gelling

solution into the porous PVA molds at very low temperatures ($< 5^{\circ}\text{C}$), followed by extraction at 70°C . The prepared hydrogels exhibit an average pore size of $128\text{ }\mu\text{m}$, ideal for cellular colonization, from molds that had undergone 30 minutes of annealing. The structural characteristics of the molds (pore shape and size) were faithfully reproduced in the hydrogels.

In conclusion, this work presents an innovative method to fabricate macroporous hydrogels using water-soluble PVA molds derived from a co-continuous blend with polystyrene. This approach eliminates the use of organic solvents and allows the production of precise, fully interconnected porous structures suitable for biomedical applications. The method offers promising prospects for diversifying gel formulations, improving processes, and exploring innovative applications, such as 3D printing for complex geometries.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iii
RÉSUMÉ.....	v
ABSTRACT	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	xiii
LISTE DES FIGURES	xiv
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	xx
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Le glioblastome multiforme	1
1.2 La Gliotrappe.....	2
1.3 Problématique.....	5
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	6
2.1 Techniques de préparation d'hydrogels macroporeux pour le domaine biomédical	6
2.1.1 Moulage par porogène.....	6
2.1.2 Moules en polymère poreux	7
2.1.3 Moussage par gaz	8
2.1.4 Moulage par émulsion bicontinue	9
2.1.5 La cryogélation.....	9
2.1.6 L'impression 3D.....	10
2.1.7 Résumé des avantages et inconvénients des techniques de préparation d'hydrogels	
11	
2.2 Mélanges binaires miscibles.....	13
2.3 Mélanges binaires non miscibles.....	16
2.3.1 Les morphologies	16

2.3.2	Facteurs contrôlant la morphologie	17
2.3.2.1	La composition	17
2.3.2.2	Le rapport de viscosité	18
2.3.2.3	L'élasticité	20
2.3.2.4	Le taux de cisaillement.....	21
2.3.2.5	Autres paramètres expérimentaux	22
2.3.3	La co-continuité.....	24
2.3.4	Contrôle de la taille des pores	26
2.3.4.1	Le recuit statique	26
2.3.4.2	Compatibilisation	29
2.4	Mélanges binaires immiscibles co-continus avec un polymère hydrosoluble	30
2.4.1	Mélanges retrouvés dans la littérature.....	30
2.4.2	L'alcool polyvinylique (PVA)	33
CHAPITRE 3	OBJECTIFS PRINCIPAUX ET SPÉCIFIQUES.....	36
3.1	Objectif principal.....	36
3.2	Objectifs spécifiques	36
CHAPITRE 4	ARTICLE 1 THERMALLY SENSITIVE AND TUNABLE WATER SOLUBLE POLYMER MOLDS FOR THE PREPARATION OF POROUS HYDROGELS....	37
4.1	Introduction	39
4.2	Experimental section	41
4.2.1	Materials and methods	41
4.2.1.1	Materials.....	41
4.2.1.2	Density measurements.....	41
4.2.1.3	Differential scanning calorimetry.....	42
4.2.1.4	Rheology	42

4.2.2	Solubility of PVA.....	43
4.2.3	Interfacial tension measurement.....	43
4.2.4	Blend preparation	44
4.2.4.1	Internal mixer	44
4.2.4.2	Melt-extrusion	45
4.2.4.3	Quiescent annealing	45
4.2.5	Characterization of blends.....	45
4.2.5.1	Continuity of polymer phases by gravimetry	45
4.2.5.2	Microstructural analysis by scanning electron microscopy	46
4.2.5.3	Microstructural analysis by X-ray microtomography	46
4.2.6	Preparation and characterization of porous gels	47
4.3	Results	48
4.3.1	PVA solubility as a function of temperature	48
4.3.2	PS/PVA blend morphology after melt-processing	50
4.3.3	Preparation and characterization of macroporous hydrogels	57
4.4	Discussion	60
4.5	Conclusion.....	61
4.6	SI Supporting Information	64
CHAPITRE 5 DISCUSSION		70
5.1	Sélection des polymères et obtention de la morphologie co-continue	70
5.2	Caractérisation et défis liés à la morphologie co-continue	71
5.3	Optimisation du refroidissement et extrusion	72
5.4	Fabrication et caractérisation des hydrogels	72
5.5	Limitations et perspectives.....	73
5.5.1	Fragilité des moules à porosité fine.....	73

5.5.2	Réticulation du PVA	73
CHAPITRE 6	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	76
RÉFÉRENCES		78

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 Avantages et inconvénients des techniques de préparation d'hydrogels macroporeux pour le domaine biomédical. © 2024 par L. Delattre.....	12
Table 4.1 Density and thermal properties of PS and PVA.	42
Table 4.2 Comparison of the microstructural characteristics between a porous PVA mold and the resulting 4% w/v porous alginate hydrogel, with an annealing time of 30 minutes.	59
Table 4.3 Microstructural parameters of polymer blends prepared by extrusion as a function of quiescent annealing time. Domain diameter corresponds to the pore size distribution average ± 1 standard deviation.	64
Table 4.4 Microstructural parameters of polymer blends prepared in an internal mixer as a function of quiescent annealing time. Domain diameter corresponds to the pore size distribution average ± 1 standard deviation.....	64

LISTE DES FIGURES

- Figure 1.1** (A–C) IRM d'un glioblastome multiforme hétérogène (GBM) chez un patient de 75 ans, dans le lobe temporal droit. (D) La masse tumorale de GBM chez le même patient. Tiré de Simińska et al. (2021) CC BY 2
- Figure 1.2** Principe du traitement de la Gliotrappe. Adapté avec permission de El Kheir et al. (2022) CC BY 4.0 3
- Figure 1.3** Étapes d'extractions successives pour la conception d'hydrogel macroporeux. Les pores sont de l'ordre du micromètre. Adapté avec permission de Esquirol et al. (2014). © 2014 American Chemical Society..... 4
- Figure 1.4** (A) Matrice poreuse en PLA avec un recuit de 60 min (B) Gel poreux d'alginate 2 % résultant de la matrice (A). © 2024 par L. Delattre. 5
- Figure 2.1** Images en microscopie confocale d'un hydrogel d'alginate poreux. (A) l'hydrogel poreux en vert avec le porogène de gélatine en rouge avant dissolution. (B) Image d'un hydrogel poreux après la dissolution du porogène de gélatine. Barre d'échelle = 1000 μ m. Adapté avec permission de Liu et al. (2023) © 2023 Elsevier Ltd. 7
- Figure 2.2** (A) Image en microscopie optique d'un hydrogel chitosane-alginate poreux fait pas moussage de gaz. (B) Photographie d'un hydrogel chitosane-alginate poreux fait par moussage de gaz. Adapté avec permission de Li et al. (2021) © 2021 Elsevier Ltd..... 8
- Figure 2.3** (A) Photographie d'un hydrogel d'alginate poreux fait par émulsion bicontinue. (B) Image SEM d'un hydrogel d'alginate poreux fait par émulsion bicontinue. Adapté avec permission de Zhou et al. (2013) © 2013 Royal Society of Chemistry. 9
- Figure 2.4** (A) Photographie d'un hydrogel poreux électriquement chargé fait par cryogélation. (B) Image SEM d'un hydrogel poreux électriquement chargé fait par cryogélation. Adapté de Tanikawa et al. (2023). CC BY 4.0..... 10
- Figure 2.5** (A) Photographie d'un hydrogel poreux GelMA fait par impression 3D. (B) Image stéréoscopique de l'hydrogel poreux GelMA. Adapté avec permission de Gao et al. (2021) © 2021 John Wiley & Sons, Inc..... 11

Figure 2.6 Diagramme de phase pour les mélanges de polymères. Tiré de Xavier et al. (2016). CC BY 3.0	14
Figure 2.7 : <i>Cloud Point Curve</i> d'un mélange poly(isoprène) (PIP)/ poly(diméthyl siloxane) (PDMS). Adapté avec permission de Lee et al. (2001) ©2001 Elsevier Ltd.	15
Figure 2.8 : Représentations schématiques des morphologies observées suite aux mélanges de deux polymères immiscibles et les propriétés associées. Tiré de Macosko, (2000) © 2000 John Wiley and Sons, Inc. Reproduit avec permission.....	16
Figure 2.9 : Évolution de la morphologie selon la composition du mélange binaire immiscible. Adapté avec permission de Ravati & Favis (2010) © 2010 Elsevier Ltd.	18
Figure 2.10 : Influence du rapport de viscosité (torque) sur le diamètre des gouttelettes dn de la phase dispersée pour le mélange PP/PC. Tiré de Favis dans D. R. Paul and C. B. Bucknall (édit.) (2000) © 2000 John Wiley & Sons, Inc. Reproduit avec permission	19
Figure 2.11 Effet du rapport de viscosité sur le diamètre des gouttelettes et la co-continuité sur le mélange PP/PC. Tiré de Favis & Chalifoux (1988) © 1988 Elsevier Ltd. Reproduit avec permission	20
Figure 2.12 : Effet du temps de mélange sur la taille des gouttelettes sur le mélange PP/PC. Tiré de Favis (1990) © 1990 John Wiley & Sons, Inc. Reproduit avec permission.....	22
Figure 2.13 : Effet de la vitesse du mélange sur la taille des gouttelettes sur le mélange PP/PC. Tiré de Favis (1990) © 1990 John Wiley & Sons, Inc. Reproduit avec permission.	23
Figure 2.14 Effet de la température de mélange sur la zone de co-continuité pour le mélange PS/PCL. Tiré de Sarazin & Favis (2005) © 2005 Elsevier Ltd. Reproduit avec permission.	24
Figure 2.15 (A) Vue 2D en microCT d'un échantillon de PLA poreux recuit pendant 45 minutes. (B) Vue 3D en microCT d'un échantillon de PLA poreux recuit 45 minutes. Adapté de Delattre et al. (2024) CC BY 4.0.....	26
Figure 2.16 : Effet du temps de recuit sur la morphologie co-continue du mélange PS/PE 50/50 %vol. La barre d'échelle est de 100 μm . Adapté avec permission de Yuan & Favis (2005) ©2005 AIChE.	27

- Figure 2.17** Évolution de la morphologie co-continue du mélange PE/PEO 50/50 %vol en fonction du temps de recuit à 180 °C. Tiré de Haji Abdolrasouli et al. (2021) ©2021 John Wiley & Sons, Inc. 28
- Figure 2.18** Effet de la température de recuit sur la morphologie co-continue du mélange PS/PLLA 50/50 %vol pour un recuit de 60 minutes. La barre d'échelle est de 100 µm. Adapté avec permission de Yuan & Favis (2004) ©2004 Elsevier Ltd. 29
- Figure 2.19** : Effet de l'ajout d'un copolymère sur la morphologie co-continue sur le système PLA/PS 60/40 %vol. Adapté avec permission de Gu et al. (2018) ©2018 Elsevier Ltd. 29
- Figure 2.20** Effet de l'ajout d'un copolymère sur la morphologie co-continue du système PS/PLLA 50/50 %vol lors d'un recuit statique. La barre d'échelle est de 10 µm. Adapté avec permission de Yuan & Favis (2004) ©2004 Elsevier Ltd. 30
- Figure 2.21** (A) Image SEM du mélange PEO/PS à 50/50 %vol. Adapté avec permission de Galloway et al. (2002) ©2002 Elsevier Ltd. (B) Image SEM du mélange PCL/PEO à 45/55 %vol ayant un recuit de 10 min. Adapté avec permission de Wei et al. (2024) ©2024 John Wiley & Sons, Inc. 31
- Figure 2.22** (A) Photographie d'un organogel poreux à l'huile de canola venant d'un moule recuit de 30 minutes. (B) Image microCT d'un organogel poreux à l'huile de canola venant d'un moule recuit de 90 minutes, la barre d'échelle représente 700 µm. Adapté avec permission de Kabbara et al. (2016) © 2016 John Wiley & Sons, Inc. 32
- Figure 2.23** Structure du PVA : (A) complètement hydrolysé; (B) partiellement hydrolysé © 2024 par L. Delattre. 34
- Figure 2.24** Relation entre de degré d'hydrolyse du PVA et sa solubilité dans l'eau ayant un degré de polymérisation de 1750. De Byrne et al. (2021). CC BY 4.0..... 34
- Figure 4.1** a) Swelling and dissolution of PVA in water as a function of time and temperature; b) Comparison between a PVA pellet at t = 0 h (dry, left) and after 4 h in water at 23 °C (right). 48
- Figure 4.2** Morphology of PS/PVA blends prepared in an internal mixer, after the selective extraction of PVA with water for micrographs (a) to (c), and selective extraction of PS using

chloroform for micrographs (d) to (j). PS/PVA compositions in vol%: a) 90/10 ; b) 80/20 ; c) 70/30 ; d) 61/39 ; e) 60/40 ; f) 50/50 ; g) 40/60 ; h) 30/70 ; i) 20/80 ; j) 10/90. The white scale bars represent 100 μm for the main magnification and 2 μm for the enlarged inset images.50

Figure 4.3 Continuity of the PS and PVA phases as a function of blend composition, measured by gravimetric analysis. The arrow indicates the composition at which a co-continuous morphology is observed. 52

Figure 4.4 Evolution of the PS/PVA 61/39 vol% blend morphology, as a function of quiescent annealing time, after the selective extraction of the PS phase with chloroform. a) No annealing, right after melt-extrusion; b) 10 min ; c) 20 min ; d) 30 min ; e) 45 min ; f) 60 min. The white scale bars represent 500 μm 53

Figure 4.5 (a) to (f): Evolution of the PS/PVA 61/39 vol% blend microstructure, prepared by melt-extrusion, as revealed by x-ray microtomography, as a function of quiescent annealing time. The blend was prepared by melt-extrusion, followed by quiescent annealing, CNC cutting and selective extraction of the PS phase with chloroform. a) No annealing ; b) 10 min ; c) 20 min ; d) 30 min ; e) 45 min ; f) 60 min. The white scale bars represent 1 mm. White phase = PVA, black phase = pores left by PS extraction; g) Average diameter (thickness) of the PS (d_{PS}) and PVA (d_{PVA}) domains, and specific interfacial area S , as a function of quiescent annealing time $t_{annealing}$, at $T = 210\text{ }^{\circ}\text{C}$, for the PS/PVA 61/39 blend prepared by melt-extrusion. The data points for the diameters correspond to the average pore size of the distribution $\pm$ one standard deviation. Similar trends were obtained for the same blend composition prepared in the internal mixer (**Figure 4.11**). 55

Figure 4.6 Experimental steps for the preparation of a porous hydrogel composed of 4% w/v sodium alginate (SA), with a PVA mold prepared from a PS/PVA 61/39 vol% blend annealed for 30 min (the hydrogel phase is stained with a blue food coloring dye to better distinguish the phases). The steps are as follows: a) Porous PVA mold before injection of the gelling solution, after blend annealing, CNC machining and PS extraction; b) PVA mold 24 h after the injection of the SA solution and gelation in a 4% w/v aqueous CaCl_2 solution at $5\text{ }^{\circ}\text{C}$; c) 4% w/v SA porous hydrogel after the extraction of the PVA mold with water at $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ for 1 day. The top row shows the sample from above, while the bottom row provides a top-down view. The white scale bar represents 0.5 cm. 57

- Figure 4.7** a) Microstructure of a PVA mold (30 min of annealing time) viewed by microCT. White domains = PVA, black domains = porosity left by PS extraction; b) resulting macroporous alginate hydrogel (4% w/v) once the PVA phase is extracted. White domains = SA hydrogel, black domains = porosity left by PVA extraction. The white scale bar = 1 mm. 58
- Figure 4.8** a) Time sweep of PVA at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$ and 1 rad/s; b) Time sweep of PS at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$ and 1 rad/s..... 65
- Figure 4.9** Microstructure of PS/PVA blends prepared in an internal mixer, after the selective extraction of PVA with water for micrograph (a), and selective extraction of PS using chloroform for micrographs (b) to (d). PS/PVOH compositions in vol%: a) 61/39 ; b) 60/40 ; c) 55/45 ; d) 50/50. Notice first in (a) the PVA sub-inclusions in the PS phase following PVA extraction with water, and then the small openings in the extracted dispersed PS phase linking the extracted droplets together, creating a percolated network, in (b) to (d). The white scale bars represent 100 μm for micrograph (a) and 2 μm for micrographs (b) to (d). 66
- Figure 4.10** a) Frequency sweep of PVA at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$, frequency from 0.5 rad/s to 100 rad/s; b) Frequency sweep of PVA at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$, frequency from 1 rad/s to 100 rad/s; c) Frequency sweep of PS at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$, frequency from 0.1 rad/s to 100 rad/s. 67
- Figure 4.11** Average diameter (thickness) of the PS (d_{PS}) and PVA (d_{PVA}) domains, and specific interfacial area S , as a function of quiescent annealing time $t_{annealing}$, for the PS/PVA 61/39 blend prepared with the internal mixer. The data points for the diameters correspond to the average pore size of the distribution $\pm$ one standard deviation. 68
- Figure 4.12** Comparison of experimental steps for the preparation of a porous hydrogel composed of 4% w/v sodium alginate (SA), with a PVA mold prepared from a PS/PVA 61/39 vol% blend annealed for 30 min. The steps are as follows: a) Porous PVA mold before injection of the gelling solution, after blend annealing, CNC machining and PS extraction; b) Porous PVA mold right after solution injection; c) PVA mold after the injection of the SA solution and gelation, having spent 24 h in a 4% w/v aqueous CaCl_2 solution at 5 °C; d) 4% w/v SA porous hydrogel after the extraction of the PVA mold with water at 70 °C for 1 day. The top row shows the injection at 1°C, while the bottom row shows the injection at 5 °C – notice the

volume difference. For top row, the hydrogel phase is stained with a blue food coloring dye to better distinguish the phases..... 69

Figure 5.1 Matrices poreuses et flexibles en PVA suite au soxhlet et mise en solution aqueuse. (A) Avant compression par la pince, (B) pendant la compression, (C) après la compression. (D) Vue de côté d'un moule sortant du soxhlet à gauche et d'un moule après avoir été plongé dans l'eau à droite, (E) vue du dessus de ces même échantillons. 74

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

GBM	Glioblastome multiforme
IRM	imagerie par résonance magnétique
μ CT	Microtomographie à rayon X
PC	Polycarbonate
PCL	Polycaprolactone
PE	Polyéthylène
PEO	Poly(éthylène oxyde)
PLA	Poly lactide Acide
PLLA	Poly(l-lactide)
PP	Polypropylène
PS	Polystyrène
PVA	Polyalcool de vinyle
SNC	Système nerveux central
T _m	Température de fusion
T _g	Température de transition vitreuse
TMZ	Témozolomide

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Le glioblastome multiforme

Le glioblastome multiforme (GBM) est une tumeur maligne très agressive du système nerveux central (SNC). Elle est de stade IV, ce qui correspond selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) aux tumeurs les plus malignes (Urbańska et al., 2014). Le GBM se retrouve majoritairement dans le lobe frontal, il est cependant possible de le trouver, mais plus rarement, dans le tronc cérébral et le cervelet, il touche ainsi toutes les zones du cerveau (Grochans et al., 2022). Selon Ostrom et al., le GBM est la tumeur maligne la plus fréquente, représentant 14.2 % de toutes les tumeurs du SNC ainsi que 50.9 % des tumeurs malignes du SNC. Elle touche environ 3.27 personnes sur 100 000 par an aux États-Unis d'Amérique. Le nombre estimé de personnes vivant avec un diagnostic de GBM en 2019 était de 24 688. Son incidence augmente avec l'âge et il est beaucoup plus fréquent chez les personnes âgées de 75 à 84 ans, avec l'âge médian à 66 ans. De plus, elle est 1.6 fois plus fréquente chez l'homme que chez la femme et environ 2 fois plus fréquentes chez les personnes blanches comparé aux personnes noires (Ostrom et al., 2023). Le GBM a une morbidité et une mortalité élevées. En effet, la survie médiane est de 15 mois seulement (Grochans et al., 2022).

Il n'existe actuellement pas d'outil ou de test de dépistage permettant de détecter le GBM. Seuls les symptômes cliniques permettent d'en faire son diagnostic. Ces symptômes sont généralement des maux de tête, des déficits neurologiques focaux, de la confusion, des pertes de mémoire, des changements de personnalité ou des convulsions (Alifieris & Trafalis, 2015). En cas de suspicion de GBM, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) permet de détecter la présence ou non de la tumeur (**Figure 1.1**). Le diamètre moyen de la tumeur est généralement de 4 cm lors du diagnostic, et elle peut s'étendre à plus de 10 cm de diamètre dans certains cas. L'approche actuelle pour le traitement du GBM est la résection chirurgicale de la tumeur suivie d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie. Les meilleurs résultats sont obtenus pour des doses en radiothérapie de 5 000 à 6 000 centigray (cGy). Au-delà de cette dose, une forte toxicité apparaît. Plus récemment, l'ajout de témozolomide (TMZ) (agent chimiothérapeutique alkylant) au traitement a permis d'augmenter la survie chez les patients. Néanmoins, la récurrence de la tumeur est presque inévitable puisque celle-ci ne peut pas être retirée au complet. En effet, le GBM s'infiltré en profondeur dans les tissus environnants, laissant ainsi des cellules résiduelles souvent

très résistantes à la radiothérapie, sachant que les doses appliquées sont petites afin de préserver les fonctions cognitives du patient. De plus, la barrière hémato-encéphalique rend aussi leur traitement difficile (Urbańska et al., 2014). Ainsi, de nombreuses nouvelles approches visent à traiter ce cancer différemment en attaquant directement les cellules cancéreuses résiduelles, telles que les échographies ciblées utilisant des microbulles (Johansen et al., 2023; Lee, H. et al., 2022; Moody et al., 2023), les dépôts de médicaments intracrâniens (Chu et al., 2022; Morales & Mousa, 2022; Wang, W. et al., 2023), ou encore l'administration *in situ* via des nanomatériaux et biomatériaux (Gu, W. et al., 2022; Idlas et al., 2023).

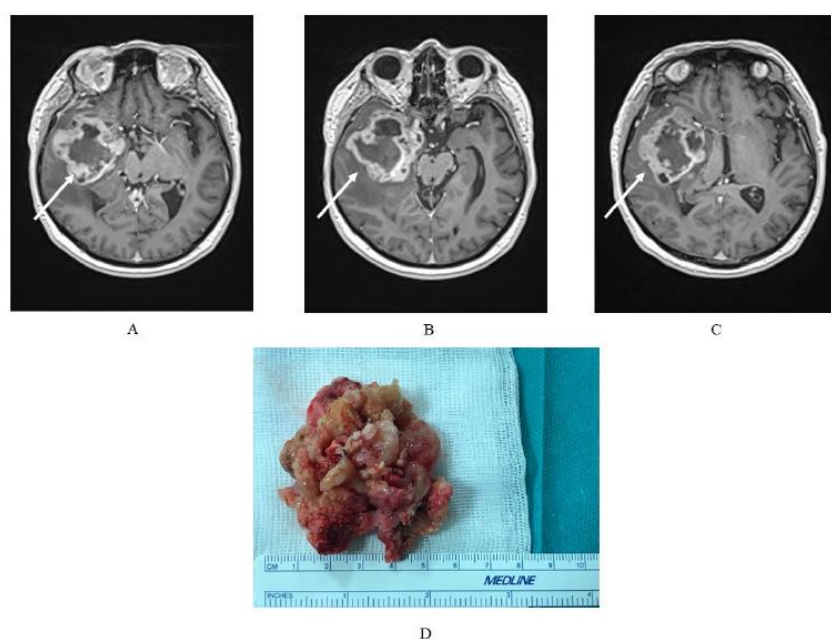


Figure 1.1 (A–C) IRM d'un glioblastome multiforme hétérogène (GBM) chez un patient de 75 ans, dans le lobe temporal droit. (D) La masse tumorale de GBM chez le même patient. Tiré de Simińska et al. (2021) CC BY

1.2 La Gliotrappe

La Gliotrappe, développée par l'équipe formée des professeur.es Benoît Paquette (Université de Sherbrooke (UdeS)), Nathalie Fauchoux (UdeS), Marc-Antoine Lauzon (UdeS), et Nick Virgilio (Polytechnique Montréal), a été conçue pour traiter le GBM de type IV. En effet, elle a pour but d'attirer et de retenir les cellules cancéreuses résiduelles après résection de la tumeur (**étape 1**) afin de les éliminer. Ainsi, si les cellules résiduelles sont éradiquées, le risque de récurrence devrait

diminuer considérablement. La Gliotrappe est un hydrogel à base d'alginate et de chitosane comprenant un réseau de pores entièrement interconnectés (Pares, 2023). Puisque la Gliotrappe est insérée dans la cavité chirurgicale (**étape 2**), les sont naturels, non toxiques et biocompatibles. Des protéines chimiokines CXCL12 peuvent être ajoutées au sein de l'hydrogel pour attirer spécifiquement les cellules du GBM. Cette technique reste cependant encore à être testée *in vivo* expérimentalement par le groupe de recherche. Une fois les cellules dans l'hydrogel, celles-ci vont d'une part adhérer aux parois des pores grâce aux peptides d'adhésion cellulaire RGD (acide arginylglycylaspartique) greffés à l'hydrogel, mais seront aussi distribuées dans le réseau tortueux formé par les pores interconnectés (**étape 3**). Elles seront donc retenues dans l'hydrogel, ouvrant la voie à une radiothérapie stéréotaxique ciblée sur l'hydrogel à dose plus élevée que la normale étant donné la zone restreinte d'application (**étape 4**). Cela permettra d'éliminer plus efficacement les cellules sans endommager les tissus sains voisins, réduisant ainsi potentiellement les effets secondaires nocifs pour le patient - la radiothérapie n'étant pas réalisée sur l'ensemble du cerveau du patient. La **Figure 1.2** illustre le principe de traitement avec la Gliotrappe.

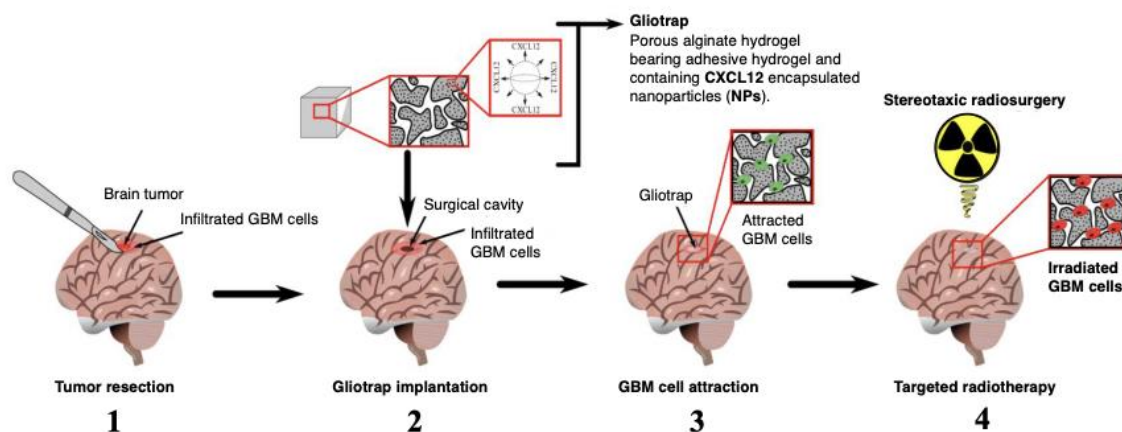


Figure 1.2 Principe du traitement de la Gliotrappe. Adapté avec permission de El Kheir et al. (2022) CC BY 4.0

La conception de la Gliotrappe fait intervenir plusieurs étapes. Premièrement, il faut concevoir un moule en polymère à pores interconnectés qui va permettre de former l'hydrogel. Pour ce faire, il faut tout d'abord procéder à l'extrusion d'un mélange binaire de polylactide (PLA) et de polystyrène (PS) à quantités massiques ou volumiques égales. (Esquirol et al., 2014; Parès et al., 2024) À cette composition, le mélange forme une morphologie co-continue. Par la suite, le

mélange est recuit pendant un certain temps, permettant d'ajuster la morphologie afin d'obtenir ultimement la taille de pores voulue. Une fois la morphologie fixée, les barreaux d'extrusion recuits sont usinés à la forme souhaitée. (Delattre et al., 2024) Il est alors temps d'extraire l'un des polymères à l'aide d'un solvant organique n'affectant pas le deuxième polymère. Dans le cas présent, le cyclohexane permet de dissoudre la phase PS sans dissoudre la phase PLA (**étape 1**). La continuité des phases permet l'extraction complète d'une phase sans affecter le réseau de l'autre. Ainsi, on obtient un moule poreux en PLA avec des pores continus. À ce stade, il est possible d'injecter la solution gélifiante d'alginate/chitosane dans les pores du moule (**étape 2**). (Parès et al., 2024; Safi et al., 2022) Pour ce faire, le moule est plongé dans la solution et le tout est mis sous vide pour chasser l'air des pores et faire entrer la solution. Par la suite, le moule plein est plongé dans une solution contenant du calcium ce qui va permettre la réticulation du gel. Une fois la gélification complète, il est possible d'extraire le deuxième polymère avec un autre solvant organique, dans ce cas du chloroforme, et ainsi d'obtenir l'hydrogel poreux (**étape 3**). Le diamètre moyen des pores du gel sera donc équivalent au diamètre moyen de la deuxième phase polymère extraite (Esquirol et al., 2014; Safi, 2022). Les étapes d'extractions successives sont illustrées à la **Figure 1.3**. À l'étape 2, La **Figure 1.4** montre un réel moule en PLA ainsi que le gel résultant de ce moule.

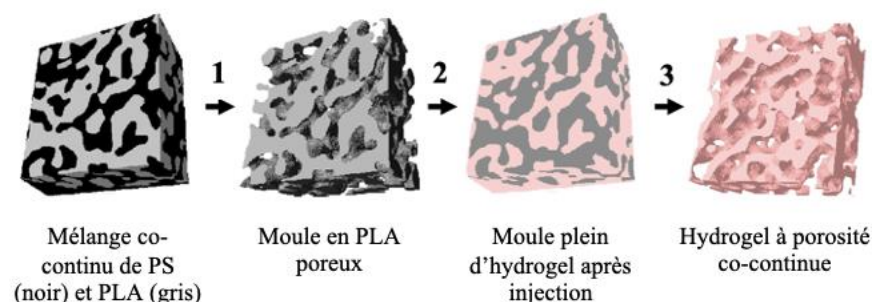


Figure 1.3 Étapes d'extractions successives pour la conception d'hydrogel macroporeux. Les pores sont de l'ordre du micromètre. Adapté avec permission de Esquirol et al. (2014). © 2014 American Chemical Society.

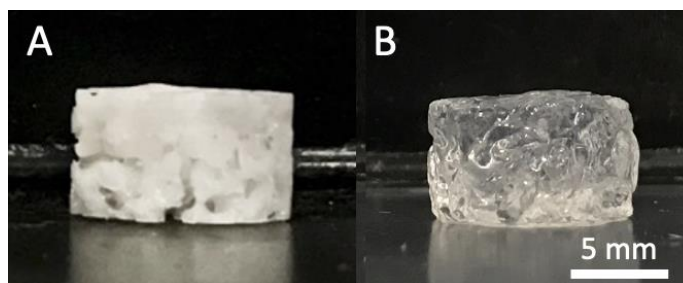


Figure 1.4 (A) Matrice poreuse en PLA avec un recuit de 60 min (B) Gel poreux d'alginate 2 % résultant de la matrice (A). © 2024 par L. Delattre.

1.3 Problématique

La conception des hydrogels poreux demande l'utilisation de solvants organiques pour la dissolution des polymères. Comme le souligne Wang et al., il est difficile d'éliminer toute trace du solvant, même après de nombreux lavages, avant l'utilisation de l'hydrogel. Il est raisonnable de se demander si ce n'est pas problématique considérant l'application visée. En effet, ces traces de solvant peuvent endommager les cellules biologiques, et même les empêcher de former de nouveaux tissus (Wang, X. et al., 2006). Ceci n'est pas souhaitable pour l'application de la Gliotrappe. Il serait donc intéressant de trouver de nouvelles alternatives pour la confection des hydrogels. Une idée serait d'avoir un polymère hydrosoluble pour remplacer le deuxième polymère à extraire, permettant ainsi d'utiliser de l'eau pour l'extraire et éliminer le contact direct du solvant organique avec l'hydrogel (Kabbara et al., 2016). Cependant, cette nouvelle formulation apporte des défis de conception puisque le but ici serait de produire un hydrogel avec une moule hydrosoluble. Il y a donc des risques de dissolution du moule en polymère hydrosoluble lors du contact avec la solution gélifiante à base d'eau.

L'objectif principal de ce projet est de concevoir des moules polymères hydrosolubles ayant des pores ajustables en taille et interconnectés pour la préparation d'hydrogels macroporeux.

Suite à une revue de l'état de l'art concernant les mélanges binaires de polymères au **Chapitre 2**, les objectifs principaux et spécifiques du projet seront présentés au **Chapitre 3**. Le corps du projet présentant les résultats expérimentaux, sous forme d'article scientifique, sera au **Chapitre 4**, s'en suivra une discussion sur les aspects importants et sur les points à améliorer au **Chapitre 5**. Pour finir une conclusion ainsi que des recommandations seront présentés au **Chapitre 6**. Un deuxième article publié dans le cadre de cette maîtrise est également présenté à l'**Annexe A**.

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Techniques de préparation d'hydrogels macroporeux pour le domaine biomédical

Il existe différentes techniques pour produire des hydrogels macroporeux : moulage à l'aide de particules/cristaux de sel/sucre/ et autres matériaux porogènes, moussage par gaz, moulage par émulsion bicontinue, cryogélation, impression 3D et moulage avec polymères poreux.

2.1.1 Moulage par porogène

Le moulage à l'aide d'un matériau porogène repose sur le principe de concevoir l'hydrogel autour de particules de sel, par exemple, ou de microbilles d'hydrogel, puis de dissoudre ces particules une fois le gel formé. Dans le cas du moulage avec particules de sel, il n'y a pas d'utilisation de solvant organique, puisque le sel peut se dissoudre avec de l'eau. Un exemple utilisant cette technique est la préparation d'hydrogels photo-réticulés à base d'oligo[(polyéthylène glycol) fumarate] (OPF) comme matrice pour la différenciation ostéoblastique des cellules stromales de la moelle osseuse (Dadsetan et al., 2008). Cependant, les pores créés avec les cristaux de sel ne sont pas complètement interconnectés. La taille des pores dépend de la taille des cristaux de sel et ne dépasse généralement pas 500 μm . De plus, une hyperosmolarité peut être induite par la haute concentration de sel, avec également la possibilité que des cristaux de sel restent non dissous au sein de l'hydrogel.

L'utilisation de billes d'hydrogel rend les pores plus uniformes et réguliers. De plus, elles sont non toxiques, compatibles avec les cellules, et pourraient se dégrader *in situ*. Néanmoins, leur élimination peut rester incomplète dans certains cas et nécessiter l'utilisation d'un solvant organique ; par ailleurs, la structure finale n'est pas non plus entièrement continue (De France et al., 2018). Un exemple utilisant cette technique est l'emploi de microsphères d'alginate de calcium dans des réseaux d'hydrogels, permettant de former un réseau macroporeux ouvert. Les microbilles sont ensuite solubilisées, puis l'hydrogel est lavé pour éliminer les résidus. (Delaney et al., 2010). Liu et al. ont également récemment utilisé cette technique pour des hydrogels d'alginate poreux permettant l'expansion de cellules souches hématopoïétiques *in vitro* en culture 3D. Ils ont utilisé de la poudre de gélatine comme agent porogène qui, dans ce cas, fond à 37°C et laisse place aux pores. La **Figure 2.1** montre la structure poreuse de l'hydrogel d'alginate obtenu par cette méthode. (Liu, B., Jin, et al., 2023)

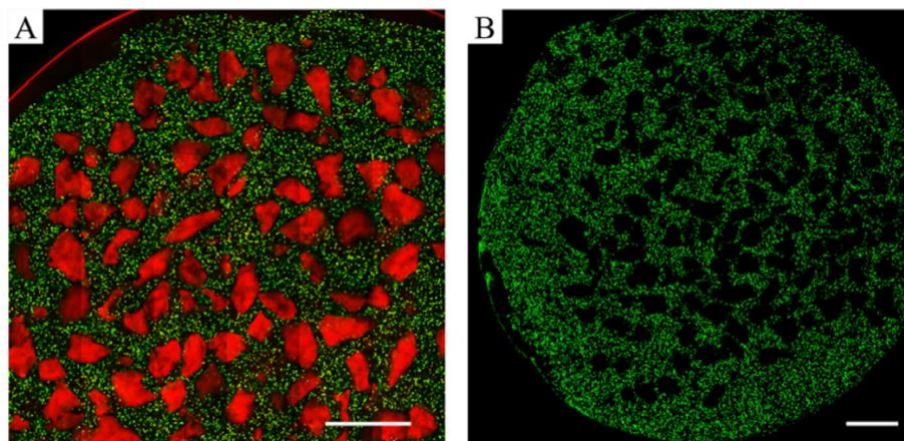


Figure 2.1 Images en microscopie confocale d'un hydrogel d'alginate poreux. (A) l'hydrogel poreux en vert avec le porogène de gélatine en rouge avant dissolution. (B) Image d'un hydrogel poreux après la dissolution du porogène de gélatine. Barre d'échelle = 1000 μm . Adapté avec permission de Liu et al. (2023) © 2023 Elsevier Ltd.

2.1.2 Moules en polymère poreux

L'utilisation de moules en polymère poreux obtenus à partir de mélanges de polymères co-continus fait partie de la famille des méthodes utilisant un matériau porogène. La technique consiste à concevoir un mélange binaire ayant une morphologie co-continue avec deux polymères immiscibles. Une fois ce mélange obtenu, on extrait avec un solvant organique l'un des polymères, ce qui va créer une structure poreuse entièrement interconnectée. Ainsi, la solution gélifiante peut être injectée sous vide dans le moule en polymère poreux. Puis, une fois la gélification complète, le polymère est dissout avec un solvant organique. Cette technique permet ainsi de produire des hydrogels avec des pores complètement connectés, et la taille des pores est aussi facilement contrôlable en contrôlant la morphologie du mélange binaire par recuit. Cependant, cette technique nécessite l'utilisation de solvants organiques (Esquirol et al., 2014). Récemment, cette technique a été utilisée pour préparer des hydrogels de chitosane et d'alginate servant de pièges à cellules cancéreuses résiduelles de GBM (El Kheir et al., 2022; Parès et al., 2024; Safi et al., 2022). La **Figure 1.4** illustre un gel d'alginate et son moule en polymère.

2.1.3 Moussage par gaz

La technique de moussage par gaz consiste généralement à créer des bulles de gaz dans la solution gélifiante au cours de son processus de gélification. Les bulles piégées forment alors le réseau poreux. L'agent moussant le plus souvent utilisé est le bicarbonate de sodium, car il génère du dioxyde de carbone (CO_2) en conditions acides. Pour cette technique, le choix de l'agent moussant est crucial, car il laisse au sein de l'hydrogel des produits résiduels pouvant être indésirables pour les applications biomédicales. Cependant, avec cette technique, une interconnexion totale des pores reste difficile. De plus, la taille et la distribution des pores résultantes sont très hétérogènes (De France et al., 2018). Annabi et al. ont utilisé cette technique pour préparer un réseau macroporeux à base de polycaprolactone (PCL) et d'élastine, en utilisant du CO_2 comme agent moussant. Ils ont également employé des particules de NaCl comme porogène. L'utilisation simultanée des deux techniques permet la création d'une structure à pores plus uniformément répartis (Annabi et al., 2011). Plus récemment, cette technique a été utilisée pour former des hydrogels de chitosane-alginate destinés à être utilisés en ingénierie tissulaire osseuse. L'agent moussant utilisé est du NaHCO_3 , qui réagit avec l'acide acétique utilisé pour dissoudre le chitosane. La **Figure 2.2** montre un hydrogel de chitosane-alginate poreux et sa structure poreuse interne, réalisée avec cette technique. (Li, Y. et al., 2021)

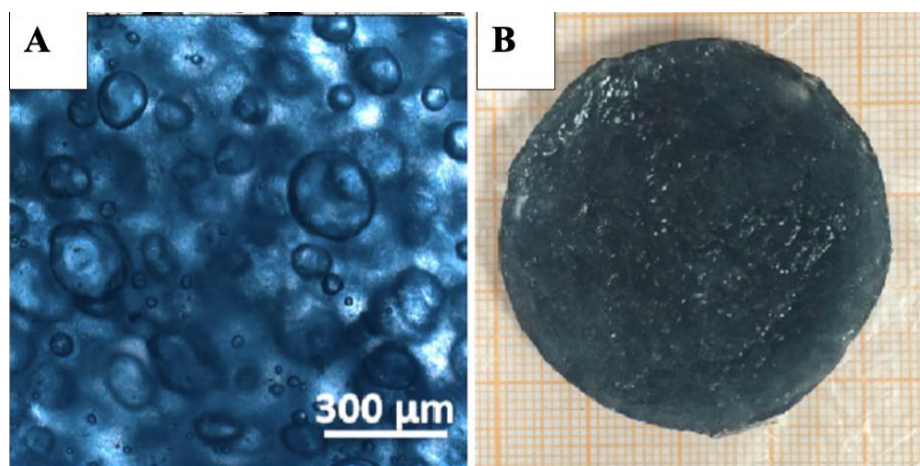


Figure 2.2 (A) Image en microscopie optique d'un hydrogel chitosane-alginate poreux fait pas moussage de gaz. (B) Photographie d'un hydrogel chitosane-alginate poreux fait par moussage de gaz. Adapté avec permission de Li et al. (2021) © 2021 Elsevier Ltd

2.1.4 Moulage par émulsion bicontinue

Le moulage par émulsion bicontinue consiste à préparer une phase aqueuse contenant les monomères précurseurs du gel ou les chaînes polymères, ainsi que l'agent de réticulation, pour ensuite l'émulsifier à l'aide d'un solvant organique immiscible. Le principal avantage de cette technique, comparée aux précédentes, est la formation d'un réseau complètement continu ; en revanche, la taille des pores est difficilement contrôlable. Le principal désavantage réside dans l'utilisation d'un solvant organique (De France et al., 2018). Cette technique a été utilisée pour préparer des hydrogels d'alginate avec des pores interconnectés. Dans ce cas, l'alginate réticulé avec du calcium a été émulsifié avec du toluène. **La Figure 2.3** montre un hydrogel en alginate poreux et la structure interne produite avec cette technique. (Zhou et al., 2013)

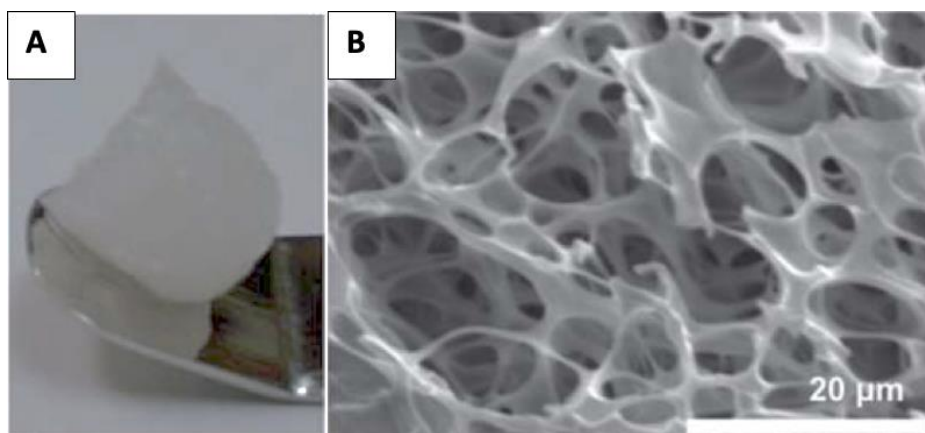


Figure 2.3 (A) Photographie d'un hydrogel d'alginate poreux fait par émulsion bicontinue. (B) Image SEM d'un hydrogel d'alginate poreux fait par émulsion bicontinue. Adapté avec permission de Zhou et al. (2013) © 2013 Royal Society of Chemistry.

2.1.5 La cryogélation

La cryogélation fait intervenir des cycles de congélation/décongélation pour créer des cristaux de glace dans la solution gélifiante. Une fois les cristaux produits, on réticule la solution à très basse température, puis les cristaux sont éliminés par décongélation ou lyophilisation. Cette technique ne convient pas à tous les types d'hydrogels - surtout ceux contenant des cellules - et peut se révéler très lente puisqu'il faut être à très basse température lors de la réticulation. De plus, la distribution des pores est très large. Cependant, cette technique permet d'obtenir des pores relativement bien interconnectés, même s'ils ne présentent pas une interconnexion totale. De plus,

il n'y a pas besoin de solvant organique pour cette méthode (De France et al., 2018). Cette technique est utilisée, par exemple, pour préparer des cryogels de gélatine réticulés avec du dextran oxydé (Inci et al., 2013). Récemment, cette technique a été utilisée pour préparer des hydrogels poreux électriquement chargés pour la culture 3D de cellules neurogliales. La polymérisation de la solution composée de monomères cationiques et anioniques et du réticulant a été réalisée à -16°C , puis l'hydrogel a été décongelé à l'eau froide pour faire fondre les cristaux de glace formés et laisser place aux pores. La **Figure 2.4** montre un gel électriquement chargé ainsi que sa structure poreuse interne. (Tanikawa et al., 2023)

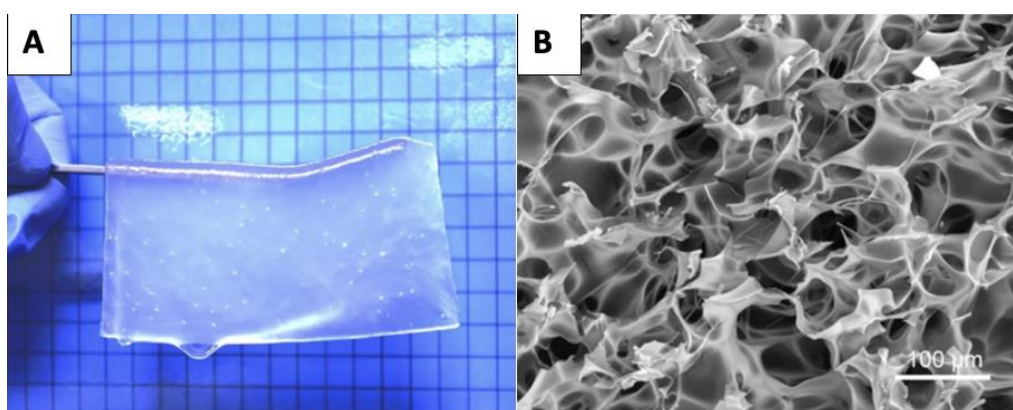


Figure 2.4 (A) Photographie d'un hydrogel poreux électriquement chargé fait par cryogélation. (B) Image SEM d'un hydrogel poreux électriquement chargé fait par cryogélation. Adapté de Tanikawa et al. (2023). CC BY 4.0

2.1.6 L'impression 3D

L'impression 3D est une technique particulièrement intéressante, car elle permet la fabrication d'hydrogels très spécifiques aux attentes souhaitées : forme de l'hydrogel et structure interne des pores (taille et interconnexion). L'hydrogel modélisé en 3D par ordinateur est imprimé couche par couche pour former la structure souhaitée. Selon la chimie gélifiante, il existe différentes façons de réticuler l'hydrogel. Dans tous les cas, la gélification doit être rapide pour que l'hydrogel se tienne sur lui-même. Dans certains cas, il est nécessaire d'éliminer, par solvant organique, la structure sacrificielle utilisée et/ou le monomère qui n'a pas réagi (De France et al., 2018). D'autres méthodes de réticulation permettent d'éviter l'utilisation de solvants organiques, comme la réticulation par UV, appelée photo-polymérisation, qui est d'ailleurs la réticulation la plus répandue. (Nicol, 2021) Il est, par exemple, possible de produire un hydrogel de chitosane et

de polyéthylène glycol diacrylate (PEGDA) en forme d'oreille, ayant une structure macroporeuse interconnectée, dont la réticulation est faite par UV permet d'avoir un contrôle précis sur la forme pouvant s'adapter à chaque patient. La porosité est cependant créée par lyophilisation. (Morris et al., 2017). Gao et al. (2021) ont développé des hydrogels poreux pour la régénération ostéocondrale, fabriqués par impression 3D. Il s'agit d'hydrogels bicouches de méthacryloyle de gélatine (GelMA) et de GelMA-hydroxyapatite, imprimés en 3D puis réticulés par UV. L'impression 3D permet de créer un réseau poreux quadrillé, offrant une porosité optimale pour la régénération tissulaire, variant de 100 à 400 μm . Ce quadrillage facilite le contact entre les cellules et constitue une structure favorisant l'interconnexion des pores. L'impression 3D démontre ici sa capacité à ajuster facilement la forme et la taille des pores en fonction de l'application souhaitée. La **Figure 2.5** montre un hydrogel GelMA et sa structure poreuse quadrillée, fait par impression 3D. (Gao et al., 2021)

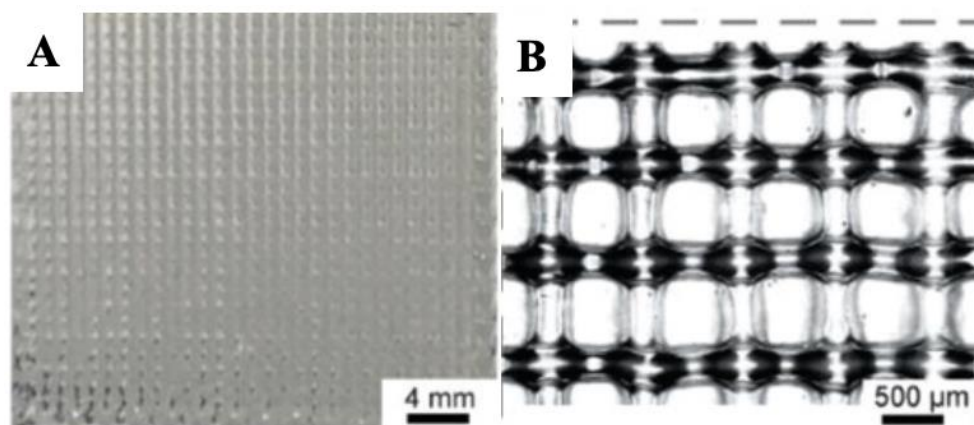


Figure 2.5 (A) Photographie d'un hydrogel poreux GelMA fait par impression 3D. (B) Image stéréoscopique de l'hydrogel poreux GelMA. Adapté avec permission de Gao et al. (2021) © 2021 John Wiley & Sons, Inc.

2.1.7 Résumé des avantages et inconvénients des techniques de préparation d'hydrogels

Le **Tableau 2.1** présente les avantages et les inconvénients de ces différentes techniques pour des applications biomédicales et sur le contrôle de la morphologie.

Tableau 2.1 Avantages et inconvénients des techniques de préparation d'hydrogels macroporeux pour le domaine biomédical. © 2024 par L. Delattre.

	Formation des pores en adéquation avec le domaine biomédical	Interconnectivité des pores	Taille des pores	Types de chimies utilisables
Moulage par sels¹	✓ Extraction du sel à l'eau	≈ Non totale	X Contrôle difficile et taille limitée	✓ Convient à toutes les chimies
Moulage par porogènes¹	≈ Extraction des porogènes possible avec solvant	≈ Non totale	✓ Contrôlable et homogène	✓ Convient à toutes les chimies
Moussage par gaz¹	≈ Agent émulsifiant peut laisser des produits indésirables	≈ Non totale	≈ Contrôlable mais résultat très hétérogène	✓ Convient à toutes les chimies
Émulsion bicontinue¹	X Utilisation d'un solvant organique	✓ Totale	X Difficilement contrôlable	✓ Convient à toutes les chimies
Cryogélation¹	✓ Fusion des cristaux de glace naturelle	≈ Non totale	≈ Contrôlable mais résultat hétérogène	X Réticulation à très basse température
Impression 3D^{1,2}	≈ Utilisation de solvants organiques ou cytotoxicité des initiateurs selon la réticulation utilisée	✓ Totale	✓ Contrôlable et homogène	≈ La chimie doit gélifier rapidement
Moulage avec polymère poreux³	X Dissolution des polymères au solvant organique	✓ Totale	✓ Contrôlable et relativement homogène	✓ Convient à toutes les chimies

¹(De France et al., 2018); ²(Nicol, 2021); ³(Esquirol et al., 2014)

Légende :

✓ Critère totalement satisfait par la technique

X Impossibilité de satisfaire ce critère par la technique

≈ La technique montre des difficultés à satisfaire pleinement le critère, ce n'est pas le meilleur cas

Selon, le **Tableau 2.1** la technique de moulage par polymère poreux semble, en fonction des critères choisis, être une option adéquate pour produire des hydrogels macroporeux interconnectés. Cependant, il reste un désavantage important à cette technique pour le domaine biomédical : elle nécessite l'utilisation de solvants organiques, ce qui n'est pas souhaitable dans ce domaine.

2.2 Mélanges binaires miscibles

Le comportement des phases dans un mélange de polymères est très important à prendre en considération, car cela peut changer de nombreuses propriétés du matériau final. Les comportements de bases sont la miscibilité et l'immiscibilité. Il est aussi possible de trouver des miscibilités partielles. La miscibilité n'est que très rarement observée dans les mélanges polymériques. En effet, un des facteurs importants favorisant la miscibilité est la contribution de l'entropie de mélange, qui est plus faible pour des polymères ayant de grands poids moléculaires et donc moins de configurations possibles. Ainsi, la thermodynamique peut permettre de prédire la miscibilité des polymères. L'**Équation 2.1** ci-dessous représente la variation de l'énergie libre de Gibbs, où ΔG_m est l'énergie libre de mélange, ΔH_m est l'enthalpie de mélange, ΔS_m est l'entropie de mélange et T est la température en Kelvin.

$$\Delta G_m = \Delta H_m - T\Delta S_m \quad (2.1)$$

Pour qu'il y ait une miscibilité du mélange, le terme ΔG_m doit être inférieur à 0. Cependant, ce n'est pas suffisant pour affirmer une miscibilité. Ainsi, l'**Équation 2.2** montrant la dérivée seconde de l'énergie libre de Gibbs ($\partial^2 \Delta G_m$) par rapport à la composition ($\partial \phi_i^2$), à température et pression constantes, doit aussi être satisfaite.

$$\left(\frac{\partial^2 \Delta G_m}{\partial \phi_i^2} \right)_{T,P} > 0 \quad (2.2)$$

En effet, il peut y avoir une immiscibilité si l'**Équation 2.2** est inférieur à 0 et que $\Delta G_m < 0$. Pour des matériaux à faibles poids moléculaires, lorsque la température augmente, la miscibilité augmente aussi puisque le terme $T\Delta S_m$ augmente, ce qui conduit à des valeurs ΔG_m de plus en plus négatives. Cependant, pour des matériaux à hauts poids moléculaires, le terme $T\Delta S_m$ reste souvent petit et c'est donc le terme enthalpique qui sera important. En effet, s'il est négatif, il y a affinité entre les deux polymères, ce qui favorise également la miscibilité – par exemple, quand des liaisons

hydrogènes ou autres interactions assez fortes apparaissent. En contrepartie, si le terme d'enthalpie de mélange est positif (manque d'affinité entre les deux espèces, ce qui est souvent le cas avec les thermoplastiques traditionnels), cela favorise la séparation de phases. Le terme enthalpique joue donc un rôle important. De plus, on va observer le comportement inverse, soit que la miscibilité diminue avec l'augmentation de la température. On peut donc retrouver dans le premier cas une température de solution critique supérieure UCST et dans le deuxième cas une température de solution critique inférieure LCST. La **Figure 2.6** illustre ce comportement. (Paul, 1978; Robeson Lloyd, 2007; Xavier et al., 2016)

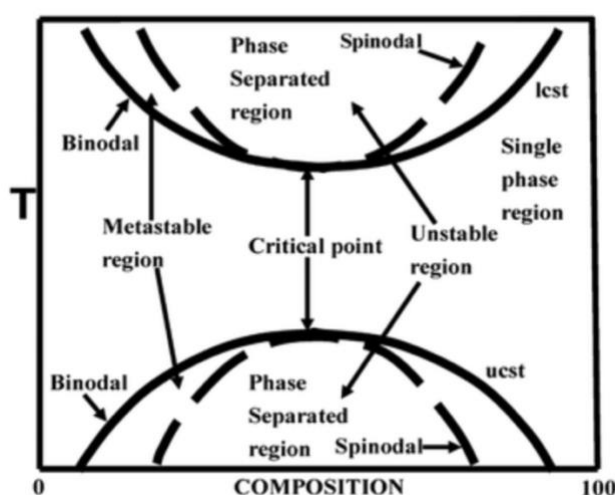


Figure 2.6 Diagramme de phase pour les mélanges de polymères. Tiré de Xavier et al. (2016). CC BY 3.0

Bien qu'en principe des modèles thermodynamiques permettent de prévoir une miscibilité du mélange, les méthodes expérimentales sont des voies plus simples et efficaces pour l'identifier. Il existe des méthodes microscopiques et physiques. Au niveau microscopique, il est possible d'observer la séparation de phase – par exemple, avec un microscope optique si les indices de réfractions sont suffisamment différents et que la cristallisation est inhibée. On peut également utiliser la microscopie électronique à transmission (MET) permettant une résolution de l'ordre de 0.1 nm, ou le microscope électronique à balayage (MEB) ayant une résolution de l'ordre de 1 nm. Une autre méthode est d'observer à l'œil nu le mélange. Si celui-ci est transparent, alors il est miscible (sauf si les indices de réfraction des deux matériaux sont semblables) - si en revanche il est opaque alors il est immiscible (si les matériaux sont amorphes). Ce n'est cependant pas la méthode la plus efficace, surtout si les indices de réfraction des phases sont proches et/ou que les

phases sont trop fines. (Pierrot, 2018) La dernière méthode optique est la méthode du point trouble qui consiste à mesurer la diffusion de la lumière provenant du mélange à une certaine composition. La température sera augmentée ou diminuée jusqu'à ce que la diffusion de la lumière indique une turbidité dans le mélange. Le tout sera répété pour toutes les compositions. Cela permet ensuite de tracer la *Cloud Point Curve* (CPC), comme le montre la **Figure 2.7**. Cette figure montre d'ailleurs un cas de USCT. En effet, cette courbe est comparable aux courbes de la **Figure 2.6**. (Lee, M. H. et al., 2001)

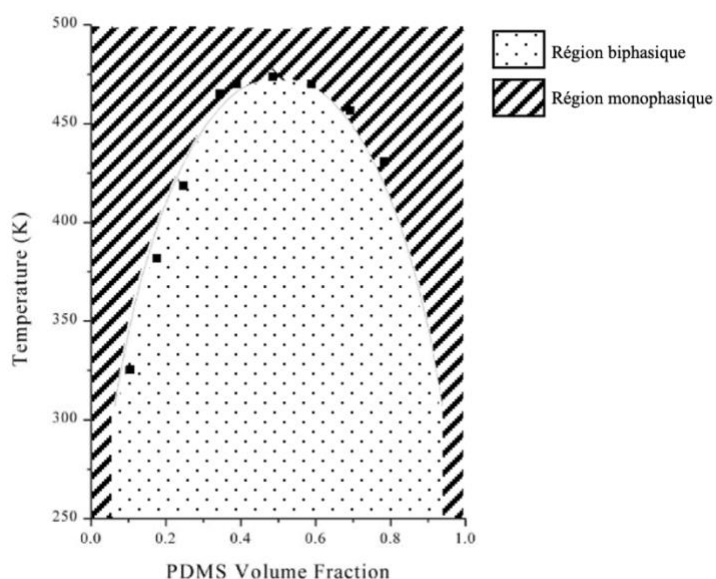


Figure 2.7 : *Cloud Point Curve* d'un mélange poly(isoprène) (PIP)/ poly(diméthyl siloxane) (PDMS). Adapté avec permission de Lee et al. (2001) ©2001 Elsevier Ltd.

Pour ce qui est des méthodes physiques, il est possible de regarder les spectres de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) et d'Infrarouge (IR) du mélange et des polymères seuls et de les comparer. La dernière méthode est l'évaluation de la température de transition vitreuse avec la technique de calorimétrie différentielle à balayage (DSC). Si le mélange est miscible, alors une seule température de transition vitreuse sera observée. À noter qu'il est nécessaire que les températures de transition vitreuse des polymères seuls ne soient pas trop proches, ou que la taille des domaines dispersés soit supérieure à 10 nm. (Pierrot, 2018)

2.3 Mélanges binaires non miscibles

D'un point de vue thermodynamique, il est alors plus fréquent d'obtenir des mélanges binaires immiscibles. Ces mélanges sont alors hétérogènes et il est important de comprendre leur morphologie et comment la contrôler. Voici des mélanges connus montrant une immiscibilité: polyéthylène (PE)/polystyrène (PS) (Li, J. & Favis, 2001) et polystyrène (PS)/polylactide (PLA). (Leung et al., 2009)

2.3.1 Les morphologies

Lors du processus de fusion et de mélange de polymères immiscibles à l'état fondu, différentes morphologies peuvent apparaître. Le contrôle de ces morphologies est important en fonction du produit final souhaité. La **Figure 2.8** montre les différentes morphologies que l'on peut obtenir et les propriétés qui leur sont associées.

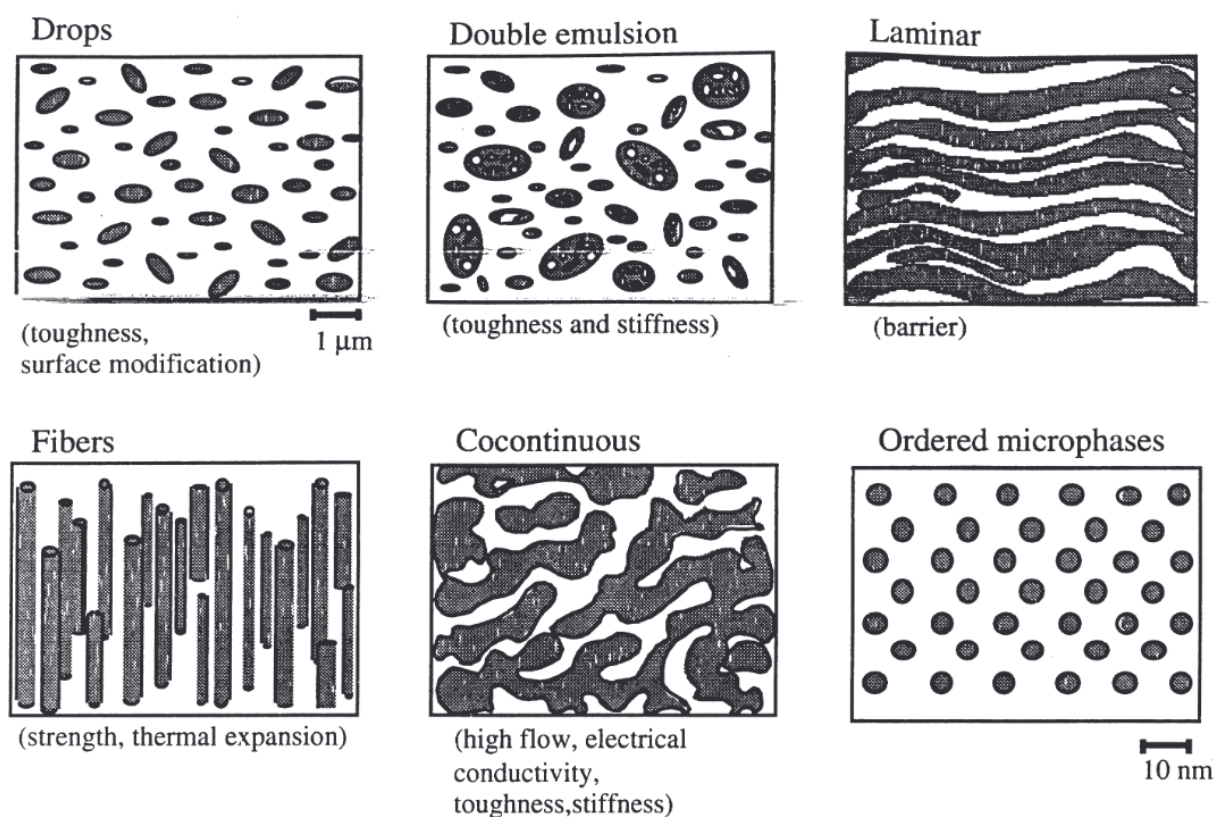


Figure 2.8: Représentations schématiques des morphologies observées suite aux mélanges de deux polymères immiscibles et les propriétés associées. Tiré de Macosko, (2000) © 2000 John Wiley and Sons, Inc. Reproduit avec permission

Les contraintes de cisaillement appliquées sur les polymères durant le processus de mélange par fusion vont transformer les granules en feuillets. La morphologie de la phase dispersée va alors passer de feuillets à fibres, puis de fibres à gouttelettes. Si le processus peut être arrêté à différents moments lors du processus de mélange, les morphologies présentées à la **Figure 2.8** peuvent être obtenues. (Macosko, 2000) Cependant, il est également possible de jouer sur la taille et la répartition spatiale des gouttelettes de la phase dispersée dans la matrice polymère en contrôlant les facteurs suivants : la composition, le rapport de viscosité, l'élasticité, le taux de cisaillement, la modification interfaciale, le temps de mélange et la température de mélange.

2.3.2 Facteurs contrôlant la morphologie

2.3.2.1 La composition

La composition du mélange est un facteur clé et important sur le contrôle de la morphologie. En effet, c'est en jouant principalement avec ce paramètre qu'il est possible de trouver la zone de co-continuité du mélange. La **Figure 2.9** illustre l'effet de la composition sur la morphologie. Au départ, la phase minoritaire B est la phase dispersée. On peut voir que les gouttelettes sont encapsulées par la matrice A. En augmentant la quantité de B, les gouttelettes grossissent jusqu'à fusionner, le seuil de percolation est ainsi atteint et on commence à former le réseau de B dans A. En augmentant davantage la quantité de B, la zone de co-continuité est atteinte, la morphologie est entièrement interconnectée, chaque phase est continue. Généralement, cette zone se situe autour de 50/50 %vol du mélange, mais il existe des mélanges pour lesquels ce n'est pas le cas et la variation de certains paramètres pourrait aussi affecter cette donnée, comme cela sera montré par la suite. Une fois la zone de co-continuité atteinte, il va y avoir une inversion de phase en augmentant encore la quantité de B. À ce point, la phase dispersée initialement B devient la matrice et la matrice A devient la phase dispersée. (Ravati & Favis, 2010)

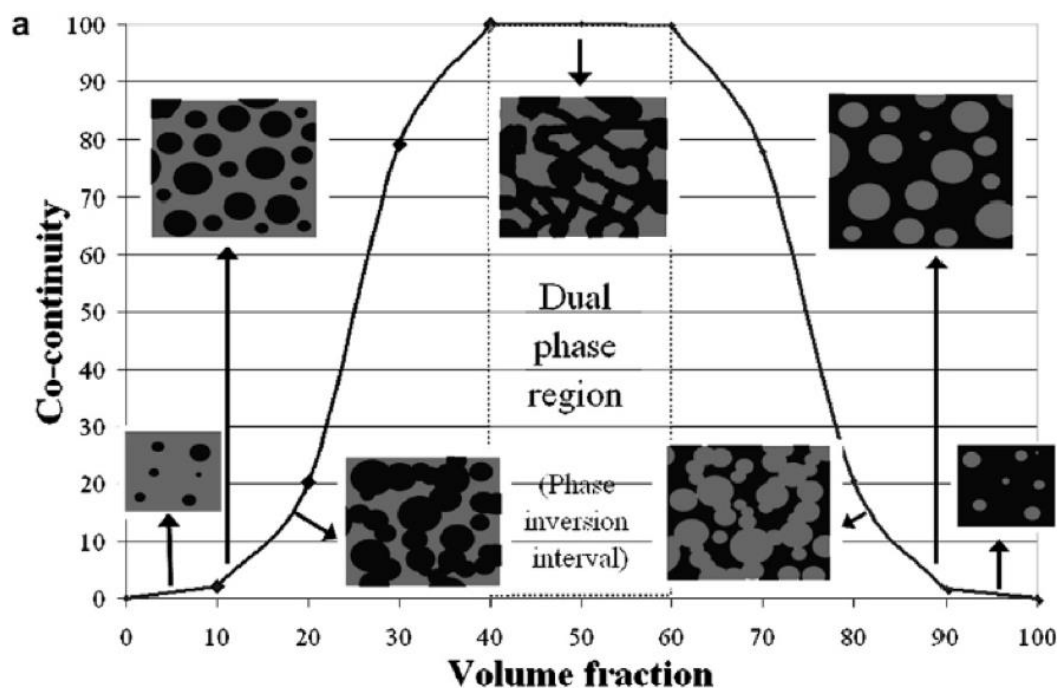


Figure 2.9 : Évolution de la morphologie selon la composition du mélange binaire immiscible. Adapté avec permission de Ravati & Favis (2010) © 2010 Elsevier Ltd.

2.3.2.2 Le rapport de viscosité

Le rapport de viscosité des polymères [(viscosité de la phase dispersée) / (viscosité de la matrice)] est un autre facteur important contrôlant la morphologie. En effet, la **Figure 2.10** montre que pour des rapports de viscosité (*Torque ratio*) supérieurs à 1, le diamètre des gouttelettes (d_n) augmente (illustré ici pour un système polycarbonate (PC)/ polypropylène (PP)). En dessous de 1, leur diamètre diminue jusqu'à un diamètre minimum pour un rapport de 0.25. À noter que ceci est pour un système newtonien avec un écoulement en cisaillement (Favis, 2000). Cette tendance est retrouvée dans la plupart des systèmes binaires immiscibles.

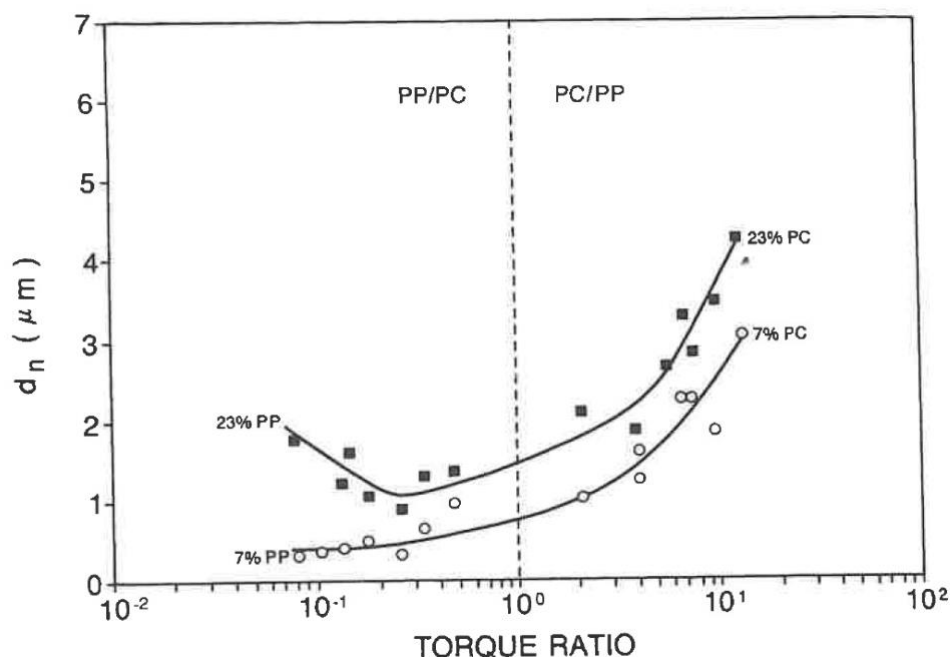


Figure 2.10 : Influence du rapport de viscosité (torque) sur le diamètre des gouttelettes (d_n) de la phase dispersée pour le mélange PP/PC. Tiré de Favis dans D. R. Paul and C. B. Bucknall (édit.) (2000) © 2000 John Wiley & Sons, Inc. Reproduit avec permission

De plus, le rapport de viscosité (TR) va affecter la zone de co-continuité. La Figure 2.11 fait la comparaison entre deux systèmes contenant du PC et du PP, la différence entre les systèmes étant la viscosité du PP, ce qui influence le rapport de viscosité. Ainsi, le mélange 1 (« blend 1 » : courbes A et C), a un rapport de viscosité supérieur au mélange 2 (« blend 2 » : courbes B et D) lorsque la concentration en polycarbonate (PC) est inférieure à 50 %. Si on regarde les courbes A (TR = 6.9) et B (TR = 2.1) on remarque que la zone de co-continuité sera déplacée vers la droite amenant même la zone au-delà de 50/50 %volumique. De plus, pour soutenir les propos cités plus haut, le rapport de viscosité est supérieur à 1 et on peut voir que les diamètres augmentent avec l'augmentation du rapport de viscosité. Pour les courbes C (TR = 0.15) et D (TR = 0.48), les rapports de viscosité sont inférieurs à 1, on voit que les diamètres sont plus grands lorsque le rapport de viscosité diminue. (Favis & Chalifoux, 1988)

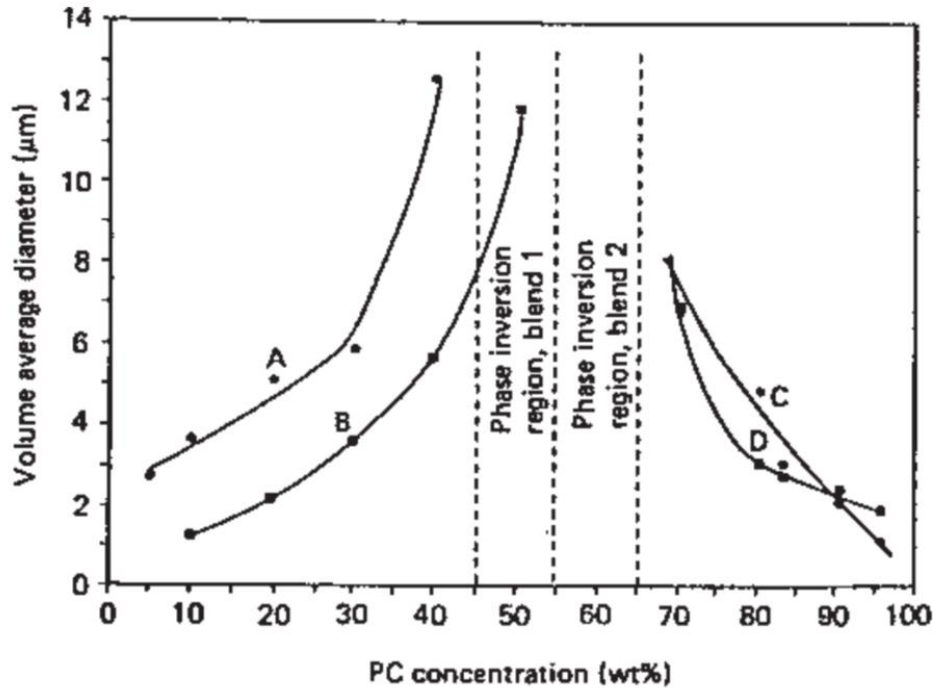


Figure 2.11 Effet du rapport de viscosité sur le diamètre des gouttelettes et la co-continuité sur le mélange PP/PC. Tiré de Favis & Chalifoux (1988) © 1988 Elsevier Ltd. Reproduit avec permission

2.3.2.3 L'élasticité

La viscosité n'est pas le seul paramètre important pour les mélanges de polymères. En effet, l'élasticité de ceux-ci doit aussi être prise en considération étant donné leur comportement viscoélastique. En effet, selon la comparaison de l'élasticité des polymères dans un mélange, deux morphologies peuvent apparaître : des stratifications ou des gouttes/fibres. D'après l'**Équation 2.3** de Van Oene, si l'élasticité de la phase dispersée $(N_2)_d$ est supérieure à l'élasticité de la matrice $(N_2)_m$, la phase dispersée formera des gouttes/fibres dans la matrice. Si l'élasticité de la phase dispersée $(N_2)_d$ est inférieure à l'élasticité de la matrice $(N_2)_m$, il y aura la formation de stratifications. Cependant, si la taille de gouttelettes d est inférieure à $1 \mu m$, il n'y aura pas de différence. À noter que σ_{eff} correspond à la tension interfaciale effective en conditions dynamique et σ à la tension interfaciale statique. (Favis, 2000)

$$\sigma_{eff} = \sigma + \frac{d}{12} [(N_2)_d - (N_2)_m] \quad (2.3)$$

Ainsi, la phase la plus élastique aura tendance à encapsuler la moins élastique. Si au contraire on ne prend pas en compte l'élasticité mais la viscosité, l'**Équation 2.4** permet de prédire la zone de co-continuité.

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} * \frac{\phi_1}{\phi_2} = 1 \quad (2.4)$$

où η_x est la viscosité du polymère x , et ϕ_x la fraction volumique du polymère x pour laquelle on obtient une morphologie co-continue. Selon cette équation si $\eta_1 = \eta_2$ alors la co-continuité est à 50/50% volumique. Cependant, après certaines expériences, la zone prédite ne correspondait pas à la zone trouvée expérimentalement. C'est ainsi que l'élasticité a été prise en compte dans l'**Équation 2.5**, dans laquelle G' est le module élastique et G'' est le module visqueux. Ainsi, il est possible de prédire la zone de co-continuité du mélange sans nécessairement tester toutes les compositions si les modules élastiques et visqueux sont connus. (Bourry & Favis, 1998)

$$\frac{\phi_1}{\phi_2} \frac{G_2''}{G_1''} \frac{G_1'}{G_2'} = 1 \quad (2.5)$$

Comme pour l'**Équation 2.4**, la validité de cette équation est également limitée, mais peut servir en pratique pour avoir un point de base pour trouver la zone de co-continuité expérimentalement.

2.3.2.4 Le taux de cisaillement

Le taux de cisaillement va également influencer la morphologie du mélange. En effet, selon l'équation de Taylor (**Équation 2.6**), où Ca le nombre capillaire est le rapport entre (η_m) la viscosité de la matrice, (R) le rayon d'une goutte, ($\dot{\gamma}$) le taux de cisaillement et (σ) la tension interfaciale, si le nombre capillaire est faible, alors les forces interfaciales dominent sur les forces visqueuses, ce qui permet d'obtenir une forme stable des gouttelettes. Si le nombre capillaire est supérieur à la valeur critique Ca_{crit} , représentant la valeur pour laquelle la déformation et la rupture des gouttelettes changent, il y aura rupture des gouttelettes due à leur instabilité, menant à un mélange dispersif. Enfin, si ce nombre capillaire est très élevé, les forces visqueuses vont dominer et les gouttelettes vont s'allonger sans rupture.

$$Ca = (\eta_m * R * \dot{\gamma}) / \sigma \quad (2.6)$$

Ainsi, pour de petits taux de cisaillement, la morphologie va avoir tendance à former des particules sphériques tandis qu'à de plus hauts taux de cisaillement, les particules vont plutôt être des fibres. (Favis, 2000)

2.3.2.5 Autres paramètres expérimentaux

D'autres paramètres sont à prendre en compte : les paramètres expérimentaux. Le temps de mélange, la vitesse de mélange et la température sont des paramètres clés à contrôler. Il est alors bon de se demander quels sont leurs effets sur la morphologie du mélange. Premièrement, si on est à l'état stationnaire dans le mélangeur et que la dégradation des matériaux est négligeable, le temps de mélange ne va avoir aucun effet sur la taille des gouttelettes, comme le montre la **Figure 2.12** pour le mélange PP/PC. (Favis, 1990)

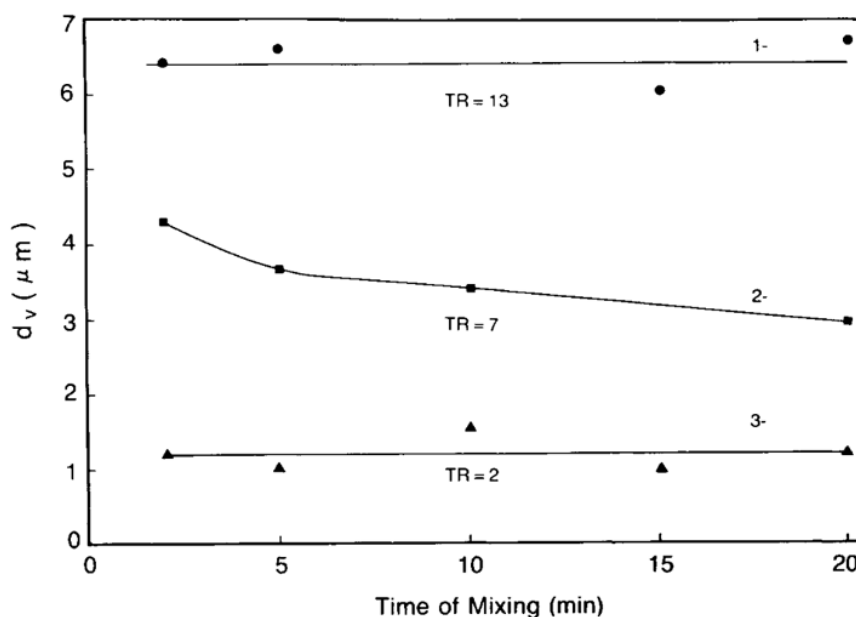


Figure 2.12 : Effet du temps de mélange sur la taille des gouttelettes sur le mélange PP/PC. Tiré de Favis (1990) © 1990 John Wiley & Sons, Inc. Reproduit avec permission.

Deuxièmement, la vitesse de mélange aura aussi peu d'effet sur la taille des gouttelettes comme le montre la **Figure 2.13** pour le mélange PP/PC. (Favis, 1990)

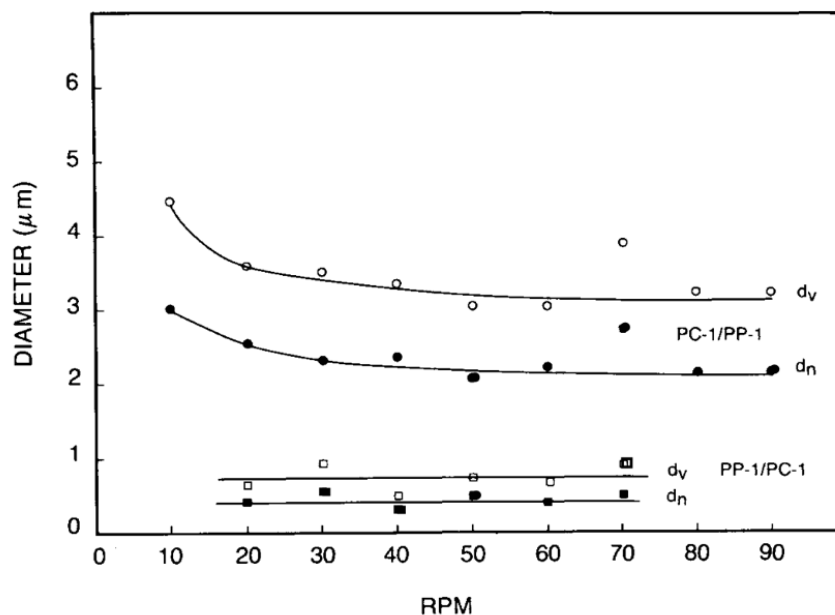


Figure 2.13 : Effet de la vitesse du mélange sur la taille des gouttelettes sur le mélange PP/PC.
Tiré de Favis (1990) © 1990 John Wiley & Sons, Inc. Reproduit avec permission.

Enfin, la température du mélange va quant à elle influencer la morphologie. En effet, plus la température sera élevée et plus la zone de co-continuité sera étroite et décalée vers la droite comme le montre la **Figure 2.14** pour le mélange polystyrène (PS) / poly(ϵ -caprolactone) (PCL). Ceci est dû au fait que la viscosité et l'élasticité des phases augmentent quand la température diminue et cela peut alors réduire le taux de coalescence lorsque la matrice devient très visqueuse. (Sarazin & Favis, 2005) Cela reste néanmoins un paramètre peu étudié et il se pourrait que ce ne soit pas une tendance générale pour tous les mélanges non miscibles.

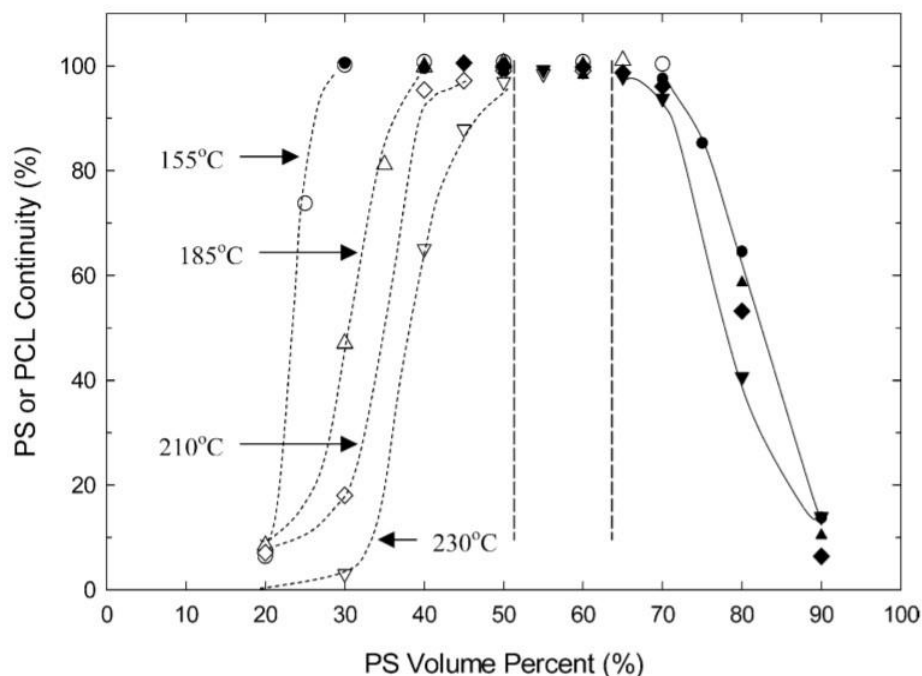


Figure 2.14 Effet de la température de mélange sur la zone de co-continuité pour le mélange PS/PCL. Tiré de Sarazin & Favis (2005) © 2005 Elsevier Ltd. Reproduit avec permission.

2.3.3 La co-continuité

La co-continuité est donc une morphologie particulière des mélanges binaires immiscibles. Pour cette morphologie, les phases sont entièrement continues et interconnectées. Il est alors possible d'extraire l'une des phases et d'obtenir une structure qui se tient - on obtient alors un réseau du polymère résiduel (un monolithe polymère) comprenant un réseau poreux continu. La composition du mélange montrant une morphologie co-continue peut être prédite *a priori* avec l'Équation 2.5. Cependant, si les modules d'élasticité et de viscosité ne sont pas connus, il est possible de tracer la courbe de co-continuité du mélange en calculant le pourcentage de continuité de chaque phase, sur une gamme de compositions étendue. Le pourcentage de co-continuité peut se calculer de manière simple suivant l'Équation 2.7 où $m_{e,i}$ est la masse initiale de l'échantillon, $m_{e,f}$ est la masse finale de l'échantillon, $m_{\text{mélange}}$ et la masse totale du mélange d'où provient l'échantillon et $m_{p1 \text{ dans le mélange}}$ est la masse du polymère 1 dans le mélange d'où provient l'échantillon.

$$\% \text{ continuité polymère 1 (P1)} = \frac{m_{e,i} - m_{e,f}}{m_{e,i}} * \frac{m_{\text{mélange}}}{m_{P1 \text{ dans le mélange}}} * 100 \quad (2.7)$$

Pour ce faire, il est nécessaire de peser un échantillon du mélange ($m_{e,i}$) obtenu puis d'extraire le polymère 1 sélectivement. Le solvant doit alors dissoudre uniquement le polymère 1 du mélange. Puis après extraction, il faut peser de nouveau l'échantillon ($m_{e,f}$). (Esquirol et al., 2014) Cette approche peut être répétée pour le polymère 2, avec un solvant sélectif approprié.

La matrice poreuse créée grâce au mélange co-continu peut être analysée pour trouver la taille moyenne des pores. Cette valeur est importante pour les applications médicales. En effet, selon l'application choisie, une taille de la porosité sera visée - par exemple en fonction de la taille des cellules utilisées pour coloniser le matériau. La microscopie électronique à balayage (MEB) a une résolution suffisante pour l'analyse de la porosité. Les images obtenues en microscopie vont permettre de calculer la surface spécifique interfaciale S selon l'**Équation 2.8**, où P est le périmètre d'interface entre le polymère et les pores, et A est la surface de la micrographie:

$$S = \frac{P}{A} \quad (2.8)$$

Suite à cela, il est alors possible de calculer de diamètre moyen des pores avec l'**Équation 2.9**, où $\emptyset_P$ est la fraction volumique des pores qui équivaut à la fraction volumique du polymère extrait : (Esquirol et al., 2014)

$$d = \frac{4\emptyset_P}{S} \quad (2.9)$$

Cette méthode permet d'avoir une bonne idée de la taille moyenne des pores, mais cela reste une visualisation 2D de la matrice. Ainsi, une autre méthode consiste à analyser la matrice en 3D. Pour ce faire, il est possible de passer l'échantillon poreux à la microtomographie à rayons X (microCT) ou tomodynamométrie. Grâce à une analyse d'image, il est ensuite possible de trouver la distribution en taille des pores ainsi que le diamètre moyen avec une meilleure précision et de façon plus réaliste. (Oliverio et al., 2022) La **Figure 2.15** montre des vues 2D et 3D en microCT d'un échantillon de PLA poreux recuit pendant 45 minutes.

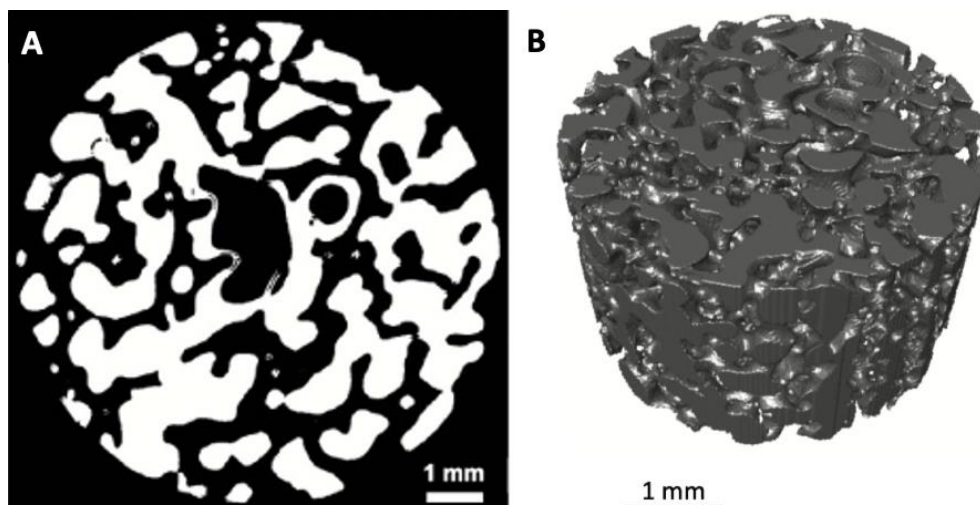


Figure 2.15 (A) Vue 2D en microCT d'un échantillon de PLA poreux recuit pendant 45 minutes. (B) Vue 3D en microCT d'un échantillon de PLA poreux recuit 45 minutes. Adapté de Delattre et al. (2024) CC BY 4.0.

2.3.4 Contrôle de la taille des pores

Selon l'application visée pour les hydrogels poreux, une certaine taille de pore peut être ciblée. Cependant, le mélange co-continu de base utilisé subséquent pour préparer les hydrogels poreux ne présente pas typiquement la taille requise. On pourrait ainsi vouloir des pores plus ou moins grands. Pour ajuster la taille des pores, deux techniques sont possibles.

2.3.4.1 Le recuit statique

Suivant la préparation du mélange à l'état fondu, il est possible d'appliquer un recuit statique sur les mélanges préparés - i.e. chauffer le mélange, sans action mécanique, à une température fixe au-delà des températures de transition vitreuse et de fusion, pour un certain temps. Cette technique, comme montre la **Figure 2.16** permet d'accroître la taille caractéristique de la morphologie co-continue, permettant ainsi d'obtenir ultimement des pores plus gros. La **Figure 2.16** illustre le cas du mélange PS/Polyéthylène (PE).

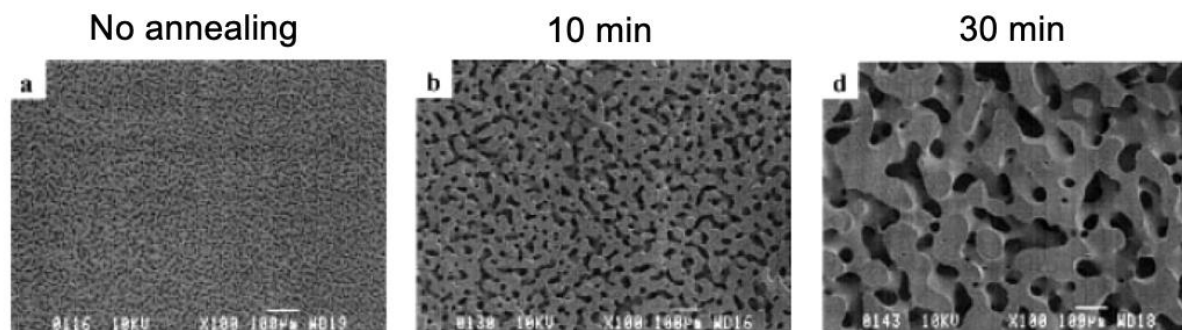


Figure 2.16 : Effet du temps de recuit sur la morphologie co-continue du mélange PS/PE 50/50 %vol. La barre d'échelle est de 100 μm . Adapté avec permission de Yuan & Favis (2005) ©2005 AIChE.

On remarque ainsi que plus le temps de recuit augmente, plus la morphologie grossit. Ici, les pores passent d'environ 10 μm à 50 μm en 30 minutes. Ce grossissement est provoqué par la tension interfaciale entre les deux polymères et est ralentie par la viscosité. (Yuan & Favis, 2005)

De plus, il a été démontré par Yuan et Favis (2005) que le grossissement de la morphologie des mélanges co-continus augmente linéairement avec le temps à une température donnée en suivant l'**Équation 2.10**, où r est le rayon des domaines, k est le taux de croissance des phases et t est le temps de recuit.

$$r = k * t \quad (2.10)$$

Cependant, cette équation est valable jusqu'à un certain temps de recuit. Après un certain temps, Abdolrasouli et al. (2021) ont démontré que le taux de croissance des phases diminue jusqu'à l'obtention d'une taille finale des phases, ce qui entraîne un arrêt de leur croissance. Cela peut s'expliquer par la diminution de l'énergie interfaciale, qui agit comme force motrice pour le grossissement des phases. (Haji Abdolrasouli et al., 2021b) La **Figure 2.17** montre l'évolution de la taille des pores pour le mélange PE/PEO en fonction du temps de recuit. On constate donc qu'effectivement, pour les temps de recuit courts, le grossissement des phases est linéaire, puis il tend vers un plateau. D'ailleurs, la ligne pointillée rouge montre la prédiction linéaire du grossissement. (Haji Abdolrasouli et al., 2021a)

Le comportement observé peut être expliqué en considérant la réduction de l'énergie interfaciale (comme force motrice) par le grossissement des phases et les effets de barrière cinétique liés à la viscosité des phases.

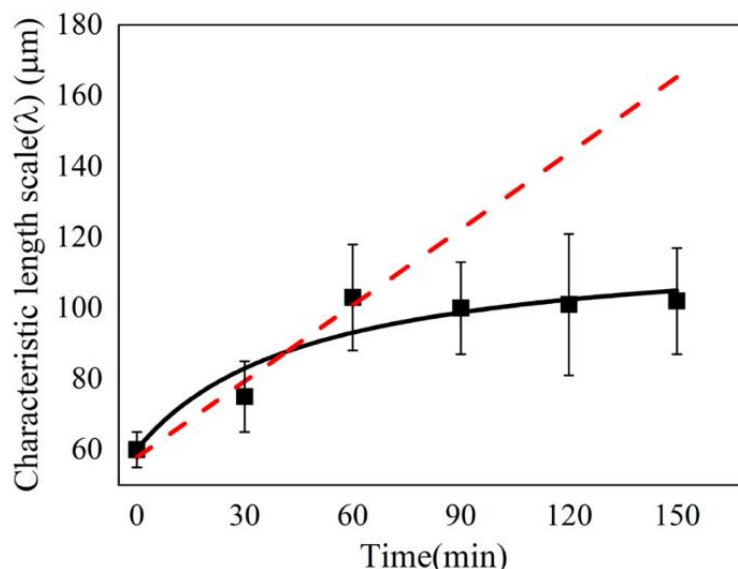


Figure 2.17 Évolution de la morphologie co-continue du mélange PE/PEO 50/50 %vol en fonction du temps de recuit à 180 °C. Tiré de Haji Abdolrasouli et al. (2021) ©2021 John Wiley & Sons, Inc.

Ce comportement a pu être observé pour plusieurs autres mélanges binaires co-continus tels que : PP/PS; polyéthylène haute densité (HDPE)/PS; PS/styrène acrylonitrile SAN30; PS/SAN20 ; PS/SAN10 ; polyéthylène basse densité (LDPE)/polylactide ramifié (b PLA). (Haji Abdolrasouli et al., 2021b).

Un autre exemple de système binaire immiscible co-continu qui montre que le temps de recuit fait grossir la morphologie est le système PS/Poly(l-lactide) (PLLA), comme le montre Yuan & Favis (2004). De plus, ils démontrent que la température de recuit a également un effet sur la morphologie. En effet, pour un même temps de recuit, plus la température est élevée, plus la morphologie grossit rapidement. La **Figure 2.18** montre l'évolution de la morphologie en fonction de la température de recuit pour le système PS/PLLA à 50/50 % volumique et pour un temps de recuit de 60 minutes. (Yuan & Favis, 2004)

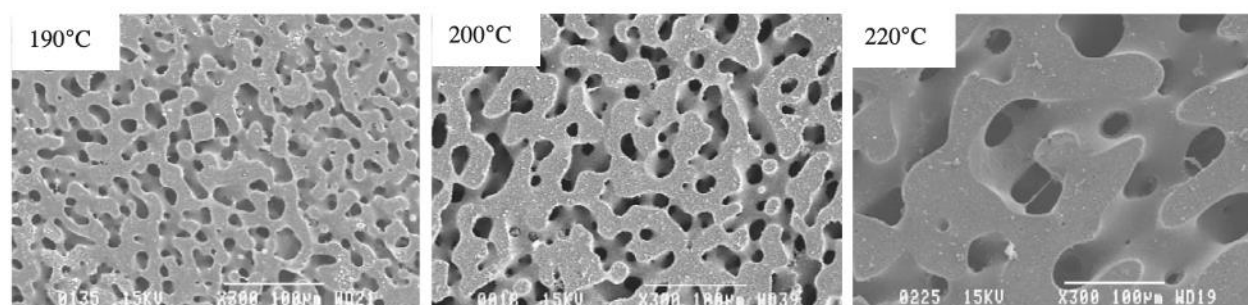


Figure 2.18 Effet de la température de recuit sur la morphologie co-continue du mélange PS/PLLA 50/50 %vol pour un recuit de 60 minutes. La barre d'échelle est de 100 μm . Adapté avec permission de Yuan & Favis (2004) ©2004 Elsevier Ltd.

2.3.4.2 Compatibilisation

La deuxième technique est la compatibilisation du mélange, qui consiste à introduire un copolymère durant le mélange. Le copolymère migre à l'interface, abaisse la tension interfaciale, et agit en plus comme barrière cinétique contre la coalescence et le grossissement des phases. Sans copolymère, les facteurs internes qui déterminent la zone de co-continuité sont la tension interfaciale et les propriétés visco-élastiques. Une tension interfaciale faible et une viscosité élevée des deux polymères vont favoriser la co-continuité. Avec l'ajout d'un copolymère, la zone de co-continuité sera généralement réduite, car cela permet de supprimer ou de réduire la coalescence des gouttelettes. Ainsi, la morphologie sera plus fine avec un copolymère comme le montre la **Figure 2.19** pour le système PLA/PS 60/40 %volumique. (Gu, L. et al., 2018)

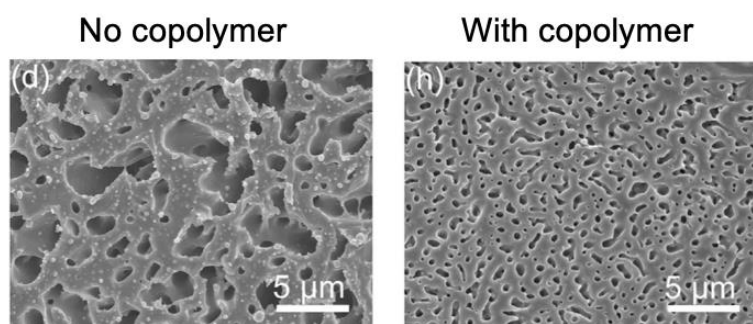


Figure 2.19 : Effet de l'ajout d'un copolymère sur la morphologie co-continue sur le système PLA/PS 60/40 %vol. Adapté avec permission de Gu et al. (2018) ©2018 Elsevier Ltd.

De plus, l'ajout d'un copolymère au mélange, lorsqu'un recuit est appliqué, ralentit le grossissement des phases. En effet, Yuan & Favis (2004) ont observé seulement une légère augmentation de la taille des pores au cours du processus de recuit pour leur mélange PS/PLLA contenant un copolymère. Un comportement similaire a été observé pour d'autres systèmes de mélanges présentant une structure co-continue. (Yuan & Favis, 2004) La **Figure 2.20** montre que la morphologie du PS/PLLA avec copolymère ne grossit que très peu, malgré un long temps de recuit appliqué sur le système.

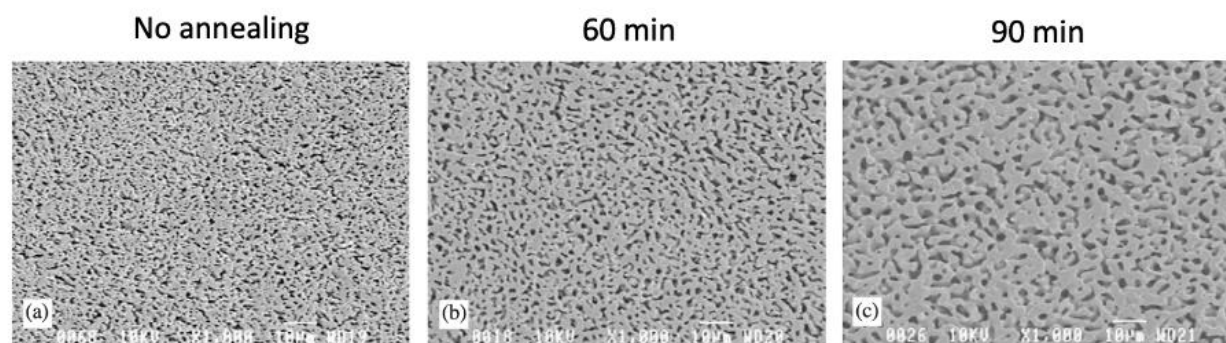


Figure 2.20 Effet de l'ajout d'un copolymère sur la morphologie co-continue du système PS/PLLA 50/50 %vol lors d'un recuit statique. La barre d'échelle est de 10 μ m. Adapté avec permission de Yuan & Favis (2004) ©2004 Elsevier Ltd.

2.4 Mélanges binaires immiscibles co-continus avec un polymère hydrosoluble

Les mélanges binaires avec au moins un des polymères hydrosolubles ont déjà fait l'objet de quelques projets de recherche. On peut par exemple noter le mélange alcool polyvinylique (PVA)/polyuréthane, qui présente un mélange miscible. (Wang, J. & Ye, 2015) En revanche, on s'intéresse plutôt aux mélanges immiscibles présentant une co-continuité. De ce côté, il existe aussi quelques systèmes déjà étudiés.

2.4.1 Mélanges retrouvés dans la littérature

Premièrement, on trouve différents mélanges avec du polyoxoéthylène (PEO). Pour leur travail de recherche sur l'analyse d'image pour la détection de zones interfaciales et de la co-continuité dans les mélanges de polymères, Galloway et al. (2002) ont utilisé un mélange PEO/PS présentant une co-continuité à 50/50 % volumique. Ce même mélange est aussi utilisé par Galloway et al. (2004) pour leurs travaux sur l'impact de la taille de l'échantillon pour la détection

de la co-continuité dans les mélanges de polymères, ainsi que par Galloway & Macosko (2004) dans leur comparaison de méthodes pour la détection de la co-continuité dans les mélanges de polymères. Pour ces projets, l'utilisation d'un polymère hydrosoluble dans le mélange est intéressante afin de pouvoir déterminer le degré de continuité des deux phases du système, puisque le PEO va s'extraire complètement à l'eau sans endommager la phase PS - le PS pourra quant à lui être extrait avec un solvant organique sans endommager la phase PEO, permettant ainsi de visualiser la co-continuité des deux phases facilement. (Galloway & Macosko, 2004; Galloway et al., 2002). Un autre système contenant du PEO a été exploité par Ghavidel Mehr et al. Ils utilisent le mélange PCL/PEO à 45/55 % volumique, montrant une co-continuité. En solubilisant le PEO à l'eau, ils obtiennent ainsi une matrice en PCL poreuse tridimensionnelle servant de support pour l'ingénierie tissulaire. Le PEO est utilisé dans leur cas pour son attrait très intéressant dans le monde médical, mais aussi pour éviter l'utilisation de solvants organiques toxiques et des températures de traitement élevées, puisque le PEO se solubilise dans l'eau à température ambiante. (Gravidel Mehr et al., 2014) De même, Wei et al. (2024) ont récemment utilisé le même système pour leur projet de régénération osseuse (Wei et al., 2024) La **Figure 2.21** montre la co-continuité des deux premiers systèmes présentés.

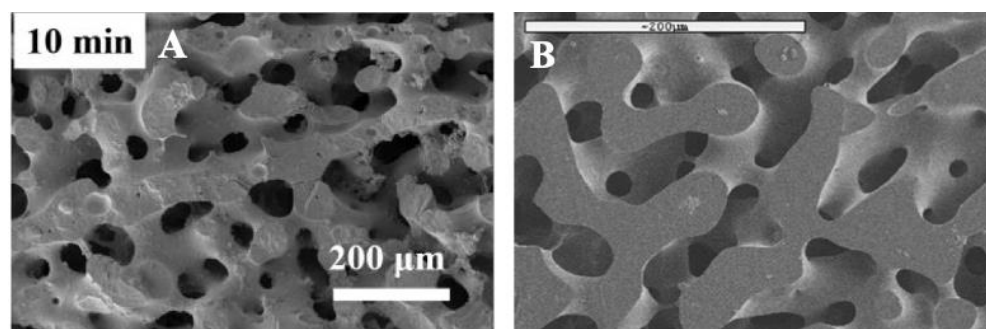


Figure 2.21 (A) Image SEM du mélange PEO/PS à 50/50 %vol. Adapté avec permission de Galloway et al. (2002) ©2002 Elsevier Ltd. (B) Image SEM du mélange PCL/PEO à 45/55 %vol ayant un recuit de 10 min. Adapté avec permission de Wei et al. (2024) ©2024 John Wiley & Sons, Inc.

On peut aussi retrouver dans la littérature des mélanges binaires co-continus avec du poly(alcool vinylique) (PVA). Kabbara et al. (2016) utilisent le mélange PCL/PVA à 70/30 % volumique pour la préparation d'organogels. En effet, leur moule en polymère poreux doit être

insoluble dans les solvants organiques courants afin de pouvoir former l'organogel ; ainsi, un moule en polymère soluble dans l'eau est une bonne option. Ils peuvent ainsi concevoir facilement les organogels poreux co-continus en dissolvant le moule polymère à l'eau à température ambiante. La **Figure 2.22** montre un organogel poreux à l'huile de canola et sa structure poreuse co-continue interne. (Kabbara et al., 2016)

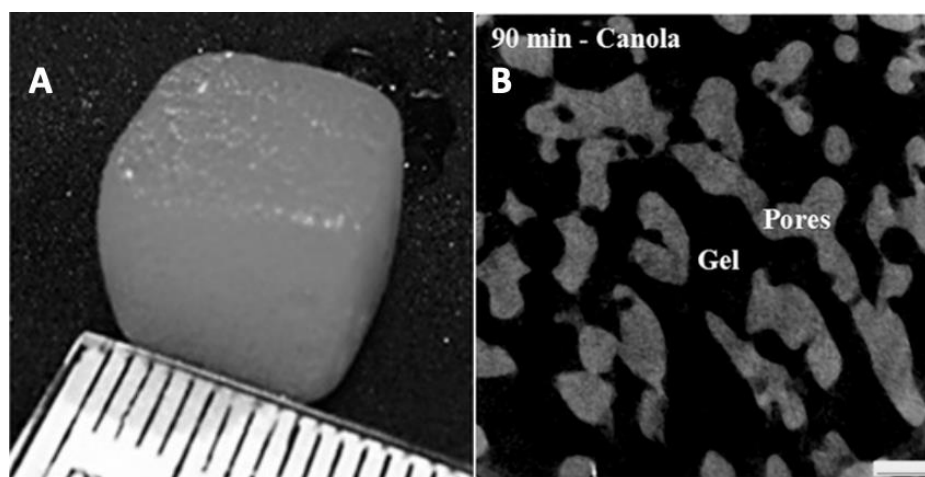


Figure 2.22 (A) Photographie d'un organogel poreux à l'huile de canola venant d'un moule recuit de 30 minutes. (B) Image microCT d'un organogel poreux à l'huile de canola venant d'un moule recuit de 90 minutes, la barre d'échelle représente 700 μm . Adapté avec permission de Kabbara et al. (2016) © 2016 John Wiley & Sons, Inc.

D'autres mélanges montrant une co-continuité peuvent également être trouvés récemment dans la littérature. Le mélange PLLA/PVA 70/30 % massique a été développé avec un copolymère pour le rendre plus résistant. Néanmoins, dans cette étude, il n'utilise pas la morphologie co-continue mais se contente de présenter le fait qu'elle existe sans ajout de copolymère. (Jiang et al., 2024) Le mélange PLLA/PVA 50/50 % volumique a été élaboré dans cette étude pour concevoir des matrices de PLLA à pores continus pour la régénération tissulaire, permettant ainsi l'utilisation de solvants non toxiques. La technique utilisée pour générer les pores continus est une combinaison de moussage par gaz et élimination de porogène, dans ce cas la phase de PVA. (Calore et al., 2023) Le mélange PP/PVA 50/50 % massique a été conçu car le PP et le PVA semblent intéressants pour être un précurseur respectueux de l'environnement pour la préparation de matériaux poreux. En effet, dans ce cas, le matériau poreux est constitué de PP et les pores sont créés par la dissolution du PVA dans l'eau, évitant ainsi l'utilisation de solvants organiques. (Yan et al., 2018)

En général, les polymères hydrosolubles utilisés dans ces mélanges et présentant une co-continuité se dissolvent dans l'eau à toutes les températures, et non à des températures spécifiques uniquement, ce qui pourrait empêcher leur utilisation pour la préparation d'hydrogels poreux.

2.4.2 L'alcool polyvinylique (PVA)

Le PVA est un polymère hydrosoluble, biocompatible, avec une faible toxicité et cytotoxicité, ce qui le rend très intéressant pour le domaine biomédical. (Vera Garci et al., 2023) La solubilité du PVA dans l'eau dépend de différents paramètres : le degré d'hydrolyse, le degré de polymérisation et le traitement thermique appliqué durant la mise en forme. Le degré d'hydrolyse est le paramètre ayant le plus d'impact sur la solubilité du PVA. En effet, si l'on regarde sa structure à la **Figure 2.23**, on peut voir des groupes acétate et hydroxyle lorsqu'il est partiellement hydrolysé, et des groupes hydroxyle uniquement lorsqu'il est complètement hydrolysé. Les groupes hydroxyles permettent la formation de liaisons hydrogène, ce qui ralentit la solubilité dans l'eau. En revanche, les groupes acétates permettent des interactions stériques, ce qui limite la formation de liaisons hydrogène et améliore donc la solubilité dans l'eau. Ainsi, lorsque l'on augmente le degré d'hydrolyse, jusqu'à un certain seuil (87 %), on augmente le nombre de groupes hydroxyles, favorisant ainsi la solubilité. Une fois ce seuil d'hydrolyse dépassé, la solubilité dans l'eau diminue de nouveau. Lorsque le PVA est entièrement hydrolysé, il aura une meilleure stabilité dans les solvants organiques, mais sa solubilité dans l'eau à température ambiante sera difficile ; il sera alors nécessaire de chauffer l'eau pour améliorer la solubilité. Ainsi, selon le degré d'hydrolyse du PVA, il aura une solubilité différente dans l'eau, et il faudra ajuster la température de l'eau pour obtenir une solubilisation maximale et rapide. La **Figure 2.24**, montre la solubilité du PVA à différentes températures en fonction du degré d'hydrolyse pour un même degré de polymérisation. On constate alors que pour des degrés d'hydrolyse inférieurs à 85% la PVA va se dissoudre peu importe la température. En revanche si en augmentant le degré d'hydrolyse, la solubilisation va dépendre de la température de l'eau. En effet, à 20 °C il va être de plus en plus difficile de dissoudre le PVA, tandis qu'à 60 °C, une plus grande portion de degrés d'hydrolyse vont pouvoir se dissoudre complètement. Ainsi, plus le degré d'hydrolyse du PVA est grand plus il faudra augmenter la température de l'eau pour pouvoir le dissoudre. (Byrne et al., 2021; Finch, 1983; Liu, Y., Fu, et al., 2023)

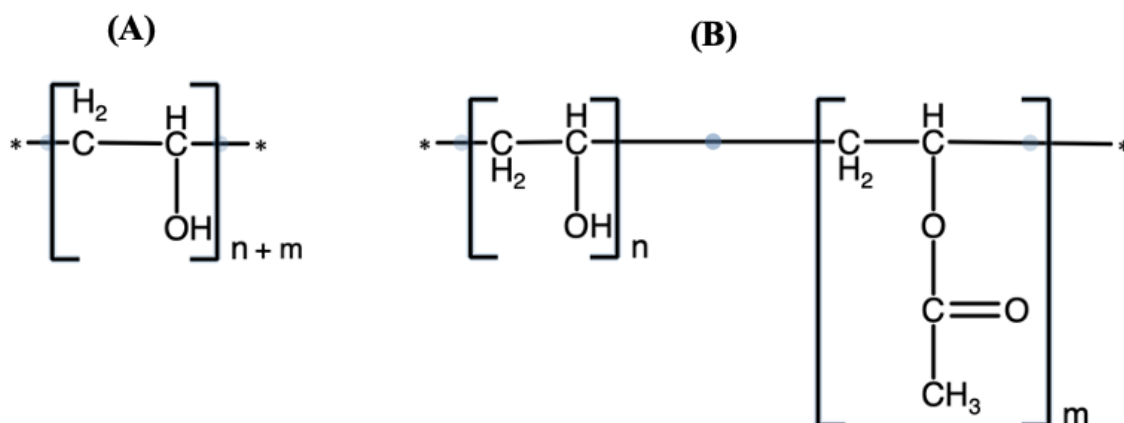


Figure 2.23 Structure du PVA : (A) complètement hydrolysé; (B) partiellement hydrolysé © 2024 par L. Delattre.

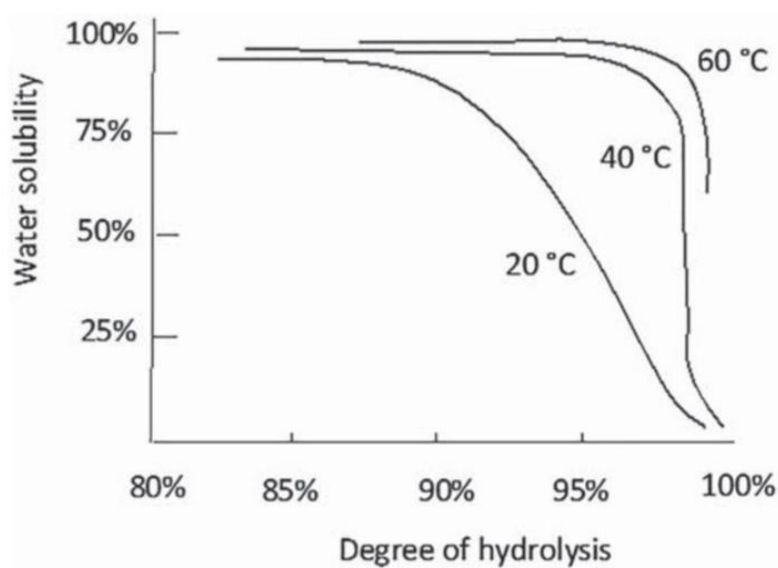


Figure 2.24 Relation entre de degré d'hydrolyse du PVA et sa solubilité dans l'eau ayant un degré de polymérisation de 1750. De Byrne et al. (2021). CC BY 4.0.

Ainsi, on comprend qu'il est possible de développer un mélange binaire de polymères immiscibles montrant une co-continuité, dont l'un des polymères est hydrosoluble. Des études ont déjà été menées pour obtenir des matrices de polymères à porosité continue, dont les pores ont été créés par la dissolution de la phase hydrosoluble. Cependant, dans ces travaux, c'est seulement la matrice poreuse en polymère non hydrosoluble qui était étudiée, et le moulage d'hydrogel n'a pas été testé. (Calore et al., 2023; Yan et al., 2018). Les seuls gels moulés dans des matrices en polymère hydrosoluble poreuse sont, pour le moment, des organogels, ce qui n'influence pas le moule hydrosoluble. (Kabbara et al., 2016). Ainsi, aucun travail ne recense à ce jour la préparation d'hydrogels macroporeux à l'aide de moules hydrosolubles. Le PVA semble toutefois être le meilleur matériau pour un tel projet, étant donné que, selon son hydrolyse, il peut se dissoudre dans l'eau à différentes températures, ce qui offre une plus grande flexibilité pour le moulage d'hydrogels, contrairement au PEO qui se dissout dans l'eau indépendamment de la température. (Byrne et al., 2021; Finch, 1983; Liu, Y., Fu, et al., 2023)

CHAPITRE 3 OBJECTIFS PRICIPAUX ET SPÉCIFIQUES

Il existe déjà des façons de concevoir des hydrogels macroporeux pour le domaine biomédical. Cependant, les techniques permettant d'avoir des pores co-continus nécessitent l'utilisation de solvants organiques. Les solvants organiques sont pourtant néfastes pour les tissus et cellules biologiques et il serait donc souhaitable que les hydrogels ne contiennent aucune trace de solvant organique. Ainsi, ce projet vise à permettre la préparation d'hydrogels n'ayant eu aucun contact avec des solvants organiques.

3.1 Objectif principal

Concevoir des moules polymères hydrosolubles ayant des pores ajustables en taille et interconnectés pour la préparation d'hydrogels macroporeux.

3.2 Objectifs spécifiques

1. Concevoir un mélange binaire co-continu de polymères, dont l'un est hydrosoluble.
2. Caractériser le mélange obtenu pour contrôler la taille des pores des hydrogels.
3. Développer une technique/procédure de gélification des hydrogels en contrôlant la solubilisation du moule hydrosoluble.
4. Vérifier que les hydrogels obtenus conservent les caractéristiques du moule poreux : continuité des pores, taille similaire des pores et forme du moule maintenue.

CHAPITRE 4 ARTICLE 1 THERMALLY SENSITIVE AND TUNABLE WATER SOLUBLE POLYMER MOLDS FOR THE PREPARATION OF POROUS HYDROGELS

Submitted article to journal *ACS Applied Polymer Materials* on December 16th 2024

Lisa Delattre,^a Arthur Lassus,^a Gregory De Crescenzo,^b Nathalie Faucheux,^c Marc-Antoine Lauzon,^c Benoît Paquette,^d Mélanie Girard^a and Nick Virgilio^{a*}

^a Research Center for High Performance Polymer and Composite Systems (CREPEC), Department of Chemical Engineering, Polytechnique Montréal, Montréal H3C 3A7, Québec, Canada.

^b Department of Chemical Engineering, Polytechnique Montréal, Montréal H3C 3A7, Québec, Canada.

^c Department of Chemical and Biotechnological Engineering, Faculty of Engineering, Université de Sherbrooke, Sherbrooke J1K 2R1, Sherbrooke, Québec, Canada.

^d Center for Research in Radiotherapy, Department of Nuclear Medicine and Radiobiology, Faculty of Medicine and Health Sciences, Université de Sherbrooke, Sherbrooke J1H 5N4, Québec, Canada.

* Corresponding author.

KEYWORDS: Polyvinyl alcohol, porous hydrogel, water soluble mold, co-continuity, multiphase polymer system

ABSTRACT

Porous hydrogels are highly sought-after biomaterials for regenerative medicine and 3D cell culture media. For such purposes, direct contact between the hydrogels and organic solvents during the synthesis step must be avoided as much as possible. In this work, porous water soluble molds, composed of a thermosensitive and melt-processable, i.e. thermoplastic, polyvinyl alcohol (PVA), are used to prepare porous hydrogels. The process offers a high level of control over the porosity features, including full pore interconnectivity and tunable average pore size from nearly 75 μm to 200 μm – the typically targeted range for cell growth in a 3D scaffold. The porous PVA molds are prepared by the sequential process of (1) melt-extrusion of a polystyrene (PS)/PVA co-continuous blend, a scalable industrial process, (2) quiescent annealing to tune the morphology, (3) and selective extraction of the PS phase. The gelling solution is injected in the PVA molds at low temperature – i.e. $< 50\text{ }^{\circ}\text{C}$ when the molds are insoluble. Once the solution has gelled, the PVA molds are extracted in hot water – i.e. $> 50\text{ }^{\circ}\text{C}$, over which the molds are fully water soluble, yielding porous hydrogels with nearly comparable macroscopic and microscopic features to the PVA molds, as revealed by electron microscopy and microcomputed tomography. The approach is demonstrated herein with sodium alginate hydrogels, and could be extended to other types of gel chemistries.

4.1 Introduction

Porous hydrogels combine a variety of sought-after properties in fields of applications such as regenerative medicine,(Gopalakrishnan et al., 2019) 3D cell culture media (e.g. for drug screening),(Brancato et al., 2020; Habanjar et al., 2021) monoliths for heterogeneous catalysis,(Gancheva & Virgilio, 2018) actuators,(Zhao et al., 2021) water filtration,(Guo & Yu, 2021) cancer treatment,(Safi et al., 2022) etc. They are soft, easily deformable and display viscoelastic properties comparable to tissues. They offer a 3D environment reminiscent of the extracellular matrix for cell culture,(Ho et al., 2022) high permeability allowing diffusion of molecular compounds in and out of the gel phase, macropores allowing the flow of liquids in and out of the material and the migration of cells deep within the material, in addition to the efficient transport of oxygen, nutrients and wastes for 3D cell culture. Finally, they offer a variety of functional groups available for (bio)functionalization,(Ma et al., 2022) and they are capable of absorbing species such as heavy metallic ions,(Zhang, R. et al., 2022) and immobilizing catalytic nanoparticles.(Gancheva & Virgilio, 2018)

All of these applications require a finely tuned network of interconnected macropores characterized by their size distribution (and average size), volume fraction, specific surface, and surface functionality, in addition to the hydrogel chemistry itself. The variety of applications means that wide ranges of porosity values and gel chemistries are necessary to meet the constraints associated with each application. As a result, several techniques exist to synthesize porous hydrogels: templating based on the dissolution of a salt or porogen phase (i.e. NaCl particulates, gelatin microspheres) embedded in the hydrogel during synthesis;(Dadsetan et al., 2008; Delaney et al., 2010) gas foaming, creating cavities in the hydrogel by a chemical or physical process generating gas bubbles;(Annabi et al., 2011; Tang et al., 2020) cryogelation involving phase separation of a liquid phase containing a gelling agent, and ice crystals forming upon cooling of the material;(Inci et al., 2013; Savina et al., 2021) the constantly expanding families of 3D printing,(Morris et al., 2017) and stereolithographic techniques,(Chan et al., 2012) to name a few.

Porous hydrogels prepared with porous polymer molds obtained from melt-processed co-continuous polymer blends belong to the porogen templating technique.(Esquirol et al., 2014) Briefly, a co-continuous polymer blend, composed of intertwined and fully continuous phases of two immiscible polymers, is prepared by melt-processing (i.e. melt-extrusion or equivalent melt-

processing technique).(Pötschke & Paul, 2003) Following processing, quiescent annealing over the glass/melting temperature can be used to let the morphology coarsen to the desired length scale – typically from a few μm , to nearly 1000 μm .(Yuan & Favis, 2005) Next, the selective extraction of a polymer phase with a solvent yields porous polymer monoliths. These monoliths are filled with a gelling solution and after gelation, the polymer mold is extracted with a selective solvent – most often an organic solvent.(Esquirol et al., 2014) Overall, this method yields porous hydrogels with fully interconnected pores, with a volume fraction typically ranging from 40% to 60%, and an average pore size ranging from a few μm to nearly 600 μm and possibly more. Finally, this technique is compatible with numerous gel chemistries.(Kabbara et al., 2016; Oliverio et al., 2022; Safi et al., 2022)

As explained, the last extraction step typically uses an organic solvent to remove the polymer mold (e.g. chloroform, toluene, etc.). While these solvents do not necessarily pose a particular problem for certain types of applications (e.g. catalysis), they do pose issues when it comes to biomaterials and their applications, such as cell culture or regenerative medicine, if traces of solvent are present within the macroporous gels. In all cases, reducing the use of organic solvents is always desirable for health and processing concerns. An alternative to avoid the use of organic solvents would be to use water-soluble polymer molds. Kabbara et al. successfully prepared porous organogels (an organic solvent immobilized by a organogelator) using polyvinyl alcohol (PVA) molds prepared from PVA/poly(ϵ -caprolactone) (PCL) co-continuous melt-processed blends. Since PVA is a water soluble polymer, they were able to use water to remove the porous PVA mold after gelation, avoiding direct contact of the organogel with an organic solvent.(Kabbara et al., 2016)

Organogels are oil- or solvent based gels which do not readily dissolve PVA when in direct contact. However, it would be desirable to use a similar approach to produce hydrogels, which are water-based gels – without provoking the immediate dissolution of the PVA mold upon contact with the aqueous solution containing the gelling agent.

The main objective of this work was to produce macroporous hydrogels with water-soluble molds, by retarding or inhibiting the dissolution of the PVA molds until gelation has occurred – i.e. by using a temperature sensitive water soluble polymer. PVA remains a good option since its solubility in water, as a function of temperature, can be tuned by adjusting the level of hydrolysis

of polyvinyl acetate (Finch, 1983; Liu, Y., Fu, et al., 2023) – a higher level of hydrolysis typically yielding less soluble PVA due to stronger interchain hydrogen bonding. In addition, the selected grade of PVA has to be melt-processable (i.e. a thermoplastic PVA) to prepare a co-continuous blend with a complementary immiscible polymer. The strategy would be next to inject first the gelling solution in the PVA mold in a range of temperature over which the PVA is insoluble in water, and next rapidly change the temperature in a range over which the PVA is soluble, to let the mold dissolve, yielding porous hydrogels without any contact with an organic solvent.

4.2 Experimental section

4.2.1 Materials and methods

4.2.1.1 Materials

Polystyrene (PS, pellet form) MC3650 was purchased from Americas Styrenics. Polyvinyl alcohol (PVA, pellet form) Mowiflex™ M05 was obtained from Kuraray America Inc. Chloroform of HPLC grade was obtained from Fisher Chemical. Anhydrous ethanol was purchased from Greenfield Global Les Alcools de Commerce. Sodium alginate (SA, grade IL-6 G) was obtained from the Kimica Corporation (M/G ratio = 0.5, η = 30–60 mPa s (1%) (from supplier), M_n = 67,000 $\pm$ 8000 g/mol (Solano et al., 2021)). Calcium chloride (100035-04-8) was purchased from Sigma-Aldrich.

4.2.1.2 Density measurements

Density measurements were realized with a PvT-100 instrument from ThermoHaake. Briefly, 0.8-1 g of PVA or PS was first introduced in the instrument. Then, three pressure values were applied to the materials: 150, 225, and 300 bar. For each pressure, the temperature was varied from 220 °C to 20 °C, at an increment ΔT of 50 °C and at a cooling rate of 25 °C/min. Throughout the process, the instrument measures the volume occupied by the material. From the measured P-V-T curves, the density of the material at atmospheric pressure at both 20 °C and 210 °C were obtained by extrapolation. In this work, three tests were conducted for each material to obtain the average density values reported in **Tableau 4.1**.

Table 4.1 Density and thermal properties of PS and PVA.

Polymers	T_g^a [°C]	T_m^a [°C]	$\rho(20^\circ\text{C})^b$ [g/cm ³]	$\rho(210^\circ\text{C})^b$ [g/cm ³]	$ \eta^* (220^\circ\text{C})^c$ [Pa/s]
PVA	49 45*	191 195*	1.23 ± 0.01 0.6-0.9*	1.14 ± 0.01	543 ± 34
PS	95 94*	-	1.01 ± 0.01 1.04*	0.93 ± 0.01	1224 ± 22

* Supplier data

^a Measured by DSC^b Measured by PvT^c Measured by rheometry

4.2.1.3 Differential scanning calorimetry

The thermal properties of the materials including the glass transition temperature (T_g), melting temperature (T_m) and crystallization temperature (T_c), were measured by differential scanning calorimetry (DSC) using a TA Instruments Q2000 instrument. The following protocol was employed: (1) equilibrium at -90 °C; (2) heating from -90 °C to 240 °C at 10 °C/min; (3) cooling from 240 °C to -90 °C at 10 °C/min; (4) second heating from -90 °C to 240 °C at 10 °C/min. Following this protocol, the thermograms were analyzed using the TA Universal Analysis software. The binary blends were also analyzed to assess the miscibility of the polymers by observing shifts in the T_g values as a function of composition. The thermal properties of the pure materials are presented in Tableau 4.1.

4.2.1.4 Rheology

For the rheological tests, discs with a diameter of 25 mm and a thickness of 2 mm were prepared from neat PS and PVA pellets using a hot press. The polymers were initially dried for 24 h at 70 °C under vacuum. The pellets were placed in a mold and pressed at 5000 lbs for 5 min at 190 °C for PS, and 210 °C for PVA. Three types of rheological tests were conducted for each polymer: (1) amplitude sweep (to determine the linear viscoelastic region), (2) time sweep (stability

of the material at high temperature, **Figure 4.8**), and (3) frequency sweep (to measure the complex viscosity $|\eta^*|$). These tests were realized using a MCR 302 stress-controlled rheometer from Anton Paar equipped with a CTD 450 oven and a 25 mm diameter parallel plate geometry, at 220 °C under nitrogen. Amplitude sweep tests were realized at 10 rad/s from $\gamma_0 = 0.01\%$ to 700%. Frequency sweeps were realized at $\gamma_0 = 1\%$: (1) for PVA, from 1 rad/s to 100 rad/s and from 0.5 rad/s to 100 rad/s due to polymer instability at 220 °C; (2) for PS, from 0.1 rad/s to 100 rad/s. Zero-shear viscosities were determined using the Carreau-Yasuda model. Each test was performed three times for each polymer. The validity of the Cox-Merz rule was assumed to be valid for both tested polymers.

4.2.2 Solubility of PVA

The solubility of PVA in water as a function of time and temperature was evaluated at 10 °C, 23 °C, 50 °C, and 70 °C. For each temperature, three samples were weighed every 30 min over a period of 8 h. The mass variation was calculated according to **Equation 4.1**, where $m(t)$ is the mass of the sample at time t , and $m(0)$ is the initial mass of the sample:

$$p = \frac{m(t) - m(0)}{m(0)} \quad (4.1)$$

4.2.3 Interfacial tension measurement

The interfacial tension between the two polymers was measured using the breaking thread method. PS films were prepared by pressing pellets at 190 °C and 10 000 lbs in a heated press during 5 min. The film thickness was measured in-between 100 and 300 μm . PVA filaments were manually prepared by heating a pellet at approx. 220 °C, then by pulling fine filaments with tweezers - the filaments had a diameter of 25 to 55 μm . Next, a PVA filament was sandwiched between two PS films and placed on a glass microscope slide, then covered with a glass coverslip. This assembly was inserted into a Mettler FP-82HT hot stage controlled by a Mettler FP-90 Central Processor at 220 °C. The periodic sinusoidal deformation of the PVA filament was monitored with an optical microscope (Nikon instrument) connected to a computer for image capture via a Coreco Oculus image analysis system and Visilog 4.1.3 software. The images were subsequently processed using

the ImageJ 1.53 software to measure the deformation amplitude of both minimum and maximum filament diameters as a function of time, and the wavelength associated to the periodic deformation. According to Tomotika's theory, the interfacial tension (σ) is calculated using **Equations 4.2, 4.3, and 4.4**:

$$\sigma = \frac{q\eta_{PS}D_0}{\Omega(\lambda, p)} \quad (4.2)$$

$$q = \frac{\ln\left(\frac{\alpha(t)}{\alpha_0}\right)}{t} \quad (4.3)$$

$$\frac{\alpha(t)}{\alpha_0} = \frac{D_{max}(t) - D_{min}(t)}{D_{max}(t_0) - D_{min}(t_0)} \quad (4.4)$$

where η_{PS} is the zero-shear viscosity of PS, D_0 is the initial diameter of the PVA filament, and $\Omega(\lambda, p)$ is a function tabulated in Chappellear's article, (Chappellear, 1964) where λ is the average wavelength, and p is the ratio between the zero-shear viscosity of PS and the zero-shear viscosity of PVA. $D_{max}(t)$ and $D_{min}(t)$ represent the average maximum and minimum filament diameters at time t , respectively. The value of q used to calculate the interfacial tension is the average of three values for each time t . $\alpha(t)$ is the difference between the maximum and minimum diameters at time t , and α_0 is the initial difference at a chose time t_0 .

4.2.4 Blend preparation

4.2.4.1 Internal mixer

Binary blends of PS/PVA were prepared over the whole composition spectrum using an internal mixer Thermohaake Rheodrive 7kW coupled with the Rheomix 600 mixing chamber. First, the pure polymers were dried under vacuum at 70 °C for 24 h. Then, the desired amounts of polymers were introduced into the internal mixer, which was set at a temperature of 210 °C (blend temperature reached approx. 216 °C during mixing due to viscous heat dissipation). The total polymer volume was 50 cm³. Mixing was carried out for 6 min under nitrogen at 50 rpm. The blends were rapidly quenched in a bath of ethanol and dry ice to freeze-in the morphology.

4.2.4.2 Melt-extrusion

Melt-extrusion was next employed to prepare larger quantities of PVA molds with nearly identical characteristics.(Delattre et al., 2024; Parès et al., 2024) The PS/PVA blend (61/39 vol%) was extruded using an AG 34 mm Leistritz co-rotating twin-screw extruder. The pure materials were first dried under vacuum at 70 °C for 24 h. Subsequently, 4 kg of the blend was prepared, consisting in 2.1 kg of PS and 1.7 kg of PVA. The mixed granules were introduced into the twin-screw extruder using a feeder at a rate of 7 kg/h and a screw speed of 100 rpm. A temperature profile of 210 °C was maintained throughout the extruder. The filament exiting the extruder was cooled in air and then cut into pellets using a pelletizer (Scheer Bay SB50).

Blend pellets were then processed with a single-screw extruder (Killion KN-150). The temperature profile along the extruder was set at 160 °C – 185 °C – 210 °C, with a screw speed of 16 rpm. An extrusion die with a diameter of 11/16 in (17.5 mm) was used to extrude polymer blend rods with a final diameter ranging from 18 to 25 mm. As the rods are shaped by gravity upon exiting the die, they are not uniform along their entire length; the leading section has a larger diameter than the trailing section. Upon exiting the extruder, the rods were rapidly quenched in a bath of ethanol and dry ice to freeze-in the morphology.

4.2.4.3 Quiescent annealing

Annealing of co-continuous blends was performed using a hot press. The samples were first wrapped in aluminum foil and then placed between the heated plates of the press, which were maintained at 210 °C. A slight pressure was applied to ensure uniform heating. The samples were kept in the press for 10, 20, 30, 45, or 60 min, depending on the desired annealing time. Finally, the samples were quenched in a bath of ethanol and dry ice to freeze-in the morphology.

4.2.5 Characterization of blends

4.2.5.1 Continuity of polymer phases by gravimetry

Gravimetric analysis was employed to measure the continuity of each polymer phase in the blends – for blends prepared both in the internal mixer and by melt-extrusion, right after processing or after quiescent annealing. First, blend pieces were randomly cut into cubes from different

locations. The cubes side dimensions did not exceed 2 cm. Each sample was weighed before being plunged in either chloroform (to extract the PS phase) or hot water at 70 °C (to extract the PVA phase). The extraction lasted for 2 weeks, with solvent changes every 2 days. Afterwards, the samples were dried under vacuum for 24 h at 70 °C, and then reweighed. The PS and PVA continuities were calculated using **Equations 4.5 and 4.6**:

$$PS \text{ continuity } (\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} * \frac{m_{blend}}{m_{PS \text{ in blend}}} * 100 \text{ (for chloroform extraction)} \quad (4.5)$$

$$PVA \text{ continuity } (\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} * \frac{m_{blend}}{m_{PVA \text{ in blend}}} * 100 \text{ (for water extraction)} \quad (4.6)$$

where m_i is the initial mass of the sample, m_f is the final mass of the sample, m_{blend} is the total mass of the blend from which the sample was taken, $m_{PS \text{ in blend}}$ is the mass of PS in the blend, and $m_{PVA \text{ in blend}}$ is the mass of PVA in the blend. At least three samples per blend and per solvent extraction were analyzed.

4.2.5.2 Microstructural analysis by scanning electron microscopy

Microstructural analysis of the blends was realized by scanning electron microscopy (SEM, HITACHI Regulus 8220). Samples were first prepared by microtomy at room temperature (Leica RM2165) to obtain a smooth surface. The samples were then plunged in either chloroform to extract the PS phase and observe the remaining PVA phase, or in hot water at 70 °C to extract the PVA and observe the remaining PS phase. The extraction process lasted for 2 weeks, with solvent change every 2 days. Following extraction, the samples were dried under vacuum for 24 h at 70 °C. To complete sample preparation, an 8 nm thick carbon layer was deposited on the surface using a Leica EM ACE600 instrument. Finally, the samples were observed by SEM at an accelerating voltage of 1 kV and a current of 10 μ A.

4.2.5.3 Microstructural analysis by X-ray microtomography

Porosity characterization of co-continuous blends (right after processing or after annealing) was also performed by X-ray microtomography (microCT) with a Zeiss Xradia 520 Versa system. Samples from the internal mixer were cut into cubes with sides not exceeding 2 cm, using a circular

saw. Melt-extruded blend samples were machined into cylinders (diameter = 5 mm, height = 6 mm) using a computerized numerical control (CNC) instrument (Genmitsu 3020-PRO MAX Router). The samples were then plunged in chloroform for 2 weeks to extract all of the polystyrene, with the solvent being replaced every 2 days. Afterward, they were dried under vacuum at 70 °C for 24 h. Finally, the samples were analyzed by microCT at 50 kV, 4 W, and 70 μ A. A noise reduction filter (NRF) was applied to the images to remove ring artifacts using the Scout-and-Scan Control System Reconstructor software.

Porosity analysis using the microCT images was realized next using the Dragonfly software. Once the images are imported into the software, the first step is to adjust the contrast to obtain a black and white reconstruction, where the pores appear in black and the PVA phase (or gel phase) in white, allowing for the clear distinction between the two phases. Next, the PVA or gel regions are isolated to generate specific masks, and their inverse masks are created to obtain a specific mask for the pores. A cylindrical or cubic cut, depending on the sample shape, is then performed to remove the sample holder, external elements, and aberrant parts of the sample. Finally, an integrated algorithm is used to determine the average domain size and size distributions. It is also possible to calculate the specific pore surface area by taking the total pore surface area and dividing it by the sample volume. These values are also obtained using an integrated algorithm.

4.2.6 Preparation and characterization of porous gels

2% or 4% (w/v) SA aqueous solutions were cooled at 2 °C using an ice bath. Next, porous PVA molds prepared from PS/PVA co-continuous blends (without or with prior annealing) were plunged in the cold solution and placed in a custom-built injection system applying pressure-vacuum cycles. Three vacuum cycles were applied, after which the mold was quickly removed, and the excess solution absorbed with paper. The filled molds were then placed in a 4% (w/v) CaCl_2 solution at 5 °C overnight. Finally, the filled molds were transferred to a 4% (w/v) CaCl_2 solution at 70 °C to extract all of the PVA. The solution was replaced when it was fully turbid. The extraction time varied from 20 min to one day, depending on the PVA mold pore size and the accessibility of the PVA within the gel phase. The resulting porous gels were then placed back into a 4% (w/v) CaCl_2 solution at room temperature. The 4% (w/v) SA porous gels were subsequently analyzed by microCT, following the procedure described in **Section 4.2.5.3**.

4.3 Results

4.3.1 PVA solubility as a function of temperature

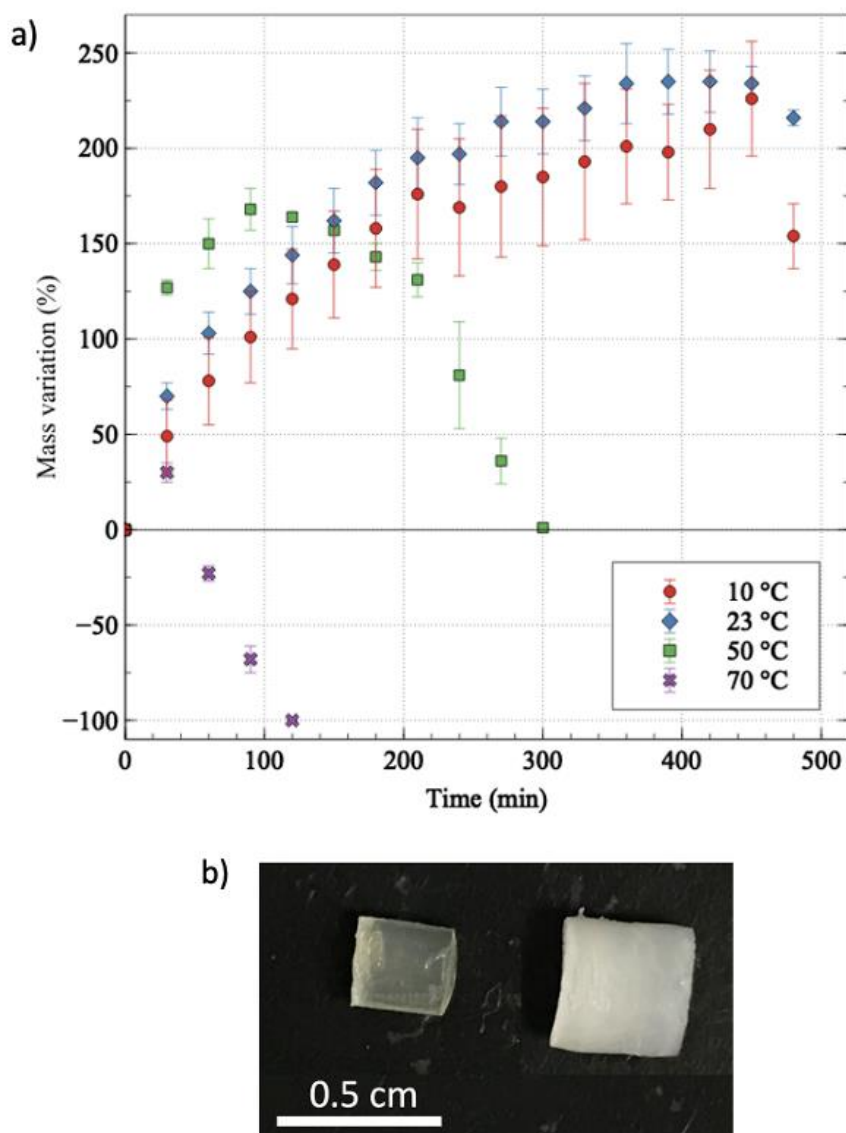


Figure 4.1 a) Swelling and dissolution of PVA in water as a function of time and temperature; b) Comparison between a PVA pellet at $t = 0$ h (dry, left) and after 4 h in water at 23 °C (right).

The first step was to evaluate and quantify the swelling and solubility behavior of pure PVA in water as a function of temperature, to determine the range of temperatures compatible with the gel preparation steps: (1) a first range of T over which the PVA is insoluble, to allow for solution

injection and gelling in the PVA molds; (2) a second range over which the PVA is fully soluble for the mold extraction step, yielding the porous gels.

Figure 4.1a shows that the PVA swells in water and absorbs more than twice its mass at 10 °C and 23 °C, until the samples break after nearly 8 h (475 min) due to extensive handling and fragility of the swollen sample – however, no dissolution is measured. In addition, the swelling rate increases initially as the T increases from 10 °C to 23 °C. **Figure 4.1b** shows how much the PVA swells after 4 h (240 min) in water, with the pellet reaching almost 3 times its initial size. At 50 °C, after initial swelling, dissolution occurs and at 70 °C, slight swelling is observed, followed by quick dissolution.

One key observation is that the PVA pellet retains its shape during the swelling phase at low temperature, which is an important feature if this material is to be used as a mold to prepare porous hydrogels. In that sense, this PVA displays a thermosensitive behavior: under 50 °C, swelling occurs but there is no dissolution. At 50 °C, there is a transition as dissolution starts much earlier, and almost immediately at 70 °C. The ideal approach for injecting a solution into a PVA mold would be to inject the solution at a low temperature to prevent mold dissolution (although it will likely swell), then to dissolve it at a higher temperature once the gel has set. The next step then consisted in preparing porous PVA molds.

4.3.2 PS/PVA blend morphology after melt-processing

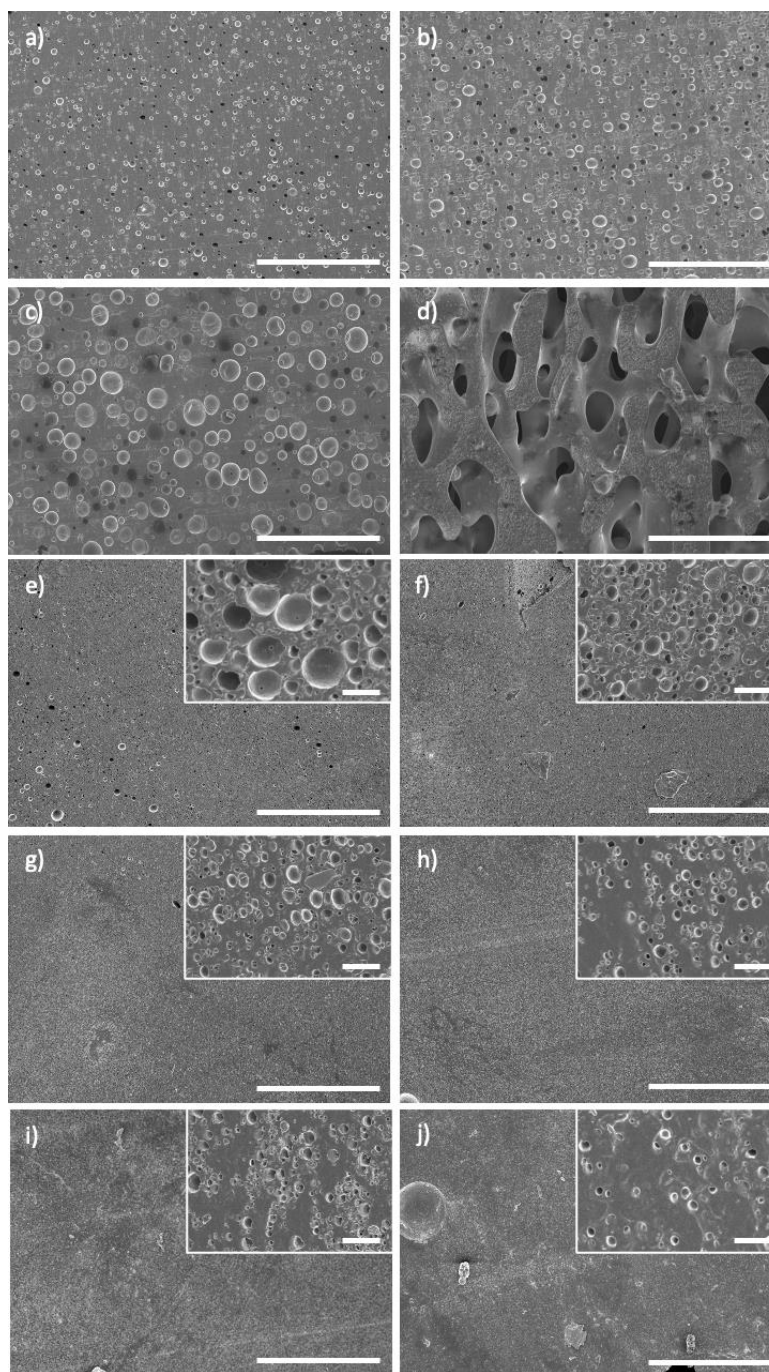


Figure 4.2 Morphology of PS/PVA blends prepared in an internal mixer, after the selective extraction of PVA with water for micrographs (a) to (c), and selective extraction of PS using chloroform for micrographs (d) to (j). PS/PVA compositions in vol%: a) 90/10 ; b) 80/20 ; c) 70/30 ; d) 61/39 ; e) 60/40 ; f) 50/50 ; g) 40/60 ; h) 30/70 ; i) 20/80 ; j) 10/90. The white scale bars represent 100 μm for the main magnification and 2 μm for the enlarged inset images.

Figure 4.2 displays the morphology of PS/PVA blends as a function of composition after melt-processing in an internal mixer. The typical features of a binary immiscible system can be observed, with matrix-dispersed phase morphologies at low compositions of PS or PVA (**Figure 4.2a-c, e-j**), and a co-continuous morphology at 61/39 vol% (intermediate composition, **Figure 4.2d**). The DSC thermograms (data not shown) confirm that the PS and PVA phases are immiscible at all compositions, as their respective T_g remain constant and equal to the values of the pure polymers (respectively 95 °C and 49 °C).

Figure 4.2a-c shows that the PVA dispersed phase increases in size as its composition increases up to 30% – a similar result is observed when the PS forms the minor phase (**Figure 4.2f-j**), although it is finer compared to the dispersed phase of PVA. There is then a sharp morphological transition observed at 39% of PVA, with the formation of a co-continuous morphology (**Figure 4.2d**) – with the observation of PS sub-inclusions in the PVA phase, and vice-versa (see **Figure 4.9a**). Slightly increasing the PVA composition to 40% results in the formation of a PVA matrix comprising PS droplets – with very small cavities within the extracted droplets linking neighboring droplets and creating a percolated network (similar observation at 50% PVA, see **Figure 4.9b-d**). On the other hand, decreasing the PVA to 30% yields back a matrix of PS with droplets of PVA. Overall, compared to other systems reported in the literature (e.g. polyethylene (PE)/PS, (Li, J. & Favis, 2001; Yuan & Favis, 2005) polylactide (PLA)/PS, (Sarazin & Favis, 2003) etc.), the phase inversion and co-continuity region is quite narrow.

The interfacial tension between the two polymers, measured by the breaking thread method, gave an average value of 1.5 ± 0.3 mN/m, which is relatively low compared to the PS/high density polyethylene (HDPE) system (4.1 mN/m). (Elemans et al., 1990) . However, the PVA thermal stability at the processing temperature is quite limited and the viscosity increases rapidly as a function of time. Indeed, the time sweeps reported in **Figure 4.8a** show that the complex viscosity rapidly increases, from nearly 500 Pa·s initially to over 10,000 Pa·s after 60 min. As a result, measuring the zero shear viscosity (used to calculate the interfacial tension) turned out to be quite difficult. Frequency sweeps realized from low to high frequencies (**Figure 4.10**), completed with single point measurements at low frequencies, yielded a value in-between 500-550 Pa·s. The PS in contrast remained relatively stable over time (but still showing slow degradation, **Figure 4.8b**). Since a breaking thread experiment lasted in average around 450 seconds (7.5 min) the viscosity

of the PVA phase used for the calculation of the interfacial tension was estimated to be in-between 550 Pa.s and 1000 Pa.s, resulting in interfacial tension values ranging from 1.5 to 2.2 mN.m. In addition, a sensitivity analysis indicates that the value of the PVA zero-shear viscosity has less impact compared to the experimental errors.

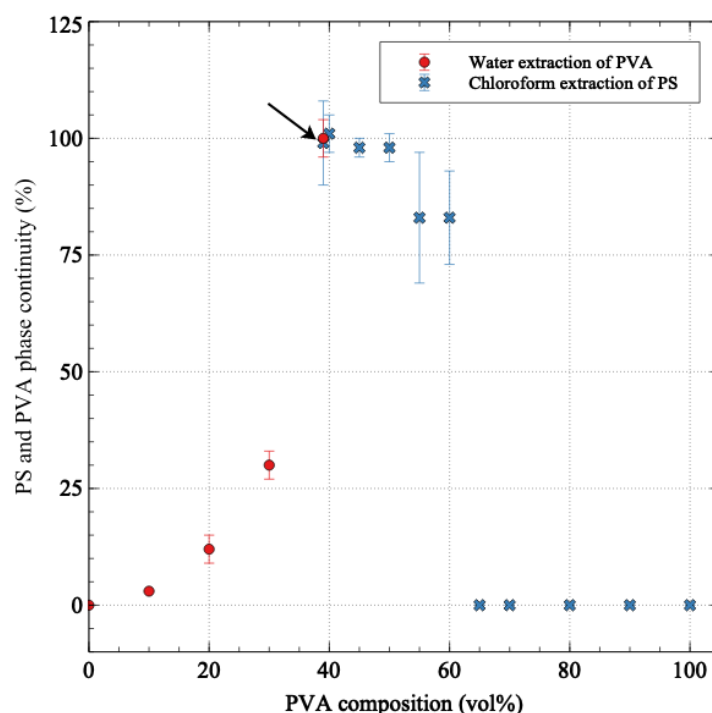


Figure 4.3 Continuity of the PS and PVA phases as a function of blend composition, measured by gravimetric analysis. The arrow indicates the composition at which a co-continuous morphology is observed.

The continuity of both PS and PVA phases within the blends was next quantified by gravimetry – i.e. selective phase extraction (**Figure 4.3**). The results support the SEM observations of **Figure 4.2**. The PVA extraction yield is relatively low up to a content of 20%, then increases quickly until the formation of a fully percolated PVA network at 39% PVA (PS/PVA 61/39 vol%, indicated by the arrow). At this composition, both phases are fully continuous and form a co-continuous morphology, as is it also possible to fully extract the PS phase with chloroform. At 45% and 50% PVA, the PS phase still remains nearly fully continuous, but extracting the PVA phase results in very brittle samples that break very easily, indicating that the PS network is very fragile and/or tenuous. Inspection by SEM indeed shows PS droplets dispersed in a PVA matrix, linked

together by very small openings linking the droplets, as observed in **Figure 4.2e,f** (see also **Figure 4.9**). This explains why the structure is so fragile when the PVA phase is extracted since the remaining PS droplets are linked together by very tenuous bonds.

The PS/PVA 61/39 composition showing a co-continuous morphology is adequate for the preparation of porous hydrogels: extracting the PS phase, then injecting an aqueous solution within a porous PVA mold should yield porous gels if the gelling kinetics is faster compared to the PVA solubilization rate. Based on the solubility data presented in **Figure 4.1**, the strategy next consisted in injecting the gelling solution at low temperature, inducing rapid gelling, then extracting the PVA mold at high temperature.

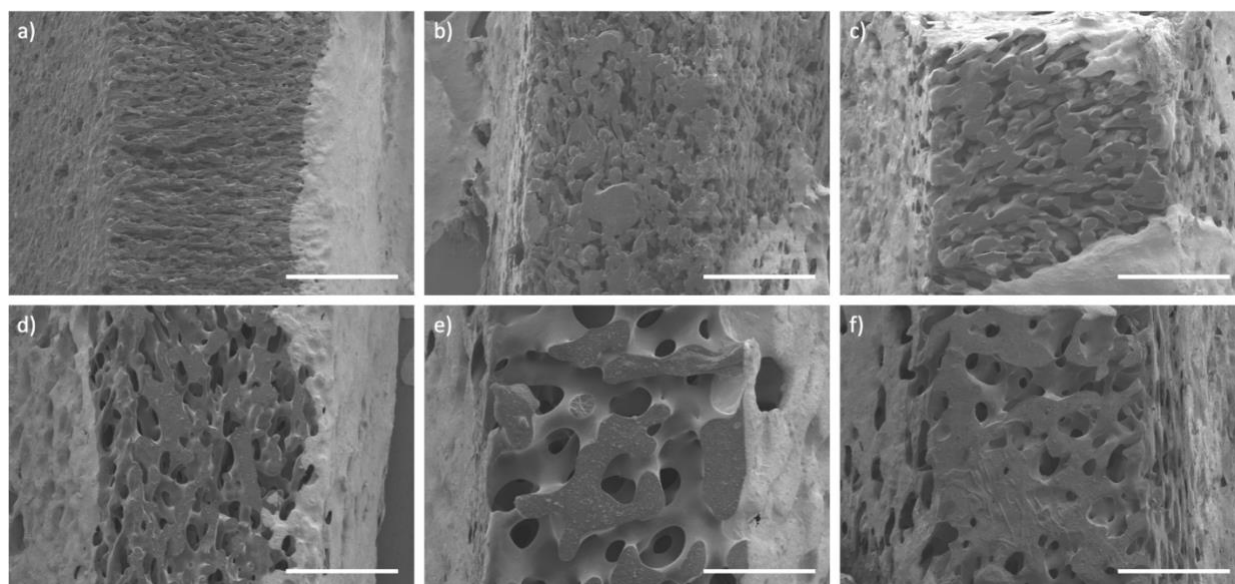


Figure 4.4 Evolution of the PS/PVA 61/39 vol% blend morphology, as a function of quiescent annealing time, after the selective extraction of the PS phase with chloroform. a) No annealing, right after melt-extrusion; b) 10 min ; c) 20 min ; d) 30 min ; e) 45 min ; f) 60 min. The white scale bars represent 500 μm .

PS/PVA polymer rods at a composition corresponding to the co-continuous morphology (61/39 %vol) were next melt-extruded. The objective was to develop a process allowing for the preparation of large batches of PVA molds of nearly identical features. (Delattre et al., 2024; Parès et al., 2024) SEM observations (**Figure 4.4a**) and gravimetric analysis (for the non-annealed blend) confirmed the formation of a co-continuous morphology, as it was possible to nearly fully extract

both phases while maintaining sample integrity in both cases ($112\% \pm 2\%$ for the PS phase, $77\% \pm 1\%$ for the PVA phase, indicating the presence of some PVA in the PS phase). The next step was to perform quiescent annealing over the melting temperature of PVA to let the morphology coarsen.

The SEM micrographs in **Figure 4.4b-f** show that the co-continuous morphology is maintained as coarsening progresses (also confirmed by gravimetric analysis as a function of annealing time), illustrating how the initially fine morphology gradually becomes coarser as the annealing time is prolonged. The alignment of the morphology in the axial (flow) direction can also be distinguished up to 20 min of annealing time. Coarsening is driven by the interfacial tension and is modulated by the viscosity of the system. Micro-CT combined with image analysis was next employed to quantify the morphological features as a function of annealing time.

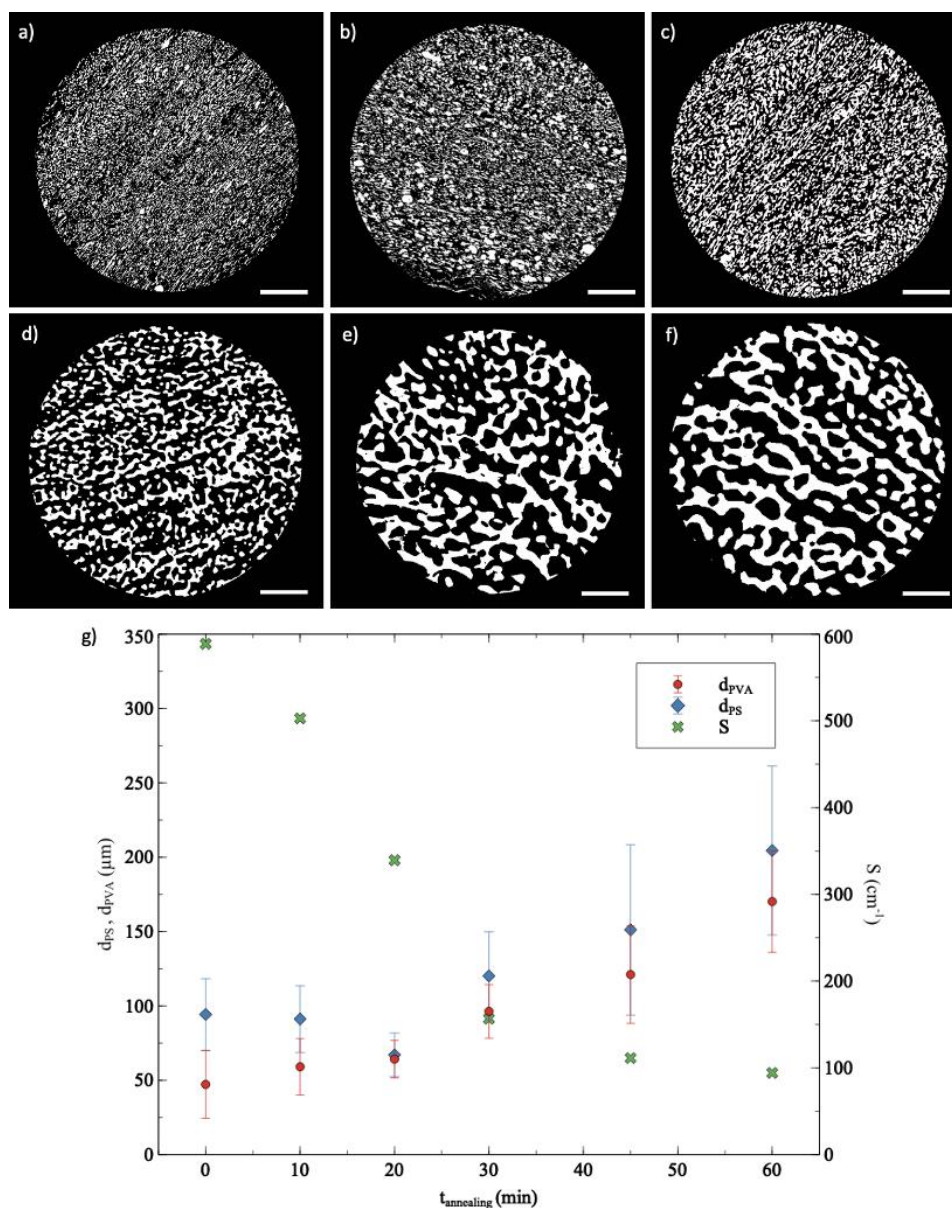


Figure 4.5 (a) to (f): Evolution of the PS/PVA 61/39 vol% blend microstructure, prepared by melt-extrusion, as revealed by x-ray microtomography, as a function of quiescent annealing time.

The blend was prepared by melt-extrusion, followed by quiescent annealing, CNC cutting and selective extraction of the PS phase with chloroform. a) No annealing ; b) 10 min ; c) 20 min ; d) 30 min ; e) 45 min ; f) 60 min. The white scale bars represent 1 mm. White phase = PVA, black phase = pores left by PS extraction; g) Average diameter (thickness) of the PS (d_{PS}) and PVA (d_{PVA}) domains, and specific interfacial area S , as a function of quiescent annealing time $t_{annealing}$, at $T = 210$ °C, for the PS/PVA 61/39 blend prepared by melt-extrusion. The data points for the diameters correspond to the average pore size of the distribution $\pm$ one standard deviation.

Similar trends were obtained for the same blend composition prepared in the internal mixer (Figure 4.11).

The microCT analysis quantitatively show that the morphology coarsens, with the PS and PVA domains becoming larger with annealing time (**Figure 4.5a-f**). In addition, the PS domains are always larger compared to the PVA, a consequence of blend composition (PS/PVA 61/39 vol%). Similar results were obtained for the blends prepared with the internal mixer and annealed afterwards (**Figure 4.11**).

Figure 4.5g shows that the PS domain size increases from nearly 95 μm initially, to over 200 μm after 60 min of quiescent annealing, and from nearly 50 μm to 170 μm for the PVA domains – the morphology is already relatively coarse initially compared to the co-continuous morphology of other systems reported in the literature.(Bell et al., 2010; Esquirol et al., 2014) Coarsening also slows down considerably and nearly stops after 30 min of annealing time for the blends prepared in the internal mixer (**Figure 4.11**), but it never reaches a plateau value for melt-extrusion – it could then be observed at a later time. Correspondingly, the specific interfacial area decreases from nearly 590 cm^{-1} to 95 cm^{-1} (**Tableau 4.3** and **4.4**).

The decrease in coarsening rate, or leveling off observed after prolonged annealing, has also been observed for other polymer pairs,(Haji Abdolrasouli et al., 2021b; López-Barrón & Macosko, 2010) but typically at a larger domain size ($\sim 1\text{ mm}$). In this case here, the rapid increase in PVA viscosity, combined to the relatively low interfacial tension, could explain the decrease and leveling off of the coarsening process.

The volume fractions of the phases are $39 \pm 2\text{ vol\%}$ for PVA, and $61 \pm 2\text{ vol\%}$ for PS (pores) for annealing times ranging from 10 to 60 min. For the initial blend (no annealing), the volumetric fractions are instead 30 vol% PVA and 70 vol% PS (pores) (see **Tableau 4.3** and **Tableau 4.4** in SI for the complete data).

4.3.3 Preparation and characterization of macroporous hydrogels

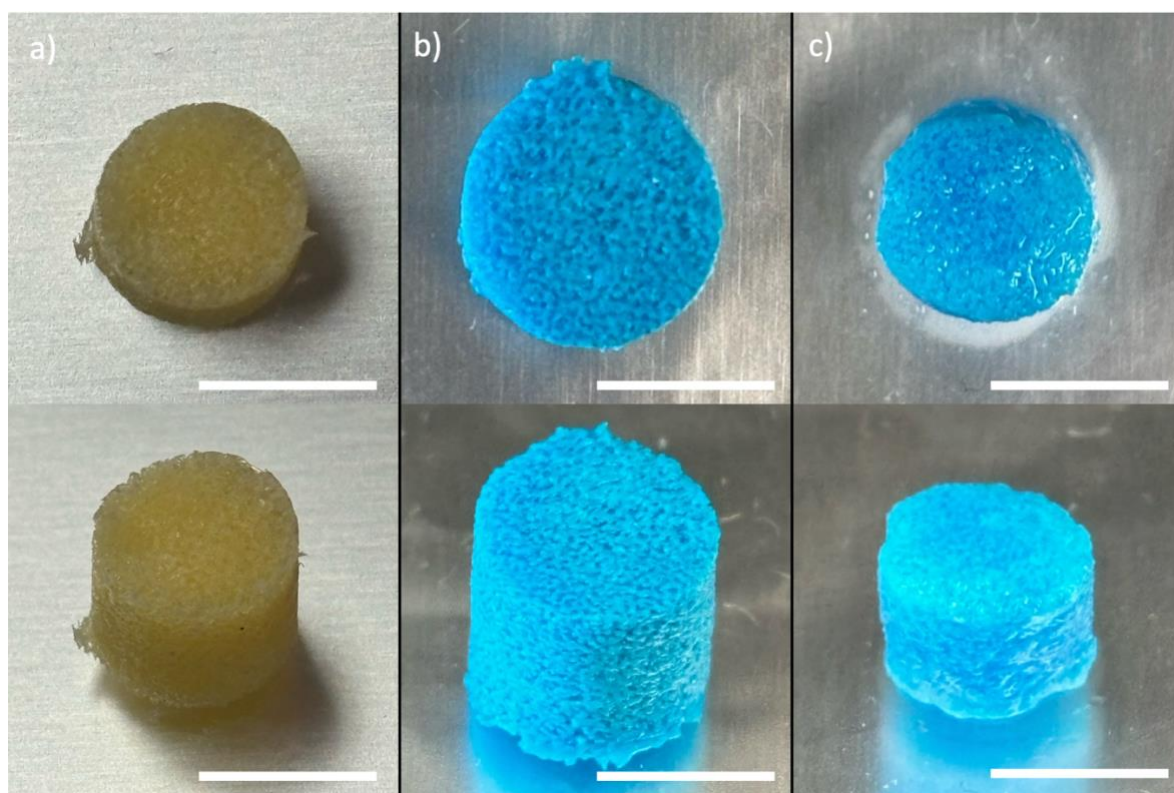


Figure 4.6 Experimental steps for the preparation of a porous hydrogel composed of 4% w/v sodium alginate (SA), with a PVA mold prepared from a PS/PVA 61/39 vol% blend annealed for 30 min (the hydrogel phase is stained with a blue food coloring dye to better distinguish the phases). The steps are as follows: a) Porous PVA mold before injection of the gelling solution, after blend annealing, CNC machining and PS extraction; b) PVA mold 24 h after the injection of the SA solution and gelation in a 4% w/v aqueous CaCl_2 solution at 5 °C; c) 4% w/v SA porous hydrogel after the extraction of the PVA mold with water at 70 °C for 1 day. The top row shows the sample from above, while the bottom row provides a top-down view. The white scale bar represents 0.5 cm.

The extruded rods of PS/PVA were next annealed for 30 min, trimmed by CNC machining into small cylinders, and plunged into chloroform to extract the PS phase in order to obtain porous PVA molds (**Figure 4.6a**), with PVA domains and pore size $\approx 100 \mu\text{m}$ (**Figure 4.5**) – typically identified as a lower limit for efficient cell colonization in a 3D biomaterial.(Delattre et al., 2024) Porous hydrogels were prepared by injecting first a 4% w/v SA solution at low temperature in the PVA molds (~ 5 min), i.e. near or below 2 °C. The filled molds were then plunged in a cold aqueous solution of 4% w/v CaCl_2 to induce SA gelling. The molds expanded during injection and gelation (**Figure 4.6b**) because they were submerged in a cold aqueous solution, which prevented

dissolution but not swelling, as **Figure 4.1** displays – however, the molds expanded much less rapidly when the injection was realized at 1 °C, compared to 5 °C (**Figure 4.12**). There is a limit to this swelling effect, since after 24 h at 5 °C, the mold reaches its maximum volume. Extended soaking beyond 24 h does not lead to further swelling. During this phase, there is minimal or no PVA extraction, with only some small parts of the edges detaching if left for too long in cold water. In addition, the colder the gelling solution is initially, the less important is the observed swelling. Finally, the PVA phase was rapidly and completely extracted in 70 °C water (within a maximum of 1 day for the tested gels, though it can take as little as 20 min depending on PVA accessibility. If a thin layer of SA gel surrounds the mold, it hinders rapid extraction due to limited accessibility of the PVA).

After PVA extraction, the porous hydrogels regain the original shape and size of the molds, with no noticeable macroscopic sample deformation (**Figure 4.6c**). MicroCT analysis was conducted next to characterize the porosity of the resulting porous hydrogels (**Figure 4.7**). Gel injection was tested for all annealing times. However, below 20 min of annealing, no gel could be successfully prepared. Specifically, molds annealed for 0 and 10 min could not withstand the injection process, appearing fragile and brittle even before injection at these annealing times. The injection process seemed to apply excessive pressure on the molds, occasionally causing them to fracture. In contrast, starting at 20 min of annealing time, gels could be formed without any problem.

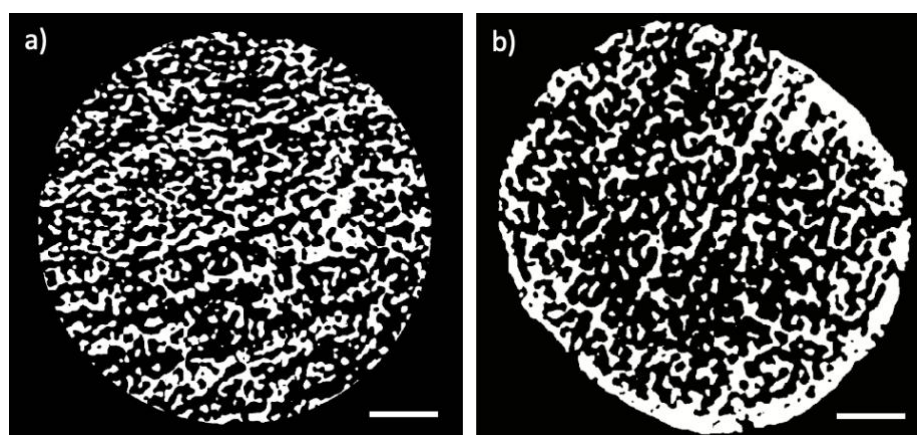


Figure 4.7 a) Microstructure of a PVA mold (30 min of annealing time) viewed by microCT. White domains = PVA, black domains = porosity left by PS extraction; b) resulting macroporous alginate hydrogel (4% w/v) once the PVA phase is extracted. White domains = SA hydrogel, black domains = porosity left by PVA extraction. The white scale bar = 1 mm.

Table 4.2 Comparison of the microstructural characteristics between a porous PVA mold and the resulting 4% w/v porous alginate hydrogel, with an annealing time of 30 minutes.

	d_{PVA} (PVA mold) / d_{pores} (gel) (μm)	$d_{pores(PS)}$ (PVA mold) / d_{gel} (gel) (μm)	S in PVA mold) / in gel (cm^{-1})	ϕ_{PVA} (PVA mold) / ϕ_{pores} (gel) (vol%)	ϕ_{Pores} in PVA mold / ϕ_{gel} in gel (vol%)
PVA mold	96 ± 18	120 ± 30	157	38	62
Porous gel	128 ± 44	108 ± 30	198	61	39

MicroCT analysis first shows full pore interconnectivity in the hydrogels – i.e. the molding process conserves the PVA mold features (**Figure 4.7**). The average pore size d_{pores} ($128 \mu\text{m}$) in the hydrogels is nearly 33% higher compared to the extracted PVA domains ($d_{PVA} = 96 \mu\text{m}$) - but they still remain relatively close, and the pore size distributions overlap, as do the average PS domain size ($d_{PS} = 120 \mu\text{m}$) and average gel domains ($d_{gel} = 108 \mu\text{m}$) (**Tableau 4.2**). The specific surfaces of both PVA mold and porous gel are also quite comparable (157 cm^{-1} vs 198 cm^{-1}). Only the resulting pore volume fraction in the hydrogel ($\phi_{Pores} = 0.61$) increases compared to the original PVA phase volume fraction (before extraction, $\phi_{PVA} = 0.38$) – the opposite is observed for the gel phase volume fraction compared to the original PS phase. Whether this is due to gel syneresis, or sample preparation for microCT analysis remains to be elucidated.

To obtain a contrast between the gel phase and the pores by microCT, it is necessary to remove the free water from the pores. In **Figure 4.7b**, extensive white domains can be seen at the edges. This is likely due either to remaining free water in the pores at the periphery, or to closed pores after removing as much water as possible with absorbent paper. These white areas were excluded during image analysis to avoid erroneous values. A deformation in shape is also noticeable (it is no longer perfectly circular), which was attributed to the softness of the hydrogel and its handling before the microCT experiment. Overall, there is a good correspondence between the microstructural features of the PVA molds, and resulting porous hydrogels, demonstrating that it is indeed possible to prepare microstructured/porous hydrogels using water-soluble polymer molds, by tuning the solubility of PVA as a function of water temperature.

4.4 Discussion

The method presented in this work allows for the preparation of water soluble polymer molds designed for the preparation of porous hydrogels for the biomedical field – i.e. for 3D cell culture, tissue engineering, etc. Using water soluble molds solves the important issue of avoiding direct contact between an organic solvent (previously used to extract the polymer molds (Esquirol et al., 2014; Parès et al., 2024)), the resulting hydrogel, and the seeded cells and/or tissues. Using a thermosensitive PVA also solves apparent contradicting constraints – i.e. use water soluble polymer molds to prepare water-based gels. Since the PVA used in this work is thermosensitive and melt-processable (thermoplastic PVA), it allows: (1) the preparation of large quantities of gels by using a scalable melt-extrusion process; (2) the injection and gelling of the aqueous solution at low temperature in the PVA molds (PVA is not soluble at low temperature); (3) and finally, the subsequent dissolution of the PVA molds at high temperature. Finally, the PVA extraction step is fast and takes only a few hours, which is quicker compared to the former process using polymer molds soluble in organic solvents (a few days and up to 2 weeks). (Delattre et al., 2024; Parès et al., 2024)

The process we employ also presents a number of significant advantages. For example, the PVA molds can be tuned over a broad range of average pore sizes - herein from approx. 50 μm to over 200 μm , quite compatible with biomedical applications requiring cell culture in 3D scaffolds. (Habanjar et al., 2021) In addition, the pores are fully interconnected throughout the material. However, in the case of this particular blend, the co-continuity region (or range of compositions) is quite narrow and does not allow for the tuning of the porosity volume fraction. This limitation might be due to the evolution in viscosity of the PVA phase at high temperature, and further work is required to expand the range of compositions yielding co-continuous morphologies - such as using ternary immiscible blends yielding a co-continuous structure. (Zhang, J. H. et al., 2007)

The strategy we have employed to prepare the porous gels involves a first injection and gelling step at a very low temperature to prevent the dissolution of the PVA molds. However, swelling of the PVA mold is still observed at 5 °C and occurs rapidly after the injection of the solution (**Figure 4.12**). By decreasing the temperature down to 1 or 2 °C, swelling of the PVA mold is significantly slowed down, but still apparent after 24 h at 5 °C (**Figure 4.12**). With sodium

alginate, the porous gel recovers the initial mold dimensions, which is probably due to the fast gelling process in a CaCl_2 solution occurring by diffusion from the outer surface – swelling must then exert an elastic deformation on the alginate, which recovers afterwards once the mold is extracted. Other pathways could be then explored, such as injecting the solution at low temperature, then induce gelling and simultaneously extract the PVA mold at high temperature – this could be a valid approach for gel undergoing fast chemical crosslinking throughout the whole volume, (Parès et al., 2024) or maintain the gelation phase at 1 or 2 °C to determine if a very low temperature is sufficient to prevent swelling.

Preparing porous gels with PVA molds obtained from blends annealed for 10 min or less – i.e. molds with thin PVA domains (50 μm or less, **Figure 4.5**) – proved more difficult, as the molds rapidly became soft after solution injection and difficult to manipulate. This is probably due to the thin PVA domains (or PVA strut thickness) softening more rapidly compared to thicker domains at longer annealing times. We are still working to improve the process and solve this issue. However, the process is quite robust when the average PVA strut thickness is superior to 75 μm . Finally, since we start from a melt-processed system with a thermoplastic PVA, it is quite possible to imagine developing gels with complex shapes via a number of post-processing steps, including injection-molding or 3D printing – offering even more flexibility in terms of geometry and size.

4.5 Conclusion

This work demonstrates the feasibility of producing macroporous hydrogels by using a thermosensitive water soluble thermoplastic polymer – i.e. polyvinyl alcohol (PVA) herein, avoiding the use of organic solvents directly in contact with the resulting hydrogel, and addressing a critical limitation for biomedical applications. Using melt-processed co-continuous polymer blends of polystyrene (PS) and PVA, water-soluble molds with tunable and fully interconnected pores were prepared. At a PS/PVA volume ratio of 61/39, the two immiscible polymers exhibit a co-continuous morphology that can be finely tuned via quiescent annealing. By selectively extracting the PS phase with chloroform, porous PVA molds were obtained. The unique thermosensitive properties of PVA enable low-temperature gelling solution injection and crosslinking without mold dissolution, followed by mold removal at high temperatures to yield macroporous hydrogels. Although PVA molds exhibit some swelling at low temperatures, this does

not compromise the microstructure of the resulting hydrogels, which closely retain both the original PVA molds macroscopic dimensions, and pore size of the original molds. This method offers significant potential for biomedical applications and could be adapted to other gel chemistries. Future work should explore alternative gelation and injection processes, such as high-temperature crosslinking with simultaneous mold dissolution, or maintaining molds at low temperatures without freezing to preserve structural integrity. These variations could broaden the method's applicability to a wider range of materials and conditions, while simultaneously allowing for the preparation of large quantities of materials due to the scalable melt-extrusion method that has been employed.

ASSOCIATED CONTENT

The following files are available free of charge: **Supporting Information.** Tables reporting the values of microstructural parameters; Rheological data related to material stability at the processing temperature, and frequency sweeps data; SEM micrographs showing the morphology of PS/PVA blends prepared in the internal mixer; Photographs of porous hydrogels preparation steps.

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*Nick Virgilio: nick.virgilio@polymtl.ca

Author Contributions

The manuscript was written through contributions of all authors. All authors have given approval to the final version of the manuscript.

Funding Sources

The authors acknowledge the *Fonds de Recherche du Québec – Nature et Technologie* for financial support via the *Projet de Recherche en Équipe* program (grant number 2022-PR-299713). This work was also supported by the TransMedTech Institute (NanoBio Technology Platform) and its main funding partner, the Canada First Research Excellence Fund.

ACKNOWLEDGMENT

The authors acknowledge Dr. Marie-Hélène Bernier (GCM Laboratory, Polytechnique Montreal) for her expertise and assistance with MicroCT experiments, Matthieu Gauthier (CREPEC, Polytechnique Montreal) for his guidance in extrusion and his invaluable laboratory support, Dainelys Guadarrama Bello (Chaire de recherche du Canada sur les tissus calcifiés et les biomatériaux et imagerie structurale, Faculté de médecine dentaire, Université de Montréal) for her assistance with SEM analyses.

4.6 SI Supporting Information

Table 4.3 Microstructural parameters of polymer blends prepared by extrusion as a function of quiescent annealing time. Domain diameter corresponds to the pore size distribution average ± 1 standard deviation.

Quiescent annealing time [min]	d_{PVA} [μm]	d_{pores} [μm]	S [cm^{-1}]	ϕ_{PVA} [%vol]	ϕ_{pores} [%vol]
0	47 ± 23	94 ± 24	589	30	70
10	59 ± 19	91 ± 22	503	37	63
20	64 ± 13	67 ± 15	339	42	58
30	96 ± 18	120 ± 30	157	38	62
45	121 ± 33	151 ± 57	111	37	63
60	170 ± 34	204 ± 57	94	41	59

Table 4.4 Microstructural parameters of polymer blends prepared in an internal mixer as a function of quiescent annealing time. Domain diameter corresponds to the pore size distribution average ± 1 standard deviation

Quiescent annealing time [min]	d_{PVA} [μm]	d_{pores} [μm]	S [cm^{-1}]	ϕ_{PVA} [%vol]	ϕ_{pores} [%vol]
0	28 ± 8	41 ± 23	440	33	67
10	73 ± 12	87 ± 32	275	40	60
20	130 ± 24	162 ± 33	134	39	61
30	181 ± 41	214 ± 75	85	41	59
60	205 ± 43	205 ± 55	84	47	53

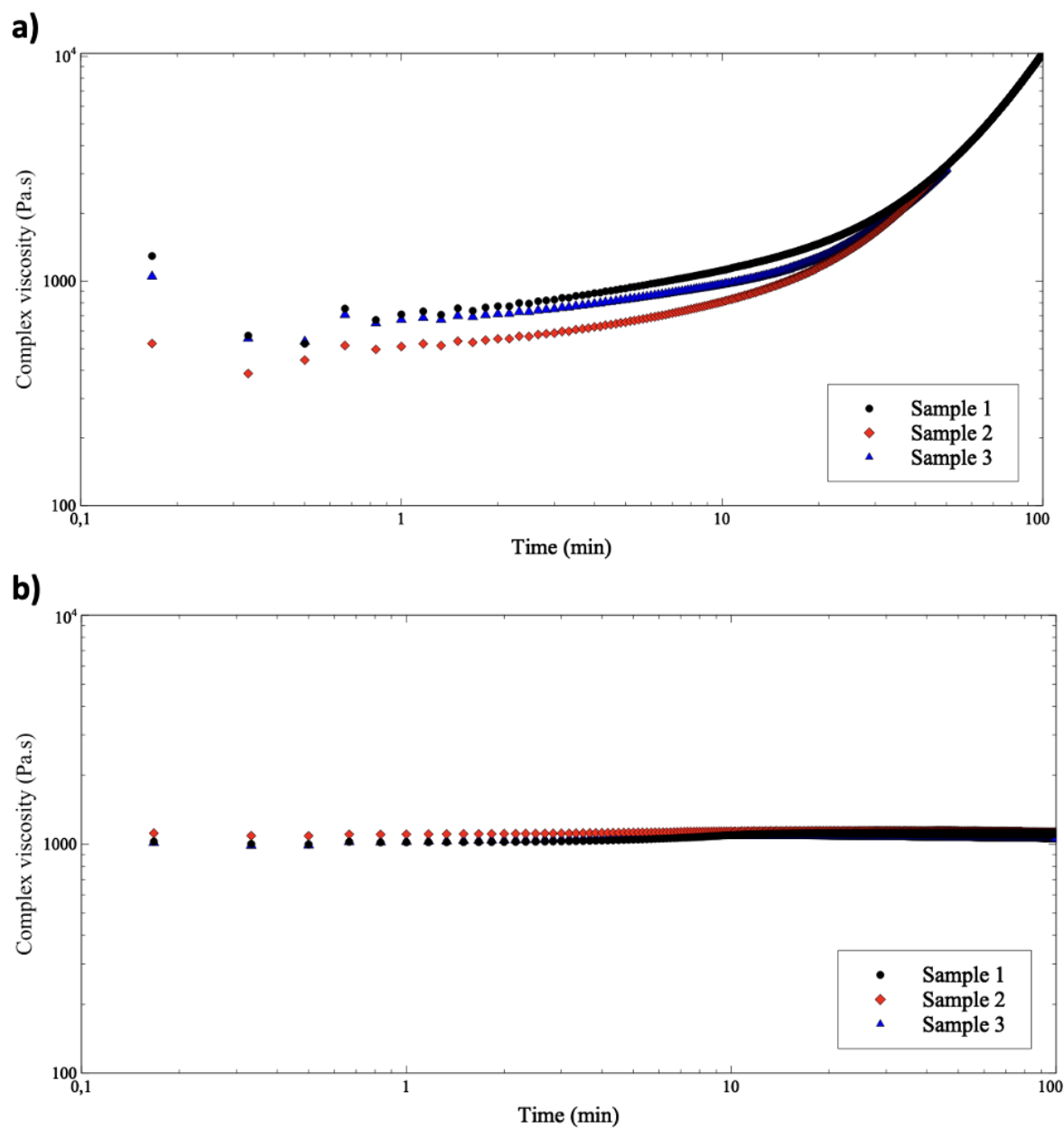


Figure 4.8 a) Time sweep of PVA at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$ and 1 rad/s; b) Time sweep of PS at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$ and 1 rad/s

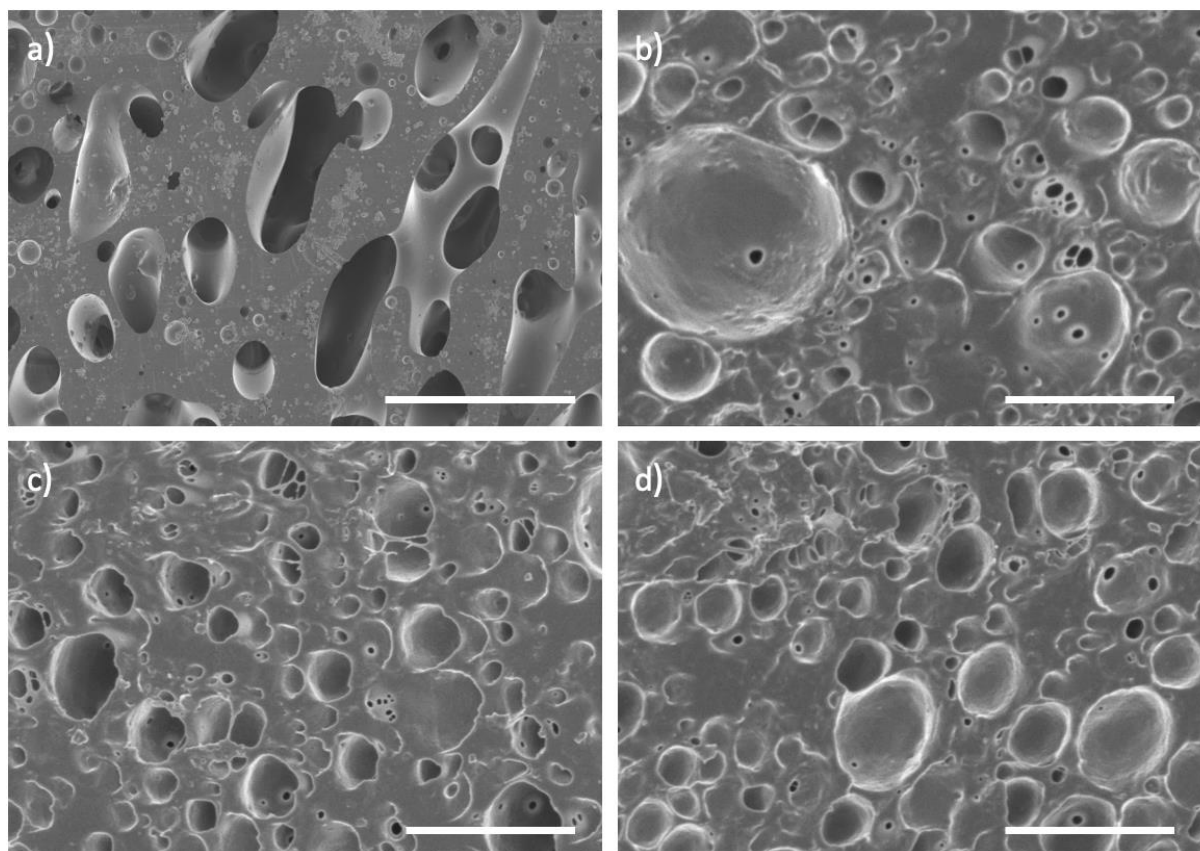


Figure 4.9 Microstructure of PS/PVA blends prepared in an internal mixer, after the selective extraction of PVA with water for micrograph (a), and selective extraction of PS using chloroform for micrographs (b) to (d). PS/PVOH compositions in vol%: a) 61/39 ; b) 60/40 ; c) 55/45 ; d) 50/50. Notice first in (a) the PVA sub-inclusions in the PS phase following PVA extraction with water, and then the small openings in the extracted dispersed PS phase linking the extracted droplets together, creating a percolated network, in (b) to (d). The white scale bars represent 100 μm for micrograph (a) and 2 μm for micrographs (b) to (d).

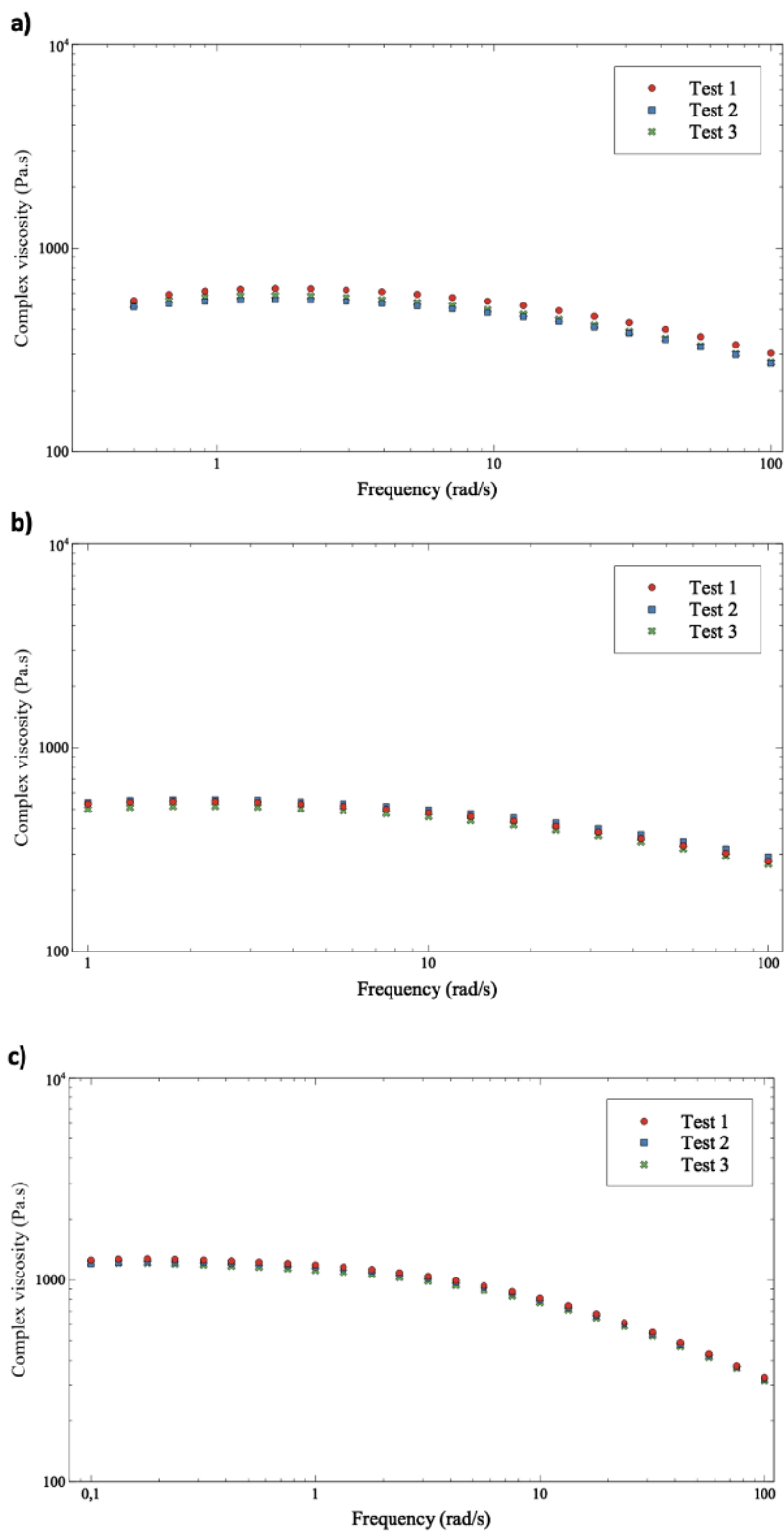


Figure 4.10 a) Frequency sweep of PVA at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$, frequency from 0.5 rad/s to 100 rad/s; b) Frequency sweep of PVA at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$, frequency from 1 rad/s to 100 rad/s; c) Frequency sweep of PS at 220 °C, $\gamma_0 = 1\%$, frequency from 0.1 rad/s to 100 rad/s.

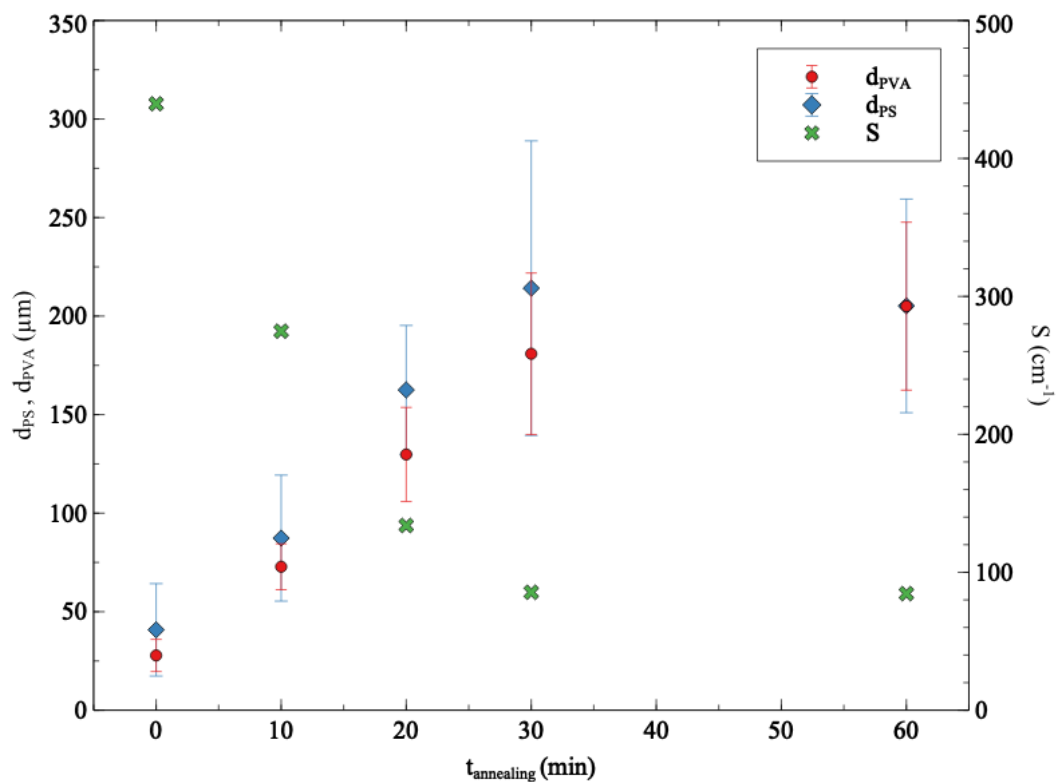


Figure 4.11 Average diameter (thickness) of the PS (d_{PS}) and PVA (d_{PVA}) domains, and specific interfacial area S , as a function of quiescent annealing time $t_{\text{annealing}}$, for the PS/PVA 61/39 blend prepared with the internal mixer. The data points for the diameters correspond to the average pore size of the distribution $\pm$ one standard deviation.

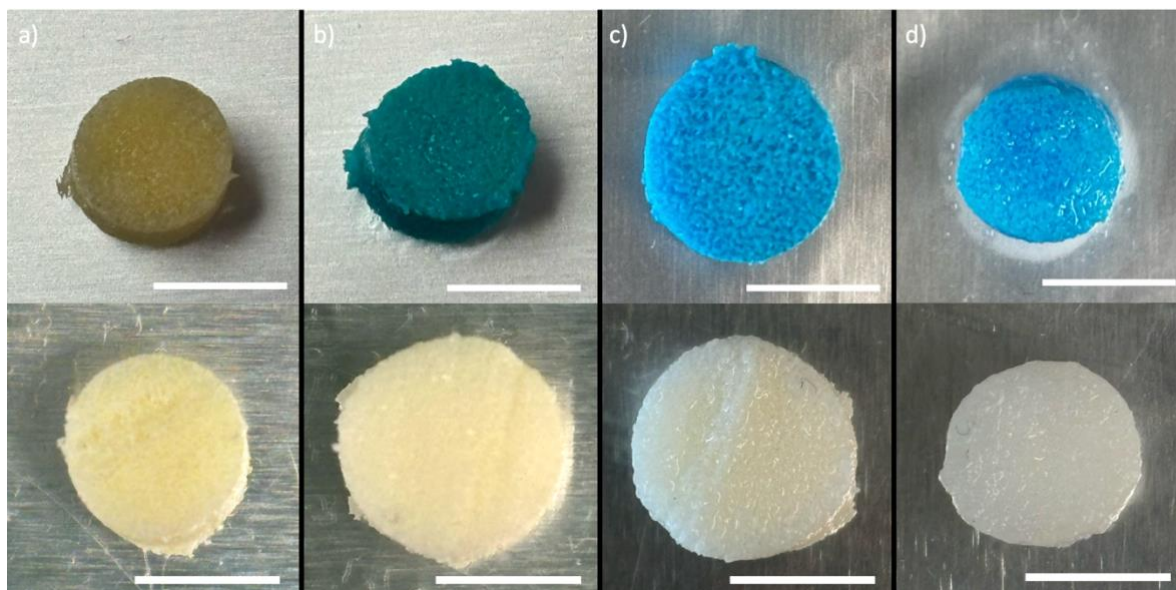


Figure 4.12 Comparison of experimental steps for the preparation of a porous hydrogel composed of 4% w/v sodium alginate (SA), with a PVA mold prepared from a PS/PVA 61/39 vol% blend annealed for 30 min. The steps are as follows: a) Porous PVA mold before injection of the gelling solution, after blend annealing, CNC machining and PS extraction; b) Porous PVA mold right after solution injection; c) PVA mold after the injection of the SA solution and gelation, having spent 24 h in a 4% w/v aqueous CaCl_2 solution at 5 °C; d) 4% w/v SA porous hydrogel after the extraction of the PVA mold with water at 70 °C for 1 day. The top row shows the injection at 1°C, while the bottom row shows the injection at 5 °C – notice the volume difference. For top row, the hydrogel phase is stained with a blue food coloring dye to better distinguish the phases.

CHAPITRE 5 DISCUSSION

Ce travail visait à concevoir des moules polymères thermosensibles hydrosolubles présentant des pores ajustables en taille et interconnectés, afin de préparer des hydrogels macroporeux destinés à des applications biomédicales – évitant ainsi le contact direct entre les hydrogels et les solvants organiques précédemment utilisés pour extraire les moules polymères. (Parès et al., 2024; Safi et al., 2022) Pour concevoir ces moules hydrosolubles, nous avons utilisé la technique de dissolution sélective d'un polymère non hydrosoluble, dans un mélange binaire à morphologie co-continue, formé avec un polymère hydrosoluble. Trouver un tel système, le caractériser et mettre au point une méthode pour produire des hydrogels à partir de ces moules ont constitué les principaux défis de ce travail.

5.1 Sélection des polymères et obtention de la morphologie co-continue

Dans un premier temps, plusieurs combinaisons de polymères hydrosolubles et non hydrosolubles ont été testées pour évaluer les morphologies obtenues. Les polymères hydrosolubles éliminés dès le départ étaient ceux qui se dissolvaient dans l'eau, indépendamment de la température. En effet, pour permettre l'injection de la solution d'hydrogel dans le moule hydrosoluble, il était essentiel que ce dernier reste intact à basse température. Seul le polyalcool de vinyle (PVA), pour certains grades spécifiques, montrait la capacité de se dissoudre uniquement à haute température.

Du côté des polymères non hydrosolubles, le polystyrène (PS) et le poly(ϵ -caprolactone) (PCL) ont été associés à différents grades de PVA. Après de nombreuses tentatives, seul un grade particulier de PVA, et un de PS, ont permis d'obtenir une morphologie co-continue, élément essentiel pour ce projet. Cependant, bien que ce grade de PVA ne soit pas idéal en raison de son gonflement à basse température, il a permis de produire des hydrogels d'alginate qui conservaient les dimensions, la forme et la porosité des moules. Un autre grade de PVA, ne montrant aucun gonflement à basse température et se dissolvant uniquement à très haute température, n'a pas permis d'obtenir une morphologie co-continue et a été mis de côté pour l'instant. Néanmoins, ce grade pourrait être intéressant dans le cadre d'autres chimies d'hydrogels où le gonflement pourrait poser un problème. Ce point nécessiterait des investigations complémentaires, incluant la préparation d'un mélange co-continu.

5.2 Caractérisation et défis liés à la morphologie co-continue

L'établissement de la courbe de co-continuité a révélé que la zone de co-continuité pour le système sélectionné est extrêmement fine, contrairement à ce qui est généralement rapporté dans la littérature pour d'autres mélanges. Cette étroitesse a rendu le processus de recherche de la composition optimale complexe, mais nous avons pu la déterminer grâce à des essais répétés. De plus, la dissolution sélective possible de l'un ou de l'autre polymère du mélange, a permis de faire les tests gravimétriques et de calculer la continuité des deux phases et de trouver précisément la zone de co-continuité.

Afin d'expliquer cette zone étroite de co-continuité, des tests rhéologiques ont été effectués pour déterminer la tension interfaciale entre les polymères. Ces tests ont montré que le PVA est particulièrement sensible aux hautes températures, la viscosité augmentant très rapidement, ce qui a compliqué la mesure de la viscosité à cisaillement nul, nécessaire pour le calcul de la tension interfaciale. Une analyse de sensibilité a néanmoins démontré que cette viscosité avait une influence moindre sur la valeur calculée, contrairement aux erreurs expérimentales associées à la méthode du fil cassant (*breaking thread*, films de PS, fil de PVA). Cette méthode s'est révélée difficile à maîtriser, les dimensions des fibres et des films étant des paramètres critiques mais difficiles à contrôler. Néanmoins, la valeur calculée est relativement basse— ce qui n'explique probablement pas l'étroitesse de la zone de co-continuité.

Un autre défi rencontré a été l'absence de déformation du fil de PVA à 210 °C, température utilisée pour la mise en forme (216 °C dans le mélangeur), et cela même après plusieurs heures. Ce n'est qu'à 220 °C que des déformations rapides ont été observées, bien que la température de fusion du PVA soit nettement inférieure (191 °C), de même que la Tg du PS (95 °C). Cette observation nécessite une étude approfondie pour comprendre les mécanismes impliqués. L'hypothèse avancée pour le moment pour expliquer l'étroitesse de la zone de co-continuité et la sensibilité de la méthode du fil cassant est l'instabilité thermique importante du PVA. En effet, suite aux expériences rhéologiques, il a été observé que sa viscosité augmente rapidement avec le temps.

5.3 Optimisation du refroidissement et extrusion

Le refroidissement du système après mélange ou recuit a également posé des défis. L'utilisation de l'eau froide, méthode courante, n'était pas envisageable en raison du risque de dissolution ou de gonflement du PVA. L'azote liquide, bien qu'efficace pour éviter la solubilisation, a causé des fractures du mélange en raison du froid extrême. Une autre solution testée a été l'utilisation de glace, permettant de refroidir le système tout en limitant la présence d'eau liquide. Pour minimiser les risques d'exposition à l'eau, le mélange a été enroulé dans de l'aluminium. Cependant, cette méthode posait plusieurs problèmes : elle compliquait sa mise à l'échelle pour les essais d'extrusion, le refroidissement était irrégulier et non optimal, et le processus d'emballage dans l'aluminium était chronophage et entraînait des déformations du mélange. Ces limitations ont conduit à chercher une alternative plus efficace. La solution optimale a été un bain d'éthanol refroidi par de la glace sèche, qui permettait de figer la morphologie tout en préservant l'intégrité des polymères. Ce système offre également l'avantage d'être facilement adaptable à une échelle plus grande. L'extrusion a réussi dès le premier essai, produisant un mélange à morphologie co-continue sans perte de matériaux ni besoin de multiples ajustements de paramètres. Bien que l'optimisation des paramètres doit être envisagée pour les essais futurs, cette réussite démontre la faisabilité d'une mise à grande échelle et le potentiel pour développer des gels aux formes plus complexes.

5.4 Fabrication et caractérisation des hydrogels

Une fois les moules hydrosolubles obtenus, nous avons testé la production d'hydrogels d'alginate, choisis pour leur facilité de gélification et leur pertinence pour le projet *Gliotrappe*. La solution gélifiante a été refroidie à très basse température pour permettre son injection dans le moule, suivi d'une réticulation à basse température. La dissolution du moule en PVA a ensuite été effectuée à haute température. Cette méthode a fonctionné dès le premier essai, produisant des gels conservant la forme et la porosité des moules.

Cependant, le gonflement du PVA à basse température, même limité, a été constaté. Ce phénomène pourrait être évité en travaillant à des températures encore plus basses, à 1 ou 2 °C, bien que cela nécessite des équipements spécifiques. D'autres approches, comme une dissolution et une réticulation simultanées à haute température, pourraient également être explorées. Cela pourrait

permettre d'étendre l'utilisation de ce moule hydrosoluble à un grand nombre de chimie d'hydrogels.

Ce gonflement n'a pas altéré la forme ni la porosité du gel d'alginate, tel que confirmé par microCT. Cependant, observer un hydrogel par microCT reste complexe, car il faut vider les pores pour les distinguer aux rayons X, ce qui peut modifier la forme du gel. Ce processus peut entraîner dessèchement, rétraction ou déformation, notamment si le gel est peu rigide. Ces manipulations introduisent une marge d'erreur dans les résultats. Explorer des méthodes d'observation minimisant l'impact sur la structure du gel serait une piste intéressante, par exemple utiliser un marqueur possédant des atomes lourds. (Gancheva & Virgilio, 2018)

5.5 Limitations et perspectives

5.5.1 Fragilité des moules à porosité fine

Lors de tests sur des moules à porosité variable, il a été observé que des recuits inférieurs à 20 minutes donnaient des moules fragiles et friables, incapables de retenir la solution gélifiante. L'alignement et la petite porosité pourraient en être la cause. Cela limite les applications à une certaine gamme de porosité pour le moment. Il serait possible de varier les paramètres d'extrusion pour obtenir un meilleur résultat à la sortie de l'extrudeuse. Par exemple, temps de résidence, la vitesse de rotation ou encore la température d'extrusion. Une autre idée serait de congeler le moule et injecter la solution très froide pour éviter le plus possible le bris des moules. Ce sont des voies à explorer dans le futur.

5.5.2 Réticulation du PVA

En tentant d'extraire le polystyrène (PS) à l'aide d'un montage Soxhlet pour simplifier et accélérer le procédé, l'expérience ne s'est pas passée comme prévu. Après une semaine d'extraction, le PS a bien été extrait, mais les matrices poreuses en PVA (alcool polyvinylique) sont ressorties noires. Par la suite, la mise en solution dans de l'eau chaude à 70 °C n'a pas permis de solubiliser le PVA. En revanche, elles sont devenues très flexibles et souples, ressemblant à des éponges - un résultat observé lorsque les matrices ont été immergées dans de l'eau à différentes températures (**Figure 5.1**). De plus, la coloration noire disparaît après un certain temps dans l'eau

chaude. Pendant l'expérience, il a été constaté qu'une fuite était probablement survenue dans le montage, car il ne restait plus de chloroforme dans le ballon. Ce dernier contenait uniquement le PS extrait, mais dans un état très noirci. Par ailleurs, du chloroforme était toujours contenu dans le Soxhlet, au niveau des échantillons. La couleur noire des matrices et du PS extrait pourrait s'expliquer par l'utilisation d'un marqueur *Sharpie* noir pour annoter les contenants en cellulose qui contenaient les échantillons. Il est difficile d'identifier précisément la cause de ces altérations. La première hypothèse serait que la réticulation du PVA se fait avec un composé du marqueur combiné à une température élevée du solvant. Les principaux solvants retrouvés dans le marqueur sont des alcools (butanol, propanol, di-acetone alcool et éthanol), mais il contient également de l'éther monobutylique d'éthylène glycol. (Newell Brands, 2017; Sharpie, s.d.) Une autre hypothèse serait qu'un contaminant extérieur (solvant ou polymère) provenant de la verrerie par exemple, aurait réagi avec le PVA.

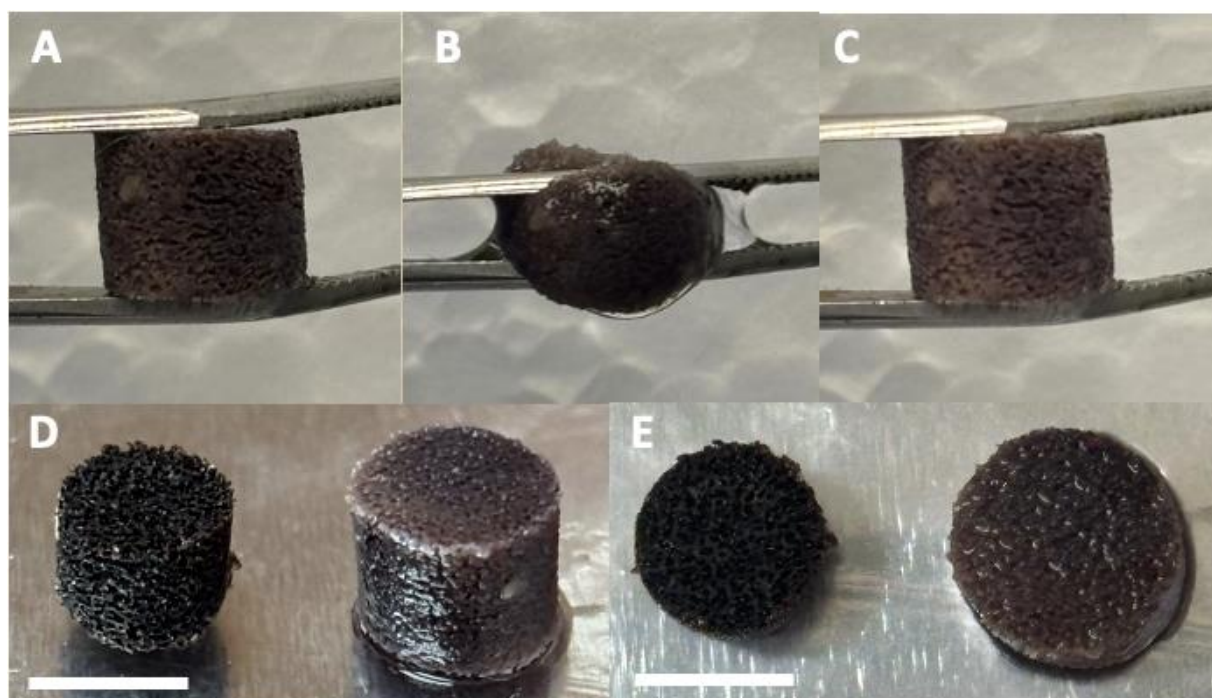


Figure 5.1 Matrices poreuses et flexibles en PVA suite au soxhlet et mise en solution aqueuse. (A) Avant compression par la pince, (B) pendant la compression, (C) après la compression. (D) Vue de côté d'un moule sortant du soxhlet à gauche et d'un moule après avoir été plongé dans l'eau à droite, (E) vue du dessus de ces même échantillons.

Pour essayer de comprendre la cause exacte du phénomène observé, une nouvelle expérience en Soxhlet a été réalisée, cette fois sans fuite mais toujours avec le marqueur *Sharpie* afin de voir si c'est bien un composé qui serait à l'origine de cette réticulation. Les matrices obtenues suite à cette nouvelle expérience étaient normales, montrant une hydrosolubilisation typique du PVA. Une autre expérience s'en est suivie, et celle-ci consistait à mettre les échantillons baignant dans le chloroforme dans des bouteilles en verre fermée et de chauffer le tout à environ 55 °C afin d'éviter l'ébullition du chloroforme et éviter ainsi une pression dans la bouteille. De plus, une bouteille a été testée avec du chloroforme seul et l'autre bouteille contenait un morceau de contenant en cellulose marqué au *Sharpie*. Cette expérience a permis de contrôler la température du solvant. Encore une fois les matrices étaient normales, montrant une hydrosolubilisation typique du PVA. Des tests supplémentaires sont alors nécessaires pour comprendre l'origine de ce résultat inattendu, notamment pour investiguer la deuxième hypothèse.

Malgré ces limites, les résultats obtenus démontrent la faisabilité de produire des hydrogels à partir de moules hydrosolubles avec une méthode simple et reproductible. L'optimisation des paramètres de recuit et d'injection, ainsi que l'exploration de nouvelles chimies d'hydrogels, représentent des pistes intéressantes pour des recherches futures.

CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Ce mémoire présente une nouvelle méthodologie pour préparer des hydrogels macroporeux en utilisant un polymère thermoplastique hydrosoluble thermosensible, l'alcool polyvinylique (PVA), dans des mélanges co-continus avec le polystyrène (PS). Cette approche innovante évite l'utilisation de solvants organiques en contact direct avec les hydrogels, répondant ainsi à une limitation critique pour les applications biomédicales. Grâce à un rapport volumique PS/PVA optimisé de 61/39 %v/v, des moules hydrosolubles avec une porosité entièrement interconnectée et ajustable ont été obtenus, permettant la fabrication de structures poreuses précises tout en conservant leurs dimensions macroscopiques. La porosité est ajustable par recuit statique permettant de s'adapter à divers projets. Les essais en extrusion permettent de démontrer la possibilité d'une mise à grande échelle de la production. De plus, les propriétés thermosensibles du PVA facilitent l'injection et la réticulation à basse température, suivies d'une solubilisation des moules à haute température pour produire des hydrogels poreux d'alginate. Cette méthode pourrait être adaptée à d'autres chimies d'hydrogels. Néanmoins, certains défis persistent, tels que le gonflement du PVA à basse température ou encore la fragilité de certains moules, ce qui souligne la nécessité d'améliorations ciblées.

Pour poursuivre ces travaux, il serait bénéfique d'explorer d'autres grades de PVA permettant de limiter le gonflement à basse température. Cela permettrait de diversifier les formulations et d'adapter les matériaux aux exigences spécifiques d'autres chimies d'hydrogels. Il serait aussi intéressant d'explorer les mélanges binaires avec deux polymères hydrosolubles pour éliminer complètement toute trace de solvants organiques du procédé. L'amélioration des méthodes de caractérisation, comme l'adoption de techniques non destructives pour l'analyse microstructurale des hydrogels, serait un atout pour obtenir des résultats plus fiables et reproductibles. Le procédé de fabrication mérite également une attention particulière. Des ajustements dans les paramètres d'extrusion aideraient à accroître la reproductibilité des moules et leur robustesse. De plus, des travaux sur les protocoles de dissolution et de réticulation simultanées à haute température pourraient ouvrir la voie à des applications pour des hydrogels aux chimies plus variées. Il serait d'ailleurs intéressant de tester d'autres chimies d'hydrogels avec la méthode développée. Les expériences menées ont également mis en évidence la nécessité de mieux comprendre certains mécanismes, comme ceux liés aux effets inattendus observés lors des tests en Soxhlet. Les résultats inattendus obtenus lors de ces expériences pourraient être intéressants pour

d'autres projets, compte tenu de la flexibilité des matrices obtenues. Enfin, il serait intéressant d'essayer d'imprimer le moule directement avec une imprimante 3D. Cela permettrait d'utiliser un seul polymère hydrosoluble et de contrôler plus précisément la porosité. De plus il serait possible d'avoir n'importe quelle forme d'hydrogel. Voici les recommandations sous forme de liste :

- Explorer d'autres grades de PVA et de polymères hydrosolubles pour élargir les possibilités de formulations et résoudre les problèmes liés au gonflement.
- Explorer les mélanges binaires avec deux polymères hydrosolubles pour éliminer complètement toute trace de solvants organiques du procédé.
- Mettre au point des techniques non destructives, comme l'utilisation de marqueurs lourds pour la microCT, afin de mieux analyser les structures poreuses des hydrogels.
- Affiner les paramètres d'extrusion pour améliorer la reproductibilité et permettre la production de formes complexes à plus grande échelle.
- Tester des combinaisons de dissolution et de réticulation simultanées, particulièrement à haute température, pour élargir l'éventail des hydrogels compatibles.
- Tester d'autres chimies d'hydrogels avec la méthode déployée.
- Identifier et corriger les sources « d'échec » lors des expériences en Soxhlet pour comprendre la réticulation observée et permettre l'utilisation de matrices en PVA flexibles pour d'autres applications.
- Imprimer le moule avec une imprimante 3D pour limiter l'utilisation à un seul polymère hydrosoluble, pour rendre le contrôle de la porosité très précise et permettre l'obtention de n'importe quelle forme d'hydrogel.

En somme, les travaux présentés établissent une base solide pour le développement d'hydrogels macroporeux à haute valeur ajoutée pour le domaine biomédical, tout en mettant en évidence des pistes d'amélioration pour renforcer leur applicabilité et leur efficacité. En répondant aux défis techniques identifiés, cette méthode pourrait être étendue à des applications biomédicales diversifiées, offrant des solutions innovantes, durables et flexibles pour des besoins variés, tels que la culture cellulaire 3D ou encore l'ingénierie tissulaire.

RÉFÉRENCES

- Alifieris, C., & Trafalis, D. T. (2015). Glioblastoma multiforme: Pathogenesis and treatment. *Pharmacology & Therapeutics*, 152, 63-82. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.05.005>
- Annabi, N., Fathi, A., Mithieux, S. M., Martens, P., Weiss, A. S., & Dehghani, F. (2011). The effect of elastin on chondrocyte adhesion and proliferation on poly (ϵ -caprolactone)/elastin composites. *Biomaterials*, 32(6), 1517-1525. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2010.10.024>
- Bell, J. R., Chang, K., López-Barrón, C. R., Macosko, C. W., & Morse, D. C. (2010). Annealing of Cocontinuous Polymer Blends: Effect of Block Copolymer Molecular Weight and Architecture. *Macromolecules*, 43(11), 5024-5032. <https://doi.org/10.1021/ma902805x>
- Bourry, D., & Favis, B. D. (1998). Cocontinuity and phase inversion in HDPE/PS blends: Influence of interfacial modification and elasticity. *Journal of polymer science part B: polymer physics*, 36(11), 1889-1899. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-0488\(199808\)36:11<1889::AID-POLB10>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-0488(199808)36:11<1889::AID-POLB10>3.0.CO;2-3)
- Brancato, V., Oliveira, J. M., Correló, V. M., Reis, R. L., & Kundu, S. C. (2020). Could 3D models of cancer enhance drug screening ? *Biomaterials*, 232, 119744. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119744>
- Byrne, D., Boeije, G., Croft, I., Hüttmann, G., Luijckx, G., Meier, F., . . . Stijntjes, G. (2021). Biodegradability of Polyvinyl Alcohol Based Film Used for Liquid Detergent Capsules. *Tenside Surfactants Detergents*, 58(2), 88-96. <https://doi.org/10.1515/tsd-2020-2326>
- Calore, A. R., Srinivas, V., Groenendijk, L., Serafim, A., Stancu, I. C., Wilbers, A., . . . Moroni, L. (2023). Manufacturing of scaffolds with interconnected internal open porosity and surface roughness. *Acta Biomaterialia*, 156, 158-176. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.07.017>
- Chan, V., Jeong, J. H., Bajaj, P., Collens, M., Saif, T., Kong, H., & Bashir, R. (2012). Multi-material bio-fabrication of hydrogel cantilevers and actuators with stereolithography. *Lab on a Chip*, 12(1), 88-98. <https://doi.org/10.1039/C1LC20688E>
- Chappellear, D. C. (1964). Interfacial tension between molten polymers. *Polym. Prepr*, 5, 363-371.
- Chu, C., Jablonska, A., Gao, Y., Lan, X., Lesniak, W. G., Liang, Y., . . . Walczak, P. (2022). Hyperosmolar blood-brain barrier opening using intra-arterial injection of hyperosmotic mannitol in mice under real-time MRI guidance. *Nature Protocols*, 17(1), 76-94. <https://doi.org/10.1038/s41596-021-00634-x>
- Dadsetan, M., Hefferan, T. E., Sxatkowski, J. P., Mishra, P. K., Macura, S. I., Lu, L., & Yaszemski, M. J. (2008). Effect of hydrogel porosity on marrow stromal cell phenotypic expression. *Biomaterials*, 29(14), 2193-2202. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.01.006>
- De France, K. J., Xu, F., & Hoare, T. (2018). Structured Macroporous Hydrogels: Progress, Challenges, and Opportunities. *Advanced Healthcare Materials*, 7(1), 1700927. <https://doi.org/10.1002/adhm.201700927>
- Delaney, J. T., Liberski, A. R., Perelaer, J., & Schubert, U. S. (2010). Reactive inkjet printing of calcium alginate hydrogel porogens—a new strategy to open-pore structured matrices with controlled geometry. *Soft Matter*, 6(5), 866-869. <https://doi.org/10.1039/B922888H>
- Delattre, L., Naasri, S., Solano, A. G., Therriault, H., Bergeron-Fortier, S., Moreau, V., . . . Virgilio, N. (2024). The role of pore size and mechanical properties on the accumulation, retention and distribution of F98 glioblastoma cells in macroporous hydrogels. *Biomed Mater*, 19(4). <https://doi.org/10.1088/1748-605X/ad581b>

- El Kheir, W., Marcos, B., Virgilio, N., Paquette, B., Faucheux, N., & Lauzon, M.-A. (2022). Drug Delivery Systems in the Development of Novel Strategies for Glioblastoma Treatment. *Pharmaceutics*, 14(6), 1189. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061189>
- Elemans, P. H. M., Janssen, J. M. H., & Meijer, H. E. H. (1990). The measurement of interfacial tension in polymer/polymer systems: The breaking thread method. *Journal of Rheology*, 34(8), 1311-1325. <https://doi.org/10.1122/1.550087>
- Esquirol, A.-L., Sarazin, P., & Virgilio, N. (2014). Tunable Porous Hydrogels from Cocontinuous Polymer Blends. *Macromolecules*, 47(9), 3068-3075. <https://doi.org/10.1021/ma402603b>
- Favis, B. D. (1990). The effect of processing parameters on the morphology of an immiscible binary blend. *Journal of applied polymer science*, 39(2), 285-300. <https://doi.org/10.1002/app.1990.070390207>
- Favis, B. D. (2000). Factors influencing the morphology of immiscible polymer blends in melt processing. Dans *Polymer blends Volume 1 : Formation* (D. R. Paul and C. B. Bucknall^e éd., vol. 1, p. 501-537).
- Favis, B. D., & Chalifoux, J. P. (1988). Influence of composition on the morphology of polypropylene/polycarbonate blends. *Polymer*, 29(10), 1761-1767. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(88\)90388-6](https://doi.org/10.1016/0032-3861(88)90388-6)
- Finch, C. A. (1983). Some properties of polyvinyl alcohol and their possible applications. Dans F. C. A. (édit.), *Chemistry and Technology of Water-Soluble Polymers* (p. 287-306).
- Galloway, J. A., & Macosko, C. W. (2004). Comparison of methods for the detection of cocontinuity in poly(ethylene oxide)/polystyrene blends. *Polymer Engineering and Science*, 44(4), 714-727. <https://doi.org/10.1002/pen.20064>
- Galloway, J. A., Montminy, M. D., & Macosko, C. W. (2002). Image analysis for interfacial area and cocontinuity detection in polymer blends. *Polymer*, 43(17), 4715-4722. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(02\)00282-3](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(02)00282-3)
- Gancheva, T., & Virgilio, N. (2018). Tailored Macroporous Hydrogels with Nanoparticles Display Enhanced and Tunable Catalytic Activity. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 10(25), 21073-21078. <https://doi.org/10.1021/acsami.8b06560>
- Gao, J., Ding, X., Yu, X., Chen, X., Zhang, X., Cui, S., . . . Ding, J. (2021). Cell-Free Bilayered Porous Scaffolds for Osteochondral Regeneration Fabricated by Continuous 3D-Printing Using Nascent Physical Hydrogel as Ink. *Advanced Healthcare Materials*, 10(3), 2001404. <https://doi.org/10.1002/adhm.202001404>
- Gopalakrishnan, A., Shankarappa, S. A., & Rajanikant, G. K. (2019). Hydrogel Scaffolds: Towards Restitution of Ischemic Stroke-Injured Brain. *Translational stroke research*, 10(1), 1-18. <https://doi.org/10.1007/s12975-018-0655-6>
- Gravidel Mehr, N., Li, X., Ariganello, M. B., Hoemann, C. D., & Favis, B. D. (2014). Poly(ϵ -caprolactone) scaffolds of highly controlled porosity and interconnectivity derived from co-continuous polymer blends: model bead and cell infiltration behavior. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 25, 2083-2093. <https://doi.org/10.1007/s10856-014-5256-7>
- Grochans, S., Cybulska, A. M., Simińska, D., Korbecki, J., Kojder, K., Chlubek, D., & Baranowska-Bosiacka, I. (2022). Epidemiology of Glioblastoma Multiforme—Literature Review. *Cancers*, 14(10), 2412. <https://doi.org/10.3390/cancers14102412>
- Gu, L., Nessim, E. E., & Macosko, C. W. (2018). Reactive compatibilization of poly (lactic acid)/polystyrene blends and its application to preparation of hierarchically porous poly (lactic acid). *Polymer*, 134, 104-116. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2017.11.054>

- Gu, W., Fan, R., Quan, J., Cheng, Y., Wang, S., Zhang, H., . . . Song, S. (2022). Intracranial In Situ Thermosensitive Hydrogel Delivery of Temozolomide Accomplished by PLGA–PEG–PLGA Triblock Copolymer Blending for GBM Treatment. *Polymers*, 14(16), 3368. <https://doi.org/10.3390/polym14163368>
- Guo, Y., & Yu, G. (2021). Engineering Hydrogels for Efficient Solar Desalination and Water Purification. *Accounts of Materials Research*, 2(5), 306-384. <https://doi.org/10.1021/accountsmr.1c00057>
- Habanjar, O., Diab-Assaf, M., Caldefie-Chezet, F., & Delort, L. (2021). 3D Cell Culture Systems: Tumor Application, Advantages, and Disadvantages. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(22), 12200. <https://doi.org/10.3390/ijms222212200>
- Haji Abdolrasouli, M., Jalali Dil, E., & Khorshidi Mal Ahmadi, J. (2021a). Interfacial lubricating effect in phase coarsening of polyethylene/polycaprolactone/polyethylene oxide tri-continuous polymer blends. *Polymer Engineering & Science*, 61(11), 2771-2781. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/pen.25755>
- Haji Abdolrasouli, M., Jalali Dil, E., & Khorshidi Mal Ahmadi, J. (2021b). A new empirical model for quiescent annealing of binary co-continuous polymer blends. *Iran Polymer Journal*, 30(6), 559-568. <https://doi.org/10.1007/s13726-021-00912-1>
- Ho, T.-C., Chang, C.-C., Chan, H.-P., Chung, T.-W., Shu, C.-W., Chuang, K.-P., . . . Tyan, Y.-C. (2022). Hydrogels: Properties and Applications in Biomedicine. *Molecules*, 27(9), 2902. <https://doi.org/10.3390/molecules27092902>
- Idlas, P., Lepeltier, E., Bastiat, G., Pigeon, P., McGlinchey, M. J., Lautram, N., . . . Passirani, C. (2023). Physicochemical Characterization of Ferrocifen Lipid Nanocapsules: Customized Drug Delivery Systems Guided by the Molecular Structure. *Langmuir*, 39(5), 1885-1896. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c02910>
- Inci, I., Kirsebom, H., Galaev, I. Y., Mattiasson, B., & Piskin, E. (2013). Gelatin cryogels crosslinked with oxidized dextran and containing freshly formed hydroxyapatite as potential bone tissue-engineering scaffolds. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 7(7), 584-588. <https://doi.org/10.1002/term.1464>
- Jiang, L., Yan, C., Zhai, Y.-M., Luo, F., Meng, H., Yin, B., . . . Yang, M.-B. (2024). Highly-toughened PLLA/PVA biodegradable blends: Graft copolymer tailored crystallization and phase morphology. *Polymer*, 312, 127606. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2024.127606>
- Johansen, P. M., Hansen, P. Y., Mohamed, A. A., Girshfeld, S. J., Feldmann, M., & Lucke-Wold, B. (2023). Focused ultrasound for treatment of peripheral brain tumors. *Exploration of Drug Science*, 1(2), 107-125. <https://doi.org/10.37349/eds.2023.00009>
- Kabbara, M., Gancheva, T., Gazil, O., & Virgilio, N. (2016). Preparation of Porous Organogels Using Water Soluble Polymer Templates. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 217(18), 2081-2088. <https://doi.org/10.1002/macp.201600212>
- Lee, H., Guo, Y., Ross, J. L., Schoen, S., Degertekin, F. L., & Arvanitis, C. (2022). Spatially targeted brain cancer immunotherapy with closed-loop controlled focused ultrasound and immune checkpoint blockade. *Science Advances*, 8(46), eadd2288. <https://doi.org/10.1126/sciadv.add2288>
- Lee, M. H., Fleischer, C. A., Morales, A. R., Koberstein, J. T., & Koningsvelds, R. (2001). The effect of end groups on thermodynamics of immiscible polymer blends. 2. Cloud point curves. *Polymer*, 42(21), 9163-9172. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(01\)00399-8](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(01)00399-8)
- Leung, B. O., Hitchcock, A. P., Brash, J. L., Scholl, A., & Doran, A. (2009). Phase Segregation in Polystyrene–Polylactide Blends. *Macromolecules*, 42(5), 1679-1684. <https://doi.org/10.1021/ma802176b>

- Li, J., & Favis, B. D. (2001). Characterizing co-continuous high density polyethylene/polystyrene blends. *Polymer*, 42(11), 5047-5053. [https://doi.org/10.1016/S0032-3861\(00\)00785-0](https://doi.org/10.1016/S0032-3861(00)00785-0)
- Li, Y., Sun, S., Gao, P., Zhang, M., Fan, C., Lu, Q., . . . Jiang, Y. (2021). A tough chitosan-alginate porous hydrogel prepared by simple foaming method. *Journal of Solid State Chemistry*, 294, 121797. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2020.121797>
- Liu, B., Jin, M., & Wang, D.-A. (2023). In vitro expansion of hematopoietic stem cells in a porous hydrogel-based 3D culture system. *Acta Biomaterialia*, 161, 67-79. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2023.01.057>
- Liu, Y., Fu, Y., Xu, Z., Xiao, X., Li, P., Wang, X., & Guo, H. (2023). Solubilization of Fully Hydrolyzed Poly(vinyl alcohol) at Room Temperature for Fabricating Recyclable Hydrogels. *ACS Macro Letters*, 12(11), 1543-1548. <https://doi.org/10.1021/acsmacrolett.3c00555>
- López-Barrón, C. R., & Macosko, C. W. (2010). A new model for the coarsening of cocontinuous morphologies. *Soft Matter*, 6(12), 2637-2647. <https://doi.org/10.1039/B926191E>
- Ma, Y., Wang, X., Su, T., Lu, F., Chang, Q., & Gao, J. (2022). Recent Advances in Macroporous Hydrogels for Cell Behavior and Tissue Engineering. *Gels*, 8(10), 606. <https://doi.org/10.3390/gels8100606>
- Macosko, C. W. (2000). Morphology development and control in immiscible polymer blends. *Macromolecular Symposia*, 149(1), 171-184. [https://doi.org/10.1002/1521-3900\(200001\)149:1<171::AID-MASY171>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1521-3900(200001)149:1<171::AID-MASY171>3.0.CO;2-8)
- Moody, C. T., Durham, P. G., Dayton, P. A., & Brudno, Y. (2023). Loading Intracranial Drug-Eluting Reservoirs Across the Blood–Brain Barrier With Focused Ultrasound. *Ultrasound in Medicine & Biology*, 49(7), 1679-1685. <https://doi.org/10.1016/j.ultrasmedbio.2023.03.012>
- Morales, D. E., & Mousa, S. (2022). Intranasal delivery in glioblastoma treatment: prospective molecular treatment modalities. *Heliyon*, 8(5), e09517. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e09517>
- Morris, V. B., Nimbalkar, S., Younesi, M., McClellan, P., & Akkus, O. (2017). Mechanical Properties, Cytocompatibility and Manufacturability of Chitosan: PEGDA Hybrid-Gel Scaffolds by Stereolithography. *Annals of biomedical engineering*, 45, 286-296. <https://doi.org/10.1007/s10439-016-1643-1>
- Newell Brands. (2017). Sharpie Markers [safety data sheet], 68075071233, accédé le 3 décembre 2024,. https://s3-ap-southeast-2.amazonaws.com/wc-prod-pim/Asset_Documents/Sharpie%20Marker%20SDS.pdf
- Nicol, E. (2021). Photopolymerized Porous Hydrogels. *Biomacromolecules*, 22(4), 1325-1345. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.0c01671>
- Oliverio, R., Patenaude, V., Liberelle, B., Virgilio, N., Banquy, X., & De Crescenzo, G. (2022). Macroporous dextran hydrogels for controlled growth factor capture and delivery using coiled-coil interactions. *Acta Biomaterialia*, 153, 190-203. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2022.09.020>
- Ostrom, Q. T., Price, M., Neff, C., Cioffi, G., Waite, K. A., Kruchko, C., & Barnholtz-Sloan, J. S. (2023). CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2016—2020. *Neuro-Oncology*, 25(Supplement_4), iv1-iv99. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noad149>
- Pares, L. (2023). *Conception d'un hydrogel macroporeux de chitosane et d'alginate réticulé avec de la génipine pour la capture de cellules cancéreuses de glioblastome* [Master's thesis, Polytechnique Montréal]. <https://publications.polymtl.ca/57112/>

- Parès, L., Naasri, S., Delattre, L., Therriault, H., Liberelle, B., De Crescenzo, G., . . . Virgilio, N. (2024). Macroporous chitosan/alginate hydrogels crosslinked with genipin accumulate and retain glioblastoma cancer cells. *RSC Advances*, 14(48), 35286-35304. <https://doi.org/10.1039/D4RA06197G>
- Paul, D. R. (1978). *Polymer Blends* (vol. 1). Elsevier.
- Pierrot, F. (2018). *Polymérisation in-situ en milieu fondu et sous écoulement élongationnel pour l'élaboration de nouveaux matériaux* [Thèse de doctorat, Université de Strasbourg]. <https://theses.hal.science/tel-02049729>
- Pötschke, P., & Paul, D. R. (2003). Formation of Co-continuous Structures in Melt-Mixed Immiscible Polymer Blends. *Journal of Macromolecular Science, Part C : Polymer Reviews*, 43(1), 87-141. <https://doi.org/10.1081/MC-120018022>
- Ravati, S., & Favis, B. D. (2010). Morphological states for a ternary polymer blend demonstrating complete wetting. *Polymer*, 51(20), 4547-4561. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2010.07.014>
- Robeson Lloyd, M. (2007). Polymer blends: A Comprehensive review. *Hanser, ISBN-10*, 3-446. http://files.hanser.de/Files/Article/ARTK_LPR_9783446225695_0001.pdf
- Safi, C. (2022). *Effet du chitosane sur des hydrogels macroporeux d'alginate pour la capture de cellules cancéreuses du glioblastome multiforme* [M.A.Sc., Ecole Polytechnique, Montreal (Canada)]. Dissertations & Theses @ Ecole Polytechnique de Montreal; ProQuest Dissertations & Theses Global. <https://publications.polymtl.ca/10335/>
- Safi, C., Solano, A. G., Liberelle, B., Therriault, H., Delattre, L., Abdelkhalek, M., . . . Virgilio, N. (2022). Effect of Chitosan on Alginate-Based Macroporous Hydrogels for the Capture of Glioblastoma Cancer Cells. *ASC Applied Bio Materials*, 5(9), 4531-4540. <https://doi.org/10.1021/acsabm.2c00598>
- Sarazin, P., & Favis, B. D. (2003). Morphology Control in Co-continuous Poly(l-lactide)/Polystyrene Blends: A Route towards Highly Structured and Interconnected Porosity in Poly(l-lactide) Materials. *Biomacromolecules*, 4(6), 1669-1679. <https://doi.org/10.1021/bm030034+>
- Sarazin, P., & Favis, B. D. (2005). Influence of temperature-induced coalescence effects on co-continuous morphology in poly (ϵ -caprolactone)/polystyrene blends. *Polymer*, 46(16), 5966—5978. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2005.04.064>
- Savina, I. N., Zoughaib, M., & Yergeshov, A. A. (2021). Design and Assessment of Biodegradable Macroporous Cryogels as Advanced Tissue Engineering and Drug Carrying Materials. *Gels*, 7(3), 79. <https://doi.org/10.3390/gels7030079>
- Sharpie. (s.d.). *FAQ*. <https://www.sharpie.ca/fr/support?cfid=faqs#:~:text=Les%20principaux%20solvants%20sont%20des,de%20glycol%20n'est%20utilisé.>
- Solano, A. G., Dupuy, J., Therriault, H., Liberelle, B., Fauchaux, N., Lauzon, M.-A., . . . Paquette, B. (2021). An alginate-based macroporous hydrogel matrix to trap cancer cells. *Carbohydrate Polymers*, 266, 118115. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118115>
- Tang, Y., Lin, S., Yin, S., Jiang, F., Zhou, M., Yang, G., . . . Jiang, X. (2020). In situ gas foaming based on magnesium particle degradation: A novel approach to fabricate injectable macroporous hydrogels. *Biomaterials*, 232, 119727. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.119727>
- Tanikawa, S., Ebisu, Y., Sedláčik, T., Semba, S., Nonoyama, T., Kurokawa, T., . . . Tanaka, S. (2023). Engineering of an electrically charged hydrogel implanted into a traumatic brain

- injury model for stepwise neuronal tissue reconstruction. *Scientific Reports*, 13(1), 2233. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-28870-z>
- Urbańska, K., Sokołowska, J., Szmidt, M., & Sysa, P. (2014). Review paper Glioblastoma multiforme – an overview. *Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia*, 18(5), 307-312. <https://doi.org/10.5114/wo.2014.40559>
- Vera Garci, P. F., Guerrero Dimas, L. A., Cedillo Portillo, J. J., Martínez Anguiano, O. A., Sáenz Galindo, A., Narro Cespedes, R. I., . . . Castañeda Facio, A. (2023). PVA Blends and Nanocomposites, Properties and Applications: A Review. Dans F. Avalos Belmontes, González, F.J., López-Manchado, M.Á. (édit.), *Green-Based Nanocomposite Materials and Applications* (p. 191-206). Springer International Publishing.
- Wang, J., & Ye, L. (2015). Structure and properties of polyvinyl alcohol/polyurethane blends. *Composites Part B: Engineering*, 69, 389-396. <https://doi.org/10.1016/j.compositesb.2014.10.013>
- Wang, W., He, H., Zeng, S., Cho, H.-Y., Minea, R. O., Swenson, S. D., . . . Chen, T. C. (2023). Enhanced brain entry of checkpoint-inhibitory therapeutic antibodies facilitated by intraarterial NEO100 in mouse models of brain-localized malignancies. *Journal of Neurosurgery*, 139(3), 822-830. <https://doi.org/10.3171/2022.12.JNS221285>
- Wang, X., Li, W., & Kumar, V. (2006). A method for solvent-free fabrication of porous polymer using solid-state foaming and ultrasound for tissue engineering applications. *Biomaterials*, 27(9), 1924-1929. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.09.029>
- Wei, X., Chen, J., Shen, H.-Y., Jiang, K., Ren, H., Liu, Y., . . . Li, Z.-M. (2024). Hierarchically Biomimetic Scaffolds with Anisotropic Micropores and Nanotopological Patterns to Promote Bone Regeneration via Geometric Modulation. *Advanced Healthcare Materials*, 13, 2304178. <https://doi.org/10.1002/adhm.202304178>
- Xavier, P., Rao, P., & Bose, S. (2016). Nanoparticle induced miscibility in LCST polymer blends: critically assessing the enthalpic and entropic effects. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18(1), 47-64. <https://doi.org/10.1039/C5CP05852J>
- Yan, X., Cayla, A., Devaux, E., & Salaün, F. (2018). Microstructure Evolution of Immiscible PP-PVA Blends Tuned by Polymer Ratio and Silica Nanoparticles. *Polymers*, 10(9), 1031. <https://doi.org/10.3390/polym10091031>
- Yuan, Z., & Favis, B. D. (2004). Macroporous poly(l-lactide) of controlled pore size derived from the annealing of co-continuous polystyrene/poly(l-lactide) blends. *Biomaterials*, 25(11), 2161-2170. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2003.08.060>
- Yuan, Z., & Favis, B. D. (2005). Coarsening of immiscible co-continuous blends during quiescent annealing. *AIChE journal*, 51(1), 271-280. <https://doi.org/10.1002/aic.10281>
- Zhang, J. H., Ravati, S., Virgilio, N., & Favis, B. D. (2007). Ultralow percolation thresholds in ternary cocontinuous polymer blends. *Macromolecules*, 40(25), 8817-8820. <https://doi.org/10.1021/ma0716480>
- Zhang, R., Liu, B., Ma, J., & Zhu, R. (2022). Preparation and characterization of carboxymethyl cellulose/chitosan/alginate acid hydrogels with adjustable pore structure for adsorption of heavy metal ions. *European Polymer Journal*, 179, 111577. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111577>
- Zhao, Y., Lo, C.-Y., Ruan, L., Pi, C.-H., Kim, C., Alsaid, Y., . . . He, X. (2021). Somatosensory actuator based on stretchable conductive photothermally responsive hydrogel. *Science Robotics*, 6(53), eabd5483. <https://doi.org/10.1126/scirobotics.abd5483>

Zhou, S., Bismarck, A., & Steinke, J. H. G. (2013). Ion-responsive alginate based macroporous injectable hydrogel scaffolds prepared by emulsion templating. *Journal of Materials Chemistry B*, 1(37), 4736-4745. <https://doi.org/10.1039/C3TB20888E>