

Titre: Hydrogels à base d'alcool polyvinyle (PVA)/dextrane pour la fabrication de valves cardiaques
Title: Hydrogels à base d'alcool polyvinyle (PVA)/dextrane pour la fabrication de valves cardiaques

Auteur: Emma Sulmoni
Author:

Date: 2025

Type: Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis

Référence: Sulmoni, E. (2025). Hydrogels à base d'alcool polyvinyle (PVA)/dextrane pour la fabrication de valves cardiaques [Master's thesis, Polytechnique Montréal].
Citation: PolyPublie. <https://publications.polymtl.ca/67684/>

Document en libre accès dans PolyPublie

Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: <https://publications.polymtl.ca/67684/>
PolyPublie URL:

Directeurs de recherche: Gregory De Crescenzo, & François Tournoux
Advisors:

Programme: Génie biomédical
Program:

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Hydrogels à base d'alcool polyvinyle (PVA)/dextrane pour la fabrication de valves cardiaques

EMMA SULMONI

Institut de génie biomédical

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

Génie biomédical

Août 2025

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL

affiliée à l'Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

Hydrogels à base d'alcool polyvinyle (PVA)/dextrane pour la fabrication de valves cardiaques

présenté par **Emma SULMONI**

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

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

Jean-Marie RAQUEZ, président

Gregory DE CRESCENZO, membre et directeur de recherche

François TOURNOUX, membre et codirecteur de recherche

Nick VIRGILIO, membre

DÉDICACE

À mes parents et mon frère,

À Camille,

À Pauline,

REMERCIEMENTS

Je voudrais remercier mon directeur de recherche, le professeur Gregory De Crescenzo ainsi que mon codirecteur de recherche le professeur François Tournoux pour m'avoir offert l'opportunité de réaliser ma maîtrise au sein de leurs groupes. Je les remercie de m'avoir accompagnée tout au long de cette maîtrise et de m'avoir accordée leur confiance.

Je tiens à remercier Benoît Liberelle et Anne-Sophie Zenses, associés de recherche de mes directeurs respectifs, pour leur accompagnement et leurs retours toujours très constructifs et bienveillants.

Je remercie les professeurs Lyes Kadem et Wael Saleh de m'avoir accueillie dans leur laboratoire à l'Université de Concordia dans le cadre des tests conduits sur simulateur cardiaque.

Je voudrais également remercier le professeure Sophie Lerouge ainsi que son assistant de recherche, Francesco Touani Kameni, de m'avoir accueillie dans leur laboratoire au CRCHUM et m'avoir accompagnée dans la réalisation des tests de biocompatibilité.

Finalement j'aimerai remercier Zoubaire Moustaine, étudiant au doctorat et mon coéquipier durant une grande partie de ma maîtrise. Nos nombreux échanges, toujours stimulants et bienveillants, m'ont aidée à développer mon esprit critique et m'ont beaucoup apporté tout au long de ce parcours.

RÉSUMÉ

Dans le monde, environ 250 000 personnes sont opérées pour un remplacement de valve cardiaque chaque année. Au Canada, il est estimé que d'ici 2040, près de 1.5 millions de personnes âgées de plus de 65 ans présenteront une pathologie cardiaque associée à une défaillance valvulaire. Les remplacements actuels se font avec deux types de valves artificielles : les valves mécaniques et bioprothétiques. Ces valves présentent des limites en termes de biocompatibilité, durabilité et accessibilité. Ces limites ont conduit à l'émergence de valves polymériques, qui peuvent être conçues sur mesure, leur composition étant modulable pour optimiser leur biocompatibilité et leur propriétés mécaniques. Cependant, elles rencontrent aussi des limites concernant leur durabilité à long terme et une biocompatibilité insuffisante favorisant la thrombose.

L'objectif principale de ce projet est de développer des hydrogels à base de PVA/dextrane destinés à la fabrication de valves cardiaques moulées qui présentent une biocompatibilité améliorée tout en maintenant les propriétés mécaniques requises pour l'application aux valves cardiaques.

Des hydrogels de PVA/dextrane avec des concentrations de dextrane croissantes ont été produits et réticulés physiquement et/ou chimiquement (avec du STMP). Ces hydrogels ont été coulés dans des moules de valves cardiaques imprimés en 3D. L'étanchéité et la stabilité dimensionnelle des valves a été évaluée. Les propriétés mécaniques, la cytotoxicité ainsi que le caractère antiadhésif des hydrogels ont été déterminés. Les valves produites sont étanches et leurs tailles se stabilisent deux semaines après fabrication. Les hydrogels possèdent des propriétés mécaniques compatibles avec l'application aux valves cardiaques, leurs modules de Young variant de 322 ± 46 kPa à 528 ± 33 kPa et les contraintes maximales supportées étant de l'ordre de 1 MPa. Les hydrogels contenant la plus forte concentration de dextrane ainsi que ceux ayant été réticulés chimiquement et physiquement présentent une résistance à la fatigue augmentée par rapport aux autres. Les hydrogels n'ont pas montré de cytotoxicité. Les hydrogels avec les concentrations en dextrane les plus élevées présentent une adsorption du fibrinogène inférieures aux autres, indiquant une meilleure aptitude à réduire la thrombogénicité. Ces résultats désignent les hydrogels PVA/dextrane en proportions 100/20 et PVA/dextrane/STMP en proportions 100/10/13 comme les matériaux les plus prometteurs pour l'application aux valves cardiaques. À l'avenir, des tests de fatigue à long terme et des essais supplémentaires d'adhésion plaquettaire seront nécessaires pour confirmer les résultats initiaux.

ABSTRACT

Around the world, approximately 250,000 people undergo heart valve replacement surgery each year. In Canada, it is estimated that by 2040, nearly 1.5 million people aged over 65 years will have a heart condition associated with valve failure. Current replacements are made with two types of artificial valves: mechanical and bioprosthetic valves. These valves have limitations in terms of biocompatibility, durability, and accessibility. These limits have led to the emergence of polymeric valves, which can be custom-made, their composition being adjustable to optimize their biocompatibility and mechanical properties. However, they also encounter limits regarding their long-term durability and insufficient biocompatibility favoring thrombosis.

The main objective of this project is to develop PVA/dextran hydrogels for the manufacture of molded heart valves that exhibit improved biocompatibility while maintaining mechanical properties required for application to heart valves.

PVA/dextran hydrogels with increasing dextran concentrations were produced and physically and/or chemically cross-linked (with STMP). These hydrogels were cast in 3D printed heart valve molds. The leakage and dimensional stability of the valves were evaluated. The mechanical properties, cytotoxicity and low-fouling properties of the hydrogels were determined. The valves produced exhibit no leakage and their sizes stabilize two weeks after fabrication. The hydrogels have mechanical properties compatible with the application to heart valves, their Young's modulus varying from 322 ± 46 kPa to 528 ± 33 kPa and the maximum stresses supported being of the order of 1 MPa. Hydrogels containing the highest concentration of dextran as well as those that have been chemically and physically cross-linked exhibit increased fatigue resistance compared to others. None of the hydrogels shows cytotoxicity. Hydrogels with the highest dextran concentrations exhibit lower fibrinogen adsorption than others, indicating a better ability to reduce thrombogenicity. These results designate the hydrogels PVA/dextran at 100/20 ratio and PVA/dextran/STMP at 100/10/13 ratio as the most promising materials for application to heart valves. In the future, long-term fatigue tests and additional platelet adhesion testing will be required to confirm initial results.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE.....	III
REMERCIEMENTS	IV
RÉSUMÉ.....	V
ABSTRACT	VI
LISTE DES TABLEAUX.....	X
LISTE DES FIGURES	XI
LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS	XVI
LISTE DES ANNEXES.....	XVIII
CHAPITRE 1 INTRODUCTION.....	1
1.1 Maladies des valves cardiaques et traitements actuels.....	1
1.2 Problématique.....	2
1.3 Objectif et hypothèses de recherche.....	2
1.4 Intégration de ce travail dans le projet Valves-in-Veins	3
1.5 Structure générale du mémoire	4
CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE	6
2.1 Fonctionnement et anatomie du cœur	6
2.1.1 Description générale du cœur.....	6
2.1.2 Déroulement d'un cycle cardiaque.....	7
2.1.3 Les valves cardiaques.....	11
2.2 Maladies cardiaques	20
2.2.1 Première cause de mortalité dans le monde	20
2.2.2 Dysfonctionnement des valves cardiaques.....	20
2.3 Prothèses valvulaires actuelles	22

2.3.1	Valves mécaniques	22
2.3.2	Valves biologiques/bioprothétiques	23
2.3.3	Valves polymériques	24
2.4	Hydrogels pour la fabrication de valves cardiaques.....	28
2.4.1	Propriétés mécaniques des hydrogels dans l'application aux valves cardiaques ...	28
2.4.2	L'alcool polyvinyle (PVA) comme polymère pour la fabrication des valves polymériques	31
2.4.3	Le dextrane pour l'optimisation de la biocompatibilité	34
2.4.4	Association des polymères PVA/Dextrane pour des hydrogels appliqués au domaine cardiovasculaire.....	38
2.5	Biocompatibilité des hydrogels	41
2.5.1	Adsorption des protéines	41
2.5.2	Adhésion et activation des plaquettes	42
2.5.3	Influence des caractéristiques de surface du biomatériau sur l'adhésion des protéines et le comportement cellulaire	43
2.5.4	Tests requis pour évaluer la biocompatibilité	44
CHAPITRE 3	MATÉRIEL ET MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE	48
3.1	Préparation des hydrogels	48
3.1.1	Mélange et composition des hydrogels	48
3.1.2	Moulage des valves cardiaques	49
3.1.3	Moulage des membranes	51
3.2	Étanchéité des valves	52
3.3	Rétrécissement des valves	53
3.4	Caractérisation des propriétés mécaniques des hydrogels	54
3.4.1	Tests en tension	54

3.4.2	Tests de fatigue.....	55
3.5	Caractérisation de la biocompatibilité des hydrogels.....	56
3.5.1	Cytotoxicité indirecte	56
3.5.2	Adsorption des protéines	58
3.6	Analyse statistique.....	60
CHAPITRE 4 RÉSULTATS ET DISCUSSION.....		62
4.1	Évaluation des valves en hydrogels	62
4.1.1	Homogénéité des hydrogels	62
4.1.2	Étanchéité des valves	63
4.1.3	Rétrécissement des valves	65
4.2	Caractérisation mécanique des hydrogels	66
4.2.1	Tests de traction	66
4.2.2	Tests de fatigue.....	71
4.3	Évaluation de la biocompatibilité des hydrogels.....	78
4.3.1	Cytotoxicité	78
4.3.2	Adsorption des protéines	80
CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE		89
CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS		92
CHAPITRE 7 TRAVAUX ADDITIONNELS		94
RÉFÉRENCES		95
ANNEXES		105

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 Principales propriétés mécaniques des valves natives selon la littérature. E : module de Young, UTS : Ultimate tensile strength (Contrainte maximale), EB : Elongation at break (Elongation maximale à la rupture).....	17
Tableau 2.2 Module de Young, contrainte max et déformation max pour des hydrogels de PVA de la littérature. Le terme « cycle » fait référence à un cycle de congélation/décongélation subit par l'hydrogel. Le module de Young est exprimée en kPa, la contrainte maximale en MPa et l'élongation maximale en %.	40
Tableau 3.1 Résumé de la composition des hydrogels formulés. w/v % = grammes de soluté / 100 mL de solution.....	49
Tableau 4.1 Récupération d'énergie des hydrogels entre des cycles 1 et 1000 et les cycles 100 et 1000.....	77
Tableau A.1 Méthodes de formulation d'hydrogels de PVA et/ou dextrane répertoriées dans la littérature	105
Tableau B.1 Contrainte maximale, Elongation maximale et module de Young dans la zone de 30 à 50% de déformation	112
Tableau B.2 Contrainte à 40% de déformation pour chaque condition aux cycles 1, 10, 100 et 1000.....	112
Tableau B.3 Modules de Young dans la zone de déformation 30-40% pour chaque condition et pour les cycles 1, 10, 100 et 1000	113
Tableau C.1 Fluorescence de l'albumine Texas Red (0.2 mg/ml) adsorbée à la surface de chaque matériau (n=6). L'arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d'incubation d'albumine (0.2mg/ml)...	115
Tableau D.1 Fluorescence du fibrinogène (1.5 mg/ml) adsorbée à la surface de chaque matériau (n=6). L'arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d'incubation du fibrinogène (1.5 mg/ml).....	117

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Concept du projet Valves-in-Veins, grossissement de la partie gauche du cœur. Les valves polymériques sont conçues pour être implantées dans les veines pulmonaires. Elles permettent d'éviter le reflux du sang riche en dioxygène vers les poumons lors de la systole ventriculaire. Le retour du sang vers les poumons pouvant entraîner des œdèmes pulmonaires et causer des difficultés respiratoires.....	4
Figure 2.1 Coupe frontale du cœur humain. La partie gauche du cœur est représentée en rouge, la partie droite en bleu. Rond bleu : valve tricuspidale ; rond vert : valve pulmonaire ; rond rouge : valve aortique ; rond jaune : valve mitrale. Les flèches pointillées représentent le sens de circulation du sang. Inspiré de [7].	6
Figure 2.2 Cycle cardiaque pour la partie gauche du cœur. Les flèches rouges indiquent la direction du sang riche en oxygène qui provient des poumons.....	8
Figure 2.3 Cycle cardiaque, pressions et volumes associées. S : semilunaire ; A-V : atrioventriculaire ; VFD : Volume de fin de diastole ; VES : Volume d'éjection systolique ; VFS : Volume de fin de systole. Inspiré de [10]. Remarque : la nomenclature a, b, c...etc est arbitraire.	11
Figure 2.4 Coupe du cœur, visualisation des quatre valves cardiaques vue du dessus. Inspiré de [15].	12
Figure 2.5 Représentation des feuillets d'une valve cardiaque. a) Organisation des couches composant la valve aortique ; b) Organisation des couches composant la valve aortique et position par rapport à l'anatomie de la valve ; c) Organisation des couches composant la valve mitrale et position par rapport à l'anatomie de la valve. La flèche en pointillés représente le sens de circulation du sang. Inspiré de [18].	14
Figure 2.6 Contraintes appliquées sur les feuillets de la valve aortique a) Schéma d'un feuillet : b) Schéma du positionnement du feuillet dans la valve ; c) Courbe contrainte déformation pour la valve aortique humaine dans les directions circonférentielles et radiales. Inspiré de [22].	15
Figure 2.7 Représentation de la configuration des feuillets de la valve aortique en position ouverte (systole) et fermée (diastole) ainsi que de l'architecture associée des fibres d'élastine	

et de collagène. Relation structure-propriété des feuillets pour les contraintes et déformations physiologiques Inspiré de [30].	18
Figure 2.8 Chargements et déchargements successifs des valves biologiques. Inspiré de [18]....	19
Figure 2.9 Ventricule gauche avec illustration des volumes de sang impliqués dans la détermination de la fraction de régurgitation. a) Volume d'éjection (vert) qui passe au travers de la valve mitrale lors de la diastole ventriculaire et destiné à être envoié dans l'aorte; b) Volume régurgitant (rouge) pathologique qui repart vers l'oreillette gauche de lors de la systole ventriculaire, c'est le volume qui fuit au travers de la valve mitrale dysfonctionnelle lorsque cette dernière est fermée.	22
Figure 2.10 Valves cardiaques polymériques en cours de développement. Inspiré de [5].	26
Figure 2.11 Valves cardiaques prothétiques. a) Valve mécanique, valve médicale St-Jude à deux feuillets ; b) Valve bioprothétique chirurgicale sur stent, St-Jude Medical Trifecta de péricardique avec feuillets cousus à l'extérieur ; c) Valve bioprothétique transcathéter Edwards SAPIEN, d) Valve polymérique en polycarbonate uréthane aortique développée par ADIAM Life Sciences, Allemagne ; e) Valve polymérique transcatheter UCL Triksele avec stent en nitinol et feuillets dépliants nanocomposites POSS-PCU. Inspiré et reproduit avec permission de [44].	27
Figure 2.12 Courbe de typique contrainte-déformation pour un film de polymère subissant un essai de traction. Inspiré de [54].....	29
Figure 2.13 Graphique Seuil-Ténacité approximatif pour différentes familles de matériaux. Inspiré de [55].	30
Figure 2.14 Avantages du PVA pour des applications cardiovasculaires telles les implants vasculaires.	31
Figure 2.15 Préparation des hydrogels par la méthode de réticulation physique gel/dégel. Inspiré de [64].	33
Figure 2.16 Configurations schématiques du dextrane selon son mode d'immobilisation. Inspiré de [77].	37
Figure 2.17 Etapes menant à la formation d'un thrombus. Inspiré de [99].	43

Figure 2.18 Approche systématique pour l'évaluation des risques biologiques associés à l'implantation d'une valve cardiaque en hydrogel PVA/Dextran (en vert) selon la norme ISO 10993. Inspiré de [106].	45
Figure 3.1 Visualisation du design du moule de valve cardiaque conçu par CAD [112]. A) Partie femelle, B) Partie mâle. Moules imprimés par stéréolithographie C) Partie femelle, D) Partie mâle.	50
Figure 3.2 Schéma présentant les différentes étapes menant à la fabrication des valves et membranes en hydrogel.	51
Figure 3.3 Tests d'étanchéité d'une valve en hydrogel sous pression hydrostatique.....	53
Figure 4.1 Valves cardiaques pour les différentes formulations d'hydrogel ; a) Face non permissive à l'écoulement du fluide ; b) Face permissive à l'écoulement du fluide. P : PVA, D : Dextrane, S : STMP.	62
Figure 4.2 Débit de fuite au travers des valves dans la colonne d'eau pour différentes pressions hydrostatiques.....	64
Figure 4.3 Pourcentage de rétrécissement des valves produites à partir de différentes formulations d'hydrogel au cours du temps (mesure donnée pour le diamètre externe des valves).....	66
Figure 4.4 Courbes moyennes de la contrainte en fonction de la déformation pour les différentes formulations d'hydrogels testées. Les barres d'erreur sont indiquées pour les points maximaux (rupture) moyens. Chaque courbe est la moyenne de 5 répétitions.....	67
Figure 4.5 Courbes contrainte/déformation pour chaque mélange d'hydrogel dans la zone de travail de 0 à 50% de déformation. Les courbes en trait plein représentent la moyenne des courbes obtenues pour chaque répétition, et les courbes en pointillé, l'écart type standard. Le trait rouge sur le graphique supérieur gauche indique que les modules de Young ont été déterminés dans la zone de déformation de 30 à 50%.	69
Figure 4.6 Caractérisation mécanique des hydrogels. a) Module de Young ; b) Contrainte maximale ; c) Déformation maximale pour chaque formulation d'hydrogel testée. Ligne pointillée rouge = moyenne Des * sont indiqués au-dessus de la condition si celle-ci est différente de la condition de référence $P/D_0/S_0$. (*) pour $p < 0.05$, (**) pour $p < 0.01$ et (***)	

pour $p < 0.001$. Les valeurs aberrantes (○) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.....	70
Figure 4.7 Contrainte à 40% de déformation en fonction du nombre de cycles pour les différentes formulations d'hydrogel testées, aussi appelée «courbe SN», 3 répétitions par point. Des * sont indiqués au-dessus de la condition si celle-ci est différente de la condition de référence P/D ₀ /S ₀ . (*) pour $p < 0.05$, (**) pour $p < 0.01$ et (***) pour $p < 0.001$	72
Figure 4.8 Module de Young dans la zone de 30 à 40% de déformation pour chaque condition mélange pour les cycles 1, 10, 100 et 1000, 3 répétitions par point. Des * sont indiqués au-dessus de la condition si celle-ci est différente de la condition de référence P/D ₀ /S ₀ . (*) pour $p < 0.05$, (**) pour $p < 0.01$ et (***) pour $p < 0.001$	74
Figure 4.9 Courbes de chargement et déchargement lors du premier cycle en tension.....	75
Figure 4.10 Courbes de chargement et déchargement pour les cycles 1, 10, 100 et 1000 pour chacun des mélanges et les énergies de dissipation associées.....	76
Figure 4.11 Fluorescence de la résofurine dans le cadre du test de viabilité cellulaire Alamar Blue. Les tests ont été réalisés sur deux séries d'hydrogels indépendantes, la première en triplicata la deuxième en sextuplicata soit au total n=9. (*** signifient que $p < 0.001$. Les valeurs aberrantes (○) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.....	78
Figure 4.12 Marquage des cellules L292 après incubation avec les échantillons (Test Live/Dead). Les cellules marquées en vert (microscope mode FITC excitation 450-490 nm) sont les cellules vivantes. Les cellules marquées en rouges (microscope mode TxRED excitation..	80
Figure 4.13 Surface des échantillons après 2h d'exposition à température pièce à une solution d'albumine Texas Red à 0.2 mg/ml après rinçage au PBS. La première ligne correspond à l'adsorption de solutions d'albumine à différentes concentrations (sans rinçage). Longueur d'onde d'excitation : 596 nm.....	81
Figure 4.14 Fluorescence de l'albumine Texas Red (0.2 mg/ml) adsorbée à la surface de chaque matériau (n=6). L'arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d'incubation d'albumine (0.2mg/ml). (*** signifient que $p < 0.001$. Les valeurs aberrantes (○) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.....	82

Figure 4.15 Structure de la surface des échantillons observés au microscope Revolve.	84
Figure 4.16 Surface des échantillons après exposition de 2h à 37°C à une solution de 1.5 mg/ml de fibrinogène humain marqué après rinçage au PBS. La première ligne correspond à l'adsorption de solutions à différentes concentrations de fibrinogène (sans rinçage). Longueur d'onde d'excitation : 495 nm.....	85
Figure 4.17 Fluorescence du fibrinogène humain marqué Alexa Fluor™ 488 (1.5 mg/ml) adsorbé à la surface de chaque matériau (n=6). L'arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d'incubation de fibrinogène. **Différence significative de la condition P/D ₀ /S ₀ (p<0.01). ***Différence significative de la condition P/D ₀ /S ₀ (p<0.001). Les valeurs aberrantes (○) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.....	87
Figure C.1 Photo des échantillons incubés dans du PBS montrant leur faible niveau d'auto-fluorescence à 596 nm.....	114
Figure D.1 Photo des échantillons incubés dans du PBS montrant leur faible niveau d'auto-fluorescence à 495 nm.....	116

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ASE [American Society of Echocardiography] Société américaine d'échocardiographie

BSA [Bovin Serum Albumine] Albumine de Sérum Bovin

CAO Conception assistée par ordinateur

CEV Cellule endothéliale valvulaire

CVI Cellules valvulaires interstitielles

Dex Dextrane

EPR [Ethylene-propylene-dimer- monomer rubbers] Caoutchoucs d'éthylène-propylène-dimère-monomère

FBGC [Foreign body giant cell] Cellule géante du corps étranger

FBR [Foreign body reaction] Réaction aux corps étrangers

FDA [Food and drug administration] Administration des aliments et des médicaments

HUVEC [Human Umbilical Vein Endothelial Cells] Cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine

L929 Lignée cellulaire de type fibroblaste

MEC Matrice extracellulaire

iPSC [Induced pluripotent stem cell] Cellule souche pluripotente induite

PBS [Phosphate buffer saline] Solution tampon saline phosphate

PCU Polycarbonate uréthane

PDMS Polydiméthylsiloxane

PEG Polyéthylène glycol

PEU Polyéther uréthane

PET Polyéthylène glycol

PSU Polysiloxane uréthane

PTFE Polytétrafluoroéthylène

PU Polyuréthane

PVA [Polyvinyl alcohol] Alcool polyvinyle

RF [Regurgitation fraction] Fraction de régurgitation

RM Régurgitation mitrale

RPBB Réparation percutanée bord-à-bord

SIBS Styrène-isobutylène-styrène

STMP Sodium trimétaphosphate

TAVI [Transcatheter Aortic Valve Implantation] Implantation de la valve aortique transcathéter

TPU [Thermoplastic Polyurethane] Polyuréthane thermoplastique

TPUU [Thermoplastic Polyurethane urea] Polyuréthane urée thermoplastique

VES [Stroke Volume] Volume d'éjection systolique

VTD Volume télendiastolique

VTS Volume télésystolique

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE A Méthodes de formulation d'hydrogels de PVA et/ou dextrane	105
ANNEXE B Propriétés mécaniques des hydrogels.....	112
ANNEXE C Données de fluorescences relatives à l'adsorption de l'albumine	114
ANNEXE D Données de fluorescences relatives à l'adsorption du fibrinogène	116

CHAPITRE 1 INTRODUCTION

1.1 Maladies des valves cardiaques et traitements actuels

Les maladies cardiaques sont les premières causes de mortalité dans le monde [1]. Les défaillances au niveau des valves cardiaques représentent une part importante soit environ 20% des chirurgies cardiaques [2]. Les valves cardiaques s'ouvrent et se ferment à chaque battement cardiaque et permettent la circulation du sang dans la bonne direction. L'atteinte d'une ou plusieurs valves cardiaques peut se traduire de différentes manières : une perte d'étanchéité (appelée régurgitation ou insuffisance), un rétrécissement (appelé aussi sténose) ou une mauvaise ouverture (appelée atrésie). L'étiologie des valvulopathies est variée et peut être génétique, infectieuse ou liée à l'âge. Il est possible de souffrir d'une défaillance de valve cardiaque sans ressentir de symptômes mais selon la sévérité de l'atteinte, ces derniers peuvent se développer rapidement. Les symptômes les plus courants sont l'extrême fatigue, l'évanouissement, la difficulté à respirer, les douleurs à la poitrine et un rythme cardiaque accéléré. Si non traités, les atteintes valvulaires ont pour conséquence la fatigue du cœur, qui compense les surcharges volumiques et/ou de pression, ce qui cause un remodelage pouvant mener à de l'hypertrophie et à l'insuffisance cardiaque, et éventuellement au décès [3]. Il existe divers traitements pour soigner les valvulopathies. Pour les défaillances mineures, adopter un mode de vie plus sain est recommandé (e.g. alimentation équilibrée...), il est aussi possible de prendre des traitements médicamenteux (e.g. diurétiques et vasodilatateurs pour baisser la pression sur le cœur) [4]. Pour traiter les défaillances sévères, deux options sont possibles : la réparation ou le remplacement. Dans le monde, ce sont presque 250 000 valves cardiaques qui sont remplacées chaque année. Actuellement les valves cardiaques implantées sont mécaniques ou bioprothétiques, ces dernières pouvant être d'origine porcine, bovine, équine ou humaine. Les valves mécaniques actuelles présentent une bonne durabilité mais leur biocompatibilité est limitée et elles nécessitent la prise d'anticoagulants à vie. À l'inverse, les valves bioprothétiques présentent moins de problèmes en termes d'hémocompatibilité mais sont moins durables. En effet, les valves mécaniques sont inertes mais leurs designs ont davantage tendance à endommager les cellules sanguines lors du passage du sang. Les valves bioprothétiques, en revanche, possède un design plus proche des valves natives mais leur biocompatibilité est limitée, ses dernières étant traitées chimiquement afin de réduire l'immunogénicité du tissu. Ces traitements peuvent mener à une perte d'élasticité, la calcification ou présenter une toxicité

résiduelle. Depuis les années 1950s, la recherche se tourne vers le développement de nouvelles valves en tissus synthétiques tels que les polymères, aux performances et caractéristiques optimisées et qui pourraient remplacer les prothèses actuelles [5]. Cependant, les valves synthétiques/polymériques sont pour la plupart encore en cours de développement (études précliniques et cliniques) et aucune d'entre elles n'est commercialisée à ce jour en Europe ou Amérique du Nord.

1.2 Problématique

Un matériau est considéré comme biocompatible s'il remplit sa fonction et n'induit pas de réponse indésirable chez le receveur. La biocompatibilité doit être analysée en considérant un tout, constitué de l'implant, du lieu d'implantation dans le corps et de son application. Par exemple, un matériau biocompatible pour une implantation dans un milieu peu vascularisé peut ne pas être biocompatible s'il est implanté dans un site traversé par la circulation sanguine. La durabilité d'une valve correspond à sa capacité à s'ouvrir et se fermer de manière identique sur un très grand nombre de cycles. Les valves polymériques implantées subissent des dommages directs vis-à-vis des matériaux qui les constituent (hydrolyse, oxydation) et une fatigue liée aux contraintes cycliques subies lors de l'ouverture et de la fermeture pouvant mener à des changements structurels impactant leur durabilité [6].

Les valves polymériques cardiaques actuelles rencontrent des limites en termes de durabilité. L'amélioration de leur durabilité ne doit pas se faire au détriment de leur biocompatibilité.

Question de recherche :

Comment améliorer la durabilité d'une valve cardiaque polymérique à base d'alcool polyvinyle (PVA) sans diminuer sa biocompatibilité ?

1.3 Objectif et hypothèses de recherche

Objectif

L'objectif principal est de formuler des hydrogels ayant des propriétés mécaniques proches des tissus des valves natives et de valider et améliorer la biocompatibilité de ces hydrogels. L'étude de la biocompatibilité sera focalisée sur le matériau des valves.

Hypothèses

- Il est possible fabriquer les valves cardiaques par moulage d'hydrogel
- Les hydrogels contenant du PVA présentent des propriétés mécaniques adaptées à leur utilisation dans la fabrication de valves cardiaques
- L'ajout de dextrane et/ou de STMP permet d'améliorer les propriétés mécaniques de l'hydrogel
- L'ajout de dextrane dans un hydrogel à base de PVA permet d'améliorer sa biocompatibilité

1.4 Intégration de ce travail dans le projet Valves-in-Veins

Les valves artificielles actuelles ont pour application de remplacer des valves natives dysfonctionnelles. Dans le projet « Valves-in-Veins » auquel j'ai contribué au cours de cette maîtrise, des valves polymériques sont développées dans le but d'être implantées dans les quatre veines pulmonaires pour le traitement hétérotopique de la régurgitation mitrale (RM). Ce concept de traitement est dit hétérotopique car l'implantation des valves, est prévue non pas en place de la valve mitrale défaillante, mais en amont, dans les veines pulmonaires qui ne contiennent naturellement aucune valve. L'intervention vise ainsi à réduire, voire supprimer les symptômes causés par la régurgitation mitrale en bloquant le reflux du sang vers les poumons sans intervenir directement sur la valve dysfonctionnelle. Il existe aujourd'hui plusieurs options pour traiter l'insuffisance mitrale (IM). Pour les cas d'IM les plus sérieux, la méthode conservative, à savoir la chirurgie réparatrice est préférée si l'anatomie du patient et le mode de défaillance de la valve le permettent. Une autre option est le remplacement chirurgical complet de la valve mitrale. Pour les patients qui sont trop à risque pour subir une chirurgie, il est possible de réaliser une réparation percutanée bord-à-bord (RPBB) ou un remplacement valvulaire percutané (remplacement de la valve mitrale par une prothèse percutanée). Cependant, les contraintes anatomiques liées à la géométrie complexe de la valve mitrale et des structures environnantes, ainsi que l'étiologie de la régurgitation limitent très souvent la possibilité d'une intervention percutanée et de nombreux patients n'y sont pas candidats. Ces derniers, pour qui il n'existe aucun traitement sont alors orientés vers les soins palliatifs. C'est pour offrir une alternative à ces patients que le projet « Valves-in-Veins » a vu le jour. Les valves doivent donc être personnalisables aux veines hôtes (dont l'anatomie varie d'un patient à l'autre). Le design de la valve présentée dans ce travail a été

conçu par Zoubaire Moustaine, dans le cadre de son doctorat encadré par le Pr G. De Crescenzo et le Pr F. Tournoux. La conception a été pensée pour l'application spécifique de l'insertion des valves dans les quatre veines pulmonaires pour le traitement hétérotopique de la régurgitation mitrale (Figure 1.1).

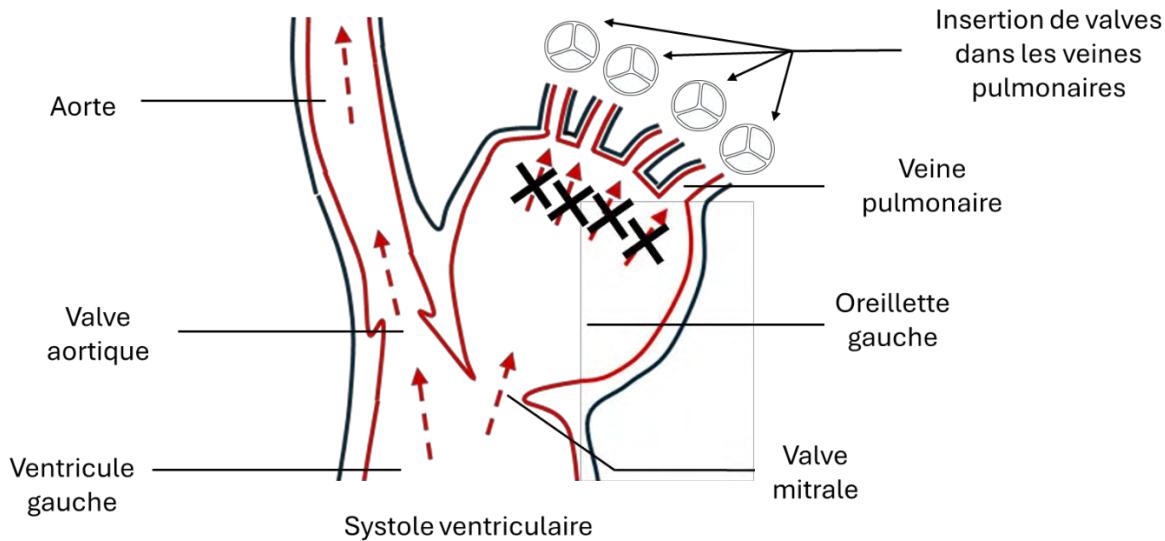


Figure 1.1 Concept du projet Valves-in-Veins, grossissement de la partie gauche du cœur. Les valves polymériques sont conçues pour être implantées dans les veines pulmonaires. Elles permettent d'éviter le reflux du sang riche en dioxygène vers les poumons lors de la systole ventriculaire. Le retour du sang vers les poumons pouvant entraîner des œdèmes pulmonaires et causer des difficultés respiratoires.

Le design de la valve peut cependant être adapté pour d'autres applications, par exemple pour le remplacement de la valve aortique, ou encore de la valve pulmonaire, le design étant à leur instar celui d'une valve à trois feuillets. Il est important de noter que les contraintes et cahier des charges varient selon le site d'implantation désirée. Par exemple, les pressions en position aortiques ne sont pas les mêmes que dans les veines pulmonaires. Il est aussi intéressant de noter que les veines pulmonaires étant vecteurs du sang le plus oxygéné du corps humain cela peut exercer une influence sur la réponse biologique vis-à-vis de l'implantation de valves dans ces dernières.

1.5 Structure générale du mémoire

Ce mémoire est divisé en plusieurs chapitres. Dans un premier temps, le **Chapitre 2** présente la revue de littérature concernant le fonctionnement du cœur, de ses valves, et la formulation d'hydrogels pour la fabrication de valves polymériques ainsi que les tests destinés à caractériser et

valider leurs propriétés physiques, chimiques et biologiques. Le **Chapitre 3** présente la méthodologie du travail menée pour mettre au point des hydrogels mimant les propriétés mécaniques des tissus valvulaires natifs et évaluer leur biocompatibilité. Le **Chapitre 4** répertorie les résultats des tests présentés au chapitre 3 ainsi qu'une discussion de ces résultats. Le **Chapitre 5** correspond à la discussion générale et le **Chapitre 6** présente une conclusion et répertorie les recommandations pour les voies de recherches futures. Dans le **Chapitre 7** se trouve un récapitulatifs des travaux auxquels j'ai contribué dans le cadre du projet Valves-in-Veins. En outre, je fais mention aux deux articles bientôt soumis pour publication pour lesquels je suis deuxième autrice mais qui ne sont pas présentés dans ce mémoire. Le premier article s'intitule *Modeling Mitral Regurgitation Severity Through Chordae Tension Control in a Left Heart Simulator* et le deuxième s'intitule *Valves in pulmonary veins: In vitro proof-of-concept of a new approach for the heterotopic treatment of mitral regurgitation.*

CHAPITRE 2 REVUE DE LITTÉRATURE

2.1 Fonctionnement et anatomie du cœur

2.1.1 Description générale du cœur

Le cœur humain varie en taille et en poids d'un individu à l'autre. C'est un muscle central dans le maintien de la circulation sanguine dans le corps. Le cœur se divise en 4 chambres : l'oreillette gauche, située au-dessus du ventricule gauche et de manière analogue, l'oreillette droite au-dessus du ventricule droit. La partie droite du cœur reçoit le sang pauvre en dioxygène et riche en dioxyde de carbone alors que la partie gauche reçoit le sang riche en dioxygène et pauvre en dioxyde de carbone. Les deux côtés du cœur fonctionnent comme deux circuits fermés et ne communiquent pas. La paroi du cœur se compose de quatre couches distinctes : la plus interne est l'endocarde suivie du myocarde, de l'épicarde et la plus externe : le péricarde [7]. La paroi des oreillettes est plus fine que celle des ventricules. Il y a quatre valves dans le cœur. Elles assurent le déplacement du sang dans une seule direction : des oreillettes vers les ventricules puis des ventricules vers les artères (Figure 2.1Figure 2.1) [8].

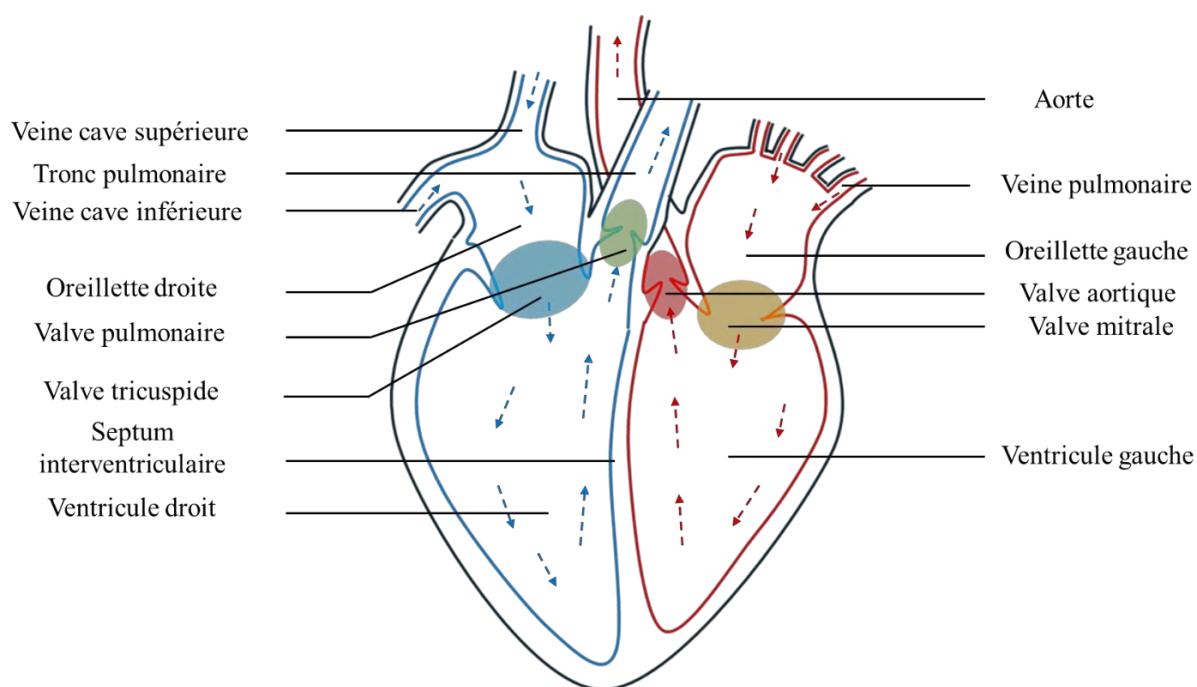


Figure 2.1 Coupe frontale du cœur humain. La partie gauche du cœur est représentée en rouge, la partie droite en bleu. Rond bleu : valve tricuspidé ; rond vert : valve pulmonaire ; rond rouge :

valve aortique ; rond jaune : valve mitrale. Les flèches pointillées représentent le sens de circulation du sang. Inspiré de [7].

2.1.2 Déroulement d'un cycle cardiaque

Le cycle cardiaque peut être décrit comme une séquence de variations de pression qui engendrent le mouvement du sang dans le cœur [9]. Un cycle cardiaque se divise en deux phases principales : la diastole et la systole. Durant la diastole ventriculaire les ventricules sont à l'état décontracté et se remplissent. Durant la systole ventriculaire ils se contractent pour expulser le sang dans les artères. On distingue les diastole et systole ventriculaires des diastole et systole auriculaires. Schématiquement, un cycle cardiaque débute par le remplissage passif des ventricules durant lequel les oreillettes sont relâchées suivit par le chevauchement de la systole auriculaire et la diastole ventriculaire puis se poursuit par le chevauchement de la systole ventriculaire et la diastole auriculaire [10]. Au cours d'un cycle, l'oreillette gauche reçoit le sang chargé en dioxygène provenant des poumons par les veines pulmonaires et le ventricule commence à se remplir passivement (Figure 2.2 a). En se contractant l'oreillette éjecte le sang au travers de la valve mitrale vers le ventricule gauche. Le ventricule gauche se comprime à son tour, la valve mitrale se ferme et le sang est envoyé dans l'aorte en passant au travers de la valve aortique. Le sang est ensuite acheminé vers tous les organes (Figure 2.2 b).

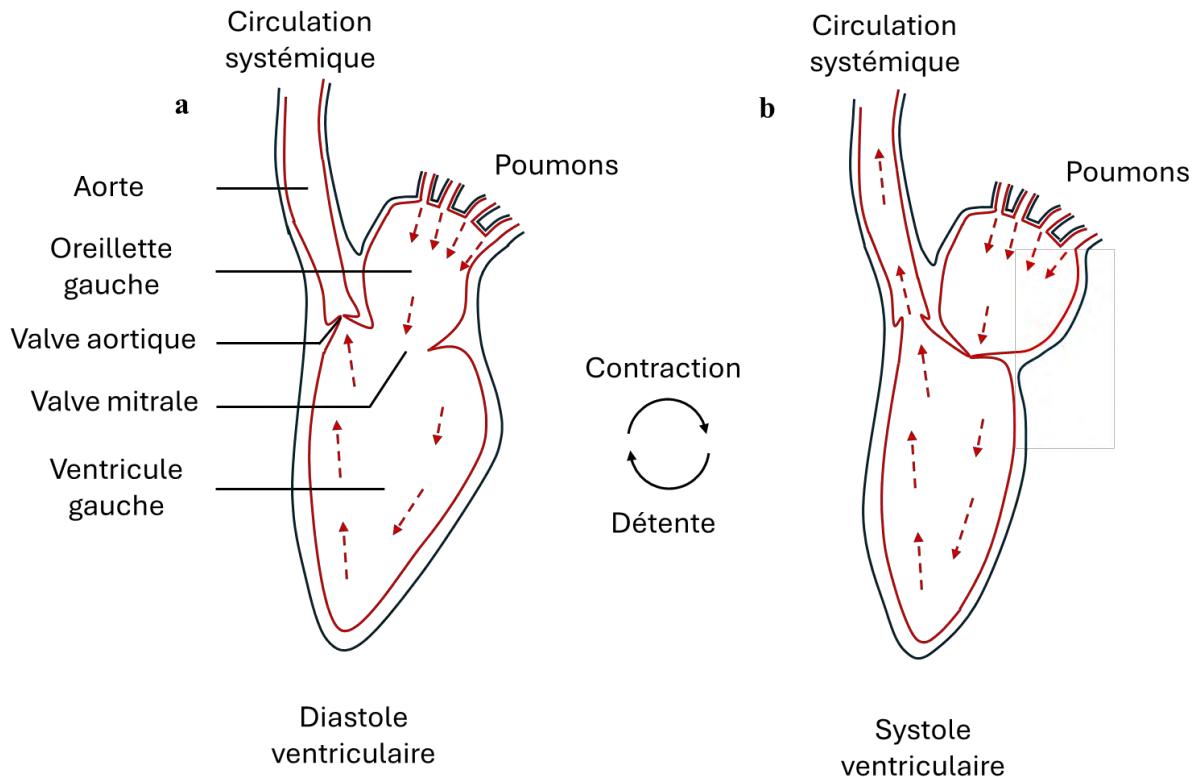


Figure 2.2 Cycle cardiaque pour la partie gauche du cœur. Les flèches rouges indiquent la direction du sang riche en oxygène qui provient des poumons.

Simultanément l'oreillette droite reçoit le sang chargé en dioxyde de carbone provenant de tout le corps par les veines caves inférieures et supérieures et le ventricule droit se remplit passivement. En se contractant l'oreillette éjecte le sang au travers de la valve tricuspidale vers le ventricule droit. Le ventricule droit se contracte ensuite pour envoyer le sang dans l'artère pulmonaire en passant au travers de la valve pulmonaire. Le sang est acheminé aux poumons pour purification. Il est ensuite renvoyé vers le cœur gauche pour un nouveau cycle.

2.1.2.1 Débit cardiaque

Le débit cardiaque pour un humain en bonne santé au repos est d'environ 4 à 6 L/min. Ce débit peut atteindre 35 L/min pour les athlètes en exercice [11]. En fin de diastole ventriculaire, les ventricules contiennent environ 130 mL de sang pour un adulte au repos à la position debout. Ce volume s'appelle le volume télodiastolique (VTD), soit le volume en fin de diastole. Le volume de sang éjecté par un ventricule s'appelle le volume d'éjection systolique (VES), il est compris entre

70 et 80 mL, en conditions physiologiques au repos. Le volume de sang restant dans le cœur correspond au volume télésystolique, soit en fin de systole (VTS) (Figure 2.3)[10].

2.1.2.2 Pression dans le cœur

Comme évoqué précédemment, la contraction ou décontraction du cœur, provoquées par des stimuli électriques, induisent des changements de pression intracardiaque au cours des différentes phases du cycle cardiaque. Ces changements de pression induisent l'ouverture ou la fermeture des valves [10]. La valve tricuspidale et la valve mitrale empêchent le retour du sang des ventricules vers les oreillettes lors de la systole ventriculaire. La valve pulmonaire et la valve aortique empêchent le retour du sang des artères vers les ventricules lors de la diastole ventriculaire. Ces valves sont à ouvertures et fermetures passives : elles se ferment quand un gradient de pression s'applique pour faire retourner le sang en arrière, elles s'ouvrent quand un gradient de pression s'applique pour forcer le sang dans la direction vers l'avant [12].

Pression dans les oreillettes

Il y a trois vagues d'augmentation de pression dans les oreillettes. La première correspond à la contraction de l'oreillette (vague *a* sur la Figure 2.3). Pour un individu sain, la pression augmente de 4 à 6 mm Hg dans l'oreillette droite et de 7 à 8 mmHg dans la gauche. La vague suivante (vague *b*) correspond à la contraction des ventricules et donc à la fermeture des valves tricuspidale et mitrale. La dernière (vague *c*) apparaît car le sang continue d'affluer dans les oreillettes alors que les valves tricuspidale et mitrale sont encore fermées. Elle disparaît quand ces dernières se réouvrent et que le sang est drainé vers les ventricules (Figure 2.3) [12].

Pression dans les ventricules

Il y a deux vagues de changement de pression dans les ventricules. Une première augmentation de pression se produit avant la systole ventriculaire et s'explique par la contraction de l'oreillette, c'est la vague *d* sur la Figure 2.3. L'initiation de la contraction des ventricules entraîne une forte augmentation de pression (vague *e*) dans ces derniers, causant la fermeture des valves atrioventriculaires tricuspidale et mitrale (Figure 2.2 a et b). Quand cette pression atteint environ 80 mmHg dans le ventricule gauche (8 mmHg dans le droit), les valves aortique (côté gauche) et pulmonaire (côté droit) s'ouvrent ce qui envoie le sang vers l'aorte et l'artère pulmonaire respectivement. La pression maximale dans le ventricule gauche en systole est d'environ 120

mmHg. En fin de systole, le cœur se relâche ce qui cause une forte diminution de pression dans les ventricules (Figure 2.3).

Pression dans l'aorte

La pression dans l'aorte augmente en systole ventriculaire (entre 90 et 140 mmHg), quand les valves aortique et pulmonaire s'ouvrent pour laisser passer le sang expulsé des ventricules (vague *f*). Elle diminue en fin de systole (entre 60 et 90 mmHg) [13] et subit une petite augmentation due à la fermeture des valves aortique et pulmonaire (vague *g*) puis diminue jusqu'au prochain cycle (Figure 2.3).

Pression dans l'artère pulmonaire

La pression dans l'artère pulmonaire au moment de la systole ventriculaire est de 20 mm Hg, en moyenne elle est autour de 12 mm Hg. Elle est beaucoup plus faible que dans l'aorte.

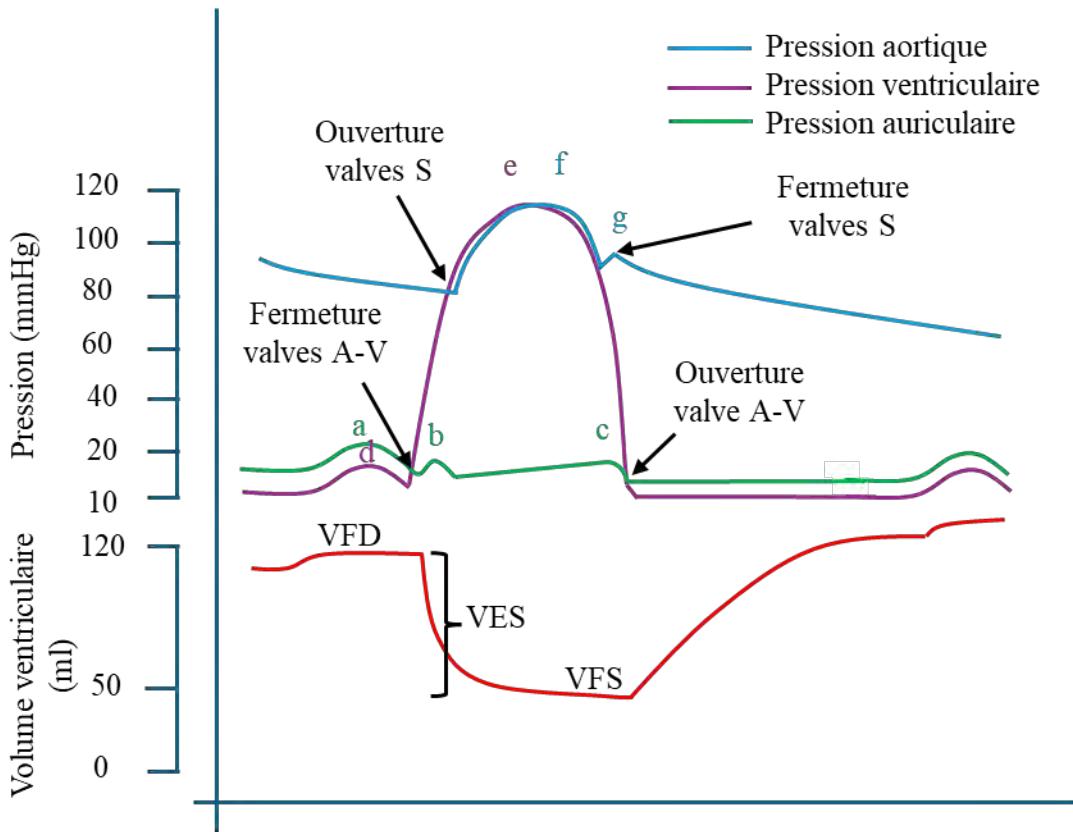


Figure 2.3 Cycle cardiaque, pressions et volumes associées. S : semilunaire ; A-V : atrioventriculaire ; VFD : Volume de fin de diastole ; VES : Volume d'éjection systolique ; VFS : Volume de fin de systole. Inspiré de [10]. Remarque : la nomenclature a, b, c...etc est arbitraire.

2.1.3 Les valves cardiaques

Les quatre valves cardiaques se divisent en deux catégories. Les valves atrioventriculaires se situant entre les oreillettes et les ventricules incluent la valve mitrale et la valve tricuspidale (Figure 2.4). Elles régulent le débit passant des oreillettes aux ventricules. Les valves semilunaires se situent entre les ventricules et les artères correspondantes, il s'agit de la valve aortique et de la valve pulmonaire. Elles régulent le débit sortant du cœur. Chez les humains, les valves cardiaques s'ouvrent et se ferment en moyenne 100 000 fois par jour soit environ 3 milliards de fois au cours d'une vie. L'ouverture et la fermeture des valves sont passives et sont induites par des variations de pressions dans les différentes chambres du cœur [14].

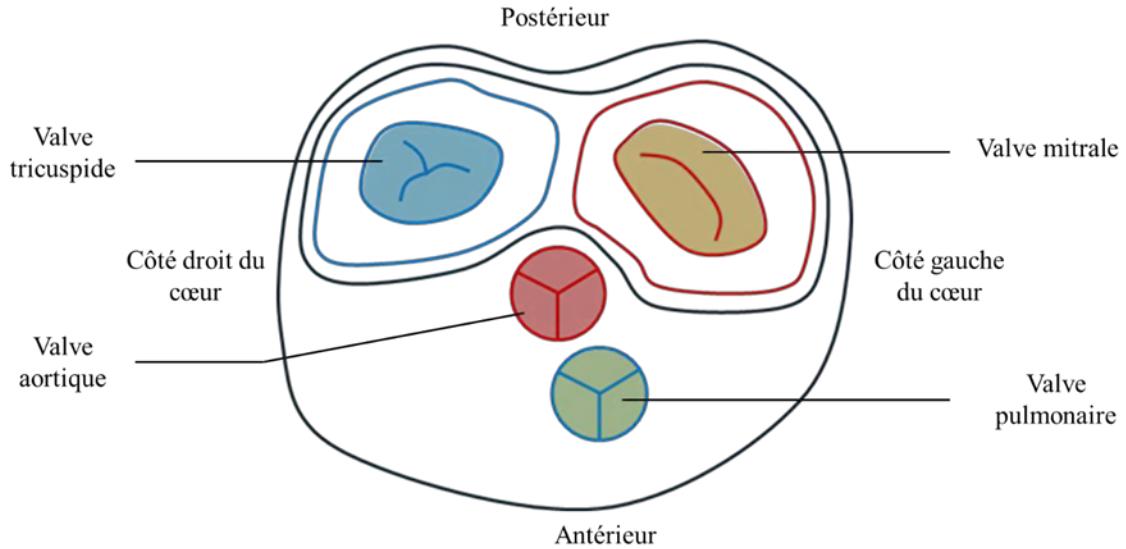


Figure 2.4 Coupe du cœur, visualisation des quatre valves cardiaques vue du dessus. Inspiré de [15].

2.1.3.1 Structures et composition cellulaire des valves cardiaques

Les valves permettent de forcer le passage du sang dans une seule direction tout en n’obstruant pas son passage. Elles présentent par ailleurs une matrice cellulaire (MEC) très organisée, qui leur permet d’assurer ces fonctions et de supporter les contraintes mises en jeu [14].

Les valves aortique et pulmonaire se composent généralement de 3 feuillets de tailles similaires. La valve mitrale comporte deux feuillets, un feuillet antérieur et un feuillet postérieur et la valve tricuspidale comporte trois feuillets. Les feuillets des valves atrioventriculaires sont reliés aux chordae tendineae qui les lient aux muscles papillaires situés sur la paroi interne du cœur, au fond des ventricules.

Pham et al., ont mené des tests mécaniques et histologiques des quatre valves qui composent notre cœur. Ils ont remarqué que les valves ont des épaisseurs, rigidités et degrés d’anisotropie différents et que celles du côté gauche sont globalement plus rigides, plus épaisses et plus anisotropiques que celles du côté droit. Ils ont noté qu’avec l’âge, les feuillets perdent de leur extensibilité [16]. L’épaisseur des valves humaines varie selon les valves mais n’excède pas 1 mm [17].

Les valves cardiaques sont composées majoritairement de collagène de type I, III and IV. Le collagène est une protéine insoluble fibreuse structurelle qui se trouve dans les tissus durs et mous (dont font partie les valves cardiaques) et contribue au support des éléments de la MEC [18]. La

MEC correspond au « réseau de protéines et autres molécules qui entourent, supportent, et confèrent leur structure aux cellules et tissus dans le corps » [19]. Le collagène se compose de trois chaînes polypeptidiques arrangées en hélices α , ces chaînes étant elles-mêmes enroulées ensemble pour former une triple hélice. Il existe différents types de collagènes, ils se différencient par des segments ne suivant pas la conformation de triple hélice et leur structure en trois dimensions. Le collagène de type IV combiné à de la laminine forment le composant central des lames basales qui supportent les cellules épithéliales (couche de cellules sur la surface de la peau ou tapissant les cavités) et endothéliales (couche de cellules sur la surface interne des vaisseaux, en contact avec le sang) [18]. Ce sont les fibres de collagène qui confèrent aux valves cardiaques la résistance à la traction appropriée nécessaire au maintien de l'intégrité des tissus [20]. L'élastine est une autre protéine insoluble fibreuse qui compose la MEC des artères, des veines et des valves cardiaques. L'élastine, comme le collagène, est un élément central dans le maintien de l'intégrité mécanique des valves car elle leur donne la capacité de se déformer sous contrainte et de revenir à leur état initial à son relâchement. Les valves cardiaques se composent de MEC qui assure un soutien structurel ainsi que de deux types cellulaires. D'abord une couche de cellules endothéliales qui recouvrent la surface lumineuse des feuillets, c'est-à-dire la surface en contact avec le sang et régule le passage des molécules et cellules du sang vers les tissus. Ensuite une couche de cellules profondes appelées cellules interstitielles de valves qui assure le maintien l'intégrité de la MEC. Elles se composent de fibroblastes et de cellules musculaires lisses. La couche de cellules endothéliales des valves est continue avec la surface des tissus environnants du cœur. Les feuillets de la valve aortique sont composés de trois couches : fibrosa, spongiosa et ventricularis. La couche fibrosa fait face au flux sortant, c'est-à-dire qui est du côté de l'aorte (Figure 2.5).

Les feuillets de la valve mitrale comptent quatre couches : ventricularis, fibrosa, spongiosa et atrialis. Contrairement à la valve aortique, le feuillet de la valve mitrale expose sa couche atrialis qui fait face au flux entrant, c'est-à-dire qui se trouve du côté de l'oreillette gauche (Figure 2.5). Ces couches sont entourées de cellules endothéliales valvulaires (CEVs). Elles contiennent toutes des cellules valvulaires interstitielles (CVIs) [14]. Pour les deux valves c'est la couche fibrosa qui supporte les contraintes mécaniques, elle est principalement composée de collagène de type I qui s'alignent dans la direction circonféentielle d'un feuillet (Figure 2.5). Elle est supportée par des glycosaminoglycans et protéoglycans, ainsi qu'un réseau de fibres élastiques. Les fibres d'élastine sont des structures complexes majoritairement composées d'élastine (90%) et de

microfibrilles (5-10%) [18]. Les glycosaminoglycans sont des répétitions de disaccharides chargés négativement qui génèrent un afflux osmotique d'eau dans la MEC créant une pression de gonflement (caractère gélatineux) et permettent à la MEC de résister à des charges compressives. Les glycosaminoglycans sont liés de manière non covalentes à une chaîne polypeptidique formant les protéoglycans. Ces protéoglycans peuvent se lier à différentes biomolécules, s'associer entre eux ou s'associer à des protéines fibreuses pour former des structures complexes.

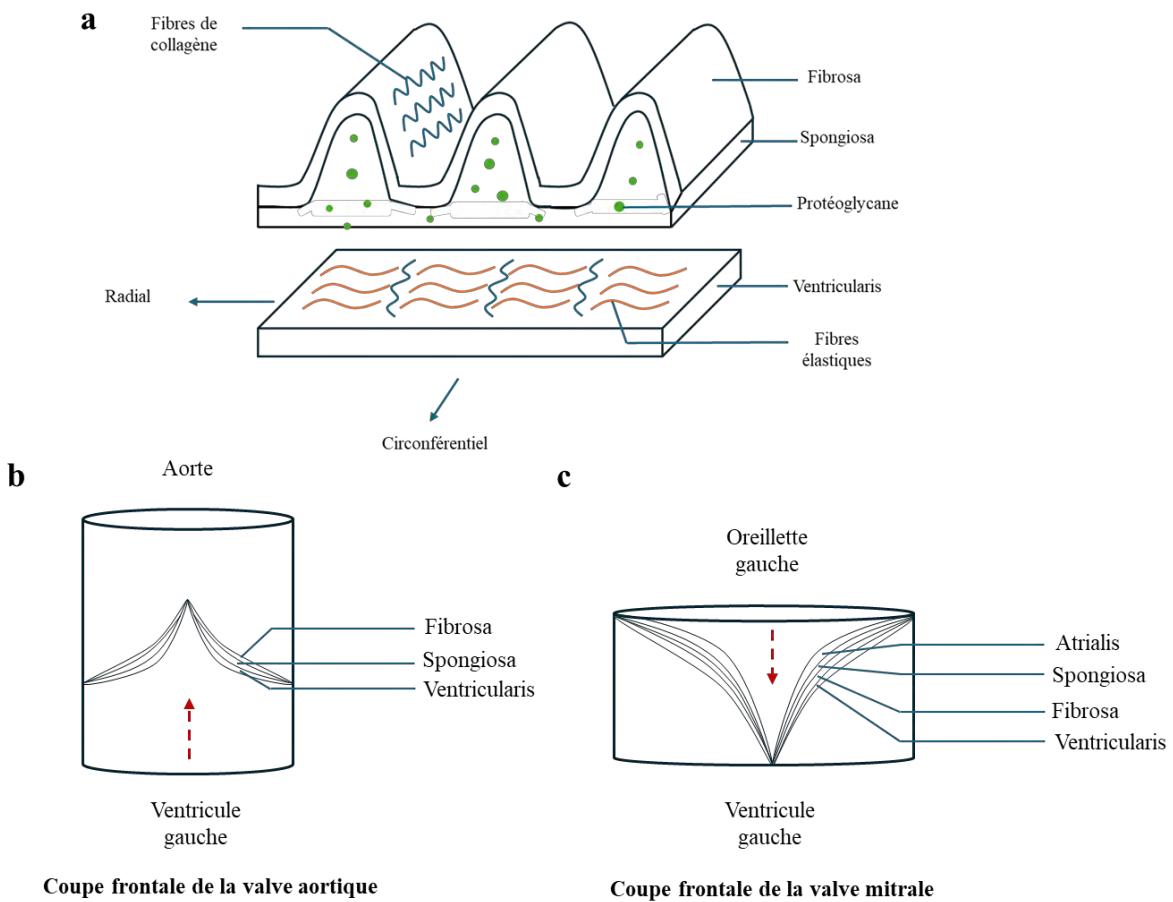


Figure 2.5 Représentation des feuillets d'une valve cardiaque. a) Organisation des couches composant la valve aortique ; b) Organisation des couches composant la valve aortique et position par rapport à l'anatomie de la valve ; c) Organisation des couches composant la valve mitrale et position par rapport à l'anatomie de la valve. La flèche en pointillés représente le sens de circulation du sang. Inspiré de [18].

2.1.3.2 Contraintes mécaniques supportées par les valves

Les feuillets sont anisotropiques, c'est-à-dire que leurs propriétés varient selon la direction [18]. Pour la valve aortique par exemple, les propriétés mécaniques des feuillets changent selon la

direction circonférentielle ou radiale (Figure 2.6). Une contrainte appliquée selon la direction radiale engendre une plus forte déformation que dans la direction circonférentielle. Le Module de Young (E) est un paramètre qui caractérise l'élasticité d'un matériau et correspond au ratio entre la contrainte et la déformation d'un matériau en régime élastique [21]. Plus le Module de Young d'un matériau est élevé plus ce dernier est rigide. Le Module de Young des feuillets de la valve aortique est plus élevé dans la direction circonférentielle, indiquant une plus forte rigidité dans cette direction, que dans la direction radiale [22]. C'est aussi le cas pour la valve mitrale.

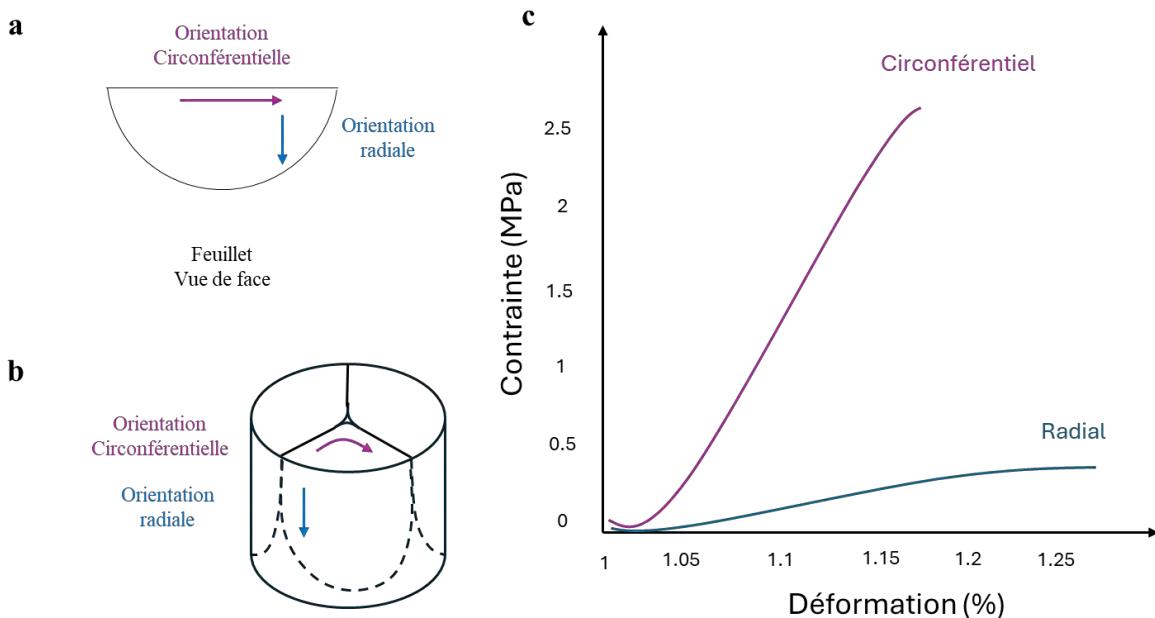


Figure 2.6 Contraintes appliquées sur les feuillets de la valve aortique a) Schéma d'un feuillet : b) Schéma du positionnement du feuillet dans la valve ; c) Courbe contrainte déformation pour la valve aortique humaine dans les directions circonférentielles et radiales. Inspiré de [22].

Au cours du cycle cardiaque, les valves subissent plusieurs types de contraintes mécaniques. En position fermée, les valves subissent majoritairement des contraintes de tension en direction radiale et circonférentielle dues à la différence de pression de part est d'autre de leurs feuillets. Les feuillets sont tendus comme une membrane pour empêcher le reflux du sang. En position fermée, elles peuvent aussi subir des forces de compression dans la zone de coaptation des feuillets (compression orthogonale à la surface). Lorsque les valves s'ouvrent et se ferment elles subissent de la flexion, qui sont à la fois de traction et compression. En position ouverte, elles supportent des contraintes de cisaillement dues au passage du sang [14] et supportent aussi des contraintes de flexion. Lors de cette flexion, le côté des feuillets faisant face à l'entrée du sang (convexe) subit de la traction

alors que le côté des feuillets faisant face à la sortie de sang subit de la compression (concave) [23]. À noter que les prothèses vasculaires peuvent aussi subir des contraintes de tension radiale due à la dilatation cyclique des vaisseaux. Les mécanismes de déformation de la valve mitrale peuvent différer de ceux des valves semilunaires. Cette dernière possède une structure différente des autres valves (bicuspidé) et maintient un équilibre entre force de tensions et compressions en position fermée. Les chordae tendineae et la région de son feuillet antérieur sont en tension alors que la bordure libre de son feuillet antérieur et une grande partie de son feuillet postérieur sont en compression [24]. Quand les valves s'ouvrent et se ferment les feuillets peuvent subir des déformations allant de 40% à 50% dans la direction radiale et d'environ 10% dans la direction circonférentielle [18], [23], [25]. Malgré cette déformation les valves sont étanches grâce à la coaptation des feuillets (ces derniers se rejoignent et leur surface se touchent jusqu'à 40%). Pour le cas de la valve aortique, en systole (i.e. valve aortique ouverte) la couche fibrosa est ondulée et les fibres de collagène sont plissés. En diastole (i.e. valve aortique fermée), les fibres de collagène s'étirent et passent de l'état plissé à tendu, ils absorbent les contraintes élevées [18]. Lors de leur déformation les valves ont un comportement contrainte-déformation non linéaire qui peut se décomposer en trois phases (Figure 2.7). La première phase est la phase élastique. Durant cette phase se sont les fibres élastiques qui supportent la contrainte et les fibres de collagène commence à se déplier. Il y a peu de résistance à l'élongation et le module de Young est faible. Les feuillets se comportent quasiment comme des solides élastiques : la contrainte augmente linéairement avec la déformation. La deuxième phase est la phase de transition. Durant cette phase les fibres de collagène continuent de se déplier et s'alignent, elles contribuent davantage à supporter la contrainte. La dernière phase est la phase de collagène, durant cette phase le collagène est totalement déplié et comme son nom le suggère, il supporte totalement la contrainte. Dans cette phase le module de Young est élevé, indiquant un comportement plus rigide. Au-delà de cette phase se trouve la phase de rupture mais elle n'est jamais atteinte car les feuillets se relaxent pour commencer un nouveau cycle. Les modules de Young rapportés dans la littérature pour différentes valves cardiaques et feuillets natifs dans différentes phases du cycle cardiaque sont recensés dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 Principales propriétés mécaniques des valves natives selon la littérature. E : module de Young, UTS : Ultimate tensile strength (Contrainte maximale), EB : Elongation at break (Elongation maximale à la rupture).

Type de valve	Module de Young (kPa)	Contrainte maximale (MPa)	Élongation maximale (%)	Référence
Valve tricuspidée porcine	E_septal=208.7±67.2 E_anterior=92.0±66.8 E_posterior=136.8±56. 9	/	/	Basu et al., 2018 [26]
Valve pulmonaire porcine	E_elastic=74.7±52.9 E_fibrous=320.9±99.9	/	/	Sutherland et al., 2022[27]
Valve aortique canine	E_diastol=5,200±1,700 E_systol=240±70	/	/	Thubrikar et al., 1980[28]
Valve aortique humaine	E_circonférentiel=15,600±6,400 E_radial=2,000±1,500	/	/	Balguid et al., 2007[22]
Valve aortique humaine	E_circonférentiel=15,340±3,840 E_radial=1,980±150	UTS_circonférentiel=1.74± 0.29 UTS_radial=0.32±0.04	EB_circonférentiel=18.35± 7.61 EB_radial=23.92±3.94	Stradins et al., 2004[29]
Valve pulmonaire humaine	E_circonférentiel=16,050±2,020 E_radial=1,320±930	UTS_circonférentiel=2.78± 1.05 UTS_radial=0.29±0.06	EB_circonférentiel=19.40± 3.91 EB_radial=29.67±4.41	Stradins et al., 2004[29]

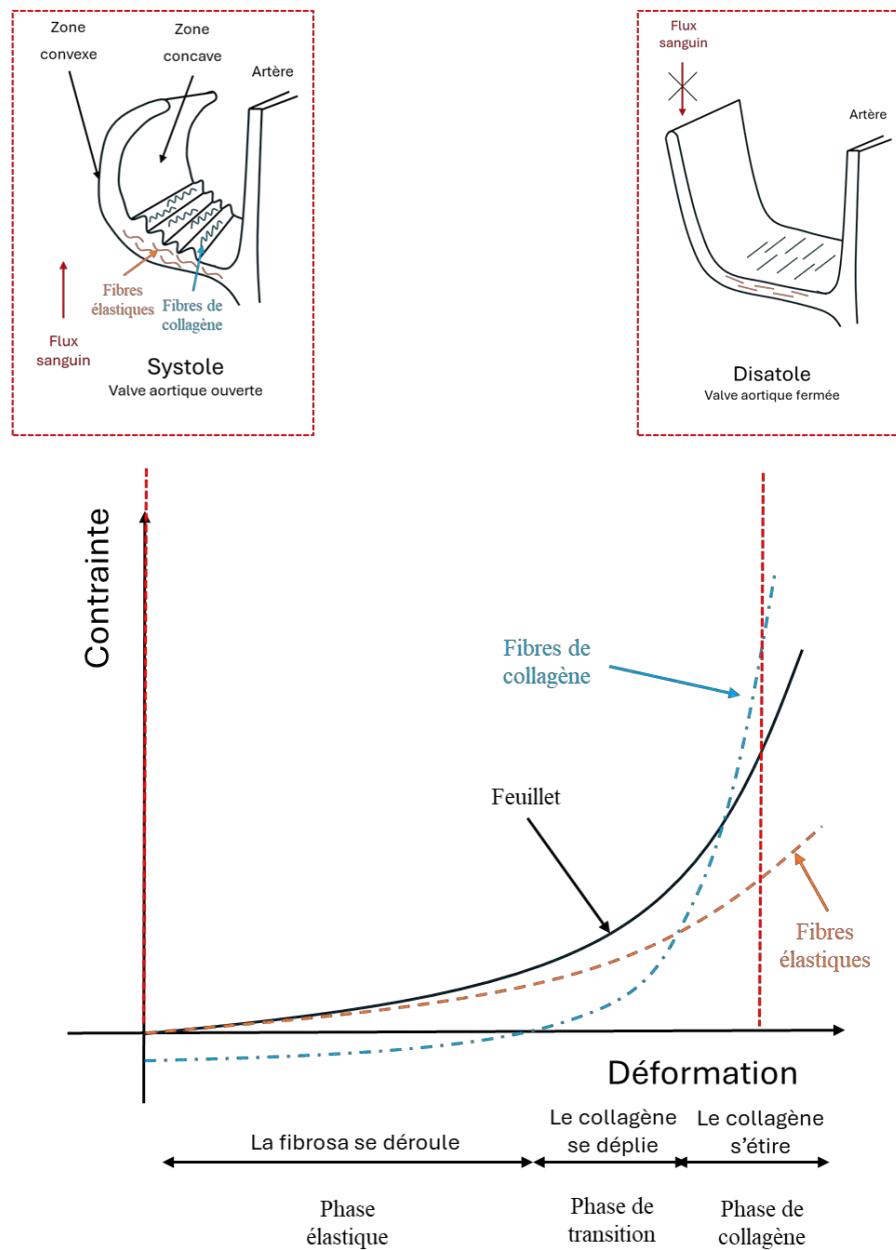


Figure 2.7 Représentation de la configuration des feuillets de la valve aortique en position ouverte (systole) et fermée (diastole) ainsi que de l'architecture associée des fibres d'élastine et de collagène. Relation structure-propriété des feuillets pour les contraintes et déformations physiologiques. Inspiré de [30].

De manière générale les feuillets de valves cardiaques présentent un comportement viscoélastique. Cela signifie qu’elles ont un comportement élastique (conservation et restitution de l’énergie après déformation) et un comportement visqueux. Les valves sont soumises à des contraintes cycliques

et présentent une boucle d'hystérésis, c'est-à-dire un décalage de phase entre l'application (chargement) et la relaxation (décharge) de la contrainte induite par la fermeture et l'ouverture des feuillets. L'aire sous la courbe de chargement est l'énergie stockée pendant l'extension des feuillets et l'aire sous la courbe de décharge est l'énergie libérée lors de la relaxation de la contrainte. L'hystérésis est la différence d'aire entre ces deux courbes et est proportionnelle à l'énergie mécanique perdue. L'hystérésis permet donc de mesurer la capacité de stockage d'énergie d'un tissu : plus elle est grande moins le tissu stocke l'énergie et moins l'énergie est retournée au système lors de la relaxation de la contrainte. (Figure 2.8) Les fibres élastiques et les fibres de collagènes présents dans les feuillets ne présentent pas d'hystérésis significative dans leur zone de sollicitation principale : ils permettent un stockage efficace de l'énergie qui assure la rétraction rapide des feuillets lors de l'ouverture des valves [18].

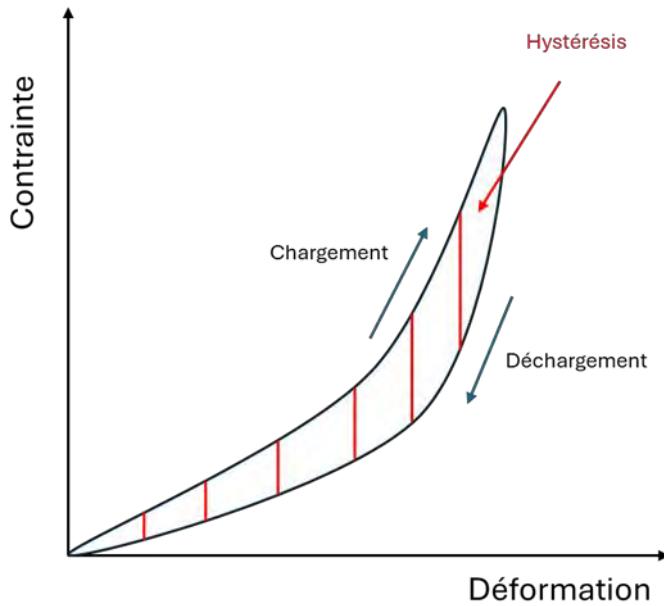


Figure 2.8 Chargements et déchargements successifs des valves biologiques. Inspiré de [18].

Les valves mitrales et aortiques sont les plus concernées par les cas de défaillances car elles sont soumises aux pressions du ventricule gauche, plus élevées que celles du ventricule droit [18].

2.1 À retenir

- Les valves cardiaques s'ouvrent et se ferment environ **36 500 000 fois par an.**
- La pression maximale de l'oreillette gauche est d'environ **10 mmHg** et celle dans le ventricule gauche autour de **120 mmHg.**
- L'intégrité mécanique des valves cardiaques est assurée par les **fibres élastiques**, les **fibres de collagène**, des **glycosaminoglycans** et des **protéoglycans**.
- Les valves se déforment au maximum d'environ **40%**, en position fermée.
- Plus le module de Young est élevé plus le matériau est rigide.
- Les valves natives présentent une **hystérésis relativement faible.**

2.2 Maladies cardiaques

2.2.1 Première cause de mortalité dans le monde

D'après l'Organisation mondiale de la santé, en 2021 la première cause de mortalité dans le monde était la maladie cardiaque ischémique [1]. Les maladies cardiaques sont la deuxième cause de mortalité au Canada, avec près de 58 milles décès [31]. Les maladies liées à une défaillance cardiaque sont en hausse dans le monde et peuvent être considérées comme une pandémie. De 1990 à 2017, le nombre de personnes atteintes d'une maladie cardiaque a doublé en passant de 33.5 à 64.3 millions. Chez les adultes, les trois défaillances cardiaques principales sont la cardiopathie ischémique, la cardiopathie hypertensive et la maladie pulmonaire obstructive chronique [32].

2.2.2 Dysfonctionnement des valves cardiaques

Il est estimé que d'ici 2040, près de 1.5 millions de canadiens âgés de plus de 65 ans seront porteurs d'une maladie cardiaque liée à un dysfonctionnement de valve cardiaque, plus communément appelée valvulopathies [33]. En 2022, le nombre total de chirurgies de valves cardiaques s'élevait à 14 410, comprenant les réparations et les remplacements de valves [34]. Aux Etats-Unis ce chiffre s'élève à 100 000 remplacements valvulaires par an, entre 2019 et 2023 [23].

Dans le monde, environ 250 000 valves cardiaques sont remplacées chaque année [2]. La maladie valvulaire la plus répandue est la cardiopathie rhumatismale, une affection immunitaire systémique qui touche environ 41 millions de personnes et concerne majoritairement les pays en

développement [36]. Cette maladie apparaît à la suite de complications de la fièvre rhumatismale. Cette dernière se transmet par gouttelettes ou contact direct et correspond à l'infection par une bactérie streptocoque [37]. Les autres maladies fréquentes des valves cardiaques sont la sténose de la valve aortique, la régurgitation mitrale (RM), et la régurgitation aortique. Si la cardiopathie rhumatismale est la plus prévalente dans les pays en développement, la sténose aortique, liées à l'âge est davantage présente dans les pays développés. Aux Etats-Unis, en 2017 parmi les décès liés à des déficiences de valve cardiaque, 61% étaient dues à la valve aortique, 15% à la valve mitrale et les 24% aux autres valves. [36]. Lorsqu'une réparation de la valve endommagée n'est pas possible, la solution actuelle est de procéder à un remplacement de cette dernière. La première réparation de valve cardiaque concluant a eu lieu en 1923 [38].

Parmi les maladies cardiaques, la RM est une maladie où la valve mitrale fuit. Lors de la systole ventriculaire gauche, l'intégralité du sang expulsé n'est pas envoyée dans l'aorte. Une partie du sang fuit au travers de la valve mitrale et retourne dans l'oreillette alors que la valve est en position fermée. Il en découle un plus faible apport sanguin à la circulation générale. Cette maladie a une prévalence de 2% dans le monde. Elle peut mener à une défaillance cardiaque, un accident cardiovasculaire, une fibrillation auriculaire, une hypertension de l'artère pulmonaire et une dilation du cœur [39].

Le niveau de sévérité de la fuite mitrale peut être évaluer via la notion de fraction de régurgitation (RF). La fraction de régurgitation est définie comme le volume régurgitant (Figure 2.9 a) divisé par le volume d'éjection au travers de la valve fuyante (Figure 2.9 b) par la Société Américaine d'Échocardiographie (ASE) [40]. L'équation (2.1) détail le calcul de la fraction de régurgitation. Plus la fraction de régurgitation est élevée plus la fuite est importante.

$$\text{Fraction de régurgitation (\%)} = \frac{\text{Volume régurgitant}}{\text{Volume d'éjection}} * 100 \quad (2.1)$$

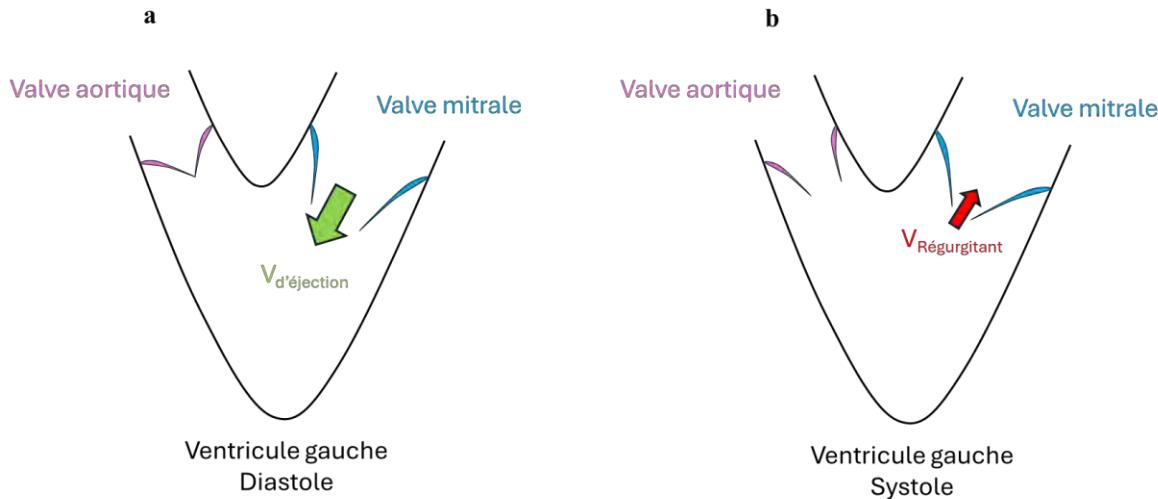


Figure 2.9 Ventricule gauche avec illustration des volumes de sang impliqués dans la détermination de la fraction de régurgitation. a) Volume d'éjection (vert) qui passe au travers de la valve mitrale lors de la diastole ventriculaire et destiné à être envoié dans l'aorte; b) Volume régurgitant (rouge) pathologique qui repart vers l'oreillette gauche de lors de la systole ventriculaire, c'est le volume qui fuit au travers de la valve mitrale dysfonctionnelle lorsque cette dernière est fermée.

2.2 À retenir

- Les maladies cardiaques sont la **première cause** de mortalité dans le monde.
- D'ici 2040, près de **1.5 millions** de canadiens âgés de plus de 65 ans souffriront d'une **maladie valvulaire cardiaque**.
- Dans le monde, environ **250 000 valves cardiaques** sont remplacées chaque année.

2.3 Prothèses valvulaires actuelles

2.3.1 Valves mécaniques

Si la première réparation de valve cardiaque concluante a eu lieu en 1923, la première implantation réussie de valve mécanique a eu lieu en 1952. Ces valves artificielles sont reconnues pour leur grande durabilité mais leur principale limite est leur faible biocompatibilité liée à la prise d'anticoagulants à vie [41] pour contrer l'activation d'éléments sanguins qui conduisent à l'agrégation de plaquettes et formation de thrombus [6]. La biocompatibilité est un aspect crucial à prendre en compte lors de la mise au point d'un implant cardiovasculaire. De manière globale,

elle peut être définie comme « la capacité d'un biomatériau à remplir sa fonction, sans provoquer d'effets indésirables locaux ou systémiques chez le receveur tout en générant une réponse cellulaire ou tissulaire appropriée dans cette situation » [42] Le problème majeur des valves mécaniques n'étant pas le matériau mais le design qui altère le flux physiologique et engendre des taux de cisaillement importants pouvant abimer les cellules sanguines. La prise d'anticoagulants peut être problématique car elle engendre, en cas de blessure, des saignements très abondants. Elle est aussi associée à des réactions indésirables à la suite de l'administration de certains médicaments [43]. Plusieurs itérations de valve mécaniques ont été proposées pour tenter d'améliorer leur profil hémodynamique. Les premières générations de valves à bille dans cage causaient une obstruction importante au flux antérograde, de forts cisaillements et une hémodynamie limitée. Les deuxièmes générations, les valves à disque, puis des valves à disque semi-lunaires (Figure 2.11) possèdent de meilleures performances hémodynamiques et représentent la majorité des valves mécaniques aujourd'hui commercialisées [44].

Aujourd'hui plusieurs compagnies en commercialisent, par exemple St. Jude medical (prothèse SJM) ou Artivion (prothèse On-X). Les valves mécaniques sont de moins en moins implantées en position mitrale et aortique. Cela peut s'expliquer par le développement de nouvelles valves bioprothétiques et le développement de nouvelles techniques d'implantation telles que l'implantation de valve aortique par cathéter (TAVI en anglais) [41] réalisée pour la première fois chez un patient en 2002 par le docteur Alain Cribier [45].

2.3.2 Valves biologiques/bioprothétiques

Afin de résoudre les problèmes majeurs des valves mécaniques liés à la rigidité des feuillets, les valves bioprothétiques sont apparues. Ces prothèses possèdent un profil hémodynamique plus proches de la physiologie (Figure 2.11). Les valves bioprothétiques (aussi appelées bioprothèses) implantées aujourd'hui sont des valves fixées au glutaraldéhyde. La majorité de ces valves sont fabriquées à partir de valves porcines reconstruites ou de péricarde bovin. Dans de plus rares cas, elles proviennent de valves humaines issues d'un donneur décédé (homogreffé) ou du patient lui-même (autogreffé) [46]. Afin d'éviter les risques de réaction immunitaire, les valves fabriquées à partir de tissus animaux sont décellularisées. Les valves bioprothétiques ont l'avantage, par rapport aux valves mécaniques, de ne pas nécessiter la prise d'anticoagulants à vie mais elles présentent d'autres limites. En effet, leur principale limite réside dans leur durabilité limitée dues à des

détériorations structurelles. Celles-ci peuvent être liées à des processus passifs (comme la fatigue) ou des processus actifs de calcification, d'inflammation médiée par des lipides ou encore de réponse immunitaire liée à la présence de cellules résiduelles [2]. Elles peuvent également présenter de la cytotoxicité due aux détergents communément utilisés lors de ce procédé de décellularisation [47]. Le choix de remplacement d'une valve défaillante par une valve mécanique ou bioprotéthique se fait surtout en considérant l'âge du patient.

2.3.3 Valves polymériques

En 2025, les prothèses valvulaires approuvées pour le remplacement des valves cardiaques sont les valves mécaniques (55%) et les bioprothèses (45%) [2]. Pour les patients d'âge inférieur à 50 ans d'après les normes américaines (ACC/AHA) ou inférieur à 60 ans d'après les normes européennes (ESC/EACTS), la valve mécanique est recommandée, car considérée comme plus durable. Pour les patients de plus de 65 ans une valve bioprotéthique est favorisée [41]. Face aux limites que présentent ces deux modèles de valves, la recherche s'est orientée vers le génie tissulaire et le développement de nouvelles valves polymériques. La valve synthétique « idéale » serait une valve en hydrogel ensemencée avec des cellules (e.g. des cellules souches pluripotentes induites (iPSC)) et qui pourrait se dégrader au fur et à mesure que les cellules colonisatrices produisent leur propre matrice extracellulaire et qui aurait une bonne hémodynamie et durabilité. Ces nouvelles valves sont d'intérêt car les cellules ensemencées peuvent être choisies en considérant les spécificités de chaque patient [48]. Aujourd'hui ces valves polymériques font face à des limites, notamment en termes de durabilité.

Les premières valves polymériques développées étaient en polysiloxanes (i.e. silicone). La première étude clinique a été menée dans les années 50 et a échoué dû à un taux élevé de mortalité et de complications post opératoires. Par la suite, des valves ont été développées à base de polytétrafluoroéthylène (PTFE) ou polyuréthane (PU) mais présentaient de nombreuses limites, notamment l'apparition de calcification, épaisseissement des feuillets, mauvaises performances hémodynamiques. En 2024, il n'y a pas de valves polymériques commercialisées en Europe et en Amérique. La majorité des valves polymériques développées actuellement sont au stade d'étude pré-clinique [5], les essais cliniques étant encore rares [49]. Très récemment, la première production de valve polymérique (marque Foldax®) a été approuvée en Inde [50]. Les valves polymériques ont un grand potentiel car ces dernières ont une bonne résistance mécanique,

flexibilité, biocompatibilité et résistance à la calcification. De plus elles permettent de s'affranchir des problèmes liés au traitement de décellularisation impliqué dans la dégénérescence des valves biologiques. Un autre avantage des valves polymériques est qu'elles ne risquent pas de déclencher d'encéphalopathie spongiforme qui peut se produire lors de l'implantation de tissus dérivés du bétail. Finalement, la production à grande échelle de valves polymériques résoudrait les problèmes d'accès aux valves biologiques, ces dernières étant limitées par l'accès aux tissus animaux et couteuses.

Ainsi, une valve cardiaque polymérique doit remplir le cahier des charges suivant [6], [51]:

- Présenter une bonne performance hémodynamique
- Maintenir des propriétés mécaniques adéquates dans le temps (résistance aux pressions intracardiaques, et à la fatigue)
- Être étanche
- Être biocompatible : avoir une faible thrombogénicité, ne pas induire de réponse immunitaire
- Être résistante à la calcification
- Être fabricable de manière reproductible et accessible au plus grand nombre de patients

Parmi, les valves polymériques actuellement en développement, la valve Foldax Tria type SAVR (remplacement par voie chirurgicale) est au stade clinique, la valve Inflow type TAVI (implantation par voie transcathéter) est au stade d'étude animale, la valve SAT type TAVI est au stade de tests in vitro, ou encore la valve PoliValve type SAVR est au stade de tests in vitro et in vivo à court terme (Figure 2.10) [51].

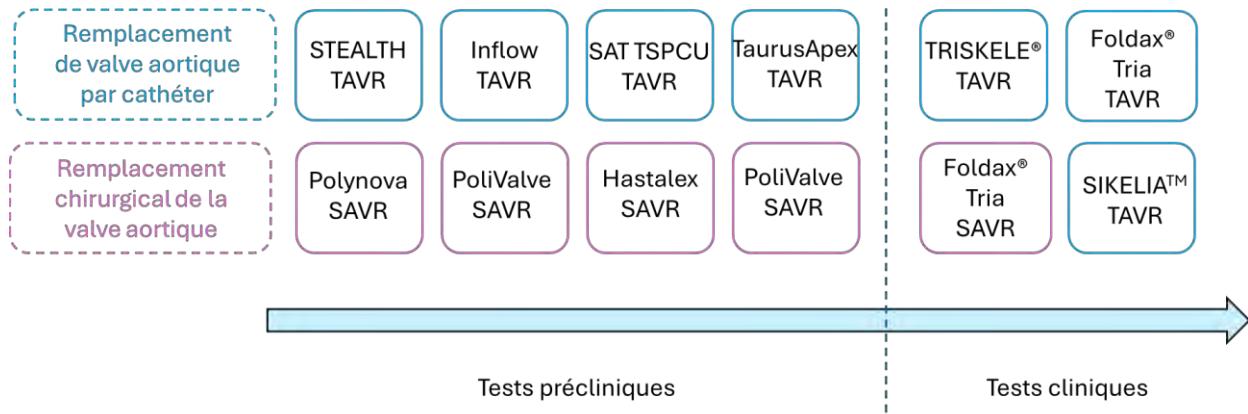


Figure 2.10 Valves cardiaques polymériques en cours de développement. Inspiré de [5].

Les polymères que l'on retrouve pour la fabrication de valves polymériques sont (liste non exhaustive) : le polytétrafluoroéthylène (PTFE), le polysiloxane (Silicone) (e.g., PDMS), le polyuréthane thermoplastique (TPU), le polyuréthane urée thermoplastique (TPUU), l'uréthane de polyéther (PEU), le polycarbonate uréthane (PCU), le polysiloxane uréthane (PSU), le styrène-isobutylène-styrène (SIBS), les caoutchoucs éthylène-propylène-dimère-monomère (EPR), l'urée polyuréthane à base de silicone (SiPUU) (polymère de la valve Foldax® Tria), le nanocomposite siloxane-polycarbonate-urée-polyuréthane (POSS-PCU) (polymère de la valve TRISKELE®) (Figure 2.11) et l'alcool polyvinyle (PVA) [52]. Pami les polymères souhaitables pour la fabrication de valve cardiaque polymériques, les polymères solubles sont utilisés pour la formulation d'hydrogels et peuvent former des réseaux 3D. Un hydrogel est obtenu lorsqu'un polymère est dissous dans l'eau, ou une solution, puis subit une réticulation physique ou chimique. La réticulation (crosslinking en anglais) correspond à la formation de liaisons entre des chaînes de polymères pour former un réseau tridimensionnel. Une fois réticulé, l'hydrogel devient insoluble et gonfle jusqu'à stabilisation lorsqu'il est immergé dans de l'eau, tampon ou fluide biologique. Les polymères hydrophiles peuvent être facilement modelés et utilisés pour reproduire la matrice extracellulaire. Ces hydrogels peuvent être naturels (e.g. collagène), synthétiques (e.g. poly(éthylène glycol) (PEG) ou PVA ou un mélange des deux [53].

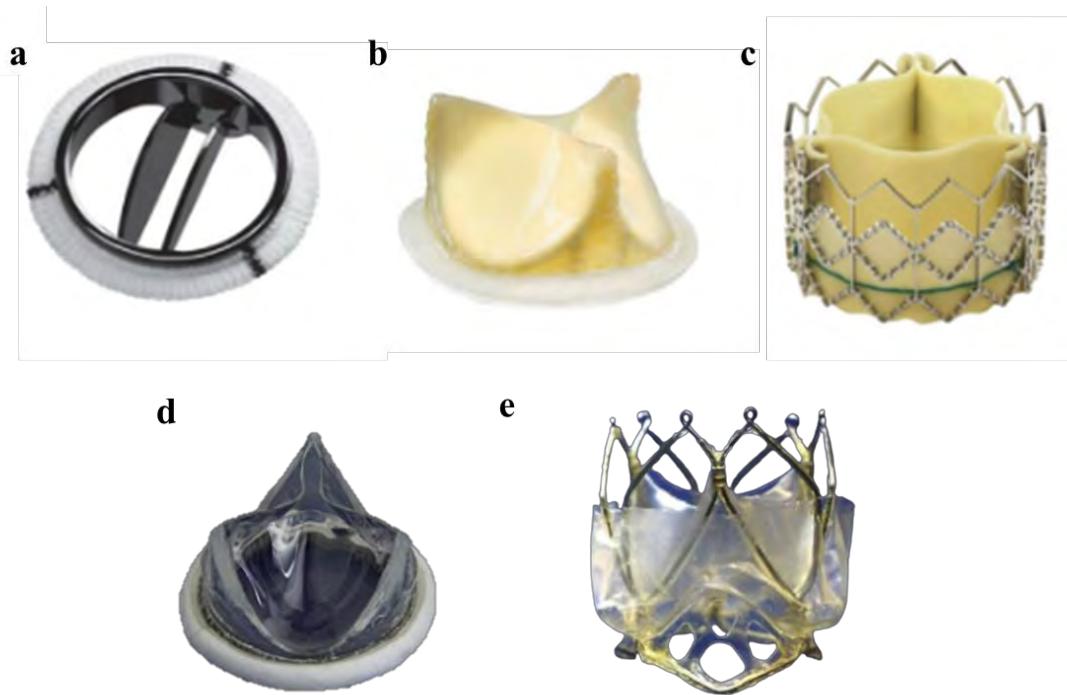


Figure 2.11 Valves cardiaques prothétiques. a) Valve mécanique, valve médicale St-Jude à deux feuillets ; b) Valve bioprothétique chirurgicale sur stent, St-Jude Medical Trifecta de péricardique avec feuillets cousus à l'extérieur ; c) Valve bioprothétique transcathéter Edwards SAPIEN, d) Valve polymérique en polycarbonate uréthane aortique développée par ADIAM Life Sciences, Allemagne ; e) Valve polymérique transcatheter UCL Triksele avec stent en nitinol et feuillets dépliants nanocomposites POSS-PCU. Inspiré et reproduit avec permission de [44].

2.3 À retenir

- Actuellement les valves cardiaques de remplacement sont les **valves mécaniques (55%)** ou **bioprothétiques (45%)**, il n'y a pas encore de valve polymérique commercialisée à l'échelle mondiale.
- Les **valves mécaniques** ont une bonne **résistance à la fatigue** mais leur biocompatibilité est limitée, elles nécessitent la prise **d'anticoagulants à vie**.
- Les valves bioprothétiques sont davantage biocompatibles mais possèdent une durabilité limitée.
- Les valves polymériques ont un fort potentiel : bonne résistance mécanique, flexibilité, biocompatibilité, résistance à la calcification, production à grande échelle possible et à moindre coût.

2.4 Hydrogels pour la fabrication de valves cardiaques

2.4.1 Propriétés mécaniques des hydrogels dans l'application aux valves cardiaques

Le comportement des polymères lorsqu'ils sont soumis à des forces de tension est bien décrit dans la littérature, il est souvent décrit par le tracé de la contrainte du matériau en fonction de la déformation qu'il lui est appliquée. Comme on peut le voir sur la Figure 2.12, il est possible de déterminer le module de Young du matériau dans la zone de déformation élastique qui est linéaire. Au-delà de cette zone, le matériau subit un écrouissage, c'est-à-dire qu'il durcit, puis un rétrécissement et finalement la rupture, ces évènements ont lieu dans la zone de déformation plastique.

Les feuillets natifs subissent des pressions de l'ordre de 1 MPa [6]. Par exemple, les valves pulmonaires et aortiques résistent à des contraintes dans la direction circonférentielle égales à 2.78 ± 1.05 MPa et 1.74 ± 0.29 MPa respectivement. Les valves biologiques artificielles actuelles peuvent résister à des contraintes de tensions allant de 10 à 30 MPa. Les valves doivent avoir une flexibilité et une élasticité suffisante pour pouvoir s'ouvrir facilement, et une rigidité et une résistance suffisantes pour retenir efficacement le flux et empêcher le retour sanguin lors de la fermeture [6]. La déformation élastique des valves polymériques est assurée par l'élongation des chaînes carbonées, le mouvement des macromolécules les unes par rapport aux autres et leur capacité à adopter un état énergétiquement favorable. Les chaînes carbonées ont un allongement très élevé à la rupture en raison de la faible interaction des groupes -CH_x- entre eux. Un poids moléculaire élevé permet d'augmenter le degré d'enchevêtrement des molécules, ce qui permet d'étirer encore d'avantage le matériau avant qu'il ne brise et donc d'augmenter la contrainte maximale supportée. L'augmentation des forces intra- et inter-moléculaires liées à la présence de groupes fonctionnels augmente la rigidité et réduit la plasticité (déformation irréversible) du matériau. En effet, toute déformation n'est pas réversible et l'enjeu de la durabilité et de la résistance à la fatigue est central dans le développement de valves polymériques [5], [6].

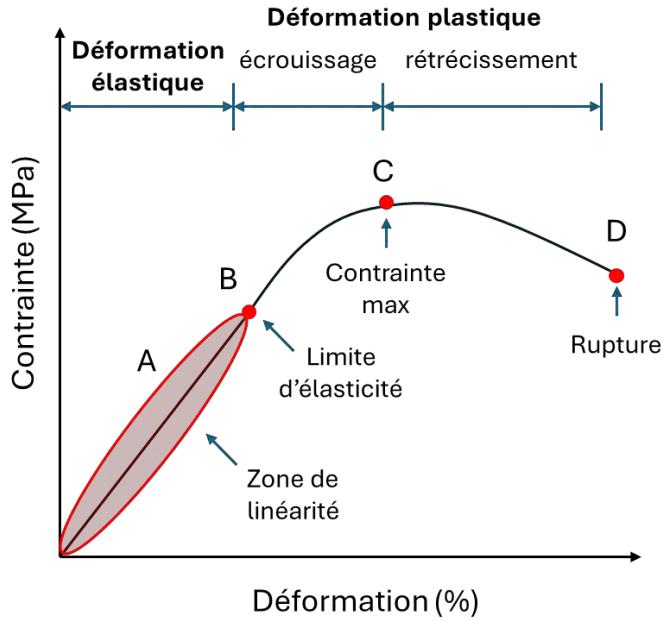


Figure 2.12 Courbe de typique contrainte-déformation pour un film de polymère subissant un essai de traction. Inspiré de [54].

En plus d'avoir des propriétés mécaniques comparables avec celles des valves natives (comportement viscoélastique), les valves polymériques doivent présenter une excellente durabilité. La durabilité est directement liée aux propriétés mécaniques des polymères utilisés, en particulier leur résistance à la fatigue, c'est-à-dire leur capacité de se déformer sur un très grand nombre de cycles, sans développer de fissures. Cette résistance à l'apparition de fissures se caractérise par la ténacité (pour une contrainte monotone) et le seuil de fatigue (pour une contrainte cyclique). La ténacité correspond à la capacité du matériau à absorber l'énergie avant de se rompre et correspond à l'aire sous la courbe Contrainte-Déformation. Le seuil de fatigue correspond à la contrainte limite que le matériau peut absorber avant de commencer à se détériorer, i.e. développer des fissures, sous des contraintes cycliques. Le seuil de fatigue ne peut pas dépasser la ténacité d'un matériau. Un matériau tenace ne cassera pas facilement mais se déformera plus. Il faut donc trouver un compromis entre la ténacité (durabilité) et la rigidité d'un matériau (résistance à la déformation). La Figure 2.13, présente le seuil de fatigue en fonction de la ténacité pour différentes familles de matériaux. Augmenter le nombre de monomères dans le polymère permet d'augmenter sa ténacité et le seuil de résistance à la fatigue mais diminue sa rigidité. L'enjeu est donc d'optimiser la ténacité, par exemple en ajoutant des réseaux covalents de chaînes courtes de polymères, des complexes non covalents (liaisons faibles comme hydrogène ou ioniques), ou des

particules inorganiques. De plus, l'introduction de doubles réseaux permettrait d'augmenter le seuil de fatigue. Dans ce type de réseaux, les chaînes courtes permettent d'améliorer la rigidité alors que les chaînes plus longues peuvent contribuer à augmenter le seuil de fatigue. Ainsi, il est possible d'optimiser les propriétés mécaniques d'un hydrogel en ajustant le ratio de monomères et le type d'agent réticulant. De récentes études ont montré que le PVA présente des seuils de fatigue autour de 1000 J/m²[55]. À titre indicatif les tissus natifs ont des seuils de fatigues variant de 1000 à 80000 J/m² et le caoutchouc naturel a un seuil de fatigue de 10000 J/m² [56].

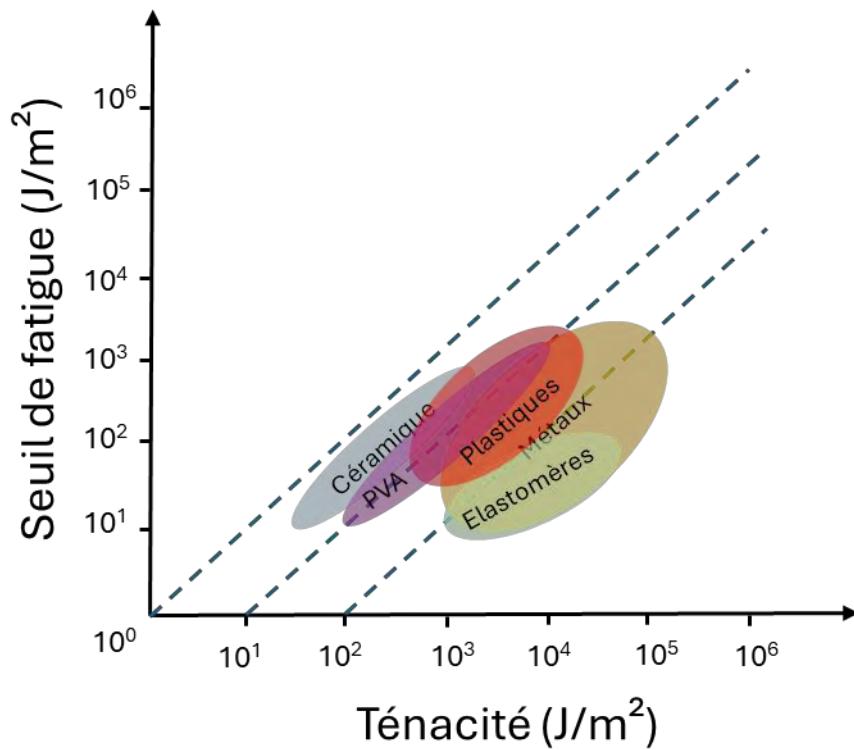


Figure 2.13 Graphique Seuil-Ténacité approximatif pour différentes familles de matériaux.
Inspiré de [55].

La fatigue peut aussi être évaluée en observant le nombre de cycles auxquels un matériau peut être soumis avant de présenter des défaillances entraînant une perte de fonctionnalité. Par exemple, les valves humaines saines subissent environ 3 milliards de cycles au cours d'une vie sans présenter de dommages.

2.4.2 L'alcool polyvinylique (PVA) comme polymère pour la fabrication des valves polymériques

L'alcool polyvinylique (PVA, polyvinyl alcohol en anglais) présente un fort potentiel car il est facile à manipuler, soluble dans l'eau, peu coûteux, non toxique, biocompatible, et possède des propriétés mécaniques intéressantes (Figure 2.14) [57], [58], [59]. Si le PVA a d'abord été utilisé dans l'industrie alimentaire pour l'emballage de la nourriture et comme composant des capsules de compléments alimentaires, il est aujourd'hui utilisé pour la fabrication de lentilles de contacts, pansements, cathéters, ... [60]. Le PVA est approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) [61] et par l'European Food Safety Authority (EFSA) [62].

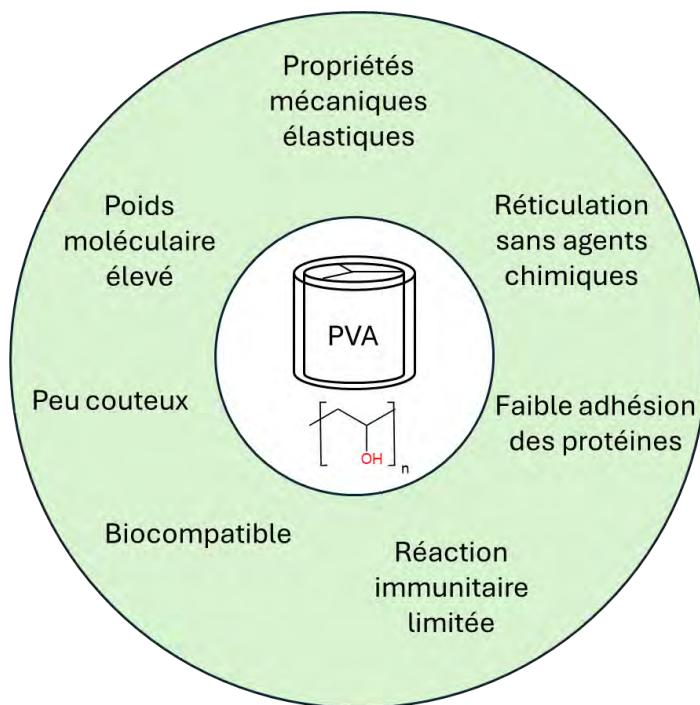


Figure 2.14 Avantages du PVA pour des applications cardiovasculaires telles les implants vasculaires.

Le PVA est un polymère constitué de la répétition de blocs composés d'une chaîne linéaire à deux carbones liés à un groupe hydroxyle. Il est synthétisé à partir du monomère acétate de vinyle qui est polymérisé et dont les groupes acétates sont hydrolysés dans du méthanol. Comme évoqué précédemment, le PVA est connu pour sa bonne biocompatibilité et ses propriétés mécaniques modulables. Les hydrogels de PVA sont communément préparés de deux manières : par

réticulation physique ou par réticulation chimique. Le degré de réticulation, c'est-à-dire le nombre de liaisons entre les chaînes de polymères formant le réseau composant l'hydrogel, a un impact direct sur la capacité d'absorption de l'eau de la part des hydrogels et donc sur leurs propriétés physiques et chimiques [63]. La méthode de réticulation physique repose sur la soumission de l'hydrogel à des cycles de congélation (généralement à -20°C) et décongélation (généralement à température pièce). Les hydrogels de PVA produits par réticulation physique sont appelés « cryogels » de PVA [59]. Dans de nombreux articles scientifiques, les cryogels de PVA sont souvent appelés par abus de langage « hydrogels de PVA », c'est ainsi qu'on y réfère également dans ce mémoire. Lors de la congélation, l'eau et le PVA se séparent pour former deux phases, les cristaux de glace poussent les chaînes de PVA les unes vers les autres ce qui permet la formation de liaisons hydrogènes entre les chaînes et leur permet de s'aligner pour former des cristallites organisées de PVA. Lors de la décongélation les cristaux de glace laissent la place à des pores dans l'hydrogel (Figure 2.15). Le nombre de cycles varie de 3 à une dizaine, plus les cycles sont nombreux, plus il y a de chaînes de PVA incorporées dans les cristallites et plus l'hydrogel est renforcé. Une relation linéaire a été observée entre le nombre de cycle et le module de compression des hydrogels, cette relation semble devenir constante au-delà de 6 cycles. La taille des pores de l'hydrogel augmente également avec le nombre de cycles. Il a aussi été observé que le contrôle des vitesses de congélation et de décongélation joue un rôle sur les propriétés mécaniques des hydrogels de PVA mais à défaut d'avoir l'équipement nécessaire, dans la plupart des études, les hydrogels sont simplement sortis, puis replacés au congélateur [64].

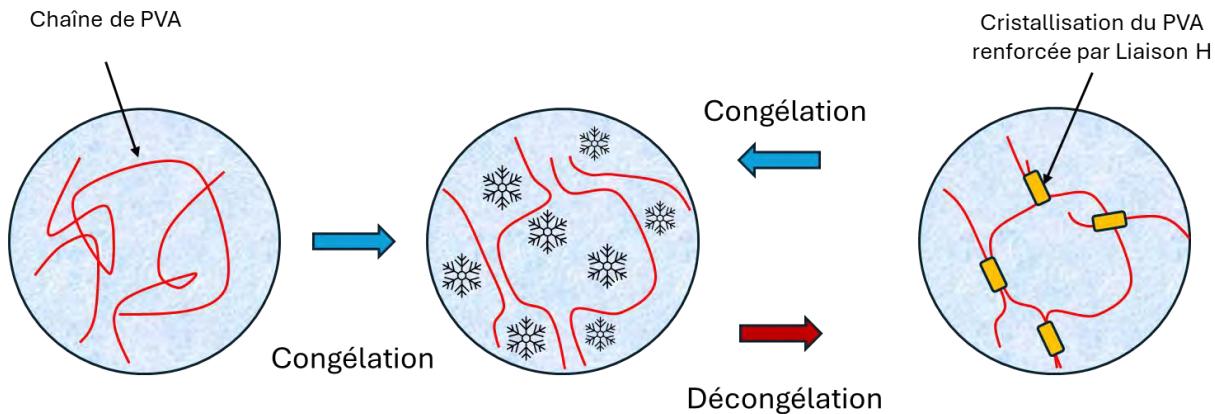


Figure 2.15 Préparation des hydrogels par la méthode de réticulation physique gel/dégel. Inspiré de [64].

La masse moléculaire, la concentration, le solvant et la méthode de réticulation utilisés impactent les propriétés mécaniques des hydrogels en PVA. Chen et al ont produit des hydrogels de PVA en combinant réticulation chimique (ajout de glutaraldéhyde) et physique (cycles congélation/décongélation). Ils ont observé que l'augmentation de la masse moléculaire et de la concentration de PVA permet d'améliorer les propriétés mécaniques jusqu'à un certain point au-delà duquel elles se dégradent. Ils ont observé que les hydrogels avec du PVA de poids moléculaire 145,000 Da avaient les meilleures propriétés mécaniques : haute résistance et ténacité et que les hydrogels à 10 wt% avaient la résistance mécanique la plus élevée [65]. San et al., ont appliqué des traitements thermiques à des hydrogels de PVA produits par la méthode de « solution casting » et ont observé que les hydrogels chauffés à 140°C pendant 40 min avait une cristallinité maximale et de meilleures propriétés mécaniques. Au-delà de cette température les surfaces deviennent rugueuses, signe de dégradation de l'hydrogel [66]. La formulation d'hydrogels de PVA a largement été décrite dans la littérature et l'on retrouve une assez grande diversité de protocoles. Une liste non exhaustive des articles impliquant la formulation d'hydrogels de PVA est dressée dans l'annexe A. La dissolution du PVA dans l'eau peut mener à l'obtention d'un gel très visqueux ce qui peut rendre délicat l'obtention d'un gel homogène de PVA seul ou avec d'autres composants [64]. Par exemple, pour une solution de PVA 13 wt% (soit 15 w/v), la viscosité dynamique à 25°C est de 2.9×10^{-2} Pa.s [67]. À titre de comparaison le sang a une viscosité comprise entre 0.35×10^{-2} et 0.55×10^{-2} Pa.s [68]. Cette caractéristique est donc à considérer lors de la formulation des

hydrogels de PVA, notamment concernant la température et la géométrie utilisée pour le mélange de la solution.

Comme décrit plus haut, le PVA possède des caractéristiques biologiques et mécaniques intéressantes pour la formulation d'hydrogels destinés à la fabrication de valves cardiaques. Cependant, il possède tout de même des limites. D'un point de vue mécanique, sa résistance à la fatigue doit être améliorée. Du point de vue de sa biocompatibilité, même si la réaction biologique qu'il génère est faible, son existence peut poser des problèmes à long terme (e.g. inflammation chronique). En effet, comme pour beaucoup de biomatériau, quand le PVA est implanté, des protéines s'adsorbent à sa surface et cela entraîne le recrutement de cellules du sang et ces cellules immunitaires qui peuvent initier une réaction vis-à-vis du PVA. De plus, le PVA n'est pas propice à l'adhésion cellulaire car il ne possède pas de ligands d'adhésion. Cela signifie que le PVA ne permet pas l'adhésion des cellules endothéliale, un processus biologique très important pour l'intégration de l'implant aux tissus environnants [69]. C'est pourquoi associer le PVA avec d'autres polymères est une voie d'amélioration. Parmi les polymères possibles, le dextrane (Dex) possède un fort potentiel.

2.4.3 Le dextrane pour l'optimisation de la biocompatibilité

Le dextrane est un exopolysaccharide d'intérêt, soluble dans l'eau, il possède une charge neutre et il est produit par les bactéries appartenant aux espèces *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, et *Streptococcus*. Il se compose de cycles glucopyranoses liés en α -1,6. C'est un analogue naturel au poly(éthylène glycol) (PEG) [70]. Le PEG est connu pour sa résistance à l'adsorption des protéines et empêche l'adhésion des cellules [71]. Le dextrane a beaucoup d'applications dans le secteur biomédical car il possède de bonnes propriétés physico-chimiques et est reconnu pour sa bonne biocompatibilité [72]. Il est notamment utilisé en médecine en perfusion car il permet d'augmenter le volume sanguin et améliore la circulation sanguine chez les patients [73]. Le dextrane est généralement utilisé afin de diminuer les risques de thrombose, la réponse inflammatoire et pour prévenir l'ischémie. Il est aussi utilisé comme polymère de recouvrement de surface pour améliorer la biocompatibilité des biomatériaux. Il a des propriétés *antifouling*, c'est-à-dire qu'il empêche l'adhésion d'éléments indésirables notamment l'adhésion des protéines et des cellules qui a lieu suite à l'implantation *in vivo* d'un matériau [71], [74]. En effet, l'un des défis des biomatériaux réside dans leur capacité à minimiser l'adhésion des cellules inflammatoires tout en promouvant

l'adhésion des cellules tissulaires. Le dextrane empêche l'adhésion de toutes les cellules mais peut être fonctionnalisé pour promouvoir l'adhésion d'un type cellulaire en particulier. Le dextrane possède davantage de sites disponibles pour la liaison de peptides d'adhésion que le PEG [74].

Un autre grand défi est le phénomène d'adsorption des protéines qui se produit suite à l'implantation de tout corps étranger. Ces protéines peuvent provoquer l'adsorption d'autres protéines, l'activation des plaquettes et la formation de thromboses, c'est-à-dire de caillots sanguins obstruant le passage du sang. Matwiset et al. Ont étudié l'adsorption des protéines sur des échantillons de silicone fonctionnalisé avec du dextrane pour différents poids moléculaires de dextrane et différents niveaux d'oxydation du dextrane (groupes hydroxyles remplacés par des groupes aldéhydes). Ils ont observé, pour des couches de dextrane d'épaisseur de l'ordre 10^{-10} m, une forte diminution de l'adsorption des protéines. La surface la plus antifouling étant composée de dextrane partiellement oxydé [71].

La relation entre la structure moléculaire et physique d'un biomatériau et la résistance à l'adsorption/adhésion de protéines a été décrite par Morra [75]. En effet, les propriétés antiadhésives d'un matériau peuvent être liées à des propriétés physiques et chimiques. Les mécanismes d'adsorption des protéines en surface des biomatériaux ne sont pas totalement élucidés, d'autant plus qu'ils dépendent du type de protéine, de l'environnement et du matériau étudié. Pour ce qui est des considérations physiques, la capacité antiadhésive de chaînes de polymères en surface d'un biomatériau s'explique par l'encombrement stérique. Lorsqu'une protéine approche les chaînes de polymères, celles-ci perdent en liberté de mouvement ce qui diminue l'entropie du système et génère une force de répulsion vis-à-vis des protéines. Les chaînes de polymères agissent comme une barrière physique envers les protéines. Cependant, cette considération physique est à considérer avec précaution car elle dépend de la manière dont les chaînes sont greffées en surface et elle suppose que la résistance est due uniquement à l'entropie et ne prend pas en compte les interactions chimiques avec l'eau. Concernant les considérations chimiques, des liaisons hydrogènes peuvent se former entre la surface du biomatériau - si ce dernier est hydrophile - et les molécules d'eau, ce qui peut résulter en la formation d'une « barrière énergétique » qui empêche l'adsorption des protéines. Cette barrière hydratante dépend des paramètres moléculaires de la surface (composition, conformation, groupes fonctionnels). Les forces électrostatiques, les interactions van der Waals et les interactions acide-base de Lewis peuvent aussi jouer un rôle d'attraction ou de répulsion entre la surface et les protéines.

De manière générale, l'adhésion des protéines est limitée par le greffage de couches de polymères en surface du biomatériau. L'efficacité de l'effet antiadhésif recherché dépend de l'hydrophilicité du polymère, de la quantité de polymère antiadhésif immobilisé, de la densité et de la conformation en surface [76]. Les propriétés antiadhésives du dextrane peuvent donc s'expliquer en partie par son caractère hydrophile qui diminue son affinité avec les protéines exposant des surfaces hydrophobes. Le dextrane est électriquement neutre et ne favorise donc pas les interactions avec les protéines chargées. Finalement, les chaînes du dextrane peuvent engendrer une barrière physique (encombrement stérique) limitant l'adsorption des protéines lorsque ce polysaccharide recouvre la surface d'un matériau.

2.4.3.1 Dextrane en surface

Massia et al, ont mis au point une méthode simple pour immobiliser du dextrane oxydé à la surface de matériaux ayant au préalable été aminés. Les surfaces couvertes de dextrane étaient associées à de plus faibles adhésion et étalement des cellules comparé aux surfaces de PET et verre non modifiées. Par ailleurs, ils n'ont pas observé de diminution significative de la viabilité cellulaire en présence de dextrane montrant ainsi que ce dernier peut être utilisé pour réduire l'adhésion de cellules indésirables, sans présenter de toxicité significative. Le dextrane, quand il est immobilisé à la surface d'un matériau, réduit l'adhésion des protéines de manière similaire au PEG. Le PEG, immobilisé par son extrémité, reproduit un mouvement similaire à celui des flagelles et repousse les protéines. Le dextrane, immobilisé latéralement, produit une série de boucles à la surface du matériau qui auraient une mobilité similaire à celle du PEG permettant de repousser les protéines [74]. En effet, le dextrane non oxydé se lie en surface par son extrémité alors que le dextrane oxydé se lie latéralement [77]. En réalité, c'est surtout la superficie couverte qui a une importance sur le taux d'adsorption des protéines par rapport à la l'épaisseur de couverture (Figure 2.16).

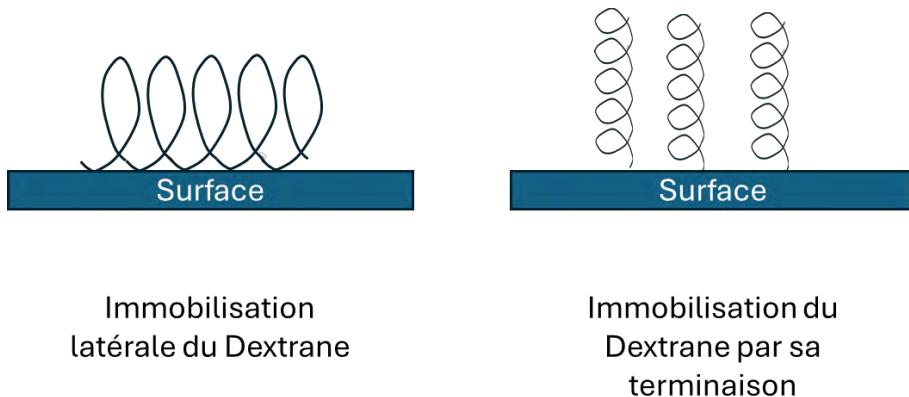


Figure 2.16 Configurations schématiques du dextrane selon son mode d’immobilisation. Inspiré de [77].

2.4.3.2 Dextrane en bulk

Au lieu d’être immobilisé en surface, le dextrane peut également être mélangé avec d’autres polymères. Cette méthode est plus simple car elle ne requiert pas de modification ni d’activation de surface. Elle permet aussi d’intégrer une plus grande quantité de polymère (l’immobilisation étant limité à la surface) et permet d’obtenir un matériau totalement uniforme. Finalement cette méthode est moins coûteuse car elle requiert moins d’étapes.

2.4.3.3 Dextrane fonctionnalisé

Le dextrane peut être facilement biofonctionnalisé via ses groupes hydroxyles. En effet, ses groupes hydroxyles lui permettent de fixer différentes molécules d’intérêt comme le peptide RGD pour promouvoir l’adhésion et prolifération de certaines cellules [64]. Il a été montré que l’immobilisation de facteur de croissance de l’endothélium vasculaire (VEGF) et de peptide d’adhésion RGD à la surface du dextrane permet de favoriser sélectivement la prolifération de cellules endothéliales de la veine ombilicale humaine (HUVEC), représentant donc un fort potentiel pour les biomatériaux développés dans le cadre d’applications vasculaires [78]. Les gels de dextrane peuvent aussi être utilisés pour le relargage contrôlé de protéines. Hennink et al. ont observé que le relargage de lysozymes, albumines et IgG par des gels de dextrane dépend de la composition en eau et la densité de réticulation [79]. Il existe différents dérivés du dextrane, comme le sulfate de dextrane (DS) qui peut être utilisé comme anticoagulant [73]. Le dextrane acétalique (Ac-DEX) devient insoluble dans l’eau, mais reste soluble dans les solvants organiques. Le dextrane oxydé (oDEX), quant à lui, peut se lier à des substances contenant des groupes amine.

Le dextrane carboxyméthylé (CMD) possède des groupes fonctionnels qui favorisent la liaison chimique et l'interaction ionique avec divers médicaments. Ces composés sont quelques-uns des nombreux dérivés du dextrane [80].

2.4.3.4 Méthode de réticulation du dextrane

La réticulation du dextrane peut se faire par interactions chimiques et physiques. Les solutions à forte concentration de dextrane et faible poids moléculaire forment, au bout d'un temps prolongé des hydrogels par cristallisation. Plusieurs agents de réticulation chimiques peuvent être utilisés, comme l'épichlorhydrine qui est utilisée pour la production des gels de filtration Sephadex [81]. Les hydrogels de dextrane peuvent être réticulés en milieu alcalin (hydroxyde de sodium) avec du STMP [82].

2.4.4 Association des polymères PVA/Dextrane pour des hydrogels appliqués au domaine cardiovasculaire

Mélanger du PVA et du dextrane et procéder à des cycles de gels/dégels peut mener à la formation de gels composé de « réseaux semi-interpénétrants », c'est-à-dire que le PVA formerait des réseaux dans lequel le dextrane serait enchevêtré. Il faut noter que le dextrane ne formant pas de liaisons chimiques avec le PVA, il peut être potentiellement relargué avec le temps, même si cela se fait de manière très lente [64]. En 1999, Cascone et al. ont observé que l'ajout de dextrane permet une meilleure cristallisation du PVA et donc la formation d'un hydrogel plus homogène et ordonné [83]. En 2014, Alexandre et al. ont évalué la biocompatibilité et l'hémocompatibilité d'hydrogels à base de PVA pour l'application à des implants vasculaires. Les hydrogels ont été implanté sous-cutanée sur des modèles ovins [84]. Ils ont remarqué que les gels de PVA engendraient une fibrose et une réponse inflammatoire, même si faibles. Globalement, l'ajout de dextrane a permis de réduire l'adhésion et l'activation cellulaire. Pour approfondir l'analyse de biocompatibilité d'hydrogel à base de PVA/Dex, ils ont notamment évalué l'activation de la coagulation sanguine par les hydrogels *in vitro* et *in vivo*. Ils ont observé que les hydrogels de PVA/Dex induisent une activation et une adhérence des plaquettes plus faible comparée au verre de silicate ou au polypropylène. Le verre est connu pour favoriser l'adhérence des plaquettes humaines alors que le polypropylène est connu pour entraîner une adhérence plus modérée. Leurs résultats *in vivo* et *in vitro* ont montré que le PVA/Dex a des propriétés non inflammatoires et non hémolytiques. Ils n'ont cependant pas comparé ces résultats avec des hydrogels de PVA sans Dex [85]. Deux ans

plus tard, ils ont implanté un vaisseau à base d'hydrogel PVA/Dex (90/10) dans un modèle ovin. Le greffon avait la capacité à résister à la pression artérielle et ne présentait aucun signe de dégradation. Ils ont cependant observé un début de formation de thrombus 8 semaines après implantation suggérant la nécessité de fonctionnaliser la surface du greffon pour pallier cela [86]. Fathi et al., 2011 ont analysé la morphologie et le comportement thermique des hydrogels de PVA/Dex. Ils ont observé que l'ajout de dextrane a un impact sur la structure et les propriétés thermiques du gel. Ils ont obtenu des gels homogènes pour 10% (w/w) de Dex, au-delà de cette proportion les gels étaient moins miscibles [87]. Comme évoqué plus haut, le STMP est utilisé pour réticuler le dextrane, il peut aussi être utilisé pour réticuler le PVA [88], [89]. Si le STMP est un agent de réticulation de grade alimentaire [90], il est de plus en plus utilisé dans des applications biomédicales. Par exemple, l'étude de Leone et al., 2010 [88] utilise des hydrogels de PVA réticulés avec du STMP comme substitut du corps vitré de l'œil, les gels ne démontrant pas de cytotoxicité *in vitro* à 72 jours. L'utilisation du STMP pour réticuler des gels de PVA, dextrane ou PVA/dextrane est pertinente dans la perspective de produire un hydrogel avec des propriétés mécaniques et biocompatibles améliorées. Des valeurs de module de Young, contrainte maximale et déformation maximale obtenues pour des gels de PVA et de dextrane avec ou sans STMP et publiées sont présentée dans le Tableau 2.2. Il est pertinent de noter que les ordres de grandeurs des modules de Young pour des gels de PVA sont variables d'une étude à l'autre (ordre de grandeur de 10 à 1000 kPa), ces variations pouvant s'expliquer par des méthodes de fabrications et méthodes de mesures différentes. Les modules de Young enregistrés pour des hydrogels de dextrane sont très faibles (entre 0.1 et 0.9 kPa) [91] et éloignés des ordres de grandeurs répertoriés pour des valves natives (100 à 10,000 kPa). Les courbes de contrainte-déformation du PVA recensées dans la littérature ne suivent pas la même allure que celle de la Figure 2.12 mais plutôt l'allure de la courbe présentée à la Figure 2.6, l'allure étant celui de la fonction concave vers le haut (définie uniquement dans les x positifs) qui s'arrête brutalement à la rupture, point où la contrainte et la déformation atteignent toutes deux leur maximum.

Tableau 2.2 Module de Young, contrainte max et déformation max pour des hydrogels de PVA de la littérature. Le terme « cycle » fait référence à un cycle de congélation/décongélation subit par l'hydrogel. Le module de Young est exprimé en kPa, la contrainte maximale en MPa et l'élongation maximale en %.

Formulation de l'hydrogel	Module de Young	Contrainte maximale	Elongation maximale	Référence
PVA/DMSO à 3% PVA (w/v), 3 cycles, spécimens cylindriques de 10 mm de diamètre	9	/	/	Jiang et al., 2011 [92]
Hydrogels PVA à 22 et 25 Wt% 4 cycles	885 et 924	/	/	Kazimierska-Drobny et al., 2014 [93]
PVA 15% w/w, 1 à 6 cycles	350	/	/	Wan et al., 2002 [94]
PVA 15% PVA15%/STMP 100:12 4 cycles	/	4 4,5	360 420	Zhu et al., 2012 [95]

2.4 À retenir

- Le défi principal dans la fabrication des valves polymériques est d'assurer leur **durabilité**.
- Les valves polymériques doivent présenter un **équilibre entre rigidité et flexibilité** afin de pouvoir s'ouvrir facilement, tout en étant capables de résister adéquatement à la pression exercée par le flux en position fermée.
- Le **PVA** est un matériau d'intérêt car connu pour ses **propriétés mécaniques**, sa **biocompatibilité**, son **faible prix**.
- La méthode la plus utilisée pour la synthèse des hydrogels de PVA est la **réticulation physique**.
- Le dextrane est connu pour ses propriétés **antiadhésives**, il peut être lié en surface ou utilisé en masse (bulk) et peut être fonctionnalisé.
- Le **STMP** est l'agent de **réticulation chimique** connu du dextrane et peut aussi être utilisé pour réticuler le PVA.

2.5 Biocompatibilité des hydrogels

Comme expliqué précédemment, un matériau est biocompatible s'il remplit sa fonction et n'induit pas de réponse indésirable chez le receveur. Dans la littérature, la biocompatibilité est souvent considérée comme la séquence d'événements suivante : (1) l'interaction de protéines et macromolécules avec la surface du matériau, (2) le début de la réponse inflammatoire et immunitaire (foreign body reaction (FBR) en anglais), puis (3) le processus de réparation et régénération qui mène à l'équilibre stable entre l'implant et le receveur [42]. Dans la littérature, il est répandu que les interactions entre les biomatériaux et les cellules du système immunitaire peuvent être régulées via la régulation de l'adsorption des protéines [96].

2.5.1 Adsorption des protéines

L'adhésion des protéines à la surface d'implants se produit immédiatement après implantation. Comme cette adhésion de protéines est très rapide, elle précède l'arrivée des cellules à la surface de l'implant. Cela suggère que les cellules interagissent davantage avec la couche adsorbée à la

surface d'un implant qu'avec la surface elle-même. La nature de la couche protéique à la surface d'un implant est donc centrale pour la biocompatibilité d'un biomatériau [97]. Les protéines s'associent à la surface de l'implant via la formation d'interactions hydrophobes, liaisons ioniques [98]. Le type de lien formé dépend hautement des propriétés du matériau implanté. Les protéines prédominantes qui sont adsorbées à la surface d'implants polymériques sont l'albumine, l'immunoglobuline G (IgG), le fibrinogène, la fibronectine, la vitronectine, la laminine, le complément rC3 et le facteur von Willebrand (vWF) [96], [99]. À noter qu'au cours du temps, il y a une redistribution des protéines adsorbées à la surface de l'implant. Les protéines ayant une meilleure affinité biochimique et électrique avec le matériau peuvent remplacer les protéines initialement adsorbées ayant moins d'affinité, c'est l'effet Vroman. Par exemple, des tests d'adsorption de protéines de sérum sur du verre ont montré que la première protéine adsorbée, du fait de sa petite taille, est l'albumine mais comme cette dernière a une faible affinité avec le verre elle est partiellement remplacée au cours du temps par des protéines à plus grosse affinité comme le fibrinogène. De plus, lorsque les protéines sont adsorbées il se produit des changements de conformation dans leur structure qui peuvent impacter leur activité [98], [100]. Il a été observé que l'albumine a tendance à agir comme une couche qui réduit les interactions du biomatériau avec les cellules environnantes et donc qui atténue les réponses pro-inflammatoires et thrombogènes. Le fibrinogène, en revanche, est connu pour son rôle dans la réponse inflammatoire résultant de l'implantation de biomatériaux et dans la formation de thrombus [97].

2.5.2 Adhésion et activation des plaquettes

Les protéines incluant le fibrinogène, la laminine, la fibronectine et la vitronectine possèdent une région RGD, séquence d'acides aminés (Arg-Gly-Asp), qui se lie au complexe du récepteur de la glycoprotéine IIb/IIIa présent sur les membranes plaquettaires. Ces protéines sont donc responsables de l'adhésion et de l'activation des plaquettes. La séquence RGD interagit également avec les intégrines $\beta 2$ présentes à la surface des leucocytes [100]. Le facteur von Willebrand (vWF) est une protéine impliquée dans la coagulation sanguine, il interagit avec les plaquettes et génère leur adhésion [101]. L'adhésion et l'activation des plaquettes à la surface d'un implant peut mener à la formation d'un thrombus, c'est-à-dire la formation d'un caillot de sang (Figure 2.17). En effet, les plaquettes activées libèrent différents composés qui activent la cascade de coagulation. Notamment, lors de la coagulation, le fibrinogène est converti en fibrine par la thrombine, la fibrine est insoluble et constitue le réseau principal des caillots sanguins [102].

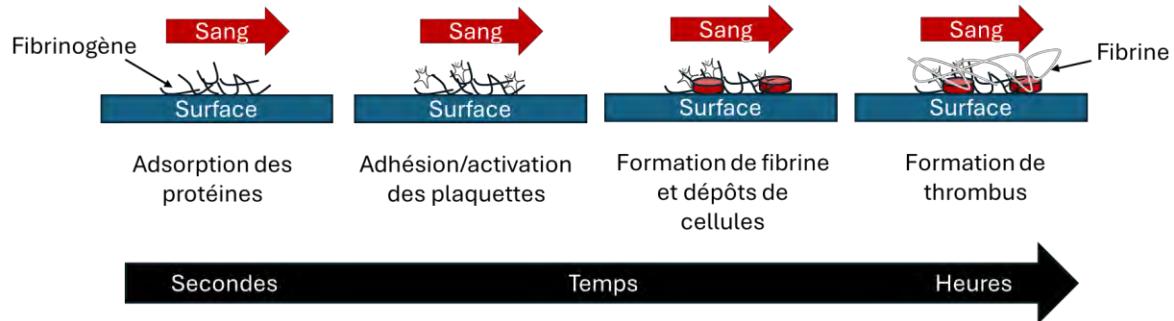


Figure 2.17 Etapes menant à la formation d'un thrombus. Inspiré de [99].

En plus d'activer les plaquettes pouvant mener à la formation de thrombose, les protéines adsorbées en surface interagissent avec les cellules du système immunitaire. L'albumine et le facteur vWF empêchent l'adhésion des monocytes et macrophages à l'implant et donc limiterait le processus d'opsonisation visant à dégrader l'implant. A l'inverse, les IgG, la fibronectine, le fibrinogène et la vitronectine favorisent l'adhésion et l'activation des macrophages via des récepteurs de l'intégrine présente à la surface des macrophages qui interagissent avec des sites spécifiques de ces protéines [96], [103]. L'activation de ces macrophages n'est pas souhaitable car ils peuvent fusionner pour former une « foreign body giant cell (FBGC) » pour encapsuler l'implant et le dégrader, processus altérant la fonctionnalité de l'implant [104]. Il a aussi été montré que le fibrinogène joue un rôle central dans l'accumulation à court terme des cellules inflammatoires au niveau de l'implant. Plus il est dénaturé, plus la réaction inflammatoire est importante [84].

2.5.3 Influence des caractéristiques de surface du biomatériau sur l'adhésion des protéines et le comportement cellulaire

Les protéines s'associent à la surface d'un implant via interactions hydrophobes, liaisons hydrogène, forces de van der Waals, liaisons ioniques, transfert de charge. Les propriétés spécifiques à chaque protéine (hydrophobicité, taille, charge, stabilité) influencent donc leur interaction avec l'implant. La surface de l'implant joue aussi un rôle important vis-à-vis de ses interactions avec les molécules et tissus biologiques. La rugosité, la superficie, la forme, la taille, l'énergie de surface et la composition chimique de l'implant impactent directement la réponse biologique. Notamment, plus un matériau est rugueux plus il est hydrophile ce qui peut diminuer l'adsorption des protéines. Le degré de courbure du matériau semble aussi exercer une influence sur l'adsorption des protéines. Les surfaces concaves ou convexes présentent une structure 3D qui

pourrait contribuer à la communication cellulaire. La rigidité du matériau joue aussi un rôle important sur la production de protéines, la migration cellulaire, la prolifération et la différenciation. À noter que la structure chimique d'un polymère influence directement sa rigidité, la structure chimique a donc aussi un impact sur l'adhésion des protéines [103]. Par exemple, Jin et al. ont étudié l'adsorption de l'albumine de sérum bovin (BSA) sur des surfaces greffées avec du PEG de deux poids moléculaires différents. Le PEG2000 avait une conformation resserrée et a engendré une plus forte adsorption des protéines que le PEG5000 qui présentait une conformation plus flexible [105]. La charge du matériau est aussi à considérer, la membrane cellulaire étant chargée négativement. Cependant, de récentes études ont montré que l'hydrophobicité avait plus d'impact que la charge relativement à l'adsorption des protéines. [103] Les polymères hydrophiles neutres comme le PEG peuvent former des liaisons hydrogènes fortes avec les molécules d'eau formant une barrière d'hydratation, qui empêcherait l'adsorption des protéines. Les polymères contenant des groupes fonctionnels hydroxyle ou amine présentent une surface à plus fort caractère hydrophile. Ces surfaces hydrophiles sembleraient aussi limiter l'adhésion des leucocytes [103].

2.5.4 Tests requis pour évaluer la biocompatibilité

Lors de la conception et la production d'un dispositif médical, l'évaluation de sa sécurité biologique est indispensable. Elle fait partie d'un plan plus vaste de gestion des risques décrit par la norme ISO 14971. La procédure à suivre pour l'évaluation de la sécurité biologique d'un dispositif médical est décrite par la norme ISO 10993. La norme ISO10993-1 décrit l'approche systématique pour l'évaluation des risques biologiques. Cette approche comprend la revue et l'évaluation de la littérature préexistante et préconise la sélection de tests additionnels. L'annexe A de la norme indique chaque paramètre à inclure dans l'évaluation biologique selon le type de dispositif médical, les valves cardiaques se classant dans la catégorie « Dispositif médical implantable, en contact avec le sang pour une durée supérieure à 30 jours » (Figure 2.18).

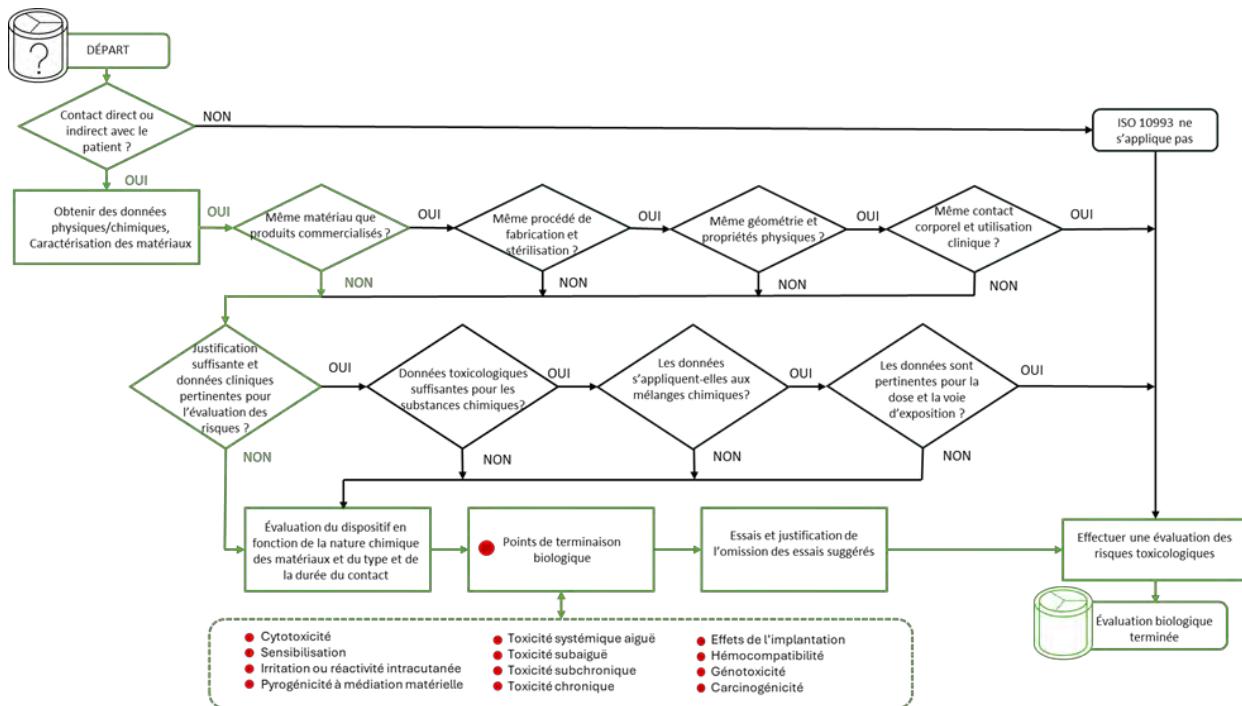


Figure 2.18 Approche systématique pour l'évaluation des risques biologiques associés à l'implantation d'une valve cardiaque en hydrogel PVA/Dextran (en vert) selon la norme ISO 10993. Inspiré de [106].

Les normes ISO 5840-1, ISO 5840-2 et ISO 5840-3 relatives aux prothèses vasculaires et implants valvulaires renvoient à la norme ISO 10993 *Biological evaluation of medical devices* pour l'évaluation de la biocompatibilité des valves artificielles. La partie 4 de cette norme (ISO 10993-4) — *Part 4: Selection of tests for interactions with blood* et la partie 5 (ISO 10993-5) *Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity* décrivent les tests de biocompatibilité in vitro pertinents à réaliser lors du développement d'un dispositif médical. Parmi les tests recommandés par l'ISO 10993-4, on retrouve les tests d'hémolyse, de coagulation, d'hématologie, et du système du complément (ensemble de protéines impliquées dans la réponse immunitaire innée) [107]. De plus, d'après la norme ASTM F748, pour un matériau implanté dans la circulation sanguine sur le long terme, donc pour une valve cardiaque notamment, les tests de biocompatibilité à réaliser sont : cytotoxicité, sensibilisation, irritation intra cutanée, toxicité systémique, compatibilité sanguine, hémolyse, pyrogénicité, réponse immunitaire, génotoxicité et carcinogénicité. Dans ce mémoire l'évaluation de la biocompatibilité est focalisée sur la biocompatibilité du matériau. Il faut garder à l'esprit que l'évaluation de la biocompatibilité doit aussi inclure l'interaction du dispositif avec le sang et l'impact de son design sur l'écoulement du sang et les cellules du sang.

Comme nous l'avons vu, l'adsorption des protéines, bien que non directement préconisée dans les normes citées ci-dessus, est la première réaction du corps à la suite de l'implantation d'un biomatériau, c'est pourquoi le premier test *in vitro* généralement utilisé pour évaluer la biocompatibilité d'un biomatériau est d'évaluer sa capacité à empêcher l'adhésion des protéines impliquées dans l'activations de la coagulation ou dans l'activation des cellules immunitaires. Ce test correspond à une mesure indirecte de l'effet thrombotique potentiel du biomatériau et pourrait être classé dans l'analyse de l'hémocompatibilité suggérée dans la norme ISO 10 993-1.

Il existe divers outils pour quantifier d'adsorption des protéines à la surface d'un biomatériau. Parmi les méthodes utilisées, on retrouve : la spectroscopie UV-visible, la microscopie à fluorescence, le marquage isotopique, la diffusion dynamique de la lumière (DLS), la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR), la résonance plasmonique de surface (SPR)[103]. L'adsorption des protéines (de l'albumine par exemple) peut aussi être évaluée de manière simple, par exemple, via un test ELISA [108] ou via une coloration de Bradford[109]. Pour une analyse plus poussée, la méthode microbalance à cristal de quartz avec suivi de dissipation (QCM-D [Quartz Crystal Micro-balance with Dissipation Monitoring][110].

Par ailleurs, le protocole *in vitro* pour déterminer le risque hémolytique induit par un biomatériau est décrit dans la norme ASTM F756. Pour évaluer la thrombogénicité d'un matériau *in vitro*, la norme ASTM F2888 décrit le test de comptage des plaquettes.

La cytotoxicité doit également être évaluée *in vitro* (norme ISO 10 993-5 et ASTM F813), en cultivant des cellules et en les exposant soit au biomatériau (évaluation directe), soit au milieu ayant contenu le biomatériau (évaluation indirecte). Les cellules sont ensuite colorées via un kit de viabilité Live/Dead et sont observées au microscope confocal [58].

Additionnellement aux tests *in vitro*, des tests *in vivo* doivent être réalisés, le biomatériau est implanté dans le modèle animal adapté à l'étude. Pour les valves cardiaques destinées à être implantées chez les humains, les modèles porcins et ovins sont pertinents car leur physiologie se rapproche de celle des humains [111].

2.5 À retenir

- Le premier évènement qui se produit à la suite de l'implantation d'un matériau est **l'adsorption de protéines à sa surface** (albumine, IgG, fibrinogène...).
- L'adhésion des protéines, notamment du fibrinogène, peut mener à **l'activation des plaquettes**.
- L'activation des plaquettes mène à la formation de caillots sanguins appelés **thrombi** (s. thrombus).
- La **rugosité**, la **superficie**, la **forme**, la **taille**, l'**énergie de surface** et la **composition chimique** d'un implant impactent directement la réponse biologique.
- Les normes **ISO 10993** et **ASTM F748** recensent les tests préconisés pour évaluer la biocompatibilité d'un matériau.

CHAPITRE 3 MATÉRIEL ET MÉTHODOLOGIE EXPÉRIMENTALE

3.1 Préparation des hydrogels

3.1.1 Mélange et composition des hydrogels

Pour la préparation des hydrogels, nous avons utilisés les réactifs suivants : du PVA 125 kDa (Selvol 125, Sekisui, wt 125,000 Da, forme granulaire, Dallas, États-Unis), du dextrane (Dextran T500, wt 500,00 Da, poudre, Biospectra, Scarborough, Canada), le sodium trimétaphosphate (STMP) a été acheté chez Sigma Aldrich (Aldrich T5508-500G $\geq 95\%$, wt 305.89 Da, poudre, Sigma Aldrich, Oakville, Canada), l'hydroxyde de sodium (NaOH) a été acheté chez VWR (NaOH, BDH9292-500G, wt 40.00 Da, granule, VWR, Mississauga, Canada), le tampon phosphate salin (PBS) (P538, pH 7.4, poudre, Sigma Aldrich, Oakville, Canada).

Les hydrogels ont été préparés en dissolvant la poudre de PVA dans de l'eau MilliQ avec ou sans poudre de dextrane et/ou poudre de STMP afin d'obtenir différentes compositions d'hydrogels. Les poudres de PVA et dextrane ont été ajoutées dans une flasque de 100 ml avant d'y ajouter l'eau MilliQ. Le mélange a été placé au bain-marie à 100°C pendant 1h et sous agitation avec mélangeur en double hélice adapté aux solutions visqueuses à 250 rpm. Pour les hydrogels contenant du STMP, ce dernier a été ajouté au bout d'1h de mélange, une fois le PVA et le dextrane totalement dissous, puis le mélange laissé sous agitation et bain marie pendant 5 minutes afin que le STMP se mélange au reste du mélange avant d'initier la réticulation chimique induite par l'ajout d'hydroxyde de sodium. Ensuite, une solution d'hydroxyde de sodium à 10M a été ajoutée 5 minutes puis le mélange a été arrêté et les hydrogels ont été moulés. Le détail est présenté dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1 Résumé de la composition des hydrogels formulés. w/v % = grammes de soluté / 100 mL de solution.

Code de l'échantillon	Ratio PVA:Dextrane :STMP	PVA (w/v %)	Dextrane (w/v %)	STMP (w/v %)
P/D ₀ /S ₀	100 : 0 : 0	15	0	0
P/D ₁ /S ₀	100 : 1 : 0	15	0.15	0
P/D ₅ /S ₀	100 : 5 : 0	15	0.75	0
P/D ₁₀ /S ₀	100 : 10 : 0	15	1.5	0
P/D ₂₀ /S ₀	100 : 20 : 0	15	3	0
P/D ₁₀ /S ₁₃	100 : 10 : 13	15	1.5	2
P/D ₀ /S ₁₃	100 : 0 : 13	15	0	2

3.1.2 Moulage des valves cardiaques

Les moules qui permettent de fabriquer les valves cardiaques présentées dans cette maîtrise ont été conçus par conception assistée par ordinateur (CAO, CATIA V5) par Zoubaire Moustaine. Le moule de la valve se divise en deux parties : une partie femelle dans laquelle le mélange polymérique peut être versé (Figure 3.1 a et c), et une partie mâle (Figure 3.1 b et d). L'ensemble du moule permet de former une valve à 3 feuillets attachés sur un cylindre. La circonférence externe de la valve, soit 13,5 mm, a été choisie de manière à s'adapter à une insertion dans un modèle de veines pulmonaires, reproduit à partir d'images tomographiques de reconstruction 3D de l'oreillette et des veines pulmonaires d'un patient. Le cylindre supportant les feuillets de la valve peut servir pour l'intégration d'un stent ou bien pour fixer les valves à l'intérieur d'un support (Figure 3.1 a et b)). Les moules sont imprimés en 3D en résine thermorésistante (High Temp, FormLabs) par stéréolithographie (Imprimante 3D SLA form 3, Formlabs) avec une résolution de 25 micromètres. Après impression les moules sont immergés dans un bain à ultra son pendant 10 min, lavés pendant 20 min et durcis à 80°C pendant 2h.

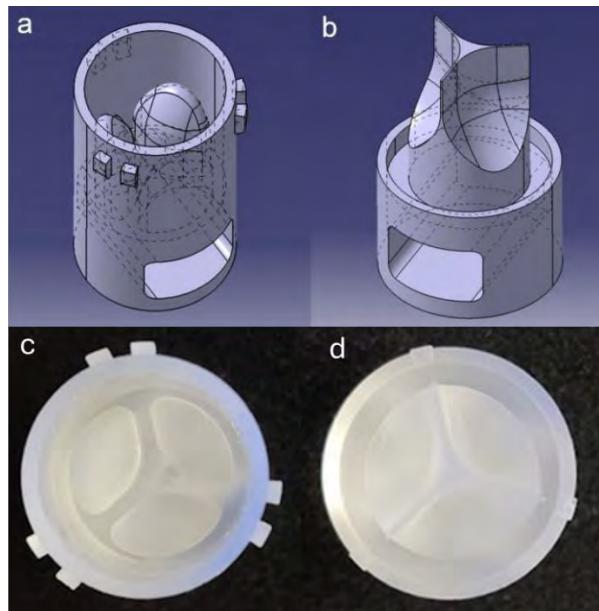


Figure 3.1 Visualisation du design du moule de valve cardiaque conçu par CAD [112]. A) Partie femelle, B) Partie mâle. Moules imprimés par stéréolithographie C) Partie femelle, D) Partie mâle.

Afin d'obtenir les valves en hydrogels, un volume d'environ 1.3 ml des hydrogels fabriqués conformément à la section 3.1.1 est coulé, avec une pipette adaptée aux solutions visqueuses (le cône de la pipette est préalablement chauffé au bain-marie pour éviter un choc thermique) dans la partie femelle du moule. Les moules remplis sont ensuite laissés à reposer environ 5 minutes sur la paillasse afin que les bulles d'air remontent. Finalement, la partie mâle du moule est insérée dans la partie femelle et le tout est scellé avec du ruban adhésif de laboratoire. Les moules sont placés dans un sachet hermétique contenant quelques millilitres d'eau MilliQ afin de maintenir l'humidité des hydrogels. Ensuite, les valves sont soumises à 3 cycles de congélation/décongélation à -20°C (pendant 18h) et température pièce (pendant 6h).

Afin de tester les propriétés mécaniques des hydrogels ainsi que faire les tests de cytotoxicité et d'adsorption de protéines, des membranes d'hydrogels de 1 mm d'épaisseur ont été fabriquées. Pour les tests mécaniques, les membranes sont poinçonnées avec un poinçon produit selon la norme ASTM D638, spécimen type V. Pour les tests de biocompatibilité, les hydrogels sont poinçonnés avec un poinçon de 6mm de diamètre.

3.1.3 Moulage des membranes

Des membranes d'hydrogels sont obtenues de manière similaire à la fabrication des valves par moulage dans des moules d'acrylique de 1 mm d'épaisseur et de bords internes de 7cm x 15cm. Les hydrogels sont coulés dans les moules puis une plaque est placée dessus et solidement maintenue avec des clamps. Tout comme les valves, les moules sont placés dans des sacs hermétiques contenant de l'eau MilliQ, puis soumis aux 3 cycles de congélation/décongélation. Un schéma récapitulatif de la préparation des hydrogels est présenté à la Figure 3.2.

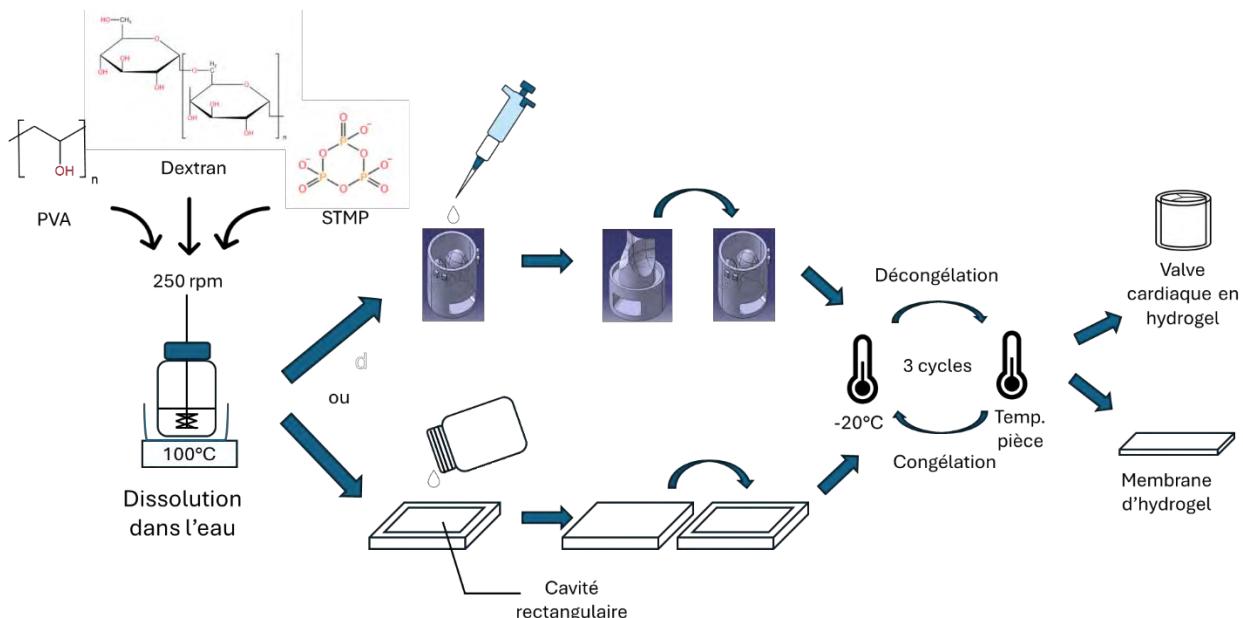


Figure 3.2 Schéma présentant les différentes étapes menant à la fabrication des valves et membranes en hydrogel.

Après les cycles, les valves et les membranes sont démoulées et conservées dans du PBS 1X (concentrations : 137 mM de NaCl, 2.7 mM de KCl, 10 mM de Na₂HPO₄, et 1.8 mM de KH₂PO₄). En effet, les hydrogels étant fortement composés d'eau doivent être conservés dans du liquide afin d'éviter que l'hydrogel ne sèche, rétrécisse et se déforme. Les hydrogels réticulés chimiquement avec l'hydroxyde de sodium sont neutralisés avec du PBS 10X pendant 2h à deux reprises, le pH est contrôlé à 7 avec du papier pH, puis les échantillons sont conservés dans du PBS 1X. Les feuillets des valves doivent être séparés à la main délicatement à l'aide d'un scalpel (une très fine couche d'hydrogel les lie après démoulage).

3.2 Étanchéité des valves

L'étanchéité des valves peut être évaluée par un test simple en appliquant une pression hydrostatique sur les valves en position fermée. Pour ce faire, une valve est collée dans un support rigide imprimé en 3D (Résine durable, Imprimante 3D SLA form 3, Formlabs) et est insérée (le côté aval de la valve vers le haut) dans une colonne rigide de 170 cm la jointure entre la valve et la colonne étant assurée par du téflon et du parafilm. Ensuite différentes hauteurs d'eau sont appliquées et le volume s'échappant de la colonne en 1 minute est mesuré (Figure 3.3). Les hauteurs d'eau à appliquer sont déduite des pressions auxquelles une valve cardiaque physiologique est soumise. Comme vu dans la revue de littérature, la pression dans le cœur varie entre 10 mmHg et 120 mmHg environ. Les pressions testées pour chaque valve sont : 10, 20, 30, 40, 60, 80, 100 et 120 mmHg. Les hauteurs d'eau correspondant à chaque pression cible en mmHg sont déduites en convertissant la pression cible en Pascals (Pa) ($1 \text{ mmHg} = 133.322 \text{ Pa}$) avant d'utiliser la formule (3.1). Les tests d'étanchéité d'une valve ont été répétés sur 5 valves, pour une même formulation d'hydrogel.

$$P = \rho gh \quad (3.1)$$

où :

- P est la pression en Pa,
- $\rho = 1000 \text{ kg/m}^3$ (densité de l'eau),
- $g = 9.81 \text{ m/s}^2$ (accélération gravitationnelle),
- h est la hauteur d'eau en m.

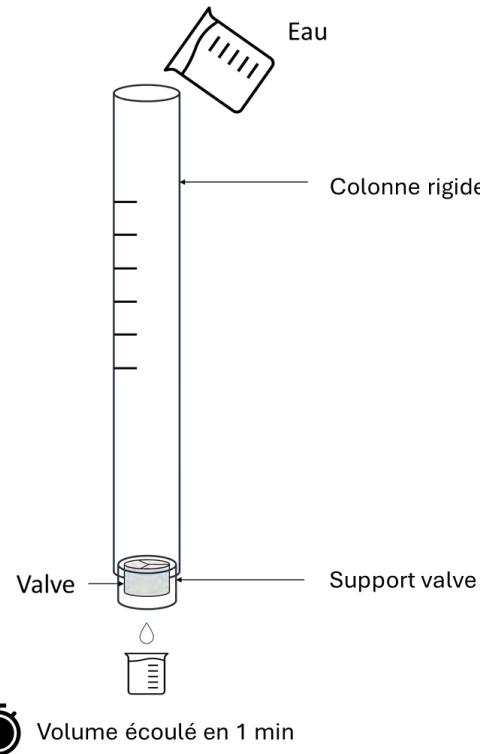


Figure 3.3 Tests d'étanchéité d'une valve en hydrogel sous pression hydrostatique.

Le volume qui fuit au travers de la valve est mesurée sur une minute. Afin de comparer ces volumes avec la littérature il est possible d'utiliser la notion de fraction de régurgitation. Pour rappel, le calcul de la fraction de régurgitation est présenté à l'équation (2.1) détaillée dans la partie 2.2.2. Il est possible de déterminer une équivalence de la fraction de régurgitation via l'équation (3.2).

$$\text{Fraction de régurgitation}_{eq}(\%) = \frac{\text{Volume de fuite}}{\text{Volume théorique d'éjection}} * 100 \quad (3.2)$$

Le volume de fuite correspond au volume qui fuit au travers de la valve testée en une minute. Le volume théorique d'éjection correspond au volume de sang moyen chez une personne adulte qui passe au travers de la valve mitrale lors de la diastole ventriculaire et qui est destiné à être envoyé vers la circulation générale. Pour un individu sain ce volume est de 5 Litres par minute.

3.3 Rétrécissement des valves

Les hydrogels peuvent gonfler ou rétrécir dépendamment de la taille de leurs pores, l'espace intermoléculaire entre chaînes carbonées, la nature hydrophile ou hydrophobe, la température ou encore le pH [113]. Il est important d'évaluer la stabilité géométrique des valves en hydrogels au

cours du temps. Pour cela, un test simple et pertinent consiste à observer les valves et mesurer leurs dimensions caractéristiques au cours du temps. Ainsi, les diamètres externes des valves ont été mesurés et les valves observées sur 30 jours, les mesures étant prises tous les deux jours. Les mesures ont été faites avec un pied à coulisse (Mastercraft, exactitude ± 0.02 mm) pour en déduire le pourcentage de rétrécissement selon la définition suivante :

$$\% \text{ Rétrécissement} = \left(1 - \frac{D_t}{D_i} \right) * 100 \quad (3.3)$$

où :

- D_t est la mesure du diamètre au temps t (mm),
- D_i est la mesure du diamètre au temps initial (mm).

Chaque mesure a été répétée 3 fois, cela sur 5 valves pour chaque formulation d'hydrogel.

3.4 Caractérisation des propriétés mécaniques des hydrogels

3.4.1 Tests en tension

Des tests de traction ont été réalisés avec une machine de test Mach-1 (Biomomentum, Canada) équipé d'une cellule de charge de 100 N et le logiciel Mach-1 Motion. Des spécimens de traction en forme d'haltère ont été poinçonnés dans les membranes d'hydrogels de 1 mm d'épaisseur après leur stabilisation (voir partie Résultats, section 4.1.3). Le poinçon utilisé était certifié ASTM D638 type V. Pour un test, le spécimen a été fixé entre les pinces du Mach-1 et étiré à une vitesse de 1,67 mm/s. La contrainte maximale, l'elongation à la rupture et le module de Young (E) ont été déduits des courbes de traction obtenues. Le Mach-1 applique une déformation en tension contrôlée et la contrainte dans l'échantillon est mesurée en fonction de cette déformation. Les modules de Young sont calculés en réalisant une régression linéaire dans la zone de déformation comprise entre 30 et 50%. Cet intervalle a été choisi car il correspond à la zone de déformation maximale pour les valves natives. De plus cette zone est d'allure linéaire, donc il est possible de déterminer le module de Young sur cette dernière. En effet, les courbes contrainte-déformation obtenues pour les hydrogels de PVA dans la littérature ont une allure proche de celles obtenues pour des valves natives (Figure 2.6) mais présentent une non-linéarité globale. Cependant, plusieurs intervalles peuvent être approximés par des segments linéaires. Pour une formulation donnée, les tests de traction ont été répétés 5 fois.

3.4.2 Tests de fatigue

Des tests de fatigue ont été réalisés avec un Mach-1 (Biomomentum, Canada) équipé d'une cellule de charge de 17 N. Des spécimens de test ont été préparés de la même manière que pour les tests de traction, mais soumis cette fois à une déformation cyclique. Ainsi, les spécimens ont été soumis à 1000 cycles de déformation, celle-ci allant de 0 à 40%. Cet intervalle a été choisi car il a été rapporté dans la littérature que les valves cardiaques peuvent subir jusqu'à 40% de déformation en conditions physiologiques. La vitesse de déplacement a été fixée à 50 mm/s sauf pour les cycles 1, 10, 100 et 1000 où la vitesse a été fixée à 1,67 mm/s. Pour ces cycles, les conditions expérimentales sont les mêmes que pour les tests de traction unique. Cela permet de tracer les courbes contrainte-déformation, extraire les modules de Young pour ces cycles et les comparer aux résultats obtenus aux tests de traction unique. Pour les courbes montrant une hystérésis, l'énergie dissipée a été calculée. Pour cela, la différence de contrainte, pour chaque déformation associée, entre la courbe de charge et de décharge est déterminée :

$$\Delta\sigma = \sigma_{charge} - \sigma_{décharge} \quad (3.4)$$

Avec σ la contrainte en MPa.

Puis l'énergie dissipée correspond à l'énergie perdue sous forme de chaleur lors d'un cycle de chargement-déchargement. Elle correspond à l'aire de la boucle d'hystérésis est déterminée avec l'équation suivante :

$$E_{dissipée} = \int \Delta\sigma \, d\varepsilon \quad (3.5)$$

Avec ε la déformation.

Considérant que sur les courbes, la déformation est exprimée en % et que la déformation est une grandeur adimensionnelle, il faut diviser par 100 l'aire obtenue. Et sachant que 1MPa équivaut à 1MJ/m³, il faut multiplier le résultat par 1000 pour avoir l'énergie dissipée en kJ/m³. La perte d'énergie (en %) entre les cycles n_i et n_j a été déterminée via les équations suivantes :

$$Perte d'énergie_{n_i \rightarrow n_j} (\%) = \left(1 - \frac{Aire_{n_j}}{Aire_{n_i}} \right) * 100 \quad (3.6)$$

$$Perte d'énergie_{n_i \rightarrow n_j} (\%) = \frac{E_{dissipée_i} - E_{dissipée_j}}{E_{dissipée_i}} * 100 \quad (3.7)$$

Cette perte d'énergie en pourcentage correspond à la différence entre l'énergie dissipée au cycle n_i et celle au cycle n_j divisé par l'énergie dissipée au cycle n_i . Une perte d'énergie qui tend vers zéro entre deux cycles est un indicateur que la structure du matériau est plutôt stabilisée.

3.5 Caractérisation de la biocompatibilité des hydrogels

Une fois les propriétés mécaniques des hydrogels caractérisées, leur biocompatibilité a été évaluée. Celle-ci doit être examinée à l'aide de différents tests, comme illustré à la Figure 2.18. Nous avons choisi de réaliser des tests de cytotoxicité ainsi que d'adsorption des protéines afin d'obtenir une première évaluation de la biocompatibilité. Dans la suite, le terme contrôle positif fait référence à un matériau ou une substance caractérisée qui permet de produire une réponse positive/réactive répétable dans le système de test. Le terme contrôle négatif fait référence à un matériau ou une substance caractérisée qui permet de produire une réponse négative/non-réactive ou une réponse minimale répétable dans le système de test.

3.5.1 Cytotoxicité indirecte

La culture cellulaire a été réalisée avec la lignée cellulaire de type fibroblaste dérivée du tissu conjonctif sous-cutané de souris mâle L929 (ATCC, Canada). Le milieu de culture était du milieu de Eagle modifié par Dulbecco (DMEM) complet (Life technology, Canada). De la trypsine-EDTA (Wisent, Canada) a été utilisée pour le passage des cellules. Le passage des cellules fait ici référence à la technique couramment utilisée en culture cellulaire au cours de laquelle une partie des cellules d'une culture devenue trop dense est transférée dans un nouveau récipient avec du milieu frais afin de poursuivre leur croissance. Le bleu de trypan (Life technology, Canada) utilisé pour marquer et distinguer les cellules mortes lors du comptage des cellules vivantes. Des plaques de 96 et 24 trous et des flacons de culture cellulaire ont été utilisés pour la préparation des extraits ainsi que la culture des cellules.

La cytotoxicité indirecte des hydrogels P/D₀/S₀, P/D₅/S₀, P/D₁₀/S₀, P/D₁₀/S₀₁₃ et P/D₀/S₀₁₃ a été évaluée. Ces hydrogels ont été retenus en raison de leurs propriétés mécaniques adaptées à notre application et parce qu'ils couvrent les différentes formulations intégrant divers composants (PVA, Dex, STMP). La méthode est dite indirecte car les cellules sont en contact avec du milieu ayant préalablement été en contact avec les échantillons et non pas en contact direct avec les échantillons.

Des échantillons d'hydrogels (membranes de 2 cm x 2cm) ont été préalablement stérilisés en les soumettant à des rayons ultraviolets pendant 30 min pour chaque face, puis conservés dans du PBS sans calcium ni magnésium (afin de limiter les interactions ioniques pouvant influencer les cellules) dans l'attente de la préparation des extraits. Un extrait fait référence au véhicule d'extraction (dans notre cas le milieu de culture) dans lequel les échantillons sont immergée et susceptibles de relarguer des substances pouvant avoir un impact sur les cellules. C'est cet extrait qui est ensuite mis en contact avec les cellules afin d'évaluer la cytotoxicité indirecte. Les extraits ont été préparés conformément aux normes ISO 10993-5 et ISO 10993-12. Plus précisément, des poinçons (punchs) circulaires de 6 mm de diamètre ont été réalisés dans les membranes d'hydrogel puis incubés pendant 24h à 37°C et 5% de CO₂ dans un volume de milieu de culture DMEM complet selon le ratio 3cm²/ml. Ensuite les cellules (lignée L929) ont été ensemencées, et incubées pendant 24h à 37°C et 5% CO₂ dans ces extraits, c'est-à-dire les milieux cellulaires ayant été en contact avec les échantillons.

Au terme des 24h, la viabilité cellulaire a été déterminée quantitativement par dosage de l'activité métabolique en ajoutant le réactif Alamar blue (10% v/v) aux cultures cellulaires avant incubation pendant 3h à 37°C et 5% CO₂, à l'abri de la lumière. La fluorescence a été lue pour la longueur d'onde d'excitation 540 nm (émission 590 nm) (VANTAstar, BMG Labtech, Canada). Succinctement, le test Alamar Blue repose sur la réduction par les cellules vivantes de la résazurine, un composé bleu non fluorescent au sein des mitochondries, en résofurine qui est un composé rose et fluorescent. Cette réduction est médiée par les enzymes intracellulaires diaphorases. La resofurine émet une fluorescence rouge dans l'intervalle d'excitation 530-570 nm et intervalle d'émission 580-610 nm. L'intensité de la fluorescence peut être mesurée et utilisée comme indicateur de la viabilité cellulaire [114]. La norme ISO 10 993-5 suggère de déterminer la viabilité cellulaire via ce type d'essai avec la formule suivante :

$$Viab.\% = \frac{100 * OD_{\lambda}}{OD_{\lambda b}} \quad (3.8)$$

où :

- OD_{λ} est la densité optique mesuré à la longueur d'onde λ pour l'échantillon d'essai,
- $OD_{\lambda b}$ est la densité optique mesuré à la longueur d'onde λ pour le blanc (contrôle négatif),

Plus la valeur de Viab. % est faible, plus le potentiel cytotoxique de l'échantillon d'essai est élevé. Il peut être considéré que si la viabilité cellulaire est <70% de celle du blanc alors l'échantillon d'essai a un potentiel cytotoxique.

La viabilité cellulaire a aussi été observée au microscope fluorescent Revolve via le test qualitatif Live/Dead tel que décrit ci-après. Les cultures cellulaires ont été incubées dans une solution Live/Dead (Life technology, Canada) ($2\mu\text{M}$ de calcéine et $5.5\ \mu\text{M}$ d'éthidium homodimère dilué dans le milieu de culture sans sérum) pendant 45 minutes. Les cellules vivantes et mortes sont marquées simultanément : la calcéine est un composé non fluorescent qui diffuse dans les cellules vivantes où elle est clivée par des estérases cytoplasmiques ubiquitaires ce qui libère un fluorophore retenu dans les cellules vivantes. Ce fluorophore émet dans le vert à environ 525 nm (excitation à 485nm). L'éthidium homodimère, en revanche, est un colorant polaire qui peut pénétrer dans les cellules mortes (membrane cellulaire détériorée) mais pas dans les vivantes. Il s'intercale dans l'ADN et produit une fluorescence rouge à environ 625 nm (excitation à 525nm).

Pour chaque condition de test, c'est-à-dire chaque formulation d'hydrogel, les cultures ont été faites en triplicats. L'expérience a été répétée pour deux préparations d'hydrogels indépendantes (hydrogels de même formulation fabriqués à plusieurs jours d'intervalle). Des cellules ont été incubées dans du milieu DMEM complet comme contrôle négatif, et d'autres dans du milieu DMEM complet avec du DMSO 10% comme contrôle positif.

3.5.2 Adsorption des protéines

Pour les tests d'adsorption de protéines, nous avons utilisé du fibrinogène purifié issu de plasma humain et conjugué à un marqueur fluorescent (Invitrogen™ Fibrinogen From Human Plasma, Alexa Fluor™ 488 Conjugate, Fisher Scientific Canada) et de l'albumine purifiée issue de sérum bovin (Invitrogen™ BSA, Texas Red™ conjugate, Fisher Scientific Canada).

3.5.2.1 Adsorption de l'albumine

L'adsorption de l'albumine a été évaluée afin de caractériser les propriétés antiadhésives potentielles des différents mélanges d'hydrogels. Bien que l'albumine ne soit pas impliquée dans la formation de thrombus, c'est l'une des premières protéines à s'adsorber en surface des biomatériaux après leur implantation. D'autre part, elle est largement utilisée dans la littérature dans les études d'adsorption des protéines et elle est moins coûteuse que le fibrinogène. Elle a donc

été sélectionnée pour réaliser des tests préliminaires et optimiser la méthode en vue des tests avec le fibrinogène. Des échantillons de 1 mm d'épaisseur ont été poinçonnés avec des punchs de 6 mm de diamètre et placés dans une plaque de 96 puits. Puis ils ont été incubés avec 50 µl de solution d'albumine de sérum bovin (BSA en anglais) Texas Red à une concentration de 0.2 mg/ml (diluée dans du PBS) pendant 2h, à température pièce et sous agitation [115]. Un groupe avec du polytetrafluoroéthylène (PTFE) et un groupe avec du polyéthylène téréphthalate (PET), deux matériaux utilisés pour des applications cardiovasculaires [116], ont aussi été incubés sans la solution d'albumine et rincé de la même manière que les échantillons d'hydrogels testés. À noter que les épaisseurs des échantillons de PTFE et PET utilisés étaient inférieures à 1 mm.

Le contrôle négatif utilisé est un hydrogel de dextrane T500 (0.2g/ml) réticulé avec du STMP, le dextrane étant un matériau connu pour ses propriétés antiadhésives. Le protocole de fabrication de l'hydrogel de dextrane a déjà été décrit [82]. Brièvement, 6 g de dextrane (20 w/v %) a été mélangé avec 30 mL d'eau milliQ jusqu'à dissolution totale (vortex et bain à ultrasons) avant ajout de 2.4 g de STMP (8 w/v %). Après homogénéisation (vortex), 3 ml d'hydroxyde de sodium à 10M a été ajouté. La solution a été rapidement vortexée puis coulée dans des moules rectangulaires de 1 mm d'épaisseur. Les moules ont été placés pendant 15 min à 50°C. Après réticulation, les hydrogels ont été démoulés et neutralisés dans du PBS 10X puis conservés dans du PBS 1X.

Le contrôle positif utilisé est la solution d'albumine à 0.2mg/ml déposée sur un hydrogel de PVA. Les échantillons ont ensuite été rincés 2 fois avec 100 µl de PBS pour éliminer les protéines non adsorbées. Les échantillons ont été observés au microscope à fluorescence Revolve à 596 nm; la longueur d'onde d'excitation du marqueur fluorescent conjugué aux protéines d'albumine. Chaque image a été enregistrée à la même intensité lumineuse d'excitation (50%) et au même temps d'exposition (100 ms). Afin de s'assurer que la fluorescence observée à la surface de chaque échantillon était bien due à l'albumine adsorbée en surface après rinçage et non la fluorescence des échantillons eux-mêmes, les échantillons ont été imaginés dans une solution de PBS afin de déterminer leur auto-fluorescence à la longueur d'onde utilisée. L'intensité de la fluorescence (en unité arbitraire) a été déterminée avec le logiciel ImageJ. L'intensité due à l'auto-fluorescence des échantillons a été soustraite à l'intensité mesurée après incubation et rinçage de l'albumine afin d'obtenir l'intensité liée uniquement à la présence d'albumine à la surface des échantillons. Les échantillons ont été incubés en triplicatas et les tests ont été réalisés sur deux séries différentes

d'hydrogel (n=6 au total). Pour chaque échantillon, quatre images ont été prises à des endroits différents.

3.5.2.2 Adsorption du fibrinogène

Afin de compléter l'analyse du potentiel antiadhésif des différents mélanges d'hydrogels, des tests d'adsorption ont aussi été réalisés avec du fibrinogène. Le fibrinogène a été choisi car la revue de littérature a montré que ce dernier joue un rôle important dans la formation de thrombus. Les échantillons de 1mm d'épaisseur ont été poinçonnés avec des punchs de 6 mm de diamètre et placés dans une plaque 96 puits. Puis ils ont été incubés avec 50 µl d'une solution de fibrinogène issu de plasma humain et marqué fluorescent à une concentration de 1.5 mg/ml pendant 2h à 37°C. Comme pour les tests avec l'albumine, un groupe avec du PTFE, un groupe avec du PET ainsi qu'un contrôle positif (solution à 1.5 mg/ml de fibrinogène sans rinçage) et un contrôle négatif (gel de dextrane) ont également été incubés. Les échantillons ont ensuite été rincés 2 fois avec 100 µl de PBS pour éliminer les protéines non adsorbées. Les échantillons ont été observés au microscope à fluorescence à 495 nm, la longueur d'onde d'excitation du marqueur fluorescent conjugué aux protéines de fibrinogène. L'observation et l'analyse des résultats a été faite de la même manière que pour l'albumine.

3.6 Analyse statistique

Des one-way ANOVA ont été réalisées pour l'analyse des résultats. Pour les ANOVA indiquant une différence entre les groupes, un test post-hoc (Tukey HSD) est réalisé pour identifier les groupes différents. Dans le texte, les résultats sont présentés sous forme de moyenne ± écart type standard.

Pour les représentations graphiques, les valeurs éloignées de la distribution (considérée comme aberrantes) sont représentées par des cercles vides. Les valeurs sont considérées aberrantes selon les inéquations suivantes :

$$\text{Valeur aberrante} < Q_1 - 1.5 * IQR \quad (3.9)$$

$$\text{Valeur aberrante} > Q_3 + 1.5 * IQR \quad (3.10)$$

où

Q1 est le premier quartile

Q3 le troisième quartile

IQR l'intervalle interquartile

Différents seuils de signification ont été sélectionnés : (*) si $p < 0.05$, (**) si $p < 0.01$ et (***) si $p < 0.001$ et sont indiqués sur les graphiques au-dessus de la condition si celle-ci est différente de la condition de référence P/D₀/S₀.

CHAPITRE 4 RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les résultats présentés dans ce chapitre comprennent les résultats concernant la caractérisation physique et fonctionnalité des valves produite, la caractérisation mécanique des hydrogels utilisés pour formuler les valves et l'évaluation de leur biocompatibilité.

4.1 Évaluation des valves en hydrogels

4.1.1 Homogénéité des hydrogels

Les formulations d'hydrogels ayant permis d'obtenir des hydrogels homogènes et dont les caractéristiques permettent le moulage et démoulage de valves cardiaques intègres sont répertoriés dans le Tableau 3.1. La Figure 4.1 présente les photos des valves fabriquées avec ces formulations d'hydrogel.

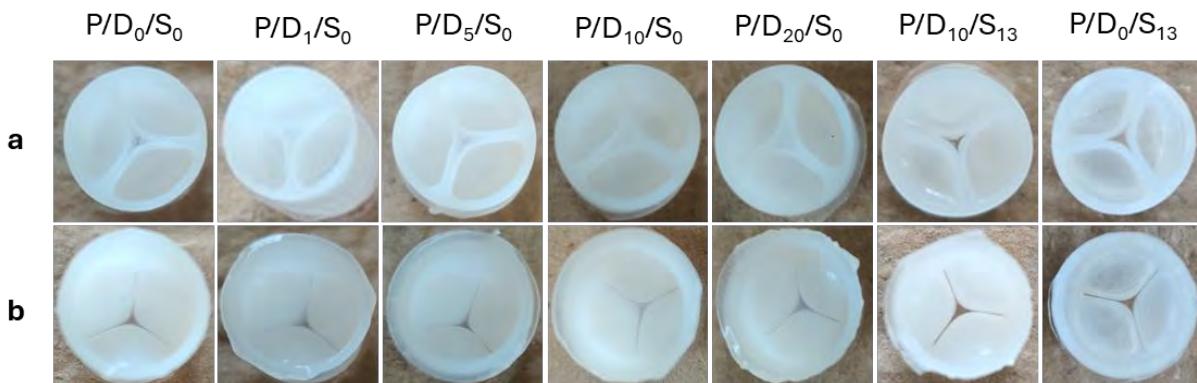


Figure 4.1 Valves cardiaques pour les différentes formulations d'hydrogel ; a) Face non permissive à l'écoulement du fluide ; b) Face permissive à l'écoulement du fluide. P : PVA, D : Dextrane, S : STMP.

Toutes les valves présentées à la Figure 4.1 sont dépourvues de trous ou de fissures visibles, possèdent des feuillets séparables et sont visuellement similaires, à l'exception de la valve P/D₀/S₁₃ qui est transparente alors que les autres sont blanches/opaques. D'autres formulations ont été testées mais n'ont pas abouties à l'obtention d'hydrogels homogènes et/ou démoulables. Les formulations n'ayant pas permis d'obtenir des valves intègres (c'est-à-dire sans trou et qui ne se déchirent pas au démoulage) sont : les valves fabriquées uniquement avec du dextrane et STMP, les valves PVA (15 w/v%):Dextrane en ratio 100:40, les valves PVA (<15 w/v%):Dextrane, ainsi que les valves en PVA et PVA:Dextrane qui n'ont pas été soumises à des cycles de congélation/décongélation.

4.1.2 Étanchéité des valves

L'ensemble des répétitions de mesure de fuite à travers les valves (5 valves par formulation d'hydrogel), pour toutes les conditions (i.e. les formulations d'hydrogels) est présenté à la Figure 4.2. Comme attendu, plus la pression est élevée, plus la fuite est importante. Parmi toutes les conditions testées, ce sont les valves P/D₁₀/S₀ qui présentent les plus hauts débits de fuite avec une moyenne de 83.6 ± 71.6 ml/min pour une pression de 120 mmHg. La plus forte fuite enregistrée parmi toutes les valves testées était de 160 ml/min (pire scenario). Il est possible d'utiliser la notion de fraction de régurgitation pour comparer nos résultats à la littérature. La fraction de régurgitation se définit comme le volume régurgitant (volume de fermeture et volume de fuite) divisé par le volume d'éjection systolique, le tout multiplié par 100. Ainsi, le débit de liquide fuyant au travers de la valve ramené à un débit cardiaque théorique peut être assimilé à une fraction de régurgitation. Sachant que le débit cardiaque d'un individu sain est d'environ 5 L/min (en condition de repos), dans notre expérience, 160 ml/min représente donc 3.2% de ce débit. Si on considère que nous prévoyons insérer une valve dans chacune des veines pulmonaires, soit 4 valves en tout, ce pourcentage passe à 12.8 %, ce qui correspond à une fuite légère selon la société américaine d'échocardiographie (ASE) [40].

Dans le cas des valves prothétiques, si la valve n'est pas totalement étanche après le soubresaut associé au volume de fermeture, le débit reste un peu inférieur à 0 L/min et on parle du volume qui retourne vers le ventricule durant cette période comme du volume de fuite. Les valves polymériques actuellement en développement doivent posséder un volume de fuite le plus proche possible de zéro. Il est important de noter que les valves développées dans le cadre de ce projet ont pour objectif d'être implantées dans les veines pulmonaires afin de remplacer la fonction de la valve mitrale dans les cas où cette dernière n'assure plus son rôle. Les pressions en jeu ne sont donc pas les mêmes que pour la valve aortique. En effet, la pression à laquelle est soumise une valve aortique fermée est comprise entre 100 et 80 mmHg. Les tests de fuite préliminaires pour notre application ont été réalisés avec une pression maximale de 120 mmHg. Cette pression est la pression maximale lors de la systole ventriculaire gauche, pression à laquelle la valve mitrale doit résister et doit pouvoir rester fermée.

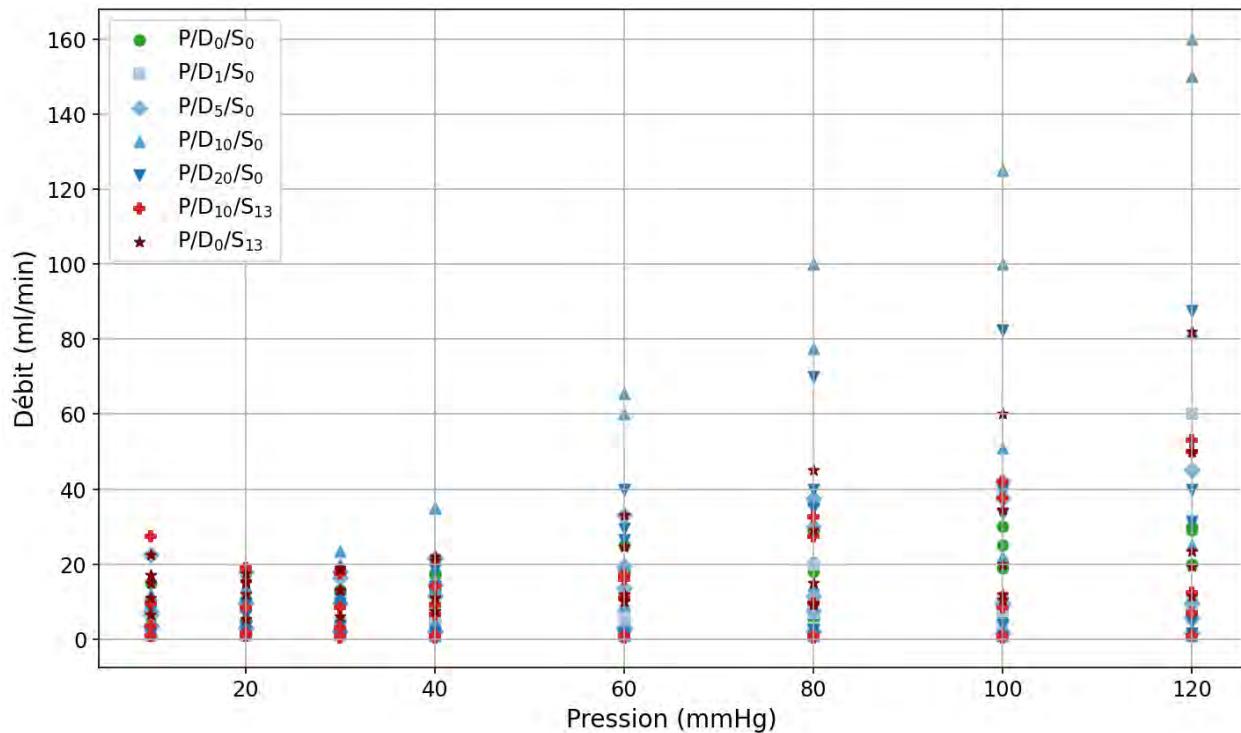


Figure 4.2 Débit de fuite au travers des valves dans la colonne d'eau pour différentes pressions hydrostatiques.

À titre de comparaison, la valve aortique polymérique TRISKELE actuellement au stade d'essai clinique a été soumise à des tests de fuite. Les tests ont été menés sur un simulateur d'impulsions cardiovasculaires commercial reproduisant des pressions et débits aortiques physiologiques. Les tests ont été faits pour des débits variants de 2 à 7 L/min avec une pression moyenne dans un modèle d'oreillette gauche de 100 mmHg, un rythme de 70 bpm et une systole représentant 35% du cycle cardiaque. Pour chaque débit ils ont observé un volume de fuite d'environ 10 ml pour leur meilleur résultat (tests sur des valves avec anneaux de différents diamètres). Ce volume est le volume qui fuit au moment où la valve est fermée pendant le cycle, soit sur la durée de la diastole (~0.86 s), ramené en L/min ce qui revient à environ 700 ml/min. Ce volume, aussi exprimé sous forme de fraction de régurgitation moyenne sur les 6 débits testés était de 15.8%. Des volumes de fuites (issus de tests *in vitro*) ont aussi été répertoriés pour les valves CoreValve-26, CoreValve-29 SAPIEN XT-23, SAPIEN XT-26 et SAPIEN XT-29, 2 modèles de valves percutanées parmi les plus implantées en position aortique, ces volumes variant entre 20 et 60 ml, soit des fractions de régurgitation comprises entre 25% et 48% [117]. La fraction de régurgitation la plus importante pour nos tests étant de 12.8%, notre valve possède donc une fraction de régurgitation du même

ordre de grandeur que les valves polymériques actuellement en développement. La société américaine d'échocardiographie (ASE) présente des recommandations pour classer le niveau de sévérité de régurgitation des valves cardiaques en fonction de la fraction de régurgitation [40]. Pour une fraction de régurgitation inférieure à 30%, on parle de fuite légère, entre 30 et 49%, de fuite modérée et de 50% à au-delà, de fuite sévère. Le remplacement de la valve mitrale est à envisager pour les régurgitations sévères symptomatiques et asymptomatiques. Le remplacement d'une valve présentant une régurgitation modérée est controversé, des études évoquant le manque de preuves du bénéfice de ce type d'intervention [118].

Dans cette optique, le projet Valves-in-Veins s'adresse aux patients présentant une régurgitation mitrale sévère. Ainsi, planter des valves associées à une fraction de régurgitation d'au plus 12.8% permettrait au patient de passer du stade sévère à léger. Toutes les formulations d'hydrogels présentées au Tableau 3.1 permettent donc de produire des valves qui présentent un niveau de fuite acceptable, situé dans la catégorie de fuite légère, voire minime. La variabilité de la fuite mesurée d'une valve à l'autre au sein d'une même condition peut s'expliquer par la variabilité de la qualité de découpe lors de la séparation des feuillets au scalpel, le collage de la valve dans le support utilisé pour permettre son positionnement dans la colonne de test ou encore la disposition initiale des feuillets (qualité de moulage des feuillets). Afin de valider les résultats des tests d'étanchéité, les valves ont aussi été testées dans un simulateur cardiaque dynamique simulant une insuffisance mitrale et des fractions de régurgitation ont été estimées par mesures des débits aortiques avant et après implantation des trois valves dans chacune des trois veines modélisées. Les résultats sont présentés en détails dans l'article *Valves in pulmonary veins: In vitro proof-of-concept of a new approach for the heterotopic treatment of mitral regurgitation* dont il est fait référence dans au Chapitre 7. Les tests montrent que l'insertion des valves dans les veines pulmonaires permet de passer d'une fraction de régurgitation de 45% à 15%, ce qui correspond à moins de 5% de fuite en moyenne pour une valve.

4.1.3 Rétrécissement des valves

Le diamètre des valves a été mesuré tous les deux jours à partir de leur démoulage, sur une période de 30 jours. Le pourcentage de rétrécissement (basée sur la mesure du diamètre externe) des valves pour les différentes formulations d'hydrogels est présenté à la Figure 4.3. On observe que les valves ayant subi une réticulation chimique avant réticulation physique (i.e. les valves avec STMP :

$P/D_{10}/S_{13}$ et $P/D_0/S_{13}$) ont tendance à rétrécir légèrement plus. Au jour 14, les valves $P/D_{10}/S_{13}$ ont rétréci de $8.9 \pm 1.1\%$ et les valves $P/D_0/S_{13}$ d'environ $10.3 \pm 0.5\%$ alors que celles contenant uniquement du PVA et du dextrane ont rétréci de 2.8 ± 2.2 à $5.9 \pm 0.9\%$. On observe que la taille des valves se stabilise autour du jour 14 après fabrication. Ce résultat a été pris en considération pour les tests mécaniques, incluant les tests de traction et de fatigue qui ont été réalisés sur des hydrogels deux semaines après leur fabrication.

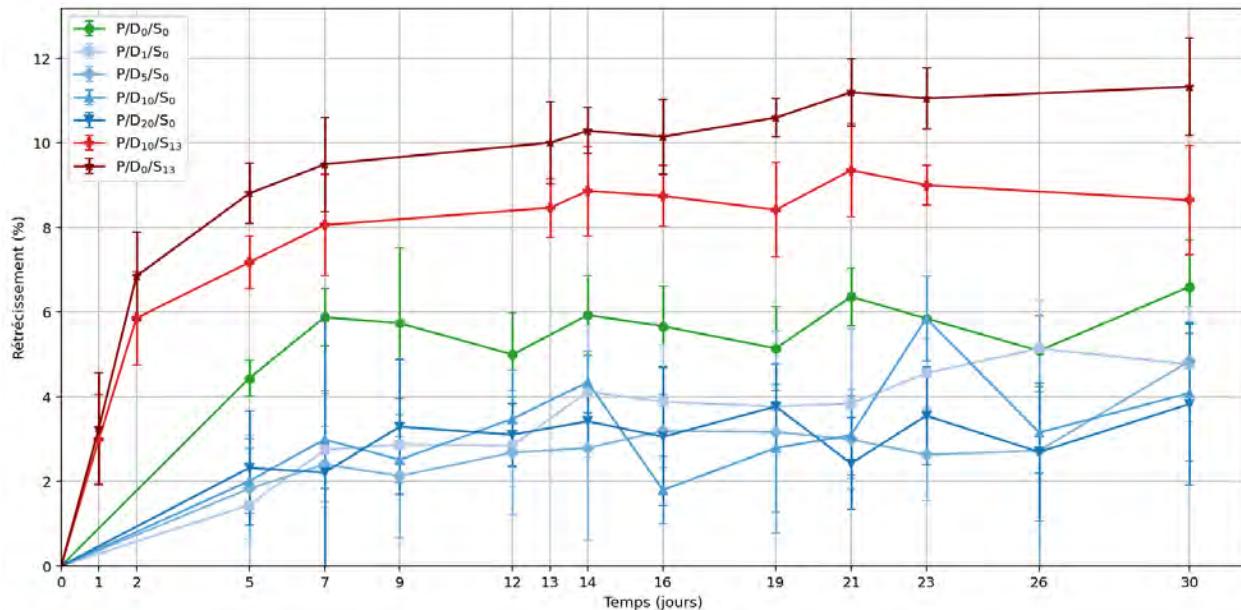


Figure 4.3 Pourcentage de rétrécissement des valves produites à partir de différentes formulations d'hydrogel au cours du temps (mesure donnée pour le diamètre externe des valves).

4.2 Caractérisation mécanique des hydrogels

4.2.1 Tests de traction

Afin de caractériser les propriétés mécaniques des hydrogels utilisés pour la fabrication des valves cardiaques, les propriétés mécaniques en tension ont d'abord été évaluées. Les modules de Young pour les différents hydrogels ont été calculés dans la zone de déformation entre 30 et 50% (Figure 4.4). Les modules de Young calculés sont compris entre 322 ± 46 kPa et 528 ± 33 kPa, la condition de PVA seul ayant le module de Young le plus faible alors que les conditions avec du STMP présentent les modules de Young les plus élevés. Les contraintes maximales, les déformations maximales et les modules de Young dans la zone de 30 à 50% de déformation sont présentés dans la Figure 4.6 et les valeurs sont données dans le Tableau B1 en Annexe B. D'après la Figure 4.4,

pour les mélanges contenant du dextrane (courbes bleues), les courbes contrainte/déformation des hydrogels sont très proches du mélange de PVA seul (courbe verte). En revanche, pour les mélanges avec STMP - P/D₁₀/S₁₃ (courbe rouge) et P/D₀/S₁₃ (courbe bordeaux) - les courbes se différencient par leurs allures. En effet, alors que les mélanges avec PVA et PVA/dextrane présentent une courbe d'allure concave vers le haut, les conditions P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ présentent une courbe d'allure plus linéaire. La Figure 4.5 présente un zoom des courbes présentées à la Figure 4.4 sur la zone d'application de notre matériau : de 0 à 50% de déformation. Sur ces courbes la différence d'allure entre les conditions P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ et les autres conditions est moins marquée.

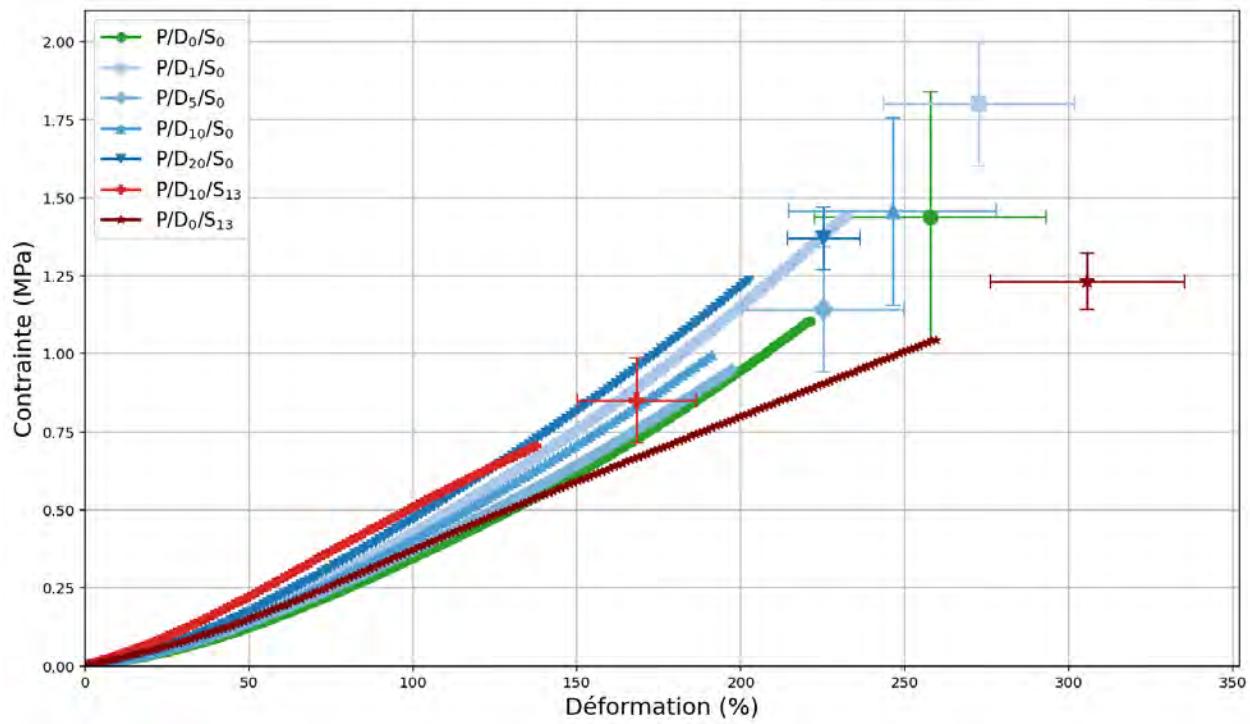


Figure 4.4 Courbes moyennes de la contrainte en fonction de la déformation pour les différentes formulations d'hydrogels testées. Les barres d'erreur sont indiquées pour les points maximaux (rupture) moyens. Chaque courbe est la moyenne de 5 répétitions.

Les conditions pour lesquelles le module de Young est significativement différent de la condition P/D₀/S₀ sont les conditions P/D₂₀/S₀ et P/D₁₀/S₁₃ (Figure 4.5 et Figure 4.6). Pour les élastomères, un module de Young plus élevé est indicateur d'un plus haut degré de réticulation, ainsi, plus un polymère est réticulé plus il peut être considéré comme rigide [119]. Ces résultats suggèrent que les hydrogels P/D₂₀/S₀ et P/D₁₀/S₁₃ possèdent un plus haut niveau de réticulation. Ce résultat est

davantage marqué pour la condition P/D₁₀/S₁₃ (augmentation du module de Young la plus significative) ce qui peut s'expliquer car cette formulation, en plus de faire intervenir un mélange de deux polymères qui subit une double réticulation, d'abord chimique (grâce au STMP), puis physique (par cycles de gel/dégel). L'ajout de dextrane semble avoir un impact modéré sur le module de Young et semble l'augmenter à partir d'un seuil de proportion PVA:Dex situé entre 100:5 et 100:10. La réticulation du PVA avec le STMP (en l'absence de dextrane) ne semble pas impacter le module de Young. L'ordre de grandeur des modules de Young obtenus correspondent à ceux rapportés dans la littérature pour les hydrogels de PVA et répertoriés dans le Tableau 2.2. D'après les modules de Young répertoriés dans le Tableau 2.1, l'ordre de grandeurs des modules de Young des feuillets natifs est de 100 à 10,000 kPa. La grandeur de cet intervalle s'explique par le fait que les feuillets des valves natives sont anisotropes. Des mesures de modules de Young de valves cardiaques polymériques à base de polyuréthane ont montré des ordres de grandeurs d'environ 5,000 à 60,000 kPa [120]. Les modules de Young obtenus ici sont donc dans la borne inférieure des ordres de grandeurs des modules de Young des valves natives. De futures recherches pourront être menées pour renforcer davantage la rigidité des matériaux proposés. Une solution possible serait la formation d'hydrogel à double réseau. Un tel hydrogel peut être produit en incubant un premier hydrogel fabriqué avec le premier polymère dans une solution contenant le second polymère. Une équipe ayant étudié des hydrogels de polyacrylamide et de poly(acide acrylique) à doubles réseaux a mesuré des modules de Young d'environ 3,000 kPa [121].

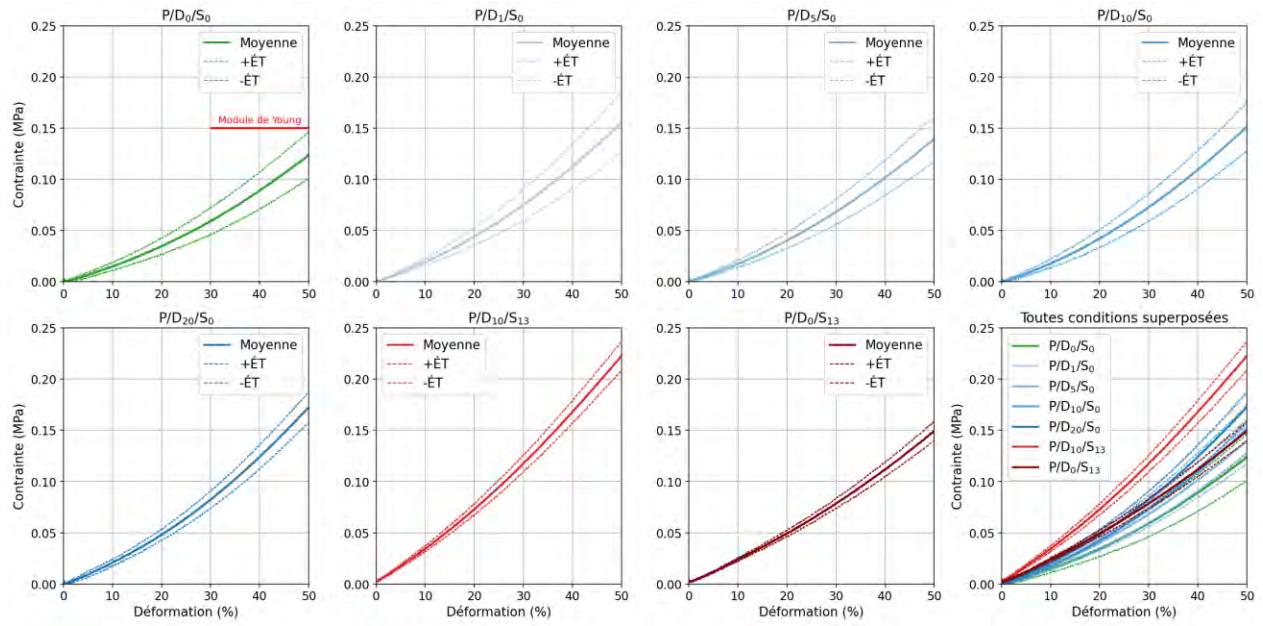


Figure 4.5 Courbes contrainte/déformation pour chaque mélange d'hydrogel dans la zone de travail de 0 à 50% de déformation. Les courbes en trait plein représentent la moyenne des courbes obtenues pour chaque répétition, et les courbes en pointillé, l'écart type standard. Le trait rouge sur le graphique supérieur gauche indique que les modules de Young ont été déterminés dans la zone de déformation de 30 à 50%.

Pour ce qui est de la contrainte maximale, seule la condition P/D₁₀/S₁₃ est significativement inférieure à la condition P/D₀/S₀ (Figure 4.6- b) avec des contraintes maximales supportées par ces hydrogels égales à 1.439 ± 0.394 MPa et 0.849 ± 0.137 MPa respectivement ($p=0.0029$). Les contraintes maximales supportées par les valves aortiques et pulmonaires rapportées dans la littérature [6], [22] sont d'environ 1 à 3 MPa. Bien que les hydrogels P/D₁₀/S₁₃ présentent une valeur un peu inférieure à 1 MPa, tous les autres mélanges présentent une contrainte max moyenne supérieure à 1 MPa.

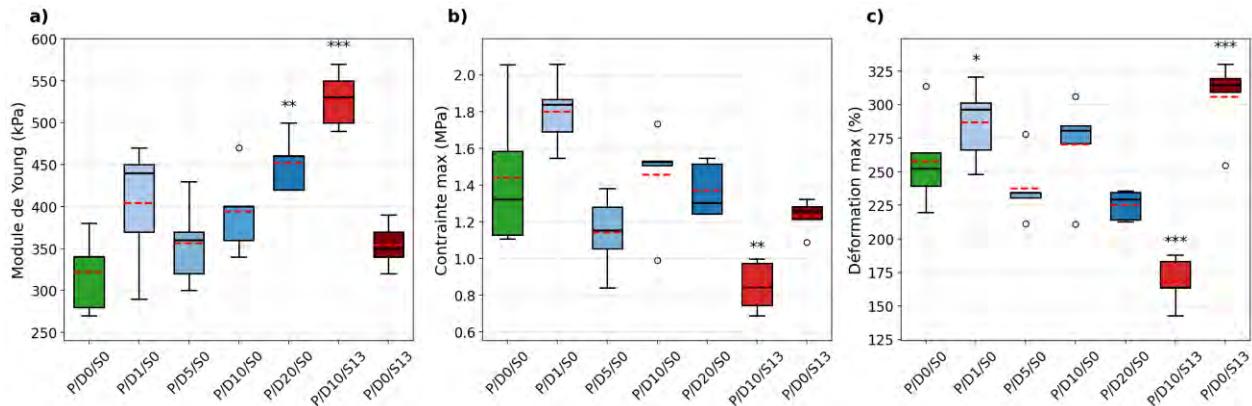


Figure 4.6 Caractérisation mécanique des hydrogels. a) Modèle de Young ; b) Contrainte maximale ; c) Déformation maximale pour chaque formulation d'hydrogel testée. Ligne pointillée rouge = moyenne Des * sont indiqués au-dessus de la condition si celle-ci est différente de la condition de référence P/D₀/S₀. (*) pour $p < 0.05$, (**) pour $p < 0.01$ et (***) pour $p < 0.001$. Les valeurs aberrantes (○) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.

Concernant la déformation maximale à la rupture, les mélanges P/D₁/S₀, P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ sont significativement différentes du mélange P/D₀/S₀ avec une rupture ayant lieu à $258 \pm 35\%$, $273 \pm 29\%$, $168 \pm 18\%$ et $331 \pm 27\%$ de déformation pour hydrogels P/D₀/S₀, P/D₁/S₀, P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ respectivement. Le conditions P/D₁/S₀ et P/D₀/S₁₃ peuvent subir une plus forte déformation avant la rupture que la condition P/D₀/S₀ alors que la condition P/D₁₀/S₁₃ en supporte une plus faible. Cependant, les valeurs de déformation à la rupture de tous les hydrogels testés sont bien supérieures à 40% (déformation observée pour les valves natives). Même si des tests en conditions physiologiques réelles pourraient engendrer des déformations des hydrogels supérieures à 40% ceux-ci possèdent une capacité de déformation largement supérieure à ce seuil, leur capacité de déformation est donc acceptable en vue de l'application aux tissus des valves cardiaques.

Ces tests de traction montrent que l'ajout de dextrane au gel de PVA dans les proportions présentées au Tableau 3.1 ne détériorent pas les propriétés mécaniques des hydrogels. Pour les conditions P/D₂₀/S₀ et P/D₁₀/S₁₃ les modules de Young sont même augmentés, ce qui est souhaitable dans le cadre de notre application aux valves cardiaques. De même, l'ajout de STMP au PVA seul n'impacte pas significativement les propriétés mécaniques, sauf la capacité de déformation avant rupture qui est augmentée. Parmi tous les hydrogels testés, l'hydrogel P/D₁₀/S₁₃ est le seul qui se différencie vraiment de la condition de référence P/D₀/S₀. Il présente un module de Young plus élevé et donc plus proche des modules de Young des valves natives mesurés dans la littérature. Ses résistances à la contrainte et à la déformation sont en revanche plus faibles mais restent dans des

ordres de grandeurs compatibles avec l'application aux valves cardiaques. Ce matériau est donc prometteur, il est maintenant pertinent d'analyser sa résistance à la fatigue ainsi que celles des autres conditions afin de valider ou non les potentiels de ces formulations.

4.2.2 Tests de fatigue

Les tests de tractions permettent de déterminer l'élasticité des différents matériaux ainsi que la contrainte et l'élongation à la rupture, cependant ces derniers ne donnent pas d'indication sur la durabilité du matériau. Or, dans le cadre du développement de valve cardiaque, il est essentiel de garantir leur durabilité, en particulier, la résistance à la fatigue du matériau ainsi que le maintien de la structure de la valve au cours du temps. Pour évaluer cela, la norme ISO 5840-1 prescrit de réaliser des tests de fatigue accélérée et en temps réel. Il est possible de tester cette résistance sur l'implant (la valve) directement en l'insérant dans un testeur de valve qui la soumet à un débit pulsé de manière accélérée sur des millions de cycles afin de modéliser plusieurs années de fonctionnement. Il est également pertinent d'observer au préalable le comportement en fatigue du matériau qui la compose via des cycles de tensions/relaxation répétés un grand nombre de fois en accéléré. Nous avons réalisé des tests cycliques en traction sur des films d'hydrogels. Les tests ont été réalisés avec un testeur mécanique Mach-1 (Biomomentum, Canada), un total de 1000 cycles ont été appliqués, durant lesquels le système enregistre la courbe de tension-déformation pour chaque cycle de charge-décharge. Le système ne permettant pas de réaliser des tests en accélérés nous avons réalisés 1000 cycles pour apprécier le comportement de nos différents matériaux sous contrainte cyclique. Dans un premier temps, nous en avons extrait la contrainte à 40% de déformation (déformation maximale imposée à chaque cycle) aux cycles 1, 10, 100 et 1000 (Figure 4.7 et Tableau B2 en annexe B). Le comportement de la contrainte en fonction du nombre de cycle a un lien direct avec la résistance à la fatigue d'un matériau. Moins cette contrainte diminue avec les cycles, plus le matériau est capable de résister à une contrainte élevée pour un nombre de cycle donné.

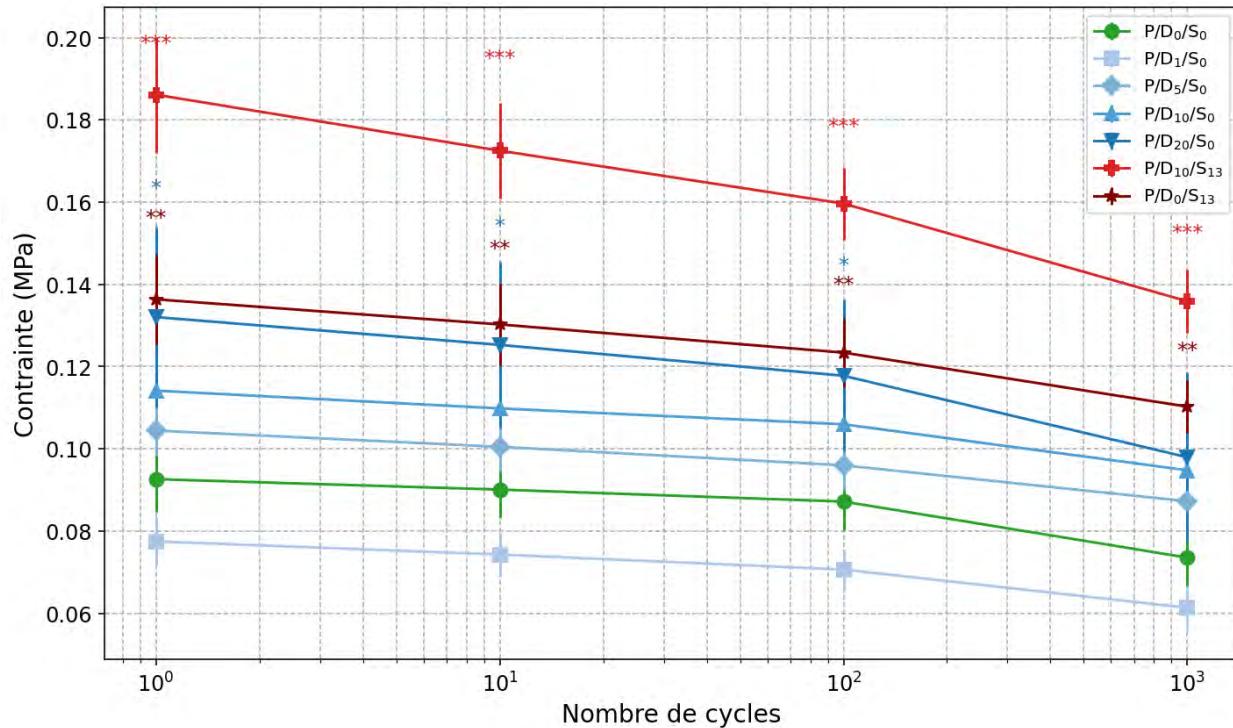


Figure 4.7 Contrainte à 40% de déformation en fonction du nombre de cycles pour les différentes formulations d'hydrogel testées, aussi appelée «courbe SN», 3 répétitions par point. Des * sont indiqués au-dessus de la condition si celle-ci est différente de la condition de référence $P/D_0/S_0$. (*) pour $p < 0.05$, (**) pour $p < 0.01$ et (***) pour $p < 0.001$.

Les courbes de fatigue sont généralement effectuées sur un nombre plus élevé de cycles. Une valve cardiaque s'ouvrant et se fermant environ 36,500,000 fois par an, pour une durée de vie de 10 ans, une valve prothétique devrait pouvoir résister à la fatigue pour au moins 3,500,000 cycles soit un ordre de grandeur de 4×10^6 . La norme ISO 5840-3 préconise des tests sur 200 millions de cycles pour simuler une utilisation sur 5 ans. Ici les tests ont été réalisés sur 1,000 cycles car le Mach-1 n'est pas adapté pour réaliser un très grand nombre de cycles et ne permet pas des tests en accéléré. Pour les courbes tracées sur un grand nombre de cycles, il est possible d'observer si la courbe SN se stabilise autour d'une certaine contrainte. Si c'est le cas, le plateau correspond à la limite d'endurance et pour tout contrainte appliquée située en dessous de cette limite, le matériau ne se fatigue pas, il a une « vie infinie ». Sinon, pour que la résistance à la fatigue d'un matériau dans une application donnée soit acceptable, il faut que le nombre de cycles au bout duquel la contrainte appliquée de manière cyclique entraîne la rupture soit bien supérieure au nombre de cycles subis durant la « vie » du matériau. À défaut, de pouvoir déterminer l'endurance limite de nos matériaux, nous pouvons regarder comment chaque matériau se positionne par rapport aux autres. Pour le

mélange P/D₁₀/S₁₃, la courbe SN se démarque des autres conditions (Figure 4.7). Pour ce mélange, au premier cycle, la contrainte enregistrée est de 0.186±0.014 MPa et diminue à 0.136±0.008 MPa au millième cycle, alors que pour la condition P/D₀/S₀ elle passe de 0.093±0.008 à 0.074±0.007 MPa entre le premier et le millième cycle. Si la diminution de contrainte enregistrée pour le mélange P/D₁₀/S₁₃ (27%) est plus importante que pour la condition P/D₀/S₀ (20%) la contrainte au millième cycle pour la condition P/D₁₀/S₁₃ reste supérieure de 46% à la contrainte enregistrée au premier cycle pour la condition P/D₀/S₀. Les seules autres conditions qui présentent une courbe SN curve supérieure à la condition de référence P/D₀/S₀ sont les conditions P/D₀/S₁₃ et P/D₂₀/S₀. Pour ces mélanges, la contrainte entre le premier et le millième cycle passe de 0.136±0.001 MPa à 0.110±0.006 MPa et 0.132±0.022 MPa à 0.098±0.021 MPa respectivement. La contrainte au millième cycle enregistrée pour la condition P/D₀/S₁₃ est supérieure de 18% à la contrainte enregistrée au premier cycle pour la condition P/D₀/S₀. Pour la condition P/D₂₀/S₀ elle est 5% supérieure. Il semblerait donc que les mélanges P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ possèdent une meilleure résistance à la fatigue que la condition de référence P/D₀/S₀.

Nous avons ensuite déduit les modules de Young aux cycles 1, 10, 100 et 1000 (Figure 4.8 et Tableau B3 annexe B). D'après cette figure, on observe que pour toutes les conditions, le module de Young augmente entre le cycle 1 et le cycle 10 puis diminue du cycle 10 au cycle 1000. Une hypothèse qui pourrait expliquer cette brève augmentation du module Young suivie d'une diminution progressive serait un réarrangement initial des chaînes de polymère dans les matériaux qui contribuerait à augmenter la rigidité entre le premier et le dixième cycle. Au-delà, l'apparition de microfissures dues à la fatigue se traduirait par une diminution du module de Young au cours des cycles. Cette diminution de la rigidité d'un matériau lorsqu'il est soumis à des charges cycliques est appelé l'effet Mullins et s'explique par la rupture de liaisons et le glissement des chaînes de polymères[122]. De manière similaire aux résultats des tests de traction unique, on observe que les modules de Young des mélanges P/D₂₀/S₀ et P/D₁₀/S₁₃ sont significativement supérieurs aux modules de Young du mélange référence P/D₀/S₀. On note aussi que le mélange P/D₀/S₁₃ démontre des modules de Young significativement plus élevés que ceux de la condition de référence P/D₀/S₀ alors que cela n'était pas le cas pour les tests en traction simple (1 cycle unique). La condition P/D₁/S₀ possède aussi un comportement différent celui observé pour les tests en traction simple. Dans les deux cas cette condition ne semble pas impacter significativement les propriétés mécaniques par rapport à la condition de référence.

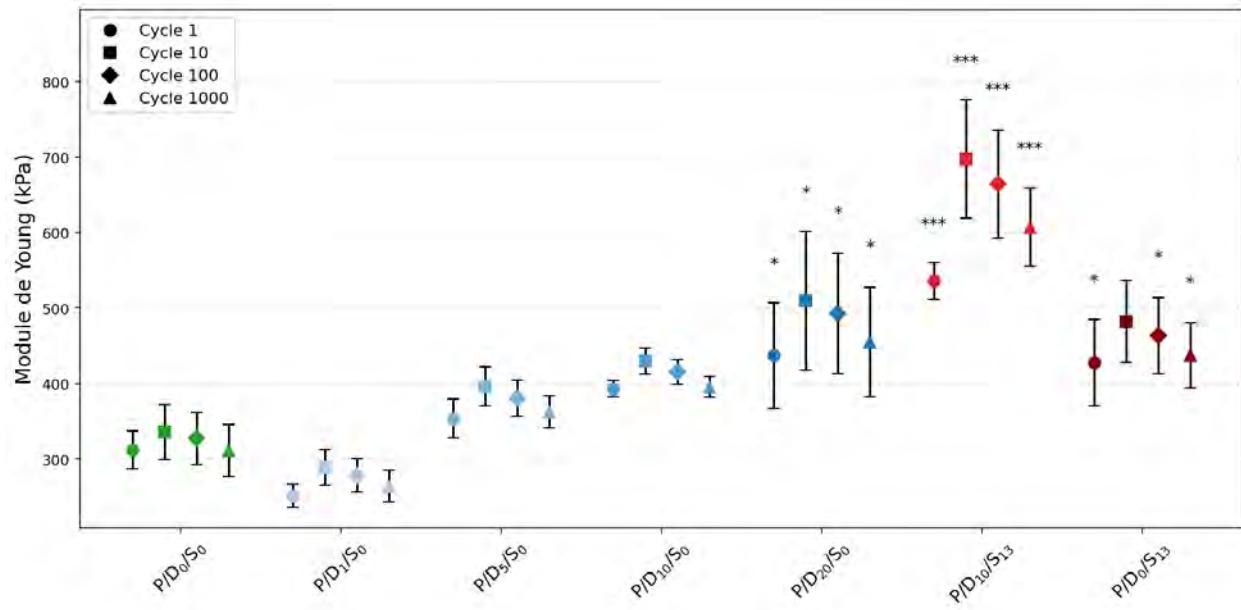


Figure 4.8 Module de Young dans la zone de 30 à 40% de déformation pour chaque condition mélange pour les cycles 1, 10, 100 et 1000, 3 répétitions par point. Des * sont indiqués au-dessus de la condition si celle-ci est différente de la condition de référence P/D₀/S₀. (*) pour $p < 0.05$, (**) pour $p < 0.01$ et (***) pour $p < 0.001$.

Comme détaillée dans la revue de littérature, l'hystérésis correspond à l'aire entre la courbe de chargement et de déchargement enregistrée pour un biomatériau donné et permet de déterminer l'énergie dissipée lors de l'application puis le relâchement d'une contrainte à un biomatériau. Au premier cycle, la condition P/D₁₀/S₁₃ présente l'hystérésis la plus élevée, avec une énergie dissipée de 9.2 kJ/m³ alors que l'hystérésis la plus faible est observée pour la condition de référence P/D₀/S₀, avec une valeur de 1.3 kJ/m³ (Figure 4.9). [123]. L'hystérésis des valves cardiaques native est très faible mais n'est pas nulle car elle permet aux tissus d'absorber les contraintes. En revanche, une hystérésis trop élevée n'est pas souhaitable pour un biomatériau visant à reproduire le comportement des tissus des valves cardiaques, car une perte d'énergie trop importante peut mener à la détérioration de sa structure. Une étude a mesuré cette hystérésis en compression pour un hydrogel à base de PVA/Gélatine/Carraghénane et rapporté une dissipation d'énergie moyenne par cycle égale à 0.8 ± 0.7 kJ/m³ [58]. Si nos valeurs au premier cycle sont légèrement supérieures, les valeurs obtenues pour les cycles 10, 100 et 1000 sont pour la majorité plus faibles. En effet, on remarque que dès le cycle 10 (Figure 4.10) l'hystérésis pour chaque condition a diminué par rapport au cycle 1. Entre les cycles 100 et 1000, l'énergie dissipée pour les conditions P/D₀/S₀, P/D₁/S₀, P/D₅/S₀, P/D₁₀/S₀ et P/D₂₀/S₀ semble devenir constante indiquant une stabilisation

mécanique de ces hydrogels. Pour les conditions P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ l'énergie semble encore baisser, suggérant que la stabilisation des hydrogels a lieu pour un nombre de cycle davantage important (Figure 4.10).

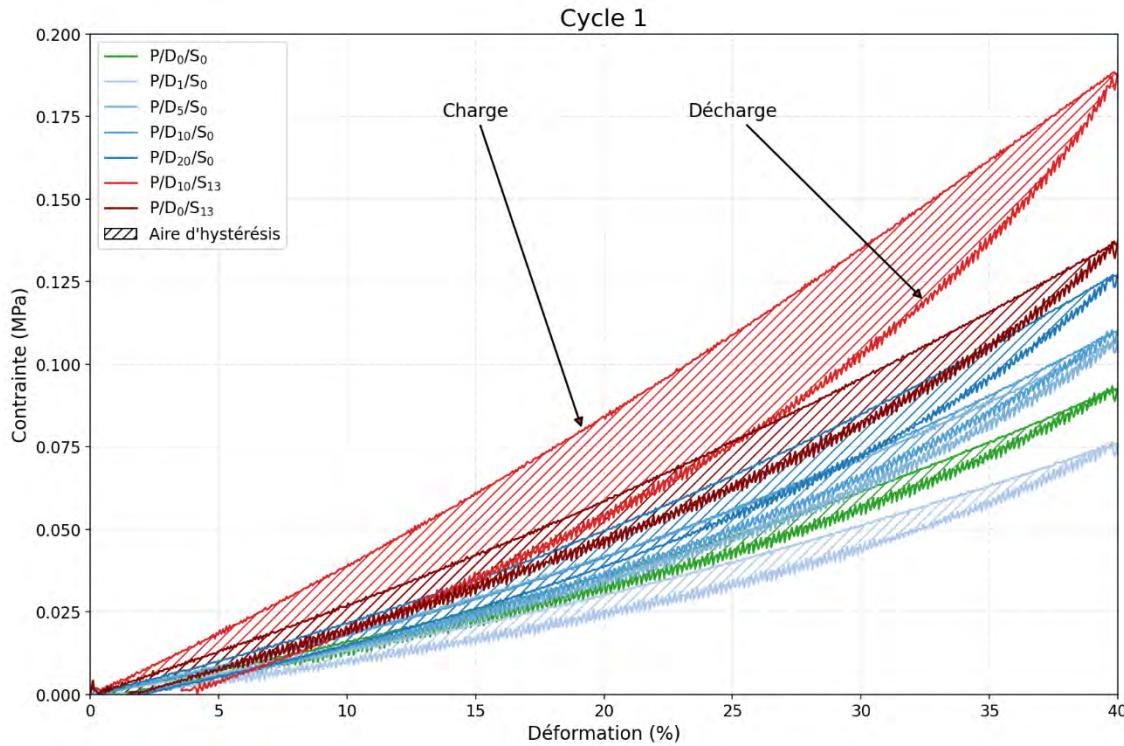


Figure 4.9 Courbes de chargement et déchargement lors du premier cycle en tension.

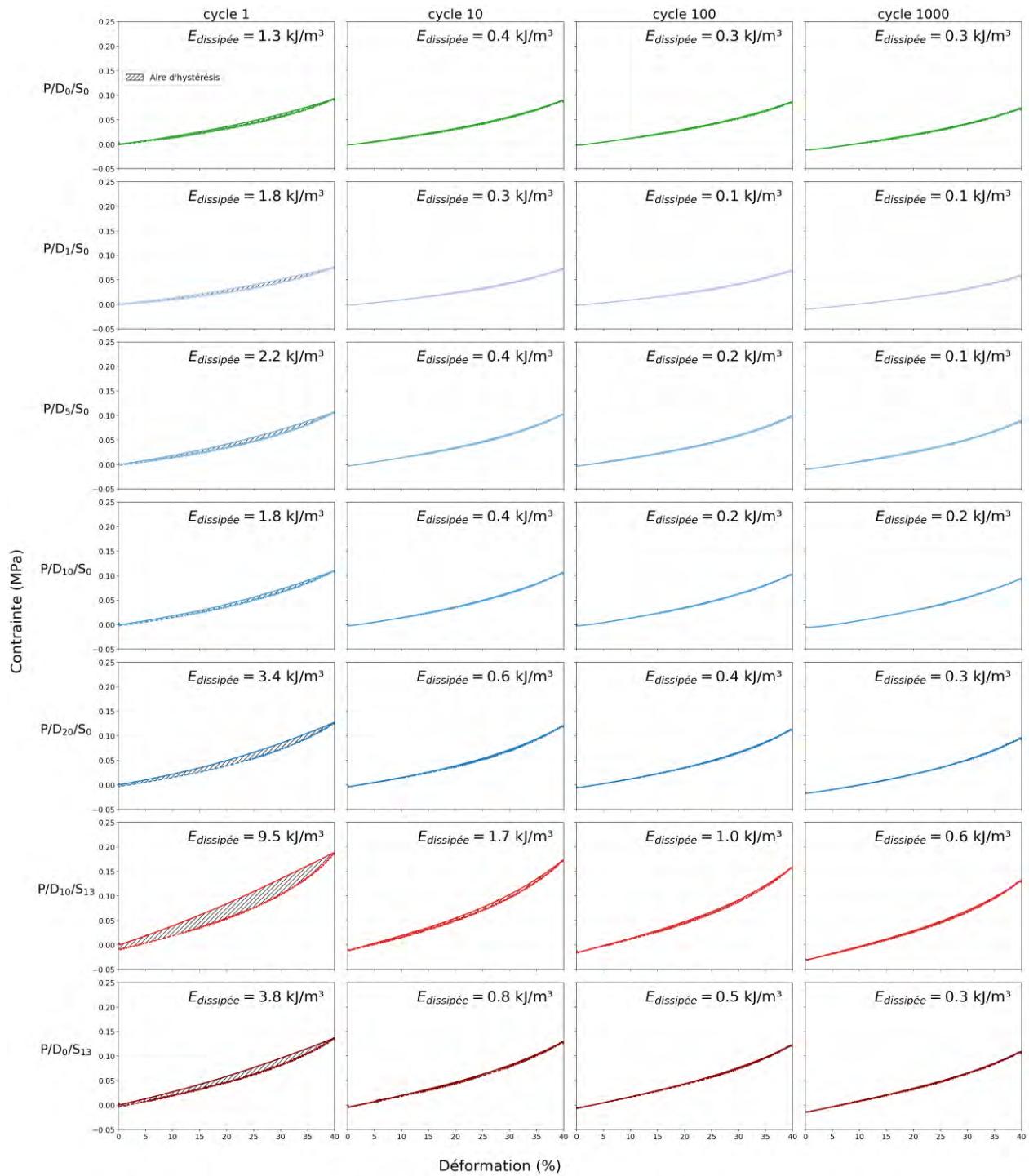


Figure 4.10 Courbes de chargement et déchargement pour les cycles 1, 10, 100 et 1000 pour chacun des mélanges et les énergies de dissipation associées.

Il est possible d'estimer si la dissipation d'énergie des hydrogels se stabilise avec le nombre de cycle en comparant les énergies dissipées d'un cycle à l'autre. Entre les cycles 1 et 1000 la perte

d'énergie est importante (entre 80 et 95%). En revanche, entre les cycles 100 et 1000 elle a fortement diminuée (entre 12 et 46%) (Tableau 4.1). Entre les cycles 100 et 1000, il semble y avoir moins de détérioration structurelle, ce qui expliquerait une perte d'énergie plus faible. Cela suggère que les hydrogels tendent à se stabiliser à mesure que le nombre de cycles augmente.

Des tests avec davantage de cycles doivent être réalisés afin de pouvoir conclure avec plus de confiance sur la résistance à la fatigue de chacune des conditions. Cependant, le mélange P/D₁₀/S₁₃ se démarque des autres, il présente l'hystérésis la plus élevée au premier cycle par rapport aux autres mélanges, mais sa courbe contrainte-déformation au cycle 1000 est comparable à la courbe de la condition de référence P/D₀/S₀ au premier cycle (Figure 4.10).

Tableau 4.1 Perte d'énergie des hydrogels entre des cycles 1 et 1000 et les cycles 100 et 1000.

Code de l'échantillon	Perte d'énergie_{1→1000} (%)	Perte d'énergie_{100→1000} (%)
P/D ₀ /S ₀	79	12.3
P/D ₁ /S ₀	95.1	8.7
P/D ₅ /S ₀	94.4	44.4
P/D ₁₀ /S ₀	90.8	34.9
P/D ₂₀ /S ₀	91.9	24.3
P/D ₁₀ /S ₁₃	93.4	37.2
P/D ₀ /S ₁₃	93	46.2

Les tests mécaniques nous permettent de conclure qu'aucune des formulations d'hydrogel proposée ne dégrade les propriétés mécaniques par rapport à la formulation de référence P/D₀/S₀. En outre, les hydrogels P/D₂₀/S₀, P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ présentent des modules de Young supérieures à la condition de référence et possèdent un potentiel de meilleure résistance à la fatigue. Afin de valider cette dernière conclusion, la durabilité doit être évaluée à l'aide d'appareils plus performant (par exemple le testeur de fatigue électrodynamique Raagen ou le testeur dynamique ElectroPuls de Instron) qui permettent de réaliser les tests sur un nombre plus importants de cycles.

4.3 Évaluation de la biocompatibilité des hydrogels

4.3.1 Cytotoxicité

Dans le cadre du test Alamar Bleu, la fluorescence mesurée pour chaque échantillon a été normalisée par la fluorescence mesurée pour les cellules incubées avec du milieu de culture complet (contrôle négatif). Ainsi, un niveau de fluorescence à 100% indique 100% de viabilité cellulaire. Tous nos hydrogels testés présentent un taux de viabilité supérieure au seuil de viabilité établi dans la norme ISO 10 993-5 (Figure 4.11), contrairement au contrôle positif, le milieu complet avec 10% de DMSO qui possède un taux de viabilité inférieur à 70%. En effet, ce dernier interagit avec la membrane des cellules et provoque un stress oxydatif conduisant à la mort cellulaire. Comme attendu, la fluorescence liée à la résofurine pour cet échantillon se trouve inférieure à 70%, traduisant son caractère cytotoxique. Un échantillon menant à une viabilité cellulaire au-dessus de 70% peut être considéré comme non cytotoxique. On peut donc considérer que les hydrogels testés ne présentent pas de cytotoxicité. Pour les deux conditions avec du STMP on remarque une valeur inférieure au seuil de cytotoxicité (Figure 4.11). Ces valeurs sont considérées comme aberrantes pas prises en compte dans les tests statistiques.

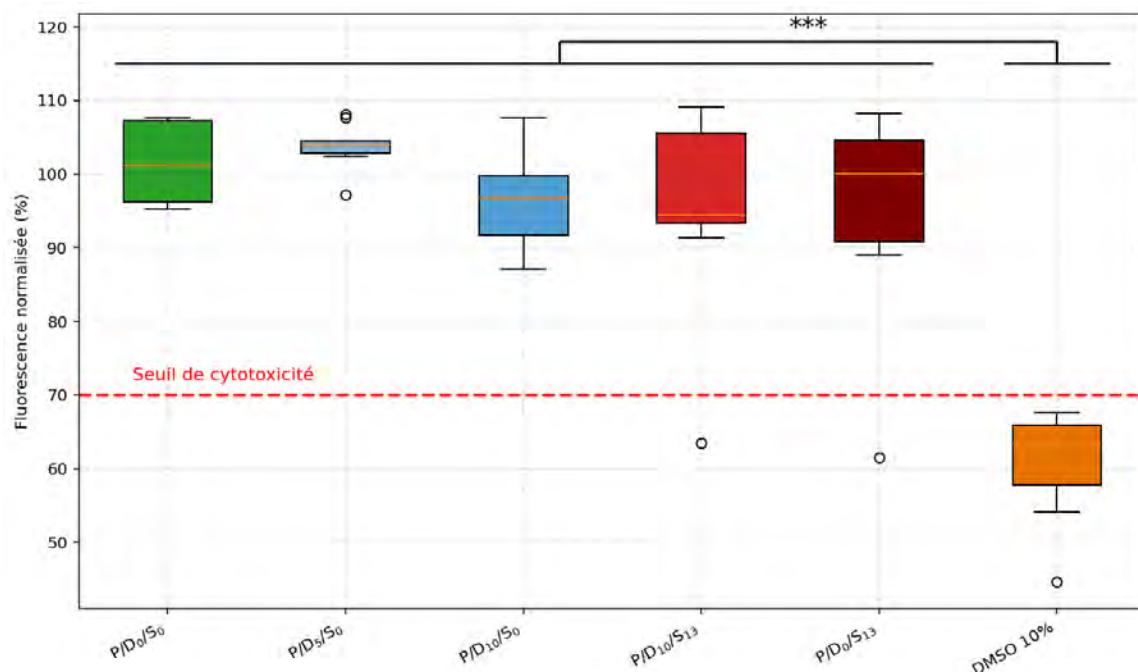


Figure 4.11 Fluorescence de la résofurine dans le cadre du test de viabilité cellulaire Alamar Blue. Les tests ont été réalisés sur deux séries d'hydrogels indépendantes, la première en

triplicata la deuxième en sextuplicata soit au total n=9. (***) signifient que $p < 0.001$. Les valeurs aberrantes (○) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.

Les images prises lors du test Live/Dead sont présentées à la Figure 4.12. Les images supportent les résultats rapportés pour les tests Alamar Blue. Pour rappel, les cellules vivantes sont marquées en vert et les cellules mortes sont marquées en rouge. On peut observer que quelles que soient les conditions, très peu de cellules sont marquées en rouge (sauf pour le contrôle positif). Pour le marquage des cellules vivantes, tous les échantillons présentent une grande quantité de cellules vertes sauf le contrôle positif. Ces résultats confirment les résultats quantitatifs des tests Alamar Blue démontrant la non-cytotoxicité des échantillons étudiés. Ce résultat valide que la méthode de réticulation chimique (avec STMP) employée est biocompatible et que la neutralisation de l'hydroxyde de sodium dans les échantillons avec le PBS est efficace.

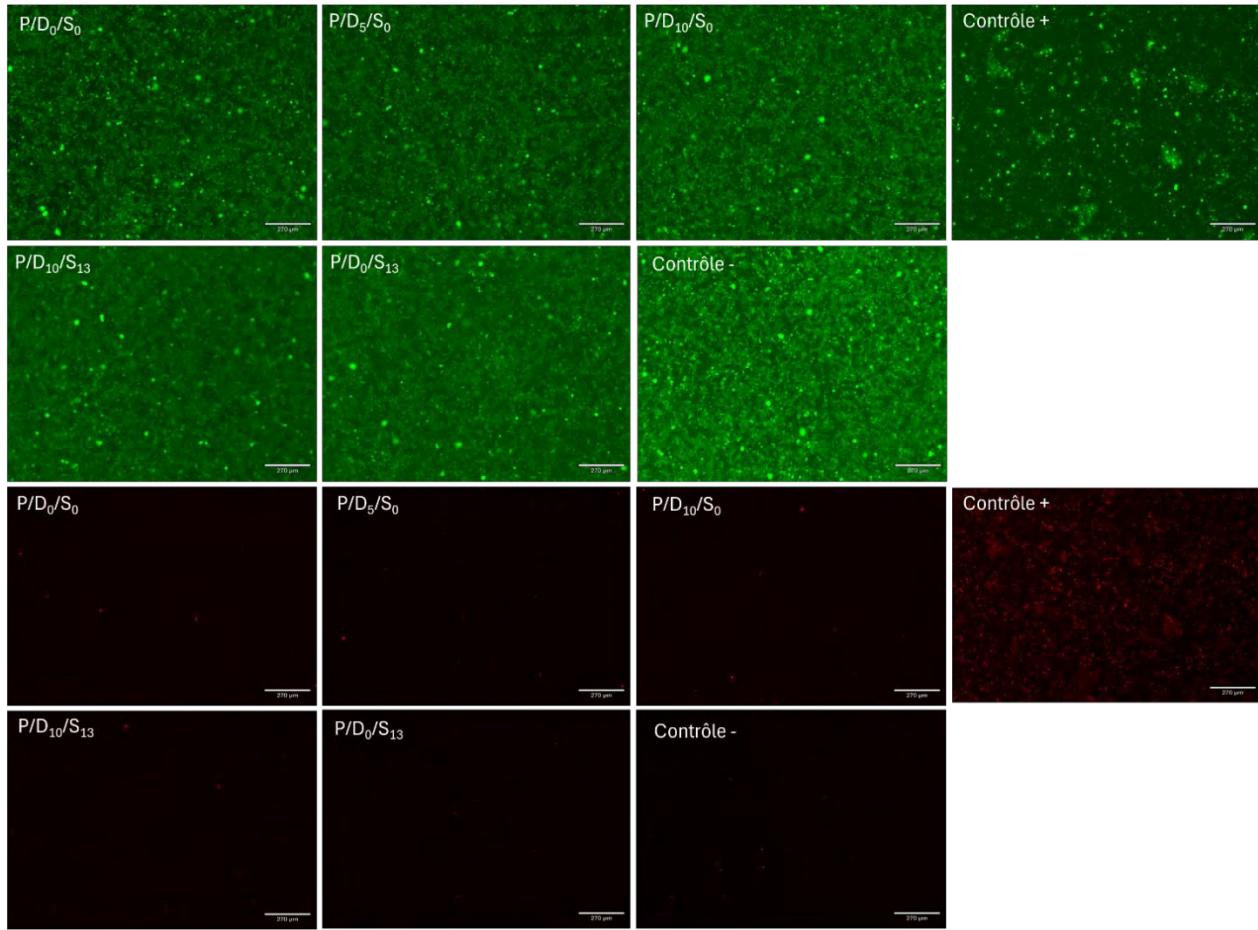


Figure 4.12 Marquage des cellules L292 après incubation avec les échantillons (Test Live/Dead). Les cellules marquées en vert (microscope mode FITC excitation 450-490 nm) sont les cellules vivantes. Les cellules marquées en rouges (microscope mode TxRED excitation).

4.3.2 Adsorption des protéines

4.3.2.1 Adsorption de l'albumine

L'albumine est la protéine la plus abondante dans le plasma humain (35 à 50 g/L) et joue un rôle important dans l'activité métabolique [124]. Comme énoncé dans la revue de littérature, c'est l'une des premières protéines à être adsorbée à la surface d'un biomatériau après son implantation. L'adsorption de l'albumine marquée au Texas Red à la surface de nos différents biomatériaux a été évaluée par mesure de la fluorescence.

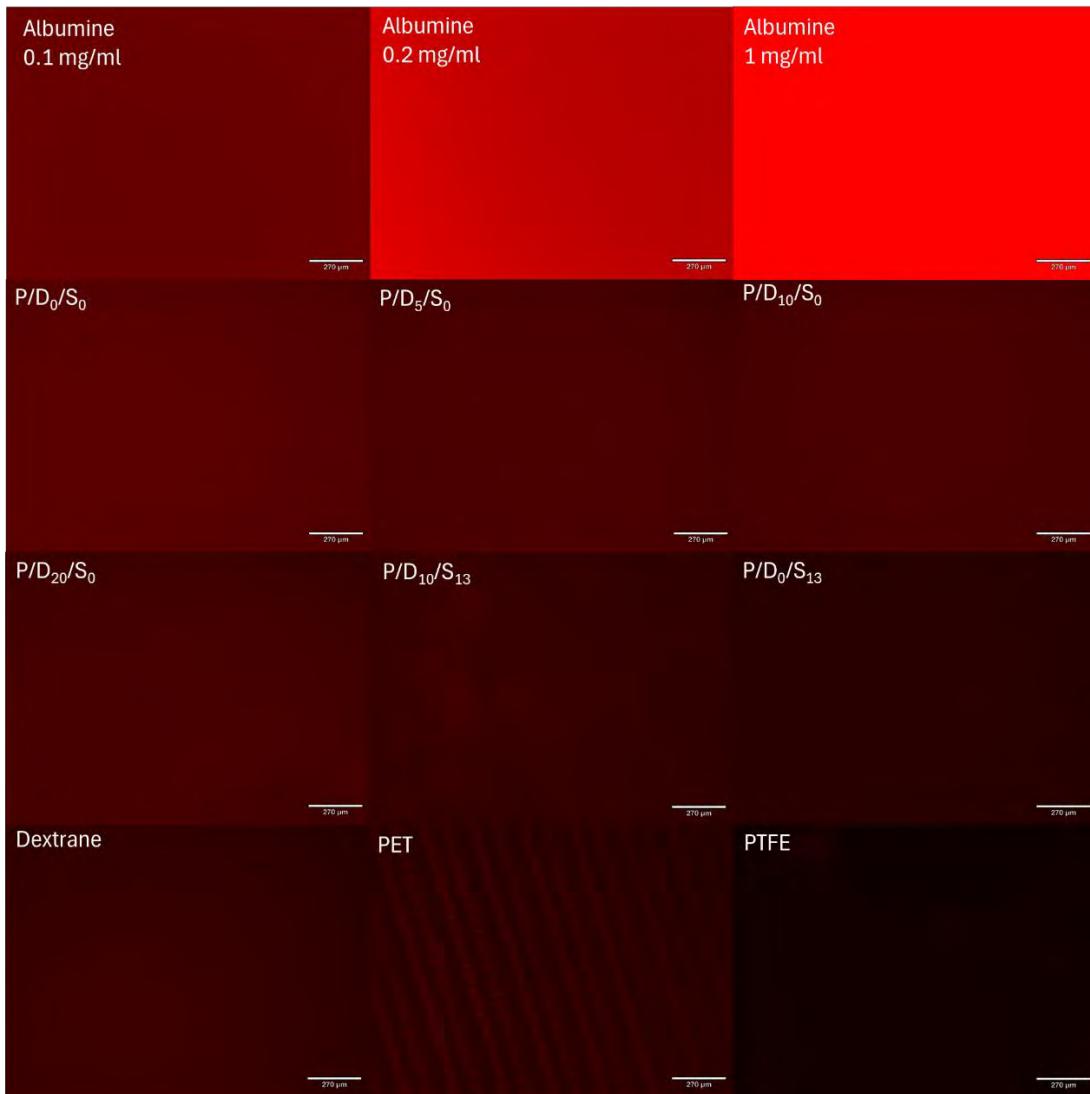


Figure 4.13 Surface des échantillons après 2h d'exposition à température pièce à une solution d'albumine Texas Red à 0.2 mg/ml après rinçage au PBS. La première ligne correspond à l'adsorption de solutions d'albumine à différentes concentrations (sans rinçage). Longueur d'onde d'excitation : 596 nm.

L'intensité de fluorescence à 596 nm d'excitation est proportionnelle à la quantité d'albumine adsorbée en surface des matériaux (Figure 4.13 et Figure 4.14). D'après la Figure 4.14, c'est le PTFE et le dextrane qui adsorbent le moins l'albumine. Ces résultats sont attendus, le dextrane ayant des propriétés anti-adhésives et le PTFE étant un biomatériau déjà largement utilisé dans les applications cardiovasculaires. Ensuite ce sont le PET et les conditions P/D10/S13 et P/D0/S13 qui adsorbent le moins l'albumine, suivis des conditions P/D5/S0, P/D10/S0 et P/D20/S0. Finalement, la condition de référence P/D0/S0 est la condition qui adsorbe le plus l'albumine. Il n'y a pas de différence significative entre les conditions P/D5/S0, P/D10/S0 et P/D20/S, indiquant que

l'augmentation de la concentration de dextrane dans les hydrogels n'induit pas une diminution de l'adsorption de l'albumine. Ce résultat est inattendu, le dextrane étant un matériau antiadhésif, on s'attendrait à observer une diminution de l'adsorption de l'albumine avec l'augmentation de la concentration de dextrane dans les hydrogels. Une hypothèse possible est que la différence de concentration de dextrane entre les trois conditions n'est pas assez importante pour faire apparaître une différence significative.

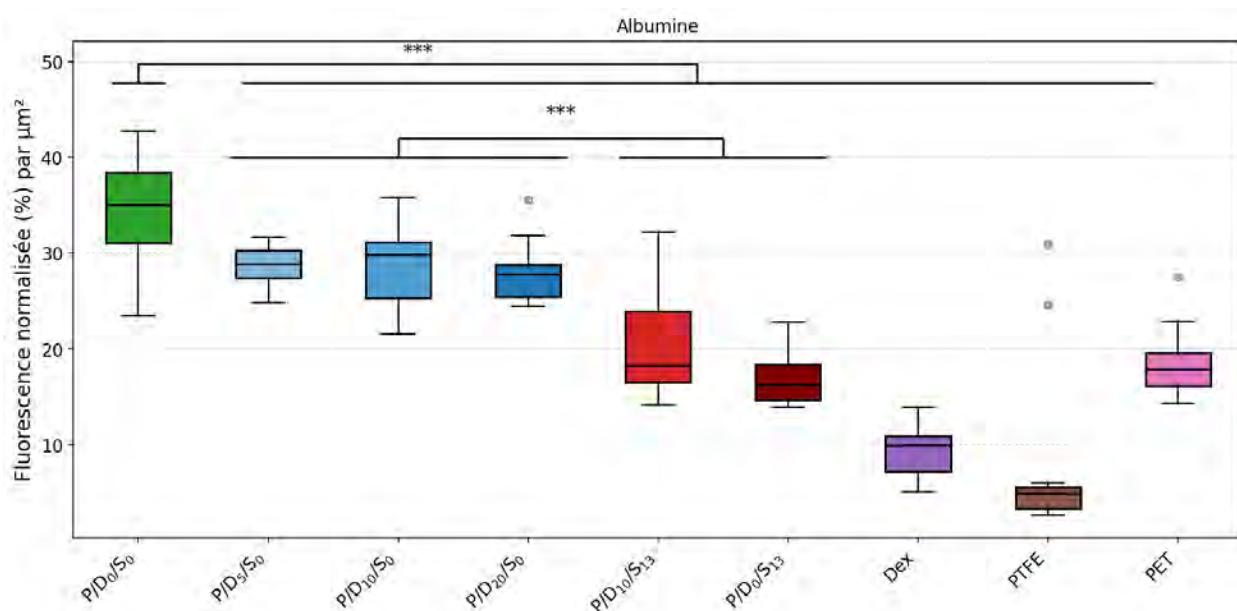


Figure 4.14 Fluorescence de l'albumine Texas Red (0.2 mg/ml) adsorbée à la surface de chaque matériau ($n=6$). L'arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d'incubation d'albumine (0.2mg/ml). (****) signifient que $p < 0.001$. Les valeurs aberrantes (○) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.

Les moyennes \pm écart-type standard ainsi que les images des surfaces avant exposition à l'albumine sont donnés dans le Tableau C1 et la Figure C1 en annexe C. D'après ces valeurs, les mélanges P/D₅/S₀, P/D₁₀/S₀ et P/D₂₀/S₀ permettent une diminution de l'adsorption de l'albumine de 16% à 19% par rapport à la condition de référence. Si ce résultats est encourageant ce sont les conditions P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ qui présentent le potentiel antiadhésif vis-à-vis de l'albumine le plus important parmi toutes les formulations d'hydrogel. La condition P/D₁₀/S₁₃ permet une diminution de 41% et la condition P/D₀/S₁₃ une diminution de 50% (à noter tout de même qu'elles ne sont pas significativement différentes l'une de l'autre). Cette diminution est proche de celle observée pour le PET (47%) qui est un matériau déjà utilisé dans les applications cardiovasculaires. Le STMP est communément utilisé comme agent de réticulation et son impact sur les propriétés antiadhésives

des biomatériaux est moins connu, il n'y a pas de consensus dans la littérature. Dans notre cas, il semblerait que l'ajout de STMP réduise l'adsorption de l'albumine. Une explication possible est qu'il engendre la formation de surfaces davantage rugueuses (Figure 4.15) que celle de la condition de référence P/D₀/S₀. Cette augmentation de rugosité peut être associée à une augmentation de l'hydrophilicité du matériau résultant en une barrière hydratante plus robuste ayant pour conséquence une diminution de l'adsorption de protéines. La corrélation entre hydrophilicité et caractère antiadhésif ayant déjà été décrite dans la littérature [125]. Cependant cette hypothèse est à considérer avec prudence, car il serait réducteur de considérer que la rugosité agit de manière unidirectionnelle sur l'adsorption des protéines. Les interactions en jeu sont le résultat d'un équilibre entre topographie, chimie de surface et propriétés des protéines impliquées. Ainsi, la rugosité d'un matériau peut, selon le contexte, soit favoriser, soit inhiber l'adsorption des protéines.

L'albumine utilisée pour ces tests, la BSA, est composée de 583 acides aminés pour un poids moléculaire de 67 kDa. Elle possède une structure globulaire aussi appelée structure « heart-shaped », ses propriétés physicochimiques ainsi que sa structure sont très proches de l'albumine de sérum humain [126]. Son point isoélectrique est compris entre 4.6 et 4.9 [127]. À pH physiologique (7.4), l'albumine est donc chargée négativement. Comme le STMP est chargé négativement, il est possible que la surface des hydrogels P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ soit chargée négativement ce qui expliquerait que ces deux hydrogels repoussent davantage l'albumine.

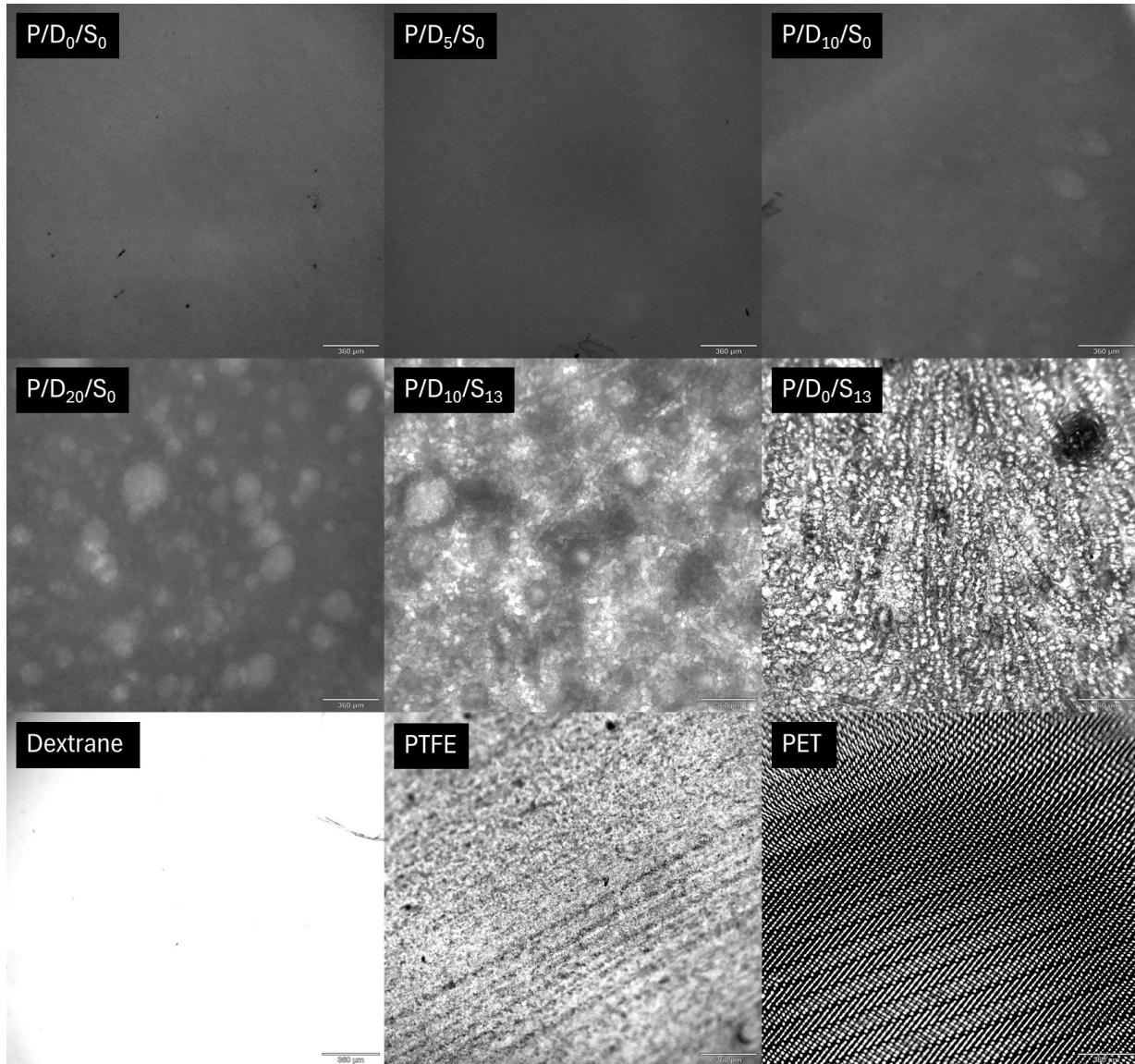


Figure 4.15 Structure de la surface des échantillons observés au microscope Revolve.

L’albumine, bien qu’étant une des premières protéines qui s’adsorbe à la surface d’un biomatériau après implantation, n’est pas impliquée dans la formation de thrombus et est même utilisée dans diverses applications biomédicales notamment comme revêtement pour améliorer la biocompatibilité. L’albumine est connue pour améliorer l’adhésion cellulaire, la prolifération mais aussi pour avoir des propriétés anticoagulantes, antimicrobiennes et anti-inflammatoires [126]. Nous avons donc réalisé ce test avec une autre protéine connue, elle, pour être impliquée dans la formation de thrombus : le fibrinogène.

4.3.2.2 Adsorption du Fibrinogène

Le fibrinogène humain possède un poids moléculaire de 340 kDa et sa concentration dans le plasma varie entre 2 et 4 g/L, sa concentration minimale requise pour assurer l'hémostasie étant de 1 g/L [128]. Lors de la coagulation, le fibrinogène est clivé par la thrombine dans son domaine centrale et est converti en fibrine, un composant majeur des thrombus. Afin d'évaluer le potentiel thrombogène des hydrogels, nous avons mesuré l'adsorption de fibrinogène humain fluorescent à la surface de nos différents biomatériaux.

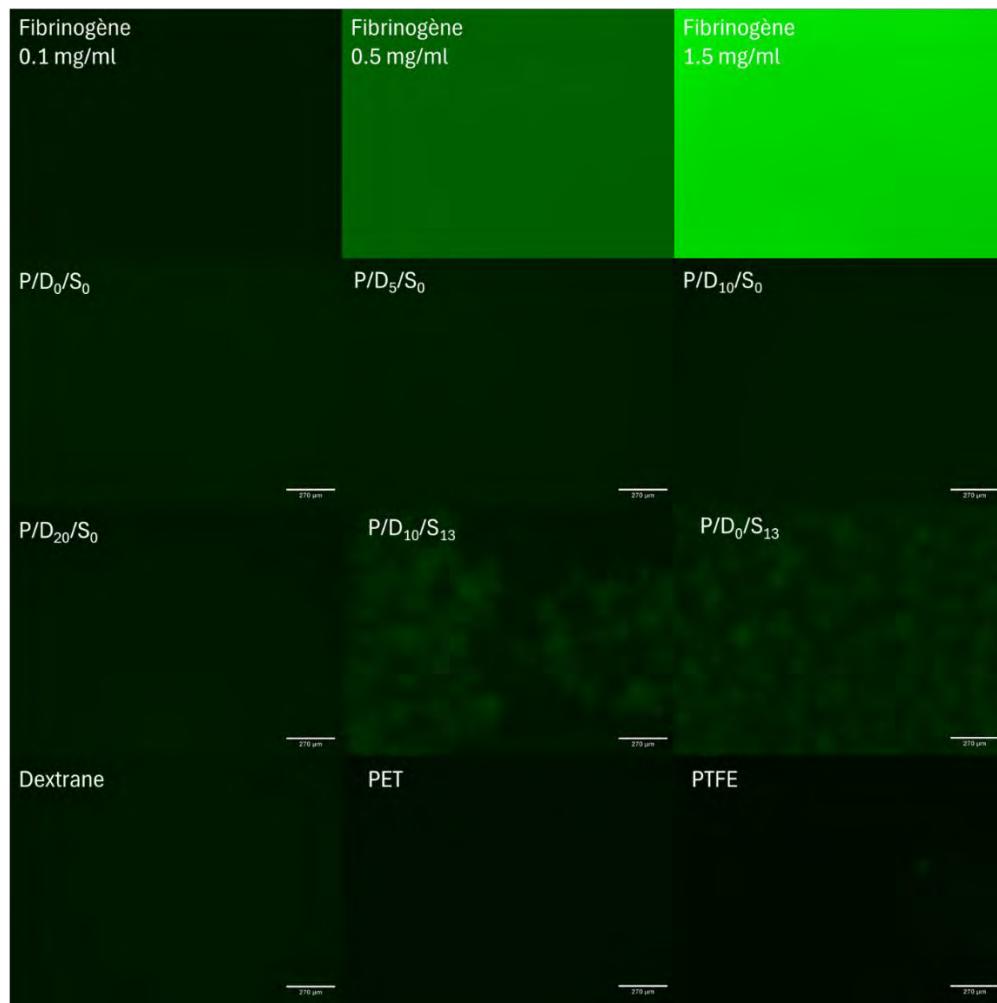


Figure 4.16 Surface des échantillons après exposition de 2h à 37°C à une solution de 1.5 mg/ml de fibrinogène humain marqué après rinçage au PBS. La première ligne correspond à l'adsorption

de solutions à différentes concentrations de fibrinogène (sans rinçage). Longueur d'onde d'excitation : 495 nm.

L'intensité de fluorescence à 495 nm est proportionnelle à la quantité de fibrinogène adsorbée en surface des matériaux (Figure 4.16 et Figure 4.17). Les moyennes \pm écart-type standard ainsi que les images des surfaces avant exposition au fibrinogène sont donnés dans le Tableau D1 et la Figure D1 en annexe D. D'après la Figure 4.17, c'est le dextrane, le PTFE et le PET qui adsorbent le moins le fibrinogène, ce qui est attendu de la part de ces contrôles négatifs et des matériaux déjà validés pour leurs applications cardiovasculaire. Les conditions P/D₁₀/S₀, P/D₂₀/S₀ sont les deux seules conditions qui adsorbent significativement moins de fibrinogène que la condition de référence P/D₀/S₀. Ces deux conditions montrent une réduction d'adsorption du fibrinogène de 22 et 26 % respectivement par rapport à la condition P/D₀/S₀. Les conditions P/D₅/S₀, P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ ne donnent pas de résultats significativement différents de la condition P/D₀/S₀ et présentent une variabilité importante. On remarque qu'une plus grande concentration de dextrane est associée à une diminution de l'adsorption du fibrinogène en comparant les conditions P/D₁₀/S₀ et P/D₂₀/S₀. Ce résultat est attendu car le dextrane possède des propriétés antiadhésives. Cependant, l'intensité lumineuse liée à l'adsorption du fibrinogène ne suit pas la même tendance que pour l'albumine pour les hydrogels P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃.

Le point isoélectrique du fibrinogène est de 5.5, ce qui fait qu'il est globalement négatif à pH physiologique [129]. Le fibrinogène a une structure allongée, qui se compose de 3 paires de chaînes polypeptidiques liées par des ponts disulfures. Il possède des domaines globuleux à chaque terminaison et en son centre [130], [131]. Le fibrinogène, à pH physiologique est globalement moins chargée que l'albumine, ce qui pourrait expliquer que l'albumine s'adsorbe moins que le fibrinogène sur les surfaces des échantillons contenant du STMP. Une autre hypothèse est que les surfaces lisses, telles que les surfaces des conditions P/D₁₀/S₀, P/D₂₀/S₀, i.e. sans STMP (Figure 4.15), peuvent limiter l'adsorption de protéines de grande taille comme le fibrinogène contrairement aux surfaces plus rugueuses P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃.

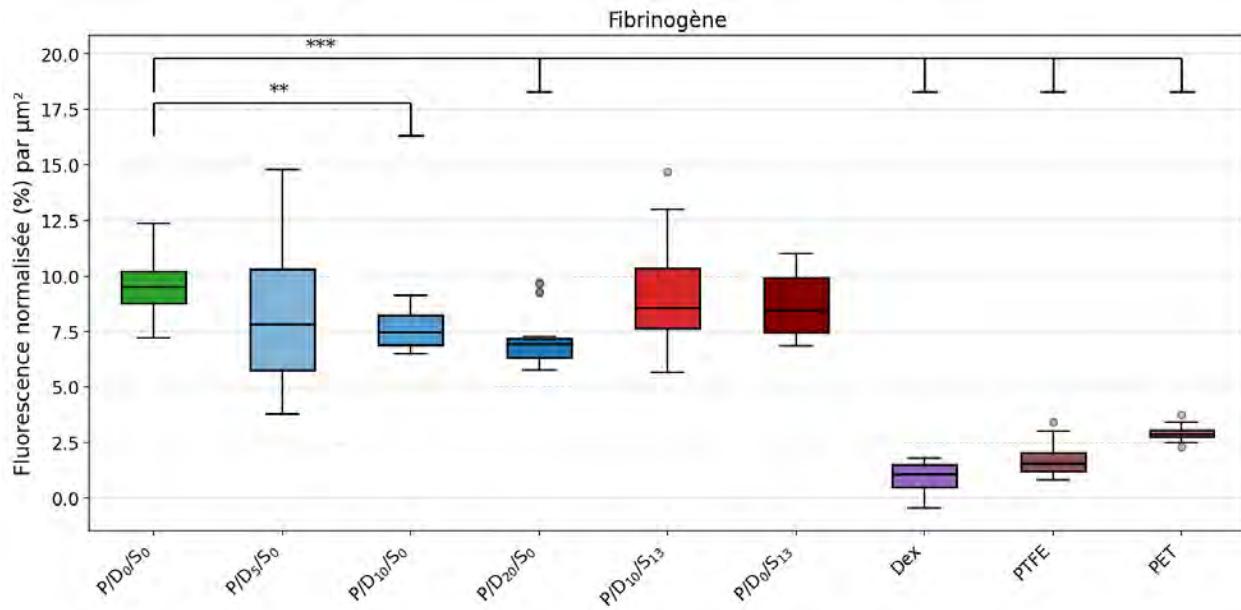


Figure 4.17 Fluorescence du fibrinogène humain marqué Alexa Fluor™ 488 (1.5 mg/ml) adsorbé à la surface de chaque matériau ($n=6$). L’arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d’incubation de fibrinogène. **Différence significative de la condition $P/D_0/S_0$ ($p<0.01$). ***Différence significative de la condition $P/D_0/S_0$ ($p<0.001$). Les valeurs aberrantes (\circ) ne sont pas prises en compte dans les tests statistiques.

Une autre étude a observé des différences entre l’adsorption du fibrinogène et de l’albumine à la surface de PDMS avec et sans revêtement de PEG et dextrans. Cette étude explique les différences observées par la différence de taille entre les deux protéines, la qualité du revêtement de la surface étudiée et la différence d’interaction avec des groupes fonctionnels présents en surface des échantillons [132]. Des études ayant mesuré l’adsorption d’albumine et de fibrinogène à la surface de PVA présentent des résultats variables. Chen et al. ont observé que le fibrinogène s’adsorbait davantage que l’albumine (environ 0.75 et $0.25 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ respectivement) pour des solutions d’incubation de fibrinogène à $1 \text{ mg}/\text{ml}$ et $5 \text{ mg}/\text{ml}$ respectivement [133]. Ducan et al. en revanche, ont observé pour le fibrinogène une adsorption d’environ $0.1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pour une solution d’incubation à $0.038 \text{ mg}/\text{ml}$ [134]. Ikada et al. ont observé une adsorption d’environ $0.05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pour une solution d’incubation à $5 \text{ mg}/\text{ml}$ de BSA et une adsorption de $0.05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ pour une solution d’incubation à $0.35 \text{ mg}/\text{ml}$ de fibrinogène bovin [125]. Ces différences peuvent s’expliquer par les différentes méthodes appliquées pour déterminer l’adsorption des protéines et aussi par les différentes méthodes de fabrication des hydrogels de PVA. Park et al. ont déterminé

la quantité seuil de fibrinogène adsorbé sur une surface menant à l'activation des plaquettes à 0.02 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ [135]. Ce résultat suggère que le PVA seul est susceptible de mener à l'adhésion de plaquettes et la formation de thrombus. Ajouter d'autres composés au PVA est donc pertinent en vue de diminuer la quantité de fibrinogène adsorbée à un niveau inférieur à 0.02 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Les différences de résultats d'une étude à l'autre rendent cependant délicate la comparaison de nos résultats avec la littérature, d'autant plus que notre méthode ne permet pas de convertir nos résultats en une masse adsorbée de protéine par unité de surface.

Toutefois, la comparaison entre nos échantillons suggère que la condition $P/D_{20}/S_0$ est celle possédant les meilleures propriétés antiadhésives vis-à-vis du fibrinogène. Cette condition apparaît comme la plus biocompatible, dans la mesure où elle induit la plus faible adsorption de fibrinogène, réduisant ainsi le risque de formation de thrombus. Cette hypothèse devra être validée par un test d'adhésion et d'activation plaquettaire. Un test d'hémolyse sur les valves en conditions dynamiques serait aussi pertinent pour notre application afin de valider que non seulement la composition chimique (le matériau) mais également le modèle (design) de valve proposé ne détériorent pas les cellules sanguines.

CHAPITRE 5 DISCUSSION GÉNÉRALE

Les hydrogels produits ont montré une tendance à rétrécir après fabrication (stabilisation après deux semaines). Ce rétrécissement pourrait s'expliquer par la conservation des hydrogels dans du PBS après leur démoulage. Étant majoritairement composés d'eau, les hydrogels peuvent subir une variation de taille au cours des premiers jours, probablement due à l'établissement d'un équilibre osmotique entre l'eau contenue dans les hydrogels et celle du milieu de conservation. Pour les deux formulations d'hydrogels testées contenant du STMP (conditions P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃), il est possible que le rétrécissement plus important observé, comparé aux autres hydrogels, soit dû au fait que la réticulation chimique se poursuit après les cycles de gels/dégels. La réticulation chimique induit la formation de liaisons covalentes entre les chaînes polymériques constituant l'hydrogel, ce qui peut entraîner un resserrement du réseau et, par conséquent, un rétrécissement de la structure. Pour valider cette hypothèse, des tests rhéologiques approfondis devraient être réalisés pour évaluer la cinétique de réticulation des hydrogels et vérifier si la réticulation chimique se poursuit pour les hydrogels P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃ après les cycles de réticulation physique.

Concernant les tests d'étanchéité des valves, il est important de noter que le système pour évaluer la fuite des valves (colonne d'eau en statique) se situe très loin de la réalité physiologique (cœur en dynamique). Ce test préliminaire est à considérer avec précaution. Cependant, dans une autre partie du projet Valves-in-Veins qui n'est pas présentée dans ce mémoire mais qui détaillé dans l'article intitulé *Valves in pulmonary veins: In vitro proof-of-concept of a new approach for the heterotopic treatment of mitral regurgitation* et dont il est fait référence au Chapitre 7 de ce document, l'étanchéité des valves a été évaluée dans des conditions plus proches des conditions physiologiques. Brièvement, les valves en hydrogels ont été insérées dans les veines pulmonaires d'un modèle de cœur artificiel pathologique simulant une insuffisance mitrale. Le débit cardiaque a été mesuré avec et sans les valves insérées dans les veines pulmonaires. L'implantation des valves a permis de réduire la fraction de régurgitation de 45% à 15%. Ce résultat confirme les conclusions des tests préliminaires d'étanchéité des valves. Ces dernières permettent bien de diminuer la sévérité de la fuite mitrale (réduction de la fuite de modérée à légère).

Les tests de traction sont une approche pertinente pour évaluer les propriétés mécaniques des valves cardiaques, car ils permettent de mesurer la résistance du matériau à l'étirement, ce qui est essentiel pour garantir leur intégrité structurelle en condition de fonctionnement. Cependant, comme détaillé

dans la revue de littérature, les valves cardiaques natives sont soumises *in vivo* à un environnement mécanique complexe, impliquant des tensions, mais aussi des compressions, des forces de cisaillement et des déformations cycliques dues à l'ouverture et la fermeture répétées lors du cycle cardiaque.

Ainsi, pour mieux reproduire les contraintes exercées en conditions physiologiques et assurer la fiabilité des matériaux utilisés, il serait important de compléter les essais de traction par d'autres tests mécaniques, tels que des essais de compression et de cisaillement.

Des études s'intéressant aux propriétés mécaniques des hydrogels ont produit des hydrogels de PVA réticulés physiquement de manière directionnelle [136], [137]. Dans ces études les hydrogels sont réticulés par insertion contrôlée dans de l'azote liquide ce qui induit une orientation des chaînes de polymères dans l'hydrogel. Pour ces gels, il pourrait aussi être intéressant de réaliser des essais biaxiaux (dans la condition circonférentielle et axiale par exemple), afin d'évaluer les propriétés mécaniques dans deux directions et voir si les propriétés se rapprochent des conditions physiologiques.

Les essais de traction cycliques menés dans le cadre de ce projet ont permis d'observer une diminution progressive de la contrainte au cours des cycles pour l'ensemble des formulations testées. Toutefois, des différences ont été notées dans l'intensité de cette diminution selon les formulations. Il convient cependant d'interpréter ces résultats avec prudence, car les tests ont été réalisés avec un nombre de cycles très limité par rapport aux conditions physiologiques. En effet, la norme ISO 5840-3 recommande la réalisation de 200 millions de cycles pour valider la durabilité des valves sur une période équivalente à cinq ans d'utilisation.

Finalement les tests préliminaires d'évaluation de la biocompatibilité des hydrogels ont montré des résultats encourageants. Si les tests d'adsorption de protéines nous indiquent que les formulations P/D₁₀/S₀ et P/D₂₀/S₀ semblent présenter une meilleure biocompatibilité par rapport aux autres formulations d'hydrogels, il faut aussi appréhender ces résultats avec précaution. En effet, ces tests ont été réalisés avec des solutions pures contenant la protéine purifiée (albumine ou fibrinogène). Ces solutions ne représentent pas la complexité biologique du sang, dans lequel toutes les protéines plasmatiques sont présentes. Cette approche ne permet donc pas d'évaluer la compétition entre protéines pour l'adsorption à la surface des hydrogels, un phénomène pourtant essentiel dans un

environnement physiologique réel. Il serait intéressant de compléter cette analyse avec du sang *in vitro* (adhésion de plaquettes) et tests *in vivo*.

CHAPITRE 6 CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

Pour conclure, les hypothèses initiales ont été validées. La méthode de production de valves cardiaques polymériques présentée dans ce mémoire permet d'obtenir des valves démoulables, homogènes et étanches. Les valves rétrécissent et leur taille se stabilise au bout de deux semaines après fabrication, lorsque ces dernières sont conservées dans du PBS. L'ajout de dextrane au PVA ne détériore pas les propriétés mécaniques des hydrogels. Pour toutes les formulations testées, les modules de Young atteints sont compatibles avec les ordres de grandeurs des modules de Young enregistrés pour des valves natives, bien que dans la borne inférieure de l'intervalle. De même, les contraintes maximales supportées par les hydrogels sont du même ordre de grandeur que pour des valves natives. Les hydrogels peuvent endurer des déformations jusqu'à 6 fois supérieures aux déformations observées pour les valves natives lors de leur fonctionnement. Les hydrogels ayant un module de Young augmenté par rapport à l'hydrogel de PVA sont les hydrogels de PVA/dextrane en proportions 100/10 et 100/20 et les hydrogels de PVA/dextrane/STMP proportion 100/10/13 et PVA/STMP proportions 100/13 (soit les formulations P/D₂₀/S₀, P/D₁₀/S₁₃ et P/D₀/S₁₃). Il semblerait que le STMP contribue à augmenter la rigidité des hydrogels. Les tests de fatigue ont montré que l'hydrogels P/D₁₀/S₁₃ possède une hystérésis plus grande que tous les autres hydrogels au premier cycle. Au millième cycle son hystérésis diminue fortement et sa contrainte mesurée à 40% de déformation est supérieure à celle enregistrée au premier cycle pour l'hydrogel de PVA, suggérant une meilleure résistance à la fatigue. Des tests doivent encore être effectués sur un plus grand nombre de cycles afin de déterminer si les hydrogels atteignent une limite d'endurance. Les tests de cytotoxicité indirecte ont révélé l'absence de cytotoxicité pour l'ensemble des hydrogels étudiés, y compris les hydrogels réticulés chimiquement avec STMP. Concernant les tests d'adsorption des protéines, les hydrogels avec du dextrane ont montré une plus faible adsorption d'albumine et de fibrinogène que l'hydrogel de PVA. Les hydrogels P/D₀/S₁₃ et P/D₁₀/S₁₃ adsorbent moins l'albumine, ce qui suggèrent que le STMP contribue à augmenter le caractère antiadhésif des hydrogels vis-à-vis de l'albumine. Cependant ce n'est pas ce qui est observé concernant les tests d'adsorption du fibrinogène où ce sont les hydrogels P/D₁₀/S₀ et P/D₂₀/S₀ qui ont montré la plus faible adsorption de fibrinogène parmi tous les hydrogels testés. Ce résultat suggère que le dextrane a bien un effet antiadhésif qui permet d'augmenter la biocompatibilité des hydrogels. En effet, le fibrinogène est impliqué dans la formation de thrombus, limiter son adsorption est donc essentiel. À la lumière de ces résultats, les hydrogels P/D₁₀/S₁₃ et P/D₂₀/S₀ sont de bons candidats

pour la suite des recherches. L'hydrogel P/D₁₀/S₁₃ présente des propriétés mécaniques améliorées pour l'application aux valves cardiaques et il possède une potentielle meilleure résistance à la fatigue que les autres hydrogels. Il est associé à une adsorption d'albumine diminuée mais ne réduit pas l'adsorption du fibrinogène par rapport à l'hydrogel de PVA. L'hydrogel P/D₂₀/S₀, en revanche, adsorbe moins le fibrinogène que le PVA. Ses propriétés mécaniques semblent améliorées par rapport à celles du PVA, notamment pour son module de Young, qui est plus élevé, même si cette amélioration semble moindre que pour l'hydrogel P/D₁₀/S₁₃. Les deux hydrogels sont composés de dextrane et pourraient donc être fonctionnalisés avec des peptides d'adhésions spécifiques aux cellules endothéliales. Cette stratégie représenterait une piste intéressante pour favoriser l'intégration des implants valvulaires aux tissus environnants.

Des études complémentaires doivent être menées pour confirmer le potentiel des hydrogels. Des essais de fatigue à long terme devront être menés afin d'évaluer leur durabilité sous des contraintes répétées. En parallèle, des tests de biocompatibilité supplémentaires permettront de consolider les premiers résultats obtenus. Un test d'adhésion plaquettaire sera pertinent pour vérifier si l'incorporation de dextrane contribue effectivement à réduire le risque thrombotique. Un test d'hémolyse en conditions dynamiques pourra aussi être réalisé afin d'évaluer la biocompatibilité du design global de la valve, au-delà du seul matériau.

CHAPITRE 7 TRAVAUX ADDITIONNELS

En complément du travail présenté dans ce mémoire, j'ai également contribué à d'autres recherches menées dans le cadre du projet Valves-in-Veins. J'ai participé à la rédaction de deux articles, en tant que deuxième autrice, le **premier article** est intitulé *Modeling Mitral Regurgitation Severity Through Chordae Tension Control in a Left Heart Simulator* et le **deuxième article** est intitulé *Valves in pulmonary veins: In vitro proof-of-concept of a new approach for the heterotopic treatment of mitral regurgitation*. Ils seront soumis très prochainement pour publication et intégrés à la thèse de mon collègue Zoubaire Moustaine.

Le **premier article** présente le travail mené sur le simulateur cardiaque utilisé pour tester la performance des valves pour le concept valves-in-veins. Nous avons développé un système, composé de cellules de charges et d'un microcontrôleur, qui permet de mesurer et contrôler la tension dans les cordages d'un modèle de valve mitrale. Grâce à ce système nous avons pu modéliser différents niveaux et mécanismes de régurgitation de la valve mitrale utilisée sur le simulateur cardiaque, afin de simuler la pathologie en jeu. Le **deuxième article**, présente la preuve de concept du projet Valves-in-Veins. Nous avons inséré les valves cardiaques polymériques produites à partir d'hydrogel de PVA dans les veines pulmonaires du simulateur cardiaque et avons évalué leur effet sur le rétablissement du débit cardiaque en condition de régurgitation mitrale.

Par ailleurs, j'ai présenté un poster, en lien avec le **premier article**, au congrès Maurice McGregor Cardiovascular Research Day à l'Université McGill le 29 mai 2025.

J'ai également rédigé deux abstracts relatifs au **premier article** et les deux ont été acceptés pour présentation oral. L'une se tiendra au congrès de la Société de Biomécanique qui aura lieu en octobre 2025 et pour lequel je suis lauréate de la bourse de participation au congrès. La deuxième aura lieu aux Journées Européennes de la Société Française de Cardiologie qui se tiendront en janvier 2026. Enfin, j'ai été coautrice de l'*abstract* associé au **deuxième article**, présenté par Zoubaire Moustaine au congrès du Printemps de la Cardiologie en mai 2025 et lauréat du prix du meilleur poster 2025.

RÉFÉRENCES

- [1] The Top 10 Causes of Death. [En ligne]. Disponible : <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (consulté le 21 juin 2025)
- [2] R. A. Manji *et al.*, "BIOPROSTHETIC HEART VALVES OF THE FUTURE," *Xenotransplantation*, vol. 21, n° 1, p. 1-10, 2014,
- [3] (mars 24, 2022) Heart Valve Diseases - What Are Heart Valve Diseases? | NHLBI, NIH. [En ligne]. Disponible : <https://www.nhlbi.nih.gov/health/heart-valve-diseases> (consulté le 21 juin 2025)
- [4] (mars 24, 2022) Heart Valve Diseases - Treatment | NHLBI, NIH. [En ligne]. Disponible : <https://www.nhlbi.nih.gov/health/heart-valve-diseases/treatment> (consulté le 21 juin 2025)
- [5] Y. Wang *et al.*, "Recent advancements in polymeric heart valves: From basic research to clinical trials," *Materials Today Bio*, vol. 28, p. 101194, oct. 2024,
- [6] M. A. Rezvova *et al.*, "Polymeric Heart Valves Will Displace Mechanical and Tissue Heart Valves: A New Era for the Medical Devices," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, n° 4, p. 3963, févr. 2023,
- [7] S. Shah *et al.*, "The Heart: Anatomy, Physiology and Exercise Physiology," dans *Integrating Cardiology for Nuclear Medicine Physicians: A Guide to Nuclear Medicine Physicians*, A. Movahed, G. Gnanasegaran, J. Buscombe, et M. Hall, édit., Berlin, Heidelberg : Springer, 2009, p. 3-22. [En ligne]. Disponible : https://doi.org/10.1007/978-3-540-78674-0_1
- [8] J. G. Betts *et al.*, "Heart Anatomy," déc. 2022. [En ligne]. Disponible : <https://pressbooks.bccampus.ca/pathology/chapter/heart-anatomy/>
- [9] J. D. Pollock et A. N. Makaryus, "Physiology, Cardiac Cycle," dans *StatPearls*, Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. [En ligne]. Disponible : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459327/>
- [10] L. M. Biga *et al.*, "19.3 Cardiac Cycle," sept. 2019. [En ligne]. Disponible : <https://open.oregonstate.education/aandp/chapter/19-3-cardiac-cycle/>
- [11] J. King et D. R. Lowery, "Physiology, Cardiac Output," dans *StatPearls*, Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. [En ligne]. Disponible : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470455/>
- [12] Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology - ClinicalKey. [En ligne]. Disponible : <https://www.clinicalkey.com/#!/browse/book/3-s2.0-C20170004883>
- [13] M. Ragosta, "Chapter 2 - Normal Waveforms, Artifacts, and Pitfalls," dans *Textbook of Clinical Hemodynamics*, M. Ragosta, édit., Philadelphia : W.B. Saunders, 2008, p. 16-37. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781416040002100027>
- [14] K. M. Kodigepalli *et al.*, "Biology and Biomechanics of the Heart Valve Extracellular Matrix," *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, vol. 7, n° 4, p. 57, déc. 2020,

- [15] The Heart Valves - Tricuspid - Aortic - Mitral - Pulmonary - TeachMeAnatomy. [En ligne]. Disponible : <https://teachmeanatomy.info/thorax/organs/heart/heart-valves/> (consulté le 12 mai 2025)
- [16] T. Pham *et al.*, "Quantification and Comparison of the Mechanical Properties of Four Human Cardiac Valves," *Acta Biomaterialia*, vol. 54, p. 345-355, mai 2017,
- [17] C. M. Otto *et al.*, "Characterization of the Early Lesion of "degenerative" Valvular Aortic Stenosis. Histological and Immunohistochemical Studies". [En ligne]. Disponible : <https://www.ahajournals.org/doi/epdf/10.1161/01.CIR.90.2.844>
- [18] S. Korossis "Structure-Function Relationship of Heart Valves in Health and Disease" | IntechOpen. [En ligne]. Disponible : <https://www.intechopen.com/chapters/61973>
- [19] (févr. 02, 2011) Definition of Extracellular Matrix - NCI Dictionary of Cancer Terms - NCI. [En ligne]. Disponible : <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/extracellular-matrix> (consulté le 15 juillet 2025)
- [20] R. L. Goodwin *et al.*, "Collagen Fibrillogenesis in the Mitral Valve: It's a Matter of Compliance," *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, vol. 8, n° 8, p. 98, août 2021,
- [21] C. C. Yang et Y.-W. Mai, "Thermodynamics at the nanoscale: A new approach to the investigation of unique physicochemical properties of nanomaterials," *Materials Science and Engineering: R: Reports*, vol. 79, p. 1-40, mai 2014,
- [22] A. Balguid *et al.*, "The Role of Collagen Cross-Links in Biomechanical Behavior of Human Aortic Heart Valve Leaflets--Relevance for Tissue Engineering," *Tissue Engineering*, vol. 13, n° 7, p. 1501-1511, juill. 2007,
- [23] S. Arjunon *et al.*, "Aortic Valve: Mechanical Environment and Mechanobiology," *Annals of biomedical engineering*, vol. 41, n° 7, p. 1331-1346, juill. 2013,
- [24] K. J. Grande-Allen *et al.*, "Glycosaminoglycans and proteoglycans in normal mitral valve leaflets and chordae: association with regions of tensile and compressive loading," *Glycobiology*, vol. 14, n° 7, p. 621-633, juill. 2004,
- [25] Z. Shao *et al.*, "Recent Progress in Biomaterials for Heart Valve Replacement: Structure, Function, and Biomimetic Design," *VIEW*, vol. 2, n° 6, p. 20200142, 2021,
- [26] A. Basu, C. Lacerda, et Z. He, "Mechanical Properties and Composition of the Basal Leaflet-Annulus Region of the Tricuspid Valve," *Cardiovascular Engineering and Technology*, vol. 9, n° 2, p. 217-225, juin 2018,
- [27] D. W. Sutherland *et al.*, "Characterization of main pulmonary artery and valve annulus region of piglets using echocardiography, uniaxial tensile testing, and a novel non-destructive technique," *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, vol. 9, p. 884116, août 2022,
- [28] M. Thubrikar *et al.*, "The Elastic Modulus of Canine Aortic Valve Leaflets In Vivo and in Vitro". [En ligne]. Disponible : <https://www.ahajournals.org/doi/epdf/10.1161/01.RES.47.5.792>
- [29] P. Stradins *et al.*, "Comparison of Biomechanical and Structural Properties between Human Aortic and Pulmonary Valve," *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery: Official*

- Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery*, vol. 26, n° 3, p. 634-639, sept. 2004,
- [30] F. J. Schoen et R. J. Levy, "Tissue Heart Valves: Current Challenges and Future Research Perspectives," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 47, n° 4, p. 439-465, 1999,
- [31] S. C. Government Of Canada (mars 05, 2025) Top 10 Leading Causes of Death, Canada, 2023. [En ligne]. Disponible : <https://www150.statcan.gc.ca/n1/daily-quotidien/250305/t001a-eng.htm> (consulté le 21 juin 2025)
- [32] N. L. Bragazzi *et al.*, "Burden of Heart Failure and Underlying Causes in 195 Countries and Territories from 1990 to 2017," *European Journal of Preventive Cardiology*, vol. 28, n° 15, p. 1682-1690, déc. 2021,
- [33] Institut of health economics, Alberta Canada, "Heart Valve Disease in Canada: Recommended Components for a National Strategy," mars 2022.
- [34] (déc. 20, 2022) "Canada Surgical Heart Valves Procedures Count by Segments (Conventional Mitral Valve Procedures and Prosthetic Heart Valve Procedures) and Forecast, 2015-2030." [En ligne]. Disponible : <https://www.globaldata.com/store/report/canada-surgical-heart-valves-procedures-market-analysis/> (consulté le 22 juin 2025)
- [35] (févr. 23, 2024) "Over 290,000 Heart Valve Replacements Per Year in the United States by 2029." [En ligne]. Disponible : <https://idataresearch.com/heart-valve-replacements-per-year-in-the-united-states/> (consulté le 23 juin 2025)
- [36] J. S. Aluru *et al.*, "Valvular Heart Disease Epidemiology," *Medical Sciences*, vol. 10, n° 2, p. 32, juin 2022,
- [37] C. Dass et A. Kanmanthareddy, "Rheumatic Heart Disease," dans *StatPearls*, Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. [En ligne]. Disponible : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538286/>
- [38] L. H. Cohn, V. Tchantchaleishvili, et T. K. Rajab, "Evolution of the concept and practice of mitral valve repair," *Annals of Cardiothoracic Surgery*, vol. 4, n° 4, p. 315-321, juill. 2015,
- [39] S. Douedi et H. Douedi, "Mitral Regurgitation," dans *StatPearls*, Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. [En ligne]. Disponible : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553135/>
- [40] W. A. Zoghbi *et al.*, "Recommendations for Noninvasive Evaluation of Native Valvular Regurgitation: A Report from the American Society of Echocardiography Developed in Collaboration with the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance," *Journal of the American Society of Echocardiography: Official Publication of the American Society of Echocardiography*, vol. 30, n° 4, p. 303-371, avr. 2017,
- [41] D. B. Leviner *et al.*, "Mechanical Valves: Past, Present, and Future—A Review," *Journal of Clinical Medicine*, vol. 13, n° 13, p. 3768, juin 2024,
- [42] D. F. Williams, "On the mechanisms of biocompatibility," *Biomaterials*, vol. 29, n° 20, p. 2941-2953, juill. 2008,
- [43] W. Ageno et M. Donadini, "Breadth of complications of long-term oral anticoagulant care," *Hematology: the American Society of Hematology Education Program*, vol. 2018, n° 1, p. 432-438, nov. 2018,

- [44] A.-S. Zenses *et al.*, "Prosthetic Aortic Valves," *Encyclopedia of Biomedical Engineering*, p.454-466, 2018.
- [45] A. Cribier, "Development of transcatheter aortic valve implantation (TAVI): A 20-year odyssey," *Archives of Cardiovascular Diseases*, vol. 105, n° 3, p. 146-152, mars 2012,
- [46] R. F. Siddiqui, J. R. Abraham, et J. Butany, "Bioprosthetic Heart Valves: Modes of Failure," *Histopathology*, vol. 55, n° 2, p. 135-144, 2009,
- [47] P. Wilczek, "Biocompatibility Issue Of Tissue Engineered Heart Valves," *Archives of Metallurgy and Materials*, vol. 60, sept. 2015.
- [48] F. Bartoli-Leonard et E. Aikawa, "Heart Valve Disease: Challenges and New Opportunities," *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, vol. 7, p. 602271, oct. 2020,
- [49] M. Todesco *et al.*, "Polymeric Heart Valves: Do They Represent a Reliable Alternative to Current Prosthetic Devices?," *Polymers*, vol. 17, n° 5, Art. n° 5, janv. 2025,
- [50] D. Vervoort, M. X. Deng, et J. Kpodonu, "Polymeric Heart Valves," *JACC: Advances*, vol. 4, n° 6, p. 101761, mai 2025,
- [51] S. K. Singh *et al.*, "Polymeric prosthetic heart valves: A review of current technologies and future directions," *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, vol. 10, p. 1137827, mars 2023,
- [52] D. Bezuidenhout, D. F. Williams, et P. Zilla, "Polymeric heart valves for surgical implantation, catheter-based technologies and heart assist devices," *Biomaterials*, vol. 36, p. 6-25, janv. 2015,
- [53] X. Zhang *et al.*, "Application of Hydrogels in Heart Valve Tissue Engineering," *Journal of long-term effects of medical implants*, vol. 25, n° 0, p. 105-134, 2015,
- [54] H. Lim et S. Hoag, "Plasticizer Effects on Physical–Mechanical Properties of Solvent Cast Soluplus® Films," *AAPS PharmSciTech*, vol. 14, mai 2013.
- [55] C. Xiang *et al.*, "Stretchable and fatigue-resistant materials," *Materials Today*, vol. 34, p. 7-16, avr. 2020,
- [56] L. Zeng *et al.*, "Flaw-Insensitive Fatigue Resistance of Chemically Fixed Collagenous Soft Tissues," *Science Advances*, vol. 9, n° 9, p. eade7375, mars 2023,
- [57] H. Wu *et al.*, "A strategy for mechanically integrating robust hydrogel-tissue hybrid to promote the anti-calcification and endothelialization of bioprosthetic heart valve," *Regenerative Biomaterials*, vol. 11, p. rbae003, janv. 2024,
- [58] A. Jafari *et al.*, "Formulation and Evaluation of PVA/Gelatin/Carrageenan Inks for 3D Printing and Development of Tissue-Engineered Heart Valves," *Advanced Functional Materials*, vol. 34, n° 7, p. 2305188, 2024,
- [59] W. Wan *et al.*, "Poly(Vinyl Alcohol) Cryogels for Biomedical Applications," dans *Polymeric Cryogels: Macroporous Gels with Remarkable Properties*, O. Okay, édit., Cham : Springer International Publishing, 2014, p. 283-321. [En ligne]. Disponible : https://doi.org/10.1007/978-3-319-05846-7_8
- [60] N. Alexandre *et al.*, "In Vitro and in Vivo Evaluation of Blood Coagulation Activation of Polyvinyl Alcohol Hydrogel plus Dextran-Based Vascular Grafts," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 103, n° 4, p. 1366-1379, 2015,

- [61] (mar. 14, 2018) D. P. Gaynor, Notification for MonoSol's Use of Polyvinyl Alcohol (PVOH) as a Component in Edible Film "KELLER AND HECKMAN LLP" GRAS notice No. 767. [En ligne]. Disponible : <https://www.fda.gov/food/generally-recognized-safe-gras/gras-notice-inventory> (consulté le 10 juin 2025)
- [62] (sept. 11, 2014) Modification of the Specification on Solubility of Polyvinyl Alcohol (E 1203) | EFSA. [En ligne]. Disponible : <https://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/3820> (consulté le 10 juin 2025)
- [63] X. Liang *et al.*, "Polyvinyl Alcohol (PVA)-Based Hydrogels: Recent Progress in Fabrication, Properties, and Multifunctional Applications," *Polymers*, vol. 16, n° 19, Art. n° 19, janv. 2024,
- [64] H. Adelnia *et al.*, "Freeze/thawed polyvinyl alcohol hydrogels: Present, past and future," *European Polymer Journal*, vol. 164, p. 110974, févr. 2022,
- [65] Y. Chen *et al.*, "Synthesis and properties of Poly(vinyl alcohol) hydrogels with high strength and toughness," *Polymer Testing*, vol. 108, p. 107516, avr. 2022,
- [66] S. Sau, S. Pandit, et S. Kundu, "Crosslinked poly (vinyl alcohol): Structural, optical and mechanical properties," *Surfaces and Interfaces*, vol. 25, p. 101198, août 2021,
- [67] A. Babaie, S. Madadkhani, et B. Stoeber, "Evaporation-driven low Reynolds number vortices in a cavity," *Physics of Fluids*, vol. 26, n° 3, p. 033102, mars 2014,
- [68] E. Nader *et al.*, "Blood Rheology: Key Parameters, Impact on Blood Flow, Role in Sickle Cell Disease and Effects of Exercise," *Frontiers in Physiology*, vol. 10, p. 1329, oct. 2019,
- [69] M. Rizwan *et al.*, "One-Pot Covalent Grafting of Gelatin on Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogel to Enhance Endothelialization and Hemocompatibility for Synthetic Vascular Graft Applications," *ACS applied bio materials*, vol. 3, n° 1, p. 693-703, janv. 2020,
- [70] J. Desbrieres *et al.*, "10 - Chemically Modified Polysaccharides With Applications in Nanomedicine," dans *Biomass as Renewable Raw Material to Obtain Bioproducts of High-Tech Value*, V. Popa et I. Wolf, édit., Elsevier, 2018, p. 351-399. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444637741000107>
- [71] S. Martwiset, A. E. Koh, et W. Chen, "Nonfouling Characteristics of Dextran-Containing Surfaces," *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, vol. 22, n° 19, p. 8192-8196, sept. 2006,
- [72] R. Pawar *et al.*, "1 - Polysaccharides as carriers of bioactive agents for medical applications," dans *Natural-Based Polymers for Biomedical Applications*, R. L. Reis, N. M. Neves, J. F. Mano, M. E. Gomes, A. P. Marques, et H. S. Azevedo, édit., dans Woodhead Publishing Series in Biomaterials. Woodhead Publishing, 2008, p. 3-53. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845692643500019>
- [73] A. R. Petrovici *et al.*, "Dextran-Chitosan Composites: Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties". [En ligne]. Disponible : <https://www.mdpi.com/2073-4360/15/9/1980>
- [74] S. P. Massia, J. Stark, et D. S. Letbetter, "Surface-immobilized dextran limits cell adhesion and spreading," *Biomaterials*, vol. 21, n° 22, p. 2253-2261, nov. 2000,
- [75] M. Morra, "On the molecular basis of fouling resistance," *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, vol. 11, n° 6, p. 547-569, janv. 2000,

- [76] D. Kozak *et al.*, "Protein resistance of dextran and dextran-PEG copolymer films," *Biofouling*, vol. 27, n° 5, p. 497-503, mai 2011,
- [77] E. Osterberg *et al.*, "Protein-Rejecting Ability of Surface-Bound Dextran in End-on and Side-on Configurations: Comparison to PEG," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 29, n° 6, p. 741-747, juin 1995,
- [78] S. Noel *et al.*, "Co-Immobilization of Adhesive Peptides and VEGF within a Dextran-Based Coating for Vascular Applications," *Acta Biomaterialia*, vol. 37, p. 69-82, juin 2016,
- [79] W. E. Hennink *et al.*, "Dextran hydrogels for the controlled release of proteins," *Journal of Controlled Release*, vol. 48, n° 2, p. 107-114, oct. 1997,
- [80] A. R. Petrovici, M. Pinteala, et N. Simionescu, "Dextran Formulations as Effective Delivery Systems of Therapeutic Agents," *Molecules*, vol. 28, n° 3, p. 1086, janv. 2023,
- [81] T. Heinze *et al.*, "Functional Polymers Based on Dextran," dans *Advances in Polymer Science*, 2006, p. 199-291.
- [82] R. Oliverio *et al.*, "Macroporous dextran hydrogels for controlled growth factor capture and delivery using coiled-coil interactions," *Acta Biomaterialia*, vol. 153, p. 190-203, 2022,
- [83] M. G. Cascone *et al.*, "Effect of Chitosan and Dextran on the Properties of Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogels," *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, vol. 10, n° 7, p. 431-435, juill. 1999,
- [84] N. Alexandre *et al.*, "Biocompatibility and Hemocompatibility of Polyvinyl Alcohol Hydrogel Used for Vascular Grafting—In Vitro and in Vivo Studies," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 102, n° 12, p. 4262-4275, 2014,
- [85] N. Alexandre *et al.*, "In Vitro and in Vivo Evaluation of Blood Coagulation Activation of Polyvinyl Alcohol Hydrogel plus Dextran-Based Vascular Grafts," *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, vol. 103, n° 4, p. 1366-1379, 2014,
- [86] N. Alexandre *et al.*, "Long Term Performance Evaluation of Small-Diameter Vascular Grafts Based on Polyvinyl Alcohol Hydrogel and Dextran and MSCs-Based Therapies Using the Ovine Pre-Clinical Animal Model," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 513, n° 1-2, p. 332-346, nov. 2016,
- [87] E. Fathi *et al.*, "Physically crosslinked polyvinyl alcohol–dextran blend xerogels: Morphology and thermal behavior," *Carbohydrate Polymers*, vol. 84, n° 1, p. 145-152, févr. 2011,
- [88] G. Leone *et al.*, "PVA/STMP based hydrogels as potential substitutes of human vitreous | Journal of Materials Science: Materials in Medicine". [En ligne]. Disponible : <https://link.springer.com/article/10.1007/s10856-010-4092-7>
- [89] G. Leone *et al.*, "Poly-vinyl alcohol (PVA) crosslinked by trisodium trimetaphosphate (STMP) and sodium hexametaphosphate (SHMP): Effect of molecular weight, pH and phosphorylating agent on length of spacing arms, crosslinking density and water interaction," *Journal of Molecular Structure*, vol. 1202, p. 127264, févr. 2020,
- [90] N. M. Bates *et al.*, "Evaluation of the Effect of Crosslinking Method of Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogels on Thrombogenicity," *Cardiovascular Engineering and Technology*, vol. 11, n° 4, p. 448-455, août 2020,

- [91] C. Matsushige *et al.*, "RGD-modified dextran hydrogel promotes follicle growth in three-dimensional ovarian tissue culture in mice," *Theriogenology*, vol. 183, févr. 2022.
- [92] S. Jiang, S. Liu, et W. Feng, "PVA hydrogel properties for biomedical application," *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, vol. 4, n° 7, p. 1228-1233, oct. 2011,
- [93] K. Kazimierska-Drobny, M. El Fray, et M. Kaczmarek, "Determination of mechanical and hydraulic properties of PVA hydrogels," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 48, p. 48-54, mars 2015,
- [94] W. K. Wan *et al.*, "Optimizing the Tensile Properties of Polyvinyl Alcohol Hydrogel for the Construction of a Bioprosthetic Heart Valve Stent," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 63, n° 6, p. 854-861, 2002,
- [95] W. Zhu *et al.*, "Mechanical Characteristics of PVA/STMP Hydrogel in Tensile and Unconfined Compression," *Applied Mechanics and Materials*, vol. 157-158, p. 1372-1375, 2012,
- [96] M. Rahmati et M. Mozafari, "Protein adsorption on polymers," *Materials Today Communications*, vol. 17, p. 527-540, déc. 2018,
- [97] Tang L, Eaton JW, "Fibrin(ogen) mediates acute inflammatory responses to biomaterials," *The Journal of Experimental Medicine*, vol. 178, n° 6, p. 2147-2156, déc. 1993,
- [98] D. R. Schmidt, H. Waldeck, et W. J. Kao, "Protein Adsorption to Biomaterials," dans *Biological Interactions on Materials Surfaces: Understanding and Controlling Protein, Cell, and Tissue Responses*, D. A. Puleo et R. Bizios, édit., New York, NY : Springer US, 2009, p. 1-18. [En ligne]. Disponible : https://doi.org/10.1007/978-0-387-98161-1_1
- [99] E. Brisbois, "Novel Nitric Oxide (NO)-Releasing Polymers and their Biomedical Applications..," janv. 2014.
- [100] L. Xue et H. P. Greisler, "CHAPTER 32 - BLOOD VESSELS," dans *Principles of Tissue Engineering (Second Edition)*, R. P. Lanza, R. Langer, et J. Vacanti, édit., dans Tissue Engineering Intelligence Unit. San Diego : Academic Press, 2000, p. 427-446. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124366305500362>
- [101] B. Savage, E. Saldívar, et Z. M. Ruggeri, "Initiation of Platelet Adhesion by Arrest onto Fibrinogen or Translocation on von Willebrand Factor," *Cell*, vol. 84, n° 2, p. 289-297, janv. 1996,
- [102] I. Juhan-Vague et M. Hans, "Du fibrinogène à la fibrine et sa dissolution," *Bulletin de l'Académie Nationale de Médecine*, vol. 187, n° 1, p. 69-84, janv. 2003,
- [103] S. Hasani *et al.*, "3 - Protein adsorption on polymeric surfaces," dans *Handbook of Polymers in Medicine*, M. Mozafari et N. P. Singh Chauhan, édit., dans Woodhead Publishing Series in Biomaterials. Woodhead Publishing, 2023, p. 57-85. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128237977000034>
- [104] T. D. Zaveri *et al.*, "Integrin-Directed Modulation of Macrophage Responses to Biomaterials," *Biomaterials*, vol. 35, n° 11, p. 3504-3515, avr. 2014,
- [105] J. Jin *et al.*, "Effect of Grafted PEG Chain Conformation on Albumin and Lysozyme Adsorption: A Combined Study Using QCM-D and DPI," *Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces*, vol. 136, p. 838-844, déc. 2015,

- [106] W. H. De Jong, J. W. Carraway, et R. E. Geertsma, "6 - In vivo and in vitro testing for the biological safety evaluation of biomaterials and medical devices," dans *Biocompatibility and Performance of Medical Devices (Second Edition)*, J. P. Boutrand, édit., dans Woodhead Publishing Series in Biomaterials. Woodhead Publishing, 2020, p. 123-166. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780081026434000070>
- [107] S. Braune *et al.*, "In Vitro Thrombogenicity Testing of Biomaterials" 2019, Advanced Healthcare Materials, Wiley Online Library. [En ligne]. Disponible : <https://advanced.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/adhm.201900527>
- [108] K. Merritt, C. R. Edwards, et S. A. Brown, "Use of an Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for Quantification of Proteins on the Surface of Materials," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 22, n° 2, p. 99-109, févr. 1988,
- [109] D. Stan *et al.*, "Formulation and Comprehensive Evaluation of Biohybrid Hydrogel Membranes Containing Doxycycline or Silver Nanoparticles," *Pharmaceutics*, vol. 15, n° 12, p. 2696, nov. 2023,
- [110] P. K. Thalla *et al.*, "Chondroitin Sulfate Coatings Display Low Platelet but High Endothelial Cell Adhesive Properties Favorable for Vascular Implants," *Biomacromolecules*, vol. 15, n° 7, p. 2512-2520, juill. 2014,
- [111] M. A. Jamiolkowski *et al.*, "Comparison of Animal and Human Blood for in Vitro Dynamic Thrombogenicity Testing of Biomaterials," *Artificial Organs*, vol. 46, n° 12, p. 2400-2411, 2022,
- [112] Z. Moustaine *et al.*, "Design and Characterization af a Patient-Customizable Polymeric Cardiac Valve Prosthesis for Surgical or Transcatheter Implantation," *Canadian Journal of Cardiology*, vol. 39, n° 10, p. S187, oct. 2023,
- [113] W. Feng et Z. Wang, "Tailoring the Swelling-Shrinkable Behavior of Hydrogels for Biomedical Applications," *Advanced Science*, vol. 10, n° 28, p. 2303326, 2023,
- [114] E. M. Longhin *et al.*, "The alamar blue assay in the context of safety testing of nanomaterials," *Frontiers in Toxicology*, vol. 4, p. 981701, sept. 2022,
- [115] P. K. Thalla *et al.*, "A Versatile Star PEG Grafting Method for the Generation of Nonfouling and Nonthrombogenic Surfaces," *BioMed research international*, vol. 2013, p. 962376, janv. 2013,
- [116] S. K. Jaganathan *et al.*, "Biomaterials in Cardiovascular Research: Applications and Clinical Implications," *BioMed Research International*, vol. 2014, p. 459465, 2014,
- [117] B. Rahmani *et al.*, "In Vitro Hydrodynamic Assessment of a New Transcatheter Heart Valve Concept (the TRISKELE)," *Journal of Cardiovascular Translational Research*, vol. 10, n° 2, p. 104-115, avr. 2017,
- [118] R. Sayeed "Mitral valve disease: when should we call in the cardiac surgeon?" [En ligne]. Disponible : <https://www.escardio.org/Journals/E-Journal-of-Cardiology-Practice/Volume-16/Mitral-valve-disease-when-should-we-call-in-the-cardiac-surgeon#>
- [119] S. Pal *et al.*, "Origin of Rubber Elasticity," dans *Elasticity of Materials*, IntechOpen, 2023. [En ligne]. Disponible : <https://www.intechopen.com/chapters/78734>

- [120] G. M. Bernacca *et al.*, "Hydrodynamic Function of Polyurethane Prosthetic Heart Valves: Influences of Young's Modulus and Leaflet Thickness," *Biomaterials*, vol. 23, n° 1, p. 45-50, janv. 2002,
- [121] R. Zhu *et al.*, Tough double network hydrogels with rapid self-reinforcement and low hysteresis based on highly entangled networks | Nature Communications. [En ligne]. Disponible : <https://www.nature.com/articles/s41467-024-45485-8>
- [122] C. S. Wyss *et al.*, "Cyclic loading of a cellulose/hydrogel composite increases its fracture strength," *Extreme Mechanics Letters*, vol. 24, p. 66-74, oct. 2018,
- [123] M. S. Sacks, W. D. Merryman, et D. E. Schmidt, "ON THE BIOMECHANICS OF HEART VALVE FUNCTION," *Journal of biomechanics*, vol. 42, n° 12, p. 1804-1824, août 2009,
- [124] R. N. Moman, N. Gupta, et M. A. Varacallo, "Physiology, Albumin," dans *StatPearls*, Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. [En ligne]. Disponible : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459198/>
- [125] Y. Ikada *et al.*, "Blood Compatibility of Hydrophilic Polymers," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 15, n° 5, p. 697-718, 1981,
- [126] O. Kuten Pella *et al.*, "Albumin as a Biomaterial and Therapeutic Agent in Regenerative Medicine," *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 23, n° 18, p. 10557, sept. 2022,
- [127] T. P. H. Hutapea *et al.*, "Albumin: Source, preparation, determination, applications, and prospects," *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, vol. 8, n° 2, p. 100549, juin 2023,
- [128] J. Kaur et A. Jain, "Fibrinogen," dans *StatPearls*, Treasure Island (FL) : StatPearls Publishing, 2025. [En ligne]. Disponible : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537184/>
- [129] E. A. Caspary et R. A. Kekwick, "Some physicochemical properties of human fibrinogen," *Biochemical Journal*, vol. 67, n° 1, p. 41-48, sept. 1957,
- [130] J. W. Weisel, "Fibrinogen and Fibrin," dans *Advances in Protein Chemistry*, dans Fibrous Proteins: Coiled-Coils, Collagen and Elastomers, vol. 70. Academic Press, 2005, p. 247-299. [En ligne]. Disponible : <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065323305700085>
- [131] F. Syahbanu *et al.*, "Molecular docking of Subtilisin K2, a fibrin-degrading enzyme from Indonesian moromi, with its substrates," *Food Science and Technology*, vol. 42, févr. 2021.
- [132] M. Farrell et S. Beaudoin, "Surface Forces and Protein Adsorption on Dextran- and Polyethylene Glycol-Modified Polydimethylsiloxane," *Colloids and surfaces. B, Biointerfaces*, vol. 81, n° 2, p. 468-475, déc. 2010,
- [133] X. Chen et T. Taguchi, "Hydrophobically modified poly(vinyl alcohol)s as antithrombogenic coating materials," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 102, p. 289-298, sept. 2019,
- [134] A. C. Duncan, M. V. Sefton, et J. L. Brash, "Effect of C4-, C8- and C18-Alkylation of Poly(Vinyl Alcohol) Hydrogels on the Adsorption of Albumin and Fibrinogen from Buffer and Plasma: Limited Correlation with Platelet Interactions," *Biomaterials*, vol. 18, n° 24, p. 1585-1592, déc. 1997,

- [135] K. Park, F. W. Mao, et H. Park, "The Minimum Surface Fibrinogen Concentration Necessary for Platelet Activation on Dimethyldichlorosilane-Coated Glass," *Journal of Biomedical Materials Research*, vol. 25, n° 3, p. 407-420, mars 1991,
- [136] M. Chen *et al.*, "Anisotropic hydrogels fabricated with directional freezing and radiation-induced polymerization and crosslinking method," *Materials Letters*, vol. 89, p. 104-107, déc. 2012,
- [137] M. Hua *et al.*, "Strong Tough Hydrogels via the Synergy of Freeze-Casting and Salting Out," *Nature*, vol. 590, n° 7847, p. 594-599, févr. 2021,
- [138] W. E. Hennink *et al.*, "Controlled release of proteins from dextran hydrogels," *Journal of Controlled Release*, vol. 39, n° 1, p. 47-55, mars 1996,
- [139] R. J. H. Stenekes, H. Talsma, et W. E. Hennink, "Formation of dextran hydrogels by crystallization," *Biomaterials*, vol. 22, n° 13, p. 1891-1898, juill. 2001,
- [140] V. Wintgens *et al.*, "Cyclodextrin/Dextran Based Hydrogels Prepared by Cross-Linking with Sodium Trimetaphosphate," *Carbohydrate Polymers*, vol. 132, p. 80-88, nov. 2015,
- [141] N. Riahi *et al.*, "Impact of RGD Amount in Dextran-Based Hydrogels for Cell Delivery," *Carbohydrate Polymers*, vol. 161, p. 219-227, avr. 2017,
- [142] M. Zuluaga *et al.*, "PVA/Dextran Hydrogel Patches as Delivery System of Antioxidant Astaxanthin: A Cardiovascular Approach," *Biomedical Materials (Bristol, England)*, vol. 13, n° 1, p. 015020, déc. 2017,
- [143] C. Zheng *et al.*, "Effective wound dressing based on Poly (vinyl alcohol)/Dextran-aldehyde composite hydrogel," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 132, p. 1098-1105, juill. 2019,
- [144] M. Mostafavi Esfahani, N. Koupaei, et S. A. Hassanzadeh-Tabrizi, "Synthesis and Characterization of Polyvinyl Alcohol/Dextran/Zataria Wound Dressing with Superior Antibacterial and Antioxidant Properties," *Journal of Vinyl and Additive Technology*, vol. 29, n° 2, p. 380-394, 2023,
- [145] G. Phulgare *et al.*, "Fucoidan loaded PVA/Dextran blend electrospun nanofibers for the effective wound healing," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 650, p. 123722, janv. 2024,

ANNEXE A MÉTHODES DE FORMULATION D'HYDROGELS DE PVA ET/OU DEXTRANE

Tableau 7.1 Méthodes de formulation d'hydrogels de PVA et/ou dextrane répertoriées dans la littérature.

Objectif de l'étude	Ratio	Taille des chaînes	Méthode de préparation de l'hydrogel	Auteurs et année de l'étude
	PVA:Dextrane	(Da)		
Produire des hydrogels de dextrane pour la libération contrôlée de protéines	Uniquement du detxran	Dex : 40,000	50 g Dextrane dans 500 ml de DMSO + ajout de 10g DMAP et 21,4 ml de GMA. Agitation lente à température ambiante. Après 24 h, 100 ml d'eau ajoutés + pH ajusté à 7 avec HCl. Dialysé puis lyophilisé et stocké à 20 °C	Hennink et al., 1997 [138]
Évaluer les effets du chitosane et du dextrane sur les propriétés des hydrogels de PVA	100 :11 100:25 100:43 100:67	Pva : 85,000 – 146,000 Dex : 78,000	10g de PVA dissous dans 100ml et autoclave 1h à 120°C Ajout de solutions de Dex ou chitosane ([PVA] finale à 2.5%) 8 cycles de FT (1 ^{er} cycle 12h à -20 °C puis 30 min à RT puis les autres 1h à -20°c et 30 min a RT)	Cascone et al., 1999 [83]

Tableau A.1 (suite)

Objectif de l'étude	Ratio PVA:Dextrane	Taille des chaînes (Da)	Méthode de préparation de l'hydrogel	Auteurs et année de l'étude
Décrire une méthode pour la préparation d'hydrogels de dextrane	Uniquement du detxran (20,30,40,50 et 60 % w/w)	Dex : 6000	Ajout de dextrane et d'eau et vortex 2 min, rotation 15 min Repos des solutions à RT jusqu'à observation de gels trouble (a différents temps ajout d'eau 15 ml pour stopper le système), si gel formé le gel se désagrège et mélangé à l'eau Récupération du matériel non dissous par centrifugeuse	Stenekes et al., 2001 [139]
Évaluer la morphologie et le comportement thermiques de gels de PVA/Dex	100 :0 100:11 100:25 100:43	PVA : 72,000 - 40,000 Dex : --	Dissolution de 20g de PVA dans 100ml (20% W/v) puis ajout de Dex 2h à l'autoclave à 120°C sous 1.5 bar. Refroidit à température pièce puis 20h à -20 et 4h à 25°C (4 cycles). Lyophilisation	Fathi et al., 2011 [87]

Tableau A.1 (suite)

Objectif de l'étude	Ratio PVA:Dextrane	Taille des chaînes (Da)	Méthode de préparation de l'hydrogel	Auteurs et année de l'étude
Évaluer in vitro et in vivo de la coagulation sanguine à la suite de greffes vasculaires de PVA/Dex	100 :11 :0	PVA : -- Dex : 64,000-76,000	Mélange d'une solution de PVA (20% w/v) et une solution de Dex (1% w/v), 30min d'ultrasons pour retirer les bulles puis 3 cycles gel/dégel Immersion des gels dans du NaOH 2h30 à 37°C puis rinçage	Alexandre et al., 2014 [84]
Produire des hydrogels à base de cyclodextrine/dextrane avec réticulation avec du STMP	Pas de PVA, dextrane et STMP	Dex : 60,000–90,000 da	1g de Dextrane /βcyclodextrine dissous dans 2ml d'une solution NaOH (à 1 ou 2,5M) puis ajout de STMP pdt agitation (0,1; 0,2 et 0,4 g), Moulage et placement au four 45 min à 60°C puis gels immersés dans de l'eau (10 rinçages) puis lyophilisation	Wintgens et al., 2015 [140]

Tableau A.1 (suite)

Objectif de l'étude	Ratio PVA:Dextrane	Taille des chaînes (Da)	Méthode de préparation de l'hydrogel	Auteurs et année de l'étude
Etudier l'impact de la quantité de RGD dans les hydrogels à base de dextrane pour l'adhésion et la prolifération cellulaire	Pas de PVA, dextrane et STMP	Dex : 500,000	Dextrane dans 3 ml d'une solution aqueuse pour atteindre une concentration finale de 22 % (w/v). Puis ajout (STMP) (rapport final 33 %) Puis ajout de 300 µL de NaOH 10 M puis 15 min à 50 °C. Lavage avec du tampon phosphate salin de 100 mM (PBS, pH 7,4)	Riahi et al., 2017 [141]
Produire des patchs cardiaques en hydrogel PVA/Dex qui délivrent des antioxydants localement	100 :33	PVA 47,000 - 145,000 Dex : --	Dissolution de 1.5g de PVA dans 8ml d'eau puis agitation mécanique 2h à 70°C puis autoclave 20 min à 121°C Ajout de 0.5g de Dex dans la solution de PVA et agitation 30 min à 70°C	Zuluaga et al., 2017 [142]

Tableau A.1 (suite)

Objectif de l'étude	Ratio PVA:Dextrane	Taille des chaînes (Da)	Méthode de préparation de l'hydrogel	Auteurs et année de l'étude
Développer un pansement à base d'hydrogel PVA/Dex-aldehyde	100 :100 100 :50 100 :33 100 :25	PVA : -- Dex : 70,000 Da	Poudre de PVA immergée 12h dans de l'eau puis agitation à 90°C pendant 2h Ajout de solution de Dex-a et agitation 5 cycles de FT (6h à -20 et 6h à 25)	Zheng et al., 2019 [143]
Analyser l'effet du processus de réticulation sur la cristallinité, propriétés optiques et mécaniques des hydrogels produits	Uniquement du PVA	PVA : 60,000	PVA 10% wt dissous dans l'eau à 90°C pdt 3h et agitation magnétique Gel coulé dans des boites pour former des films et les films sont séchés la nuit et temp pièce Traitement thermique : 30 min à 120, 140,...200°C ou 20,30,40 ,...80 min à 140°C	Sau et al., 2021 [66]

Tableau A.1 (suite)

Objectif de l'étude	Ratio PVA:Dextrane	Taille des chaînes (Da)	Méthode de préparation de l'hydrogel	Auteurs et année de l'étude
Produire des hydrogels de PVA avec résistance et rigidité augmentées grâce à une double réticulation	Uniquement du PVA	PVA : 47,000; 145,000; 205,000	Agitation mécanique de PVA dissous dans de l'eau à 95°C pendant 3h, refroidissement puis ajout de d'acide hydrochlorique et glutaraldehydes et moulage. Réalisation traitements thermiques de recuit	Chen et al., 2022 [65]
Synthétiser et caractériser des pensements d'hydrogels PVA/Dex/huile de Zataria	100 : 25	PVA : 146,000-186,000 Dex : 70,000	Dissolution de 0.8g de PVA et de 0.2g de Dex dans 20 mL d'eau Le mélange à était agité à 80°C pendant 3h Puis ajout de glycerol et agitation 30 min	Esfahani et al., 2023 [144]
			Ajustement du pH avec Hcl. Ajout crosslinker Glutaraldehyde et mélange à 80°C pdt 2h30. Ajout de ZMO et agitation. Conservation à 60°C pdt 5h	

Tableau A.1 (suite)

Objectif de l'étude	Ratio PVA:Dextrane	Taille des chaînes (Da)	Méthode de préparation de l'hydrogel	Auteurs et année de l'étude
Evaluer l'effet de la concentration de fucoïdane sur les caractéristiques des nanofibres de PVA/Dex et leur capacité à soigner les blessures in vitro et in vivo	100 :11	PVA : 60,000 - 125,000 Dex : --	Préparation de 10% w/v PVA dans l'eau et agitation 3h à 80°C Préparation d'une solution de 10% w/v de Dex et mélange au vortex Mélange des deux solutions pendant 24h	Phulmogare et al., 2024 [145]

ANNEXE B PROPRIÉTÉS MÉCANIQUES DES HYDROGELS

Tableau 7. Contrainte maximale, Elongation maximale et module de Young dans la zone de 30 à 50% de déformation.

Code de l'échantillon	Contrainte max (MPa)	Élongation max (%)	Module de Young (kPa)
P/D ₀ /S ₀	1.4±0.4	257.8±35.3	322±46
P/D ₁ /S ₀	1.8±0.2	272.6±29.2	404±74
P/D ₅ /S ₀	1.1±0.2	225.1±24.7	356±50
P/D ₁₀ /S ₀	1.5±0.3	246.3±31.5	394±50
P/D ₂₀ /S ₀	1.4±0.1	225.3±11.0	522±25
P/D ₁₀ /S ₁₃	0.8±0.1	168.2±18.1	528±33
P/D ₀ /S ₁₃	1.2±0.1	331.0±26.8	354±27

Tableau B.2 Contrainte à 40% de déformation pour chaque condition aux cycles 1, 10, 100 et 1000.

Code de l'échantillon	Contrainte (MPa)			
	Cycle 1	Cycle 10	Cycle 100	Cycle 1000
P/D ₀ /S ₀	0.093±0.008	0.090±0.007	0.087±0.007	0.074±0.007
P/D ₁ /S ₀	0.077±0.006	0.074±0.005	0.071±0.005	0.061±0.005
P/D ₅ /S ₀	0.104±0.006	0.100±0.006	0.096±0.006	0.087±0.005
P/D ₁₀ /S ₀	0.114±0.003	0.110±0.003	0.106±0.002	0.095±0.001
P/D ₂₀ /S ₀	0.132±0.022	0.125±0.020	0.118±0.018	0.098±0.021
P/D ₁₀ /S ₁₃	0.186±0.014	0.173±0.012	0.160±0.009	0.136±0.008
P/D ₀ /S ₁₃	0.136±0.001	0.130±0.010	0.123±0.008	0.110±0.006

Tableau B.3 Modules de Young dans la zone de déformation 30-40% pour chaque condition et pour les cycles 1, 10, 100 et 1000.

Code de l'échantillon	Module de Young (kPa)			
	Cycle 1	Cycle 10	Cycle 100	Cycle 1000
P/D ₀ /S ₀	312±25	336±36	327±34	311±35
P/D ₁ /S ₀	251±15	289±23	278±22	264±21
P/D ₅ /S ₀	354±26	396±26	380±24	362±21
P/D ₁₀ /S ₀	393±11	430±17	415±17	395±14
P/D ₂₀ /S ₀	473±70	510±92	493±80	455±73
P/D ₁₀ /S ₁₃	536±24	697±78	664±72	607±52
P/D ₀ /S ₁₃	428±57	482±54	464±50	436±43

ANNEXE C DONNÉES DE FLUORESCENCES RELATIVES À L'ADSORPTION DE L'ALBUMINE

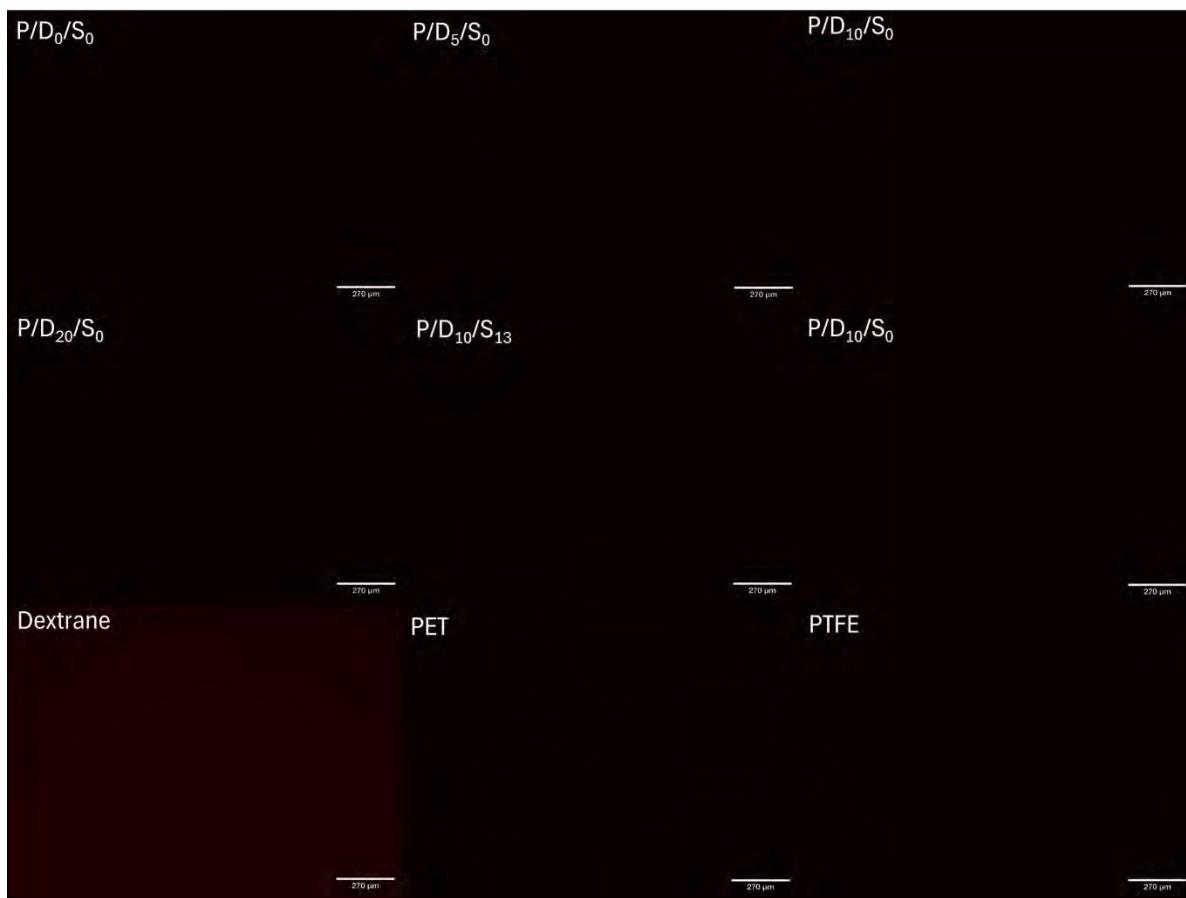


Figure C.1 Photo des échantillons incubés dans du PBS montrant leur faible niveau d'auto-fluorescence à 596 nm.

Tableau C.1 Fluorescence de l'albumine Texas Red (0.2 mg/ml) adsorbée à la surface de chaque matériau (n=6). L'arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d'incubation d'albumine (0.2mg/ml).

Code de l'échantillon	Fluorescence moyenne (%)	Écart-type standard (%)
P/D ₀ /S ₀	34	5
P/D ₅ /S ₀	29	2
P/D ₁₀ /S ₀	29	4
P/D ₂₀ /S ₀	28	3
P/D ₁₀ /S ₁₃	20	5
P/D ₀ /S ₁₃	17	3
Dextrane	9	3
PTFE	7	7
PET	18	3

**ANNEXE D DONNÉES DE FLUORESCENCES RELATIVES À
L'ADSORPTION DU FIBRINOGÈNE**

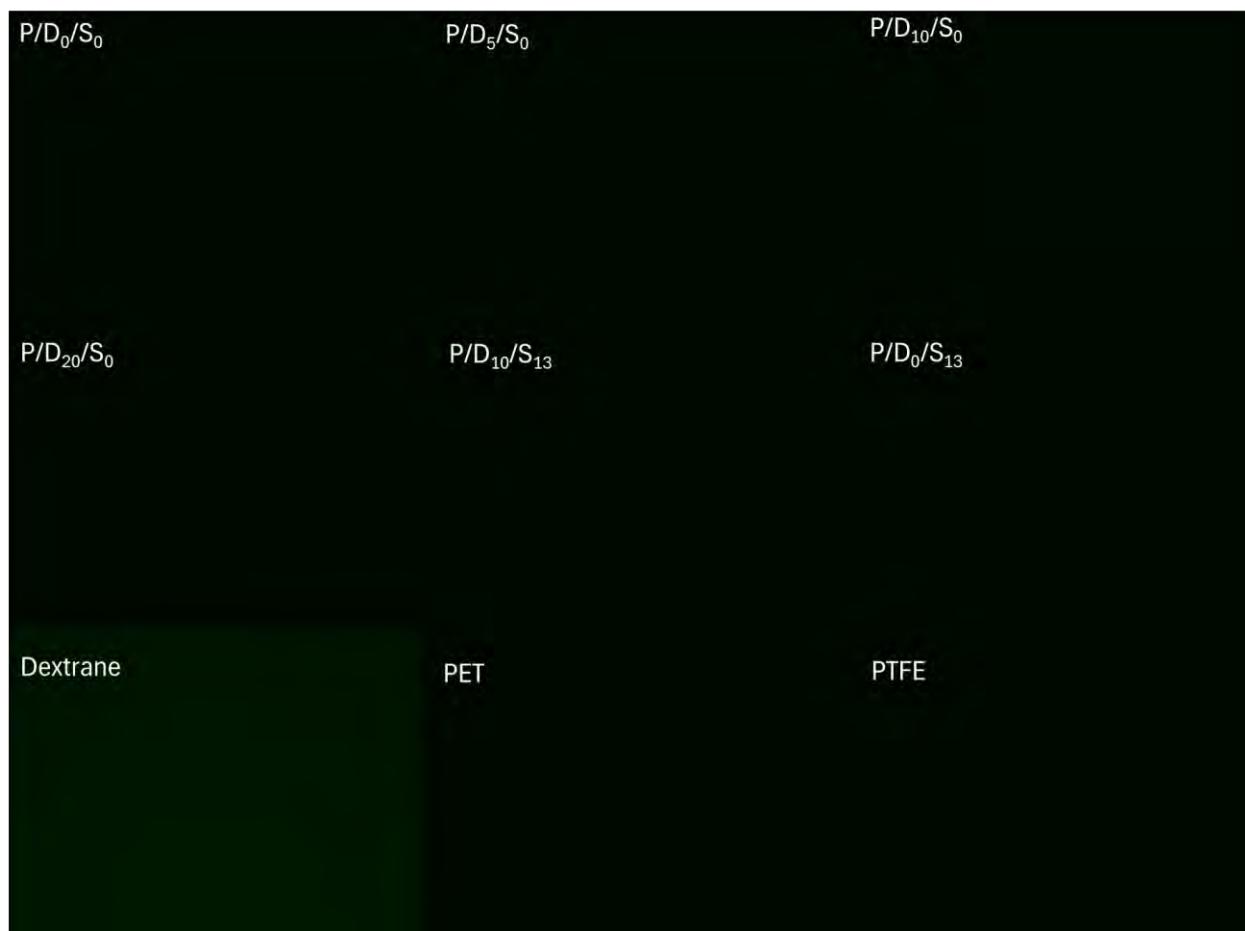


Figure D.1 Photo des échantillons incubés dans du PBS montrant leur faible niveau d'auto-fluorescence à 495 nm.

Tableau D.1 Fluorescence du fibrinogène (1.5 mg/ml) adsorbée à la surface de chaque matériau (n=6). L’arrière-plan a été soustrait pour chaque surface. Une fluorescence de 100% correspond à la fluorescence de la solution d’incubation du fibrinogène (1.5 mg/ml).

Code de l'échantillon	Fluorescence moyenne (%)	Écart-type standard (%)
P/D ₀ /S ₀	10	2
P/D ₅ /S ₀	8	4
P/D ₁₀ /S ₀	8	1
P/D ₂₀ /S ₀	7	1
P/D ₁₀ /S ₁₃	9	2
P/D ₀ /S ₁₃	9	1
Dextrane	1	1
PTFE	2	1
PET	3	1