

Conception et évaluation *in vivo* de prothèses vasculaires
compliantes de petit diamètre par électrofilage avec
revêtement bioactif

par

Mélusine BOUCHET

THÈSE PAR ARTICLES PRÉSENTÉE À L'ÉCOLE DE TECHNOLOGIE
SUPÉRIEURE COMME EXIGENCE PARTIELLE À L'OBTENTION DU
DOCTORAT EN GÉNIE
Ph. D.

MONTRÉAL, LE 20 FÉVRIER 2020

ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE
UNIVERSITÉ DU QUÉBEC



Mélusine Bouchet, 2020



Cette licence [Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/) signifie qu'il est permis de diffuser, d'imprimer ou de sauvegarder sur un autre support une partie ou la totalité de cette œuvre à condition de mentionner l'auteur, que ces utilisations soient faites à des fins non commerciales et que le contenu de l'œuvre n'ait pas été modifié.

PRÉSENTATION DU JURY

CETTE THÈSE A ÉTÉ ÉVALUÉE

PAR UN JURY COMPOSÉ DE :

Mme Sophie Lerouge, directrice de thèse
Département de Génie Mécanique à l'École de technologie supérieure

M. Abdellah Ajji, codirecteur de thèse
Département de Génie Chimique à l'École Polytechnique de Montréal

M. Rachid Aissaoui, président du jury
Département de Génie des Systèmes à l'École de technologie supérieure

Mme Nicole R. Demarquette, membre du jury
Département de Génie Mécanique à l'École de technologie supérieure

Mme Patricia Dolez, examinatrice externe indépendante
Department of Human Ecology, University of Alberta

ELLE A FAIT L'OBJET D'UNE SOUTENANCE DEVANT JURY ET PUBLIC

LE 13 JANVIER 2020

À L'ÉCOLE DE TECHNOLOGIE SUPÉRIEURE

REMERCIEMENTS

Il est souvent évoqué que le doctorat est un parcours long (voire très long) et une aventure semée d'embûches. Arriver à son terme est l'atteinte d'un objectif initial, dont le rappel est important à chaque moment d'hésitation, et qui nécessite l'implication de nombreuses personnes que j'aimerais mettre en avant dans ces remerciements.

Je tiens tout particulièrement à remercier mes directeurs de recherche, Sophie Lerouge et Abdellah Ajji, qui m'ont encadrée tout au long de ce projet, pour leur disponibilité et patience quant aux difficultés techniques et personnelles liées à cette étape de ma vie. Leurs appuis scientifiques et conseils judicieux ont contribué à alimenter la réflexion dans ce projet et en améliorer la rigueur et précision. Je les remercie pour leur soutien et encouragements dans la poursuite de cette thèse. Merci à eux de m'avoir offert l'opportunité de travailler sur ce projet dans leurs laboratoires, et m'avoir supportée avec du financement sans lequel cette thèse n'aurait pu être réalisée.

Je remercie également les membres du jury, Nicole Demarquette, Patricia Dolez et Rachid Aissaoui, d'avoir accepté d'évaluer ma thèse, ainsi que pour leurs conseils et critiques constructives.

Merci aux chercheurs, personnels de recherche et étudiants au Centre de Recherche du CHUM, à l'École Polytechnique de Montréal et à l'École de technologie supérieure pour leur collaboration sur les différents aspects du projet et leurs expertises.

Un grand merci à tous les membres des laboratoires que j'ai intégrés à Polytechnique et au CRCHUM, en incluant le LBeV et le LIO. Je vous remercie toutes et tous pour votre bonne humeur jour après jour et avoir su enrichir mon doctorat au niveau scientifique et personnel.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude envers ma famille, qui m'a toujours soutenue et accompagnée, quels que soit mes rêves et mes ambitions.

Devenue experte en galères administratives et diplômée en poisson de niveau 1000, j'ai pu acquérir la conviction que l'aboutissement d'une thèse pouvait être beaucoup plus mérité pour certains que pour d'autres. Cette expérience a permis de façonner jour après jour la femme que je suis aujourd'hui. De nombreuses personnes ont marqué mon parcours, parfois sans le savoir. Et je tiens à souligner tous ces beaux moments et amitiés ces dernières années dans la poursuite ou l'achèvement de cette thèse.

Grand merci à tous ceux qui ont accompagné de près ou de loin mes péripéties, académiques et personnelles, particulièrement : ma petite princesse Choupette, ma colocataire pour son soutien incommensurable, mon cousin du Nord avec nos sorties de famille, M. Saperlipopette et sa créativité débordante, l'élite du CA qui restera toujours la best, la moumouche mallorcaise, cette ostéopathe bien trop occupée, les MTL Chixx qui ne se voient jamais assez, mon parrain aux tendances lapinesques, celui qui m'embarque dans des *advinhture times*, la Fam Squad, le groupe des plans pourris qui ne s'améliorera jamais, les enfants terribles, la team café du LBeV et Miss Potins, tous ceux que j'ai côtoyés au travers de mes expériences d'implication à l'AÉÉTS, la Fraternité du Piranha et la team Événements qui a fait les meilleurs events, les Irish avec un passage éclair dans le monde du rugby, le Vieux Saint-Hubert pour accueillir Clever Girl dans ses performances de TNT. Merci à la cavalerie, toujours là quand on en a besoin ! Je remercie aussi mes bras de toujours avoir été à mes côtés et mes jambes pour m'avoir toujours soutenue.

Et surtout, je n'oublie pas mes sœurs de la sororité Zeta Lambda Zeta : merci à toutes pour votre soutien sans faille et vos encouragements !

Je réserve mes derniers mots pour celui qui m'accompagne dans cette dernière ligne droite et me soutient jour après jour pour donner le meilleur de moi-même. Je n'aurais jamais pu rêver de meilleur partenaire avant de t'avoir rencontré.

Merci à vous toutes et tous,

Mélusine

Conception et évaluation *in vivo* de prothèses vasculaires compliantes de petit diamètre par électrofilage avec revêtement bioactif

Mélusine BOUCHET

RÉSUMÉ

Dans le traitement des maladies cardiovasculaires, l'utilisation des prothèses synthétiques est actuellement limitée par d'importantes complications cliniques, particulièrement pour le remplacement des vaisseaux de petit diamètre (< 6 mm). La faible compliance des implants et leurs propriétés de surface inadéquates sont à l'origine du manque d'endothélialisation et des processus biologiques entraînant un taux d'occlusion des conduits inacceptable.

L'hypothèse à la base de ce projet est que la combinaison d'une structure tubulaire compliant avec une couche interne non thrombogène ayant la capacité de stimuler la formation d'une monocouche de cellules endothéliales aurait le potentiel d'améliorer les résultats cliniques. Dans ce contexte, la technique d'électrofilage a été sélectionnée car elle permet de fabriquer des structures fibreuses modulables dans le but de reproduire la morphologie de la matrice extracellulaire des vaisseaux natifs et d'en imiter les propriétés mécaniques. De plus, un revêtement bioactif composé d'un dépôt plasma riche en amines primaires (L-PPE:N) sur lequel est greffé du sulfate de chondroïtine (CS) a démontré un potentiel de réduction de l'adsorption de protéines impliquées dans la formation d'un thrombus, tout en favorisant l'endothélialisation des surfaces. Cette thèse propose ainsi d'élaborer une nouvelle génération de prothèses vasculaires afin d'améliorer la perméabilité des conduits *in vivo*, tout d'abord par la conception de structures tubulaires électrofilées compliantes, puis leur évaluation *in vivo* dans un modèle ovin suite à leur combinaison avec un revêtement bioactif.

En raison du manque de directives dans les pratiques de conception des implants vasculaires, nous avons tout d'abord employé un modèle analytique pour sélectionner un matériau pouvant obtenir une compliance et une pression à la rupture semblables à des artères natives de petit diamètre (0,0725 %/mmHg et 2031 mmHg, respectivement). Afin d'établir une preuve de concept, nous avons démontré qu'une structure électrofilée en polyuréthane (PU) et polycaprolactone (PCL) était plus compliant qu'un implant commercial en polytétrafluoroéthylène expansé (ePTFE). Avec la sélection d'une épaisseur de 145 µm, il a alors été possible de construire une prothèse vasculaire de petit diamètre avec un bon équilibre entre les importantes propriétés suivantes : la compliance, la pression à la rupture, l'étanchéité au sang et la maniabilité.

Suite au transfert du revêtement bioactif à base de L-PPE:N et CS sur les implants électrofilés en PU/PCL, des expérimentations animales ont démontré leur infériorité par rapport à des implants en ePTFE, avec l'observation de sténoses et occlusions au sein de nos conduits. Les causes de ces échecs concernent, d'une part, des altérations structurelles pariétales pour les implants électrofilés thrombosés, et d'autre part, la thrombogénicité de la surface luminale des prothèses potentiellement engendrée par un mauvais greffage de la CS.

VIII

Le bénéfice de la compliance de nos conduits n'a ainsi pas pu être vérifié. Des recommandations ont été proposées pour chacune des hypothèses d'échec à une visée d'améliorations de travaux futurs.

À cet effet, un essai de pelage a été adapté afin de caractériser la force d'adhésion à leur interface pour optimiser la cohésion entre deux matrices électrofilées, et différents paramètres de fabrication ont été explorés. Les travaux ont notamment mis ici en évidence l'augmentation de la force d'adhésion avec le diamètre des fibres entre deux matrices électrofilées. Ces résultats permettent d'apporter des éléments de réflexion dans l'optimisation des implants, et de viser le développement de prothèses multicouches.

Les travaux menés ont permis de développer un nouvel implant électrofilé en PU/PCL, établi selon une démarche de conception simple et raisonnée qu'est le modèle analytique, et ayant de meilleures propriétés mécaniques que des implants commerciaux en ePTFE. Malgré les résultats insatisfaisants de l'étude animale sur ces conduits avec revêtement bioactif, ces travaux constituent une avancée des connaissances sur la combinaison de ces types de matériau et molécule active dans un modèle de grand animal. L'étude exploratoire sur la force d'adhésion permet également l'avancement de la compréhension des propriétés d'adhésion entre des matrices électrofilées. Le potentiel de la technique d'électrofilage est ainsi mis en valeur dans ce projet et ouvre la voie au développement d'une nouvelle génération de prothèses vasculaires de petit diamètre.

Mots-clés : prothèse vasculaire, électrofilage, compliance, revêtement bioactif, adhésion

Design and in vivo evaluation of compliant small-diameter vascular prosthesis by electrospinning with bioactive coating

Mélusine BOUCHET

ABSTRACT

For the treatment of cardiovascular diseases, the use of synthetic prostheses is currently limited due to severe clinical complications, particularly for the replacement of small diameter vessels (< 6 mm). The low compliance of the implants and their inadequate surface properties are the causes of the lack of endothelialisation and biological processes leading to an unacceptable rate of occlusion for the conduits.

The underlying premise of this project is that the combination of a compliant tubular structure with a non-thrombogenic inner layer with the ability to promote the formation of an endothelial cell monolayer would have the potential to improve clinical outcomes. In this context, the electrospinning technique has been selected because it allows the production of modulable fibrous structures in order to reproduce the morphology of the extracellular matrix from the native vessels and to mimic their mechanical properties. Besides, a bioactive coating, made of a primary amine-rich plasma polymerized layer (L-PPE:N) on which is grafted chondroitin sulfate (CS), has demonstrated a potential for reducing the adsorption of proteins involved in thrombus formation, while promoting the endothelialisation of surfaces. This thesis proposes then to develop a new generation of vascular prostheses in order to improve the in vivo patency of implants, by the design of compliant electrospun tubular materials, and their in vivo evaluation in a sheep model following their combination with a bioactive coating.

Due to the lack of guidelines in vascular implant design practices, we first used an analytical model to select a material that could achieve a similar compliance and burst pressure than small diameter native arteries (0.0725 %/mmHg and 2031 mmHg, respectively). In order to establish the proof of concept, we demonstrated that an electrospun polyurethane (PU) and polycaprolactone (PCL) structure was more compliant than a commercial expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) implant. With the selection of a 145 µm-thickness it was then possible to build a small diameter vascular prosthesis with an adequate balance between the following important properties: compliance, burst pressure, blood permeability and handling ability.

Following the transfer of the bioactive coating based on L-PPE:N and CS on the electrospun PU/PCL implants, animal experiments have demonstrated their inferiority compared to ePTFE implants, with the observation of stenoses and occlusions within our conduits. The causes of these failures concern, on one hand, structural parietal alterations for thrombosed electrospun implants, and on the other hand, the thrombogenicity of the luminal surface of the prostheses potentially caused by poor grafting of CS. The benefit of the compliance of our conduits could not be verified. Recommendations have been proposed for each of the hypotheses of failure to target future work improvements.

For this purpose, a peel test was adapted to characterize the adhesion force at their interface to optimize the cohesion between two electrospun mats, and different parameters were explored. In particular, this work highlighted the increase of the adhesive strength between two electrospun mats with their fiber diameter. These results bring fruitful insights for the optimization of the implants and the development of multilayer prostheses.

This project led to the development of a new electrospun PU/PCL implant, according to a simple design approach that is the analytical model, and with better mechanical properties than ePTFE commercial implants. Despite the unsatisfactory results of the animal study on these conduits with bioactive coating, this work establishes an advance of knowledge on the combination of these types of materials and active molecules in a large animal model. The exploratory study on adhesive strength also advances the understanding of adhesion properties between electrospun matrices. The potential of the electrospinning technique is thus highlighted in this project and paves the way for the development of a new generation of small diameter vascular prostheses.

Keywords: vascular prosthesis, electrospinning, compliance, bioactive coating, adhesion

TABLE DES MATIÈRES

	Page
INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 REVUE DE LITTÉRATURE.....	5
1.1 Contexte clinique	5
1.1.1 Structure et pathologies artérielles.....	5
1.1.1.1 Structure d'une artère saine	5
1.1.1.2 Affections vasculaires	7
1.1.2 Stratégies de traitement.....	9
1.1.3 Prothèses vasculaires synthétiques	11
1.1.4 Perméabilité des conduits implantés	12
1.1.5 Causes d'échec des prothèses vasculaires.....	15
1.1.5.1 Thrombose	15
1.1.5.2 Hyperplasie néointimale	17
1.1.5.3 Défi des prothèses de petit diamètre	18
1.2 Cahier des charges d'une prothèse vasculaire	19
1.2.1 Considérations mécaniques et physiques.....	21
1.2.1.1 Comportement mécanique de la paroi artérielle	21
1.2.1.2 Compliance	22
1.2.1.3 Pression à la rupture.....	26
1.2.1.4 Étanchéité à l'implantation	27
1.2.2 Éviter la thrombose	28
1.2.2.1 Mécanismes d'endothélialisation <i>in vivo</i>	29
1.2.2.2 Stratégies d'endothélialisation	30
1.2.2.3 Considérations architecturales	34
1.3 Stratégies de conception d'une prothèse vasculaire idéale	36
1.3.1 Prothèses en polyuréthane.....	37
1.3.2 Analyse des travaux sur les implants vasculaires	37
1.3.3 Travaux majeurs en étude clinique	39
1.3.3.1 Approches en génie tissulaire	39
1.3.3.2 Matrices électrofilées	42
1.3.4 Électrofilage de prothèses vasculaires	43
1.3.4.1 Avantages de l'électrofilage	43
1.3.4.2 Type de matériau.....	44
1.3.4.3 Prothèses multicouches.....	46
1.3.5 Facteurs influençant la conception et la sélection du matériau.....	48
1.4 Fabrication de fibres par électrofilage	50
1.4.1 Principe	51
1.4.2 Paramètres de fabrication.....	52
1.4.2.1 Diamètre des fibres électrofilées.....	54
1.4.2.2 Morphologie des structures.....	58
1.5 Stratégies à la base du projet.....	60

CHAPITRE 2	HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE.....	63
2.1	Cadre du projet.....	63
2.2	Objectifs et hypothèses spécifiques	64
2.2.1	Premier objectif.....	64
2.2.2	Second objectif.....	65
2.2.3	Troisième objectif.....	66
CHAPITRE 3	TOWARDS COMPLIANT SMALL-DIAMETER VASCULAR GRAFTS: PREDICTIVE ANALYTICAL MODEL AND EXPERIMENT.....	67
3.1	Mise en contexte	67
3.2	Abstract.....	68
3.3	Introduction.....	69
3.4	Materials and Methods.....	71
3.4.1	Analytical model.....	71
3.4.2	Fabrication of tubular scaffolds	73
3.4.2.1	Materials	73
3.4.2.2	Electrospinning	73
3.4.3	Materials characterization.....	74
3.4.3.1	Scaffolds morphology.....	74
3.4.3.2	Samples dimensions.....	75
3.4.3.3	Tensile tests.....	75
3.4.4	Vascular grafts characterization.....	75
3.4.4.1	Compliance	76
3.4.4.2	Water permeability.....	77
3.4.4.3	Burst pressure.....	77
3.5	Results.....	78
3.5.1	Calculations from the analytical model	78
3.5.2	Materials characterization.....	79
3.5.2.1	Morphology.....	79
3.5.2.2	Tensile properties.....	81
3.5.3	Vascular grafts characterization.....	82
3.5.3.1	Compliance	82
3.5.3.2	Burst pressure.....	85
3.5.3.3	Permeability	85
3.6	Discussion.....	86
3.7	Conclusion	90
CHAPITRE 4	DESIGN AND IN VIVO TESTING OF A COMPLIANT AND BIOACTIVE ELECTROSPUN POLYURETHANE VASCULAR PROSTHESIS	91
4.1	Mise en contexte	91
4.2	Abstract.....	92
4.3	Introduction.....	93

4.4	Materials and Methods.....	95
4.4.1	Grafts production	95
4.4.1.1	Materials	95
4.4.1.2	Electrospinning	96
4.4.1.3	Bioactive coating (Plasma-polymerization and Chondroitin-Sulfate Coating).....	96
4.4.1.4	Grafts preparation for in vivo tests	97
4.4.2	In vitro characterization	97
4.4.2.1	Composition, morphology and permeability	97
4.4.2.2	Mechanical characterization	98
4.4.2.3	Ageing.....	99
4.4.3	In vivo implantation.....	99
4.4.3.1	Study design.....	99
4.4.3.2	Animal selection and care.....	99
4.4.3.3	Surgical protocol.....	100
4.4.3.4	Ultrasonographic follow-up	101
4.4.3.5	Animal sacrifice and graft analyses	102
4.4.3.6	Study termination.....	102
4.4.4	Statistical analysis.....	102
4.5	Results.....	103
4.5.1	In vitro characterization	103
4.5.2	In vivo operative outcomes and animal management.....	107
4.5.3	Ultrasonographic baseline and follow-up data	107
4.5.4	Macroscopic analyses and histological examinations.....	108
4.6	Discussion.....	112
4.7	Conclusion	116
CHAPITRE 5	DETERMINATION OF THE ADHESION BETWEEN ELECTROSPUN MATS THROUGH PEEL TESTS	117
5.1	Mise en contexte	117
5.2	Abstract.....	118
5.3	Introduction.....	119
5.4	Materials and Methods.....	120
5.4.1	Materials and specimen fabrication	120
5.4.2	Scaffold morphology and dimensions	121
5.4.3	Peel test	122
5.4.4	Differential scanning calorimetry	123
5.4.5	Statistical analysis.....	123
5.5	Results.....	124
5.5.1	Mats characterization.....	124
5.5.2	Adhesive strength.....	125
5.6	Discussion.....	127
5.7	Conclusion	131

CHAPITRE 6	DISCUSSION GÉNÉRALE	133
6.1	Conception d'une structure tubulaire compliant par électrofilage.....	134
6.2	Vérification de l'implantabilité de la prothèse développée	140
6.3	Implantation <i>in vivo</i> : évaluation de la perméabilité et de l'endothélialisation de la prothèse avec revêtement bioactif.....	141
6.4	Cohésion des structures électrofilées	153
6.5	Contributions originales du projet	157
6.6	Perspectives d'avenir des prothèses électrofilées	158
CONCLUSION.....		163
ANNEXE I	PROTHÈSES VASCULAIRES ÉLECTROFILÉES DANS LA LITTÉRATURE	167
ANNEXE II	ÉTUDE PRÉLIMINAIRE DES TYPES DE STÉRILISATION DES PROTHÈSES ÉLECTROFILÉES	169
ANNEXE III	RETOURNEMENT DE LA PROTHÈSE ÉLECTROFILÉE	171
ANNEXE IV	ÉTUDE DU GREFFAGE CS SUR PU/PCL.....	173
LISTE DE RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....		183

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 1.1	Substituts vasculaires utilisés selon le type de vaisseau14
Tableau 1.2	Propriétés idéales d'une prothèse vasculaire20
Tableau 1.3	Différentes formules pour calculer la compliance23
Tableau 1.4	Effet des principaux paramètres de l'électrofilage sur le diamètre et la morphologie des fibres générées.....53
Table 3.1	Process conditions used to produce electrospun tubular scaffolds74
Table 3.2	Compliance values for commercial ePTFE prosthesis and electrospun PU/PCL VG. Comparison between the experimental results and theoretical values obtained from the analytical model calculation.84
Table 4.1	In vivo follow-up results. Time in vivo: time from implantation to animal sacrifice.108
Table 5.1	Process conditions used to produce electrospun bilayer scaffolds121
Table 5.2	Characteristics of PCL electrospun scaffolds124

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 1.1	Structure de la paroi d'une artère musculaire.....6
Figure 1.2	Stades progressifs de l'athérosclérose et leurs traitements.....9
Figure 1.3	Prothèses vasculaires commerciales en (A) PET tissé ou (B) tricoté ou en (C) ePTFE. En haut : images macroscopiques des implants. En bas : Images au MEB de la surface luminale des prothèses.12
Figure 1.4	Taux de succès (perméabilité) des veines saphènes et des prothèses ePTFE après pontage de vaisseaux de petit diamètre (pontage coronaire CABG et pontages fémoraux).....13
Figure 1.5	Schématisation et aspect histologique de l'hyperplasie néointimale (NH) au niveau d'une anastomose après (A) 14 jours et (B) 28 jours d'implantation d'une prothèse ePTFE (<i>graft</i>) dans un modèle porcin (coloration à l'hématoxyline et éosine, x5).....18
Figure 1.6	Courbes typiques de (A) contrainte-déformation et (B) pression-diamètre d'une paroi artérielle avec (C) le rôle de leurs composants (élastine et collagène)22
Figure 1.7	Représentation graphique de la compliance de l'aorte lors de la systole et la diastole23
Figure 1.8	Comparaison entre une artère et une prothèse synthétique (ePTFE) de l'évolution de (A) la pression en fonction du diamètre et (B) la compliance en fonction de la pression24
Figure 1.9	Compliance en fonction du taux de perméabilité (<i>patency</i>) pour divers substituts vasculaires.....25
Figure 1.10	Schématisation des trois mécanismes possibles d'endothélialisation de prothèses. De gauche à droite : endothélialisation transmurale, endothélialisation par les cellules circulantes, endothélialisation transanastomotique.29
Figure 1.11	Images transversales au MEB de prothèses poreuses fabriquées par (a-c) électrofilage ou (d-f) séparation de phases.....35

Figure 1.12	Caractérisation structurelle d'une prothèse tricouche. (A) Photographie de la prothèse et représentation des trois couches. (B-E) Images MEB (B) en coupe transversale, de (C) la mince couche externe en nanofibres de PCL/PLA alignées circonférentiellement, (D) la couche intermédiaire épaisse en nanofibres aléatoires de PU/PCL, (E) la mince couche interne de nanofibres aléatoires de PCL/PCL. Aucune valeur de compliance ou des essais <i>in vivo</i> n'ont été rapportés pour ces prothèses.	47
Figure 1.13	Schématisation du procédé d'électrofilage. (A) Instrumentation nécessaire pour la fabrication de fibres électrofilées. (B) Formation du cône de Taylor.....	51
Figure 1.14	Effet du débit, de la concentration de la solution et du voltage sur la morphologie des fibres électrofilées	53
Figure 1.15	Représentation des régimes de solution. Avec R , le rayon de giration d'une chaîne de polymère ; C , la concentration de la solution ; C^* , la concentration critique de recouvrement (les chaînes commencent à se toucher) ; C_e , la concentration critique d'enchevêtrements (les chaînes s'enchevêtrent).	55
Figure 1.16	Représentation graphique du nombre d'enchevêtrements en solution en fonction de la concentration pour une solution de polystyrène.....	56
Figure 1.17	Effets de l'augmentation du voltage sur le diamètre des fibres électrofilées. Les symboles \nearrow et \searrow signifient respectivement « augmente » et « diminue ».	57
Figure 1.18	Représentation schématique de la densité de fibres déposées pour (A) un procédé d'électrofilage classique et (B) avec l'emploi d'une électrode conductrice en forme d'anneau, placée devant le collecteur	59
Figure 1.19	Images au MEB de fibres électrofilées de morphologie (A) aléatoire ou (B) alignée (magnification x5k).....	60
Figure 3.1	Schematic illustration of stresses involved in the model calculation. σ_C , σ_R and σ_L represents respectively the circumferential stress, the radial stress and the longitudinal stress inside the cylinder with a fixed length and a uniformly applied internal pressure. The wall thickness t represents the difference between the external radius R_e and the internal radius R_i	72
Figure 3.2	Setup for VG compliance testing on the ElectroForce® 3200	76

Figure 3.3	(A) Lower limit of the ratio of tensile ultimate strength to elastic modulus (σ_{ult}/E) according to the ratio of the internal radius to wall thickness (R_i/t) to reach both compliance and burst pressure target values, respectively 0.0725 %/mmHg and 2031 mmHg. The Poisson's ratio was fixed as 0.3. Curves for VG with diameters of 3 to 6 mm are superposed. (B) Impact of Poisson's ratio value on the ratio of tensile strength to elastic modulus (σ_{ult}/E).78
Figure 3.4	Morphology of vascular prostheses: commercial ePTFE VG (left side, A-C) and electrospun PU/PCL tubular scaffold (right side, D-F). Digital images of respective VG (A, D). SEM images of (B) outer layer of the ePTFE VG, (C) inside layer of the ePTFE VG (scale bar: 200 μ m), (E) electrospun PU/PCL nanofiber scaffolds (scale bar: 20 μ m). (F) Distribution of PU/PCL fiber diameters according to ImageJ analyses.80
Figure 3.5	Mechanical properties of PU/PCL electrospun tubular scaffolds and ePTFE commercial prosthesis, from tensile testing in (A, B) circumferential and (C, D) longitudinal directions. (A, C) Representative stress-strain curves. (B, D) Tensile properties: Young's modulus (E) from the initial stress-strain curve region and tensile strength (σ_{ult}), with value of the calculated ratio σ_{ult}/E . For the longitudinal direction, only the elastic modulus was calculated.....81
Figure 3.6	Comparison of VG analytical and experimental compliance, as a function of wall thickness. (A) At the 80-120 mmHg pressure range. The fragmented line represents the compliance target value for small-diameter arteries (0.0725 %/mmHg). Experimental compliance values for PU/PCL prostheses are plotted (diamond). Their mean modulus ($E = 3.9$ MPa) was used to calculate the theoretical compliance for PU/PCL (plain curve). The colored area from either side corresponds to the minimum and maximum modulus of the tested prostheses. Similarly, the square and the dotted line, surrounded by the blue area, are respectively the experimental result ($t = 454 \pm 4$ μ m; $E = 17.4 \pm 1.8$ MPa) and the analytical curve ($E = 17.4$ MPa) for ePTFE grafts. (B) Relative differences between experimental and analytical compliance data for PU/PCL VG ($n = 6$) at each pressure range tested (in mmHg).84

Figure 3.7	Impact of wall thickness on (A) burst pressure and (B) water permeability, for electrospun PU/PCL tubular scaffolds. Each dot represents a distinct VG. The dotted line corresponds to (A) the target value for the burst pressure for small-diameter arteries (2031 mmHg (L'Heureux et al., 2006)), (B) the upper limit of water permeability considered for blood-impermeable VG (23.4 mL.cm ⁻² .min ⁻¹ (de Valence et al., 2012)). The theoretical value for burst pressure as a function of VG thickness is depicted by the dark line (A).86
Figure 4.1	Graphical abstract93
Figure 4.2	In vivo implantation of eVG-CS and ePTFE grafts as bilateral carotid bypass.....101
Figure 4.3	(A) Digital image of the graft. (B) SEM image of the nanofiber mat from eVG nanofiber mat (scale bar: 10 µm). (C) Distributions of fiber diameters for coated grafts. There was no difference between bare and coated materials.....103
Figure 4.4	Mechanical properties of eVG and eVG-CS grafts. (A) Representative engineering stress-strain curves from circumferential tensile testing. (B) Mean elastic modulus and tensile strength (n = 13). Statistical difference noticed * (p < 0.05).....104
Figure 4.5	Comparison of (A) the elastic modulus and the tensile strength of the eVG scaffolds as a function of ageing duration in a saline solution at 37°C over 6 months, and (B) ATR-FTIR spectra of pure PU, pure PCL and eVG scaffolds after production and after 6-month ageing. Functional groups of -CH ₂ (stretching) and carbonyl keton -C=O (stretching) were detected in the ranges of 2850-3000 and 1670-1750 cm ⁻¹ for all spectra. The hydroxyl -O-H (stretching) and -N-H (stretching) from PU were identified to the broadened peak in the range 3200-3400 cm ⁻¹ and were also detected in the PU/PCL spectrum. No difference was observed between fresh and aged PU/PCL samples.106
Figure 4.6	Macroscopic analysis. Typical macroscopic appearance of (A, B) eVG-CS grafts after 8 weeks <i>in vivo</i> , (C, D) ePTFE prostheses after 5 weeks <i>in vivo</i> , showing more tissue adhesion around ePTFE grafts.109
Figure 4.7	ePTFE graft after 8 weeks implantation shows well attached neointima at anastomosis sites but not throughout the length of the implant.110
Figure 4.8	PU/PCL grafts after several weeks of implantation.....111

Figure 5.1	Images histologiques de prothèses vasculaires électrofilées explantées après 8 semaines <i>in vivo</i> . (A) Prothèse monocouche PU/PCL présentant des altérations structurales (échelle : 400 μ m). (B) Prothèse bicouche en PCL-héparine/PU-collagène avec une délamination entre les couches, issue d'une étude canine (grossissement initial x400).	118
Figure 5.2	Representation of the T-peel test configuration.....	123
Figure 5.3	SEM images of the morphology of different PCL layers (scale bar: 20 μ m). (A) PCL1, (B) PCL2, and (C) PCL3.	124
Figure 5.4	(A,B) SEM images of the morphology of PCL1 and PCL2 mats after heat treatment (scale bar: 30 μ m). (A) PCL1HT and (B) PCL2HT. (C) DSC thermograms of bulk and electrospun PCL.	125
Figure 5.5	Representative load-extension curves obtained from T-peel tests using PCL bilayer systems. (B) Adhesive strength of bilayer electrospun PCL scaffolds (mean \pm SD, $n \geq 6$). On the left side, bilayer systems with 2 similar mats, i.e. twice PCL1, PCL2 or PCL3. The tiled bars represent the adhesive strength after heat treatment of PCL1 or PCL2 bilayer mats, called PCL1HT and PCL2HT, respectively. On the right side, tested bilayer systems with 2 different materials, i.e. PCL1 with PCL2 (3.6 versus 0.5 μ m fiber diameter) and PCL1 with PCL3 (TFE vs chloroform/ethanol as solvent). Significant differences are represented as follow: * from PCL1/PCL1, • from PCL1HT, # from PCL2/PCL2 ($p < 0.0001$).	126
Figure 5.6	SEM images of PCL1 mats after a peel test showing defects on microfibers representing pieces of residual fibers from the other microfiber mat of the bilayer system. Scale bars: (A) 20 μ m and (B) 10 μ m.....	127
Figure 6.1	Schéma récapitulatif des principaux facteurs pouvant mener à l'échec d'une prothèse vasculaire	152

LISTE DES ABRÉVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

ANOVA	Analyse de la variance
ANSI	<i>American National Standard Institute</i>
ASTM	<i>American Society for Testing and Materials</i>
ATR-FTIR	Mode de réflectance totale atténuée pour FTIR (<i>Attenuated Total Reflectance</i>)
AVC	Accident vasculaire cérébral
CE	Cellules endothéliales
CHUM	Centre hospitalier de l'Université de Montréal
CML	Cellules musculaires lisses
CRCHUM	Centre de recherche du CHUM
CS	Sulfate de chondroïtine
DMF	N,N-diméthylformamide
EDC	N-(3-diméthylaminopropyl)-N'-éthylcarbodiimide hydrochloride
EC	Cellules endothéliales (<i>endothelial cells</i>)
EGF	Facteur de croissance de l'épiderme
ePTFE	Polytétrafluoroéthylène expansé
EPC	Cellules endothéliales progénitrices
EtOH	Éthanol
ÉTS	École de technologie supérieure
eVG	Prothèse vasculaire électrofilée (<i>electrospun vascular graft</i>)
eVG-CS	Prothèse vasculaire électrofilée avec revêtement bioactif (<i>electrospun bioactive vascular grafts</i>)
FDA	<i>US Food and drug administration</i>

FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (<i>Fourier Transform InfraRed spectroscopy</i>)
HFIP	Hexafluoroisopropanol
HPS	Hématoxyline, phloxine, safran
LBeV	Laboratoire de biomatériaux endovasculaires
L-PPE:N	Polyéthylène polymérisé par plasma basse pression riche en azote (<i>low-pressure plasma polymerized ethylene doped in nitrogen</i>)
MEB	Microscope électronique à balayage
MEC	Matrice extracellulaire
MES	Acide 2-(N-morpholino)ethanesulfonique
NO	Oxyde nitrique
NHS	N-hydroxysuccinimide
PCL	Polycaprolactone
PEG	Polyéthylène glycol
PEO	Poly(oxyde d'éthylène)
PET	Polyéthylène téréphtalate
PEUU	Polyéther-uréthane-urée
PGA	Acide polyglycolique
PLA	Acide poly-L-lactique
PLCL	Poly(lactide-co-caprolactone)
PTFE	Polytétrafluoroéthylène
PVC	Polychlorure de vinyle
PU	Polyuréthane
RH	Humidité relative

rTE	Tropoélastine recombinante humaine (<i>recombinant human tropoelastin</i>)
SEM	Microscope électronique à balayage (<i>Scanning Electron Microscopy</i>)
TFE	2,2,2-trifluoroéthanol
THF	Tétrahydrofurane
VEGF	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
VG	Prothèse vasculaire (<i>vascular graft</i>)
XPS	Spectroscopie à rayons X (<i>X-Ray Photoelectron Spectroscopy</i>)

LISTE DES SYMBOLES ET UNITÉS DE MESURE

SYMBOLES

A	Surface de perméation
C	Compliance
d	Diamètre de fibre
d_p	Diamètre de pore moyen
E	Module de Young
F	Force de pelage
G	Force d'adhésion (<i>adhesive strength</i>)
P	Pression interne
P_w	Perméabilité à l'eau
Q	Débit de la solution
R_e	Rayon externe
R_i	Rayon interne
t	Épaisseur
w	Largeur de l'échantillon
γ_{sv}	Énergie d'interface solide-vapeur
ε	Porosité
ν	Coefficient de poisson
ρ	Densité du polymère
σ_{ult}	Contrainte ultime

UNITÉS DE MESURE

°C	degré Celsius	MHz	mégahertz
μm	micromètre	min	minute
μm ²	micromètre carré	mL	millilitre
cm	centimètre	mm	millimètre
cm ²	centimètre carré	mM	millimolaire
cm/s	centimètre par seconde	mmHg	millimètre de mercure
g	gramme	MPa	mégapascal
G	gauge	m/s	mètre par seconde
GPa	gigapascal	N	newton
h	heure	Pa	pascal
kg	kilogramme	r/min	tour par minute
kg/m ³	kilogramme par mètre cube	sccm	centimètre cube par minute, cm ³ /min
kV	kilovolt	W	watt
mg	milligramme		

INTRODUCTION

De nos jours, les maladies cardiovasculaires représentent un problème de santé publique majeur en étant la première cause de décès dans le monde (World Health Organization, 2019). Ce fort taux de mortalité est majoritairement dû à l'athérosclérose, une maladie entraînant le rétrécissement de la cavité des artères, couramment appelé une sténose (Toussaint, 2003). Ce processus peut mener à une occlusion partielle ou totale des artères, pouvant engendrer de graves conséquences, particulièrement en ce qui concerne les vaisseaux de petit diamètre au niveau du cœur et des membres périphériques.

Lorsque les procédures endovasculaires ne sont pas réalisables ou réussies, des pontages vasculaires sont nécessaires afin de revasculariser efficacement les organes. Cette technique consiste à rediriger le flux sanguin en contournant la sténose, généralement avec un vaisseau autologue (Byrne, Stone, Ormiston, & Kastrati, 2017). Or, ces vaisseaux ne sont pas toujours disponibles, sains ou de tailles adéquates chez les patients (Kottke-Marchant & Larsen, 2006). Ainsi, des prothèses vasculaires synthétiques ont été développées pour répondre à cette demande vitale.

Les implants actuels, le plus souvent en polyéthylène téréphtalate (PET) et polytétrafluoroéthylène expansé (ePTFE), présentent une efficacité limitée selon la taille du vaisseau à remplacer. Les échecs sont dus au développement d'une nouvelle sténose au sein des conduits greffés, les risques d'occlusions étant amplifiés pour les prothèses de petit diamètre (diamètre < 6 mm) (Chlupác, Filová, & Bacáková, 2009). Ces complications sont le résultat combiné de deux processus biologiques, la thrombose et l'hyperplasie néointimale, déclenchés par la thrombogénicité de la surface des implants et leur manque d'endothélialisation, ainsi que leur incompatibilité mécanique avec les sections d'artère sur lesquels les implants sont greffés (van Lith & Ameer, 2011). Il est essentiel de pallier ces caractéristiques afin de contrer la progression de ces deux processus aux résultats néfastes. C'est ainsi qu'une prothèse biomimétique, aux propriétés mécaniques et de surface similaires aux artères natives, permettrait de réduire les complications cliniques observées. Bien qu'il

s'agisse de l'objectif de nombreuses recherches et malgré de nombreuses avancées technologiques durant les dernières décennies, ce type de solution n'existe actuellement pas sur le marché. Améliorer l'efficacité des traitements des implants de petit diamètre reste ainsi au cœur des préoccupations afin de limiter les récidives coûteuses et risquées.

Parmi les méthodes de fabrication couramment employées en recherche pour des applications biomédicales, l'électrofilage est utilisé pour son potentiel à produire des structures en nanofibres et microfibres comportant des propriétés mécaniques et morphologiques imitant celles de la matrice extracellulaire des tissus natifs (Rocco, Maxfield, Best, Dean, & Breuer, 2014). Afin de surmonter les problèmes observés avec les prothèses commerciales, cette technique peut être employée pour sa capacité à ajuster la morphologie des fibres et optimiser les propriétés mécaniques résultantes.

L'association de ces textiles électrofilés avec des modifications de surface ouvre la voie à une nouvelle génération de prothèses plus performantes. Des molécules actives (telles que le sulfate de chondroïtine, CS) pourraient alors se retrouver à la surface des biomatériaux implantés afin de mettre en œuvre leurs propriétés antithrombotiques et leur capacité à favoriser l'endothélialisation (Thalla et al., 2014), et ainsi d'éviter l'occlusion des conduits.

L'objectif général de cette thèse est alors de développer une nouvelle prothèse compliant de petit diamètre par électrofilage et de la combiner avec un revêtement bioactif, dans le but de réduire les complications cliniques entraînant l'échec des implants *in vivo*.

Pour la réalisation de ce projet de doctorat multidisciplinaire, des outils en génie mécanique et génie chimique ont été employés pour cette application biomédicale au sein du laboratoire de biomatériaux endovasculaires du Pr. Lerouge et du laboratoire d'électrofilage du Pr. Ajji.

Le CHAPITRE 1 de cette thèse comporte une revue de la littérature, détaillant en premier lieu la problématique des implants de petit diamètre. Un cahier des charges pour le développement d'une prothèse vasculaire sera établi avec des considérations d'ordres mécaniques et biologiques. Un état des recherches actuelles sur les implants et les différentes pratiques de conception sera également exposé. Avant de pouvoir l'appliquer dans le projet, des précisions

sur la technique d'électrofilage seront de plus apportées avec l'impact de ses paramètres de fabrication sur la topologie des fibres résultantes. Suite à l'état de l'art, les stratégies à la base du projet seront établies et le CHAPITRE 2 développera les objectifs et hypothèses explorées dans ce projet.

Les trois chapitres suivants dévoileront les articles rédigés au courant de ce doctorat, avec les méthodes employées pour répondre à chacun des objectifs spécifiques et les résultats correspondants obtenus.

Le premier article (CHAPITRE 3) applique un modèle analytique conçu antérieurement pour créer des structures tubulaires compliantes par électrofilage et évalue leur capacité en tant que prothèses vasculaires par rapport à un implant commercial en ePTFE. Par la suite, ces implants sont combinés avec un revêtement bioactif, leur caractérisation mécanique et évaluation *in vivo* sont présentées dans le deuxième article (CHAPITRE 4). Pour finir, le troisième article (CHAPITRE 5) est une ouverture sur les possibilités offertes par l'électrofilage pour améliorer la cohésion des structures électrofilées, au travers de l'introduction d'une technique simple de caractérisation.

La discussion générale au CHAPITRE 6 permettra de revenir sur les démarches adoptées et résultats obtenus avec des recommandations pour des travaux futurs, et se poursuit par une conclusion générale.

CHAPITRE 1

REVUE DE LITTÉRATURE

1.1 Contexte clinique

L'appareil cardiovasculaire est vital pour le fonctionnement du corps humain. Il comprend le cœur et les vaisseaux sanguins qui servent respectivement de pompe et de conduits, transportant l'oxygène, le dioxyde de carbone et les nutriments vers diverses parties du corps. Un certain nombre de facteurs, notamment l'âge, le stress, les habitudes alimentaires, le tabagisme et la consommation d'alcool, contribuent aux troubles associés à ce système : ce sont les maladies cardiovasculaires (Toussaint, 2003; World Health Organization, 2019). Elles représentent la principale cause de décès dans le monde d'aujourd'hui avec un estimé de 17,9 millions de personnes décédées en 2016, ce qui constitue 31 % de la mortalité mondiale (World Health Organization, 2019). Ces maladies sont le résultat d'altérations au niveau des parois des vaisseaux sanguins tel que décrit ci-après.

1.1.1 Structure et pathologies artérielles

1.1.1.1 Structure d'une artère saine

La structure commune à toutes les artères saines natives comprend trois couches cylindriques distinctes, illustrées sur la Figure 1.1 : l'intima, la media et l'adventice, disposées de façon concentrique depuis la lumière du vaisseau, soit son espace intérieur creux, vers sa périphérie.

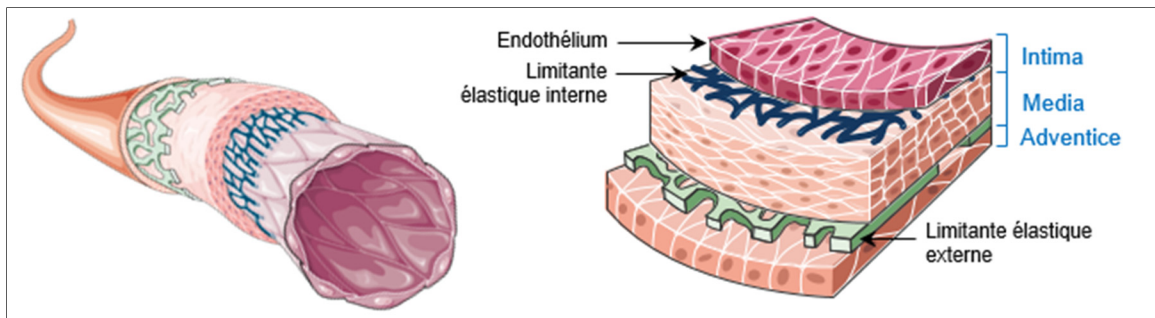


Figure 1.1 Structure de la paroi d'une artère musculaire
Tirée de Servier Medical Art (2019)

▪ L'intima

L'intima se compose d'une monocouche confluyente de cellules endothéliales (CE) – l'endothélium – en contact direct avec le sang, et reposant sur une membrane basale. Elle est délimitée par une couche de fibres élastiques, la limitante élastique interne.

L'endothélium tient les rôles de membrane semi-perméable en autorisant les échanges de substances nutritives et de barrière physique séparant le sang en circulation des composants tissulaires thrombogènes¹ de la paroi vasculaire (Kierszenbaum, 2006; Toussaint, 2003). Les CE saines exercent leur activité antithrombotique en régulant la coagulation, l'adhésion et l'activation des plaquettes, et la fibrinolyse². Les CE sécrètent diverses substances inhibitrices à cet effet : des anticoagulants (antithrombine, thrombomoduline), des agents fibrinolytiques (activateur tissulaire du plasminogène), ainsi que des inhibiteurs de l'agrégation plaquettaire, comme la prostacycline PGI_2 et l'oxyde nitrique NO (Li & Henry, 2011; Pearson, 1999).

▪ La media

La media est constituée d'un réseau complexe de cellules musculaires lisses (CML), orientées dans la direction circonférentielle, et de matrice extracellulaire (MEC, notamment élastine et collagène). Elle est organisée en un nombre variable de couches concentriques délimitées par des lames élastiques fenêtrées. Elle est également délimitée dans sa partie externe par une

¹ Thrombogène : qui provoque une thrombose, soit la formation d'un caillot sanguin.

² Fibrinolyse : processus physiologique de dissolution de la fibrine, un composant des caillots sanguins.

couche de tissu élastique, la limitante élastique externe. La media contrôle la vasomotricité via la fonction contractile des CML et a donc pour rôle de maintenir la pression artérielle et une circulation sanguine continue (Kierszenbaum, 2006; Toussaint, 2003).

▪ L'adventice

L'adventice se compose essentiellement de tissu conjonctif. Elle a pour fonctions de protéger et renforcer le vaisseau, ainsi que de l'ancrer à son environnement structural. Cette couche est traversée de *vasa vasorum*, des micro-vaisseaux permettant l'irrigation de la paroi artérielle (Kierszenbaum, 2006; Toussaint, 2003).

L'épaisseur et la constitution de ces différentes couches peuvent varier selon la nature et le calibre des artères. En effet, celles-ci sont classifiées en tant que artères élastiques (trunks artériels partant du cœur, diamètre (\emptyset) luminal : 10-20 mm), artères musculaires (artères de petit et moyen calibre comme les coronaires, \emptyset luminal : 1-10 mm) et les artérioles (\emptyset luminal < 300 μ m). Leurs différences géométriques et de composition impactent leurs propriétés mécaniques.

1.1.1.2 Affections vasculaires

L'athérosclérose est la cause dominante de la majorité des maladies cardiovasculaires, auxquelles sont sujettes les artères. Cette pathologie est définie comme un remaniement de l'intima accompagné de modifications de la media. Ceci s'opère par la formation de plaques d'athérome, correspondant à une accumulation d'éléments biologiques, tels que des lipides, du sang, du tissu fibreux et des dépôts calcaires, et pouvant se solidifier au fil des années. Ces dépôts augmentent l'épaisseur de l'intima et entraînent un rétrécissement de la lumière des artères, appelé sténose (Toussaint, 2003). Le passage de la circulation sanguine est alors obstrué et se traduit par une diminution du débit et de l'apport en oxygène aux tissus.

Ultimement, cela peut mener à une ischémie³ des tissus causée par l'obstruction complète d'une artère, soit par la formation d'un thrombus, ou caillot sanguin, au niveau des plaques d'athérome, soit par la rupture de la plaque et sa migration en aval dans l'arbre artériel.

Les conséquences peuvent être particulièrement graves. Au niveau du cœur, l'occlusion d'une artère coronaire entraîne un infarctus du myocarde, communément appelé crise cardiaque, et se révèle mortel dans 10 % des cas. Dans le cas de l'occlusion d'une artère cérébrale, engendrée par le détachement d'une plaque carotidienne ayant migré dans le cerveau, cela va causer un accident vasculaire cérébral (AVC) ischémique. Concernant les autres vaisseaux dits périphériques, les maladies artérielles sont généralement associées aux membres inférieurs. Les patients atteints d'artériopathie oblitérante des membres inférieurs, dont les lésions sont localisées pour 70 % aux niveaux fémoro-poplitée et tibial (Tondreau, 2015), peuvent développer une claudication intermittente pouvant progresser vers des ulcères de la jambe et une gangrène dans le cas d'ischémie critique (Andreassian et al., 1994; Norgren et al., 2007). Dans ce dernier cas, environ 25 % des patients vont nécessiter une amputation (Conte & Vale, 2018).

À l'échelle mondiale, 85 % des décès liés aux maladies cardiovasculaires ont été provoqués en 2016 par une crise cardiaque ou un AVC (World Health Organization, 2019). Particulièrement aux États-Unis, les maladies cardiovasculaires ont représenté en 2014 environ 4,8 millions d'hospitalisations, attribuées pour 21 % aux maladies coronariennes, 19 % aux AVC et 2 % aux maladies artérielles périphériques (en chiffres, respectivement : 1 021 000, 880 000 et 115 000). Des coûts considérables de 351,2 milliards de dollars sont afférés au traitement de ces maladies. Par exemple, cela représente des coûts moyens de 168 500 \$ associés à chaque chirurgie de revascularisation coronarienne, dont 371 000 ont été réalisées en 2014 (Benjamin et al., 2019). Améliorer la qualité et l'efficacité des traitements actuels reste ainsi au cœur des préoccupations afin de limiter les récidives coûteuses et risquées.

³ Ischémie : Arrêt ou insuffisance de la circulation sanguine à un organe, privant les cellules d'apport en oxygène et entraînant leur nécrose.

1.1.2 Stratégies de traitement

Dans le traitement des sténoses artérielles, plusieurs techniques sont disponibles afin de rétablir le flux sanguin vers les tissus lorsque la médication n'est pas suffisante. Le choix du traitement s'effectue selon le stade d'évolution et la gravité de la pathologie (Figure 1.2). Différentes approches existent : les techniques curatives endovasculaires (angioplastie, stent) et les techniques réparatrices de pontage.

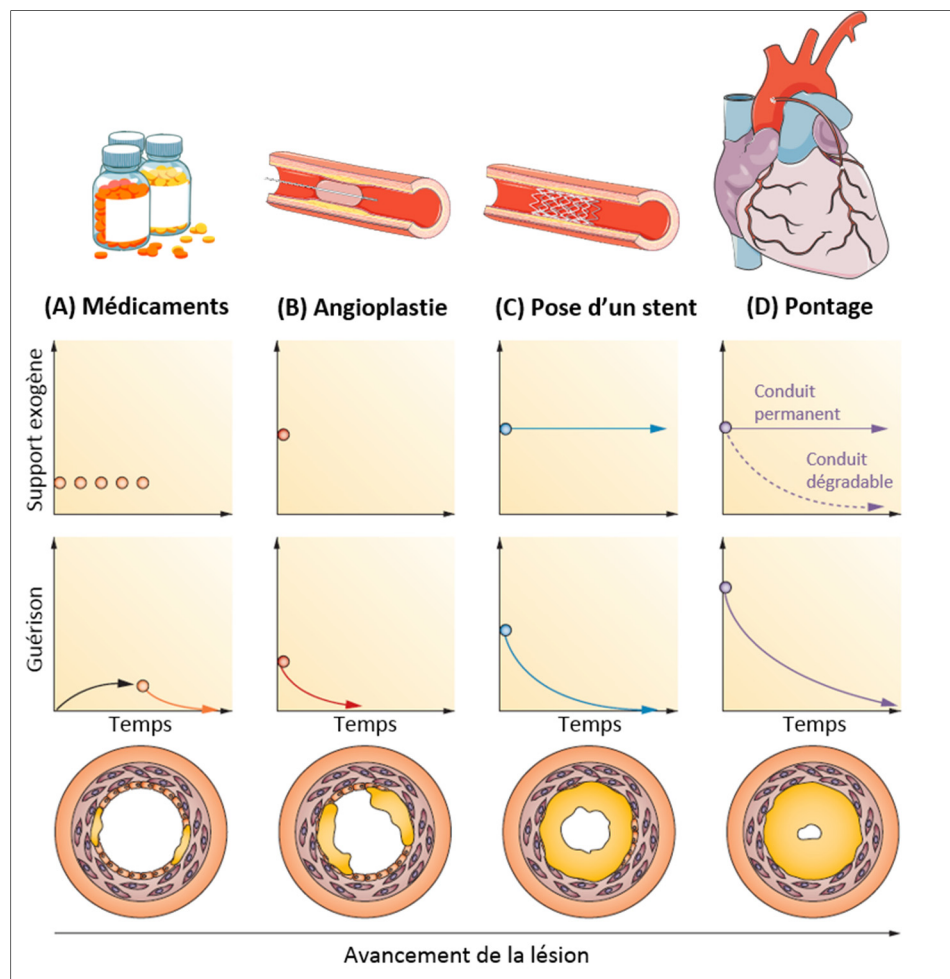


Figure 1.2 Stades progressifs de l'athérosclérose et leurs traitements
Adaptée de Seifu, Purnama, Mequanint, et Mantovani (2013)

L'angioplastie (Figure 1.2B) est souvent réalisée dans les premiers stades de formation d'une plaque d'athérome. La procédure consiste à faire dilater un ballonnet gonflable au niveau du rétrécissement artériel, permettant le rétablissement d'un calibre artériel correct. Dans 30 à 50 % des cas, une nouvelle sténose (resténose) se développe dans les mois suivant l'angioplastie et une nouvelle intervention de revascularisation est nécessaire pour 20 à 30 % des patients (Byrne et al., 2017; Moussavian, Casterella, & Teirstein, 2001). La technique a alors été améliorée par le déploiement d'une endoprothèse non couverte (Figure 1.2C). Appelée stent, il s'agit d'un dispositif métallique en acier inoxydable ou en alliage, chargé de maintenir ouverte la lumière de l'artère. Certains stents sont couverts d'une substance pharmaco-active qui est libérée localement afin de limiter les risques de resténose.

Dans un certain nombre de cas cependant, l'obstruction du vaisseau est trop importante pour permettre la pose d'un stent et un pontage vasculaire (Figure 1.2D) est recommandé. Cette technique chirurgicale fréquente consiste à contourner l'artère obstruée, soit à dévier le flux sanguin en amont de la sténose vers une autre artère au moyen d'un conduit biologique ou synthétique. Bien que beaucoup plus invasif, le pontage demeure parfois la solution de choix afin de revasculariser efficacement le cœur ou les vaisseaux périphériques, notamment lorsque la zone obstruée est large ou complexe (Byrne et al., 2017).

Les premiers pontages ont été réalisés grâce à des vaisseaux autologues, le plus souvent la veine saphène ou l'artère mammaire. Ils sont encore couramment employés aujourd'hui (Chlupác et al., 2009; Hillis et al., 2011). Cependant, les vaisseaux autologues ne sont pas toujours disponibles, dans un état pathologique ou d'une taille inadéquate (Kottke-Marchant & Larsen, 2006) : environ 30 % des patients ne disposent pas de vaisseaux adéquats pour une greffe autologue (Carrabba & Madeddu, 2018). De plus, les taux de réussite des conduits restent limités : 10 à 15 % des greffes veineuses s'obstruent dans l'année suivant la chirurgie, jusqu'à 50 % après 10 ans d'implantation. Ces résultats sont améliorés avec des greffes artérielles mais démontrent encore 15 % d'échec après 10 ans (Goldman et al., 2004; Harskamp, Lopes, Baisden, De Winter, & Alexander, 2013). Une nouvelle intervention de revascularisation est souvent nécessaire mais est restreinte par la disponibilité des vaisseaux des patients.

Compte-tenu des limitations des conduits autologues, des prothèses vasculaires synthétiques sont utilisées comme alternative, pour le remplacement ou le pontage d'artères obstruées.

L'athérosclérose est un problème de santé majeur à l'échelle mondiale. Selon sa progression le long de l'arbre artériel et le degré d'évolution, cela peut mener à l'occlusion partielle ou totale des artères, ayant des conséquences graves telles que des infarctus du myocarde, des AVC ou une invalidité au niveau des membres inférieurs. Selon le degré d'avancement et la complexité des sténoses artérielles, leur traitement peut se réaliser par pontage afin de revasculariser efficacement les tissus. Les vaisseaux autologues n'étant pas toujours disponibles ou appropriés pour la chirurgie, des prothèses synthétiques sont alors employées.

1.1.3 Prothèses vasculaires synthétiques

Le premier pontage vasculaire synthétique a été rapporté en 1952 par l'équipe de Voorhees et al. qui a implanté une prothèse textile poreuse à base de Vinyon (polychlorure de vinyle, PVC). Rapidement, des conduits en polyéthylène téréphtalate (PET, Dacron®) ont émergé sur le marché (en 1957), suivis par des prothèses en polytétrafluoroéthylène expansé (ePTFE, ou Teflon®) (en 1969), qui sont devenus des standards pour le remplacement des vaisseaux sanguins de large diamètre depuis maintenant une cinquantaine d'années.

▪ Prothèse en polyéthylène téréphtalate, PET

Le PET est un polyester aromatique, qui est utilisé cliniquement sous la forme de textile tricoté ou tissé (Figure 1.3A-B). L'origine de l'utilisation d'une structure textile à la place d'un tube solide était une tentative pour permettre la guérison des tissus au travers des pores du matériau (Kottke-Marchant & Larsen, 2006). La porosité d'un greffon textile en Dacron® est définie par sa perméabilité à l'eau (définie à la section 1.2.1.4). Elle est plus faible pour les prothèses tissées que pour les conduits tricotés. Ces prothèses nécessitent une étape de pré-coagulation ou sont imprégnées de collagène, albumine ou gélatine, afin de les rendre étanches au sang lors de l'implantation (Chlupác et al., 2009; Kottke-Marchant & Larsen, 2006).

▪ Prothèse en polytétrafluoroéthylène expansé, ePTFE

Le PTFE est un fluoropolymère, qui est mis en forme par chauffage, étirement et extrusion pour former un matériau microporeux (ePTFE) se présentant sous forme de nodules reliés entre eux par des microfibrilles (Figure 1.3C) (Chakfé et al., 2004; Chlupác et al., 2009). La distance entre les nodules caractérise sa porosité moyenne, qui est généralement considérée entre 30 et 90 μm (Chlupác et al., 2009; Zilla, Bezuidenhout, & Human, 2007).

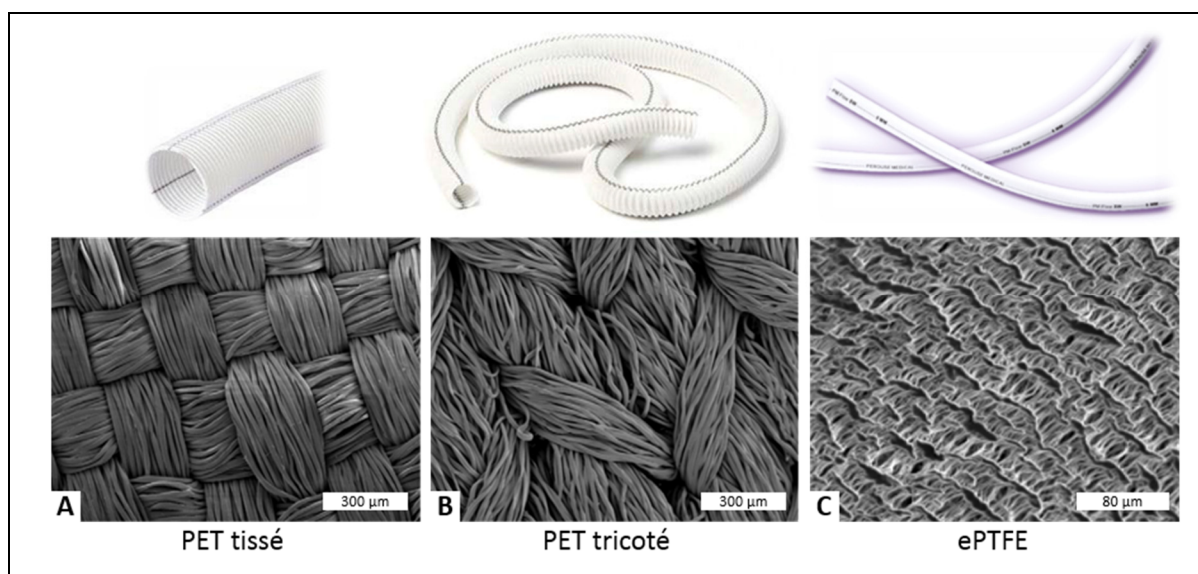


Figure 1.3 Prothèses vasculaires commerciales en (A) PET tissé ou (B) tricoté ou en (C) ePTFE. En haut : images macroscopiques des implants. En bas : Images au MEB de la surface luminale des prothèses.

Adaptées de Perouse Medical (2017), Al Meslmani et al. (2014); Wise et al. (2016)

1.1.4 Perméabilité des conduits implantés

Le paramètre de perméabilité (*patency*) est employé pour qualifier le succès ou l'échec d'un conduit implanté : une prothèse est considérée perméable si elle conserve au moins 50 % de son diamètre originel (Lehnert, Møller, Damgaard, Gerds, & Steinbrüchel, 2015; Rutherford et al., 1997). En effet, une nouvelle sténose peut se développer à l'intérieur de la prothèse après l'implantation, les causes étant détaillées à la section suivante.

La définition de l'échec des greffons peut cependant différer d'une étude à l'autre. Lors d'une resténose, il est généralement considéré que le conduit est occlus au moins partiellement, avec un rétrécissement du diamètre original de plus de 50 % (Bussières, Tremblay, & Lacasse, 2018; Buxton et al., 2009).

Les conduits synthétiques démontrent des résultats à long terme satisfaisants pour le remplacement de vaisseaux de large diamètre ($\varnothing > 8$ mm), tels que les pontages aorto-iliaques avec des taux de succès de 90 %. Pour les artères de calibre moyen (6-8 mm), les résultats s'équivalent entre l'emploi de greffon autologue ou synthétique (Chlupác et al., 2009).

Cependant, les prothèses connaissent un faible taux de succès pour le remplacement d'artères de petits calibres ($\varnothing < 6$ mm) pour lesquelles les autogreffes sont préférées (Greenwald & Berry, 2000), comme il est possible de l'observer sur la figure ci-dessous.

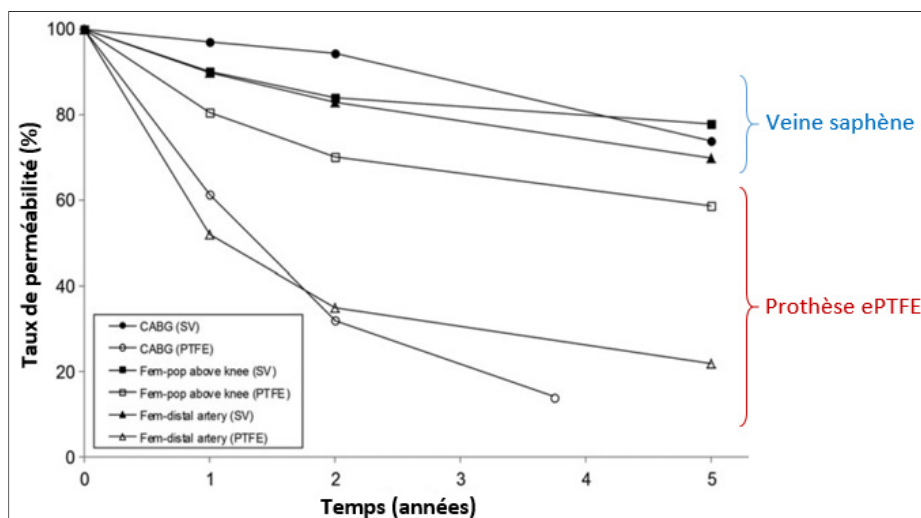


Figure 1.4 Taux de succès (perméabilité) des veines saphènes et des prothèses ePTFE après pontage de vaisseaux de petit diamètre (pontage coronaire CABG et pontages fémoraux)

Adaptée de Pashneh-Tala, MacNeil, et Claeysens (2016)

Pour la revascularisation coronarienne, la veine saphène a ainsi démontré de meilleurs taux de perméabilité comparé aux conduits en ePTFE (86 % et 59 %, respectivement) (Hehrlein et al., 1984; Pashneh-Tala et al., 2016). De même, dans le cas de pontage fémoro-poplité, la

perméabilité à 5 ans de prothèses ePTFE reste inférieure avec 39 %, tandis qu'elle est de 74 % pour des autogreffes veineuses (Klinkert, Post, Breslau, & van Bockel, 2004). Par conséquent, une prothèse synthétique n'est suggérée pour le remplacement des artères de petits diamètres que si aucun vaisseau autologue n'est disponible (Chlupác et al., 2009; Hehrlein et al., 1984; Pashneh-Tala et al., 2016).

Le Tableau 1.1 présente le choix du greffon employé selon le type de vaisseau à remplacer.

Tableau 1.1 Substituts vasculaires utilisés selon le type de vaisseau
Adapté de Chlupác et al. (2009)

Type d'artère	Artères de gros calibre	Artères de moyen calibre	Artères de petit calibre
Dimensions (Ø)	> 8 mm	6-8 mm	< 6 mm
Exemples	Aorte, iliaque	Carotides, artères sous-clavières et au-dessus du genou	Coronaires, artères sous le genou, tibiales et péronières
Substitut vasculaire			
1^{er} choix	Prothèse	Prothèse, autogreffe	Autogreffe artérielle ou veineuse
2^{ème} choix	Allogreffe, autogreffe veineuse	Prothèse, autogreffe	Prothèse, allogreffe

Les prothèses synthétiques, généralement conçues à base de PET ou ePTFE, sont actuellement largement utilisées dans le remplacement de vaisseaux de gros calibre, mais ne sont pas la solution de choix pour les artères de petit diamètre, pour lesquels les vaisseaux autologues sont préférés, lorsque disponibles, en raison d'un taux d'efficacité plus élevé.

1.1.5 Causes d'échec des prothèses vasculaires

L'échec des prothèses vasculaires est dû à une occlusion au moins partielle du conduit implanté, qui peut être le résultat combiné de deux processus biologiques : la thrombose et l'hyperplasie néointimale.

1.1.5.1 Thrombose

▪ Mécanismes

Dans les premiers mois suivant l'implantation, l'échec des prothèses est principalement dû à la thrombose (van Lith & Ameer, 2011), qui consiste en la formation d'un caillot sanguin, dit thrombus. Celui-ci est le produit final de la cascade de coagulation.

Ce processus complexe est déclenché à plusieurs niveaux suite à l'implantation d'une prothèse. Au niveau des anastomoses⁴, l'acte chirurgical va endommager l'endothélium des vaisseaux natifs par la suture de la prothèse. L'exposition des protéines sous-jacentes initie alors la voie extrinsèque de la cascade de coagulation, à laquelle s'ajoute la réaction inflammatoire (van Lith & Ameer, 2011).

À la restauration du flux sanguin lors de la chirurgie, la surface luminale de l'implant se recouvre de protéines plasmatiques non spécifiques, suivi par un processus d'adsorption et désorption entre les protéines selon leur degré d'affinité avec le matériau (effet Vroman). L'adsorption de protéines, telles que celles du complément⁵, participe à l'activation du système du complément et des processus inflammatoires (Anderson, Rodriguez, & Chang, 2008). Le fibrinogène adsorbé à la surface du biomatériau contribue à la coagulation, avec l'adhésion et l'activation des plaquettes. Substitué progressivement par du kininogène de haut poids moléculaire, la voie intrinsèque de la cascade de coagulation se déclenche également (Gorbet

⁴ Anastomose : lieu de connexion entre le vaisseau natif et la prothèse.

⁵ Système du complément : groupe de protéines faisant partie de l'immunité innée, impliquant une activation sans reconnaissance spécifique d'une cible. Il intervient dans la destruction des agents infectieux, le contrôle des réponses inflammatoires et la modulation des réponses immunes spécifiques.

& Sefton, 2004). Ultimement, cela va mener à la formation d'un thrombus puis à l'obstruction de la lumière de la prothèse (Gorbet & Sefton, 2004; van Lith & Ameer, 2011).

De plus, des perturbations hémodynamiques au niveau des anastomoses ou des turbulences locales du flux sanguin liées à la forme des prothèses (gaufrage ou cosselage) peuvent induire une agrégation plaquettaire et contribuer à la coagulation (Gorbet & Sefton, 2004).

▪ **Thrombogénicité des prothèses**

La meilleure protection contre la thrombose reste à ce jour la formation et le maintien d'une couche confluyente de cellules endothéliales à la surface des matériaux implantés en contact avec le sang (Wu et al., 2018), grâce à leur sécrétion de facteurs antithrombotiques et leur rôle de barrière entre le sang et les composants thrombogènes.

Dans les prothèses vasculaires, la thrombose survient par l'exposition de la surface luminale des implants, en raison de l'absence d'une couche de cellules endothéliales lors de l'implantation et de l'échec de l'endothélialisation complète *in vivo* (Radke et al., 2018).

La thrombogénicité est le caractère du matériau en contact avec le sang à provoquer une thrombose. Le caractère thrombogène des prothèses synthétiques en PET et ePTFE est régi par leurs propriétés de surface inadaptées. D'une part, la nature hydrophobe de ces matériaux contribue au processus de coagulation en favorisant l'adsorption de fibrinogène (van Oeveren, 2013), et, d'autre part, elle limite la colonisation de leurs surfaces par les cellules endothéliales. En effet, l'hydrophobie des matériaux favorise également l'adsorption d'albumine au détriment de la fibronectine, une protéine permettant l'adhésion cellulaire (Grainger, Pavon-Djavid, Migonney, & Josefowicz, 2003) et tend à dénaturer les protéines adsorbées (Vermeer, Giacomelli, & Norde, 2001).

1.1.5.2 Hyperplasie néointimale

▪ Mécanismes

Entre quelques mois et quelques années post-implantation, l'hyperplasie néointimale devient la cause d'échec majoritaire des prothèses vasculaires (van Lith & Ameer, 2011).

L'hyperplasie néointimale correspond à la prolifération excessive des CML de la media et leur migration vers l'intima, ayant pour effet de réduire progressivement la lumière du vaisseau (Figure 1.5). Dans le cas de prothèse vasculaire, ce phénomène survient surtout au niveau des anastomoses, via la migration de cellules des vaisseaux adjacents. Ce processus résulte de la lésion initiale du vaisseau engendrée par la chirurgie, ainsi que de l'adaptation du conduit aux pressions artérielles, aux perturbations hémodynamiques aux anastomoses et aux contraintes imposées à l'endothélium natif dans ces régions (Haruguchi & Teraoka, 2003; McKavanagh, Yanagawa, Zawadowski, & Cheema, 2017). Ceci affecte également le comportement des CE et leur dysfonctionnement participe à la prolifération des CML, des CE saines ayant la capacité d'inhiber la croissance des CML par la production d'oxyde nitrique (NO) (Ahanchi, Tsihlis, & Kibbe, 2007; S. Li & Henry, 2011; Pearson, 1999).

Les processus inflammatoires et de coagulation déclenchés lors de l'implantation contribuent aussi à la prolifération et à la migration des CML, par la sécrétion de facteurs mitogènes (dont les facteurs de croissance d'origine plaquettaire) via les plaquettes activées et les macrophages (Ahanchi et al., 2007; van Lith & Ameer, 2011).

Un vaisseau partiellement sténosé peut ensuite être sujet à une thrombose qui peut venir complètement occlure le vaisseau.



Figure 1.5 Schématisation et aspect histologique de l'hyperplasie néointimale (NH) au niveau d'une anastomose après (A) 14 jours et (B) 28 jours d'implantation d'une prothèse ePTFE (*graft*) dans un modèle porcin (coloration à l'hématoxyline et éosine, x5)
Adaptée de Kuji et al. (2006)

▪ Limitation des prothèses

Il est reconnu que l'hyperplasie est principalement provoquée par l'incompatibilité mécanique (*mismatch*) entre la prothèse et le segment d'artère sur lequel elle est greffée (Haruguchi & Teraoka, 2003).

Les matériaux constitutifs des prothèses ont généralement une rigidité beaucoup plus élevée que les artères natives (Salacinski et al., 2001; Venkatraman, Boey, & Lao, 2008). Cet écart se traduit par une différence de compliance, soit leur capacité à se dilater sous l'effet de la pression artérielle (détaillée à la section 1.2.1.2). Cela cause des perturbations de l'écoulement sanguin, particulièrement au niveau des anastomoses. Le flux turbulent et les contraintes de cisaillement basses vont alors contribuer au développement de l'hyperplasie néointimale, observable avec plus d'importance aux extrémités de la prothèse (Greenwald & Berry, 2000; Haruguchi & Teraoka, 2003; Sarkar, Salacinski, Hamilton, & Seifalian, 2006).

1.1.5.3 Défi des prothèses de petit diamètre

Les prothèses synthétiques actuellement disponibles échouent en raison de la thrombogénicité de leur surface et de l'hyperplasie néointimale au niveau des anastomoses. Malgré de bonnes perméabilités observées pour les conduits de gros diamètre (cf. section 1.1.4), ces phénomènes sont néanmoins présents, les hauts débits du flux sanguin permettant de disperser les facteurs de coagulation qui pourraient se former à la surface des implants (Chlupác et al., 2009).

Pour le remplacement des vaisseaux de petits diamètres, les risques d'occlusion sont alors amplifiés du fait du faible flux sanguin et du diamètre réduit des conduits, expliquant alors les résultats cliniques insatisfaisants de ces prothèses (cf. section 1.1.4) (Venkatraman et al., 2008; Zilla et al., 2007).

À ce jour, il n'existe sur le marché aucune prothèse vasculaire permettant le remplacement des vaisseaux de petit diamètre menant à un taux de succès parfait (perméabilité de 100 %).

Des complications cliniques se déclenchent suite à l'implantation :

- *D'une part, le processus de thrombose mène à la formation d'un caillot sanguin. Il est lié à la chirurgie et aux propriétés de surface des implants avec un manque et du maintien d'un endothélium à la surface luminale.*
- *D'autre part, l'hyperplasie néointimale, enclenchée majoritairement par l'incompatibilité mécanique entre les implants et les vaisseaux natifs, entraîne une hyperprolifération de cellules au niveau des anastomoses.*

Ces phénomènes, d'autant plus marqués pour les conduits de petits diamètres, peuvent mener à une occlusion partielle voire totale des prothèses et ainsi à leur échec.

1.2 Cahier des charges d'une prothèse vasculaire

Afin d'améliorer les performances cliniques des prothèses vasculaires de petit diamètre, les efforts se concentrent sur la production d'un implant biologiquement et fonctionnellement comparable aux artères natives. Le Tableau 1.2 dresse une liste des exigences pour obtenir un greffon artériel de petit calibre idéal.

Tableau 1.2 Propriétés idéales d'une prothèse vasculaire
Adapté de Catto, Farè, Freddi, et Tanzi (2014); Chlupác et al. (2009);
Sorrentino et Haller (2011)

Exigences mécaniques et physiques
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Compliance similaire au vaisseau natif ▪ Pression à la rupture suffisante ▪ Résistance à la plicature et à la compression externe ▪ Bonne suturabilité ▪ Étanchéité au sang (à l'implantation) ▪ Porosité adéquate (permettant la cicatrisation et l'angiogénèse) ▪ Facilité de manipulation
Exigences biologiques
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Biocompatibilité (non toxique, non immunogène, non inflammatoire) et biostabilité ▪ Hémocompatibilité (non thrombogène), non hémolytique ▪ Résistance à l'infection
Exigences industrielles
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Stérilisabilité ▪ Disponibilité en plusieurs dimensions (longueur, diamètre) ▪ Faible coût de production ▪ Prêt à l'emploi

La norme internationale ANSI/AAMI/ISO 7198 a été élaborée afin de définir les exigences des prothèses vasculaires stériles et les méthodes d'essai pour les évaluer. Néanmoins, il n'existe à ce jour aucun standard définissant les valeurs cibles à atteindre pour les différentes propriétés.

Par la suite, nous nous intéresserons plus précisément à des caractéristiques spécifiques, considérées critiques dans la conception des prothèses afin de limiter leurs causes d'échec.

1.2.1 Considérations mécaniques et physiques

L'incompatibilité mécanique entre les prothèses vasculaires et les artères natives constitue une des causes d'échec des conduits, provoquant le processus d'hyperplasie néointimale. Dans la conception d'un implant, il est important que ses propriétés mécaniques soient similaires à celles du tissu natif. Il convient ainsi d'en comprendre le comportement, duquel dépend la compliance et la pression à la rupture, considérées comme les principales caractéristiques mécaniques, qui sont détaillées ci-dessous. L'étanchéité au sang constitue un paramètre additionnel important à prendre en compte dans la conception des prothèses vasculaires.

1.2.1.1 Comportement mécanique de la paroi artérielle

Le comportement en tension d'une paroi artérielle est non-linéaire et dépend de ses éléments constitutifs (Figure 1.6), caractérisés par des rigidités très différentes (les modules de Young de l'élastine et du collagène sont d'environ 0,6-1 MPa et 1 GPa, respectivement) (Shadwick, 1999).

À faibles déformations, les fibres d'élastine sont sollicitées et la relation contrainte-déformation est quasiment linéaire, caractérisée par un module d'élasticité faible. Avec l'augmentation de la déformation, les fibres de collagène vont progressivement être mises en charge et s'étirer pour ensuite dominer le comportement artériel (Roach & Burton, 1957). Ceci se manifeste par une courbe contrainte-déformation en forme de J, avec une rigidification progressive à mesure que les charges appliquées augmentent (Holzapfel, 2001).

Les artères sont également caractérisées par un comportement mécanique différent selon la direction considérée. Cette anisotropie est attribuée à l'orientation préférentielle des fibres composant la paroi artérielle, les fibres de collagène s'alignant dans la direction circonférentielle (Holzapfel, 2001; Singh, Wong, & Wang, 2015).

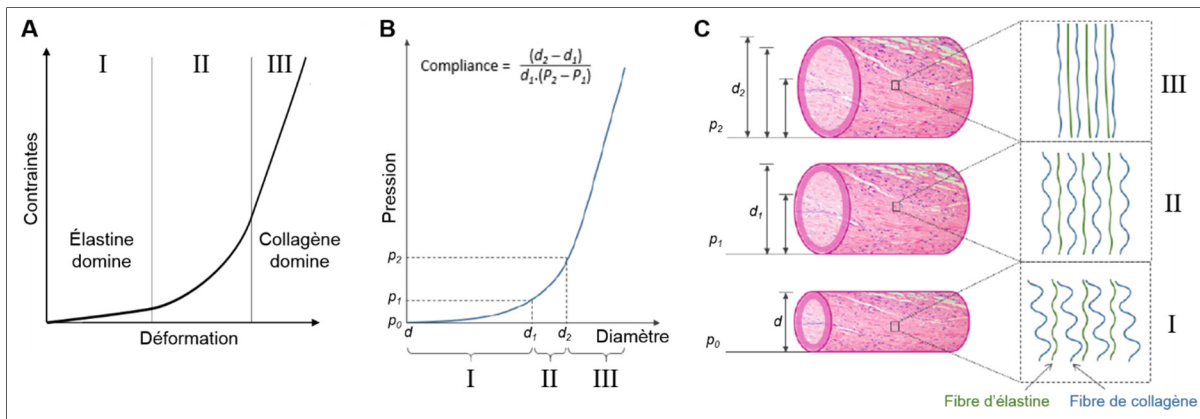


Figure 1.6 Courbes typiques de (A) contrainte-déformation et (B) pression-diamètre d'une paroi artérielle avec (C) le rôle de leurs composants (élastine et collagène)
Adaptées de Holzapfel (2001); Singh et al. (2015)

Le comportement mécanique d'une artère est basé sur l'épaisseur de la media et des proportions de ses composants qui varient le long de l'arbre artériel. Ainsi, les artères élastiques ont une teneur en élastine plus élevée que les artères musculaires et ont alors une capacité plus grande à se dilater sous l'effet de l'augmentation de la pression artérielle par rapport aux vaisseaux périphériques (Fischer & Llauro, 1966; Kassab, 2006). Cette capacité est nommée compliance, ou distensibilité artérielle.

1.2.1.2 Compliance

La compliance se définit comme l'aptitude d'une cavité à changer de volume sous l'effet d'une variation de pression. Adapté à notre contexte, cela correspond à la capacité du vaisseau ou de la prothèse à se dilater et à se contracter dans la direction circonférentielle en réponse à une pression pulsatile (Figure 1.7), telle que la pression artérielle (American National Standards Institute, 2010). Elle est représentée par la première formule du Tableau 1.3 (Équation (1.1)).

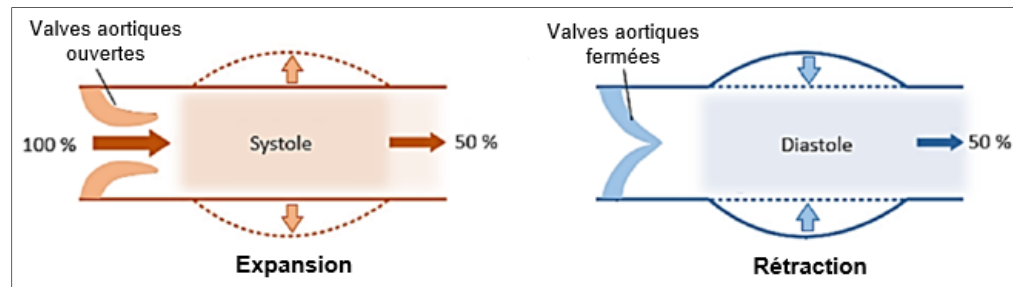


Figure 1.7 Représentation graphique de la compliance de l'aorte lors de la systole et la diastole
Adaptée de Singh et al. (2015)

Plusieurs expressions sont également retrouvées dans la littérature afin d'exprimer la compliance en fonction de variables mesurables (Hayoz et al., 1992; How, 1992; Walden, L'Italien, Megerman, & Abbott, 1980). Ainsi, la compliance est généralement calculée avec l'équation (1.2) (Tableau 1.3) avec la mesure du diamètre du conduit. En posant l'hypothèse que la prothèse est un cylindre parfait à paroi mince composé d'une couche de matériau élastique isotrope, il est possible d'estimer la compliance en fonction de la géométrie du conduit et des propriétés du matériau avec l'équation (1.3) (Tableau 1.3). Celle-ci illustre bien l'impact du module d'élasticité circonférentiel et de l'épaisseur des prothèses sur la compliance.

Tableau 1.3 Différentes formules pour calculer la compliance

Variables		Formules	Unités	Sources
ΔV (mL)	Variation du volume du segment étudié	$C = \frac{\Delta V}{\Delta P}$ (1.1)	mL/mmHg	(Klabunde, 2012)
ΔP (mmHg)	Variation de la pression à l'intérieur du conduit			
D_i (mm)	Diamètre interne initial de la structure	$C = \frac{\Delta D_i}{D_i * \Delta P} * 100$ (1.2)	% / mmHg	(Salacinski et al., 2001)
ΔD_i (mm)	Augmentation du diamètre interne sous l'effet de la différence de pression			
E (mmHg ⁻¹)	Module de Young	$C = \frac{D_i}{2 * E * t}$ (1.3)	mmHg ⁻¹	(Sarkar et al., 2006)
t (mm)	Épaisseur de la paroi			

L'intervalle de pression auquel les mesures sont prises est un facteur essentiel dans le calcul de la compliance. En effet, le comportement mécanique non-linéaire des artères mène à une compliance décroissante avec l'augmentation de la pression à l'intérieure de l'artère (Figure 1.8) (Tai, Salacinski, Edwards, Hamilton, & Seifalian, 2000). Il est d'usage de déterminer la compliance aux pressions physiologiques, entre 80 et 120 mmHg.

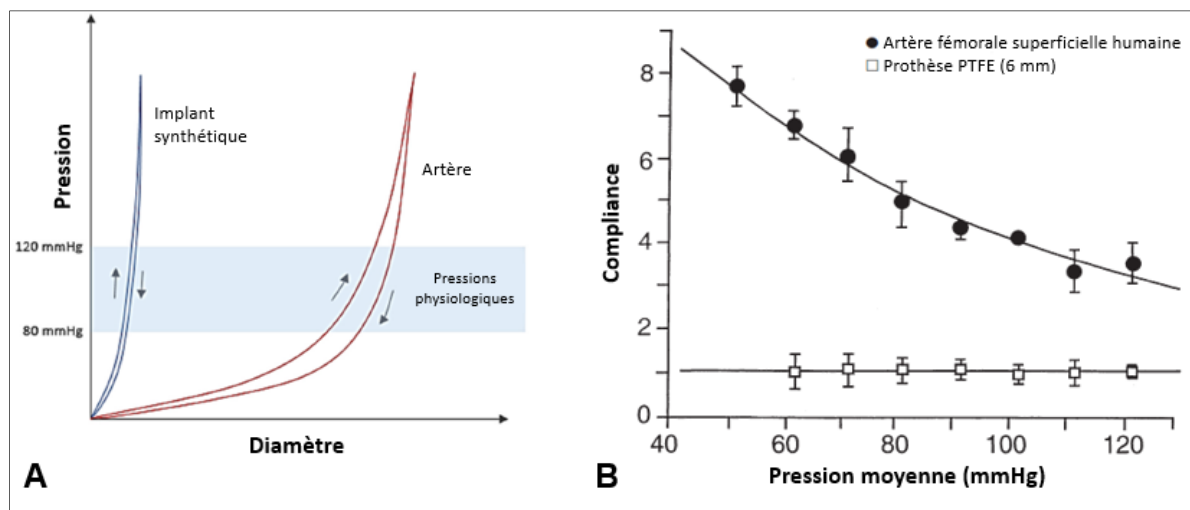


Figure 1.8 Comparaison entre une artère et une prothèse synthétique (ePTFE) de l'évolution de (A) la pression en fonction du diamètre et (B) la compliance en fonction de la pression
Adaptées de (A) Singh et al. (2015) et (B) Salacinski et al. (2001)

L'inadéquation de la compliance entre la prothèse et le vaisseau natif a été démontrée comme jouant un rôle critique dans la défaillance des conduits synthétiques. Leurs faibles compliances comparées aux vaisseaux sanguins ont été corrélées avec leurs taux de succès bas (Figure 1.9) (Salacinski et al., 2001; Walden et al., 1980). Ainsi, cette caractéristique mécanique est cruciale pour le développement des prothèses vasculaires.

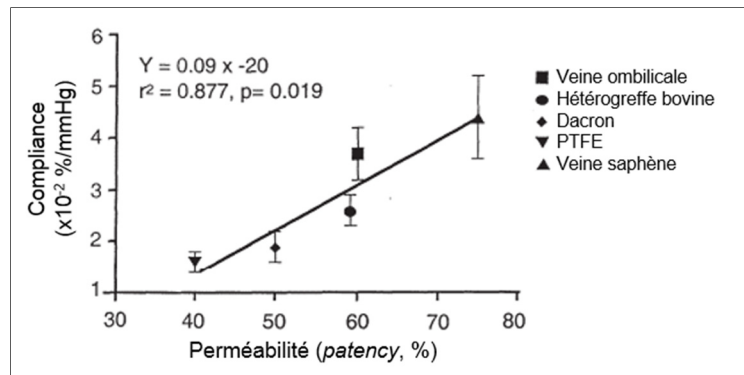


Figure 1.9 Compliance en fonction du taux de perméabilité (*patency*) pour divers substituts vasculaires
Adaptée de Salacinski et al. (2001)

Les valeurs de compliance pour divers types de vaisseaux sanguins sont recensées dans la littérature ou peuvent être calculées à partir de mesures de pression et de diamètre correspondantes. Une étude de la littérature par Gauthier (2016) a permis de mettre en évidence la variation de la compliance le long de l'arbre artériel. Ainsi, il a été recensé des valeurs s'étendant de 0,19 à 0,27 %/mmHg pour l'aorte, de 0,04 à 0,1 %/mmHg pour des artères de petit diamètre, et de 0,03 à 0,05 %/mmHg pour des veines.

Afin de sélectionner une valeur de référence adaptée pour la conception d'un implant de petit diamètre, une attention particulière a été portée sur les méthodes de calcul à l'origine des valeurs recensées pour les artères de petit diamètre. Ainsi, seules les compliances déterminées à partir de l'équation (1.2) ont été considérées, et une moyenne a été calculée. La valeur cible de compliance sélectionnée correspond à la valeur recensée la plus proche de cette moyenne. La valeur cible de compliance a alors été fixée de l'ordre de 0,0725 %/mmHg pour la conception d'une prothèse de petit diamètre, à partir d'une étude sur des artères coronaires (Shaw et al., 2002).

1.2.1.3 Pression à la rupture

La pression à la rupture correspond à la pression interne maximale supportée par le conduit (vaisseau ou prothèse) avant la rupture de sa paroi.

Pour une prothèse vasculaire à paroi mince, la force maximale f à laquelle elle peut être soumise est donnée par l'équation suivante (tirée de (Sarkar et al., 2006)) :

$$f = \frac{P * D_i}{2 * t} \quad (1.4)$$

Avec P , D_i et t : respectivement la pression interne exercée sur les parois, le diamètre et l'épaisseur de la paroi, à la rupture.

Cette équation provient de la relation employée pour le calcul de la contrainte exercée sur un cylindre à paroi mince. La force représente la limite ultime au-delà de laquelle il y a rupture des parois du conduit. L'équation (1.4) illustre bien la relation entre la pression à la rupture et la géométrie du cylindre. Ainsi, pour une force constante, la pression à la rupture est inversement proportionnelle au diamètre du conduit et est proportionnelle à l'épaisseur de la paroi (Sarkar et al., 2006).

La pression à la rupture est variable selon le type de vaisseau prélevé et la condition physiologique du patient (Van Haaften, Bouten, & Kurniawan, 2017). Par exemple, des veines saphènes natives d'un diamètre interne moyen de 2 mm et des artères mammaires internes (\varnothing max de 4,5 mm) provenant de donneurs âgés ont présenté une pression moyenne à la rupture d'environ 1600 et 3200 mmHg, respectivement (Konig et al., 2009). Ces pressions sont très élevées par rapport aux pressions physiologiques et ne peuvent être atteintes *in vivo*.

Avec l'efficacité clinique démontrée des veines saphènes comme conduit de petit diamètre de remplacement, certaines études considèrent les valeurs de pression à la rupture obtenues avec ces vaisseaux comme critère d'acceptation (Konig et al., 2009).

Cependant dans le cadre de nos travaux, la valeur cible de pression à la rupture considérée pour le développement des implants est déterminée comme la valeur minimale recensée dans la littérature, lors de l'étude de Gauthier (2016), pour des artères de petit diamètre. Cette valeur est alors fixée à 2031 mmHg, à partir d'une étude réalisée sur des artères mammaires (L'Heureux et al., 2006).

1.2.1.4 Étanchéité à l'implantation

L'étanchéité au sang est une autre caractéristique essentielle d'une prothèse vasculaire. Aucune fuite sanguine ne doit être permise au travers de cette dernière, particulièrement dans les premiers temps suivant l'implantation. Par la suite, la coagulation et la colonisation de la paroi de la prothèse par des cellules vasculaires peuvent assurer son étanchéité (Dieval et al., 2001).

L'étanchéité se caractérise avec la grandeur physique de perméabilité, qui correspond à l'aptitude d'un matériau à se laisser traverser par un fluide sous l'effet d'un gradient de pression. Cette définition est en vigueur uniquement dans cette section et est à différencier du paramètre qualifiant le succès ou l'échec des conduits vasculaires (*patency*).

Plusieurs équipes ont examiné la perméabilité et l'écoulement des fluides à travers des matériaux poreux (Bartels, 2011; Russell & Textile, 2007). Des théories ont été développées concernant la modélisation du transport du solvant et des solutés au travers des membranes de filtration. Ainsi, les propriétés structurales du matériau filtrant telles que son épaisseur, la dimension et l'interconnectivité de ses pores influent sur l'évaluation de la perméabilité. L'effet des propriétés de surface des membranes, en particulier les interactions entre le fluide et le matériau, a également été démontré (Geens, Van der Bruggen, & Vandecasteele, 2006; Greenhalgh & Dunn, 1998; Machado, Hasson, & Semiat, 2000).

L'appréciation de la perméabilité sanguine est un paramètre critique dans l'évaluation des implants vasculaires textiles. Des études ont été réalisées sur des prothèses en PET tricoté en lien avec des étapes de pré-coagulation. Cette procédure consiste à tremper l'implant quelques minutes dans le sang non-hépariné du patient avant son implantation : un caillot se forme dans la structure, la rendant imperméable. Le niveau de perméabilité de ces prothèses imprégnées a été vérifié et il est alors considéré que les prothèses peuvent être implantées sans entraîner d'hémorragies si elles offrent une perméabilité à l'eau inférieure à $50 \text{ mL.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ (Mathisen et al., 1986; Wesolowski, Fries, Karlson, Bakey, & Sawyer, 1961).

L'évaluation de la perméabilité sanguine peut ainsi être effectuée par la mesure de la perméabilité à l'eau, qui sera plus importante en raison du caractère visqueux du sang, et sous l'application des pressions physiologiques sanguines (de Valence et al., 2012; Geens et al., 2006). Une étude de De Valence et al. (2012) a permis d'effectuer des mesures de perméabilité à l'eau en comparaison avec du sang de porc hépariné avec leurs prothèses électrofilées et a rapporté des valeurs respectives de $23,4 \pm 5,1$ et $0,16 \pm 0,07 \text{ mL.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$. Les implantations *in vivo* n'ont révélé aucune fuite de sang au travers de la paroi de leurs prothèses. Ainsi, leurs valeurs de perméabilité peuvent être extrapolées comme cibles pour garantir l'étanchéité sanguine des textiles médicaux.

Plusieurs paramètres sont critiques dans la conception d'une prothèse vasculaire afin de réduire les complications cliniques, dont les principaux ont été détaillés dans cette section. Comme aucun standard n'existe quant à la plage de valeurs cibles à atteindre pour chacun, nous utilisons la littérature pour les définir adéquatement dans notre cahier des charges. La compliance et la pression à la rupture sont des propriétés mécaniques importantes, devant atteindre des valeurs proches des tissus natifs, fixées dans ce projet à 0,0725 %/mmHg et 2031 mmHg, respectivement. L'implant se doit également d'être étanche à l'implantation pour éviter les fuites sanguines. L'étanchéité peut être évaluée par des essais de perméabilité à l'eau pour lesquels des valeurs inférieures à $23,4 \text{ mL.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$ seront considérées acceptables.

1.2.2 Éviter la thrombose

Le caractère thrombogène des prothèses vasculaires actuelles constitue une des causes à l'origine de leur échec, en provoquant une thrombose. La formation et le maintien d'un endothélium à la surface luminale des implants représente la stratégie antithrombotique idéale. Pour concevoir une prothèse vasculaire de petit diamètre efficace, il est essentiel de comprendre les mécanismes d'endothélialisation naturelle de la surface luminale des prothèses *in vivo*.

1.2.2.1 Mécanismes d'endothélialisation *in vivo*

Trois mécanismes ont été identifiés pour l'endothélialisation des implants vasculaires *in vivo* et sont résumés par la Figure 1.10 : l'endothélialisation transanastomotique, l'endothélialisation transmurale et l'endothélialisation par les cellules circulantes.

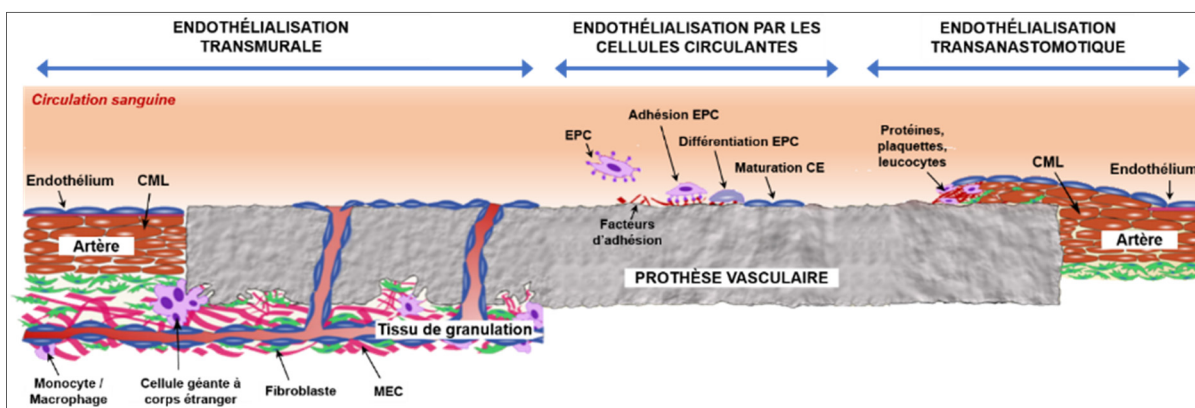


Figure 1.10 Schématisation des trois mécanismes possibles d'endothélialisation de prothèses.

De gauche à droite : endothélialisation transmurale, endothélialisation par les cellules circulantes, endothélialisation transanastomotique.

Adaptée de Sánchez, Brey, et Briceño (2018)

▪ L'endothélialisation transanastomotique

La croissance cellulaire a lieu à partir de chacune des extrémités de la prothèse. Ce mécanisme a été le premier à être identifié et a longtemps été considéré comme la source d'endothélialisation la plus probable. Néanmoins, les résultats des études animales montrant des endothélialisations complètes et rapides sont désormais critiqués du fait de la faible longueur des prothèses implantées et des modèles animaux employés, pouvant avoir une croissance endothéliale différente de l'humain (Byrom, Bannon, White, & Ng, 2010; Zilla et al., 2007). Des études approfondies confirment également que l'endothélialisation transanastomotique chez l'homme se produit uniquement sur une longueur de 1 à 2 cm depuis l'anastomose, pour des prothèses synthétiques non-modifiées, même après une longue durée d'implantation (Berger, Sauvage, Rao, & Wood, 1972; Sánchez et al., 2018).

▪ L'endothélialisation transmurale

Cette endothélialisation débute par la formation de capillaires provenant des tissus périphériques au travers des pores de la paroi de la prothèse jusqu'à atteindre la surface luminale (Sánchez et al., 2018). Ce mécanisme est lié à la réponse inflammatoire qui va permettre la formation d'un tissu de granulation hautement vascularisé avec la sécrétion de facteurs angiogéniques stimulant la néovascularisation (Sánchez et al., 2018).

Ce procédé d'angiogénèse est influencé par la taille des pores et la porosité de la prothèse. En effet, les pores doivent être suffisamment grands pour permettre la croissance cellulaire, sans provoquer une perte d'adhésion entre les cellules (Vindigni, Abatangelo, & Bassetto, 2011). Des structures en ePTFE avec une taille de pores (distance internodale) entre 30 et 90 µm ont ainsi démontré une croissance cellulaire transmurale, alors qu'elle est restreinte pour des dimensions en dehors de ces valeurs seuils (Sánchez et al., 2018).

▪ L'endothélialisation par les cellules circulantes

Les cellules sanguines circulantes, des cellules endothéliales progénitrices (EPC, *endothelial progenitor cell*), peuvent contribuer à l'endothélialisation de la surface luminale des prothèses. Ces cellules s'accrochent à la paroi grâce à des protéines d'adhésion, telles que la fibronectine, prolifèrent, et montrent une différenciation en cellules endothéliales matures (Hristov, Erl, & Weber Peter, 2003; Sánchez et al., 2018). Ce processus intervient surtout pour la réparation de petites lésions vasculaires : des stimuli vont mobiliser les EPC au site de la lésion pour permettre la régénération de l'endothélium (Sánchez et al., 2018; Vindigni et al., 2011). Néanmoins, ce processus est lent et leur présence est très limitée dans le sang, évaluée à 0,01 % des cellules mononucléées du sang périphérique (Chopra, Hung, Kwong, Zhang, & Pow, 2018), expliquant la faible quantité de surface recouverte, en îlots, par ce type d'endothélialisation.

1.2.2.2 Stratégies d'endothélialisation

Dans la conception d'implants vasculaires, la colonisation de la surface luminale par des cellules endothéliales est un objectif majeur pour lequel des stratégies *in vitro* et *in situ* ont été développées.

1.2.2.2.1 Ensemencement *in vitro*

La première approche repose sur les techniques d'ensemencement cellulaire afin d'obtenir l'endothélialisation artificielle de la surface luminale des implants avant la chirurgie et ainsi assurer un effet antithrombotique à long terme (Herring et al., 1979).

Les procédés impliquent le prélèvement de cellules vivantes du patient et leur dépôt sur la surface de la prothèse. La prothèse peut être implantée directement, mais les résultats obtenus peuvent être mitigés en raison de la délamination des CE sous l'effet du flux sanguin. D'autres équipes ont donc proposé d'inclure une étape supplémentaire de mise en culture de ces cellules, jusqu'à confluence, directement sur la prothèse avant de la réimplanter (Bordenave et al., 2005; Vara et al., 2005).

Malgré les améliorations en termes de réussite à l'implantation (Bordenave et al., 2005), l'efficacité de l'ensemencement reste dépendante de la santé des cellules extraites et de la durée des cultures, qui peut interdire les interventions d'urgence. Dans une étude clinique implantant des prothèses ePTFE ensemencées avec des cellules autologues, 33 % des patients n'étaient pas en mesure d'attendre la préparation des prothèses d'une durée moyenne de 28 jours (Deutsch et al., 2009). Ainsi, les longues durées de fabrication des matrices et les cultures cellulaires ne sont pas compatibles avec les besoins urgents des patients.

Cette approche est de plus très coûteuse. À cela s'ajoutent les problématiques de mise en place clinique du fait des infrastructures et expertises nécessaires pour la culture cellulaire qui sont rarement présentes dans les hôpitaux (Vara et al., 2005).

1.2.2.2.2 Modification du matériau

L'endothélialisation dépend directement des propriétés de surface des matériaux constitutifs des prothèses. Afin de mener à une prothèse vasculaire non-thrombogène, leur surface doit promouvoir l'adhésion et la croissance des cellules endothéliales (CE, EPC), tout en inhibant l'adhésion des plaquettes et la formation de thrombus, ainsi que l'adhésion des cellules musculaires lisses responsables de l'hyperplasie.

Il est possible d'apporter des modifications à la surface luminale des prothèses vasculaires pour leur conférer un caractère antithrombotique selon deux approches : par des modifications physicochimiques et via la fonctionnalisation de la surface avec des molécules actives.

▪ **Modifications physicochimiques**

Les techniques de modification physicochimique sont employées dans le but de modifier les caractéristiques surfaciques des implants afin d'affecter la réaction biologique après implantation ou pour générer des groupements réactifs en surface nécessaires à l'immobilisation de molécules actives d'intérêt.

L'adsorption des protéines à la surface des biomatériaux dépend de leur charge, composition, hydrophilie et topographie. Par la modification des propriétés de surface, il est alors possible de moduler l'adsorption des protéines et ainsi d'influencer l'adhésion ou la prolifération cellulaire (Schmidt, Waldeck, & Kao, 2009). Notamment, l'adsorption de protéines favorisant l'adhésion de certaines cellules a été améliorée par l'ajout de groupements de type amine primaire ou acide carboxylique sur des substrats (Steele, Dalton, Johnson, & Underwood, 1995).

Les techniques les plus courantes dans la manipulation des polymères sont les modifications par voie humide et l'utilisation de plasmas. Les traitements par plasma permettent plusieurs types de modifications, telles que l'ablation de la surface (*etching* ou *sputtering*), le dépôt de couche mince ou l'ajout de groupements fonctionnels en surface.

Dans ce projet, l'intérêt se porte particulièrement sur un revêtement développé par l'équipe du Pr. Wertheimer à l'École Polytechnique de Montréal. Appelé L-PPE:N (pour *low-pressure plasma polymerized ethylene doped in nitrogen*), ce revêtement est polymérisé par plasma à basse pression à partir d'ammoniac et d'éthylène et est riche en amines primaires, permettant le greffage de molécules actives (Truica-Marasescu & Wertheimer, 2008). Le dépôt de ce revêtement sur des surfaces en PET et PTFE a démontré l'augmentation de l'adhésion des CE et leur rétention sous un flux (Gigout, Ruiz, Wertheimer, Jolicoeur, & Lerouge, 2011). Néanmoins, le revêtement L-PPE:N favorise l'adhésion des plaquettes et leur agrégation, ce qui est un risque supplémentaire de thrombose s'il est déposé à la surface luminale de prothèse vasculaire (Thalla et al., 2014).

▪ **Modifications par ajout de biomolécules**

La surface des matériaux peut être fonctionnalisée par la fixation de molécules bioactives qui vont permettre d'interagir spécifiquement avec les cellules, et ainsi de contrôler la réponse cellulaire de l'implant.

L'utilisation de revêtements antiadhésifs (*anti-fouling*) vise à inhiber l'adsorption des protéines et des plaquettes à la surface des biomatériaux implantés, afin d'éviter la thrombose.

La molécule la plus répandue pour rendre les surfaces antiadhésives est le polyéthylène glycol (PEG). Ses propriétés antiadhésives sont dues au caractère hydrophile de son unité structurale, permettant l'hydratation de la surface et empêchant les interactions par répulsion stérique (Zhang, Desai, & Ferrari, 1998). Cette approche a cependant des limites. En effet, ce type de surface empêche l'adsorption des protéines mais également l'adhésion cellulaire (Ren et al., 2015), ce qui empêche l'endothélialisation. Certaines équipes proposent donc de les combiner avec des molécules bioactives ou des peptides favorisant l'adhésion spécifique des cellules endothéliales afin de viser la formation d'un endothélium (Thalla et al., 2014; van Lith & Ameer, 2011).

Contrairement aux revêtements antiadhésifs, les revêtements bioactifs visent à favoriser l'endothélialisation rapide de la surface des prothèses ou à aider à la rétention des cellules endothéliales pré-ensemencées. Les molécules immobilisées en surface auront pour but de favoriser l'adhésion, la migration et la prolifération des cellules endothéliales (de Mel, Jell, Stevens, & Seifalian, 2008). C'est ainsi que de nombreuses équipes ont étudié l'immobilisation de protéines ou séquences peptidiques.

Par exemple, le greffage de peptides RGD améliore l'adhésion des cellules endothéliales (de Mel et al., 2008; Radke et al., 2018). Des séquences similaires se retrouvent également au sein des protéines de la matrice extracellulaire, telles que la fibronectine ou le collagène de type I, ce qui procure une autre approche dans l'adhésion cellulaire (de Mel et al., 2008; Radke et al., 2018). Le défi est alors de ne pas promouvoir en même temps l'adsorption des plaquettes et éviter la coagulation. C'est pourquoi ces molécules sont souvent fixés sur une couche antiadhésive.

Au sein du laboratoire du Pr. Lerouge, les travaux se sont concentrés sur les glycosaminoglycanes (GAG) de la famille des polysaccharides, qui sont généralement explorés pour leur capacité à empêcher l'adhésion des plaquettes (Keuren et al., 2003). Particulièrement, et dans le cadre de notre projet, l'intérêt se porte sur le sulfate de chondroïtine (CS), qui possède des propriétés antiadhésives en réduisant l'adsorption des protéines du plasma (comme l'albumine et l'antithrombine) (Keuren et al., 2003; Thalla et al., 2014), tout en permettant l'adhésion des cellules (Charbonneau, Gautrot, Hébert, Zhu, & Lerouge, 2007; Thalla et al., 2014).

Des facteurs de croissance, tels que le facteur de croissance épidermique EGF ou le facteur de croissance endothélial vasculaire VEGF, peuvent être de plus immobilisés à la surface de la CS afin d'améliorer l'expansion des cellules endothéliales et la vascularisation (Charbonneau et al., 2012; Lequoy, Murschel, Liberelle, Lerouge, & De Crescenzo, 2016; Savoji et al., 2017).

1.2.2.3 Considérations architecturales

En plus de contribuer à leurs propriétés mécaniques, les caractéristiques structurelles des substituts vasculaires sont également des facteurs importants quant à leur endothélialisation. Et c'est ainsi que des structures poreuses se sont imposées dans la conception des prothèses (Zilla et al., 2007).

L'endothélialisation est influencée par une dimension de pores judicieusement sélectionnée. Au niveau externe, le processus d'endothélialisation transmurale nécessite l'infiltration des capillaires, d'un diamètre moyen d'environ 4 μm (Wiedeman Mary, 1963). Les CML et les fibroblastes doivent également migrer au travers de la structure afin de sécréter la matrice extracellulaire et mener au remodelage et à la régénération d'un vaisseau fonctionnel. Afin de permettre la capillarisation et l'infiltration cellulaire au niveau des couches externes, une taille de pores supérieure à 5 μm doit ainsi être atteinte (Goins, Webb, & Allen, 2019). L'endothélialisation transmurale chez des rats s'est révélée comme étant plus rapide pour des pores externes plus grands (étude entre 5 et 30 μm) (Zhang, Wang, Liu, & Kodama, 2004).

La porosité est également importante pour le transport des nutriments et de l'oxygène (Yalcin Enis & Gok Sadikoglu, 2016), ainsi que pour permettre la communication entre les CML et les CE, ces dernières ayant un rôle régulateur sur les CML (Dora, 2001; Shojaei & Bashur, 2017). Cependant, des pores trop larges à la surface luminale des prothèses limiteraient la formation d'une monocouche confluyente de CE et pourraient également entraîner une fuite des composants sanguins au travers de la paroi (Goins et al., 2019; Kannan, Salacinski, Butler, Hamilton, & Seifalian, 2005).

Outre les procédés textiles conventionnels décrits plus haut, les principales techniques de fabrication de structures poreuses incluent les méthodes de séparation de phases⁶ et le procédé d'électrofilage (détaillé à la section 1.3.3.2), permettant l'élaboration d'une matrice fibreuse tridimensionnelle (Figure 1.11). Ce dernier procédé est largement exploré pour sa capacité à reproduire la morphologie de la matrice extracellulaire (Hasan et al., 2014) et ses larges possibilités techniques, notamment dans l'emploi des polymères, synthétiques ou naturels.

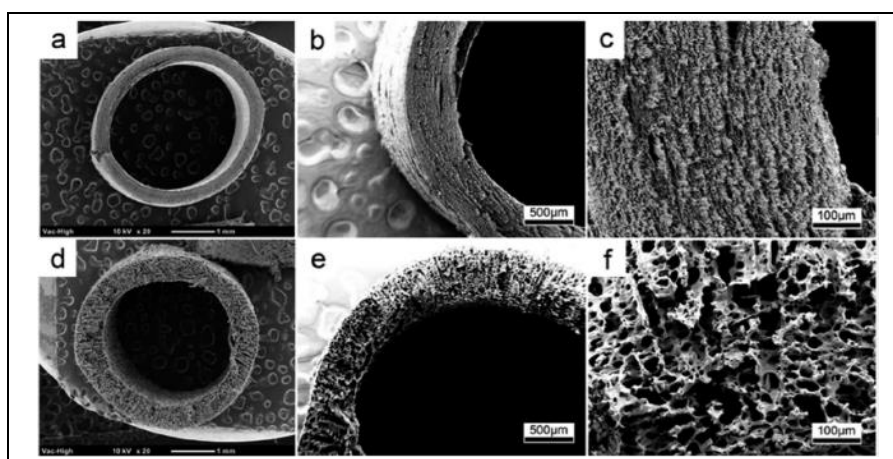


Figure 1.11 Images transversales au MEB de prothèses poreuses fabriquées par (a-c) électrofilage ou (d-f) séparation de phases
Tirée de Mi et al. (2016)

⁶ Séparation de phases : l'élimination du solvant d'une solution polymérique par lyophilisation ou extraction entraîne la formation de pores dans la structure.

Dans le cas de structures fibreuses, les dimensions des fibres influencent également l'interaction avec le milieu biologique. Les CE proliféreraient ainsi plus favorablement sur des fibres de diamètre moyen de l'ordre du nanomètre plutôt que micrométrique (Yalcin Enis & Gok Sadikoglu, 2016) et elles démontrent un plus fort degré d'adhésion à leur substrat lorsque les fibres sont alignées (Whited & Rylander, 2014). Il a été confirmé que la variation de l'orientation des fibres pouvait contrôler celle de divers types cellulaires (Jeong, Paik, & Choi, 2014; Shalumon et al., 2014; M. Zhu et al., 2015). De plus, dans le processus de coagulation, il a été démontré une relation linéaire entre le diamètre des fibres et l'adhésion plaquettaire (Milleret, Hefti, Hall, Vogel, & Eberli, 2012; Valenti, 2012).

Afin d'obtenir une prothèse vasculaire fonctionnelle permettant la croissance des CE à la surface luminale et l'infiltration des capillaires et CML du côté externe, leur conception passe ainsi par la fabrication de structures ayant un réseau des pores interconnectés et des caractéristiques morphologiques adaptées.

Afin d'éviter la thrombose des implants, la formation et le maintien d'un nouvel endothélium à leur surface luminale constitue la stratégie idéale. Plusieurs approches sont possibles pour mener vers cette endothélialisation, telles que le pré-ensemencement ou la modification de leur surface, afin d'inhiber la formation d'un thrombus et de promouvoir l'adhésion et la croissance cellulaire.

Les caractéristiques structurelles des prothèses sont également importantes : des matériaux poreux sont nécessaires afin de promouvoir l'endothélialisation transmurale.

1.3 Stratégies de conception d'une prothèse vasculaire idéale

Les prothèses vasculaires actuelles n'étant pas optimales et causant de fréquentes complications, de nombreux travaux ont été effectués ces dernières décennies dans la recherche d'une prothèse vasculaire idéale. Les scientifiques se sont dirigés vers l'utilisation de matériaux alternatifs, tels que des matériaux dégradables, et de nouvelles approches en

ingénierie tissulaire⁷ afin de concevoir un implant capable de favoriser ultimement la régénération d'un vaisseau fonctionnel. Les principales stratégies sont décrites ci-dessous.

1.3.1 Prothèses en polyuréthane

Un grand intérêt s'est porté sur la famille des polyuréthanes (PU) en raison de leurs propriétés mécaniques, notamment une compliance plus proche des artères qu'avec le PET et le ePTFE (Zilla et al., 2007).

Les polyuréthanes sont des copolymères constitués d'une combinaison de segments cristallins durs et amorphes mous, apportant respectivement leur part de rigidité ou flexibilité, et permettant alors de moduler les propriétés mécaniques du matériau (Chlupác et al., 2009).

Les greffons en PU obtiennent néanmoins des résultats cliniques variables, notamment du fait de leur dégradation *in vivo*. Ainsi, les premières prothèses commerciales en PU, Vascugraft®, ont obtenus des résultats cliniques non concluants et ont été retirées du marché (Zhang et al., 1997). Cependant, des PU plus résistants à l'hydrolyse sont récemment apparus sur le marché et ont été approuvés par la FDA. Ainsi, la seule prothèse disponible actuellement à base de PU, la prothèse Vectra®, provient de la compagnie Bard et est fabriquée à partir de polyéther-uréthane-urée (PEUU), pour une utilisation clinique comme accès à l'hémodialyse (Bard Pheripheral Vascular Inc, 2011).

1.3.2 Analyse des travaux sur les implants vasculaires

De nombreuses recherches ont eu lieu au cours des cinquante dernières années afin de concevoir une prothèse vasculaire idéale et sont référencées dans de multiples revues (Carrabba & Madeddu, 2018; Chlupác et al., 2009; Pashneh-Tala et al., 2016; Peck, Gebhart, Dusserre, McAllister, & L'Heureux, 2011; Seifu et al., 2013; van Lith & Ameer, 2011). Malgré ces nombreuses approches pour générer des prothèses vasculaires, peu parviennent à leur

⁷ Le génie tissulaire est l'ensemble des techniques pour le développement de substituts biologiques visant à restaurer ou améliorer la fonction d'un tissu ou d'un organe.

translation vers des essais cliniques (Lawson et al., 2016; Olausson et al., 2014; Wystrychowski et al., 2011), attestant à nouveau que le besoin d'une prothèse idéale est toujours présent.

L'hétérogénéité des études de la littérature et leur nombre considérable constituent ainsi un avantage du fait des progrès réalisés chaque jour dans le domaine, mais compliquent l'évaluation des différentes stratégies, et des avancées au sein de chacune, afin de déterminer lesquelles sont prometteuses ou à éliminer. Dans ce contexte, une méta-analyse de la littérature concernant les essais pré-cliniques a récemment été publiée et permet de pointer certaines conclusions quant à la poursuite des recherches (Skovrind et al., 2019).

Des premiers développements jusqu'à l'année 2018, il a ainsi été référencé 321 études *in vivo*, dont les critères d'inclusion de la méthode ont permis l'analyse de 68 travaux, correspondant à un total de 873 prothèses vasculaires de petit diamètre évaluées dans des modèles de grands animaux (cochon, chien, mouton, chèvre, singe) (Skovrind et al., 2019). Au travers de la méta-analyse, Skovrind et al. ont permis de mettre en évidence les paramètres critiques liés à la perméabilité (*patency*) *in vivo* des prothèses.

- Les **prothèsesensemencées** avec des cellules endothéliales à la surface luminale sont plus susceptibles d'être perméables, en comparaison avec les structures acellulaires. Les différentes sources des cellules endothéliales ne semblent pas impacter les résultats. Néanmoins, l'analyse suggère qu'une culture à long terme (plusieurs jours, 46 h à 240 h) avant l'implantation *in vivo* est bénéfique sur la perméabilité des prothèses, par rapport à des temps plus courts (0,16 h à 6 h).
- Les **modifications de surface** des prothèses avec des molécules conjuguées, notamment des modifications antithrombotiques, semblent également avoir des effets positifs significatifs sur la perméabilité des conduits. Cependant, le nombre d'études incluses dans l'analyse est relativement faible pour pouvoir tirer des conclusions robustes, particulièrement en raison de la diversité des modifications de surface, et des recherches plus poussées seraient nécessaires.

- Neuf **types de structures** de prothèses différents ont été référencés, incluant des matériaux naturels, synthétiques, hybrides ou des approches en génie tissulaire (tissus décellularisés, auto-assemblage). Au travers de la méta-analyse, il a été proposé que le type de structure n'était pas une variable impactant de manière significative la perméabilité : les diverses structures analysées présentaient des fonctionnalités similaires et étaient ainsi difficiles à distinguer en termes de perméabilité résultante.
- Parmi les travaux analysés, neuf approches différentes ont été employées pour tester les propriétés mécaniques des prothèses. La méta-analyse met ainsi en évidence le besoin de davantage de **directives et normes** concernant l'évaluation des prothèses, que nous avons rapidement évoqué dans le cahier des charges défini précédemment (cf. section 1.2.1).

Avec ces énoncés à l'esprit, nous nous attarderons par la suite à présenter les principaux développements dans le secteur des prothèses vasculaires ayant menés à des résultats prometteurs et des essais cliniques.

1.3.3 Travaux majeurs en étude clinique

Au cours des dernières décennies, diverses stratégies dans la conception d'implant de petit diamètre ont été mises en œuvre pour répondre aux besoins cliniques, et peuvent s'éloigner des prothèses conventionnelles de large diamètre (Chlupác et al., 2009; Vara et al., 2005). Nous citerons ici les principaux travaux ayant mené à des études cliniques.

1.3.3.1 Approches en génie tissulaire

La majorité des implants ayant atteint les études cliniques est issu de l'ingénierie tissulaire, visant à reconstruire *in vivo* la composition et la structure des tissus natifs. Les techniques décrites ci-dessous nécessitent généralement l'ensemencement de l'implant avec les cellules du patient et la maturation dans un bioréacteur avant implantation. Ceci constitue leurs

principales limites du fait des coûts et de la durée de fabrication liée à la phase de culture et maturation *in vitro*, qui nécessitent jusqu'à 12 semaines pour la maturation des substituts vasculaires cellularisés (Seifu et al., 2013).

▪ **Emploi de tissus décellularisés**

La technique de décellularisation de structures animales vasculaires consiste à retirer les cellules immunogènes des tissus tout en conservant les composés, la structure et les propriétés mécaniques de la matrice extracellulaire (Wolfenbarger Jr, Lange, Linhurst, Moore, & Nolf, 2004).

Des prothèses commerciales ont été mises sur le marché à partir de vaisseaux sanguins ou urèbres décellularisés de bovins (Artegraft®, SynerGraft®, etc.). Cependant, ils n'ont jamais démontré une réelle supériorité vis-à-vis des greffons synthétiques (Chemla & Morsy, 2009; Madden, Lipkowitz, Browne, & Kurbanov, 2005; Pashneh-Tala et al., 2016). Une étude récente démontre néanmoins 67 % de perméabilité à 5 ans pour le pontage de membres inférieurs avec une carotide bovine Artegraft® (Lindsey et al., 2018).

Cette approche reste néanmoins limitée en raison de la variabilité des propriétés mécaniques et structurelles des greffons selon l'âge, le sexe, l'état de santé et l'espèce du donneur (Olausson et al., 2012; Quint, Arief, Muto, Dardik, & Niklason, 2012), ainsi que des décellularisations inadéquates associées avec des réactions immunitaires et des échecs des implants (Keane, Londono, Turner, & Badylak, 2012).

▪ **Techniques d'auto-assemblage**

Les travaux pionniers par L'Heureux et al. en 1998 ont permis l'introduction de la technique d'auto-assemblage en feuillets, qui vise à reconstituer un vaisseau dans son ensemble à partir de cultures de CE, CML et fibroblastes (L'Heureux, Pâquet, Labbé, Germain, & Auger, 1998). Cette approche consiste à produire des feuillets de cellules, qui sont ensuite superposés et roulés autour d'un mandrin pour former une structure tubulaire (Peck et al., 2011). Similaires en termes de structure et composition, les greffons LifelineTM produits avec cette méthode ont aussi des propriétés mécaniques proches des artères natives, avec une résistance à l'éclatement et à la suture comparable aux artères mammaires, la compliance étant néanmoins plus faible

(Konig et al., 2009). Ces substituts vasculaires ont été implantés *in vivo* chez des rats durant 225 jours (environ 7,5 mois) et ont démontré une perméabilité de 86 % (L'Heureux et al., 2006). De plus, les greffons ont été stockés durant 9 mois sans perdre leur résistance mécanique et n'ont montré aucun signe de dégradation jusqu'à 11 mois lors d'essai clinique chez trois patients hémodialysés (Wystrychowski et al., 2014). Ces résultats sont prometteurs et nécessitent des études cliniques plus poussées.

De nouvelles techniques ont récemment été développées, telles que l'agrégation cellulaire ou encore la bio-impression (Marga et al., 2012). Néanmoins à ce jour, aucun substitut vasculaire fabriqué par ces procédés n'a mené à des essais cliniques ou des implantations *in vivo* dans de larges modèles animaux (Carrabba & Madeddu, 2018).

▪ **Ensemencement de structures poreuses**

Parmi les nombreux travaux d'ensemencement de structures poreuses dans la littérature, deux études majeures ayant atteint les études cliniques se distinguent.

Les premiers vaisseaux fonctionnels dégradables ont été fabriqués par l'équipe de Niklason et al. à partir de structures formées de fils extrudés d'acide polyglycolique (PGA) (Freed et al., 1994) et ensemencées avec des CML et des CE. Ces conduits ont démontré une perméabilité de 100 % après 4 semaines d'implantation dans un modèle animal porcin (Niklason et al., 1999). Appelé Humacyte, ce type de vaisseaux est désormais décellularisé suite à la production de MEC par les CML. Ils sont actuellement évalués dans des essais cliniques de phase 3 en tant que conduit d'hémodialyse (Kirkton et al., 2019). Les résultats de la phase 2 ont obtenu une perméabilité primaire⁸ et secondaire à un an de 28 % et 89 %, respectivement (Kirkton et al., 2019; Lawson et al., 2016)

⁸ Perméabilité primaire : perméabilité d'un pontage jusqu'à un geste de correction (sténose) ou de désobstruction (thrombose) (Haute Autorité de Santé, 2013).

La première application chez l'homme a été rapportée par l'équipe de Shin'oka en 2001. Une structure, à base de PGA, acide poly-L-lactique (PLA) et polycaprolactone (PCL), fabriquée par lyophilisation etensemencée de cellules humaines provenant d'une veine périphérique, a été implantée à la place de l'artère pulmonaire et est restée perméable pendant 7 mois (Shin'Oka, Imai, & Ikada, 2001; Shin'oka et al., 2005). Avant d'apparaître aux États-Unis en 2011, ces prothèses ont été implantées chez une quarantaine d'enfants au Japon pour diverses applications et sont désormaisensemencées de cellules mononucléées dérivées de la moelle osseuse (Gui & Niklason, 2014). Les études animales suggèrent que ces conduits se transforment en vaisseaux sanguins matures après l'implantation en recrutant des CML et CE des vaisseaux voisins. Cependant, ces prothèses ne peuvent être utilisées que dans un système circulatoire à basse pression, en raison de leur manque de matrice extracellulaire mature et leur faible résistance mécanique avant implantation (Gui & Niklason, 2014).

1.3.3.2 Matrices électrofilées

D'autres travaux sur des structures poreuses ont mené à des essais cliniques et ont réussi à percer au niveau industriel, notamment en employant la technique d'électrofilage, qui permet de fabriquer des structures nontissées fibreuses.

La société Nicast a ainsi mis sur le marché un greffon d'accès vasculaire auto-obturateur AVflo™, en fibres de polycarbonate uréthane pour les patients hémodialysés, ayant démontré une perméabilité primaire de 56 % à deux ans (Ferraresso, Bortolani, & Amnon, 2016; Nicast Ltd., 2014). De plus, la compagnie Zeus a développé un nontissé électrofilé Bioweb™ afin de recouvrir des dispositifs médicaux implantables tels que des stents avec des nanofibres de ePTFE (Zeus Industrial Products Inc., 2019).

Actuellement, le site américain de recensement d'études cliniques compte seulement une étude impliquant des prothèses électrofilées qui concerne des prélèvements sanguins pour étudier la thrombogénicité : aucune étude d'implantations de conduits vasculaires électrofilés chez l'homme n'est à ce jour recensé (U.S. National Library of Medicine, 2019).

1.3.4 Électrofilage de prothèses vasculaires

Dans notre projet, nous nous intéressons particulièrement au procédé d'électrofilage. Cette méthode de fabrication de matrices nontissées comporte plusieurs avantages pour les applications biomédicales dont la nôtre.

La fabrication de prothèses électrofilées a fait l'objet de recherches approfondies dont de nombreux résultats sont regroupés dans le tableau dans l'Annexe I. Les principales orientations et travaux prometteurs dans le domaine seront détaillés dans cette section.

1.3.4.1 Avantages de l'électrofilage

Les tissus et organes humains sont caractérisés par des structures fibreuses nanométriques. Les fibres électrofilées à partir de polymères biocompatibles ont la capacité d'imiter la structure et les propriétés mécaniques de la matrice extracellulaire (AFSSAPS & Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé, 2011; Bhardwaj & Kundu, 2010; Ding et al., 2019). Pour cette raison, l'électrofilage est un procédé intéressant afin d'améliorer l'interaction des matériaux avec les milieux biologiques. Les travaux dans le secteur biomédical sont nombreux : environ deux tiers des brevets américains en électrofilage concernent des développements dans le secteur médical, avant de se concentrer sur des applications de filtration (Bhardwaj & Kundu, 2010).

Les applications sont diverses, telles que des systèmes de délivrance de médicament ou des pansements destinés à la cicatrisation des plaies (Goh, Shakir, & Hussain, 2013), et les implants vasculaires électrofilés sont particulièrement étudiés.

Dans la conception d'une prothèse vasculaire, plusieurs prérequis sont nécessaires :

- Une structure poreuse afin de créer un environnement adapté pour favoriser l'adhésion et la croissance de cellules endothéliales, ainsi qu'un échange métabolique efficace avec l'environnement externe.
- Des propriétés mécaniques pouvant reproduire celles des vaisseaux sanguins.

Ceci peut être atteint avec des structures fibreuses nontissées, pouvant reproduire la structure et les propriétés mécaniques de la matrice extracellulaire. C'est ainsi que la technique de fabrication par électrofilage a été choisie dans ce projet.

Ses avantages reposent sur le vaste potentiel de développement des structures nanofibreuses avec la flexibilité dans le choix des matériaux et l'adaptabilité des paramètres de fabrication. Particulièrement, il est possible de les optimiser afin d'élaborer des matrices fibreuses dont les morphologies (diamètres de fibres, pores, porosité) et les propriétés mécaniques résultantes des structures fabriquées peuvent être contrôlées (Li & Xia, 2004; Yalcin Enis & Gok Sadikoglu, 2016).

De plus, le procédé d'électrofilage est économique et transposable à grande échelle.

1.3.4.2 Type de matériau

Pour tenter de répondre au mieux au cahier des charges idéal d'un conduit vasculaire (cf. section 1.2), de nombreux travaux ont été réalisés. Cependant, l'étude de la compliance et de la pression à la rupture dans l'élaboration des prothèses électrofilées est loin d'être systématique. Les principales approches à partir de matériaux synthétiques, naturels ou des composites sont présentées ci-dessous.

- **Polymères naturels**

Afin de reproduire au mieux les constituants biologiques, les matrices naturelles ont été explorées. Elles sont généralement produites à partir de composants de la matrice extracellulaire (fibrine, collagène, élastine, etc.) ou à partir de protéines ou polysaccharides naturels (chitosane, fibroïne de soie, hydrogels d'acide hyaluronique, etc.).

Le premier conduit tubulaire composé de nanofibres de collagène a été électrofilé par Matthews, Wnek, Simpson, et Bowlin (2002). Néanmoins, leur applicabilité s'est vue limitée en raison de la dénaturation des fibres par les solvants utilisés (tels que l'hexafluoroisopropanol, HFIP) (Zeugolis et al., 2008) et le manque d'élasticité et d'intégrité structurelle pouvant mener au développement d'anévrisme (White & Mazzacco, 1996).

L'élastine a alors été électrofilée en prothèses vasculaires par plusieurs groupes (Li et al., 2006; Sell et al., 2006; Wise et al., 2011), mais les formes protéiques extraites d'origine animale peuvent induire une immuno-réjection et entraîner l'échec des greffons (Ercolani, Del Gaudio, & Bianco, 2015).

Des structures électrofilées à base de fibroïne de soie ou d'élastine synthétique, la tropoélastine recombinante humaine (rTE), ont aussi été étudiées en raison de leur comportement mécanique proche des vaisseaux natifs, mais la pression à la rupture des implants électrofilés reste en-dessous du seuil nécessaire (McKenna et al., 2012; Soffer et al., 2008), de même que la compliance lorsqu'elle est étudiée (McKenna et al., 2012).

En effet, même si les polymères naturels montrent une meilleure biocompatibilité que les polymères synthétiques, leurs propriétés mécaniques sont plus faibles (Carrabba & Madeddu, 2018; Seifu et al., 2013).

▪ **Polymères synthétiques et composites**

La fabrication de prothèses vasculaires avec des polymères synthétiques est la méthode la plus répandue en raison de leur coût abordable, et la possibilité de pouvoir contrôler leurs propriétés mécaniques, morphologie et la vitesse de dégradation dans le cas de polymères dégradables (Pashneh-Tala et al., 2016).

Les recherches sont actuellement concentrées à produire des conduits synthétiques à base de polyesters dégradables composés de glycolide et de lactide, et leurs copolymères tels que le PGA, le PLA et le PCL, et à base de polyuréthanes (Carrabba & Madeddu, 2018; Seifu et al., 2013).

Par exemple, parmi les rares essais pré-cliniques chez les modèles de grands animaux, une prothèse co-électrofilée en PGA et poly(lactide-co-caprolactone) (PLCL) a été évaluée dans un modèle de shunt artérioveineux ovin et a montré une perméabilité de 66 % avec l'endothélialisation de sa surface luminale à 4 semaines. Malheureusement, la compliance et la pression à la rupture n'ont pas été déterminées pour ces implants. De plus, le nombre d'animaux implantés était faible et la prothèse a démontré une dilatation significative de son diamètre au cours de l'étude (Ong et al., 2017).

Les polymères naturels et synthétiques peuvent également être associés pour créer une matrice composite dans l'optique d'améliorer les caractéristiques biologiques et mécaniques globales. Pour obtenir des structures nanofibreuses composites, il est possible de réaliser un mélange de polymères et d'électrofiler cette solution unique, de co-électrofiler deux solutions de mélanges ou de polymères purs au même moment, ou encore d'électrofiler couche par couche (Ercolani et al., 2015). Tout particulièrement, les recherches se concentrent sur la fabrication de prothèses multicouches afin d'imiter la structure des vaisseaux sanguins natifs avec les différentes tuniques.

1.3.4.3 Prothèses multicouches

Dans l'optique de créer un environnement adapté au type cellulaire de chacune des couches artérielles, l'approche de conception de prothèses multicouches semble prometteuse, et le PCL est à la base de nombreuses recherches. Des conduits électrofilés en PCL-tropoélastine ont ainsi démontré des propriétés comparables à l'artère mammaire (compliance et pression à la rupture) (Wise et al., 2011).

Parmi les études bicouches chez les animaux référencées dans la littérature, des travaux semblent prometteurs en obtenant de bonnes perméabilités *in vivo*, mais ne caractérisent pas entièrement les propriétés des implants, notamment la compliance qui est un facteur déterminant (Ju et al., 2017; Lu et al., 2013).

Les travaux de l'équipe de Walpoth sont particulièrement notables dans la fabrication de prothèses bicouches acellulaires purement en PCL. Leurs conduits électrofilés de 2 mm de diamètre atteignent les valeurs seuils définies avec une compliance de 0,078 %/mmHg et une pression à la rupture de 3280 mmHg (de Valence et al., 2012). Une bonne perméabilité chez des rats à 6 mois a aussi été reportée avec une augmentation rapide de l'invasion cellulaire et de la néovascularisation de la paroi du greffon, avant de régresser à 12 et 18 mois avec l'observation de la calcification des conduits (de Valence et al., 2012). Ces mêmes conduits ont également été testés dans un modèle porcin durant 1 mois et obtenu une perméabilité de

76 % avec 86 % d'endothélialisation. Néanmoins, des microthrombis recouvrent la surface luminale des greffons en PCL, et leur présence est un peu plus importante que sur les prothèses ePTFE contrôles (Mrówczyński et al., 2014).

Quelques équipes commencent à étudier une approche en trois couches (Figure 1.12) pour la conception des implants vasculaires (Liu et al., 2017; Wu et al., 2018). Les travaux de McClure sont les pionniers dans le domaine et proposent une prothèse tricouche en PCL, collagène et élastine, dont les arrangements de fibres diffèrent entre les couches pour une visée biomimétique des couches artérielles. Selon la composition des différentes couches, leurs implants obtiennent une compliance entre 0,004 et 0,025 %/mmHg (McClure, Sell, Simpson, Walpoth, & Bowlin, 2010; McClure, Simpson, & Bowlin, 2012), ce qui est relativement faible par rapport aux valeurs recherchées. Néanmoins, aucune étude *in vivo* n'a été reportée avec les prothèses développées, et il n'existe pas encore de prothèse multicouche testée au niveau clinique (Goins et al., 2019).

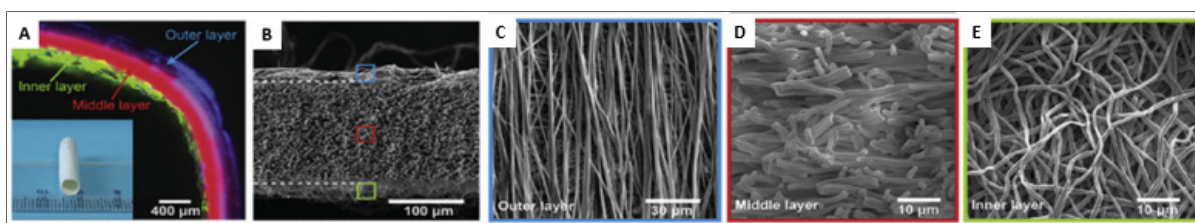


Figure 1.12 Caractérisation structurelle d'une prothèse tricouche. (A) Photographie de la prothèse et représentation des trois couches. (B-E) Images MEB (B) en coupe transversale, de (C) la mince couche externe en nanofibres de PCL/PLA alignées circonférentiellement, (D) la couche intermédiaire épaisse en nanofibres aléatoires de PU/PCL, (E) la mince couche interne de nanofibres aléatoires de PCL/PCL. Aucune valeur de compliance ou des essais *in vivo* n'ont été rapportés pour ces prothèses.

Adaptée de Liu et al. (2017)

Dans la quête d'une prothèse vasculaire réduisant les complications cliniques, la technique d'électrofilage a été largement étudiée. Malgré des résultats *in vitro* prometteurs dans la littérature, les travaux n'ont pas encore été largement approfondis au niveau d'études animales qui sont nécessaires avant la translation vers d'essais cliniques (Woods & Flanagan, 2014).

De plus, la multitude des polymères disponibles rend la conception difficile et il est alors nécessaire de définir des critères pour sélectionner adéquatement le matériau constitutif des implants.

1.3.5 Facteurs influençant la conception et la sélection du matériau

Afin de mener à une prothèse imitant les propriétés mécaniques des tissus natifs, le choix du matériau est un paramètre critique dans leur conception, de même que les propriétés définies dans le cahier des charges (cf. section 1.2.1), soient la compliance, la pression à la rupture et l'étanchéité. Dans le but de prédire le succès des prothèses vasculaires de petit diamètre à l'implantation, il est important de caractériser ces propriétés lors de la conception afin de vérifier l'atteinte des valeurs seuils définies.

De nombreux travaux prometteurs ont été réalisés, néanmoins les substituts développés à ce jour sont incapables d'atteindre ces valeurs cibles (Catto et al., 2015; Cutiongco et al., 2016; Nagiah, Johnson, Anderson, Elliott, & Tan, 2015) et/ou leur caractérisation est insuffisante. En effet, les études n'examinent pas toujours la compliance et la pression à la rupture (Bergmeister et al., 2013; Buscemi et al., 2017; Huang et al., 2012; Jing et al., 2015; Nguyen, Padalhin, Seo, & Lee, 2013). Il est également courant de conclure à l'aide de valeurs cibles basées sur des veines saphènes (Yin et al., 2013) ou des artères animales (Cutiongco et al., 2016; Li et al., 2017; Tan, Wang, Gao, Liu, & Tan, 2016) au lieu de l'artère native à remplacer.

De plus, comme spécifié à la section 1.2.1.2, la compliance est directement liée à la plage de pression mesurée (Sarkar et al., 2006) : il est ainsi important de mesurer la compliance au niveau de la plage physiologique, mais aussi en-dehors pour représenter les conditions en hypotension et hypertension légère, comme recommandé par la norme ANSI 7198 (American National Standards Institute, 2010). Il est aussi nécessaire de prendre connaissance de la méthode de mesure et de calcul de la compliance qui peuvent différer de la norme (Jirofti, Mohebbi-Kalhari, Samimi, Hadjizadeh, & Kazemzadeh, 2018; Johnson, 2015; Tai et al., 2000).

L'épaisseur de la paroi prothétique joue un rôle clé dans la compliance et la pression à la rupture, et constitue donc un paramètre à prendre en compte dans la conception des prothèses. En effet, la réduction de l'épaisseur de la paroi afin d'améliorer la compliance de la prothèse (Bazergui, Bui-Quoc, Biron, MacIntyre, & Laberge, 2002) mène à la diminution de la pression à la rupture, qui peut devenir trop faible. De plus, l'épaisseur influence également l'étanchéité de la prothèse et sa maniabilité par les chirurgiens lors de l'implantation. Ainsi, il est important d'obtenir un équilibre approprié entre les propriétés mécaniques et géométriques lors de la conception de la prothèse, en définissant adéquatement l'épaisseur de ses parois.

De nombreux polymères ont été étudiés pour construire de nouvelles prothèses de petit diamètre. Afin de sélectionner un matériau adapté dans la construction des prothèses, les études se basent majoritairement sur la littérature et les bons résultats obtenus afin d'essayer de les reproduire ou les améliorer (Huang et al., 2012; Jirofti et al., 2018; Mercado-Pagan, Stahl, Ramseier, Behn, & Yang, 2016; Nagiah et al., 2015). Cependant, l'emploi de modèles mathématiques permettant de prédire leurs propriétés mécaniques reste limité (Castillo-Cruz et al., 2018; Harrison, Tamimi, Uhlorn, Leach, & Vande Geest, 2015; Stewart & Lyman, 1990; Tamimi, Ardila, Ensley, Kellar, & Vande Geest, 2019).

Des modèles analytiques pouvant prédire les valeurs de compliance et de pression à la rupture des prothèses peuvent constituer un outil polyvalent facilitant le développement de prothèses avec des propriétés mécaniques atteignant les valeurs cibles des artères natives. Particulièrement, au sein des laboratoires des Pr. Lerouge et Ajjji, un modèle analytique a été développé pour déterminer les propriétés mécaniques requises pour des structures tubulaires afin d'atteindre la compliance des artères natives et une pression à la rupture suffisante, dont les valeurs seuils sont définies dans le cahier des charges (Gauthier, 2016). L'emploi de ce type de modèle dans la conception de nouvelles prothèses éviterait la mise en œuvre d'essais de caractérisation, dont certains sont destructifs, et permettrait un gain de temps et de ressources en plus de simplifier les pratiques de conception.

L'analyse des travaux actuels permet d'apporter de nombreuses connaissances dans le développement des prothèses vasculaires de petit diamètre. Les produits commercialisés actuellement ne permettent pas d'éviter complètement les complications cliniques, et les nouvelles approches développées ces dernières années peinent à mener à des essais cliniques.

Des conclusions majeures sont néanmoins mises en évidence pour la suite des travaux à mener dans la conception des prothèses vasculaires :

- *Les prothèsesensemencées avec des cellules endothéliales à la surface luminale sont plus susceptibles d'être perméables que des conduits acellulaires.*
- *Les modifications de surface des prothèses semblent également avoir des effets positifs sur la perméabilité (patency) des conduits.*
- *Les travaux d'élaboration des prothèses nécessitent des directives et standards supplémentaires.*

Les recherches se concentrent vers la conception de structures poreuses avec une morphologie et des propriétés mécaniques reproduisant celles des vaisseaux natifs. Ceci pourrait être obtenu avec la technique d'électrofilage, qui est alors employé par de nombreux travaux pour la fabrication d'implants électrofilés de petit diamètre.

Cependant, les travaux n'ont pas encore été largement approfondis au niveau des études chez les grands animaux et ne démontrent toujours pas la supériorité d'un nouveau type de conduit électrofilé à long terme. Ainsi, les recherches pour une prothèse vasculaire électrofilée idéale pour le remplacement de vaisseaux de petit diamètre se poursuivent et l'emploi de modèle analytique basé sur des paramètres bien définis de conception permettrait d'améliorer les pratiques de conception et leur vitesse de réalisation.

1.4 Fabrication de fibres par électrofilage

Afin de concevoir adéquatement un implant électrofilé, avec une morphologie fibreuse et des propriétés mécaniques proches des artères natives, il est important de comprendre le procédé d'électrofilage ainsi que les divers paramètres influençant la formation des fibres.

1.4.1 Principe

L'électrofilage est un procédé simple utilisant les forces électrostatiques pour fabriquer des textiles nontissés formés de microfibres et de nanofibres polymériques.

L'instrumentation nécessaire comprend les éléments suivants (Figure 1.13A) : un générateur à haute tension, une pompe sur laquelle est place une seringue contenant une solution concentrée en polymères, une aiguille en métal rattachée directement à la seringue ou par l'intermédiaire d'un tube, et un collecteur relié à la terre, sous forme de plaque ou de mandrin rotatif au diamètre variable. Il est possible que l'aiguille ou le collecteur soit fixé sur un mécanisme de translation leur permettant de se déplacer sur le plan horizontal.

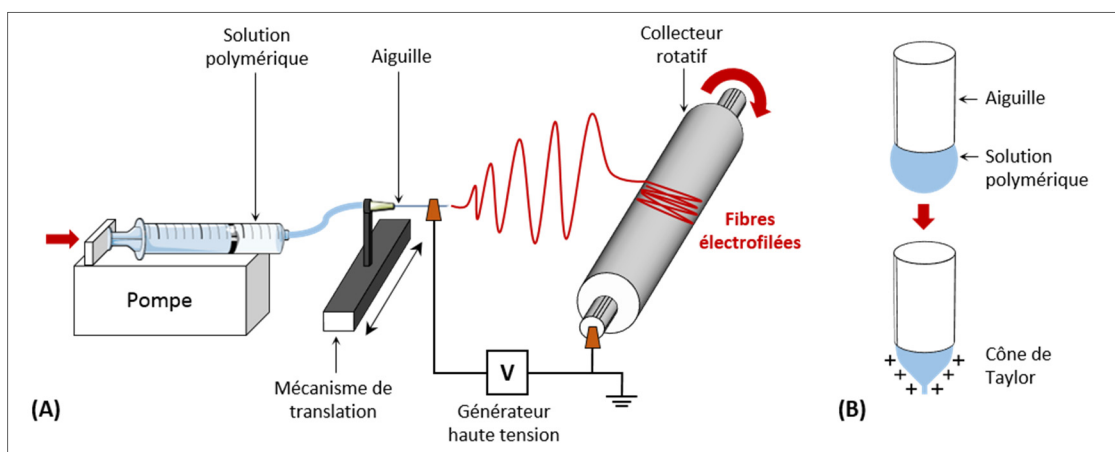


Figure 1.13 Schématisation du procédé d'électrofilage. (A) Instrumentation nécessaire pour la fabrication de fibres électrofilées. (B) Formation du cône de Taylor.

À l'actionnement de la pompe, une goutte de polymère perle à l'extrémité de l'aiguille, et est maintenue par la tension superficielle. La source à haute tension permet d'appliquer un champ électrique entre la pointe de l'aiguille et le collecteur et provoque l'induction de charges positives dans le polymère, résultant en des interactions répulsives au sein de la solution. Cette force électrostatique est alors opposée à la tension superficielle. La goutte va prendre la forme du cône de Taylor (Figure 1.13B) pour équilibrer les forces en place. Lorsque la répulsion de charges surmonte la tension superficielle de la solution, un jet est alors projeté dans la direction du collecteur. Au cours du vol de ce jet, le solvant de la solution s'évapore et

le collecteur permet alors de capturer les fibres polymériques résultantes (Huang, Zhang, Kotaki, & Ramakrishna, 2003; Pham, Sharma, & Mikos, 2006; Woods & Flanagan, 2014).

Des variantes de la technique classique existent, dont les plus courantes sont (Xue, Wu, Dai, & Xia, 2019) :

- L'électrofilage à l'état fondu (*melt electrospinning*) : le polymère n'est pas dissout en solution mais est fondu à haute température.
- Le co-électrofilage : des solutions contenues dans des seringues différentes sont électrofilées en même temps.
- L'électrofilage co-axial : deux solutions sont électrofilées simultanément au travers d'aiguilles coaxiales afin d'obtenir des fibres composites, dites avec une morphologie *core-shell*.

1.4.2 Paramètres de fabrication

Plusieurs paramètres affectent la formation des fibres durant l'électrofilage et ont été référencés en trois catégories : les paramètres liés à la solution polymérique, au procédé et aux conditions ambiantes (Greiner & Wendorff, 2007; Li & Wang, 2013; Tan, Inai, Kotaki, & Ramakrishna, 2005). De nombreuses études ont été réalisées afin de déterminer les liens entre ces paramètres et la morphologie des fibres résultantes, qui montre la présence de billes ou de fibres perlées selon les conditions (Figure 1.14) (Li & Xia, 2004).

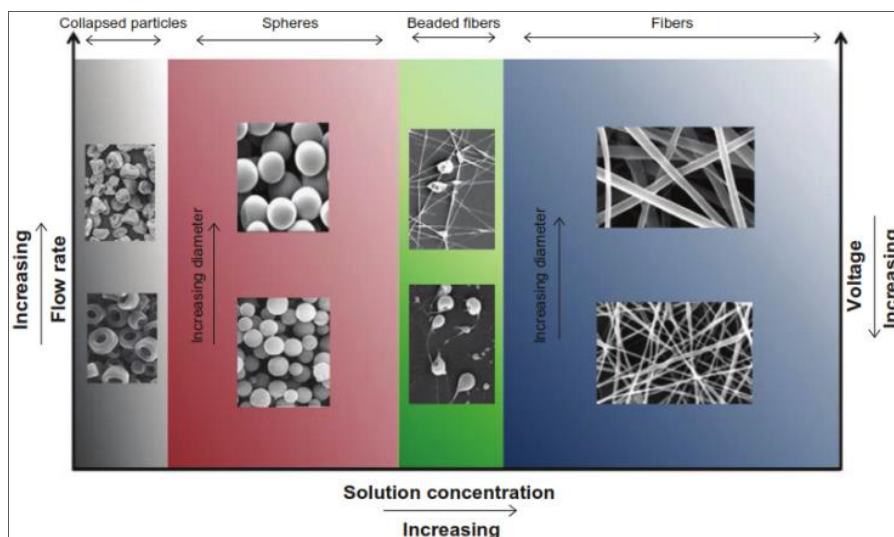


Figure 1.14 Effet du débit, de la concentration de la solution et du voltage sur la morphologie des fibres électrofilées
Tirée de Zamani, Prabhakaran, et Ramakrishna (2013)

Certaines relations entre les paramètres ont pu être démontrées, et les principales affectant le diamètre des fibres sont référencées au Tableau 1.4 ci-dessous.

Tableau 1.4 Effet des principaux paramètres de l'électrofilage sur le diamètre et la morphologie des fibres générées.

Les symboles ↗ et ↘ signifient respectivement « augmente » et « diminue ».

Paramètres		Diamètre des fibres	Morphologie des fibres
Solution	Viscosité de la solution (Concentration, masse moléculaire)	↗	Uniformité ↗ Trop faible : pas de fibre, billes Trop haute : fibres humides (fusionnées), pas de sortie d'aiguille
	Conductivité électrique	↘	
	Volatilité du solvant	-	Trop faible : fibres humides Haute : pores en surface
Procédé	Distance aiguille-collecteur	↘	Trop faible ou grande : billes, pas de fibre
	Débit de la solution	↗	Trop haut : billes
	Gauge de l'aiguille	↗	
	Voltage	↗ ou ↘	
	Forme du collecteur	-	Orientation des fibres (aléatoire, alignée)
Conditions ambiantes	Humidité	↗ ou ↘	Trop faible ou haute : défauts, pores
	Température	↘	

Afin de pouvoir moduler efficacement la fabrication des structures électrofilées et mener à la morphologie et propriétés mécaniques désirées, il est important de comprendre les relations entre les différents paramètres de production et leurs implications sur le diamètre et l'arrangement des fibres résultantes.

1.4.2.1 Diamètre des fibres électrofilées

1.4.2.1.1 Paramètres liés à la solution polymérique

La viscosité est un facteur déterminant affectant le diamètre des fibres des structures électrofilées : une viscosité trop faible empêche ainsi la formation des fibres. À son augmentation, les fibres générées présentent des défauts ressemblant à des billes, dont la forme sphérique s'allonge avant de former des fibres uniformes, et dont le diamètre augmente avec la viscosité (Khoo & Koh, 2016; Li & Wang, 2013; Tan et al., 2005). Ce paramètre est lié à la concentration en polymère ainsi que sa masse molaire.

Il existe une concentration seuil au-delà de laquelle l'électrofilage peut avoir lieu, assurant le nombre d'enchevêtrements nécessaire à la stabilité du jet (Gupta, Elkins, Long, & Wilkes, 2005). La concentration critique d'enchevêtrements C_e est définie par l'équation suivante (tirée de (Eda & Shivkumar, 2006)) :

$$C_e = \frac{\rho M_e^0}{M} \quad (1.5)$$

Avec ρ la densité du polymère, M sa masse moléculaire, et M_e^0 la masse moléculaire moyenne entre enchevêtrements.

La Figure 1.15 représente les différents régimes de solution possibles selon leur concentration (Gupta et al., 2005) :

- (A) Dans une solution très diluée ($C < C^*$), la densité en enchevêtrements est faible : les chaînes polymériques n'interagissent pas entre elles. La solution est alors éjectée sous forme de gouttes vers le collecteur, il s'agit d'électronébulisation (*electrospraying*).

- (B) Avec l'augmentation de la concentration ($C^* < C < C_e$), les chaînes polymériques commencent à se toucher sans enchevêtrements significatifs. Il s'agit d'une situation intermédiaire entre l'électronébulisation et l'électrofilage. Ceci génère un mélange entre des gouttelettes de solution et des fibres avec des défauts sous forme de billes.
- (C) Avec une plus forte concentration ($C > C_e$), les enchevêtrements deviennent assez importants, les billes s'allongent pour former finalement des fibres uniformes.

À concentration très élevée, la solution devient très visqueuse. Cette viscosité nuit à la déformation de la goutte, ainsi qu'à l'évaporation du solvant qui reste piégé dans le jet durant l'électrofilage, et des fibres humides atteignent le collecteur. Celles-ci fusionnent ou s'aplatissent sous forme de ruban.

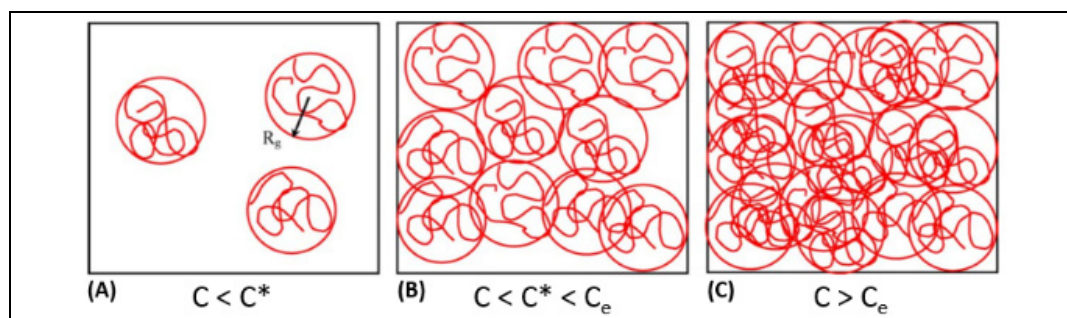


Figure 1.15 Représentation des régimes de solution. Avec R , le rayon de giration d'une chaîne de polymère ; C , la concentration de la solution ; C^* , la concentration critique de recouvrement (les chaînes commencent à se toucher) ; C_e , la concentration critique d'enchevêtrements (les chaînes s'enchevêtrent).

Tirée de Gupta et al. (2005)

La masse moléculaire reflète le nombre d'enchevêtrements de chaînes de polymères dans une solution (Bhardwaj & Kundu, 2010). Un modèle de prédiction de la morphologie des fibres a été établi par Shenoy et al. à partir du calcul du nombre d'enchevêtrements en solution pour certains polymères. Ainsi, il faut atteindre une valeur minimale d'enchevêtrements $(n_e)_{soln}$ afin de générer des fibres uniformes (Figure 1.16). Plus la masse moléculaire du polymère est faible, et plus il faut concentrer la solution pour assurer cette valeur et un nombre d'enchevêtrements suffisant (Shenoy, Bates, Frisch, & Wnek, 2005).

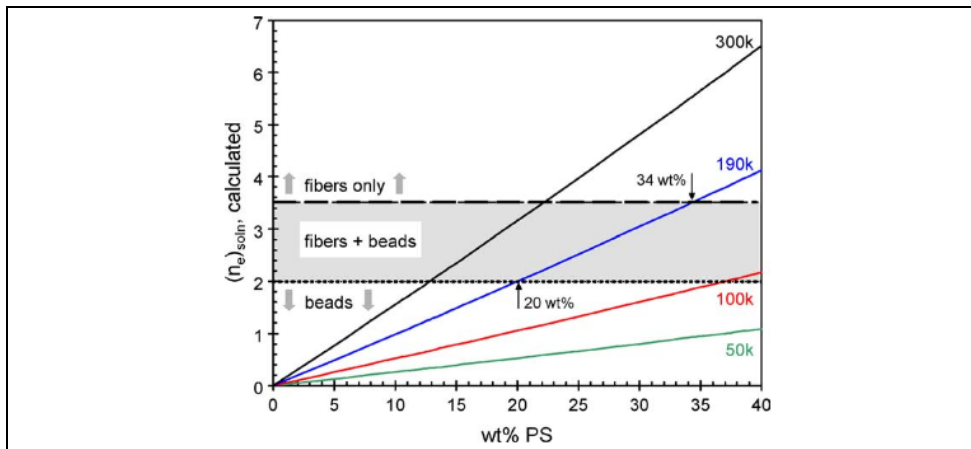


Figure 1.16 Représentation graphique du nombre d'enchevêtrements en solution en fonction de la concentration pour une solution de polystyrène
Tirée de Shenoy et al. (2005)

La conductivité électrique de la solution est également un facteur primordial dans le contrôle de la morphologie des structures électrofilées. En effet, ce paramètre reflète la capacité à transporter les charges électriques. Ainsi, plus une solution sera conductrice, plus le jet qui en sera issu répondra aux forces d'étirement générées par le champ électrostatique, son élongation sera alors accrue et se traduira par une diminution du diamètre des fibres collectées. Ce paramètre est lié au choix du solvant pour la solution. La conductivité peut être augmentée avec l'ajout de sels dans la solution (Khoo & Koh, 2016; Li & Xia, 2004; Tan et al., 2005).

1.4.2.1.2 Paramètres liés au procédé

Le débit de la solution influence le diamètre des fibres et est à relier avec d'autres paramètres du procédé. En effet, il est nécessaire d'avoir un débit minimum pour surmonter la tension superficielle et former une fibre et un débit réduit permettra l'évaporation du solvant. Avec l'augmentation de la vitesse, la quantité de polymère disponible pour l'électrofilage croît et cela entraînera une augmentation du diamètre des fibres. Toutefois, si le débit est trop rapide, le solvant ne pourra s'évaporer complètement avant d'atteindre le collecteur et cela créera des défauts dans la morphologie des fibres (Li & Xia, 2004; Li & Wang, 2013).

Ainsi, ce paramètre est fortement lié à la distance entre l'aiguille et le collecteur. Il faut une distance minimum pour permettre l'évaporation du solvant sans engendrer de défauts. De la même manière, agrandir cette distance fera croître le temps de vol du jet de polymère, les fibres collectées diminueront alors en diamètre (Khoo & Koh, 2016; Li & Wang, 2013).

Le voltage est aussi un facteur important du procédé. Cependant, une polémique existe quant à son effet sur la morphologie des structures électrofilées. En effet, des résultats contradictoires peuvent être observés dans la littérature. Avec l'augmentation du voltage, la densité de charges de la solution est accrue, ayant pour effet d'allonger le jet de polymères et d'obtenir des fibres de diamètre moindre, ce qui a été démontré dans la majorité des recherches (Huang et al., 2003; Li & Xia, 2004; Tan et al., 2005). Cependant, des études ont montré que le diamètre des fibres peut croître avec le voltage jusqu'à un certain seuil, au-delà duquel le diamètre diminue (Figure 1.17) (Mazoochi, Hamadani, Ahmadi, & Jabbari, 2012). L'augmentation de la tension peut également entraîner une accélération plus rapide de la goutte vers le collecteur, réduisant alors le temps de vol du jet et menant à une fibre plus large. De plus, la formation de jets secondaires peut également se produire à haute voltage et entraîner la formation de multiples fibres de plus petit diamètre (Teo, 2012).

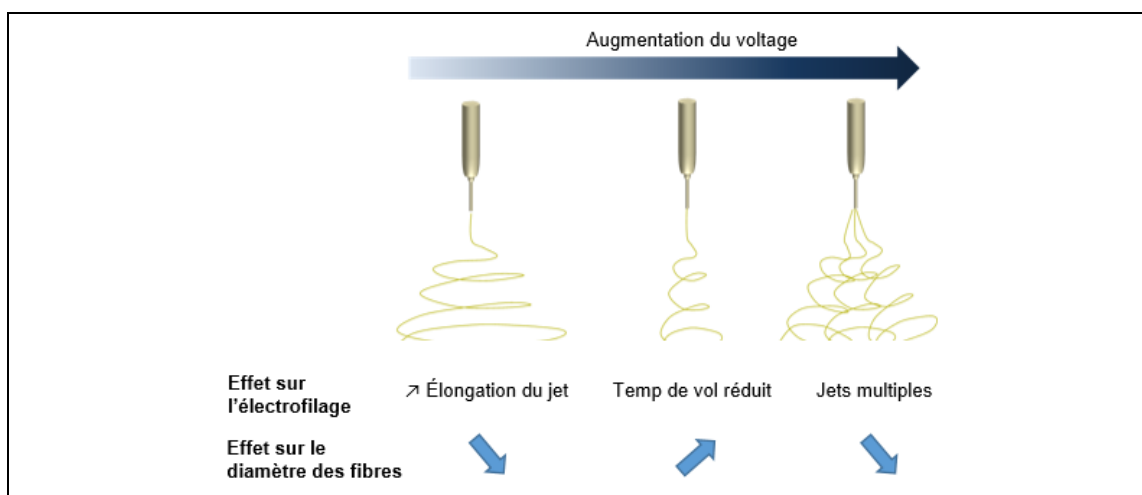


Figure 1.17 Effets de l'augmentation du voltage sur le diamètre des fibres électrofilées.

Les symboles \nearrow et \searrow signifient respectivement « augmente » et « diminue ».

Adaptée de Teo (2012)

1.4.2.1.3 Paramètres liés aux conditions ambiantes

Les paramètres ambiants affectent la formation des fibres électrofilées de par leurs effets sur d'autres facteurs du procédé. Ainsi, le taux d'humidité jouera un rôle dans l'évaporation du solvant, de même que la température et la pression. Par exemple, une faible humidité peut accroître la vitesse d'évaporation du solvant, alors qu'une humidité élevée peut la retarder et mener à de larges fibres en raison de la neutralisation des charges sur le jet et des faibles forces d'étirement (Bhardwaj & Kundu, 2010; Li & Wang, 2013). Néanmoins, des résultats contradictoires sur l'augmentation du taux d'humidité et le diamètre des fibres résultantes ont été rapportés (De Vrieze et al., 2009; Khoo & Koh, 2016). De plus, l'augmentation de la température engendrera une diminution de la viscosité de la solution et, par conséquent, également celle du diamètre des fibres (De Vrieze et al., 2009; Khoo & Koh, 2016).

1.4.2.2 Morphologie des structures

En plus du contrôle du diamètre des fibres, les paramètres de la technique d'électrofilage autorisent également de moduler la morphologie de la structure fabriquée à divers niveaux, dont nous citerons quelques exemples.

La porosité des structures peut être ajustée en lien avec la dimension des fibres. Avec un procédé classique d'électrofilage, la dimension des pores est généralement croissante avec l'augmentation du diamètre moyen des fibres électrofilées (Hasan et al., 2014). Il est néanmoins possible d'augmenter la densité des fibres de même taille, et ainsi réduire la porosité de la structure résultante, en contrôlant l'étendue de la déposition des fibres au moyen d'un anneau conducteur placé devant le collecteur (Figure 1.18) (Soliman et al., 2011).

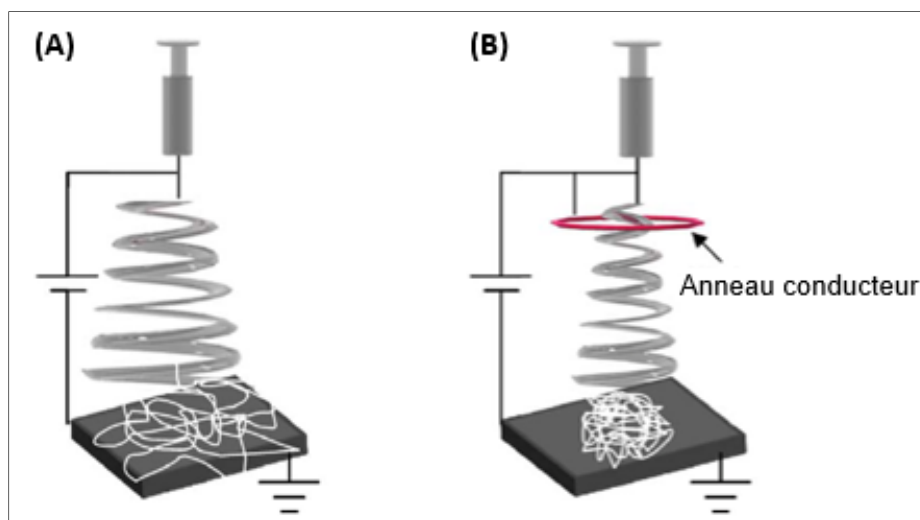


Figure 1.18 Représentation schématique de la densité de fibres déposées pour (A) un procédé d'électrofilage classique et (B) avec l'emploi d'une électrode conductrice en forme d'anneau, placée devant le collecteur

Adaptée de Soliman et al. (2011)

La nature du solvant permet de contrôler la formation de pores en surface des fibres résultantes, grâce à une évaporation rapide du solvant. Ceci dépend de son caractère volatil, afin d'assurer une évaporation suffisante pendant le vol du jet entre l'aiguille et le collecteur (Khoo & Koh, 2016), mais également des facteurs cités précédemment. La porosité des fibres peut aussi être contrôlée par la géométrie du collecteur (Bhardwaj & Kundu, 2010; Teo & Ramakrishna, 2006).

La forme du collecteur va affecter la morphologie des fibres résultantes et la structure tridimensionnelle résultante (Teo & Ramakrishna, 2006). L'emploi de deux électrodes parallèles va aligner les fibres entre elles, perpendiculairement à l'orientation des électrodes (Li, Wang, & Xia, 2003). Dans le cas d'un mandrin comme collecteur, sa vitesse de rotation va permettre de contrôler l'orientation des fibres au sein de la structure, dans le sens de la rotation du mandrin (Figure 1.19). Ainsi, une vitesse croissante engendrera un plus fort alignement des fibres. Ceci affectera alors les propriétés mécaniques de la structure (Teo & Ramakrishna, 2006).

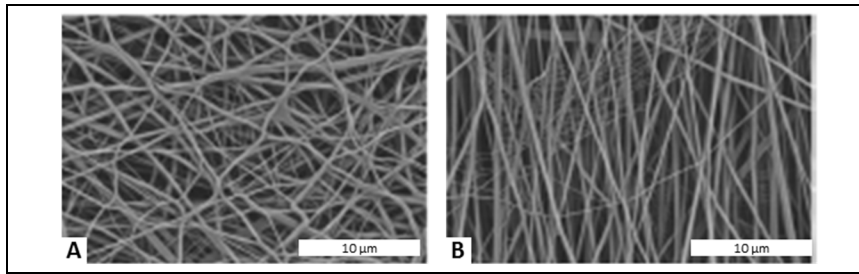


Figure 1.19 Images au MEB de fibres électrofilées de morphologie (A) aléatoire ou (B) alignée (magnification x5k)
Adaptée de Whited et Rylander (2014)

L'électrofilage est une méthode de fabrication de matériau textile nontissé, utilisant des forces électrostatiques pour créer des fibres polymériques de l'ordre de quelques nanomètres à quelques microns. De nombreux paramètres sont impliqués dans le procédé et sont liés à la solution polymérique, au système d'électrofilage et aux conditions ambiantes. La compréhension de l'implication des divers paramètres dans la formation des fibres permet de fabriquer des matériaux dont la dimension des fibres ainsi que la morphologie de la structure résultante, notamment au niveau de sa porosité et de l'arrangement des fibres électrofilées, peuvent être modulées.

1.5 Stratégies à la base du projet

La nécessité de trouver une alternative aux greffons vasculaires autologues et aux prothèses conventionnelles en PET ou ePTFE a conduit au développement de nouvelles structures poreuses et de stratégies en ingénierie tissulaire afin d'approcher les propriétés des vaisseaux sanguins natifs. De nombreux matériaux, synthétiques et naturels, ont été employés pour la création de conduits aux propriétés mécaniques et biologiques variables. Malgré de nombreuses améliorations et des résultats *in vivo* prometteurs, les premiers essais cliniques n'ont toujours pas confirmé les résultats expérimentaux. L'inadéquation des propriétés mécaniques des prothèses développées avec les vaisseaux natifs et la réaction défavorable de l'hôte restent encore des obstacles majeurs à leur application clinique et nécessite des améliorations afin de mener à la fabrication d'une prothèse idéale pour le remplacement d'artère de petit calibre.

Le point critique dans la conception d'une prothèse vasculaire consiste en leur disponibilité rapide. Des pathologies sévères nécessitent une prise en charge immédiate. Malgré la supériorité des prothèses ensemencées en terme de perméabilité par rapport aux greffons acellulaires, il n'en reste pas moins que cette approche ne répond pas aux besoins urgents des patients (cf. section 1.2.2.2). Une prothèse vasculaire prête à l'emploi permettrait de résoudre cette problématique. L'implantation de conduits acellulaires visant l'endothélialisation *in situ* éviterait les limitations liées aux cultures cellulaires et l'emploi d'un bioréacteur. Cette approche pourrait mener à la fabrication de prothèses vasculaires prêtes à l'emploi avec une technique simplifiée, une durée et des coûts de fabrication réduits (Catto et al., 2014).

Ainsi, les **stratégies synthétiques acellulaires** persistent car elles sont plus réalistes d'un point de vue clinique, même si elles ne restaurent pas la fonctionnalité biologique du tissu.

La multitude de travaux et l'hétérogénéité des approches disponibles dans la littérature compliquent leur évaluation et la mise en évidence des avancées les plus prometteuses dans la conception des substituts vasculaires. Néanmoins, aucun type de structure ou de matériau ne semble prévaloir (cf. section 1.3.2).

Dans le cadre de ce projet, l'**électrofilage** a été choisi en tant que technique de fabrication en raison de sa polyvalence, du fait de ses nombreuses possibilités techniques en termes de matériaux et de structures pour la fabrication de matrices biomimétiques. Particulièrement, les fibres électrofilées ont déjà démontré leur potentiel pour imiter la morphologie et les propriétés mécaniques de tissus biologiques (cf. section 1.3.3.2). Il serait possible d'ajuster les paramètres de fabrication afin de viser les propriétés mécaniques cibles définies dans le cahier des charges, ainsi que de produire diverses dimensions de prothèses.

Ce projet de doctorat constitue la continuité de projets initiés dans les groupes du Pr. Lerouge et du Pr. Ajji. Les travaux antérieurs de leurs laboratoires ont permis de mettre en évidence *in vitro* le caractère endothélialisable de nanofibres aléatoires électrofilées en PET (Savoji et al., 2014), dont le potentiel d'endothélialisation est accru par sa combinaison avec un dépôt riche en amines primaires (L-PPE:N) recouvert de sulfate de chondroïtine (CS) (cf. section 1.2.2.2) (Savoji et al., 2017). Ce **revêtement bioactif** a démontré sa capacité à promouvoir la formation

d'une monocouche complète de CE résistante à l'écoulement (Savoji et al., 2017). Ce type de morphologie endothélialisable combiné au revêtement développé en fait la stratégie antithrombotique à la base du projet.

Cependant, l'emploi du modèle analytique développé par Gauthier (2016) a permis d'exposer la faible compliance des prothèses électrofilées conçues à partir du PET. Ainsi, le développement d'une prothèse vasculaire compliant et endothélialisable constitue la suite logique des travaux et se définit en tant qu'objectif général de ce projet.

Malgré l'existence de la norme ANSI 7198, l'insuffisance de directives et de standards se fait ressentir dans les stratégies de conception de prothèses vasculaires, avec un manque d'uniformisation des essais des prototypes ou de la définition de valeurs cibles des propriétés essentielles des prothèses (cf. section 1.3.2).

Dans notre approche, nous employons un **modèle analytique** en tant que guide dans la sélection d'un matériau pour la fabrication d'une prothèse, dans l'optique d'instaurer une démarche systématique permettant de faciliter les pratiques de conception. Ce modèle permet ainsi de prédire le succès de prothèses vasculaires sur la base de leurs propriétés mécaniques et géométriques, en considérant des valeurs cibles de compliance et pression à la rupture adéquatement sélectionnées (cf. section 1.2.1.2 et 1.2.1.3) (Gauthier, 2016). L'emploi de ce type de modèle dans la conception de nouvelles prothèses éviterait la mise en œuvre d'essais de caractérisation potentiellement destructifs et permettrait un gain de temps et de ressources.

Ce projet de doctorat se concentre sur l'élaboration de nouvelles prothèses vasculaires par électrofilage, à la fois compliantes et endothélialisables, et se repose sur les stratégies et méthodes développées antérieurement dans les laboratoires des Pr. Lerouge et Ajji.

Malgré les dernières approches multicouches dans le domaine des prothèses électrofilées (cf. section 1.3.4.3), une structure monocouche est tout d'abord développée comme preuve de concept, avant d'envisager les recherches vers la conception d'une structure multicouche dans le but de reproduire la morphologie des vaisseaux et de favoriser les interactions avec le milieu biologique.

CHAPITRE 2

HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS DE RECHERCHE

2.1 Cadre du projet

Les prothèses commerciales de petit diamètre ne sont pas satisfaisantes dans le remplacement de vaisseaux de petit calibre en raison de leur incompatibilité mécanique avec les artères natives et de leur caractère thrombogène lié à l'absence ou à l'insuffisance de recouvrement de leur surface luminale par des cellules endothéliales.

Une prothèse vasculaire idéale serait comparable aux artères natives selon les exigences biologiques et mécaniques définies dans le cahier des charges (cf. section 1.2) et permettrait ultimement leur régénération *in vivo*.

Le développement de cet implant idéal étant confronté à de nombreux défis, des jalons spécifiques ont été définis dans le cadre de ce projet afin de mener en premier lieu à la conception d'une prothèse vasculaire de petit diamètre à la fois compliant et aux propriétés de surface non-thrombogènes et endothélialisables.

L'**objectif général** de ce projet est de développer une nouvelle génération de prothèse vasculaire de petit diamètre afin de réduire les complications cliniques, par la combinaison d'un revêtement bioactif à une structure tubulaire compliant électrofilée.

Hypothèse générale : Une prothèse vasculaire compliant avec un revêtement bioactif à base de sulfate de chondroïtine à la surface luminale et une structure fibreuse endothélialisable permettrait d'obtenir une monocouche stable et confluyente de cellules endothéliales et de mener à une diminution des complications cliniques post-implantation observées avec des prothèses conventionnelles.

2.2 Objectifs et hypothèses spécifiques

2.2.1 Premier objectif

Objectif 1 : Concevoir des structures tubulaires compliantes par électrofilage et évaluer leur potentiel *in vitro* en tant que prothèse vasculaire de petit diamètre par rapport à une solution commerciale.

Objectifs opérationnels :

- 1a. Sélectionner un matériau approprié à l'aide d'un modèle analytique et de la revue de littérature.
- 1b. Fabriquer par électrofilage et caractériser une structure tubulaire ayant une morphologie endothélialisable.
- 1c. Déterminer l'épaisseur minimale nécessaire à l'étanchéité des structures développées.
- 1d. Caractériser mécaniquement une prothèse commerciale et comparer ses performances *in vitro* avec les structures développées.

Hypothèses :

- Par ajustement des paramètres de fabrication, il est possible de reproduire à partir d'un mélange polymérique de polyuréthane/polycaprolactone des morphologies de fibres identifiées pour la promotion de l'endothélialisation.
- Il est possible d'obtenir une structure tubulaire plus compliante qu'une prothèse commerciale en polytétrafluoroéthylène expansé (ePTFE) par électrofilage d'un mélange polyuréthane/polycaprolactone.
- Il existe une épaisseur minimale au-delà de laquelle une structure fibreuse devient étanche.

2.2.2 Second objectif

Objectif 2 : Évaluer le potentiel d'une prothèse électrofilée compliant et bioactive en tant que solution de remplacement d'un vaisseau de petit diamètre, par des essais *in vitro* et *in vivo*.

Objectifs opérationnels :

- 2a. Combiner un revêtement bioactif composé d'une couche riche en amines primaires polymérisée par plasma (L-PPE:N) et de sulfate de chondroïtine à la surface luminale des prothèses électrofilées et vérifier leurs performances mécaniques et étanchéité.
- 2b. Déterminer le caractère implantable des prothèses électrofilées par l'évaluation de leur résistance à la suture et leur stabilité face à un vieillissement chimique⁹.
- 2c. Évaluer la perméabilité (*patency*) *in vivo* et l'endothélialisation des prothèses électrofilées bioactives en comparaison avec une prothèse commerciale dans un modèle animal, sans pré-ensemencement.

Hypothèses :

- Le revêtement à base d'une couche L-PPE:N et de sulfate de chondroïtine peut être transféré sur un matériau électrofilé en polyuréthane/polycaprolactone sans en modifier les propriétés (compliance, étanchéité).
- Une structure tubulaire électrofilée en polyuréthane/polycaprolactone maintient ses propriétés morphologiques et mécaniques au travers d'un vieillissement chimique.
- Le revêtement à base d'une couche L-PPE:N et de sulfate de chondroïtine, déposé sur des fibres électrofilées ayant une morphologie endothélialisable, permet de promouvoir *in vivo* l'endothélialisation complète de la surface luminale des prothèses, sans pré-ensemencement.
- Une prothèse vasculaire non-thrombogène plus compliant qu'une prothèse commerciale en ePTFE obtient de meilleurs taux de perméabilité *in vivo*.

⁹ Le vieillissement chimique implique des modifications de la structure chimique des polymères.

2.2.3 Troisième objectif

Les deux objectifs précédents se sont concentrés sur la preuve de concept pour un implant monocouche compliant favorisant l'endothélialisation. Cependant, d'après la revue de littérature, les recherches sur les prothèses électrofilées tendent maintenant à se focaliser sur des systèmes multicouches dans le but de reproduire la morphologie des vaisseaux.

Dans ce dernier objectif, nous visons à apporter des connaissances sur l'adhésion entre couches d'une structure électrofilée, ce qui est important à prendre en compte lors de la conception de structures électrofilées multicouches, comme les implants vasculaires.

Objectif 3 : Étudier l'impact des paramètres dans l'adhésion entre deux couches électrofilées, afin de proposer des pistes pour la conception d'implant multicouche par électrofilage.

Objectifs opérationnels :

- 3a. Décrire une méthode de caractérisation pour l'étude de la force d'adhésion entre des matériaux électrofilés.
- 3b. Évaluer l'impact du diamètres des fibres, du solvant et d'un traitement thermique sur la force d'adhésion de structures électrofilées multicouches.
- 3c. Définir des lignes directrices pour optimiser la force d'adhésion entre des systèmes électrofilés multicouches.

Hypothèses :

- La force d'adhésion à l'interface de matériaux électrofilés est contrôlée par le nombre de points de contact entre les couches.
- L'emploi de solvants différents entre les couches d'un même matériau électrofilé réduit la force d'adhésion.
- Un traitement thermique permet d'augmenter la force d'adhésion entre les couches.

Les chapitres suivants présentent les travaux réalisés pour répondre à ces objectifs spécifiques.

CHAPITRE 3

TOWARDS COMPLIANT SMALL-DIAMETER VASCULAR GRAFTS: PREDICTIVE ANALYTICAL MODEL AND EXPERIMENT

Bouchet Mélusine^{*1,2,3}; Gauthier Matthieu^{*3}; Maire Marion^{1,2}; Ajji Abdellah^{&3,4}; Lerouge Sophie^{&1,2}

¹Department of Mechanical Engineering, École de technologie supérieure (ÉTS),
Montreal, QC, H3C 1K3, Canada

²Laboratory of Endovascular Biomaterials (LBeV), Research Centre, Centre Hospitalier de
l'Université de Montréal (CRCHUM), Montreal, QC, H2X 0A9, Canada

³CREPEC, Department of Chemical Engineering, École Polytechnique de Montréal,
Montreal, QC, H3C 3A7, Canada

⁴Institute of Biomedical Engineering, École Polytechnique de Montréal,
Montreal, QC, H3C 3A7, Canada

*: Equivalent contribution to the work

&: Co-corresponding author

Article publié dans « Materials Science and Engineering C: Materials for Biological
Applications », mars 2019

3.1 Mise en contexte

Ce premier article publié répond au premier objectif spécifique du projet de doctorat : « Concevoir des structures tubulaires compliantes par électrofilage et évaluer leur potentiel *in vitro* en tant que prothèse vasculaire de petit diamètre par rapport à une solution commerciale ». Ce travail se place dans la continuité des travaux de doctorat de Houman Savoji (Savoji, 2016) et de maîtrise de Matthieu Gauthier (Gauthier, 2016), durant laquelle il a pu développer notamment un modèle analytique qui est présenté et utilisé dans cet article dans le but d'améliorer les pratiques de conception des implants vasculaires. Les autres étapes de ce travail ont été réalisées majoritairement par M. Bouchet, incluant la fabrication des structures électrofilées, les expériences, le traitement des résultats et la préparation du manuscrit. Les résultats obtenus ont permis d'introduire les choix de conception exposés au CHAPITRE 4.

Les travaux relatifs à cet article ont été présentés aux conférences International Biotechnology Symposium and Exhibition (2018) et Canadian Biomaterials Society Annual Meeting (2018), ainsi qu'au Colloque étudiant CRÉPEC (2018).

3.2 Abstract

The search for novel, more compliant vascular grafts for the replacement of blood vessels is ongoing, and predictive tools are needed to identify the most promising biomaterials. A simple analytical model was designed that enables the calculation of the ratio between the ultimate stress (σ_{ult}) and the elastic modulus (E). To reach both the compliance of small-diameter coronary arteries (0.0725 %/mmHg) and a burst pressure of 2031 mmHg, a material with a minimum σ_{ult}/E ratio of 1.78 is required. Based on this result and on data from the literature, random electrospun Polyurethane/Polycaprolactone (PU/PCL) tubular scaffolds were fabricated and compared to commercial ePTFE prostheses. PU/PCL grafts showed mechanical properties close to those of native arteries, with a circumferential elastic modulus of 4.8 MPa and a compliance of 0.036 %/mmHg at physiological pressure range (80-120 mmHg) for a 145 μm -thick prosthesis. In contrast, commercial expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) grafts presented a high Young's modulus (17.4 MPa) and poor compliance of 0.0034 %/mmHg. The electrospun PU/PCL did not however reach the target values as its σ_{ult}/E ratio was lower than expected, at 1.54, well below the calculated threshold (1.78). The model tended to overestimate both the compliance and burst pressure, with the differences between the analytical and experimental results ranging between 13 and 34 %, depending on the pressure range tested. This can be explained by the anisotropy of random electrospun PU/PCL, which did not present a perfectly linear elastic behavior, in contrast to the hypotheses of our model. Impermeability tests showed that the electrospun scaffolds were impermeable to blood for all thicknesses above 50 μm . In conclusion, this analytical model allows to select materials with suitable mechanical properties for the design of small-diameter vascular grafts. The novel electrospun PU/PCL tubular scaffolds showed strongly improved compliance as compared to commercial ePTFE prostheses.

Highlights:

- Simple analytical model proposed to select materials for vascular graft design.
- Model predicted compliance and burst pressure based on materials properties.
- Ratio of ultimate stress to elastic modulus reached 1.78 for small-diameter grafts.
- Electrospun PU/PCL grafts exhibited mechanical properties close to native arteries.

Keywords: Vascular grafts; analytical model; electrospinning; compliance; burst pressure; permeability.

3.3 Introduction

Medical challenges associated with small-diameter vascular grafts (VG, $\varnothing \leq 6$ mm) are well known in the cardiovascular field. Synthetic grafts are required when there are no autologous arteries or veins available for the replacement of diseased blood vessels. Commercial vascular grafts made from polyethylene terephthalate (PET) or expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) present favorable outcomes for large diameter arteries, but are prone to failure when used for small-diameter vessels (Chlupác et al., 2009; McClure, Wolfe, Rodriguez, & Bowlin, 2011; Singh et al., 2015). This is mainly due to the absence of adequate endothelialisation on the lumen side of prostheses, as well as a mismatch of mechanical properties between these latter and native arteries, which will cause thrombosis and intimal hyperplasia, respectively (Abbott, Megerman, Hasson, L'Italien, & Warnock, 1987; Stewart & Lyman, 1992).

These complications could be mitigated by designing a graft with a material that matches the mechanical and structural properties of the native tissue as closely as possible. Many attempts have therefore been made to design vascular grafts with better compliance while maintaining a safe burst pressure (Desai, Seifalian, & Hamilton, 2011). Compliance is the capacity of the prosthesis to expand in the circumferential direction in response to a pulsatile pressure (American National Standards Institute, 2010), while the burst pressure is the pressure that will cause the rupture of the prosthesis. The compliance of a human coronary artery at the physiological pressure range is 0.0725 %/mmHg (Shaw et al., 2002) and the burst pressure of

a mammary artery is 2031 mmHg (L'Heureux et al., 2006). These should be the target values when designing small-diameter VG for coronary arteries replacement. Although promising work has been performed in a bid to find new biomaterials, to the best of our knowledge, current prostheses are either unable to reach such target values of native arteries (Castillo-Cruz et al., 2018) or are difficult to assess, since the compliance and burst pressure are not specified or the materials have been validated using target values based on saphenous veins (Yin et al., 2013) or pork arteries (Li et al., 2017; Tan et al., 2016) instead of the genuine artery that is meant to be replaced.

In addition to the previous parameters, the wall thickness is a critical element in any VG design. It plays a key role in the compliance and burst pressure strength obtained. Indeed, attempts to reduce the wall thickness in order to increase compliance to the target values of native arteries (Bazergui et al., 2002; Castillo-Cruz et al., 2018) can lead to reduced burst pressure, which may then be insufficient. The wall thickness also has an influence on blood permeability and graft handling by surgeons during implantations. Thus, obtaining an adequate balance between all mechanical properties and geometrical parameters, especially blood permeability, burst pressure and compliance, can be challenging when choosing the thickness of the prosthesis. In order to develop an approach that avoids trial and error, there is a need for a versatile mathematical model that helps narrow the choice of material and optimize the geometry.

Electrospun mats are particularly interesting for such biomedical applications as human tissues are characterized by nanometric fibrous structures. Hence, electrospun fibers have shown their ability to mimic the morphology of biological systems (Huang et al., 2003; Zanatta et al., 2012). Moreover, the fiber diameter and porosity can be adjusted to promote cell interaction, favor cell invasion (or rather, limit cell penetration), for example, to form an endothelial monolayer on the lumen surface (Hasan et al., 2014; Savoji et al., 2017).

The goal of this study was to develop an analytical model to serve as an easy tool to select materials for small-diameter VG design for the replacement of coronary arteries; this selection would be based on the prediction of the materials' compliance and burst pressure determined

from the mechanical properties obtained from uniaxial tensile tests. The second aim of this work was to choose a proper material based on this model, fabricate electrospun tubular scaffolds, and then compare their in vitro performances with that of the commercial ePTFE prosthesis.

3.4 Materials and Methods

3.4.1 Analytical model

The analytical model was created on Matlab[®] using the analytical formulas of an internally pressurised cylinder to calculate compliance and burst pressure (Bazergui et al., 2002; Gauthier, 2016). The formulas for thick cylinders were chosen instead of the easier thin cylinder model. With the latter being a simplification only suitable when the radius divided by the thickness gives a result of 10 or more (Bazergui et al., 2002), the more complete model was used to allow a wider range of prosthesis thicknesses in the analysis.

The intrinsic material properties entered in the model were the Poisson's ratio (ν) and the Young's modulus (E). Therefore, this model could be used for an isotropic material in the elastic region of its mechanical properties. The geometric parameters in the model were the internal radius (R_i) and the thickness (t) of the cylinder wall. The external radius (R_e) was calculated from " R_i " and " t " at rest (no internal pressure). The length of the cylinder was fixed, and its value didn't influence the results as this wasn't a variable in the calculations.

A pressure difference (dP) is applied uniformly inside the cylinder, and induces circumferential and radial stresses, respectively σ_C and σ_R . It also creates a longitudinal stress σ_L since the length is fixed. These three stresses are illustrated in Figure 3.1. The effective von Mises stress σ_e and the radial displacements are then calculated based on the preceding. The stresses and displacement can be obtained at any point in the thickness, according to equations 3.1-3.4 (Bazergui et al., 2002):

$$\sigma_R = \frac{R_i^2 * dP}{R_e^2 - R_i^2} * \left(1 - \frac{R_e^2}{R_i^2}\right) \quad (3.1)$$

$$\sigma_C = \frac{R_i^2 * dP}{R_e^2 - R_i^2} * \left(1 + \frac{R_e^2}{R_i^2}\right) \quad (3.2)$$

$$\sigma_L = 2 * \mu * \frac{R_i^2 * dP}{R_e^2 - R_i^2} \quad (3.3)$$

$$\sigma_e = \frac{1}{\sqrt{2}} * \sqrt{(\sigma_R - \sigma_C)^2 + (\sigma_C - \sigma_L)^2 + (\sigma_L - \sigma_R)^2} \quad (3.4)$$

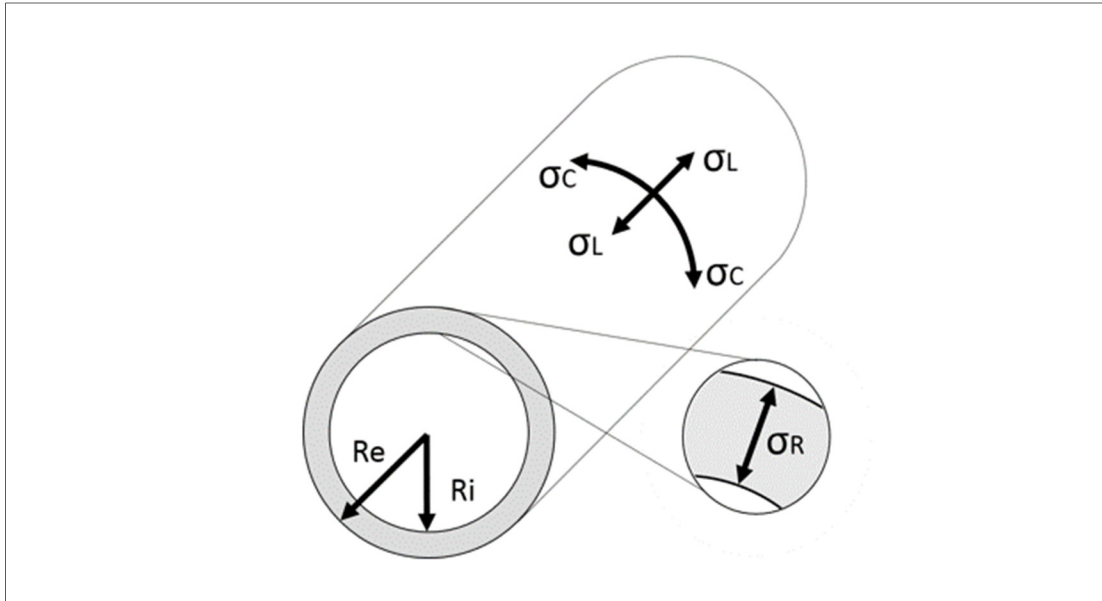


Figure 3.1 Schematic illustration of stresses involved in the model calculation. σ_C , σ_R and σ_L represents respectively the circumferential stress, the radial stress and the longitudinal stress inside the cylinder with a fixed length and a uniformly applied internal pressure. The wall thickness t represents the difference between the external radius R_e and the internal radius R_i .

The compliance (C) is calculated following Equation (3.5), where dR_i is the difference between the internal radius at the highest and the lowest pressures. The variation of internal pressure is always 40 mmHg. The compliance is expressed in %/mmHg.

$$C = \frac{dR_i}{R_i * dP} * 100 \quad (3.5)$$

The model is also used to calculate the stress at burst pressure by changing the internal pressure to the target value of 2031 mmHg. The script was used with known material parameters (ν and E) and the thickness of the wall was iterated until the target compliance was reached. The stress at burst pressure was calculated from that thickness. This stress value represents the minimum ultimate stress (σ_{ult}) a material needs to be able to reach the target burst pressure. Each value of modulus was then associated with this stress value. Calculations were done for vascular grafts ranging from 3 to 6 mm in diameter.

3.4.2 Fabrication of tubular scaffolds

3.4.2.1 Materials

Thin wall ePTFE prostheses (Gore-Tex[®], W. L. Gore & Associates, Flagstaff, U.S.A) were selected for their prevalence on the VG market. Polyurethane (PU, MDI-polyester/polyether polyurethane, CAS 68084-39-9), polycaprolactone (PCL, $M_n = 80\ 000$) and polyethylene oxide (PEO, viscosity average molecular weight $M_v = 600\ 000$) were purchased from Sigma-Aldrich Canada Co., as well as the chemicals, tetrahydrofuran (THF) and N,N-Dimethylformamide (DMF).

3.4.2.2 Electrospinning

PU/PCL (8 wt%) solutions were prepared by dissolving pellets consisting of 90 % PU/10 % PCL (w/w) in a 1:1 mix of THF and DMF. PU/PCL tubular scaffolds were produced on a 6-mm-diameter rotating mandrel using a homemade electrospinning setup. Table 3.1 presents the details of the electrospinning parameters for each solution. Parameters for the electrospinning of PU/PCL tubular scaffolds were optimized in order to obtain a similar morphology as PET mats previously developed by our team to limit EC invasion and reach a monolayer of EC cells (Savoji et al., 2017). To facilitate unmolding of the prosthesis, a layer of PEO (0.5 mL of a 3 wt% PEO solution) was first electrospun on the mandrel. The unmolding process consisted in removing the PEO layer by immersing the mandrel in EtOH 50 % before recovering the PU/PCL tubular scaffold.

Table 3.1 Process conditions used to produce electrospun tubular scaffolds

Material		Process parameters						Collector		Ambient	
Polymer	Concentration wt%	Tip-collector distance (cm)	Voltage (kV)	Flow rate (mL/h)	Needle size (G)	Needle trans lation speed (cm/s)	Translation speed (cm/s)	Ø (mm)	Linear velocity (cm/s)	RH (%)	Temp. (°C)
PU/PCL	8	20	12	0.15	21	11.6	2.2	6	3.8	19-29	22-25
PEO	3	20	30	2	18	22.5	2.2	6	3.8	19-21	22-25

3.4.3 Materials characterization

Flat rectangular samples were cut from the tubular scaffolds for the characterization of their morphology and tensile properties.

3.4.3.1 Scaffolds morphology

Samples were sputter-coated with a 20 nm-thickness layer of chromium under vacuum. Electrospun nanofibers layouts were then evaluated by scanning electron microscopy (SEM) using a tabletop TM3030Plus instrument (Hitachi, Tokyo, Japan) at 15 kV. Images were analyzed using ImageJ (NIH, U.S.A.) software. Diameters were calculated based on about 200 different fibers from five different scaffolds. Pores were identified by an approximation of pores formed by fibers in a same plane in SEM images. The evaluation was done through two methods: (1) fitting polygonal pore shapes, allowing the calculation of the mean pore area; (2) manually fitting an ellipse inside the pore shape. The mean pore size is the average of the long and the short axis for each fitted ellipse. Calculations were made from twenty random measurements per image on ten different images.

3.4.3.2 Samples dimensions

Sample thicknesses were measured using a Progage Thickness Tester (Thwing-Albert Instrument Company, West Berlin, U.S.A.). Samples were sandwiched between two PET films to avoid errors due to compression. The length and width of each sample was measured using a caliper (Mitutoyo, Kawasaki, Japan).

3.4.3.3 Tensile tests

The tensile properties were evaluated using a uniaxial tensile testing machine (ElectroPulsTM E3000 from Instron[®], Illinois Tool Works Inc., Norwood, U.S.A.) equipped with a 250 N load cell. Tensile tests were performed according to the ASTM D882-12 (ASTM International, 2012a), with some modifications. The initial gage length was thus modified in order to maximize the potential elongation distance, and was set to 4.5 mm. As prescribed by the standard, the test speed was adjusted so that the strain rate of the sample would be 10 %/min. The width of the rectangular shape samples was kept to a minimum, at about 5 mm. As further compliance tests were performed in the wet state, mechanical properties were also tested after immersion in deionized water for 1 h for three different samples. Similar results were obtained for the dry state at room temperature, then experiments were performed in this latter condition. At least four different samples were tested in both the circumferential and longitudinal directions. The Young's modulus, tensile strength, and elongation at break were calculated using engineering stress-strain curves.

3.4.4 Vascular grafts characterization

Compliance, water permeability and burst strength were determined following the methods described in the standard ANSI/AAMI/ISO 7198:1998/2001/(R)2010 (Cardiovascular implants - Tubular vascular prostheses) (American National Standards Institute, 2010).

3.4.4.1 Compliance

A tubular scaffold was installed in a bioreactor chamber on a TA Instruments (New Castle, U.S.A.) ElectroForce[®] 3200 (see Figure 3.2). The scaffold was cannulated by inserting tube fittings into both ends and connecting the fittings to a reservoir filled with deionized water with a flow valve and gear and a peristaltic pump controlling the pressure in the water system. The chamber was filled with deionized water to a constant level. An initial tension (between 0.3 N and 0.5 N) was applied longitudinally. The pulsatile intraluminal pressure was set at three different ranges (50-90, 80-120, 110-150 mmHg) during 90 cycles, as indicated in the ASTM standard (American National Standards Institute, 2010). The test was repeated three times for each scaffold. A laser measured the outer diameter of the scaffold subjected to pulsatile pressure changes, and the compliance was calculated using Equation 3.5. The thickness of the scaffold being low ($< 500 \mu\text{m}$), the wall was considered incompressible, and the internal diameter was obtained after subtracting two times the wall thickness from the outer diameter.

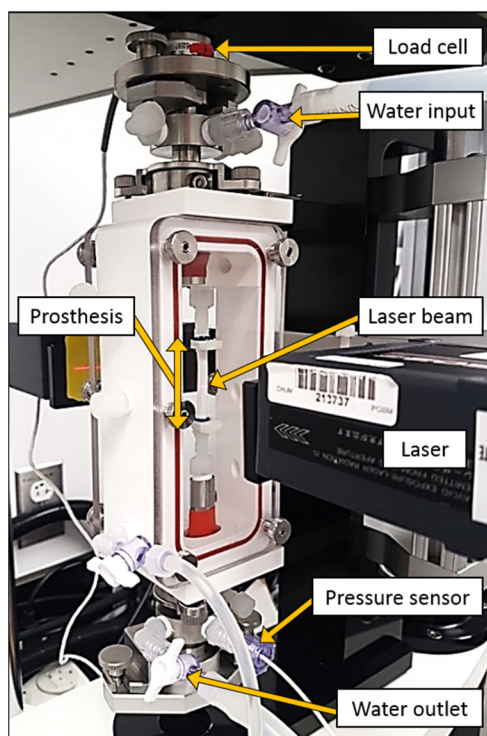


Figure 3.2 Setup for VG compliance testing on the ElectroForce[®] 3200

3.4.4.2 Water permeability

The tubular scaffold was fitted in the bioreactor chamber similarly to what was done in the compliance test and connected to a water reservoir as well. The chamber was installed on a horizontal plane and a collector was placed below the scaffold. Water pressurized at 120 mmHg was circulated to the scaffold. The fluid permeating through the graft was collected for 15 minutes. The graft permeability was determined using the following equation:

$$P_w = \frac{V}{A \cdot d} \quad (3.6)$$

Where P_w is the water permeability of the tubular scaffold (expressed in mL.cm⁻².min⁻¹), V is the permeated volume, A is the graft area allowing the permeation in the sample holder, and d is the duration of the test.

Tubular scaffolds of several thicknesses, between 30 and 200 µm, were evaluated for permeability to determine the minimum thickness to reach blood impermeability. The structural characteristics of filter materials such as the pore size and the thickness, the viscosity of the fluid and the interactions between the fluid and the material, are known to impact its permeability (Geens et al., 2006; Machado et al., 2000). De Valence et al. (2012) evaluated both water and blood permeabilities through electrospun grafts. They reported that in vitro permeability values, respectively of 23.4 ± 5.1 mL.cm⁻².min⁻¹ and 0.16 ± 0.07 mL.cm⁻².min⁻¹, did not lead to blood leakage during in vivo implantations. These values were thus extrapolated as upper limits in order to guarantee blood impermeability for our scaffolds.

3.4.4.3 Burst pressure

Burst pressure experimental tests were performed using a closed air system. The tubular scaffold was cannulated through one extremity to a compressed air system and the other end was plugged. A manometer with a resolution of 0.5 psi (26 mmHg) was used to record the increasing pressure controlled manually. The test was run until the burst pressure was reached.

A home-made latex balloon was used inside the prosthesis to prevent air loss through the porosity of the prosthesis. At least eight experiments were performed with prostheses of different thicknesses.

3.5 Results

3.5.1 Calculations from the analytical model

The cylindric analytical model was first used to identify the materials properties required to reach both the target compliance (0.0725 %/mmHg) and burst pressure (2031 mmHg) as a function of the geometry of the prosthesis. To that end, the material was considered (simplified) as an isotropic material characterized by its Young's modulus (E), Poisson's ratio (ν) and ultimate strength (σ_{ult}) in tension. Figure 3.3A presents the evolution of the minimum σ_{ult}/E as a function of the R_i/t ratio to reach these target values, according to Matlab[®] script. Changing the internal diameter of the prosthesis did not influence the results: as long as the target values were kept the same, the curves all superimposed perfectly, irrespective of the internal diameter of the prosthesis.

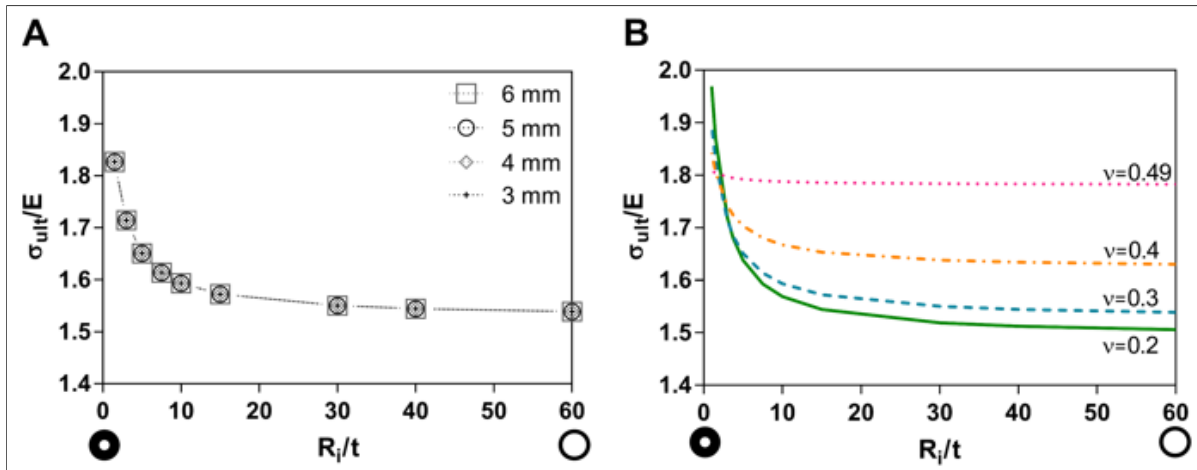


Figure 3.3 (A) Lower limit of the ratio of tensile ultimate strength to elastic modulus (σ_{ult}/E) according to the ratio of the internal radius to wall thickness (R_i/t) to reach both compliance and burst pressure target values, respectively 0.0725 %/mmHg and 2031 mmHg. The Poisson's ratio was fixed as 0.3. Curves for VG with diameters of 3 to 6 mm are superposed. (B) Impact of Poisson's ratio value on the ratio of tensile strength to elastic modulus (σ_{ult}/E).

The minimum σ_{ult}/E ratio was influenced both by the Poisson's ratio and the geometry of the cylinder. For small values of the R_i/t ratio, i.e., when the cylinder's radius was small as compared to its wall thickness, the minimum σ_{ult}/E ratio increased. Conversely, the curve tended to an asymptote when R_i/t increased. The influence of R_i/t was particularly strong for low Poisson's ratio values (Figure 3.3B). For a material close to being incompressible, with a Poisson's ratio as high as 0.49, the model showed almost no changes in the σ_{ult}/E results with a change in R_i/t , staying at around 1.78. However, when the Poisson's ratio was lower, the range of the results was wider and the value at the asymptote was lower, decreasing to up to 1.50, for a Poisson's ratio of 0.2. In order to meet small-diameter VG requirements, we must select a material at the very least capable of reaching the highest calculated value as σ_{ult}/E ratio. Thus, the ideal ratio is 1.78, which ensures the material is picked without knowing its Poisson's ratio, and is chosen as the minimum target ratio.

Based on this result, a literature search was performed to identify materials with mechanical values allowing the target burst pressure and compliance to be reached. We were particularly interested in electrospinning as a technique for producing nonwoven fibrous materials allowing tailored nanofiber morphology and porosity and capable of mimicking native tissues. Guo et al. (Guo et al., 2015) showed that electrospun PU/PCL mats presented an elastic modulus of 13.8 MPa with 60 MPa as tensile strength, leading to a σ_{ult}/E ratio of 4.36, which is even higher than our target. The second part of this work therefore focused on the fabrication and characterization of tubular scaffolds by electrospinning a PU/PCL material. Those scaffolds were compared with a commonly used ePTFE prosthesis in order to confirm the latter's potential for vascular grafts and the benefits of the analytical model.

3.5.2 Materials characterization

3.5.2.1 Morphology

The morphology of ePTFE prostheses and PU/PCL electrospun tubular scaffolds, observed by SEM, are illustrated in Figure 3.4. ePTFE displayed a typical node-fibril microstructure

(Fig. 3.4B-C) with more elongated fibrils for its outer layer, while PU/PCL scaffolds showed randomly oriented nanofibers with a mean diameter of 523 ± 93 nm (Fig. 3.4E-F). Their mean pore area was of $1.7 \pm 1.0 \mu\text{m}^2$, with the highest frequency for a small pore area (under $2 \mu\text{m}^2$). The mean pore diameter was also evaluated at $1.5 \pm 0.8 \mu\text{m}$ with the fitting ellipse method (the average for the major axis and the minor axis are respectively $2.1 \pm 0.9 \mu\text{m}$ and $1.0 \pm 0.3 \mu\text{m}$).

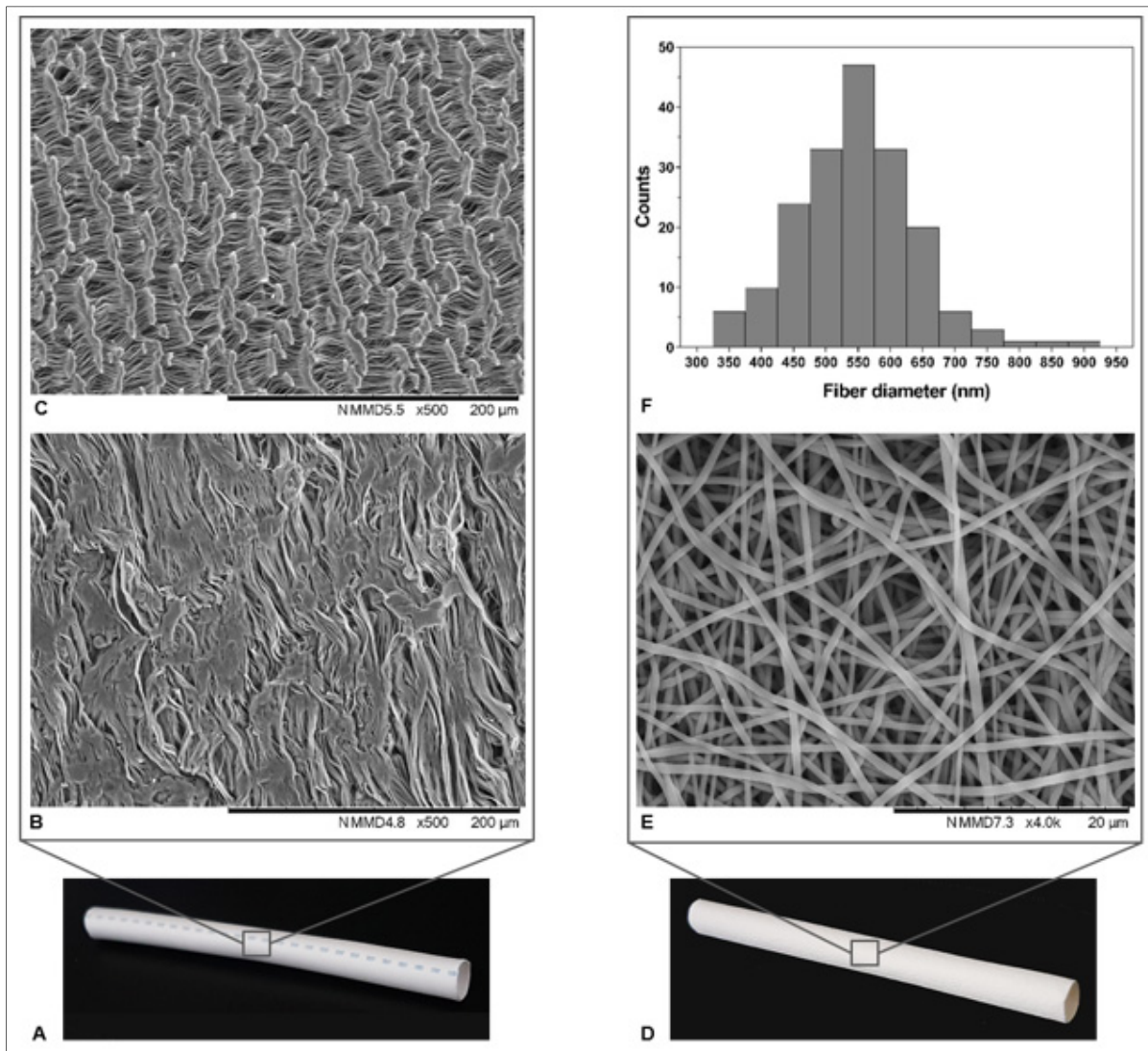


Figure 3.4 Morphology of vascular prostheses: commercial ePTFE VG (left side, A-C) and electrospun PU/PCL tubular scaffold (right side, D-F). Digital images of respective VG (A, D). SEM images of (B) outer layer of the ePTFE VG, (C) inside layer of the ePTFE VG (scale bar: $200 \mu\text{m}$), (E) electrospun PU/PCL nanofiber scaffolds (scale bar: $20 \mu\text{m}$). (F) Distribution of PU/PCL fiber diameters according to ImageJ analyses.

3.5.2.2 Tensile properties

The mechanical properties of ePTFE prostheses and our electrospun PU/PCL tubular scaffolds were characterized by tensile testing. Mechanical properties obtained in both circumferential and longitudinal directions are presented in Figure 3.5.

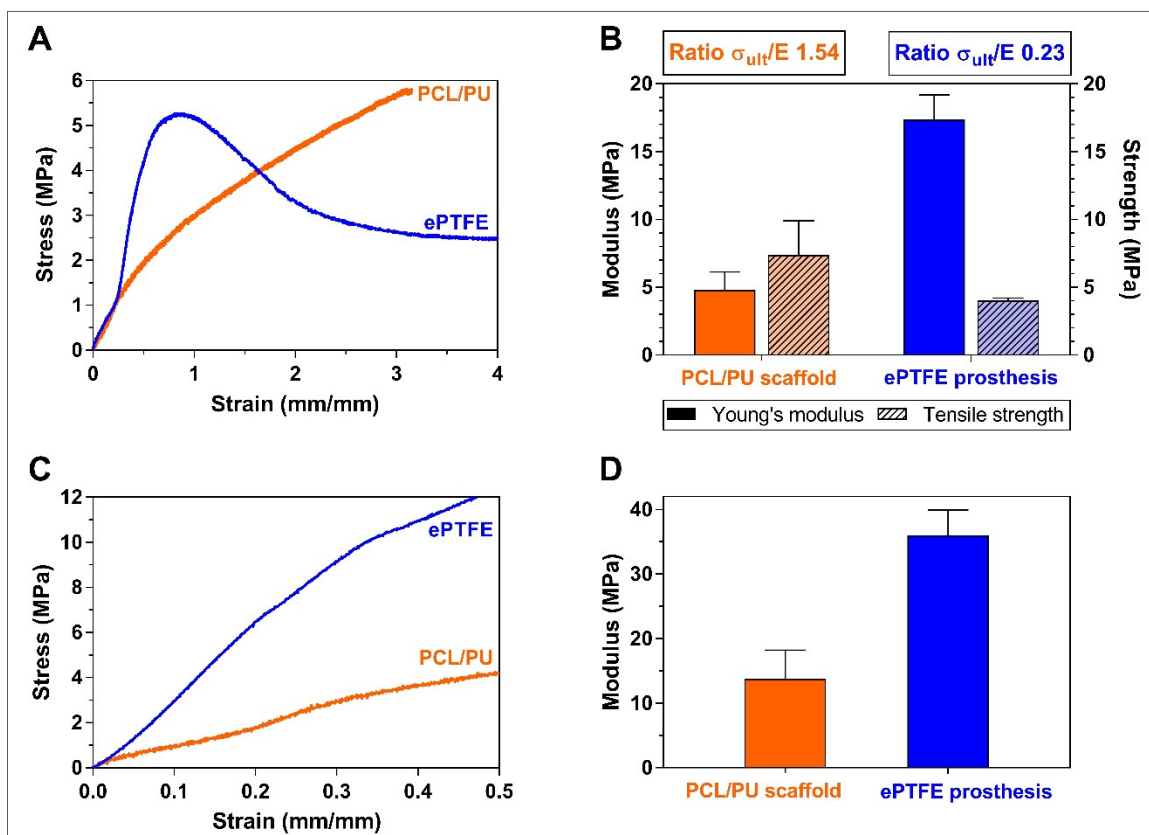


Figure 3.5 Mechanical properties of PU/PCL electrospun tubular scaffolds and ePTFE commercial prosthesis, from tensile testing in (A, B) circumferential and (C, D) longitudinal directions. (A, C) Representative stress-strain curves. (B, D) Tensile properties: Young's modulus (E) from the initial stress-strain curve region and tensile strength (σ_{ult}), with value of the calculated ratio σ_{ult}/E . For the longitudinal direction, only the elastic modulus was calculated.

Commercial ePTFE VG exhibited a short linear region in the initial stress-strain curve (about $\epsilon = 0-25\%$), with a low elastic modulus (4.4 ± 0.2 MPa), followed by a steeper slope (modulus of 17.4 ± 1.8 MPa), and then by a decrease indicating plastic deformation.

In the longitudinal direction, ePTFE exhibited only one slope with a Young's modulus of 36.0 ± 3.9 MPa. Electrospun PU/PCL presented a quite linear behavior until rupture. This mechanical behavior is consistent with previous work on electrospun PU/PCL and various polymer ratios between PCL and PU (Guo et al., 2015). The Young's moduli of electrospun materials in the circumferential and longitudinal directions were respectively 4.8 ± 1.3 MPa and 13.8 ± 4.4 MPa. The circumferential σ_{ult} was 7.4 ± 2.5 MPa. The σ_{ult}/E ratio of PU/PCL and ePTFE materials were calculated as 1.54 and 0.23, respectively, based on their circumferential elastic moduli.

The relatively anisotropic character of PU/PCL despite generally random nanofiber orientations, as well as the variability of the results, can be explained by the fact that the mechanical response of such electrospun structures is strongly affected by their morphology: only a fraction of fibers in the load direction is recruited and aligned during tensile tests, and the mechanical response is a function of their number (Pai, Boyce, & Rutledge, 2011; Rizvi, Kumar, Katti, & Pal, 2012).

3.5.3 Vascular grafts characterization

3.5.3.1 Compliance

Compliance tests were carried out on the 0.45 mm-thick ePTFE prosthesis and on electrospun scaffolds of different thicknesses. Tensile testing was also performed on these samples to determine their Young's moduli and compare the experimental compliance values to theoretical ones calculated using the analytical model. The Poisson's ratio was assumed to be 0.46 for ePTFE VG (DuPont Fluoroproducts; Rae & Dattelbaum, 2004) and 0.48 for PU/PCL scaffold assessments (Qi & Boyce, 2005). However, the effective Poisson's ratios were not verified and, notably, it is well-known that porous materials properties cannot be predicted analytically due to their random structure (Kováčik, 2008). Since two slopes had been observed during ePTFE tensile tests, the highest Young's modulus (17.4 MPa) was used during analytical calculations as it was found more representative of the compliance behavior of

ePTFE according to Equation (3.7), which links the modulus and the compliance for a simple thin wall cylinder (Y. Chen, Ding, Li, Zhao, & Hu, 2011):

$$C = \frac{D_i}{2 * E * t} \quad (3.7)$$

Figure 3.6A summarizes the experimental and theoretical compliance values for both materials in the 80-120 mmHg range, while Table 3.2 presents the values at each pressure range tested (50-90; 80-120 and 110-150 mmHg, according to the ASTM standard (American National Standards Institute, 2010)).

At the physiological pressure range (80-120 mmHg), thick commercial ePTFE prostheses displayed a very low compliance of 0.0034 ± 0.0004 %/mmHg, in accordance with the analytical model (0.004 %/mmHg). In comparison, electrospun samples showed about 10-fold increase of the compliance, with 0.0360 ± 0.0018 %/mmHg for 145 μ m-thick electrospun samples at the same pressure range. The model tended to overestimate the compliance of PU/PCL prostheses, with all the calculated analytical values being above the experimental results, as shown in different ways in Figure 3.6A and 3.6B.

For each VG, it can be seen that the relative differences between experimental and analytical values were larger when the pressure range increased. In particular, the analytical model predicted only very slight changes in compliance values between the three pressure levels, while experimental data showed a clear decrease when the pressure range increases (Table 3.2). The difference between analytical and experimental data decreased when the thickness of VG increased (Figure 3.6B). On average, PU/PCL results revealed relative adequacy, with a discrepancy of about 13 % between the model forecast and the reality for pressure levels of 50-90 mmHg. With higher pressure ranges of 80-120 mmHg and 110-150 mmHg, the results showed larger differences (respectively 25 % and 34 %).

Table 3.2 Compliance values for commercial ePTFE prosthesis and electrospun PU/PCL VG. Comparison between the experimental results and theoretical values obtained from the analytical model calculation. Graphical representation of the 80-120 mmHg pressure range is shown in Figure 3.6A.

Material	Commercial ePTFE prosthesis			Electrospun PU/PCL VG		
Thickness (μm)	454 ± 4			145 ± 2		
Pressure range (mmHg)	50-90	80-120	110-150	50-90	80-120	110-150
Compliance from analytical model (%/mmHg)	0.0040 ± 0.0004	0.0040 ± 0.0004	0.0040 ± 0.0004	0.0517 ± 0.0047	0.0509 ± 0.0046	0.0502 ± 0.0044
Experimental compliance (%/mmHg)	0.0036 ± 0.0010	0.0034 ± 0.0004	0.0033 ± 0.0005	0.0430 ± 0.0024	0.0360 ± 0.0018	0.0318 ± 0.0010

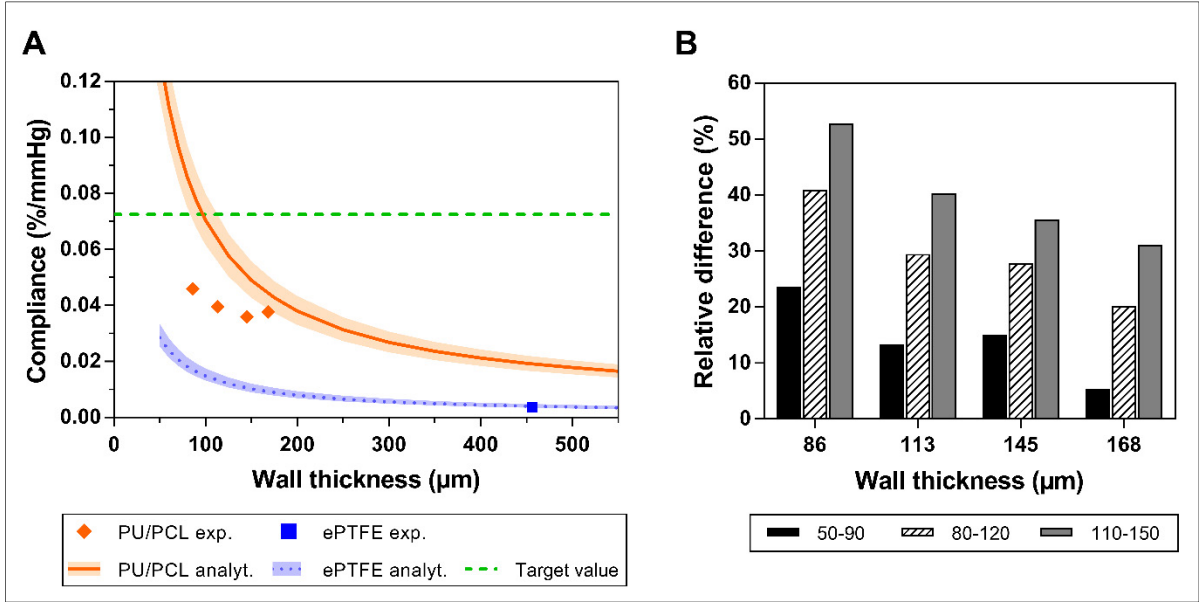


Figure 3.6 Comparison of VG analytical and experimental compliance, as a function of wall thickness. (A) At the 80-120 mmHg pressure range. The fragmented line represents the compliance target value for small-diameter arteries (0.0725 %/mmHg). Experimental compliance values for PU/PCL prostheses are plotted (diamond). Their mean modulus ($E = 3.9$ MPa) was used to calculate the theoretical compliance for PU/PCL (plain curve). The colored area from either side corresponds to the minimum and maximum modulus of the tested prostheses. Similarly, the square and the dotted line, surrounded by the blue area, are respectively the experimental result ($t = 454 \pm 4$ μm; $E = 17.4 \pm 1.8$ MPa) and the analytical curve ($E = 17.4$ MPa) for ePTFE grafts. (B) Relative differences between experimental and analytical compliance data for PU/PCL VG ($n = 6$) at each pressure range tested (in mmHg).

3.5.3.2 Burst pressure

Burst pressure measurements were performed on electrospun PU/PCL scaffolds (Figure 3.7A). ePTFE prostheses were not tested, as expected values would have exceeded our equipment's capacity. The burst pressure experimental values followed an increasing tendency with the thickness, in accordance with the prediction of the analytical model. However, analytical values calculated using the ultimate stress determined during tensile testing were found to overestimate the burst pressure as compared to experimental measurements. Only one VG could reach the target value of 2031 mmHg, for a thickness of about 140 μm .

3.5.3.3 Permeability

Since a compromise may be needed between the compliance (increased at thinner wall thicknesses) and burst pressure (increased for thicker wall thicknesses), it is important to define which thickness is sufficient to ensure impermeability of the electrospun graft. To that end, the permeability of PU/PCL grafts was tested using a water leak test for a wide range of wall thicknesses. The results are summarized in Figure 3.7B and show that all our tested scaffolds manifested water leakage under the upper limit value of 23.4 $\text{mL}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$, and could be considered blood-impermeable and suitable for implantation. Very low permeability ($< 0.6 \text{ mL}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$) was indeed obtained for graft thicknesses above the threshold of 50 μm .

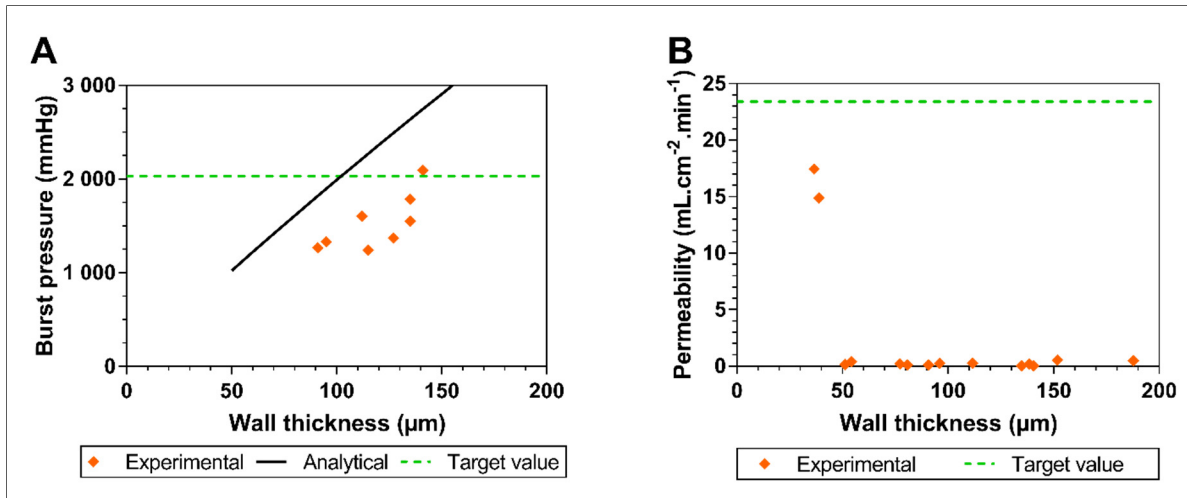


Figure 3.7 Impact of wall thickness on (A) burst pressure and (B) water permeability, for electrospun PU/PCL tubular scaffolds. Each dot represents a distinct VG. The dotted line corresponds to (A) the target value for the burst pressure for small-diameter arteries (2031 mmHg (L'Heureux et al., 2006)), (B) the upper limit of water permeability considered for blood-impermeable VG (23.4 mL.cm⁻².min⁻¹ (de Valence et al., 2012)). The theoretical value for burst pressure as a function of VG thickness is depicted by the dark line (A).

3.6 Discussion

Numerous materials have been investigated for the design of VG for the replacement of small-diameter arteries, but it is generally unclear whether they can avoid compliance mismatch, which is known to be related to hyperplasia and VG occlusion. The analytical model developed in this study allows to anticipate the ability of a material to mimic the compliance of the blood vessel to be replaced (0.0725 %/mmHg for a coronary artery) without the risk of burst rupture (2031 mmHg), based on the ultimate stress, the Young's modulus and the Poisson's ratio, available from tensile testing or directly from literature data.

A comparable approach was recently published (Castillo-Cruz et al., 2018), with the difference from our approach being that in theirs, the conically modified von Mises criterion was used instead of the von Mises effective stress. This criterion considers the compressive strength of the material under study and requires further tests. Since the compression behavior of electrospun materials is rarely reported, our model was designed to be as simple as possible in order to be used for wider purposes.

The σ_{ult}/E ratio defined by our analytical model is impacted by the Poisson's ratio. To be valid for any given Poisson's ratio, the σ_{ult}/E ratio should minimally reach 1.78 in order to meet small-diameter VG requirements. We therefore identified electrospun PU/PCL 90/10%, which had been reported to exhibit a σ_{ult}/E ratio of 4.36 (Guo et al., 2015), which is well above our target value. The electrospinning technique is particularly attractive as it produces nanofibrous materials mimicking native tissues' morphology (Hadjizadeh, Ajji, Jolicoeur, Liberelle, & De Crescenzo, 2013; Hasan et al., 2014; Rüder et al., 2013). The electrospinning parameters used for the fabrication of PU/PCL tubular scaffolds were adjusted to reach a morphology similar to that of electrospun PET prepared in our previous works (Savoji et al., 2014), i.e., with nanofiber diameter around 500 nm and mean pore size of about 3 μm . The PU/PCL electrospun scaffolds had similar fiber diameters (523 ± 93 nm versus 551 ± 91 nm) and even smaller pore diameters (1.5 ± 0.8 μm versus 3.2 ± 0.5 μm) than PET mats. According to our prior results, this morphology prevents the invasion of endothelial cells inside the structure, and therefore favors the formation of an endothelial monolayer on the lumen surface. This represents an advantage over ePTFE prostheses, whose structure allows cells to infiltrate in vivo through their pores, thus preventing the growth of a continuous endothelial monolayer on their surface (Chlupác et al., 2009; Singh et al., 2015).

Morphological parameters of the PU/PCL scaffolds however differed from those of Guo et al. (Guo et al., 2015), which inspired our research, and whose average fiber diameter was 730 nm. This at least partly explains the difference in mechanical properties observed between our scaffolds and those of Guo et al. (Guo et al., 2015): we obtained an elastic modulus closer to that of native arteries (4.8 MPa), with a 7.3 MPa tensile strength; this is much lower than the values reported by Guo et al., namely, 13.8 MPa and 60 MPa for modulus and ultimate stress, respectively. Therefore, our calculated σ_{ult}/E ratio was 1.54, much smaller than that of Guo et al. (4.36) and slightly lower than the 1.78 target value. This could explain why the experimental compliance of the 145 μm -thick prosthesis, which had sufficient burst resistance, was below the target value of 0.0725 %/mmHg reported as the compliance of small-diameter arteries (Shaw et al., 2002), to wit 0.0360 %/mmHg.

Nevertheless, the compliance of PU/PCL VG was 10 times higher than that of commercial ePTFE prostheses, which was only 0.0034 %/mmHg, i.e., about 20 times smaller than the target value. The low compliance was consistent with values described in the literature for ePTFE prostheses, where Gore-Tex[®] and Impra[®] are shown to exhibit compliance values from 0.0026 (Moreno et al., 2011) to 0.009 (Tai, Salacinsky, Edwards, Hamilton, & Seifalian, 2000) and 0.012 %/mmHg (Hanel, McCabe, Abbott, Fallon, & Megerman, 1982; How, 1992). Furthermore, experimental results were in accordance with the analytical model, when considering the second slope of the stress-strain curves for the circumferential direction of ePTFE material, which exhibited a change in the slope after about 25 % of strain. This difference in elastic modulus as a function of the elongation state was corroborated by Jia et al. (Jia et al., 2017) for another ePTFE VG: the modulus changed from 8.6 MPa at 10 % strain to 32.1 MPa at 30 %. It is believed that this inflexion is due to the tubular origin of the samples tested, leading to residual stress - at the beginning of the tensile test, the thin external layer is in compression, while the internal layer is already in tension. Hence, when the tensile test starts, the fibrils from the outer layer began to elongate before those from the inner layer start to get involved in the test direction. To verify this hypothesis, SEM imaging was performed at different elongated states of ePTFE. At 10 % strain, the fibrils of the external layers were indeed more elongated than at the rest state, while no change was observed at the internal side of ePTFE grafts. This emphasizes the importance of testing VG without cutting and using specific grips, according to the ANSI 7198 standard (American National Standards Institute, 2010).

Despite being presented as a “thin wall” in the catalog of VG suppliers, the ePTFE prostheses used in the present study had a wall thickness above 400 μm . Decreasing the thickness could allow a slight increase of the compliance. However, this would lead to decreased resistance to burst pressure. According to our analytical model (Figure 3.6A), the mechanical properties in tension would not allow both the compliance and burst resistance to be reached. In contrast, electrospun PU/PCL materials should be able to meet the target compliance for wall thicknesses under 100 μm . Although this seems sufficient for blood impermeability, it would make handling more difficult during production and surgery.

Moreover, the burst pressure would be below the value of 2031 mmHg (Figure 3.7A) chosen based on the burst pressure resistance of mammary arteries (L'Heureux et al., 2006). This target value could however be decreased for prosthesis design, since it is well above physiological pressures, being 10 times higher than the pressure that can be reached in hypertension (L'Heureux et al., 2006).

Based on experimental and analytical results, a 140 μm -thick electrospun PU/PCL tubular scaffold could represent a good compromise as a VG in terms of easy handling, appropriate blood impermeability, high burst pressure and a compliance greater than the commercial ePTFE prosthesis.

The analytical model developed in this study however has several limitations. Relative differences between analytical calculations and experimental compliance results were evaluated to be up to 13 % at the 50-90 mmHg pressure range, and increased for higher pressure ranges to up to 34 %. Overall, the model made an overestimation of the compliance and burst pressure. Our model predicts mechanical properties assuming the presence of isotropic materials with linear elastic behavior. This is a major drawback as polymers generally exhibit at least slightly non-linear behavior and viscoelasticity. Moreover, both the ePTFE material and electrospun PU/PCL scaffolds revealed a larger Young's modulus in the longitudinal direction than in the circumferential direction, showing an unexpected anisotropic character. These limitations could partially explain the differences between the model and experimental values. An orthotropic model could enable to reach more realistic values.

The tendency of these differences to be higher with smaller thicknesses could be explained with the method used to measure the thicknesses, as it required the compression of samples, and an error always has a greater impact on small values. Furthermore, in designing this simplified model, assumptions were made that did not exactly fit the experimental reality. Indeed, the internal radius variation remained the same in the calculations irrespective of the pressure, while the initial radius increased with higher pressure ranges and resulted in a lower compliance value according to Equation (3.5). Input parameters such as the elastic modulus and the wall thickness were also kept fixed in the model, but could also change experimentally

depending on the pressure applied on the scaffold and the mechanical behavior (Suarez Bagnasco et al., 2014).

Interestingly, PU/PCL scaffolds showed a reduction of the compliance at higher pressures, which represents a behavior close to that of native arteries (Suarez Bagnasco et al., 2014). This behavior is known to be due to the fact that in arteries, elastin is much more flexible than collagen, and elastin fibres from the tunica media are stretched before collagen fibres which are mainly in the external layer. This leads to a non-linear behavior in compliance (Kassab, 2006; Salacinski et al., 2001; Singh et al., 2015).

3.7 Conclusion

In conclusion, a simple analytical model tool for the prediction of compliance and burst pressure of vascular grafts based on their mechanical properties in tension was developed and validated. This model could be greatly useful in selecting an appropriate material for the design of small-diameter prostheses. Electrospun PU/PCL was identified as a promising material. A 145 μm -thick tubular scaffold presented an adequate burst resistance and permeability and a compliance of 0.036 % mmHg, a clear improvement over those of current vascular replacement solutions such as ePTFE.

Acknowledgements

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (CPG 127764) as well as the Canada Research Chair in biomaterials and endovascular implants (CRC, 950-229036). Mélusine Bouchet gratefully acknowledges scholarships from École de technologie supérieure. The authors also thank Claire Cerclé (École Polytechnique) and Boris Chayer (CRCHUM) for their skilled technical support.

CHAPITRE 4

DESIGN AND IN VIVO TESTING OF A COMPLIANT AND BIOACTIVE ELECTROSPUN POLYURETHANE VASCULAR PROSTHESIS

Bouchet Mélusine^{*1,2,3}; Fortin William^{*2,5,6}; Maire Marion^{1,2}; Héon Hélène²; Ajji Abdellah^{3,4};
Soulez Gilles^{2,6,7}; Thérasse Éric^{6,7}; Lerouge Sophie^{&1,2,7}

¹Department of Mechanical Engineering, École de technologie supérieure (ÉTS),
Montreal, QC, H3C 1K3, Canada

²Research Centre, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM),
Montreal, QC, H2X 0A9, Canada

³CREPEC, Department of Chemical Engineering, École Polytechnique de Montréal,
Montreal, QC, H3C 3A7, Canada

⁴Institute of Biomedical Engineering, École Polytechnique de Montréal,
Montreal, QC, H3C 3A7, Canada

⁵Department of surgery, division of vascular surgery, Centre Hospitalier de l'Université de
Montréal (CHUM), Montreal, QC, 1051 Sanguinet, Montreal, QC, H2X 0C1, Canada

⁶Department of Radiology, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), 1051
Sanguinet Montreal, QC, H2X 0C1, Canada

⁷Department of Radiology, Radiation Oncology and Nuclear Medicine, Faculté de Médecine,
Université de Montréal, 2900 Bvd Edouard Montpetit, Montreal, QC, H3T 1J4, Canada

*: Equivalent contribution to the work

&: Corresponding author

Article soumis pour publication dans « Acta Biomaterialia », juillet 2019

4.1 Mise en contexte

Le but de ce deuxième article est de répondre au second objectif spécifique du doctorat : « Évaluer le potentiel d'une prothèse électrofilée compliant et bioactive en tant que solution de remplacement d'un vaisseau de petit diamètre, par des essais *in vitro* et *in vivo* ». Suite au premier article, il a été démontré que des structures électrofilées en PU/PCL d'épaisseur 145 µm avaient la capacité d'être plus compliantes que des prothèses commerciales avec une pression à la rupture suffisamment élevée, étanches au sang et manipulables pour les chirurgies. Elles ont alors été combinées à des revêtement bioactifs à base de CS,

élaborés antérieurement au laboratoire des Pr. Wertheimer et Lerouge, afin d'être évaluées *in vivo* dans un modèle de grand animal. Parmi les étapes du projet, M. Bouchet a réalisé la fabrication et la caractérisation des prothèses électrofilées et l'analyse des résultats, tandis que M. Maire s'est chargé du greffage de la CS et que W. Fortin a effectué les chirurgies et le suivi par imagerie chez les moutons.

Les travaux relatifs à cet article ont été partiellement présentés aux conférences Expo Hightex (2017), Canadian Biomaterials Society Annual Meeting (2017), ainsi qu'au Congrès des étudiants, stagiaires et résidents du CHUM (2017) et aux Entretiens Vasculaires (2018).

4.2 Abstract

There is a growing need for small-diameter (< 6 mm) off-the-shelf synthetic vascular conduits for different surgical bypass procedures, with actual synthetic conduits showing unacceptable thrombosis rates. Tubular vascular conduits made of a scaffold of polyurethane/polycaprolactone (PU/PCL) combined with a bioactive coating based on chondroitin sulfate (CS) were created using electrospinning and plasma polymerization. The rationale was to build vascular grafts with better compliance compared to standard synthetic conduits and with an inner layer stimulating endothelialisation while remaining antithrombogenic. In vitro, the novel small-diameter (5 mm) electrospun bioactive vascular grafts (eVG-CS) showed 10-times more compliance compared to commercial expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) conduits while maintaining adequate suturability and burst pressure profiles. They also proved to be stable over 6-month ageing tests in a 37°C saline solution. In vivo, eVG-CS grafts were compared to ePTFE grafts in ten sheep as bilateral carotid interposition bypasses. The study was terminated after eVG-CS bypass grafts showed to be inferior compared to their ePTFE counterparts. The inability of the experimental conduits to perform well in vivo despite promising in vitro results will require further investigation, but may be related to the lack of strong cohesiveness of the electrospun fibers and the low porosity of the grafts. Further research is warranted to explore ways to improve this promising

combination of PU/PCL scaffold and CS coating in order to make it prone to native endothelialisation while being resistant to strenuous conditions such as those seen in real-life situations.

Keywords: Small diameter vascular graft, electrospinning, surface modification, compliance, in vivo study, chondroitin sulfate.

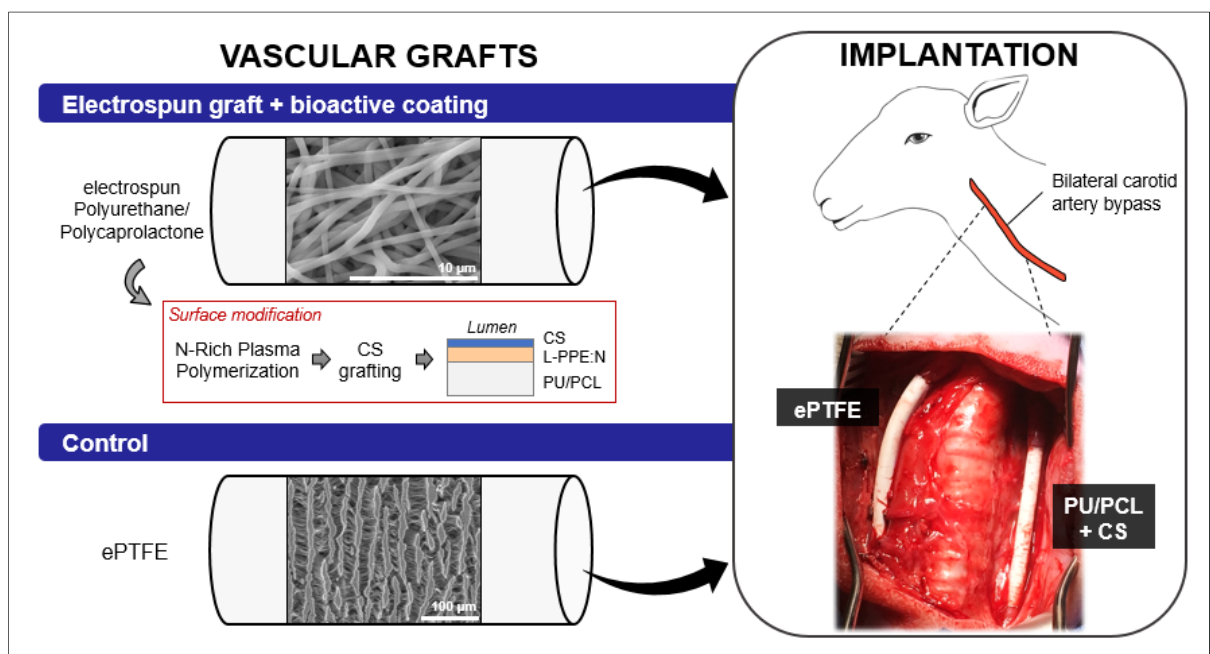


Figure 4.1 Graphical abstract

4.3 Introduction

With the ageing of the population and the growing prevalence of coronary and peripheral vascular disease, an increasing number of patients necessitate revascularization procedures (Lloyd-Jones et al., 2010; Norgren et al., 2007). Although many vascular obstructions can be treated by endovascular interventions, surgical bypass grafting remains the only viable option in a large number of cases. In these instances, in the absence of adequate autologous grafts, synthetic conduits are used to bypass the diseased vessel. They reinstate blood flow with acceptable patency rates, as long as the conduit itself possesses an internal diameter greater

than 6 mm (Hehrlein et al., 1984; Londrey, Ramsey, Hodgson, Barkmeier, & Sumner, 1991; Veith et al., 1986). However, despite significant efforts by several research groups worldwide, there is no small-diameter (< 6 mm) prosthetic vascular graft showing acceptable patency rates for aorto-coronary and peripheral bypasses until now (Albers, Battistella, Romiti, Eyer Rodrigues, & Bragança Pereira, 2003; Baguneid et al., 2006; Pashneh-Tala et al., 2016; Seifu et al., 2013; Teebken & Haverich, 2002; Zilla et al., 2007).

Different explanations were given for the failure to find an adequate candidate for synthetic small-diameter bypasses. For instance, contrary to the normal vascular endothelium lining having well-known anti-thrombotic properties, the lack of significant endothelialisation shown by woven polyethylene terephthalate (PET - Dacron) and expanded polytetrafluoroethylene (ePTFE) grafts in humans has been put forward as a crucial point explaining their thrombogenicity (Botting & Vane, 1989; Clowes, Kirkman, & Reidy, 1986; Radomski, Palmer, & Moncada, 1987; Sandoo, van Zanten, Metsios, Carroll, & Kitas, 2010). Another explanation for bypass graft failure is the low compliance of the synthetic grafts. The compliance mismatch between native and graft material has been shown to promote intimal hyperplasia and thrombus formation (Abbott et al., 1993; Collins et al., 2012; Tai et al., 2000).

Hence, our hypothesis was that a bypass conduit that promotes endothelialisation and which compliance is close to native human vessels could reduce graft failure. Based on these concepts, a novel approach combining electrospinning of polymers and bioactive coatings was developed.

Electrospinning is an alternative process for the fabrication of fiber mats and conduits. It can be used to produce nanofibers structures, either randomly arranged or aligned, and thus create porous scaffolds mimicking the morphology of the extracellular matrix of native vascular structures (Hadjizadeh, Ajji, & Bureau, 2011; Hadjizadeh et al., 2013; Rocco et al., 2014). In a previous in vitro study, electrospun PET (ePET) mat (mean fiber diameter of 0.55 μm) was shown to promote the formation of a monolayer of endothelial cells (EC) when compared

to conventional woven PET conduit materials where cell invasion through the graft did not favor the formation of a continuous EC monolayer on their intraluminal surface (Savoji et al., 2014).

More recently, the combination of these mats with a bioactive coating made of a thin plasma-polymerized film covered by chondroitin sulfate (CS), a glycosaminoglycan with anti-platelet and pro-endothelial adhesion properties, was shown to promote the formation of a complete and flow-resistant EC monolayer (Savoji et al., 2014; Savoji et al., 2017; Thalla et al., 2014). However, electrospun PET still presents low compliance compared to native vessels. To solve this issue, our team hereby introduced an electrospun and similarly coated tubular structure made of a combination of polyurethane (PU) and polycaprolactone (PCL). This blend was selected over PET for its better mechanical properties, as it demonstrated a Young's modulus and a compliance closer to that of native arteries compared to other commercial solutions (Bouchet, Gauthier, Maire, Ajji, & Lerouge, 2019; Guo et al., 2015; Montini-Ballarin, Abraham, & Caracciolo, 2016; Tai et al., 2000). The aim of this study was to produce these bioactive electrospun tubular scaffolds, to characterize their structures and mechanical properties as well as stability in vitro, and finally to evaluate the in vivo patency and endothelialisation of these bioactive vascular grafts in comparison with commercial grafts in a sheep carotid bilateral model.

4.4 Materials and Methods

4.4.1 Grafts production

4.4.1.1 Materials

Polymers PU (polyurethane, MDI-polyester/polyether polyurethane, CAS 68084-39-9), PCL (polycaprolactone, $M_n = 80,000$), PEO (polyethylene oxide, viscosity average molecular weight $M_v = 600,000$) and chondroitin sulfate (CS) were purchased from Sigma-Aldrich Canada Co., as well as the chemicals, tetrahydrofuran (THF), N,N-Dimethylformamide (DMF), N-(3-dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC), N-

hydroxysuccinimide (NHS) and 2-morpholinoethane sulfonic acid (MES). Ethylene (C_2H_4 , 99.5 %) and ammonia gas (NH_3 , 99.99 %) were obtained from Air Liquide Canada (Montreal, QC, Canada). A conventional commercially available vascular prosthesis in ePTFE (Impra Carboflo[®], Bard Peripheral Vascular Inc., Tempe, AZ, USA) was selected as a control.

4.4.1.2 Electrospinning

PU/PCL tubular scaffolds were fabricated using a homemade electrospinning setup with a 6-mm diameter rotating mandrel. Briefly, a thin layer of a 3 wt% PEO solution was firstly electrospun, followed by the electrospinning of 3.4 mL of a PU/PCL solution (8 wt% consisting of 90 % PU/10 % PCL (w/w) dissolved in a 1:1 mix of THF and DMF) at a rate of 0.15 mL.h^{-1} . The power supply provided a constant voltage of 12 kV between the 21G needle in translation and the rotating drum. Detailed electrospinning parameters were described elsewhere (Bouchet, Gauthier, et al., 2019). These electrospinning parameters and the thickness of the scaffolds ($145 \text{ }\mu\text{m}$) were chosen based on previous work (Bouchet, Gauthier, et al., 2019) showing that this thickness enables to get adequate impermeability and burst resistance, as well as good handling properties. At the end of the process, the mandrel was immersed in EtOH 50 % in order to dissolve the PEO layer allowing to retrieve the electrospun vascular graft, hereafter called eVG.

4.4.1.3 Bioactive coating (Plasma-polymerization and Chondroitin-Sulfate Coating)

The bioactive coating was created as already described in detail earlier (Savoji et al., 2017; Thalla et al., 2014). First, a thin layer of primary amine-rich coating, designated as L-PPE:N, was deposited through plasma deposition on the surface of the grafts in a low-pressure capacitively coupled radio frequency (r.f., 13.56 MHz) glow discharge plasma reactor using ethylene (C_2H_4) and ammonia (NH_3) with flow rates of 20 sccm and 15 sccm respectively. The deposition was performed at 80 Pa pressure under mild conditions (power, $P = 15 \text{ W}$) during 15 minutes to form a coating of about 100 nm thickness.

After inside-out turn of the prosthesis, CS was covalently grafted on amine groups via a carbodiimide chemistry (EDC/NHS), as previously reported (Cindy Charbonneau, Liberele, Hébert, De Crescenzo, & Lerouge, 2011). In brief, the tubular scaffolds were immersed in a solution containing 0.01 g.mL⁻¹ CS, 40% v/v EtOH, 50 mM MES, 22.8 mM EDC and 4.6 mM NHS during 1h at room temperature before rinsing once with PBS and twice with Milli-Q water. The final product is hereafter called eVG-CS.

4.4.1.4 Grafts preparation for in vivo tests

All prostheses were cut to a 7 cm-length. The ePTFE prostheses were prepared under sterile conditions under a hood and kept in a closed sterile pouch until use. eVG-CS were wrapped in peel pouches and sterilized by V-PRO maX low temperature system (Steris).

4.4.2 In vitro characterization

4.4.2.1 Composition, morphology and permeability

Fiber morphology was determined by scanning electron microscopy (SEM; TM3030Plus instrument, Hitachi, Tokyo, Japan) after deposition of a 20 nm-thick layer of chromium conductive coating. Diameters were measured through ImageJ software (NIH, U.S.A.) analysis, based on about 200 different fibers. Pore size was calculated for ePTFE and eVG-CS materials.

The CS grafting on eVG was verified through the analysis of surface composition by X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). Surveys (0-1200 eV) were acquired normal to the surface with a VG ESCALAB 3MkII instrument, using nonmonochromatic Mg K α radiation. Charging was corrected by referencing all peaks with respect to the carbon (C 1s) peak at binding energy of 285.0 eV. Quantification of the constituent elements was performed using Avantage v5.979 software (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, U.S.A.) after Shirley-type background subtraction. Since CS contains sulfate groups, atomic concentrations of sulfur were determined at the samples surfaces to confirm the grafting, in comparison with uncoated samples.

The chemical composition of electrospun scaffolds was also characterized by attenuated total reflectance Fourier transform infrared (ATR-FTIR) spectroscopy (Spectrum GX, PerkinElmer, Waltham, MA, U.S.A.). All spectra were taken in the spectral range by the accumulation of 32 scans with a resolution of 4 cm^{-1} , and were compared to the spectra of pure PU and PCL pellets. At least three surfaces were analysed for each condition.

The permeability of eVG-CS was quantified by fitting the grafts in a BioDynamic[®] chamber of an ElectroForce[®] 3200 (TA Instruments, New Castle, DE, U.S.A.) and connecting them to a water flow system. Water pressurized at 120 mmHg was circulated to the grafts and the fluid permeating through their walls was collected for 15 minutes. The water permeability was calculated according to the ANSI 7198 standard (American National Standards Institute, 2010), using the equation: $P_w = Q/A$, where P_w is the water permeability of the tubular scaffold (expressed in $\text{mL}\cdot\text{cm}^{-2}\cdot\text{min}^{-1}$), Q is the flowrate of the permeated volume during the test and A is the graft area allowing the permeation in the sample holder.

4.4.2.2 Mechanical characterization

A uniaxial tensile testing machine (ElectroPulsTM E3000, Instron[®], Illinois Tool Works Inc., Norwood, MA, U.S.A.) equipped with a 250 N load cell was used for evaluating tensile properties in the circumferential direction, as well as the suture retention strength.

Tensile tests were performed according to the ASTM D882-12 (ASTM International, 2012a), with some modifications. The initial gage length was set to 4.5 mm and the strain rate was of 10 %/min. eVG-CS were cut into rectangular samples in the longitudinal direction and strips with a 5 mm width from at least four different samples were tested. Elastic modulus and tensile strength were calculated through engineering stress-strain curves.

The suture retention strength was determined using strips of eVG-CS with a 15 mm width. The sample was threaded with 7-0 Prolene[®] Polypropylene suture (Ethicon US, LLC, Cincinnati, OH, U.S.A.) at 2 mm from its edge. The suture was pulled at a constant rate of 100 mm/min

parallel to the longitudinal axis of the prosthesis. The suture retention strength is defined as the force required to pull a suture from the prosthesis or cause the wall of the prosthesis to fail (American National Standards Institute, 2010), namely the peak force obtained during this procedure.

At least three different samples were tested for each kind of test.

4.4.2.3 Ageing

To evaluate possible degradation of the constitutive material of the grafts, bare electrospun tubular scaffolds were kept at 37°C in a saline solution during 1, 3 and 6 months. At each time point, the following characteristics were measured: fiber diameters, elastic modulus in the circumferential direction, chemical structure (ATR-FTIR), as well as the graft weight (NewClassic MF Analytical Scale balance with 0.1 mg resolution, Mettler-Toledo Inc., Columbus, OH, U.S.A.) after drying.

4.4.3 In vivo implantation

4.4.3.1 Study design

In this study, experimental electrospun grafts with bioactive coating (eVG-CS) were compared with commercially available ePTFE prostheses. Both grafts were implanted as bilateral end-to-end common carotid bypasses in ten sheep, ePTFE graft serving as a control. Each conduit's (experimental or ePTFE) implantation side (left or right common carotid artery) was randomly selected at the beginning of the study.

4.4.3.2 Animal selection and care

The sheep was selected for this study because of its suitable target vessels diameters (common carotid, 5-7 mm) for small-diameter vascular graft implantation and its coagulation system resembling most the human's when compared to other large animals (Kónya, Wright, Gounis, & Kandarpa, 2008). Animal surgical procedures and follow-up studies were approved by the

institutional animal care committee at the Centre de recherche du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal and the Canadian Council on Animal Care. The study was conceived accordingly to the ARRIVE guidelines (Kilkenny, Browne, Cuthill, Emerson, & Altman, 2010). Ten mixed breed (Polled Dorset cross Rideau Arcott, Alpha Ovine, Norwood, ON, Canada) female sheep (26-39 kg) were used in this study. All animals were kept in acclimation at least one week prior to graft implantation.

4.4.3.3 Surgical protocol

Each animal was given 80 mg of acetylsalicylic acid (Pharmascience Inc., Montreal, QC, Canada) per day for three days preoperatively. After overnight fasting, the sheep were led to the operating theater. The complete anesthesia protocol is available in the supplemental material section (ANNEXE 2A).

Surgical exposition of both common carotid arteries was led via a single longitudinal median neck incision. The left carotid artery was systematically approached first and dissected over a 7-cm segment. Heparin (250 Units/Kg, Heparin USP, Sandoz, Boucherville, QC, Canada) was given intravenously 2 to 5 minutes prior to carotid clamping. Following resection of a 5.5 cm long carotid segment, the randomly selected 5.5-cm long vascular graft (eVG-CS or ePTFE) was anastomosed in an end-to-end fashion, using 7-0 polypropylene running sutures. Flushing of the neo-conduit was done via a 26-gauge needle before definitive reestablishment of blood flow. Implantation of the contralateral graft was done in a similar fashion. After careful hemostasis, closure of the wound was done in a conventional manner. Both implanted grafts are shown on Figure 4.2.

Each sheep received low-molecular-weight heparin (40 mg, Enoxaparin sodium solution, Lovenox[®], Sanofi-Aventis Canada Inc., Laval, QC, Canada) every day for three days post-operatively and were then given acetylsalicylic acid (80 mg) every day until the end of the study.

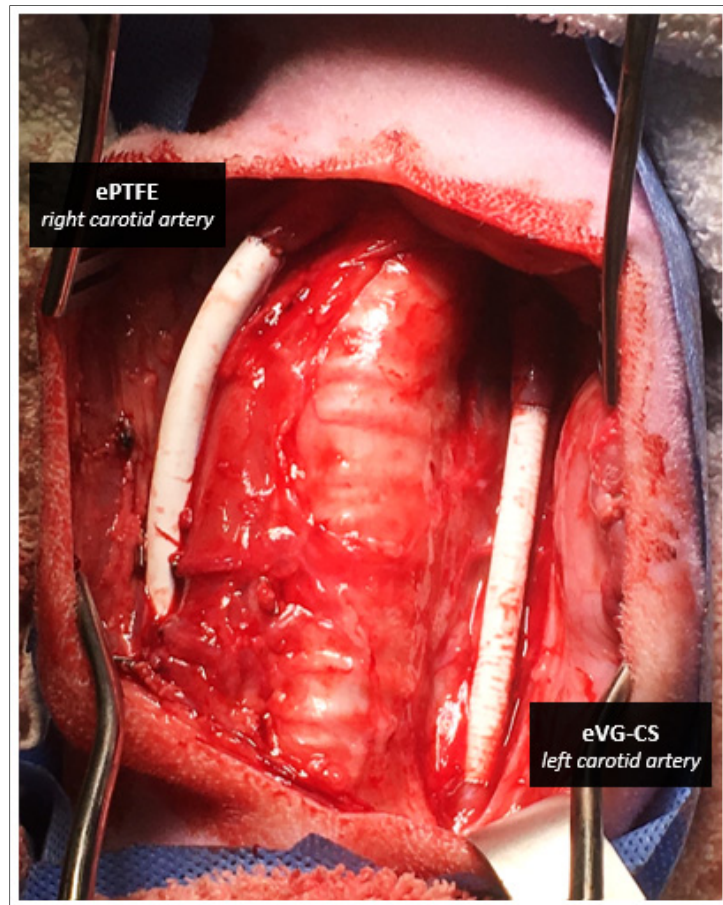


Figure 4.2 In vivo implantation of eVG-CS and ePTFE grafts as bilateral carotid bypass

4.4.3.4 Ultrasonographic follow-up

A duplex ultrasonographic study was performed preoperatively on the first sheep for baseline information on velocities, and a standardized echographic follow-up protocol was planned on each graft at different timelines: immediately post-operative, at 1 week, 4 weeks, 8 weeks and 12 weeks (prior to sacrifice). Peak systolic velocity and ratio measurements were measured systematically on five different sites, including the perianastomotic segments.

4.4.3.5 Animal sacrifice and graft analyses

Sheep were euthanized by IV sodium pentobarbital (108 mg/kg, Euthanyl Forte, Bimeda-MTC Animal Health Inc., Cambridge, ON, Canada). Before harvesting, prostheses were infused with a saline solution for 5 minutes, followed by a formalin solution for 5 minutes. In case of occluded grafts, no irrigation was performed in order not to disrupt the intraluminal content. All explants (20; 10 eVG-CS, 10 ePTFE) were analysed qualitatively for macroscopic appearance, then were immersed in a formalin solution and stored at 4°C. Each graft was subsequently cut into different axial and longitudinal sections, then embedded in paraffin and stained with hematoxylin phloxine saffron (HPS).

4.4.3.6 Study termination

The study was terminated nine weeks after its initiation, following several duplex ultrasound follow-up results showing poor patency of the experimental grafts compared to ePTFE controls.

4.4.4 Statistical analysis

All quantitative in vitro results were obtained from at least three independent experiments. Data were expressed as the mean \pm SD. Statistical tests were carried out through GraphPad Prism Software Version 7.0 (San Diego, CA, U.S.A.) using ANOVA with Tukey's post hoc analysis or unpaired t tests with Welch's correction when comparing two groups only. A Fisher's test was used to compare the in vivo patency of both prostheses. P values of less than 0.05 were considered significant.

4.5 Results

4.5.1 In vitro characterization

Electrospun grafts were observed by SEM and showed nanofibers with a random orientation (Figure 4.3) and a mean diameter of 523 ± 93 nm in the bare state. No significant difference was observed after the addition of the bioactive coating on the grafts (533 ± 57 nm, $p = 0.08$). The mean pore diameter was evaluated at 1.8 ± 0.8 μm with the fitting ellipse method (the average for the major axis and the minor axis are respectively 2.4 ± 0.7 μm and 1.2 ± 0.4 μm). The thickness of eVG-CS mats was 148 ± 23 μm , while the ePTFE graft was almost 5-fold thicker with an average of 692 ± 28 μm for its wall. A typical node-fibril microstructure was observed with internodal distances, described as pore size (Sánchez et al., 2018), of 17 ± 6 and 20 ± 7 μm for the inner and outer layers, respectively.

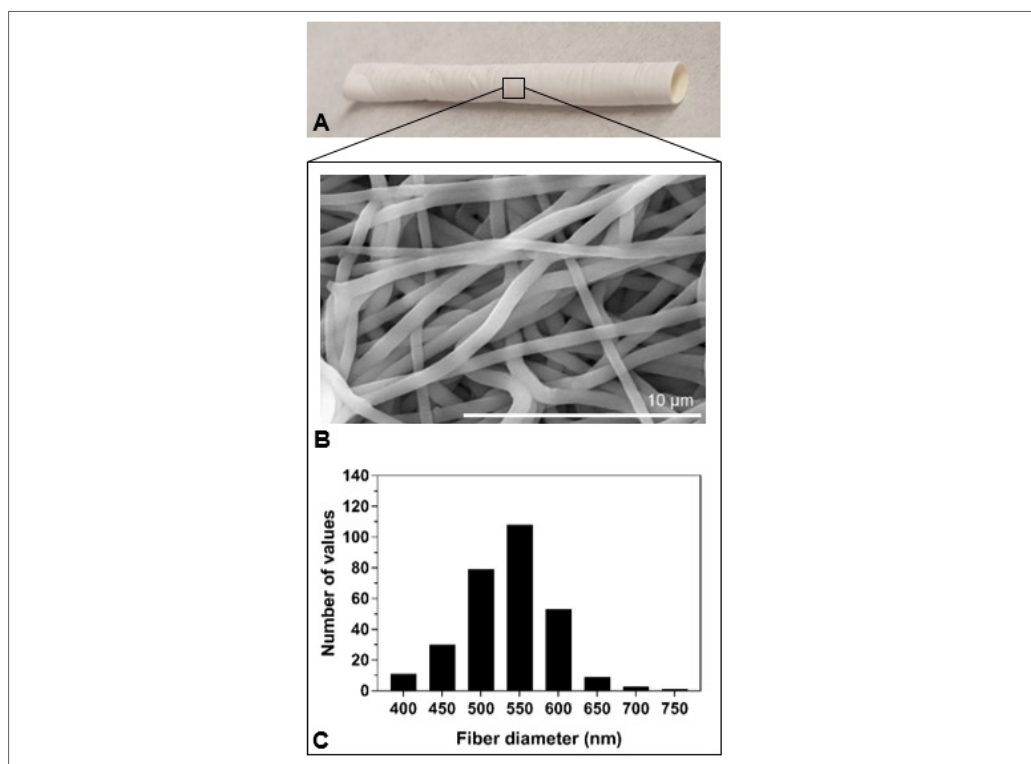


Figure 4.3 (A) Digital image of the graft. (B) SEM image of the nanofiber mat from eVG nanofiber mat (scale bar: 10 μm). (C) Distributions of fiber diameters for coated grafts. There was no difference between bare and coated materials.

An average sulfur concentration of 1.3 ± 0.2 % was measured at the surface of the coated electrospun grafts by XPS technique, while no sulfur was found on bare grafts. This was consistent to previous results on electrospun PET (Lequoy, Savoji, et al., 2016; Savoji et al., 2017) and confirmed the presence of CS at the intraluminal surface of eVG-CS.

Tensile testing of circumferential samples of eVG and eVG-CS demonstrated their quite linear elastic behavior until rupture (Figure 4.4), with a similar Young's modulus (4.6 ± 0.9 MPa and 4.7 ± 1.0 MPa for bare and coated materials, respectively). eVG-CS exhibited a slightly higher tensile strength compared to eVG mats (14.3 ± 2.8 MPa and 10.0 ± 1.7 MPa, respectively, $p = 0.04$).

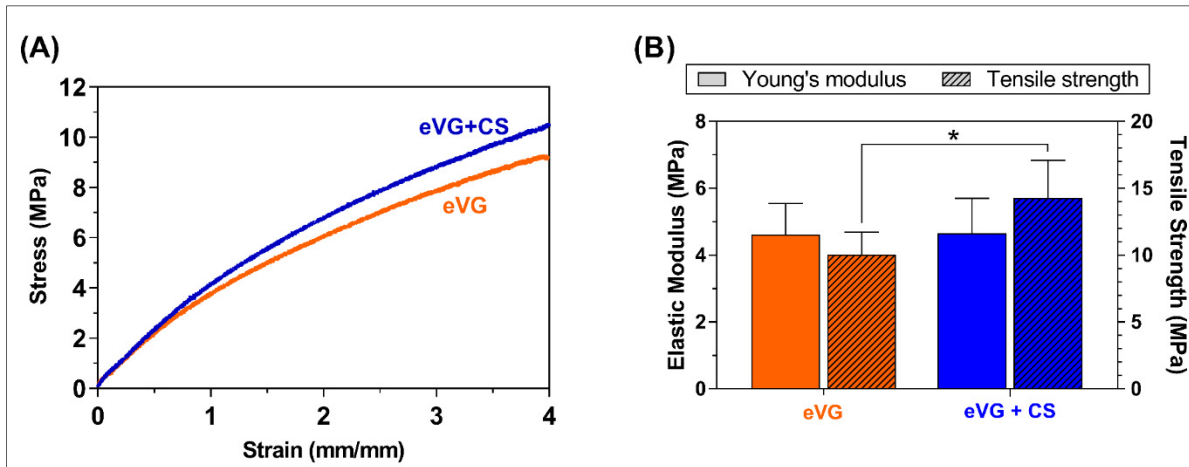


Figure 4.4 Mechanical properties of eVG and eVG-CS grafts. (A) Representative engineering stress-strain curves from circumferential tensile testing. (B) Mean elastic modulus and tensile strength ($n = 13$). Statistical difference noticed * ($p < 0.05$).

These values are close to those found in our previous study for bare eVG (mean $E = 3.9 \pm 0.4$ MPa) for which the compliance was measured to be of 0.0360 ± 0.0018 %/mmHg at the 80-120 mmHg pressure range (Bouchet, Gauthier, et al., 2019), which is 10 times higher than commercial ePTFE prostheses (0.0033 ± 0.0005 %/mmHg (Bouchet, Gauthier, et al., 2019), 0.0026 ± 0.0009 %/mmHg (Moreno et al., 2011)). As the compliance is correlated with the elastic modulus (Chen et al., 2011), we can expect the compliance of eVG-CS to be in the same order of magnitude.

Besides, as for bare grafts (Bouchet, Gauthier, et al., 2019), the water permeability of eVG-CS remained with values below $0.002 \text{ mL.cm}^{-2}.\text{min}^{-1}$, meaning that the addition of the CS hydrophilic coating on the lumen surface of prostheses didn't increase their permeability.

Suture retention strength was measured in the longitudinal direction with an average value of $2.72 \pm 0.56 \text{ N}$ (min-max: 2.03-3.88 N), which is higher than the generally accepted threshold value for implantation, namely 2 N (Billiar, Murray, Laude, Abraham, & Bachrach, 2001).

No discernable weight loss was detected through 6-month ageing of electrospun mats, as well as no changes in their morphology and distribution of fiber diameters (See ANNEXE 2B). Tensile tests also showed that the elastic modulus and tensile strength of eVG remained stable during the 6-month ageing period (Figure 4.5A). FTIR analysis confirmed the presence of both PU and PCL in the electrospun PU/PCL scaffolds. No differences were observed between spectra taken over the 6-month ageing period (Figure 4.5B).

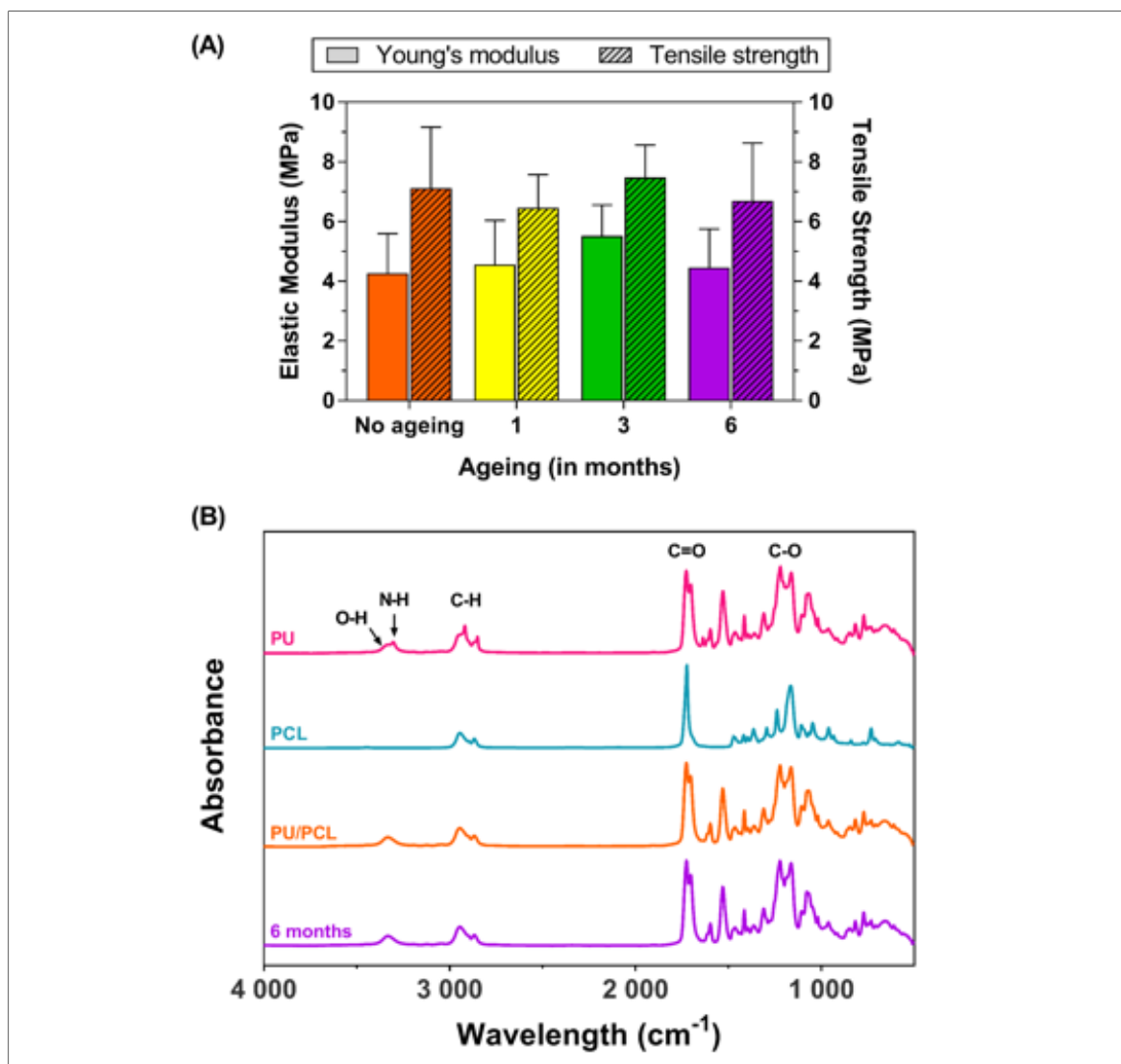


Figure 4.5 Comparison of (A) the elastic modulus and the tensile strength of the eVG scaffolds as a function of ageing duration in a saline solution at 37°C over 6 months, and (B) ATR-FTIR spectra of pure PU, pure PCL and eVG scaffolds after production and after 6-month ageing. Functional groups of $-\text{CH}_2$ (stretching) and carbonyl keton $-\text{C}=\text{O}$ (stretching) were detected in the ranges of 2850-3000 and 1670-1750 cm^{-1} for all spectra. The hydroxyl $-\text{O}-\text{H}$ (stretching) and $-\text{N}-\text{H}$ (stretching) from PU were identified to the broadened peak in the range 3200-3400 cm^{-1} and were also detected in the PU/PCL spectrum. No difference was observed between fresh and aged PU/PCL samples.

4.5.2 In vivo operative outcomes and animal management

A total of 10 sheep were operated as per protocol. Mean carotid cross clamp time was significantly lower for eVG-CS grafts compared to ePTFE grafts (46.6 ± 12.5 minutes vs 60.0 ± 8.0 minutes, $p < 0.001$), probably due to the ease of handling and suturability of the thin electrospun grafts. All grafts were successfully anastomosed to their intended native carotid artery and were free from any visual defect at the time of wound closure.

Three sheep were euthanized or died in the immediate postoperative period - one from perioperative cerebral anoxia attributed to persistent desaturation at the time of carotid cross clamping, and two from respiratory distress attributed to a laryngeal dysfunction secondary to cervical dissection. One sheep was sacrificed at 4 weeks after surgery secondary to persistent respiratory obstruction, and the remaining six sheep were sacrificed at 5-to-8 weeks after surgery (see Table 4.1), at the time of the termination of the in vivo study.

4.5.3 Ultrasonographic baseline and follow-up data

All 10 animals underwent immediate post-operative duplex ultrasound as per protocol, and all eVG-CS grafts were patent and free from any apparent thrombus or stenosis. Doppler signal was absent in ePTFE grafts in the immediate postoperative period, because of the attenuation of the ultrasound in the graft wall (Rostad, Grip, & Hall, 1987), but graft patency and freedom from significant stenosis was confirmed by antegrade flow and normal distal common carotid artery velocities on the immediate post-operative duplex ultrasound examination. All grafts became echogenic at subsequent examinations and were analysed as per protocol.

Seven animals underwent subsequent follow-up duplex ultrasounds until study termination (4 to 8 weeks postoperative). On final ultrasounds prior to sacrifice of the animals that underwent follow-up studies, five out of the seven (71 %) implanted eVG-CS grafts showed either mural thrombus, significant stenosis or complete vessel occlusion, while none (0 %) of the seven ePTFE grafts showed any sign of stenosis or thrombus adhesion (Table 1) ($p = 0.021$).

Table 4.1 In vivo follow-up results. Time in vivo: time from implantation to animal sacrifice.

Animal #	Carotid with eVG-CS graft	Time in vivo (weeks)	eVG-CS at sacrifice	ePTFE at sacrifice
1	Right	< 24h	Patent	Patent
2	Left	7	Stenosis	Patent
3	Right	7	Complete occlusion	Patent
4	Left	7	Stenosis	Patent
5	Left	5	Complete occlusion	Patent
6	Left	4	Patent	Patent
7	Right	< 24h	Patent	Patent
8	Right	8	Stenosis	Patent
9	Right	8	Patent	Patent
10	Right	< 24h	Patent	Patent

4.5.4 Macroscopic analyses and histological examinations

All twenty prostheses were harvested and analysed as per protocol. Macroscopic analysis of grafts that were explanted a few hours after surgery (6 grafts, 3 eVG-CS and 3 ePTFE) demonstrated the permeability and the absence of any major trauma of all conduits. Macroscopic analysis of conduits that were kept in vivo for 4 weeks or more (14 grafts, 7 eVG-CS and 7 ePTFE) showed that ePTFE grafts systematically exhibited higher rigidity and increased adherence to surrounding tissues when compared to eVG-CS grafts (Figure 4.6).

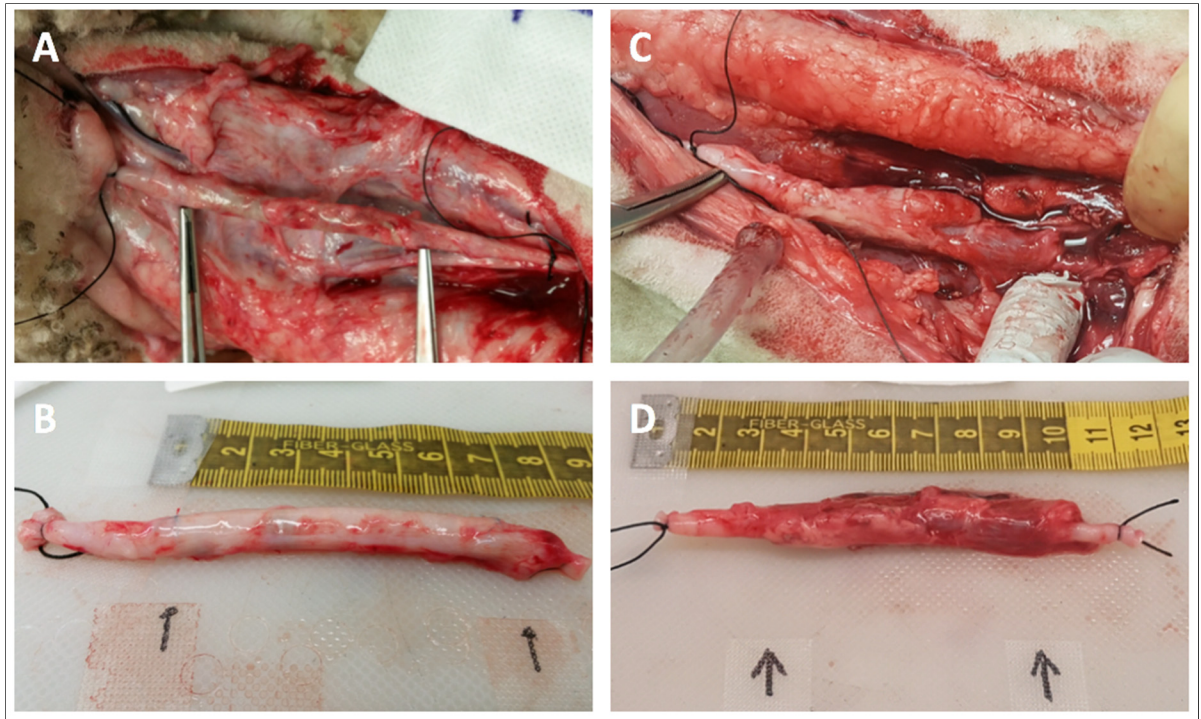


Figure 4.6 Macroscopic analysis. Typical macroscopic appearance of (A, B) eVG-CS grafts after 8 weeks *in vivo*, (C, D) ePTFE prostheses after 5 weeks *in vivo*, showing more tissue adhesion around ePTFE grafts.

Figure 4.7 and 4.8 summarize the main observations from histological analysis. Histological analyses performed on the 6 grafts that were explanted a few hours after surgery confirmed the patency and absence of any major structural trauma on either eVG-CS or ePTFE conduits (data not shown). However, analysis of the 14 grafts that were kept *in vivo* for 4 to 8 weeks revealed major structural anomalies on the 5/7 eVG-CS conduits that led to stenosis or occlusion (Figure 4.8E,F), while the 2/7 patent electrospun prostheses (Figure 4.8A,B) and the 7/7 ePTFE grafts (Figure 4.7) remained intact. Indeed, most eVG-CS grafts exhibited different degrees of structural degradation on large parts of the conduits' walls. In contrary, ePTFE grafts were no different from the ones observed in the immediate explantation subgroup.

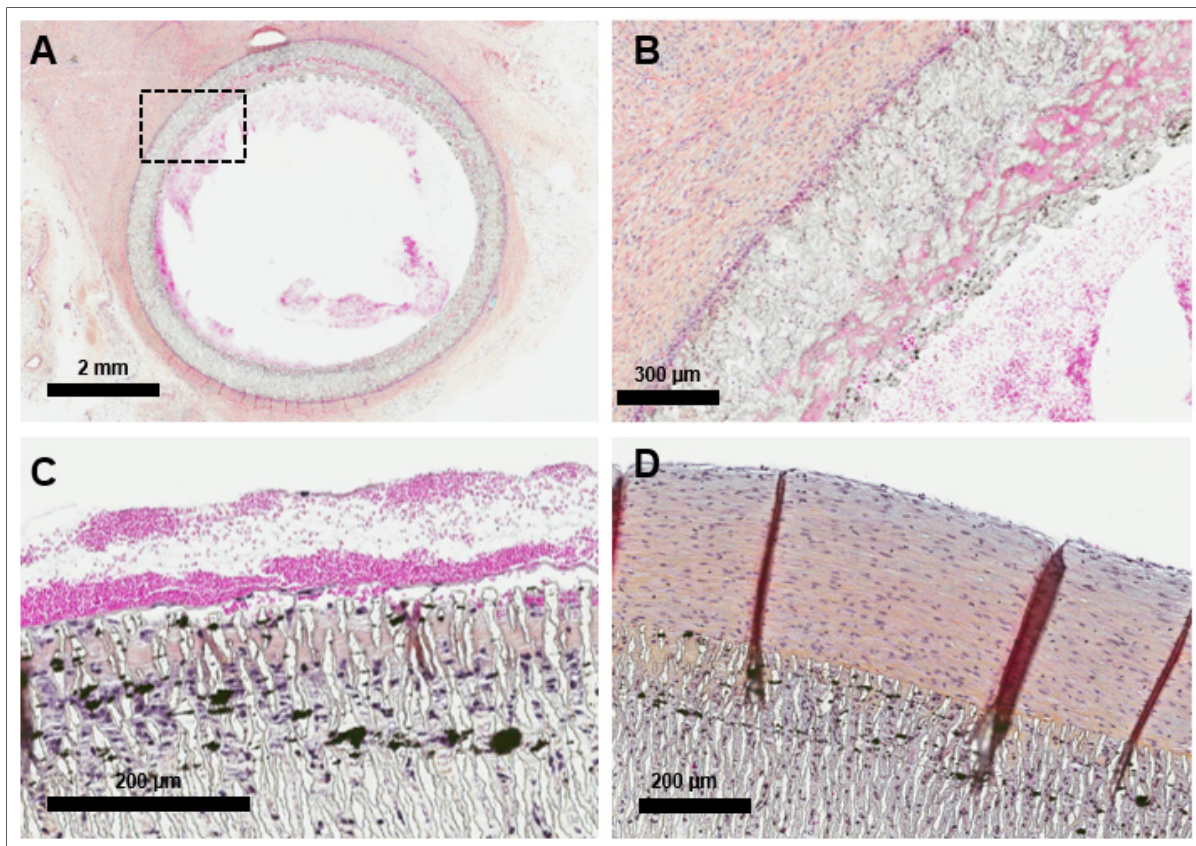


Figure 4.7 ePTFE graft after 8 weeks implantation shows well attached neointima at anastomosis sites but not throughout the length of the implant. (A, B insert) Typical transverse section in the middle of ePTFE implant, showing invasion of the graft by red and white blood cells and a large amount of perigraft tissue around the implant (sheep #2). (C) Longitudinal section showing red blood cells invasion through the ePTFE porosity (black spots are carbon from the prosthesis). (D) Strong neointima attachment close to the anastomosis.

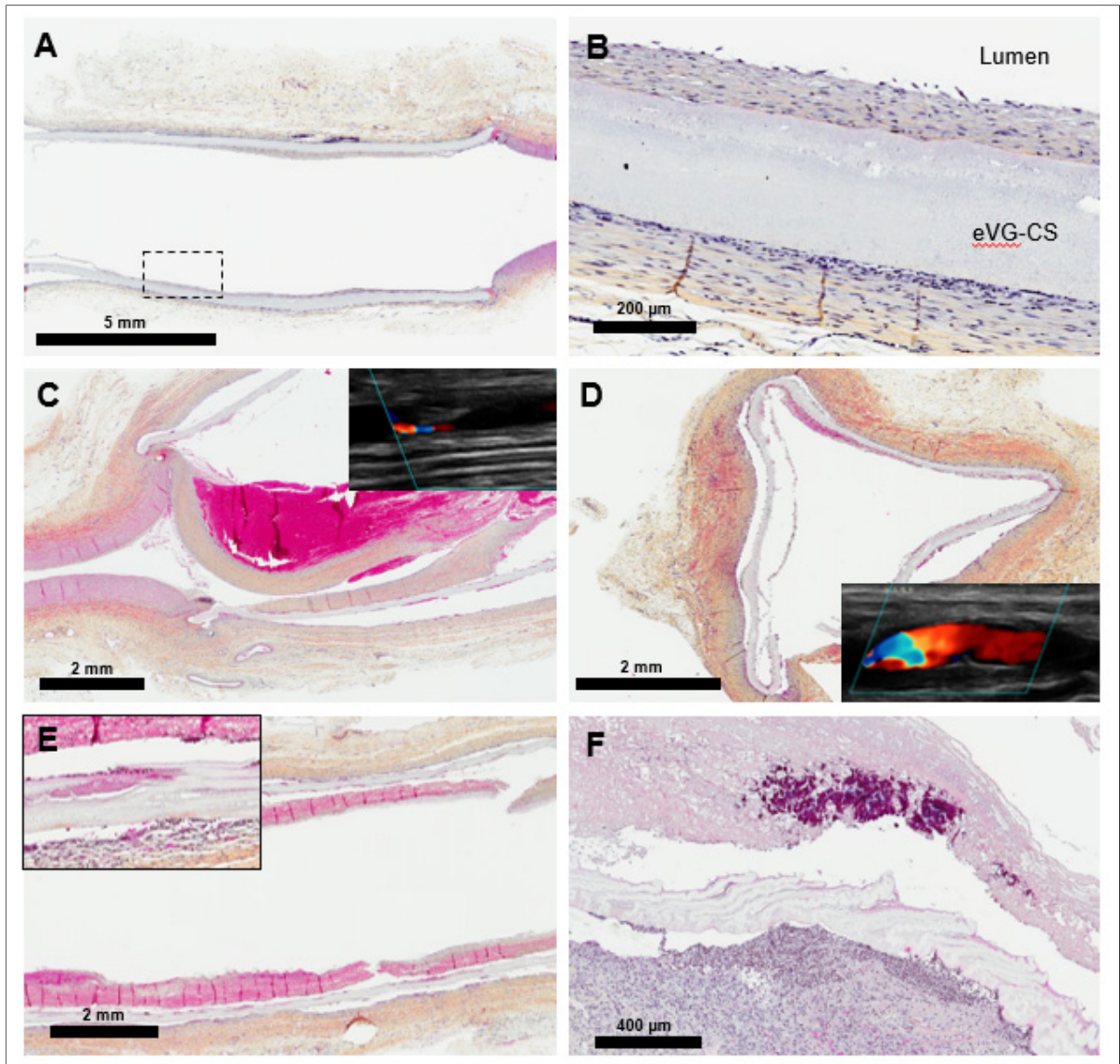


Figure 4.8 PU/PCL grafts after several weeks of implantation.

(A, B insert) Example of patent eVG-CS graft after 8 weeks implantation: distal anastomosis, with thin neointima and complete absence of cell invasion in the electrospun VG (sheep #9). (C) Detachment of the neointima from the prosthesis in the anastomosis region led to the formation of a ‘floating’ thrombus, which was visible by duplex ultrasounds (sheep #2). (D) The lower radial force exerted by eVG-CS grafts, confirmed by their deformation during histological sectioning, can lead to kinking and flow disturbance. (E, F) Thrombosed eVG-CS grafts showed major structural deformations, ranging from intra-wall deficits to frank fiber separation (sheep #6 and #3).

Two other major differences were noticed between histological slides from eVG-CS and ePTFE conduits. One of them is the presence of red and white blood cells throughout the ePTFE grafts (Figure 4.7A, B), while no cells were observed within the thickness of the eVG-CS graft (Figure 4.8B). This difference in blood permeability could explain the larger extent of thrombus or perigraft tissue observed around on ePTFE grafts at explantation. In addition, while the rounded morphology of ePTFE was preserved on transverse sections (Figure 4.7A), it was not the case for eVG-CS, due to lower radial force in the latter (Figure 4.8D).

Morphometric analysis was attempted on grafts that were kept *in vivo* for 4 weeks or more, but the occlusion or degradation of the eVG-CS conduits was too important for a definitive comparison of the extent of graft covered by neointima. Some eVG-CS grafts showed neointimal proliferation on the perianastomotic area of their intraluminal aspect (Figure 4.8A), but only over a few millimeters or centimeters, which was similar to the degree of endothelialisation observed in ePTFE grafts. Besides, there was no strong cohesion between the neointima and the electrospun materials. Figure 4.8C showed an example of neointima detachment from the graft surface at the distal side of eVG-CS that led to the formation of a blood clot and subsequently to the graft occlusion. In contrast, cell invasion inside the porosities of ePTFE was obvious, leading to neointima which is better attached to the graft (Figure 4.7D).

4.6 Discussion

In this study, we created a novel small-diameter bioactive vascular conduit, which was characterized *in vitro* then implanted *in vivo* in 10 sheep. *In vitro* tests confirmed the integrity of the electrospun conduits and the adequate grafting of the bioactive coating to their internal scaffold. Experimental conduits displayed a compliance about 10-times higher than commercially available ePTFE vascular conduits and an adequate suturability profile. Six (6)-months ageing tests in a 37°C saline solution also suggested that the experimental conduits did not undergo significant degradation with time.

In the *in vivo* portion of our study, the electrospun conduits were compared to commercially available ePTFE vascular grafts as bilateral interposition carotid bypasses in a sheep model. The study was terminated at nine weeks, after duplex ultrasound follow-up showed inferiority of the experimental conduits. Although surgical implantation was mostly uneventful, four sheep out of ten suffered from respiratory complications related to the surgical approach and died or had to be sacrificed immediately (3 sheep) or earlier than expected (1 sheep at 4 weeks). These complications could be explained by the use of a ventral sagittal surgical approach, with a single midline incision over the trachea. To expose each carotid artery, the trachea had to be moved laterally. This may have induced tension on surrounding tissues resulting in swelling and inflammation. It appears that sheep are prone to inflammation and swelling when tissue of the cervical region are manipulated. A bilateral approach, by creating two incisions on each side of the trachea, should be preferred to reduce tissue trauma. These complications, although unexpected, allowed us to gather invaluable information on the experimental conduits' behavior in the animals over time. The remaining six sheep underwent follow-up protocol as planned until termination of the study.

Different hypotheses could explain the inferiority of the experimental conduits compared to ePTFE grafts *in vivo* even though they had shown promising results in the *in vitro* phase. Five out of the seven grafts that remained *in vivo* for 4 to 8 weeks had significant structural anomalies. Those grafts were also the ones that showed thrombus adhesion or complete thrombosis, while the two physically intact grafts were free from any clot formation. This led us to believe that the grafts themselves are not inherently thrombogenic in their intact form but gain this characteristic as they undergo physical degradation. This could be explained either by the disruption of laminar flow and subsequent activation of physiological thrombotic mechanisms through flow turbulence (Sánchez et al., 2018), or by the fact that graft's surface disruption exposed the L-PPE:N bed lying between the scaffold and the bioactive (CS) inner-surface. L-PPE:N, which was used in this study to create a strong bond between the scaffold and the CS layer, has well-known pro-thrombotic properties (Thalla et al., 2014). To obtain the bioactive coating at the luminal side, the manufacturing of eVG required a manual processing step of inside-out turn for each prosthesis after plasma deposition. This might have

inflicted surface default and micrometric damages through prosthesis wall that could have impact on the physical deterioration observed *in vivo* thereafter. A solution to that would be to create the amine-rich layer coating directly inside the eVG, either using plasma reactors with cylindrical configuration (Laurent, 2017; Mantovani, Castonguay, Pageau, Fiset, & Laroche, 1999), or by the use of other wet chemical techniques such as the introduction of amine groups by an aminolysis reaction (Zhu, Gao, He, & Shen, 2004; Zhu, Gao, Liu, & Shen, 2002). VG degradation could also rapidly appear, due to the presence of enzymes and/or cyclic mechanical stress. We suspect that the reason why our experimental grafts were subject to high structural degradation over time in the animal is a lack of strong cohesiveness of the electrospun fibers together (Lee et al., 2008; Niu et al., 2019). This would need additional research, including cyclic fatigue testing mimicking pulsatile flow since little is known yet on the fatigue resistance of electrospun mats and VG (Fernández, Auzmendi, Amestoy, Diez-Torre, & Sarasua, 2017).

The smaller radial force exerted by the eVG-CS also increases the propensity of the eVG to collapse or kink, during large flexions and hyperextensions seen in large animal necks and in many human anatomical positions (knee, neck). While its importance in the present study cannot be deduced, mechanical tests reproducing these conditions should be performed. The design of eVG could be modified to provide higher radial force by playing on the orientation of fibers.

Another important point to discuss is the fact that the two intact experimental grafts that remained *in vivo* for 4 and 8 weeks respectively showed nice incorporation and neointimal formation at anastomosis but did not display improved endothelialisation in the center of the graft compared to the ePTFE controls. This is likely to be due to the small pore size of our graft, which was chosen because some previous research showed that this could lead to the formation of a complete endothelial monolayer (Ju, Choi, Atala, Yoo, & Lee, 2010; Savoji et al., 2014; Whited & Rylander, 2014) in contrast to structures with large pores where cells penetrate into the structure and are less likely to form a complete endothelial barrier (Ju et al., 2010; Savoji et al., 2014; Soliman et al., 2011). However, the absence of cell invasion within

the graft also has two drawbacks. First, at the internal surface, it limits the anchorage of neointimal tissue, as we could observe here with several cases of neointima detachment from the grafts. Second, it limits the formation of perigraft tissue and capillary ingrowth through the graft which is believed to play an important role in transmural endothelialisation.

Three mechanisms have been proposed as sources for the graft lumen endothelialisation *in vivo*. First is the transanastomotic ingrowth which was identified as the more probable endothelialisation mechanism in most animal studies (Clowes et al., 1986). However in animals, transanastomotic ingrowth is generally restricted to 1-2 cm from the anastomosis (Clowes et al., 1986; Zhang et al., 2004; Zilla et al., 2007), as it is observed in the case of our study, and is even more limited in humans (Pennel, Bezuidenhout, Koehne, Davies, & Zilla, 2018). The two other processes include a fallout source from circulating cells (Hu et al., 2012; Sánchez et al., 2018) and transmural endothelialisation arising from the capillary ingrowth of perivascular tissue through the pores of the graft wall (Clowes et al., 1986; Hu et al., 2012; Sánchez et al., 2018). Transmural growth has been described to occur significantly faster on high-porosity grafts (Pennel, Zilla, & Bezuidenhout, 2013; Pu, Yuan, Li, & Komvopoulos, 2014; R. A. White, 1988; Z. Zhang et al., 2004). Zhang et al. thus compared PU prostheses of two porosities and concluded that the rapid ingrowth of perigraft collagenous tissue in the most porous prostheses may have accelerated the lining of endothelial-like cells (Zhang et al., 2004). Thus, the pore size and the porosity significantly affect neoendothelialisation and are critical parameters for the performance of vascular grafts. Future work will be performed on grafts with increased pore size.

In contrast to PU/PCL grafts, ePTFE grafts are much more porous and showed pronounced cellular invasion throughout the graft thickness, with obvious communication between the perigraft tissue and the graft lumen and better adhesion of the neointima when present. However, the neointima was still very incomplete at 8 weeks, apart from the anastomosis regions. This is why the use of bioactive coatings remain a potential strategy to improve neoendothelialisation and patency rate of small diameter vascular grafts.

It is however impossible to conclude here about the potential benefit of the chondroitin-rich bioactive coating tested in this study to foster adhesion of endothelial-like circulating cells.

4.7 Conclusion

In the present study, we fabricated small-caliber nanofibrous electrospun PU/PCL vascular grafts coated with a chondroitin bioactive thin coating, which showed promising behavior in terms of compliance, suturability and permeability and did not show deterioration over a 6-month period in in vitro settings. However, this graft did not perform as expected in strenuous in vivo settings, and further research is warranted to explore possible improvements to the scaffold and coating to increase its porosity and make it more resistant to mechanical stress and hostile environments.

Acknowledgements

This study was jointly supported by the Canada Institutes of Health Research (CIHR) and the Canada Research Council in Natural Sciences and Engineering (NSERC) (Collaborative Health Research Projects CPG 127764) and Lerouge's Canada Research Chair in biomaterials and endovascular implants (CRC, 950-229036). M. Bouchet gratefully acknowledges scholarships from École de technologie supérieure. The authors also thank the team of Pr. M. Wertheimer and G. De Crescenzo, as well as M. Gauthier (École Polytechnique), M. Gouin, B. Chayer and I. Salazkin (CRCHUM) and the personnel of the CRCHUM Animal core facility for their collaboration in the project and their skilled technical support.

Conflict of interest

None to declare.

CHAPITRE 5

DETERMINATION OF THE ADHESION BETWEEN ELECTROSPUN MATS THROUGH PEEL TESTS

Bouchet Mélusine^{1,2,3}; Ajji Abdellah^{&3,4}; Lerouge Sophie^{&1,2}

¹Department of Mechanical Engineering, École de technologie supérieure (ÉTS),
Montreal, QC, H3C 1K3, Canada

²Laboratory of Endovascular Biomaterials (LBeV), Research Centre, Centre Hospitalier de
l'Université de Montréal (CRCHUM), Montreal, QC, H2X 0A9, Canada

³CREPEC, Department of Chemical Engineering, École Polytechnique de Montréal,
Montreal, QC, H3C 3A7, Canada

⁴Institute of Biomedical Engineering, École Polytechnique de Montréal,
Montreal, QC, H3C 3A7, Canada
&: Co-corresponding author

Article soumis pour publication dans « Fibers and Polymers », novembre 2019

5.1 Mise en contexte

Les résultats de l'article 2 (CHAPITRE 4) ont mis en lumière des risques associés à une dégradation mécanique des implants électrofilés après implantation. En effet, les expérimentations animales réalisées avec des implants monocouches ont démontré des résultats insatisfaisants dont une des hypothèses concerne le manque de cohésion des matrices électrofilées développées (Figure 5.1A). De plus, l'élaboration de prothèses multicouches est le centre d'intérêt d'un nombre croissant de recherches, et il a pu être observé dans certaines études *in vivo* une délamination entre deux couches de matériaux électrofilés (Figure 5.1B). Pour cette raison, le 3^{ème} objectif de cette thèse (et le sujet de l'article 3) a consisté à étudier l'adhésion entre deux matériaux électrofilés, et à investiguer les facteurs géométriques ou de fabrication impactant l'adhésion de systèmes multicouches.

Les résultats obtenus permettent de poser des bases pour aider à la conception de systèmes multicouches électrofilés et d'apporter des recommandations pour des travaux futurs.

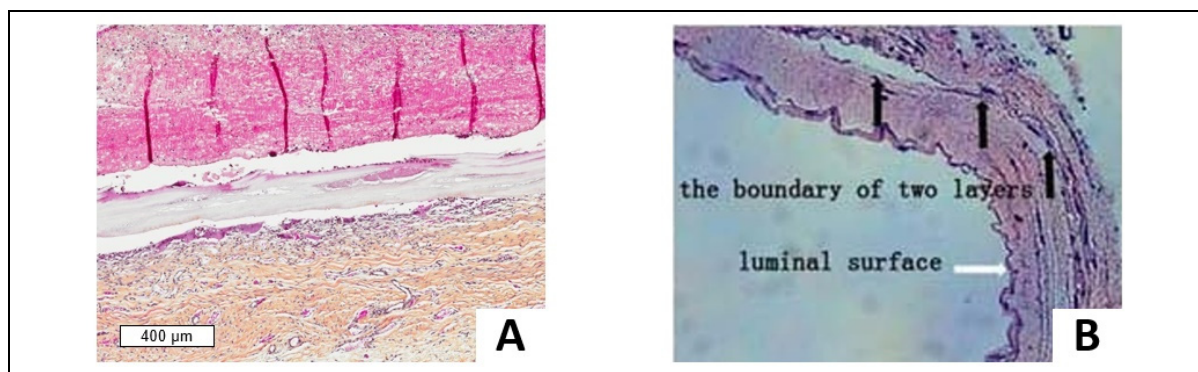


Figure 5.1 Images histologiques de prothèses vasculaires électrofilées explantées après 8 semaines *in vivo*. (A) Prothèse monocouche PU/PCL présentant des altérations structurales (échelle : 400 µm). (B) Prothèse bicouche en PCL-héparine/PU-collagène avec une délamination entre les couches, issue d'une étude canine (grossissement initial x400).

Tirées de (A) Bouchet, Fortin, et al. (2019) et (B) Lu et al. (2013)

5.2 Abstract

Electrospinning is an interesting technique to produce complex fibrous structures with tunable porosity and morphology, but little is known about possible delamination between layers. In the present work, we studied the adhesion between PCL electrospun mats of similar porosity and investigated the effect of different morphologies, solvents and post-treatment on adhesive strength using a T-peel test. The objective is to establish guiding rules for improving the adhesive strength when fabricating electrospun multilayers. The effect of fiber diameter was found to be clearly dominant, large diameter fibers (3.6 µm) showing almost 7-fold increase ($p < 0.0001$) of the adhesive strength compared to smaller ones (0.5 µm), while the use of different solvents for the two layers didn't induce any major change. Heat treatment was also found to improve the adhesive strength. Further study is needed to better understand adhesion mechanisms between electrospun materials. Finally, this T-peel test was found to be an adequate simple tool to test electrospun bilayer materials and evaluate their adhesive strength.

Keywords: Electrospinning, adhesive strength, peel test, multilayer, heat treatment.

5.3 Introduction

Electrospinning is a fabrication technique of non-woven nano- and micro-fibers mats. It has been largely employed in the last two decades for a wide range of industrial applications such as filters, biosensors and in biomedical engineering. In the latter case, applications such as dressings for wound healing or drug delivery, as well as vascular grafts (Bhardwaj & Kundu, 2010; Ding et al., 2019; Xue et al., 2019) have been developed. Nowadays, a general trend is to use complex designs, including systems with multiple electrospun layers on top of each other to improve their performance or meet specific design criteria (Dong et al., 2018; Hassiba et al., 2017; McClure et al., 2012; Shabunin et al., 2019; Tan, Hu, & Zhao, 2015). As evoked by Grey et al., who developed an approach by gradient electrospinning to modulate the properties at the boundaries between layers (Grey, Newton, Bowlin, Haas, & Simpson, 2013), multilayered mats can lead to delamination. Superimposed layers are prone to delaminate over time (Woods & Flanagan, 2014), i.e. the layers detach at the interface, leading to a free space and absence of load transfer to the next layer through the interface. This may impact both the shape and functionality of the product (Amini & Gharehaghaji, 2018; Raju & O'Brien, 2008). For example, in blood vessel substitutes, multilayer electrospun scaffolds are now developed to mimic the properties of the native tissue, with each layer mechanically integrated with the bordering others (Woods & Flanagan, 2014). Lack of cohesiveness of electrospun scaffolds and/or delamination between layers have been observed in several animal studies (Gluais et al., 2019; Lu et al., 2013; Niu et al., 2019; Woods & Flanagan, 2014), as reported by Lu et al. on bilayer graft after 8 weeks in vivo (Lu et al., 2013). Unfortunately, poor results are rarely reported in the literature.

Despite the importance of adhesive strength on the performance of multilayered systems, to the best of our knowledge, little has been reported on the risks of delamination and the adhesive strength between electrospun mats (Montini Ballarin et al., 2013; Shi, Wan, Wong, Chen, & Blackledge, 2010; Shi et al., 2012), most studies being rather focused on the adhesion of electrospun materials with a matrix to create composites (ASTM International, 2012a; Lee,

An, Jo, Yoon, & Yarin, 2015; Najem, Wong, & Ji, 2014). Better understanding of the various parameters which could affect the cohesion between electrospun layers is required.

The objective of the present study was to evaluate peel tests (Kinloch, Lau, & Williams, 1994) as a simple method to determine the adhesive strength between two electrospun mats and the main factors that influence adhesion. We explored the effect of the fiber diameter, the solvent used for electrospinning the mats and a heat treatment on the adhesive strength of electrospun polycaprolactone (PCL), a biodegradable polymer used in a wide range of applications.

5.4 Materials and Methods

5.4.1 Materials and specimen fabrication

Polycaprolactone (PCL, $M_n = 80\,000$) was purchased from Sigma-Aldrich Canada Co., as well as the chemicals, 2,2,2-trifluoroethanol (TFE), chloroform and ethanol. Three different solutions were prepared by dissolving pellets of PCL, as follow: PCL1, 15 wt% into TFE; PCL2, 10 wt% into TFE; PCL3, 15 wt% in a mix of chloroform/ethanol 7:3 (v/v).

PCL bilayer mats were produced on a 6-mm-diameter rotating mandrel using a homemade electrospinning setup. Table 5.1 presents the details of the electrospinning parameters for each solution. The electrospinning of the bottom and top layers was spaced out by at least 15 minutes. The same volume (1 mL) was electrospun for each bottom and top layer. Non-stick aluminium foil pieces were placed on the bottom layer before electrospinning the top layer to allow unbound ends for each layer for subsequent peel tests. Parameters for the electrospinning of PCL3 scaffolds were optimized in order to obtain the same morphology as PCL1 mats. Both layers were electrospun on top of each other to investigate the impact of the solvent nature. PCL2 was produced to study the adhesion between layers presenting different fiber size. Finally, some of the PCL1 and PCL2 bilayer scaffolds were also submitted to a heat treatment in an environmental chamber (Associated Environmental Systems, Acton, MA, U.S.A.) at 65°C for 4 minutes with 20 % humidity, hereafter designated as PCL1HT and PCL2HT, respectively. This treatment was chosen since interfiber bonding was observed through

microscopic observation and for its short duration. Samples were extracted from the drum with a scalpel incision along the longitudinal axis, and were cut into rectangular strips having about 20 mm in length.

Table 5.1 Process conditions used to produce electrospun bilayer scaffolds

Material	Process parameters						Collector		Ambient	
Polymer	Tip-collector distance (cm)	Voltage (kV)	Flow rate (mL/h)	Needle size (G)	Needle translation (cm)	Translation speed (cm/s)	Ø (mm)	Linear velocity (cm/s)	RH (%)	Temp. (°C)
PCL1	25	15	2	18	11.6	2.2	6	3.8	25-65	20-23
PCL2	25	15	2	18	11.6	2.2	6	3.8	25-65	20-23
PCL3	20	15	4	18	11.6	2.2	6	3.8	20-50	20-23

5.4.2 Scaffold morphology and dimensions

Fibers were observed by scanning electron microscopy (SEM) using a tabletop TM3030Plus instrument (Hitachi, Tokyo, Japan) at 15 kV, after sputter-coating a 20 nm-thickness layer of chromium under vacuum. Images were analyzed using ImageJ (NIH, USA) software. Fiber diameters were calculated based on about 50 different fibers from at least three different specimens for each scaffolds type. The porosity ε of the scaffolds was calculated by the gravimetric method, according to equation (5.1) (Cortez Tornello, Caracciolo, Cuadrado, & Abraham, 2014).

$$\varepsilon = 1 - \frac{\rho_{mat}}{\rho_{bulk}} \quad (5.1)$$

Where ρ_{mat} is the density for each electrospun mat, calculated as the ratio between its mass and volume, and ρ_{bulk} is the bulk density of PCL (1.145 g/cm³).

The mean pore diameter d_p was estimated theoretically with a simplification of the model of Eichhorn and Sampson (Eichhorn & Sampson, 2005), in which it is related to the fiber diameter d and the total porosity ε of the scaffold as indicated in equation (5.2) (Soliman et al., 2011).

$$d_p = -\frac{d}{\ln \varepsilon} \quad (5.2)$$

Thicknesses were measured using a Progage Thickness Tester (Thwing-Albert Instrument Company, West Berlin, U.S.A.). Mats were sandwiched between two PET films to avoid errors due to compression. The width was obtained from the average of three measures with a digital Vernier caliper (Mitutoyo, Kawasaki, Japan).

5.4.3 Peel test

The T-peel test protocol was established by adapting ASTM D1876 standard (ASTM International, 2015) to our application, using a mechanical tester Mach-1 v500cst (Biomomentum, Laval, QC, Canada), with a 10 kgf (100 N) load cell. Unbound ends of the test specimen without aluminium foil pieces were clamped in the grips of the testing machine according to Figure 5.2, with an angle of 180° between both ends. The load was applied at a constant speed of 10 mm/min, until the detachment of the entire length of the specimen. At least six different samples were tested for each bilayer system from three independent experiments.

The adhesive strength G between the electrospun layers of each sample is usually calculated with the equation (5.3) (Creton & Ciccotti, 2016).

$$G = \frac{F}{w} (1 - \cos \theta) \quad (5.3)$$

Where, F is the mean peel force (N), w the width of the sample (m), and Θ the peel angle.

With a T-peel test, the initial peel angle is 180°. This reduces the calculation to the following equation:

$$G = \frac{2F}{w} \quad (5.4)$$

The peel angle is assumed to be steady for the entire duration of the test.

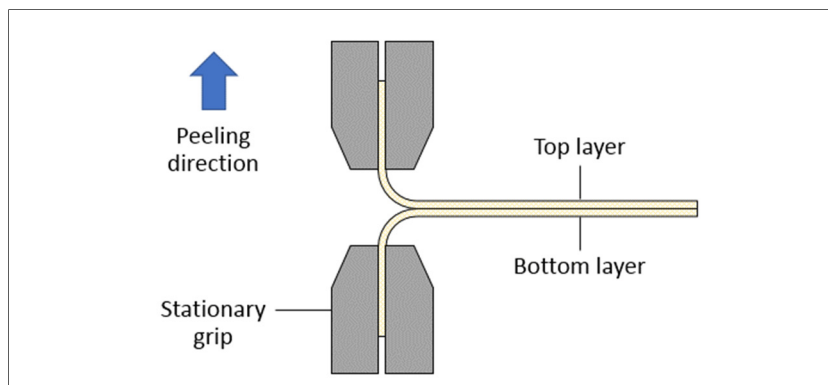


Figure 5.2 Representation of the T-peel test configuration

5.4.4 Differential scanning calorimetry

Differential scanning calorimetry (DSC, TA Instruments, New Castle, DE, U.S.A.) was used to characterize the PCL pellets and mats and to determine the melting temperatures to verify if the PCL electrospun fibers presented different properties than bare PCL material. Specimens (weight 3 to 8 mg) were hermetically sealed in an aluminum pan. DSC was performed at a 10°C/min heating rate up to 110°C. The values of the melting temperature were obtained from the thermograms using the Universal Analysis v4.5 software (TA Instruments, New Castle, DE, U.S.A.).

5.4.5 Statistical analysis

Data are expressed as the arithmetic mean \pm standard deviations. Statistical tests were carried out with GraphPad Prism Software Version 7.0 (San Diego, CA, U.S.A.) using ANOVA with Tukey's post hoc analysis. The normality of data was verified with a Shapiro-Wilk test. P values of less than 0.05 were considered significant.

5.5 Results

5.5.1 Mats characterization

All electrospun PCL mats presented random bead-free fiber structures with porosity about 80 % as reported in Table 5.2. Their morphology can be observed on SEM images in Figure 5.3 and their structural characteristics are summarized in Table 5.2. PCL1 and PCL3 had a mean fiber diameter of 3.6 and 3.8 μm , respectively. Microfiber samples were compared to evaluate the impact of different solvent systems used to produce PCL fibers, while PCL2 samples were produced with smaller nanofibers (510 nm in average) to determine the impact of fiber size on the adhesive strength. The standard deviation for the fiber diameter of PCL3 was higher, indicative of more variability in the production of the electrospun PCL fibers with chloroform/ethanol mixture than with TFE. The thickness of samples was $200 \pm 59 \mu\text{m}$ in average.

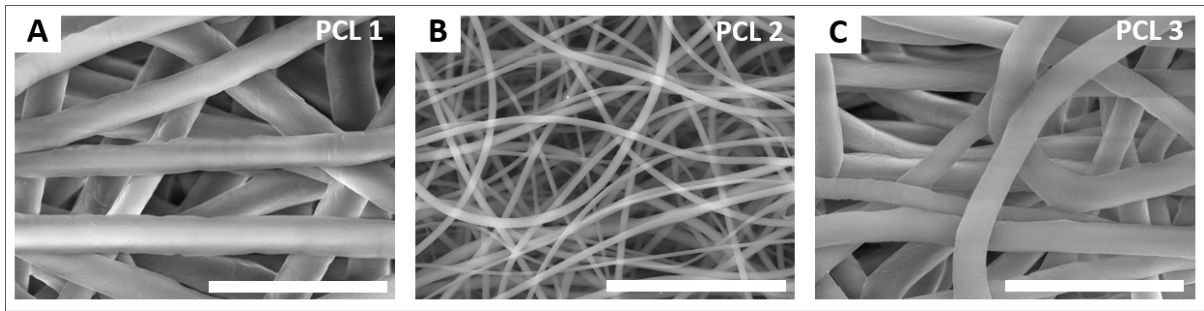


Figure 5.3 SEM images of the morphology of different PCL layers (scale bar: 20 μm). (A) PCL1, (B) PCL2, and (C) PCL3.

Table 5.2 Characteristics of PCL electrospun scaffolds

Materials	Fiber diameter (μm)	Porosity (%)	Pore diameter (μm)
PCL1	3.6 ± 0.4	80.1 ± 1.7	16.2
PCL2	0.5 ± 0.2	79.7 ± 1.5	2.2
PCL3	3.8 ± 1.0	79.8 ± 1.7	16.9

The effect of the heat treatment on the PCL mats can be seen on Figure 5.4AB, showing that fibers bonded at their contact points (especially visible for PCL1HT). In addition, nanofibers (PCL2HT) seemed to be welded together leading to a merging start. Figure 5.4C shows the DSC curves of PCL granules and the electrospun fibers. It is observed that the melting temperature occurs at 63°C for pellets, while in PCL fibers it decreased to 59.4°C and 58.9°C for PCL1 and PCL2, respectively.

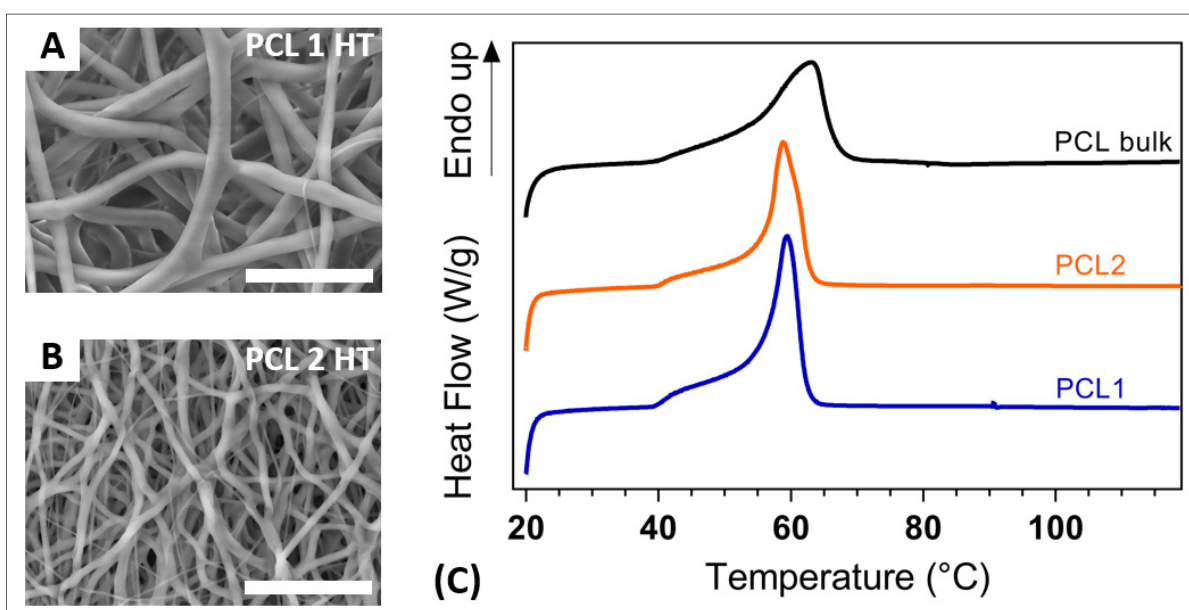


Figure 5.4 (A,B) SEM images of the morphology of PCL1 and PCL2 mats after heat treatment (scale bar: 30 μm). (A) PCL1HT and (B) PCL2HT. (C) DSC thermograms of bulk and electrospun PCL.

5.5.2 Adhesive strength

A typical load-extension curve observed during T-peel test is shown on Figure 5.5A. First, there is an initial increase of the load until the initiation of the detachment of the two layers, followed by a relatively stable zone where the gradual delamination of both mats occurs until the whole length of the sample is detached or the limit of the machine is reached. The small load variation on the plateau region may be due to local surface alignment of fibers opposing the tensile force. The peel force considered for the calculation of the adhesive strength with equation (5.4) corresponds to the average of the load along the plateau.

Results of the T-peel tests for each tested bilayer system are presented in Figure 5.5B. PCL1, PCL2 and PCL3 were tested alone by electrospinning twice the same solution to evaluate their cohesiveness. PCL1 and PCL3 with microfibers reached adhesive strengths of the same order of magnitude, i.e. 65.5 ± 7.9 and 74.4 ± 9.3 mN/mm respectively, whereas PCL2 nanofibers mats displayed significantly lower strength with 9.5 ± 3.1 mN/mm. After a heat treatment of the bilayer PCL1 and PCL2 systems, their adhesive strength significantly increased ($p < 0.0001$) when compared to the values obtained with their initial as-spun bilayer mats. We also evaluated the adhesive strength of bilayer samples with two different layers and obtained values of 14.4 ± 4.3 and 62.0 ± 16.3 mN/mm, for PCL1 electrospun with PCL2 or PCL3, respectively. The morphology of the peeled mats was observed by SEM. All peeled specimens present similar morphologies compared to before being tested. Defects could be noticed on the surface of fibers from the bilayer system composed only of microfibers, either PCL1 or PCL3 mats (Figure 5.6). No change in the surface was observed when the bilayer peeled sample involved one PCL2 nanofiber mat.

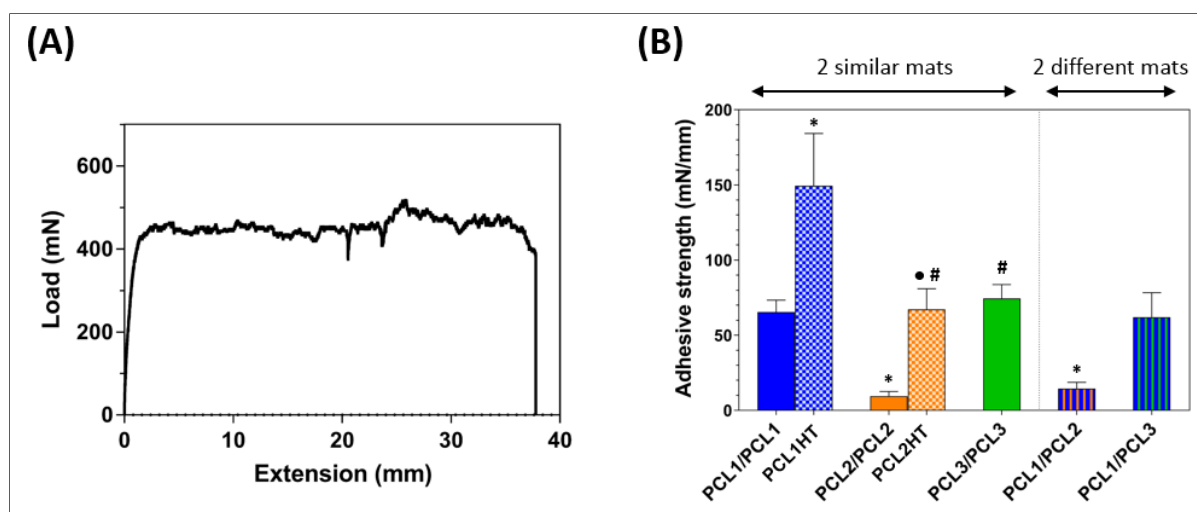


Figure 5.5 Representative load-extension curves obtained from T-peel tests using PCL bilayer systems. (B) Adhesive strength of bilayer electrospun PCL scaffolds (mean \pm SD, $n \geq 6$). On the left side, bilayer systems with 2 similar mats, i.e. twice PCL1, PCL2 or PCL3. The tiled bars represent the adhesive strength after heat treatment of PCL1 or PCL2 bilayer mats, called PCL1HT and PCL2HT, respectively. On the right side, tested bilayer systems with 2 different materials, i.e. PCL1 with PCL2 (3.6 versus 0.5 μ m fiber diameter) and PCL1 with PCL3 (TFE vs chloroform/ethanol as solvent). Significant differences are represented as follow: * from PCL1/PCL1, • from PCL1HT, # from PCL2/PCL2 ($p < 0.0001$).

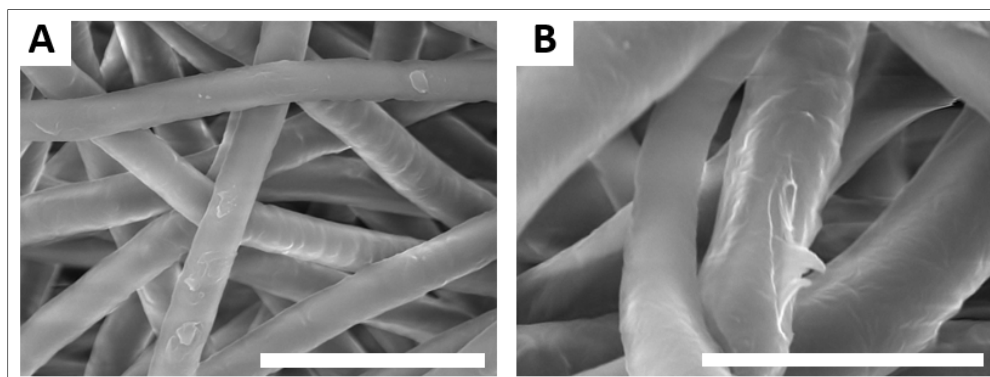


Figure 5.6 SEM images of PCL1 mats after a peel test showing defects on microfibers representing pieces of residual fibers from the other microfiber mat of the bilayer system. Scale bars: (A) 20 μm and (B) 10 μm .

5.6 Discussion

The use of electrospun nonwoven textiles for numerous applications is growing and involves the fabrication of increasingly complex systems. But still little is known about the adhesive strength between electrospun materials in multilayered systems. The cohesiveness of electrospun structures is particularly important for applications such as vascular implants, as bilayer grafts could delaminate (Lu et al., 2013) or monolayer conduits could degrade over time. By using a T-peel test we investigated the adhesive strength between different PCL electrospun layers. We selected PCL as it is a widely used polymer in electrospinning studies (Xue et al., 2019). However, we believe that the trends observed in our exploratory study for adhesive strength can be extended to other polymeric materials.

The T-peel test described in the ASTM D1876 standard is primarily intended to determine the strength of the adhesive that bonds two laminated panels (ASTM International, 2015). We adapted this test for our application to measure the adhesive strength between two materials produced by electrospinning of successive superimposed layers. Differences include smaller sample size and lower peel rate, which was fixed here at 10 mm/min. One limitation of our method is that the angle between the bonded part of the specimen and the direction of tension was not necessarily kept constant at 90° during the test. Bending may have occurred, impacting the concentration of stress as the peel front progressed through the sample (Morris, 2017).

The control over the angle may be done by manually holding the bonded parts (Morris, 2017), but it might introduce parasitic forces (Padhye, Parks, Slocum, & Trout, 2016). To overcome these issues, in the future, the bonded parts of the specimen could be held at a 180° angle with one of the peeled arms (Morris, 2017), or a mechanical fixture supporting the unpeeled parts could be designed (Padhye et al., 2016).

We first verified the reproducibility of the T-peel test as a method to determine the adhesive strength between electrospun materials. The coefficient of variation (or relative standard deviation) for the adhesive strength of the microfibers mats (either PCL1 or PCL3) was 12 %, which we estimated to be acceptable to consider the method reproducible (Gómez & Gómez; Reed, Lynn, & Meade, 2002) due to the variability of the electrospinning process itself (Mitchell & Sanders, 2006; Putti, Simonet, Solberg, & Peters, 2015). The coefficient of variation however reached 30 % for groups which presented low adhesion values, such as PCL2.

In this exploratory study, we first investigated the effect of the fiber diameter by electrospinning two different mats made with microfibers (PCL1, mean diameter 3.6 μm) and nanofibers (PCL2, mean diameter 510 nm). The adhesive strength between two microfiber mats was almost 7 times greater than that between two nanofiber mats. This result suggests that the fiber diameter had a great impact on adhesion, probably due to the increased area of contact between fibers. This was confirmed by laminating the micro and nanofiber layers together. This led to an adhesive strength only slightly higher than that between nanomats, probably because the contact area remains limited by the nanofibers.

Wong and others determined that the dominant adhesion mechanism between electrospun fibers is Van der Waals forces (with the preclusion of capillary bridges between fibers in their evaluation) (Bobaru, 2007; Montini Ballarin et al., 2013; Shi et al., 2010; Shi et al., 2012). One study performed on single electrospun fibers showed that the adhesive strength increased with the decreasing fiber diameter (Shi et al., 2010). This might look in contradiction with our results. It must however be noted that in their study, the adhesive strength was calculated by

dividing the force by the true contact area between the two fibers. In our case, the adhesive strength is calculated by dividing the force during peel test by the sample width. This gives a relative adhesive strength which doesn't take into account the fact that the real contact area between the two layers depends on the fiber diameter and density at the interface.

The contact area between two electrospun mats depends both on the fiber diameter and the number of contact points between the two mats, which is very difficult to assess theoretically. In an attempt to quantify it, we took SEM images after peeling, but the quantification of the contact area was not feasible. Indeed, while pieces of residual fibers from the other mat were visible at the surface of microfibers (Figure 5.6), the real contact area could not be determined. It was even more difficult for nanomats where no defects were observed by SEM on fibers at the interface after peeling. Therefore, our results do not allow to conclude if the adhesive force depends on the mean area for each interfiber contact, the global contact area between the layers or a combination of both.

To study the impact of solvent, we were able to adjust the electrospinning parameters to produce PCL mats with similar morphology but different solvents (PCL1 using TFE and PCL3 using chloroform/ethanol). The solvent can impact the adhesion since residual solvent in the fibers can lead to local fusion at junction points between fibers (Al-Husaini et al., 2019; Chen, Sun, & Wang, 2011). Solvents with higher vapor pressure at room temperature are expected to evaporate more slowly, leading the solidifying fibers to form stronger bonds with the underlying layer. According to the supplier information, TFE and the chloroform/ethanol mixture have a vapor pressure of 70 and 116 mmHg respectively (calculated with Raoult's law equation (Ott & Boerio-Goates, 2000)). This might explain the slightly higher adhesion strength observed for PCL3/PCL3 compared to PCL1/PCL1, but the difference was not significantly different ($p = 0.35$).

The difference between the solvent nature was also investigated by electrospinning together one layer with TFE solution and the other layer with chloroform/ethanol. The resulting adhesive strength was similar to that for each bilayer systems produced with a single solvent

mixture (either PCL1 or PCL3). Thus, the solvent change from one layer to another does not seem to have any impact on their adhesion. This might be explained by the fact that PCL can be dissolved with both solvents and their vapor pressure is in the same order of magnitude. However, it might be interesting to determine the impact of using two different materials, electrospun from different solvents, in which they can't dissolve each other.

To improve the adhesion, one method is to fuse the fibers at their junction points. This will increase the number of fibers participating in the adhesion through the thickness of the specimen. It is also known that thermal treatments can increase the tensile properties of electrospun mats (Al-Husaini et al., 2019; Es-saheb & Elzatahry, 2014; Kancheva, Toncheva, Manolova, & Rashkov, 2015; Tang, Xie, & Xiong, 2010) and affect the crystallinity of the fibers (Ribeiro, Sencadas, Costa, Gómez Ribelles, & Lanceros-Méndez, 2011). Usually, the heat treatment is carried out at a temperature between the glass transition and the melting of the material and can last for hours (Es-saheb & Elzatahry, 2014; Miraftab, Saifullah, & Çay, 2014). Another possible way is to heat samples for a short period of time at temperatures above the melting temperature or close to it (Kancheva et al., 2015). This approach was chosen here.

The limitation of this approach is that the fibrous network of the structure might be lost with completely molten fibers if the thermal process is not well controlled. Glass transition and melting temperatures of electrospun polymers may differ from up to 10°C from that of the bulk polymer, due to difference in the orientation of molecular chains and the crystallinity (Arbade et al., 2019; Cui et al., 2006; Dhakate, Singla, Uppal, & Mathur, 2010; Liu, Guo, Shen, Wang, & Shi, 2009; Zong et al., 2002). Differential scanning calorimetry (DSC) was therefore employed to determine the melting point of electrospun mats and films of PCL. The glass transition was not studied since it is known to be very far from the temperature of interest here, namely around -60°C for PCL (Zhang, Peng, & Zhang, 2017). The melting point of the electrospun fibers was found to be slightly decreased compared to the bulk polymer, from 63 to 59°C (Figure 5.4C). We proposed here a short time for the heat treatment (4 minutes) at a temperature barely above the melting temperature of the bulk (65°C). The heat treatment led to a two-fold increase of the adhesive strength between microfiber mats. The impact on

nanofiber mats was found to be even more drastic, with up to a 7-fold increase. The SEM analysis of the mats showed that our specimen kept their fibrous structures. However, their morphology was slightly modified, and the nanofibers seemed to start merging together. Longer heat treatments at lower temperature such as 55°C during 1 hour (Tang et al., 2010) could be proposed to fuse fiber contact points without the melting effect. Other methods could also be used for increasing adhesion such as the vapor of a proper solvent as post-treatment (like formic acid or dichloromethane)) (Lei, Frey, & Green, 2006; Li, Zhu, Xue, Ke, & Xia, 2017) or blending the electrospun solution with a stickier material (Varagnolo et al., 2017; Yalcinkaya, 2016).

5.7 Conclusion

The adhesive strength between electrospun mats is still poorly investigated. Here, we proposed simple exploratory trials to give fruitful insights into the understanding of the adhesion properties of electrospun multilayered systems independently of the application. We highlighted the impact of the fiber diameter on the adhesive strength which relates to the contact area between fibers at the interface of layers. In order to improve the adhesive strength, if the fiber diameter cannot be increased, it is also possible to use other techniques such as heat treatment. This work is an exploratory study with PCL and further investigations with different materials and topology (fiber diameter, orientation, porosity) are necessary to better understand all the parameters that may influence adhesion between electrospun materials.

Acknowledgements

This research was supported by the Natural Sciences and Engineering Research Council of Canada (NSERC) and the Canadian Institutes of Health Research (CIHR) (CPG 127764). M. Bouchet gratefully acknowledges scholarships from École de technologie supérieure. The authors also thank C. Cerclé (École Polytechnique) for the DSC tests, as well as T. Labonté-Dupuis (ÉTS), M. Gauthier and E. Peigney (École Polytechnique) for their skilled technical support.

CHAPITRE 6

DISCUSSION GÉNÉRALE

Parmi les stratégies de traitement des maladies cardiovasculaires, le remplacement des artères de petit diamètre lors des techniques de pontage n'est toujours pas optimal, conduisant à la nécessité de nouvelles interventions de revascularisation. Les limitations de cette technique se traduisent par deux processus biologiques, l'hyperplasie néointimale et la thrombose, conduisant à l'occlusion progressive du conduit implanté.

Afin de pallier ces complications, dans le cadre de ce projet de doctorat, j'ai poursuivi le développement de nouvelles prothèses vasculaires en ciblant ces deux problématiques, donc en cherchant d'une part à obtenir une structure plus compliant que les prothèses commerciales, et d'autre part à réduire la thrombogénicité des implants en modifiant leurs propriétés de surface pour favoriser leur endothélialisation. Cette thèse visait ainsi à concevoir une nouvelle génération de prothèse vasculaire de petit diamètre, à la fois compliant et bioactive, et d'en vérifier les performances *in vitro* et *in vivo*. L'électrofilage a été choisi comme technique de fabrication dans ce projet pour la polyvalence de ses paramètres et ainsi son potentiel à moduler la morphologie de ses structures et leurs propriétés mécaniques.

Le travail de recherche s'est alors divisé en deux étapes principales :

- (1) Concevoir des structures tubulaires monocouches compliantes par électrofilage et caractériser *in vitro* leur potentiel en tant que prothèses vasculaires, en comparaison avec un implant commercial en ePTFE (Article 1, CHAPITRE 3).
- (2) Combiner la prothèse électrofilée compliant avec un revêtement bioactif favorisant l'endothélialisation, puis caractériser *in vitro* son implantabilité et évaluer sa perméabilité *in vivo* par rapport à un implant commercial en ePTFE (Article 2, CHAPITRE 4).

Suite aux résultats des essais *in vivo*, les travaux ont mené à poursuivre des pistes d'amélioration pour la conception des prothèses électrofilées avec l'adaptation d'une méthode standard de caractérisation de la force d'adhésion au CHAPITRE 5 (Article 3).

Pour le revêtement bioactif, nous nous sommes basés sur la stratégie développée précédemment au laboratoire des Pr. Wertheimer et Lerouge : soit un revêtement constitué d'une couche mince de sulfate de chondroïtine (CS) (réduisant l'adsorption des protéines et des plaquettes, tout en favorisant un bon attachement des cellules endothéliales), greffé sur une mince couche de polymère riche en amine déposé par plasma basse pression (L-PPE:N).

Des recherches antérieures dans les laboratoires des Pr. Lerouge et Ajjji, réalisées par Houman Savoji, ont établi qu'il était possible d'électrofiler des structures en PET ayant une morphologie favorisant l'endothélialisation de leur surface *in vitro* (Savoji et al., 2014). Combiné au revêtement bioactif (L-PPE:N+CS), des cellules endothéliales pouvaient adhérer à ces matrices et croître en une monocouche complète confluyente résistante à l'écoulement (Savoji et al., 2017). Ce type de morphologie combiné au revêtement développé a ainsi été au cœur de la stratégie antithrombotique du projet.

Cependant, les travaux de Matthieu Gauthier ont mis en évidence, via l'élaboration d'un modèle analytique, que des structures tubulaires électrofilées en PET ne pouvaient obtenir des propriétés mécaniques suffisantes pour être considérées comme des prothèses vasculaires de petit diamètre performantes (Gauthier, 2016). Particulièrement, la compliance des conduits en PET électrofilés est insuffisante, d'environ 0,005 %/mmHg pour des structures ayant un module d'élasticité (E) de 15 MPa, et est donc très éloignée des valeurs des artères natives à remplacer (0,0725 %/mmHg) (Gauthier, 2016).

6.1 Conception d'une structure tubulaire compliant par électrofilage

Dans la lignée des travaux existants, et dans la première étape de ce projet (CHAPITRE 3), nous avons employé le modèle analytique afin de sélectionner un matériau approprié pour concevoir une prothèse vasculaire. En fixant les valeurs cibles de compliance et de pression à la rupture à partir de mesures d'artères natives (soient 0,0725 %/mmHg et 2031 mmHg, respectivement, cf. Chapitre 1, section 1.2.1), le modèle a permis de déterminer que le matériau employé devait avoir un ratio σ_{ult}/E d'une valeur minimale de 1,78 afin que les prothèses de

petit diamètre développées aient des propriétés mécaniques (compliance, pression à la rupture) proches de ces valeurs cibles quel que soit le coefficient de Poisson du matériau. C'est ainsi que, sur la base de la littérature, nous avons opté pour un mélange de polyuréthane et polycaprolactone (90/10) qui, électrofilé, permettait d'obtenir un ratio σ_{ult}/E de 4,36 d'après l'étude de Guo et al. (2015).

Nous avons alors confirmé la possibilité d'électrofiler des nanofibres avec ce mélange PU/PCL, ayant une morphologie proche des matrices développées par Houman Savoji (Savoji et al., 2014; Savoji et al., 2017), et donc un potentiel d'endothélialisation. Par des essais en tension dans la direction circonférentielle, il a été montré que le module d'élasticité de ces structures électrofilées en PU/PCL (4,8 MPa) était plus proche des vaisseaux natifs que celui des prothèses électrofilées en PET (15 MPa) (Gauthier, 2016), et surtout que des prothèses commerciales en ePTFE (17,4 MPa). **Ceci s'est traduit par une compliance environ 10 fois supérieure pour les conduits électrofilés**, avec des valeurs de 0,036 et 0,0034 %/mmHg aux pressions physiologiques (entre 80 et 120 mmHg) pour les prothèses PU/PCL de 145 μ m et ePTFE, respectivement. La pression à la rupture de nos prothèses a également été vérifiée avec des valeurs avoisinant la valeur cible de 2031 mmHg.

La compliance et la pression à la rupture sont des propriétés mécaniques majeures des implants qui dépendent d'un facteur géométrique de conception : l'épaisseur des parois. En effet, améliorer la compliance d'une prothèse en réduisant l'épaisseur de ses parois conduit parallèlement à réduire la pression à la rupture, qui ne doit pas être trop faible. L'épaisseur influe également sur la maniabilité de l'implant par les médecins lors de la chirurgie et sur l'étanchéité de la prothèse à l'implantation. Il est alors important de définir adéquatement ce facteur géométrique afin d'obtenir un équilibre adéquat entre ces différents paramètres à prendre en compte. C'est ainsi que dans le but de déterminer l'épaisseur minimum, des tests d'étanchéité à l'eau ont été réalisés en parallèle des essais de compliance et de pression à la rupture. Cette méthode de test de perméabilité avec de l'eau est reconnue dans la norme ANSI 7198 pour la caractérisation des prothèses vasculaires (American National Standards Institute, 2010). Du sang hépariné provenant d'un animal tel que le cochon aurait pu être employé afin

de se rapprocher des conditions physiologiques. Néanmoins, de Valence et al. (2012) ont comparé les mesures de perméabilité à l'eau et au sang hépariné pour des prothèses électrofilées. Ils ont alors obtenu une perméabilité au sang quasi-nulle mais une plus grande perméabilité avec de l'eau (0,16 et 23,4 mL.cm⁻².min⁻¹, respectivement), ce qui est cohérent avec la viscosité de ces deux fluides, et leurs prothèses n'ont pas de fuites *in vivo*. Ces travaux nous ont permis de nous guider dans l'évaluation de l'étanchéité au sang de nos conduits via des essais avec de l'eau, choisie comme fluide de test particulièrement pour des raisons de propreté des équipements et de disponibilité.

Nos essais ont permis d'attester que l'épaisseur minimale pour obtenir une bonne étanchéité était de 50 µm. De façon plus générale, nous avons déterminé qu'une structure tubulaire électrofilée en PU/PCL d'environ 145 µm d'épaisseur donnait un bon compromis entre les diverses propriétés mécaniques et physiques pour envisager de bonnes performances en tant que prothèse dans le remplacement des vaisseaux de petit diamètre.

La première étape de ce projet s'est donc conclue avec succès puisque nous avons confirmé qu'il est possible de fabriquer à partir d'un mélange en PU/PCL une structure tubulaire électrofilée ayant une morphologie favorisant l'endothélialisation, étanche au sang, et plus compliant que une prothèse commerciale en ePTFE.

Néanmoins, les prothèses développées n'ont pas atteint le niveau de compliance des vaisseaux natifs, une caractéristique qui nous semblait importante pour éviter toute incompatibilité (*mismatch*) mécanique. D'une part, le module d'élasticité circonférentiel est légèrement supérieur à celui d'artères coronaires (environ 1-2 MPa (Montini-Ballarin, Abraham, et al., 2016)) et la compliance de nos conduits est à la moitié de la valeur cible (0,0725 %/mmHg). D'autre part, le comportement mécanique de nos conduits diffère aussi de la réponse mécanique en forme de J typique des artères naturelles (Claes et al., 2010; Holzapfel, 2001) (cf. Chapitre 1, section 1.2.1.1). Ceci s'explique par le fait que le ratio σ_{ult}/E calculé (1,54) avec les structures électrofilées en PU/PCL était plus bas que la valeur seuil de 1,78 déterminée par le modèle analytique, et beaucoup plus faible que celui ayant guidé le choix du matériau, soit 4,36 d'après les travaux de Guo et al. (2015). Une raison possible de cet écart est la morphologie de nos structures électrofilées qui est différente de celles fabriquées par Guo et

al., dont les fibres sont de plus gros diamètre (730 nm en moyenne, au lieu de 523 nm), et qui possèdent de plus hautes propriétés mécaniques que les nôtres : nos prothèses obtiennent un module d'élasticité de 4,8 MPa avec une contrainte ultime de 7,3 MPa, alors qu'ils sont de 13,8 MPa et 60 MPa respectivement dans les travaux de Guo. La résistance ultime est beaucoup plus élevée que la nôtre, ce qui pourrait aussi s'expliquer par l'étape de séchage de leurs échantillons dans un four à 55°C, qu'ils effectuent post-fabrication, et pourrait avoir comme incidence d'augmenter la liaison entre les fibres (Tang et al., 2010). Nous n'avons pas testé de structures avec de telles tailles de fibres car nous cherchions à reproduire une morphologie de fibres ayant prouvé leur capacité d'endothélialisation (Savoji et al., 2014; Savoji et al., 2017). Mais il pourrait être intéressant de chercher des morphologies de fibres ou d'autres matériaux afin d'atteindre un ratio σ_{ult}/E supérieur à 1,78, et ainsi obtenir encore de meilleures performances en termes de compliance, tout en restant dans une gamme de pression à la rupture suffisante. Ainsi, de récentes publications montrent que du PU seul, électrofilé, est capable d'obtenir un ratio σ_{ult}/E entre 2,1 et 8,3 avec un module d'élasticité avoisinant 1-2 MPa (Cha et al., 2006; Jasim, Najim, & Jabur, 2019) ou 3 MPa (Voorneveld, Oosthuysen, Franz, Zilla, & Bezuidenhout, 2017), ce qui est du même ordre que les vaisseaux natifs.

Il serait également intéressant de valider davantage le modèle analytique afin de confirmer qu'un matériau de ratio σ_{ult}/E de 1,78 permettrait d'obtenir une compliance du même ordre que les artères natives. En effet, dans l'utilisation de ce modèle, des hypothèses simplificatrices ont dû être effectuées. Ainsi, ce modèle prédit les propriétés mécaniques de matériaux isotropes au comportement linéaire élastique, ce qui n'est pas une caractéristique du comportement général des polymères. Le module d'élasticité du matériau et l'épaisseur des parois de l'implant sont également supposés constants dans le modèle, ce qui n'est pas représentatif de nos conditions expérimentales avec les propriétés mécaniques du PU/PCL sélectionné et selon la pression appliquée. Les valeurs expérimentales mesurées et analytiques calculées à partir de la fabrication de notre structure tubulaire en PU/PCL comportent ainsi des écarts relatifs relativement grands qui ne permettent pas de vérifier la validité du modèle. Il serait intéressant d'en confirmer la validité à partir d'un matériau correspondant au mieux à l'hypothèse majeure du modèle. Notamment, les structures à base de PU purs mentionnées précédemment ont un

comportement en tension linéaire, et dont il serait possible de s'inspirer pour électrofiler des structures semblables.

Recommandations : Afin de vérifier la validité du modèle analytique, un matériau élastique isotrope pourrait être investigué par la fabrication et la caractérisation de structures tubulaires. Avec la confirmation que le rapport σ_{ult}/E de 1,78 permet de prédire une compliance du même ordre que les artères natives pour des structures tubulaires de petit diamètre, des travaux pourraient se concentrer sur la recherche de nouveaux paramètres d'électrofilage ou la sélection d'un nouveau matériau, afin de concevoir des implants ayant des propriétés permettant d'atteindre ce rapport minimum.

Dans la mise en œuvre des essais de caractérisation de ce premier objectif, l'une des limitations techniques majeures du projet mises en évidence concerne la technique de fabrication par électrofilage. Il a été relevé, d'une part, une non-uniformité de l'épaisseur des parois des structures tubulaires le long de leur axe, et d'autre part, des problèmes de reproductibilité de la morphologie des fibres. Ainsi, la fabrication de prothèses électrofilées, similaires en termes de morphologie et propriétés mécaniques, s'est avérée laborieuse et chronophage. Cette insuffisance de reproductibilité peut s'observer particulièrement au niveau des essais de tension et de compliance (CHAPITRE 3), pour lesquels il a été difficile d'obtenir des structures ayant des modules d'élasticité et épaisseurs de paroi proches. Plusieurs prothèses ont été testées, mais seuls les résultats les plus représentatifs ont été soumis pour publication. De plus, la non-homogénéité des épaisseurs le long de l'axe des prothèses a probablement entraîné une sous-évaluation des pressions à la rupture mesurées (CHAPITRE 3) en raison de l'éclatement des conduits pour les épaisseurs locales les plus faibles.

Ces difficultés s'expliquent notamment par le comportement des fibres électrofilées avec notre système d'électrofilage. En effet, nous utilisons dans ce projet un montage « maison » de pièces détachées, réalisé par les techniciens de l'École Polytechnique. Le système emploie uniquement une source de voltage positif avec le collecteur relié à la terre.

Lors de l'électrofilage, le jet de polymère suit le trajet où la différence de potentiel est la plus élevée (Teo, 2016). Néanmoins, les autres éléments dans la boîte d'électrofilage (tels que le moteur de rotation du mandrin, le rail de translation de l'aiguille, la pompe, etc.) sont également reliés à la terre. La fibre est alors attirée par la distance la plus courte entre la source et un autre élément du montage, étant initialement généralement le collecteur. Au fur et à mesure que les fibres s'accumulent sur le collecteur, la différence de potentiel entre la source et le collecteur diminue en raison de l'accumulation de charges résiduelles et cela entraîne une déviation du jet vers une zone où le gradient électrique sera le plus élevé (Teo, 2016). Ainsi, la structure électrofilée résultante peut varier en épaisseur d'une fabrication à l'autre du fait de la variation possible du gradient électrique entre les divers éléments du montage. De plus, le montage est positionné dans une boîte au sein de laquelle les conditions ambiantes ne peuvent pas être contrôlées. Une forte variation, notamment de l'humidité, peut avoir lieu à l'intérieur de cette boîte en fonction des conditions extérieures. L'augmentation de l'humidité affecte la morphologie des fibres électrofilées, pouvant mener à un accroissement de leur diamètre ou la fusion de fibres (cf. Chapitre 1, section 1.4.2), ce qui généralement modifie les propriétés mécaniques de la structure résultante. Un système d'air comprimé a été employé pour tenter de réduire l'humidité dans la boîte d'électrofilage. Cependant, il peut en résulter un impact sur la projection du fil de polymères électrofilé et donc sur l'amplitude de la matrice résultante sur le collecteur.

Recommandations : Dans le but d'améliorer la reproductibilité et l'homogénéité des structures électrofilées, il est fortement encouragé de rajouter au montage d'électrofilage une source de voltage négatif à relier au collecteur. Le gradient électrique sera ainsi toujours plus élevé entre la solution polymérique et le collecteur tout au long du procédé d'électrofilage. Une machine automatisée, telle que celle du fournisseur Tong Li, avec une source de voltage négatif additionnelle et ayant un contrôle sur la température et l'humidité ambiante dans son enceinte, devrait de plus permettre un électrofilage plus reproductible et homogène.

6.2 Vérification de l'implantabilité de la prothèse développée

La première étape du projet a conduit à la fabrication de prothèses électrofilées en PU/PCL, ayant démontré des meilleures propriétés mécaniques que des prothèses commerciales en ePTFE, tout particulièrement au niveau de la compliance. Un revêtement bioactif à base de CS a été rajouté à la surface luminale de ces conduits dans le but de promouvoir l'endothélialisation. La présence de la molécule bioactive a été confirmée par la teneur en soufre détectée par XPS à l'intérieur des conduits (CHAPITRE 4). L'association des implants électrofilés avec le revêtement n'a pas entraîné de modifications significatives sur le diamètre des fibres et le module d'élasticité des structures (CHAPITRE 4), supposant que les prothèses bioactives comportent une compliance équivalente aux conduits développés dans le CHAPITRE 3. Néanmoins, avant de mener vers des essais *in vivo*, il était nécessaire de vérifier le caractère implantable de ces prothèses.

La résistance à l'arrachement des sutures a été évaluée *in vitro*. Les mesures avec nos prothèses électrofilées ont toujours été supérieures à 2 N (CHAPITRE 4), qui est une valeur seuil acceptée dans la littérature pour implanter les conduits vasculaires (Billiar et al., 2001). Cependant, il est important de prendre en compte que cette valeur dépend de plusieurs paramètres, tels que la vitesse d'élongation ou la dimension du fil du suture utilisée (Montini-Ballarín, Calvo, et al., 2016; Pensalfini et al., 2018), qui ne sont pas spécifiquement précisés dans la norme ANSI 7198. La variété des fils et vitesses employés au travers de la littérature empêche une comparaison de ces mesures avec les différents travaux et démontre le manque de détails dans la définition des normes liées aux prothèses vasculaires.

Il est important de signaler que la prothèse implantée a été stérilisée selon une méthode de stérilisation validée et reconnue, contrairement à plusieurs travaux de recherche où une simple désinfection par trempage dans l'éthanol (Lu et al., 2013) ou sous UV (Hashi Craig et al., 2010) a été effectuée avant l'implantation animale, à défaut qu'aucune information ne soit mentionnée (Yokota et al., 2008; Zhou et al., 2014). Ceci avait pour but de faciliter un éventuel transfert vers l'industrie. Des tests préliminaires (non publiés) ont été effectués pour évaluer

l'impact de deux types de stérilisation (oxyde d'éthylène et vapeur de peroxyde d'hydrogène (V-PRO maX®) disponibles au Centre Hospitalier de l'université de Montréal (CHUM) sur la morphologie des fibres électrofilées et les propriétés mécaniques des conduits électrofilés avec revêtement bioactif. Les résultats sont présentés à l'ANNEXE II. Aucune détérioration de l'état des fibres électrofilées n'est visible au MEB après l'une ou l'autre de ces deux techniques de stérilisation. Malgré un faible nombre d'échantillons étudiés, les propriétés mécaniques des prothèses semblent rester du même ordre de grandeur après la stérilisation à l'oxyde d'éthylène ou V-PRO maX®. Néanmoins, des tests additionnels permettraient de le confirmer de façon statistique. En raison de contraintes de temps, il était nécessaire de réaliser rapidement la stérilisation de nos conduits. Comme les cycles de stérilisation V-PRO maX® sont plus fréquemment réalisés au CHUM que ceux avec l'oxyde d'éthylène (de façon quotidienne vs hebdomadaire, respectivement) et que l'oxyde d'éthylène peut mener à la présence de résidus toxiques dans les prothèses, une stérilisation par V-PRO maX® a été employée dans le projet. À terme, des essais cellulaires et sanguins devraient être effectués afin de vérifier que la stérilisation ne cause pas de modification de la biocompatibilité et la thrombogénicité du revêtement.

Recommandations : *Afin d'envisager un transfert vers l'industrie des implants vasculaires, des essais additionnels après un cycle de stérilisation doivent être réalisés pour confirmer la biocompatibilité et les performances des implants bioactifs stériles. La bioactivité du revêtement doit également être contrôlée.*

6.3 Implantation *in vivo* : évaluation de la perméabilité et de l'endothélialisation de la prothèse avec revêtement bioactif

Les hypothèses de travail établies dans notre projet supposent que la combinaison d'une prothèse électrofilée compliant avec un revêtement bioactif à base de CS entraînera une diminution de sa thrombogénicité en favorisant l'endothélialisation de sa surface luminale *in situ*. À cet effet, nos implants bioactifs ont été testés dans un modèle bilatéral ovin en

comparaison avec une prothèse en ePTFE durant plusieurs semaines. Sans considérer les complications liées à la chirurgie ayant nécessité le sacrifice des animaux post-implantation (3 moutons sur un total de 10 animaux implantés), **les nouveaux conduits expérimentaux ont néanmoins démontré une infériorité en termes de perméabilité par rapport aux implants commerciaux, avec l'observation de thrombus et sténose partielle ou totale pour 71 % des prothèses électrofilées** (5 prothèses sur les 7 étant restées de 4 à 8 semaines *in vivo*), alors qu'aucune complication n'est visible avec les implants en ePTFE.

Les causes de ces résultats décevants ont été discutées dans l'article 2 (CHAPITRE 4), mais il est important d'y revenir et de détailler davantage certaines hypothèses.

Dégradation des implants

L'une des hypothèses est que les parois des prothèses électrofilées se sont déformées structurellement au cours de l'étude et cela a mené à leur échec. **Ces altérations morphologiques de la paroi ont pu mener à une perturbation du flux laminaire et l'activation subséquente des processus thrombotiques.** La question se pose alors concernant la dégradation des polymères constitutifs de nos prothèses. L'altération lente et irréversible des propriétés, de la structure et/ou de la composition du matériau définit le vieillissement des implants artériels. Ainsi, il est important d'en vérifier la stabilité afin de prédire le comportement dans le temps des implants et leurs performances, notamment pour s'assurer que les prothèses conservent leurs propriétés mécaniques et structurelles lors de l'implantation. De plus, les industriels demanderont aussi que les implants ne se dégradent pas sur une durée suffisamment longue permettant le stockage avant implantation.

Notre prothèse est fabriquée à partir d'un mélange composé à 10 % de polycaprolactone (PCL) (80 000 g/mol) et 90 % d'un polyuréthane, dit « MDI-polyester/polyether polyurethane »¹⁰. La dégradation des polyuréthanes dépend de leur composition chimique et est modulée via leur teneur en segments mous, tels que des polyesters comme le polycaprolactone (Caracciolo,

¹⁰ Nom complet : Poly[4,4'-methylenebis(phenyl isocyanate)-alt-1,4-butanediol/di(propylene glycol)/polycaprolactone]

Buffa, Thomas, Vohra, & Abraham, 2011; Guan, Sacks, Beckman, & Wagner, 2002) qui compose notre polyuréthane. Ces segments se dégradent généralement par hydrolyse (Caracciolo et al., 2011). Des structures à base de polycaprolactone seul (66 000-80 000 g/mol) peuvent se dégrader complètement en 3 à 4 années *in vivo* (Pitt, Chasalow, Hibionada, Klimas, & Schindler, 1981; Sun, Mei, Song, Cui, & Wang, 2006). Et parmi les nombreux polyuréthanes synthétisés dans la littérature, leur vitesse de dégradation peut varier entre quelques semaines à quelques années (Asplund et al., 2008; Cauich-Rodriguez, Chan-Chan, Hernandez-Sanchez, & Cervantes-Uc, 2013). C'est ainsi qu'avant d'implanter nos implants électrofilés chez les animaux, il était important de vérifier qu'ils ne se dégraderaient pas au cours de l'étude et seraient capables de maintenir leur intégrité structurelle pour l'adhésion et la croissance de cellules.

Un test de vieillissement d'une durée de 6 mois a été réalisé en immergeant nos implants électrofilés dans une solution saline à une température physiologique de 37°C. Ceci aurait également pu être réalisée avec du milieu de culture, comme dans les travaux de Lee, Yoo, Lim, Atala, et Stitzel (2007), dans lesquels ils ont cherché à évaluer la stabilité dimensionnelle par mesure du diamètre interne en immergeant leurs prothèses électrofilées à base de collagène, élastine et divers polymères dégradables (PCL, PLCL, PLLA et PLGA) durant 2 mois. Dans notre étude, nous avons observé qu'il n'y avait aucune différence significative avant et après 6 mois de vieillissement pour nos implants en termes de poids, diamètre de fibres, propriétés mécaniques (module d'élasticité, contrainte ultime) ou composition chimique (CHAPITRE 4). Ceci nous a mené à conclure à la stabilité des structures électrofilées en PU/PCL durant 6 mois.

Néanmoins, ces conditions ne sont pas représentatives d'un environnement biologique dans lequel les implants vasculaires peuvent être sévèrement endommagés. D'une part, les liaisons ester composant notre matériau sont hydrolysables par des enzymes (Cauich-Rodriguez et al., 2013). Des essais de dégradation enzymatique, avec des lipases par exemple (Patel et al., 2015), permettraient d'apporter une meilleure évaluation de l'éventuelle dégradation des implants qui pourraient se produire *in vivo*. D'autre part, les prothèses subissent *in vivo* des chargements cycliques sous l'effet de la pression sanguine et des mouvements du corps

(exemple en flexion dans le cou du mouton), ainsi que des contraintes de cisaillement du sang sur la paroi luminale (Khoffi, 2012). Afin de **vérifier la durabilité des implants** au niveau mécanique, il serait bon de faire subir une série de sollicitations dynamiques aux prothèses avant d'effectuer leur caractérisation mécanique (Dieval et al., 2001). Notamment, des essais en fatigue dans la chambre BioDynamic® de l'ElectroForce® 3200 peuvent être élaborés, de la même manière que les essais de compliance. La FDA recommande que les stents et prothèses vasculaires résistent de 400 à 600 millions de cycles de chargement *in vitro* (Cavanaugh, Holt, Goode, & Anderson, 2006) et un minimum de 30 jours d'essais est préconisé (L'Heureux et al., 2007). Malheureusement les essais cycliques sont encore peu réalisés dans la conception de nouveaux implants (Skovrind et al., 2019).

Une altération notable de la structure des prothèses électrofilées a été observée sur les images ultrasonores et histologique des cas d'échec. Celle-ci peut être due à un manque de résistance (lié aux propriétés intrinsèques) du conduit électrofilé développé, à leur dégradation dans le temps mais également à l'étape de retournement subséquente au dépôt plasma afin d'obtenir la couche fine d'amines primaires nécessaire au greffage de la CS à la surface luminale des conduits. En effet, cette étape s'effectuait par l'inversion des faces interne et externe des implants, c'est-à-dire leur retournement complet, nécessitant le froissement et l'étirement des conduits (ANNEXE III). Des marques sur la prothèse sont visibles suite à cette étape et suggèrent que des dommages ont été infligés à la structure. Il a notamment été noté que ce retournement générait des « vagues » à la surface interne des prothèses.

La variabilité de cette étape de retournement, combinée à celle du procédé d'électrofilage discuté en amont, se solde alors ici par des altérations structurelles sur au moins une partie de nos implants, pouvant participer à leur échec. En effet, toute surface irrégulière causant des turbulences peut mener à la formation de thrombus, alors qu'une surface lisse est nettement préférable du point de vue hémocompatibilité (Sakariassen, Orning, & Turitto, 2015).

Afin d'améliorer le processus de fabrication des prothèses électrofilées avec le revêtement bioactif à base de CS et de s'affranchir de l'étape de retournement, **d'autres techniques d'introduction de groupements amines doivent être étudiées** qui ne vont pas détériorer les

implants, tels que l'emploi de réacteur plasma cylindrique (Laurent, 2017) ou des procédés chimiques comme l'aminolyse (Zhu et al., 2004; Zhu et al., 2002).

Recommandations : *Le procédé de fabrication doit être amélioré en modifiant la technique d'introduction de groupements amines pour éviter le retournement des prothèses. Il serait aussi nécessaire d'étudier la durabilité des prothèses vasculaires avec leur comportement en fatigue et de rajouter systématiquement ces essais dans les démarches de conception de nouveaux implants. Des essais de dégradation enzymatique permettraient de mieux évaluer l'éventuelle dégradation des implants in vivo.*

Thrombogénicité de la surface

L'occlusion des prothèses électrofilées peut également être due au caractère thrombogène de leur surface interne. Ceci pourrait s'expliquer par l'hypothèse que le revêtement (L-PPE:N+CS) à la surface interne des prothèses n'a pas été bien effectué, n'est pas stable ou pas efficace. Le greffage de la CS à la surface luminale des implants avait pour objectif de mener à une endothélialisation des conduits électrofilés *in situ*. Les recherches précédentes *in vitro* dans notre laboratoire ont montré que cette molécule favorise l'adhésion et la croissance des cellules endothéliales, ainsi que leur rétention sous un flux, tout en réduisant l'agrégation des plaquettes (Savoji et al., 2017; Thalla et al., 2014). Cependant, la technique de greffage de la CS sur des groupements amines a été étudiée dans notre laboratoire initialement en tant que revêtement de matériaux en PET (Charbonneau et al., 2012; Savoji et al., 2017). Dans ce projet, nous utilisons ce procédé pour greffer cette molécule sur des structures en PU/PCL. Notre hypothèse était que le L-PPE:N riche en amines primaires, employé comme couche intermédiaire, peut être déposé sur n'importe quelle surface et permet donc d'obtenir une mince couche de CS uniforme quel que soit la nature du substrat de départ. La présence de la CS après greffage par EDC-NHS n'a donc été vérifiée que par XPS, via la concentration en soufre à la surface luminale des implants (CHAPITRE 4). Cependant, l'XPS est une technique ayant une profondeur d'analyse de 5-10 nm (Thermo Fisher Scientific Inc., 2019). Les matériaux recouverts de (L-PPE:N+CS) étant poreux et une molécule CS en solution ayant un

diamètre de 1,2 nm (Tanaka, 1978), il est possible que le soufre puisse être détecté au travers de la structure poreuse et pas seulement en surface. Également, les dimensions des échantillons ne dépassent pas les quelques millimètres pour cette méthode de caractérisation de haute résolution, ce qui est loin de la longueur d'une prothèse de 5-7 cm, et cette technique ne peut garantir l'uniformité du greffage sur l'implant.

Suite aux résultats décevants des implantations *in vivo*, la question de l'uniformité du greffage s'est posée, particulièrement en raison des propriétés pro-thrombotiques du L-PPE:N qui pourrait alors se retrouver exposé. Des travaux complémentaires ont donc été effectués, dont les résultats se trouvent à l'ANNEXE IV.

Dans un premier temps, des essais de coloration à la fuchsine acide ont été effectués et confirment l'homogénéité du dépôt plasma avant et après retournement des prothèses, ainsi qu'après avoir été soumis à un essai de compliance (ANNEXE IV). L'étape d'inversion des implants n'a ainsi pas endommagé la couche mince de L-PPE:N et son adhérence semble être suffisante pour résister aux pressions physiologiques. Dans le cas où le dépôt L-PPE:N serait endommagé, la thrombogénicité inhérente à la composition chimique de notre matériau électrofilé aurait pu être en cause, mais cela n'a pas été vérifié dans cette étude. Cependant, les travaux de Hu et al. (2012) utilisent le même polyuréthane que celui employé dans notre projet et leurs prothèses électrofilées ne sont pas thrombosées après 8 semaines d'implantation chez des chiens. L'équipe de Walpoth travaille également avec du PCL électrofilé de même poids moléculaire que le nôtre. Leurs implants ont obtenu une perméabilité parfaite jusqu'à 18 mois d'implantation chez des rats (de Valence et al., 2012), mais leurs surfaces se sont recouvertes de microthrombis après 4 semaines d'implantation chez des cochons sans être la cause d'occlusion des conduits (Mrówczyński et al., 2014). Les matériaux employés dans notre étude ne semblent donc pas posséder un fort caractère thrombogène.

Par la suite, afin de vérifier si la CS était greffée sur le L-PPE:N de façon similaire à ce qui avait été observé sur le PET, il a été choisi de réaliser des essais d'angles de contact en utilisant 3 différents liquides (MilliQ, formamide, éthylène glycol) afin de déterminer l'énergie de surface de films de PET et PU/PCL vierges ou recouverts d'une couche mince de L-PPE:N avec et sans greffage de CS (ANNEXE IV). Il a alors été possible de calculer des énergies de

surface semblables sur les deux films recouverts de L-PPE:N (40 et 41 mJ/m², respectivement pour PU/PCL et PET), avec des composantes polaires et dispersives proches (soient respectivement 20 et 21 mJ/m² pour le PET et 14 et 26 mJ/m² pour le PU/PCL). Néanmoins, après le greffage de la CS, les énergies de surface divergent et sont de 47 mJ/m² pour le PET et de 60 mJ/m² pour le PU/PCL. Leurs composantes polaires et dispersives diffèrent aussi : elles sont respectivement de 3 et 57 mJ/m² pour le PU/PCL, comparativement à 10 et 38 mJ/m² pour le PET. Les mesures ont été réalisées sur des films pour s'affranchir de la rugosité des surfaces en PET et en PU/PCL. Ainsi les résultats obtenus suggèrent que la méthode employée pour le greffage de la CS sur le L-PPE:N impacte les propriétés de surface des films en PU/PCL de façon différente que pour ceux en PET, et il est possible qu'elle ne soit pas complètement adaptée pour un matériau en PU/PCL. Il faut cependant noter que les coefficients de régression linéaires étaient plus faibles pour les surfaces modifiées par CS (0,89 seulement). Afin d'améliorer la fiabilité des résultats de régressions linéaires selon la méthode d'Owens-Wendt, il serait important d'ajouter un liquide supplémentaire lors des essais d'angles de contact, tel que le diiodométhane ou le tricrésyl phosphate.

De plus, d'autres méthodes devraient être utilisées pour confirmer ou non le revêtement uniforme de CS. Dans le cas des films (pouvant réfléchir la lumière), l'analyse par XPS peut être complétée avec des mesures d'épaisseur des différentes couches du revêtement par ellipsométrie afin de confirmer la présence de CS en surface suite au greffage, sachant que la couche de CS recouvrant le dépôt L-PPE:N a été mesurée de l'ordre de 0,37 à 0,81 nm (Charbonneau et al., 2011; Lequoy, Liberelle, De Crescenzo, & Lerouge, 2014). Des essais d'adsorption de protéines avec de l'albumine de sérum bovin ou du fibrinogène, marqués avec un marqueur fluorescent, permettraient de confirmer que le greffage de CS est suffisamment complet et efficace, c.à.d. permet d'empêcher l'adsorption de protéines à la surface, notamment des protéines jouant un rôle dans la coagulation, tel que cela a été démontré précédemment sur des surfaces en PET recouvertes de L-PPE:N puis de CS (Thalla et al., 2014).

Ainsi, l'hypothèse que le revêtement (L-PPE:N+CS) peut être déposé de façon uniforme sur tout type de matériau tend à être contredite. Pour la vérifier, des tests supplémentaires,

tels que mentionnés précédemment, sont nécessaires et sont à réaliser sur des films et des structures électrofilées en PU/PCL. Pour la suite des travaux, des essais de thrombogénicité *in vitro* et d'adhésion de cellules endothéliales devraient être effectués, notamment en comparaison avec les travaux antérieurs du laboratoire sur le PET.

Impact de la compliance sur l'hyperplasie néointimale

Une autre hypothèse importante du projet est qu'une prothèse électrofilée plus compliant permet de réduire l'hyperplasie intinale et donc les cas d'échec à long terme des prothèses. Malheureusement, du fait des complications cliniques et des nombreuses thromboses observées à l'intérieur de nos conduits, les essais animaux ont été écourtés et la durée maximale d'implantation *in vivo* a été de 8 semaines. Ceci est relativement insuffisant pour permettre la survenue d'occlusions induites par hyperplasie néointimale (Skovrind et al., 2019), considérée entre 2 et 24 mois après la chirurgie (Lemson, Tordoir, Daemen, & Kitslaar, 2000). Cette courte durée et la présence de thrombose intraluminale ne permettent donc malheureusement pas de conclure sur les bénéfices d'une structure compliant comme la nôtre par rapport aux implants en ePTFE.

Effet du revêtement sur l'endothélialisation

Il est important de mentionner que la stratégie de greffage de la CS à la surface luminale des prothèses avait initialement pour objectif d'être combinée à un pré-ensemencement *in vitro*, avec culture dans un bioréacteur avant implantation. Ceci n'a pas pu être réalisé pour des questions techniques (le laboratoire du CNRC qui devait collaborer avec nous à ce sujet a dû abandonner le projet pour des raisons politiques). Dans le cadre de ce travail, nous avons donc fait l'hypothèse que la CS permettrait de réduire la thrombogénicité, et éventuellement de favoriser une endothélialisation des conduits électrofilés *in situ*. C'est-à-dire que la CS aurait la capacité d'attirer et de capturer les cellules endothéliales progénitrices circulantes (EPC) ou provenant de la surface externe via la porosité de la prothèse.

Les essais *in vivo* n'ont pas témoigné la présence de cellules endothéliales au centre des prothèses, mais les durées d'implantation ont été courtes, ce qui empêche de conclure quant à la capacité d'attraction des EPC du revêtement bioactif. De plus, la porosité des prothèses, tel que détaillé plus bas, était insuffisante pour déterminer si le revêtement peut favoriser la colonisation via les pores de l'implant.

Avec les travaux antérieurs à l'esprit, il est cependant possible d'affirmer que le revêtement (L-PPE:N+CS) conserve un intérêt certain dans une optique de pré-ensemencement des implants vasculaires avant implantation, mais cela ne rentre pas dans notre stratégie acellulaire de conception de prothèse rapidement prête à l'emploi. Afin d'étendre les investigations pour favoriser une endothélialisation *in situ*, les prochains projets liés aux revêtements bioactifs pourraient se concentrer à **examiner le potentiel du revêtement à base de CS à capturer les EPC**, ainsi qu'à sélectionner une molécule bioactive spécifique des EPC pouvant être immobilisée sur la surface des implants ou via (L-PPE:N+CS). Des facteurs de croissance, tels que le VEGF, ont déjà été étudiés comme candidats pour promouvoir la mobilisation des EPC (Goh, Wong, Farhatnia, Tan, & Seifalian, 2014). Plus important encore serait d'augmenter la porosité de l'implant.

Importance de la porosité sur l'endothélialisation

Afin de favoriser l'endothélialisation des implants, une porosité optimale de leur paroi est essentielle. Au niveau de la surface luminale, cela facilite l'ancrage de la néointima, tandis qu'au niveau externe les pores permettent aux capillaires de se former et de pénétrer dans la paroi pour venir accélérer l'endothélialisation (Clowes et al., 1986; Sánchez et al., 2018). Nos prothèses ont démontré une **dimension de pores insuffisante** (diamètre d'environ 2 μm) **pour permettre l'infiltration de capillaires et le maintien de la néointima** de part et d'autre de leur paroi. La morphologie de nos fibres a été basée sur les travaux de Savoji et al. (2017), dont les expérimentations *in vitro* permettaient d'obtenir une endothélialisation complète de ses surfaces en PET. Or, nos résultats *in vivo* ne peuvent confirmer ses travaux. La topographie idéale de la surface luminale des implants vasculaires n'obtient pas un clair consensus dans la littérature et Dong et al. (2018) met en évidence que des surfaces lisses favorisent l'adhésion et la prolifération de cellules endothéliales, de même qu'une réduction de l'activation des

plaquettes, par rapport à des structures en nanofibres ou microfibres. Au vu du manque d'ancrage de la néointima dans nos essais animaux, il est à prévoir que cela risque également d'être le cas pour des surfaces internes lisses et n'est pas approprié pour des implants vasculaires. De plus, la porosité est importante pour le transport des nutriments et de l'oxygène et la communication entre les cellules (Dora, 2001; Shojaee & Bashur, 2017).

Pour obtenir une monocouche complète de cellules endothéliales à la surface luminale des prothèses, **la contribution de plusieurs mécanismes d'endothélialisation *in vivo* est primordiale**, car l'endothélialisation transanastomotique est connue pour permettre le recouvrement de l'implant sur une longueur maximale de 1-2 cm (Berger et al., 1972; Sánchez et al., 2018). L'endothélialisation transmurale nécessite de capillariser la paroi des implants, qui est **favorisée par des dimensions de pores entre 5 et 30 μm** (Zhang et al., 2004). Ainsi, de prochains travaux sur la conception d'implants vasculaires doivent se concentrer à obtenir des parois poreuses de cet ordre de grandeur. Dans cette approche, il s'agira de s'assurer également que les cellules endothéliales peuvent toujours adhérer en surface et croître en une monocouche confluite. Avec l'accroissement des pores, la démarche de conception du CHAPITRE 3 doit être conservée avec la vérification de l'étanchéité des implants et la définition adéquate de l'épaisseur.

Importance des essais *in vivo*

Avant de pouvoir mener à des essais cliniques, les implantations chez des animaux constituent une étape essentielle pour déterminer les performances des prothèses. Néanmoins, ces essais *in vivo* sont très coûteux et les recherches s'attardent généralement sur la caractérisation *in vitro* de leurs prothèses, notamment en testant plusieurs marqueurs de coagulation ou d'inflammation avec leur biomatériau (Anderson, Glynn, Song, & Hinds, 2014). Mais ces modèles simplifiés examinent généralement la réponse d'un seul composant sanguin, comme les plaquettes, ou réalisent leur essais de manière statique, et ils ne représentent pas avec précision les performances des implants *in vivo* (Anderson et al., 2014). C'est ainsi que des implants ayant obtenus des résultats prometteurs *in vitro* se heurtent à de mauvais résultats lors d'implantations animales. Ceci est malheureusement peu communiqué dans la littérature et il

semble que des travaux prometteurs sur le papier n'aient pas été poursuivis (Desai et al., 2011; Grey et al., 2013; Liu et al., 2017; McClure et al., 2010). Il est alors encouragé de **tester les prototypes chez quelques animaux plus rapidement afin d'en vérifier le potentiel**, avant de s'attarder longuement *in vitro* ou de lancer de grands essais pré-cliniques (Aussel et al., 2017; Jirofti et al., 2018). De plus, le remodelage des implants *in vivo* implique une modification de leurs propriétés mécaniques (Hashi Craig et al., 2010; Liu, Ong, Fukunishi, Ong, & Hibino, 2018; Roeder, Lantz, & Geddes, 2001), particulièrement pour des matériaux dégradables, et il est alors important de vérifier l'évolution de leurs performances au cours du temps. Pour toutes ces raisons, bien que les implantations animales puissent sembler avoir été effectuées tôt dans le processus de conception, au regard des résultats négatifs obtenus, elles sont fort utiles pour améliorer le design et influencer la suite du projet.

Recommandations : Des travaux complémentaires doivent être menés concernant le greffage de la CS sur des matériaux en PU/PCL, ainsi que des essais *in vitro* de thrombogénicité et d'adhésion de cellules endothéliales.

Afin de favoriser l'endothélialisation des implants in situ, la porosité de la paroi des implants doit être augmentée pour permettre leur capillarisation et l'ancrage de la néointima à la surface luminale. Il serait également possible d'examiner la capacité des revêtements, à base de CS ou de molécules plus spécifiques, à capturer les EPC.

Des essais sur quelques animaux réalisés plus tôt dans les recherches permettraient de corroborer ou réfuter des résultats prometteurs obtenus in vitro.

Facteurs déterminant la réussite d'une prothèse vasculaire électrofilée

Le schéma suivant (Figure 6.1) résume les principaux facteurs déterminant dans l'efficacité d'une prothèse vasculaire, au vu des connaissances acquises durant cette thèse.

Les paramètres de conception majeurs d'une prothèse vasculaire à considérer lors du développement d'une prothèse vasculaire sont présentés dans la partie supérieure bleue. La partie inférieure rouge représente les impacts de chacun des paramètres dans les processus pouvant mener à l'échec des prothèses, lorsqu'ils ont été mal définis lors de la conception. Chaque flèche représente un lien de cause à effet. CE : cellules endothéliales, CML : cellules musculaires lisses, NO : oxyde nitrique.

Les paramètres de conception majeurs d'une prothèse vasculaire à considérer lors du développement d'une prothèse vasculaire sont présentés dans la partie supérieure bleue. La partie inférieure rouge représente les impacts de chacun des paramètres dans les processus pouvant mener à l'échec des prothèses, lorsqu'ils ont été mal définis lors de la conception. Chaque flèche représente un lien de cause à effet. CE : cellules endothéliales, CML : cellules musculaires lisses, NO : oxyde nitrique.

6.4 Cohésion des structures électrofilées

Les expérimentations animales réalisées dans ce projet avec nos implants ont démontré des résultats décevants. Une des hypothèses d'explication concerne le manque de cohésion des matrices électrofilées monocouches développées. De plus, un nombre croissant de recherches se concentre sur une approche biomimétique, avec l'élaboration de prothèses multicouches afin de recréer la structure de chacune des couches artérielles et de constituer un environnement adapté aux différents types de cellules (Goins et al., 2019). Ceci est notamment étudié avec notre technique de fabrication d'électrofilage. Or, une délamination peut être observée après quelques semaines d'implantations *in vivo* (Lu et al., 2013). Ces résultats insatisfaisants sont malheureusement peu reportés dans la littérature.

Ainsi, nos travaux ont mené à poursuivre des pistes d'amélioration pour la conception des prothèses électrofilées. La technique d'essai de pelage en T (*T-peel test*) a été adaptée afin de déterminer la force d'adhésion entre deux matériaux électrofilés (CHAPITRE 5). Ce test simple a permis d'investiguer différents paramètres de fabrication afin d'apporter des lignes directrices pour optimiser la cohésion au sein d'un même matériau ou pour la fabrication de systèmes multicouches. Notre étude exploratoire a été réalisée avec le PCL, un polymère couramment électrofilé et plus facilement manipulable que des polymères plus complexes ou des mélanges. Les tendances observées dans cette étude devraient permettre de poser des bases de réflexion pour leur extrapolation à d'autres matériaux.

Notre étude a permis d'investiguer les effets de différents types de morphologies, solvants et celui d'un traitement post-fabrication. Tout d'abord, des systèmes bicouches à partir de microfibres ($\varnothing \approx 4 \mu\text{m}$) ont atteint des forces d'adhésion presque sept fois plus élevées que des systèmes avec des nanofibres ($\varnothing \approx 0,5 \mu\text{m}$), avec des moyennes de 66 et 10 mN/mm, respectivement. Cette force d'adhésion reste du même ordre de grandeur que des bicouches nanofibreuses lorsque les deux types de morphologies sont électrofilés l'un sur l'autre (14 mN/mm). Les systèmes bicouches en microfibres conservent également une force d'adhésion du même ordre de grandeur indépendamment de la nature du solvant employé lors

de l'électrofilage, que ce soit pour des bicouches fabriquées à partir de TFE, d'un mélange chloroforme/éthanol ou avec une couche à partir de chacun des solvants. Ces résultats vont à l'encontre de notre hypothèse initiale sur l'emploi de solvants différents réduisant la force d'adhésion. Ils semblent également être en contradiction avec celle spécifiant que la force d'adhésion est contrôlée par le nombre de points de contacts entre les matrices électrofilées, potentiellement plus important pour des structures nanofibreuses, mais n'ayant pu être quantifié ici. Notre étude permet ainsi de mettre en évidence que le diamètre des fibres a un impact prédominant sur les propriétés d'adhésion, vraisemblablement en raison de l'accroissement de l'aire de contact entre les deux couches.

D'après les travaux de Montini-Ballarín et al., une force d'adhésion supérieure pour des structures bicouches ayant une morphologie fibreuse alignée comparée à des fibres aléatoires a été mise en évidence (Montini Ballarín et al., 2013). Les fibres alignées étant plus susceptibles d'avoir une plus haute superficie de contact entre elles que des fibres aléatoires, ceci supporte notre conclusion que **la force d'adhésion entre des matrices électrofilées est majoritairement dominée par la morphologie des fibres**. Afin d'aller plus loin dans l'analyse des propriétés d'adhésion dans de futurs travaux, il serait important de quantifier les aires de contact entre les couches fibreuses, et de caractériser la force d'adhésion entre deux matériaux électrofilés de nature différente et ne pouvant se dissoudre dans leurs solvants respectifs.

Afin d'accroître la cohésion des matériaux électrofilés, notre étude exploratoire sur la force d'adhésion a ainsi permis de mettre en lumière l'importance des superficies de contact entre les matrices électrofilées, liées au diamètre croissant des fibres. La force d'adhésion peut de plus être augmentée par des étapes post-fabrication, ayant pour but d'amplifier le contact local entre les fibres au niveau des points de jonction. Avec un traitement thermique, nous avons notamment démontré une augmentation de la force d'adhésion de 2 à 7 fois selon la morphologie fibreuse. D'autres techniques peuvent aussi être employées telles que des vapeurs de solvant approprié (Lei et al., 2006; Li et al., 2017).

Le test de pelage a été choisi pour notre étude exploratoire car il est très usité pour caractériser l'adhérence des revêtements minces (Darque-Ceretti & Felder, 2003). Il est simple et facile en termes de mise en œuvre et de fabrication des échantillons (Chafi, 2017). Cependant, les recherches dans le domaine des adhésifs tendent à dire que ce type de test n'est pas forcément adapté à toutes applications : il doit être réalisé de manière identique en termes de vitesse de pelage, conditions ambiantes (température, humidité) et encore l'épaisseur et la rigidité des matériaux employés (adhésif, substrat, support ou *backing*) (Meyer, 2015). La compréhension de ce que la force de pelage signifie par rapport aux performances d'une application peut de plus être complexe (Buncan & Crocker, 2001; Meyer, 2015). Ceci a ainsi été le cas pour revenir à notre application de prothèse vasculaire. En effet, la conversion entre la force de pelage, (correspondant à la charge par unité de surface) et la contrainte correspondante nécessite des hypothèses sur l'étendue de la zone de pelage (Buncan & Crocker, 2001).

Dans notre cas, nous avons caractérisé les matériaux à base de nanofibres de PU/PCL, formant les prothèses testées chez les moutons au CHAPITRE 4, pour leur force d'adhésion avec le protocole expérimental détaillé au CHAPITRE 5. La force d'adhésion obtenue est de $27,1 \pm 6,0$ mN/mm, ce qui est presque 3 fois plus élevé que pour les nanofibres en PCL. En considérant la circonférence d'un cylindre de 6 mm de diamètre, il est alors possible de calculer des contraintes maximales de $1,4$ mN/mm², de type radiales selon la configuration du test de pelage. Au vue des altérations de la paroi potentiellement liées aux échecs des implants observées dans nos expérimentations animales, ces valeurs pourraient alors s'inscrire dans une plage de données de manque de cohésion ou de détérioration des membranes électrofilées *in vivo*. Ceci guide l'approche de conception pour accroître la force d'adhésion considérant les conclusions de l'étude exploratoire.

De plus, les implants vasculaires sont soumis *in vivo* à des contraintes mécaniques multiples induites par les sollicitations hémodynamiques, telles que les contraintes de cisaillement pariétales et circonférentielles pulsatiles (Masson, 2019). Ainsi, la représentativité de notre essai pour notre application est à questionner. Il est alors important de caractériser la force d'adhésion en lien avec les sollicitations auxquelles le produit final sera soumis lors de son application (Chafi, 2017).

Des essais de cisaillement tels que celui du joint à simple recouvrement (*single lap joint*) pourraient être plus appropriés, avec la transmission des efforts sur un plan parallèle à celui de l'interface entre les deux couches de matériaux (Chafi, 2017; Cognard, 2006). Des investigations pour adapter ce type d'essai aux membranes électrofilées pourraient être poursuivies à partir de la norme correspondante, ASTM D1002 (ASTM International, 2019). De plus, tel que recommandé pour la caractérisation mécanique des implants, il est nécessaire d'investiguer le comportement en fatigue. Sous l'effet de sollicitations répétées, des fissures ou ruptures de fibres pourraient s'amorcer au sein du matériau et se propager jusqu'à entraîner leur rupture ou des délaminations locales, d'où l'importance de vérifier les propriétés d'adhésion en fatigue (ASTM International, 2012b; Chafi, 2017).

Afin d'aller plus loin, il serait également intéressant d'étudier les différents modes de rupture (Chafi, 2017) entre les matériaux, ce qui nécessiterait des connaissances approfondies en mécanique de rupture et n'était pas le sujet de cette thèse.

Malgré le manque de représentativité de notre essai vis-à-vis de notre application, notre étude exploratoire avec l'adaptation du test de pelage permet tout de même d'apporter des connaissances sur les forces d'adhésion entre des matrices électrofilées et d'ouvrir les possibilités offertes par l'électrofilage pour améliorer la cohésion des structures électrofilées.

Recommandations : *L'étude de la force d'adhésion avec le test de pelage avait pour objectif d'apporter des pistes pour améliorer la cohésion entre des matrices électrofilées. À cet effet, il serait possible d'augmenter le diamètre des fibres, ce qui serait également cohérent avec l'agrandissement de la dimension des pores nécessaire pour favoriser l'endothélialisation. Des traitements post-fabrication pourraient également être apportés.*

Pour une meilleure représentativité de la force d'adhésion évaluée vis-à-vis de notre application, des essais en cisaillement devraient être réalisés, avec l'investigation du comportement en fatigue.

Afin de mieux comprendre les propriétés d'adhésion, il serait également important de pouvoir quantifier les aires de contact entre les fibres et de s'intéresser aux différents modes de rupture entre des assemblages de matériaux.

6.5 Contributions originales du projet

Dans le cadre de cette thèse, nous avons développé une prothèse de petit diamètre électrofilée en PU/PCL, ayant de meilleures propriétés mécaniques que des implants commerciaux en ePTFE, et sur lesquels il a été greffé un revêtement bioactif à base de CS visant à rendre la surface moins thrombogène tout en favorisant l'endothélialisation. Bien que les résultats *in vivo* ne permettent pas de conclure sur l'ensemble de nos hypothèses, il s'agit ici, à notre connaissance, des premiers travaux ayant investigué la combinaison de ces types de matériau et molécule active dans un modèle de grand animal qu'est le mouton. Avec 29 % d'implants perméables à la fin de l'étude (2 prothèses sur 7), nous pouvons conclure que ces prothèses sont prometteuses mais doivent être améliorées. Plusieurs pistes ont été discutées dans cette thèse et les essais animaux ont fourni une quantité de données utiles en vue d'améliorations et de futurs tests potentiels. Ainsi, le schéma présenté plus haut (Figure 6.1) résume les principales connaissances acquises durant cette thèse quant aux paramètres influençant le succès d'une prothèse électrofilée, ce qui aidera grandement dans une approche de conception.

Une autre contribution de cette thèse est de proposer des outils simples pour la conception de prothèses vasculaires et de mettre en évidence les limites des normes existantes. Particulièrement, la norme ANSI 7198 comporte une insuffisance de directives et de valeurs cibles de performances des implants pouvant être considérées acceptables aux niveaux clinique et industriel, ainsi qu'un manque d'uniformisation des essais des prototypes. Ceci a d'ailleurs été récemment montré lors de la méta-analyse de Skovrind et al. (2019), notamment par la diversité des tests et techniques employés dans la littérature. Nous avons été confrontés particulièrement au manque de valeurs cibles attestant la performance des prothèses dans tous les tests de caractérisation (compliance, pression à la rupture, étanchéité, suturabilité), et de guide dans la mise en place des divers bancs d'essais, rendant la comparaison avec la littérature difficile. Ainsi, notre projet propose à la fois des méthodes d'essais à partir des équipements disponibles au sein des laboratoires des Pr. Lerouge et Ajjji, apportant de la clarté sur les indications disponibles dans la norme ANSI 7198, et permet aussi de guider le concepteur dans sa démarche de développement de prothèses vasculaires, avec la sélection de valeurs cibles de

performances basées sur des artères natives. À cet effet, nous employons tout particulièrement un modèle analytique et il s'agit à notre connaissance de la première fois qu'une démarche aussi simple pour la prédiction des propriétés mécaniques de structures tubulaires est établie et appliquée dans l'élaboration de nouveaux implants compliants de petit diamètre. Dans une optique industrielle, cette approche raisonnée constitue un outil de conception facile et permet d'accélérer et faciliter la sélection de matériaux appropriés avec la fabrication des prototypes aux propriétés mécaniques adéquates pour une application de prothèse vasculaire.

Enfin, un outil simple de caractérisation de la force d'adhésion entre des matrices électrofilées a été proposé en tant que contribution supplémentaire de cette thèse. C'est ainsi qu'elle a pu être déterminée, pour la première fois à notre connaissance, à l'interface de deux couches électrofilées l'une sur l'autre, différentes ou semblables. Notamment, il a été reporté l'importance du diamètre des fibres en contact dans la force d'adhésion, contribuant également aux connaissances en électrofilage indépendamment du domaine d'application.

6.6 Perspectives d'avenir des prothèses électrofilées

Durant la dernière décennie, notamment durant les années de cette thèse, l'électrofilage a connu un intérêt croissant par rapport à d'autres technologies pour fabriquer des vaisseaux sanguins de petits diamètre (Carrabba & Madeddu, 2018; Pashneh-Tala et al., 2016; Skovrind et al., 2019), ce qui confirme l'intérêt de notre approche. Les approches les plus prometteuses pour la poursuite des travaux sont présentées ci-dessous avec les perspectives d'améliorations pour nos implants électrofilés.

Prothèses électrofilées en PU/PCL

Dans la littérature, une autre équipe propose des prothèses vasculaires à partir de PU et PCL, cependant sans ajouter de revêtement bioactif (Jirofti et al., 2018). Par co-électrofilage de chacun des polymères de part et d'autre du mandrin, les auteurs ont étudié différentes proportions pour concevoir des implants de petit diamètre. Leurs conduits avec 10 % de PCL obtiennent une meilleure compliance que nos implants (0,088 %/mmHg) mais une pression à

la rupture plus basse (1333 mmHg), alors qu'ils sont épais de 500 μm environ. Cette différence par rapport à nos implants s'explique par la technique de fabrication qui implique d'électrofiler deux solutions distinctes de PU et PCL en parallèle, donc deux types de fibres, au lieu d'électrofiler un mélange avec les deux polymères. Ils ont choisi cependant d'implanter *in vivo* le conduit avec 75 % de PCL en raison d'une pression à la rupture plus haute (2215 mmHg), ayant néanmoins une compliance plus basse (0,054 %/mmHg), ce qui est toujours meilleur par rapport à nos implants. Leur prothèse est restée perméable chez un mouton durant 8 mois. La couverture endothéliale n'a pas été évaluée comme il s'agissait d'un premier essai avant de plus larges essais animaux. Le doute subsiste quant à un recouvrement complet de cellules endothéliales à leur surface, comme leurs dimensions de pores semblent être relativement petites (données non communiquées, mais visibles sur les images MEB) et ne pourront probablement pas permettre la formation de capillaires au travers de la paroi. Ces travaux nous confortent néanmoins dans l'idée que les matériaux sélectionnés dans notre étude ont le potentiel de concevoir des implants vasculaires aux propriétés mécaniques adéquates, plus proches des vaisseaux natifs, en restant perméables *in vivo*.

Électrofilage de prothèse multicouche

Une tendance lourde dans le domaine est de proposer des systèmes multicouches afin d'imiter les différentes couches des vaisseaux sanguins. Les travaux de l'équipe de Walpoth sont particulièrement notables et ont mené à la fabrication d'une prothèse bicouche électrofilée en PCL, avec une couche externe plus poreuse pour permettre l'infiltration des cellules musculaires lisses et la capillarisation des conduits. Ces prothèses possèdent des propriétés mécaniques meilleures que nos implants (compliance de 0,08 %/mmHg, pression à la rupture de 3280 mmHg) (de Valence et al., 2012) et leurs premiers essais *in vivo* démontrent des résultats encourageants avec une perméabilité de 76 % après 1 mois dans un modèle porcin, avec 86 % d'endothélialisation (Mrówczyński et al., 2014). Des microthrombis recouvrent cependant la surface luminale des implants et leur présence est plus importante que sur les prothèses contrôles (Mrówczyński et al., 2014). Des études *in vivo* plus poussées sont nécessaires pour évaluer la thrombogénicité à long terme de ces implants.

De plus, le PCL étant biodégradable, des études de stabilité à long terme sont essentielles, afin d'évaluer le comportement de dégradation couplé à la réponse cellulaire avec leurs effets secondaires, notamment *in vivo* (Ercolani et al., 2015; Yalcin Enis & Gok Sadikoglu, 2016).

Dans les approches de conception des prothèses en trois couches, les conduits développés dans la littérature n'ont pas encore démontré de meilleurs résultats au niveau de la compliance que ceux élaborés par l'équipe de Walpoth (Liu et al., 2017; McClure et al., 2010; McClure et al., 2012; Wu et al., 2018). Il est de plus à noter que l'augmentation du nombre de couches accroît la complexité de l'implant, tel que le profil de dégradation, le temps de fabrication et le coût (Goins et al., 2019). Ceci explique probablement qu'aucune prothèse multicouche ne soit encore testée *in vivo* (Goins et al., 2019).

Ainsi, **la conception de prothèses bicouches semble être une voie d'avenir**. Augmenter le nombre de couches à trois pour mimer l'adventice ne semble pas encore apporter un réel bénéfice par rapport aux implants en deux couches. **Des matériaux tels que le PCL ou le PU ont démontré leur potentiel** au travers de la littérature et pourraient continuer à servir de base pour des travaux ultérieurs, tout en optimisant la morphologie de nos structures vers une porosité adéquate pour l'endothélialisation, et en visant de meilleures propriétés mécaniques, particulièrement une plus haute compliance, plus proche des artères natives à remplacer.

Ces conduits électrofilés stratifiés, en couches superposées, ne représentent néanmoins pas complètement la structure des vaisseaux sanguins au sein desquels chaque tunique est intégrée à sa voisine et permet une bonne fonctionnalité. Ainsi, l'interface entre ces couches est susceptible de se délaminer au fil du temps, si les contraintes mécaniques ne peuvent être transmises au travers de cet interface (Woods & Flanagan, 2014). Il pourrait donc être intéressant de développer une **approche d'électrofilage par gradient** (Grey et al., 2013), qui permet de moduler graduellement les propriétés morphologiques et mécaniques au travers de la paroi et réduirait les risques de délamination entre les couches. À ce jour, il n'existe pas d'étude utilisant cette technique pour la fabrication de conduit vasculaire. Cette approche prometteuse pourrait ainsi être poursuivie dans des travaux ultérieurs.

Avantages et limites de l'électrofilage

Malgré de nombreux travaux intéressants concernant les prothèses vasculaires électrofilées, seules les prothèses d'accès vasculaire AVflo™ en fibres de polycarbonate uréthane de la société Nicast ont atteint les essais cliniques et sont actuellement commercialisées, avec une perméabilité primaire de 56 % à deux ans (Ferraresso et al., 2016; Nicast Ltd., 2014). Aucune autre étude d'implantations de prothèses vasculaires électrofilées chez l'homme n'est à ce jour recensée dans la base de données américaine (U.S. National Library of Medicine, 2019). La technique d'électrofilage choisie dans ce projet pour la fabrication des implants vasculaires reste néanmoins une stratégie qu'il faut continuer d'explorer du fait de ses nombreux avantages.

L'électrofilage est un procédé économique et transposable à grande échelle, ayant l'avantage de pouvoir moduler à la fois la morphologie de la structure électrofilée et les propriétés mécaniques résultantes, en ajustant ses paramètres de fabrication. Il permet ainsi de construire des structures aux morphologies différentes, aléatoire ou avec des fibres alignées, qui peuvent guider l'arrangement cellulaire au sein de la paroi de l'implant (Rüder et al., 2013; Whited & Rylander, 2014). Le procédé a également le potentiel de fabriquer des structures à la fois compliantes et avec une porosité adéquate pour favoriser l'endothélialisation. Les paramètres peuvent être adaptés pour la production de différents diamètres d'implants. Il est également possible de modifier les propriétés du matériau, en incorporant par exemple des molécules actives dans les matrices produites, soit en dissolvant dans un même mélange à la fois le polymère et les molécules actives, soit en employant des variantes du procédé comme le co-électrofilage ou l'électrofilage coaxial (Wu et al., 2018). Par exemple, l'héparine aux propriétés anticoagulantes peut être directement incluse dans les fibres en étant rajoutée au mélange de fabrication (Wang et al., 2013).

Cependant, le procédé d'électrofilage comporte également plusieurs limites, dont la principale concerne ses nombreux paramètres qui impactent la structure résultante (cf. Chapitre 1, section 1.4.2), comme nous avons pu l'observer via la variabilité de nos échantillons fabriqués. La conception de nouvelles structures peut alors devenir laborieuse, et il est important de

pouvoir bien contrôler les divers paramètres, particulièrement les conditions ambiantes. La lenteur du procédé de fabrication est aussi un des inconvénients majeurs de cette technique en raison des débits de solution généralement inférieurs à 1 millilitre par heure. À titre d'exemple, les prothèses fabriquées dans ce projet nécessitaient quasiment une journée complète d'électrofilage. Les solvants employés peuvent également être toxiques, et il faut s'assurer de leur bonne évaporation, des tests de cytotoxicité peuvent s'avérer nécessaires afin de confirmer qu'il n'y a pas de résidu persistant dans les matrices. De plus, nous avons mis en évidence le manque de données sur la stabilité structurelle et mécanique des matériaux électrofilés soumis à des chargements cycliques, par rapport à des structures tissées traditionnelles.

CONCLUSION

L'objectif de cette thèse consistait à élaborer de nouvelles prothèses vasculaires pour le remplacement de vaisseaux de petit diamètre afin de réduire les complications cliniques observées avec les prothèses conventionnelles actuelles en PET ou ePTFE. L'inadéquation des propriétés mécaniques des implants avec les vaisseaux natifs et leur thrombogénicité constituent les causes d'échec majeures limitant leur utilisation clinique. Les stratégies identifiées à la base de ce projet consistaient à fabriquer par électrofilage des structures tubulaires poreuses compliantes et à les combiner avec un revêtement bioactif à leur surface luminale, ayant la capacité de promouvoir l'endothélialisation. Le déroulement des différents objectifs spécifiques détaillés au CHAPITRE 2 permettent de jalonner le projet et d'apporter des contributions scientifiques.

Tout d'abord, nous mettons en lumière les limites de la norme ANSI 7198 pour la conception de prothèses vasculaires, avec l'insuffisance de directives liées à la caractérisation des implants et des valeurs cibles de performance pour leur acceptation clinique. Notamment, la compliance est une propriété importante liée au succès *in vivo* des implants et n'est pas systématiquement vérifiée dans les travaux de la littérature. Notre approche de conception propose alors l'utilisation d'un modèle analytique, utilisant des valeurs seuils de compliance et de pression à la rupture basées sur des artères natives. Il s'agit d'un outil simple de conception permettant la prédiction des propriétés mécaniques de structures tubulaires et ainsi la sélection adéquate des matériaux pour l'élaboration de prothèses vasculaires. Cette démarche est pour la première fois appliquée pour concevoir des conduits compliants de petit diamètre par électrofilage.

Des prothèses électrofilées en PU/PCL environ 10 fois plus compliantes que des implants en ePTFE ont alors été conçues, avec une pression à la rupture suffisante, ce qui soutient notre démarche et confirme le choix du procédé d'électrofilage dans notre projet.

Nos conduits en PU/PCL ont été combinés avec un revêtement bioactif à base de sulfate de chondroïtine et ont été implantés chez des moutons. Nos implants expérimentaux ont néanmoins démontré une infériorité par rapport aux prothèses commerciales en ePTFE,

avec l'observation de thrombose et sténose partielle ou totale. Les causes potentielles de ces échecs concernent, d'une part, des altérations structurelles observées dans la paroi des implants ayant échoués, liées au manque de cohésion des matrices électrofilées, leur dégradation dans le temps ou les étapes de fabrication, et d'autre part, à la thrombogénicité de la surface luminale des prothèses potentiellement engendrée par un mauvais greffage de la CS. Des perspectives d'études pour l'amélioration des implants lors de travaux ultérieurs ont été proposées pour chacune des hypothèses.

Ces expérimentations *in vivo* n'ont pas pu mettre en évidence le bénéfice de la compliance de nos conduits, mais permettent néanmoins de souligner l'importance d'augmenter la porosité des implants vasculaires, en raison du manque d'ancrage de la néointima observé. Ceci est également primordial avec la compréhension des processus d'endothélialisation *in vivo* des implants. Il s'agit ici des premiers travaux ayant investigué la combinaison d'un implant vasculaire électrofilé avec un revêtement à base de CS. De plus, il est apporté une nouvelle contribution quant à une étude *in vivo* avec des prothèses électrofilées dans un modèle de grand animal qu'est le mouton, ceci n'étant pas encore largement exploré.

Malgré de nombreux travaux dans la littérature sur la conception de prothèses vasculaires de petit diamètre, aucun implant électrofilé n'a atteint les essais cliniques en dehors des applications pour l'hémodialyse. Ceci pourrait constituer une voie de développement originale. Particulièrement, les systèmes multicouches semblent être une approche prometteuse afin de reproduire la structure des vaisseaux natifs. À l'heure actuelle, il existe très peu d'études s'intéressant à l'analyse de la délamination de ce type de structures électrofilées, et nous proposons ici un test simple de caractérisation de la force d'adhésion entre des matrices électrofilées, explorant des pistes d'amélioration de l'adhésion dans la conception de système électrofilé multicouche. Il est notamment mis en évidence ici l'augmentation de la force d'adhésion avec le diamètre des fibres entre deux matrices électrofilées. Cette approche serait également viable dans une visée d'augmentation de la porosité pour favoriser l'endothélialisation.

Notre étude exploratoire permet ainsi d'apporter une contribution aux connaissances en électrofilage indépendamment du domaine d'application et de poser des bases de réflexion pour de futures investigations sur les propriétés d'adhésion entre des matrices électrofilées.

Finalement, les travaux menés durant ce doctorat ont permis de confirmer le fort potentiel de la technique d'électrofilage dans la conception des implants vasculaires du fait de sa capacité de modulation des propriétés structurelles et mécaniques des matrices électrofilées. Bien que des aspects restent à optimiser, ce projet ouvre la voie au développement d'une nouvelle génération de prothèses vasculaires de petit diamètre par électrofilage.

ANNEXE I

PROTHÈSES VASCULAIRES ÉLECTROFILÉES DANS LA LITTÉRATURE

Tableau-A I-1 Liste non-exhaustive comparative des propriétés de prothèses vasculaires électrofilées développées dans la littérature

Matériau	Structure prothèse			Morphologie fibres	Propriétés mécaniques				Source
Polymère	#	Ø (mm)	t (µm)	d (nm)	Module d'élasticité (MPa)	Contrainte ultime (MPa)	Compliance (%/100 mmHg)	Pression à la rupture (mmHg)	Référence
Biosyn®	1	4	NA	500-1300 RO	11-20 CD 20-33 LD	5-8 CD 9-14 LD	NA	1800-3000	(Thomas, Donahoe, Nyairo, Dean, & Vohra, 2011)
Collagène	1	4	187	100-730 CA	26,1 ± 4,0 CD 52,3 ± 5,2 LD	1,5 ± 0,2 CD 0,7 ± 0,1 LD	NA	NA	(Matthews et al., 2002)
Collagène-Chitosane-P(LLA-CL)	1	3	330 ± 90	409 ± 120 RO	10,3 ± 1,1 CD	16,9 ± 2,9 CD	0,7 ± 0,4	> 3365 ± 6	(Yin et al., 2013)
Collagène-Élastine-PLGA	1	4,75	1000	720 ± 35 RO	NA	NA	0,93-0,95*	1425	(Stitzel et al., 2006)
Fibroïne de soie	1	5	40-50	192 ± 79 RO	8 CD 5,5 LD	1,5 CD 0,8 LD	NA	NA	(Bonani, Maniglio, Motta, Tan, & Migliaresi, 2011)
Fibroïne de soie	1	5	150	NA RO	2,45 ± 0,47 CD	2,42 ± 0,48 CD	NA	811 ± 77	(Soffer et al., 2008)
Fibroïne de soie	1	6	181 ± 11	750 RO	NA	NA	3,51 ± 0,42	576 ± 17	(Marelli et al., 2010)
PCL	1	5	100-120	421 ± 105 RO	4,04 ± 1,17 CD 11,82 ± 0,55 LD	3,55 ± 0,54 CD 7,25 ± 0,71 LD	NA	NA	(Bonani et al., 2011)
PCL	1	5	600 ± 200	3200 ± 600 RO	4,2 ± 0,4 CD	2,1 ± 0,5 CD	NA	NA	(Del Gaudio et al., 2012)
PCL	1	5	NA	610-2280 RO	4-33 CD 3-17 LD	2-14 CD 1-4 LD	NA	500-4000	(Drilling, Gaumer, & Lannutti, 2009)
PCL	1	4,75	300	580 ± 17 RO	7,5 ± 0,7 CD	5,1 ± 0,9 CD	3,5 ± 1,4	914 ± 130	(Lee et al., 2008)
PCL	1	4	NA	600 RO 700 CA	4,2-5,0	2,6-5,2	0,3-0,5	2202-3095	(McClure, Sell, Ayres, Simpson, & Bowlin, 2009)
PCL	2	2	578-618	830-2210	7,1-12,0 CD	3,66-6,09 CD	NA	2176-3275	(de Valence et al., 2012)
PCL	2	2	650 ± 15	2200 ± 600	NA	4,1 ± 0,5 LD	7,8 ± 0,9	3280 ± 280	(Sarra de Valence et al., 2012)
PCL-Collagène	2	4,75	NA	270-4450	0,26-2,03 CD	0,75-3,13 CD	NA	NA	(Ju et al., 2010)
PCL-Collagène	1	4,75	500	520 ± 14 RO	2,7 ± 1,2 CD	4,0 ± 0,4 CD	5,6 ± 1,6	4915 ± 155	(Lee et al., 2008)
PCL-rTE	2	2,8	446 ± 13	820 ± 100 RO	~0,4	NA	4,9*	~1600	(Wise et al., 2011)
PCL-Élastine-Collagène	3	2	500	300-1600 RO	2-14 LD	~1-8 LD	0,77-2,83	> 2387	(McClure et al., 2010)

Tableau-A I-1 Liste non-exhaustive comparative des propriétés de prothèses vasculaires électrofilées développées dans la littérature (suite)

Matériau	Structure prothèse			Morphologie fibres	Propriétés mécaniques				Source
Polymère	#	Ø (mm)	t (µm)	d (nm)	Module d'élasticité (MPa)	Contrainte ultime (MPa)	Compliance (%/100 mmHg)	Pression à la rupture (mmHg)	Référence
PCL-Fibroïne de soie	2	5	100-120	192-421 RO	4,04 ± 1,17 CD 11,82 ± 0,55 LD	3,55 ± 0,54 CD 7,25 ± 0,71 LD	NA	NA	(Bonani et al., 2011)
PCL-Fibroïne de soie	1	4	NA	1300 RO 900 CA	3,5-5,7	1,1-2,6	0,5	1237-2009	(McClure et al., 2009)
PCL-PHBV	1	5	400 ± 100	3200 ± 400 CA	7,0 ± 0,4 CD	1,7 ± 0,5 CD	NA	NA	(Del Gaudio et al., 2012)
PCL-Élastine-Gélatine-PGC	2	4	800	600-1200	5,84-8,67 LD 1,03-2,63 CD	0,98-1,19 LD 0,55-0,70 CD	NA	NA	(Xing Zhang, Thomas, & Vohra, 2010)
PDO	1	6	350	1200 RO	19,98 ± 0,74	5,57 ± 0,7	~0,6	NA	(Sell et al., 2006)
PDO	1	4	70-690	180 ± 1400 CA	15-45 CD 2-11 LD	4-15 CD 2-3 LD	NA	NA	(Boland et al., 2005)
PDO	1	4	NA	1400 RO 1200 CA	10-18	3,5-10,5	0,3-1,1	1152-3336	(McClure et al., 2009)
PDO-Élastine	1	1,5	220-520	NA	NA	NA	0,8-3	916-2347	(Smith et al., 2008)
PDO-Élastine	1	6	350	400-1200 RO	5-20	5,6-3,2	0,6-3,7	NA	(Sell et al., 2006)
PDO-Fibroïne de soie	1	4	NA	1000 RO 1000 CA	1,9-2,3	0,9-1,7	0,9-1,4	834-1256	(McClure et al., 2009)
PEUU	2	1,3-4,7	390-490	747 ± 201 RO	1,4 ± 0,4	8,3 ± 1,7	4,6 ± 0,5	~ 2300	(Soletti et al., 2010)
PLA-PCL	2	6	600	PCL 1500-6000 RO PLA 800-3000 CA	30,9 ± 6,6	4,3 ± 0,2	NA	NA	(Vaz, van Tuijl, Bouten, & Baaijens, 2005)
PLLA-SPEU	2	5	110-230	NA	6,24 ± 1,69 CD 29,59 ± 5,85 LD	2,07 ± 0,17 CD 2,56 ± 0,28 LD	0,57-1,45	1232-1775	(Montini-Ballarin, Calvo, et al., 2016)
PLCL	1	4	500	1050 ± 230 RO	1,2 ± 0,3	3,23 ± 0,57	NA	933 ± 22	(Mun et al., 2012)
PLCL	1	2,5	50-340	700-800 RO	NA	NA	2-19	NA	(Inoguchi et al., 2006)
PU	1	1,6	NA	3300 ± 1100	NA	NA	6,2-12,1	> 550	(Theron et al., 2010)
PU	1	1,74	77 ± 3	900-1000	NA	15,4-20,2	3,9-7,2	NA	(Bergmeister et al., 2013)
PU/PCL	1	5	500 ± 32	411-440	1,7-9,7	2,2-4,7	5,04-8,84	1333-2353	(Jirofti et al., 2018)
rTE	1	4	453 ± 74	580 ± 94 RO	0,15 ± 0,05 CD 0,15 ± 0,03 LD	0,34 ± 0,14 CD 0,38 ± 0,05 LD	0,20 ± 0,03	485 ± 25	(McKenna et al., 2012)

#, nombre de couches dans la paroi de la prothèse; Ø, diamètre de la prothèse; t, épaisseur de la paroi; d, diamètre des fibres; *, valeur calculée; CD, direction circonférentielle; LD, direction longitudinale; RO, orientation aléatoire (*random*); CA, orientation circonférentielle; NA, donnée manquante (*not available*); PCL, Polycaprolactone; PEG, polyéthylène glycol; PEO, polyéthylène oxide; PEU, poly(esteruréthane); PEUU, Polyéther-uréthane-urée; PDO, polydioxanone; PGC, poliglecaprone; PHBV, Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate); P(LLA-CL), poly-L-lactic acid-co-poly-ε-caprolactone; PLCL, poly(lactide-co-ε-caprolactone); PLA, acide polylactique; PLGA, poly(lactic-co-glycolic acid); PU, polyuréthane; rTE, tropoélastine recombinante humaine, SPEU, Polyéther-uréthane segmenté.

ANNEXE II

ÉTUDE PRÉLIMINAIRE DES TYPES DE STÉRILISATION DES PROTHÈSES ÉLECTROFILÉES

Deux types de stérilisation sont employés au Centre Hospitalier de l'Université de Montréal : l'oxyde d'éthylène et V-PRO maX[®]. Le V-PRO maX[®] est un stérilisateur employant une forme vapeur de peroxyde d'hydrogène et dont le procédé ne génère aucun résidu toxique, seulement de la vapeur d'eau (Steris Healthcare, 2019).

Des essais préliminaires ont été réalisés afin d'évaluer l'impact des cycles de ces deux types de stérilisation sur les prothèses électrofilées avec revêtement bioactif, au niveau de la morphologie des fibres et des propriétés mécaniques (module d'élasticité, résistance ultime).

II.1. Morphologie des fibres

La Figure-A II-1 ci-dessous présente la morphologie globale des fibres sur une prothèse pour chacun des types de stérilisation dans des conditions non-stériles et stériles. Aucune dégradation n'est observée à la surface des fibres pour chacun des modes de stérilisation.

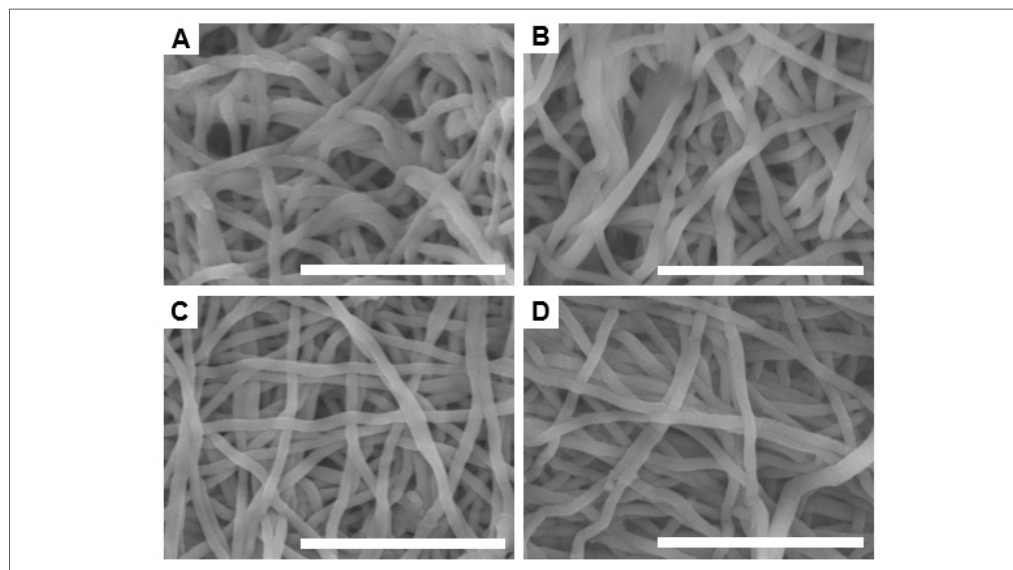


Figure-A II-1 Observation au MEB de la morphologie des fibres PU/PCL avec revêtement LP+CS pour une prothèse (A) non-stérile et (B) stérilisée à l'oxyde d'éthylène, et pour une autre prothèse (C) non-stérile et (D) stérilisée par V-PRO maX[®] (échelle : 10 µm).

II.2. Propriétés mécaniques

Les figures ci-dessous présentent le module d'élasticité et la contrainte ultime pour deux prothèses vierges, avec revêtement L-PPE:N ou (L-PPE:N+CS), dans des conditions non-stériles ou stérilisées par oxyde d'éthylène (Figure-A II-2A) ou V-PRO maX[®] (Figure-A II-2B). Deux prothèses différentes sont caractérisées pour les différents modes de stérilisation. Connaissant la variabilité des prothèses électrofilées (voir CHAPITRE 3), un nombre plus important de prothèses aurait été nécessaire afin de pouvoir conclure. Néanmoins, au vu de ces essais préliminaires, il ne semble pas y avoir de modification des propriétés mécaniques après un cycle de stérilisation à l'oxyde d'éthylène ou V-PRO maX[®].

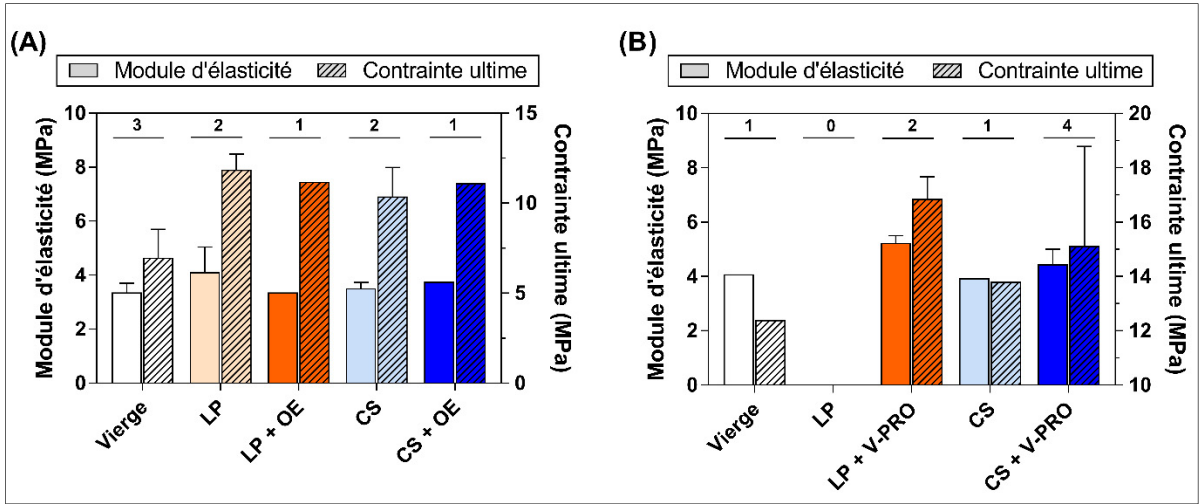


Figure-A II-2 Module d'élasticité et contrainte ultime pour des prothèses PU/PCL électrofilées vierges, avec revêtement L-PPE:N ou (L-PPE:N+CS), dit respectivement LP et LP+CS, dans des conditions non stériles et stérilisées par (A) oxyde d'éthylène (OE) ou (B) V-PRO MaX[®] (V-PRO).

Au total, 2 prothèses seulement ont été utilisées pour chaque type de stérilisation. Le chiffre au-dessus des histogrammes représente le nombre d'échantillons testés pour chaque condition.

ANNEXE III

RETOURNEMENT DE LA PROTHÈSE ÉLECTROFILÉE

Suite au dépôt L-PPE:N sur la face externe des prothèses électrofilées en PU/PCL, une étape d'inversion des faces interne et externe est nécessaire afin d'obtenir le revêtement à la surface luminale et de pouvoir y greffer par la suite le sulfate de chondroïtine.

Cette étape nécessitait de retourner une extrémité de la prothèse vers l'extérieur jusqu'à son retournement complet, comme il serait possible de le faire avec un vêtement par exemple (ex. : une chaussette). Pour ce faire, deux personnes sont nécessaires ainsi que des fils et des aiguilles pour manipuler la prothèse. La procédure de retournement est décrite ci-dessous.

La manipulation entraîne le froissage de la prothèse avec des marques visibles à sa surface, comme il est possible de l'observer sur les images suivantes (Figure-A III-1).

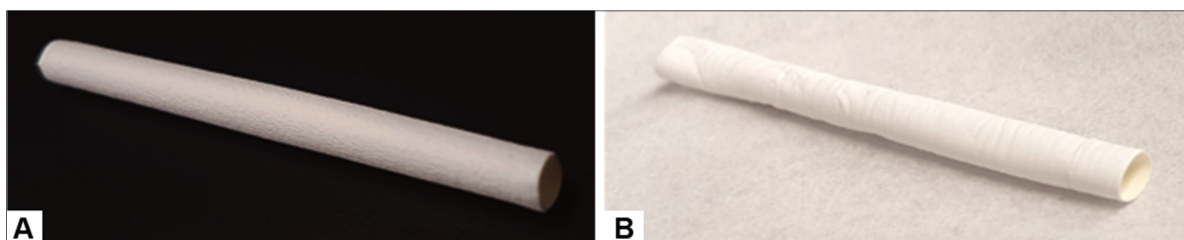


Figure-A III-1 Photographie d'une prothèse PU/PCL (A) non retournée et (B) après une étape de retournement

Description de la procédure

1. Placer la prothèse sur un support adapté fixé à une table (pipette de 2 mL).
2. Mise en place d'un fil d'une longueur plus grande que la prothèse, à l'extrémité externe du conduit (à l'opposé de celle sur la pipette). Faire passer ensuite ces fils à l'intérieur de la prothèse. Ils doivent être apparents du côté de la pipette. Ces fils serviront par la suite à maintenir un axe longitudinal.

3. Mise en place de quatre fils via des points des couture à environ 1 mm du bord de la prothèse située sur le côté de la pipette. Les quatre points doivent être répartis de part et d'autre du diamètre de la prothèse.
4. En tirant sur les fils, tirer légèrement les fils vers l'extérieur afin que le bout du conduit passe par-dessus les nœuds.
5. Tirer ensuite précautionneusement les fils dans l'axe de la prothèse jusqu'à l'autre extrémité. Si la prothèse « coince » sans être arrivée à l'autre extrémité, sortir la prothèse du support et tirer sur l'axe longitudinal en même temps que les quatre fils vers l'extérieur.

ANNEXE IV

ÉTUDE DU GREFFAGE CS SUR PU/PCL

Dans le but de vérifier la présence du revêtement bioactif à la surface luminale des prothèses, des essais ont été réalisés afin de vérifier, d'une part, l'homogénéité du dépôt L-PPE:N à la surface luminale des prothèses PU/PCL, donc après avoir subi l'étape de retournement qui pourrait endommager le dépôt, et d'autre part, l'énergie de surface de films recouverts de CS en comparant les matériaux PU/PCL et PET.

III.1. Homogénéité du dépôt L-PPE:N

Afin de s'assurer de l'homogénéité du dépôt L-PPE:N sur les matériaux électrofilés PU/PCL, le revêtement est rendu visible en trempant les échantillons pendant 3 à 5 minutes dans une solution à base de fuchsine acide (0,35 % (w/v) dans une solution d'acide acétique à 33 % (v/v)). Cette solution colore uniquement le revêtement et pas le PU/PCL. La coloration est visible par microscopie optique et sa répartition renseigne sur l'homogénéité du dépôt L-PPE:N.

Plusieurs conditions ont été testées : sans L-PPE:N, avec L-PPE:N avant retournement (revêtement à la surface externe), L-PPE:N après retournement de la prothèse (revêtement à la surface interne), avec L-PPE:N après retournement de la prothèse et ayant été soumis à un flux (test de compliance).

La Figure-A IV-1 montre une coloration rose uniforme pour l'ensemble des échantillons ayant eu un dépôt L-PPE:N et confirme l'homogénéité du revêtement à la surface des prothèses PU/PCL. L'étape de retournement n'a ainsi pas endommagé le dépôt. De plus, son adhérence semble être suffisante pour résister aux pressions physiologiques, au moins durant quelques heures.

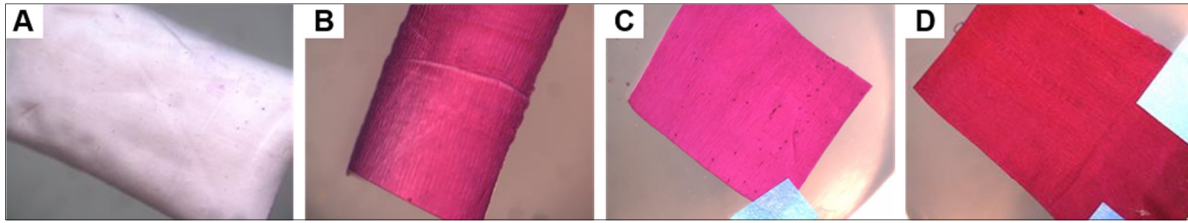


Figure-A IV-1 Coloration à la fuchsine acide pour des prothèses électrofilées en PU/PCL : (A) Contrôle sans dépôt L-PPE:N ou (B) avec dépôt L-PPE:N à la surface externe, ou (C-D) à la surface luminale (après retournement). (D) La prothèse a été testée après un essai de compliance, le dépôt a été soumis à un flux (MilliQ jusqu'à 190 mmHg).

III.2. Énergies de surface de films PET et PU/PCL avec greffage CS

Des essais d'angles de contact ont été réalisés sur des films PET et PU/PCL vierges, avec dépôt L-PPE:N et (L-PPE:N+CS). Ces essais permettent d'estimer leur énergie de surface et de comparer les valeurs obtenues entre le PU/PCL et le PET, qui est un matériau sur lequel le revêtement (L-PPE:N+CS) a déjà été démontré.

L'emploi de films permet de s'affranchir de la structure tridimensionnelle des matériaux électrofilés (porosité, rugosité), qui pourrait impacter la qualité du revêtement et les mesures d'angle de contact.

▪ Procédure expérimentale

Les films PU/PCL ont été fabriqués avec une solution de même composition que les prothèses électrofilées, par la méthode de « *spincoating* ». Une lamelle de verre est placée sur une surface tournante et maintenue sous vide. Environ 0,5 mL de solution est déposée sur la lamelle et soumis à une rotation de 1000 rpm durant 30 secondes, puis 2000 rpm durant 1 minute.

Les mesures d'angle de contact ont été réalisées avec de l'eau MilliQ, du formamide et de l'éthylène glycol sur des films PET et PU/PCL vierges, avec dépôt L-PPE:N et (L-PPE:N+CS). Pour chacune des conditions de surface, trois échantillons ont été testés pour chaque liquide.

L'expérience a été réalisée trois fois. Les moyennes des angles de contact sont présentées à la Figure-A IV-2. Les énergies de surface sont déterminées par la suite en utilisant la méthode d'Owens-Wendt.

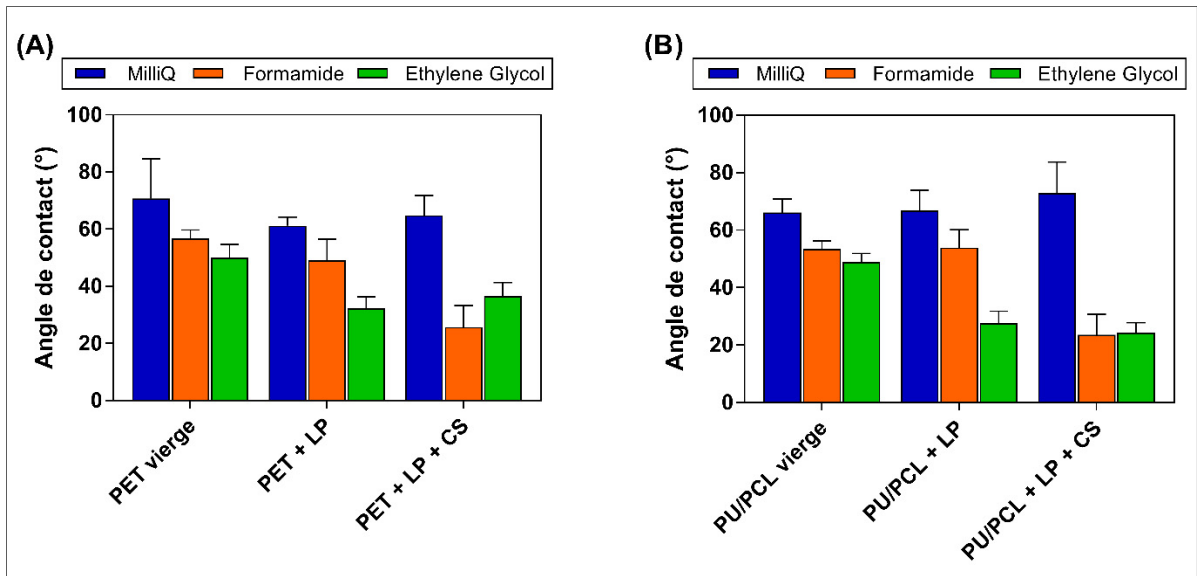


Figure-A IV-2 Angle de contact moyen pour des surfaces en (A) PET et (B) PU/PCL, dans les conditions vierges, avec dépôt L-PPE:N (LP) et revêtement CS (LP+CS)

▪ Estimation de l'énergie de surface

L'énergie de surface est définie comme l'énergie d'interface solide-vapeur γ_{SV} . Le modèle d'Owens-Wendt propose un système d'équations permettant de déterminer l'énergie de surface d'un matériau grâce aux mesures de goniométrie et aux valeurs d'énergie γ_{LV} des liquides utilisés, disponibles dans la littérature. Le principe de base du modèle repose sur la séparation de l'énergie de surface en une composante dispersive (γ_{SV}^d) et une composante polaire (γ_{SV}^P), telles que :

$$\gamma_{SV} = \gamma_{SV}^d + \gamma_{SV}^P \quad (\text{A IV-1})$$

Tirée de Sharma et Hanumantha Rao (2002)

La relation d'Owens-Wendt reliant l'angle de contact mesuré aux composantes de tension s'écrit alors :

$$\frac{\gamma_{LV}(1 + \cos\theta)}{2\sqrt{\gamma_{LV}^d}} = \sqrt{\gamma_{SV}^p} \sqrt{\frac{\gamma_{LV}^p}{\gamma_{LV}^d}} + \sqrt{\gamma_{SV}^d} \quad (\text{A IV-2})$$

Adaptée de Sharma et Hanumantha Rao (2002)

Cette équation est de la forme $y = ax + b$, où :

$$\begin{aligned} y &= ax + b & (\text{A IV-3}) \\ \left\{ \begin{array}{l} y = \frac{\gamma_{LV}(1 + \cos\theta)}{2\sqrt{\gamma_{LV}^d}} \\ x = \sqrt{\frac{\gamma_{LV}^p}{\gamma_{LV}^d}} \\ a = \sqrt{\gamma_{SV}^p} \\ b = \sqrt{\gamma_{SV}^d} \end{array} \right. \end{aligned}$$

Ainsi, pour chaque mesure d'angle avec un liquide donné, il est possible de déterminer les valeurs de x et y. Par une régression linéaire passant par les points de coordonnées (x,y), il est possible d'obtenir la pente (a) et l'ordonnée à l'origine (b) via l'équation de la droite, et ainsi de calculer par la suite les composantes polaire et dispersive de l'énergie de surface.

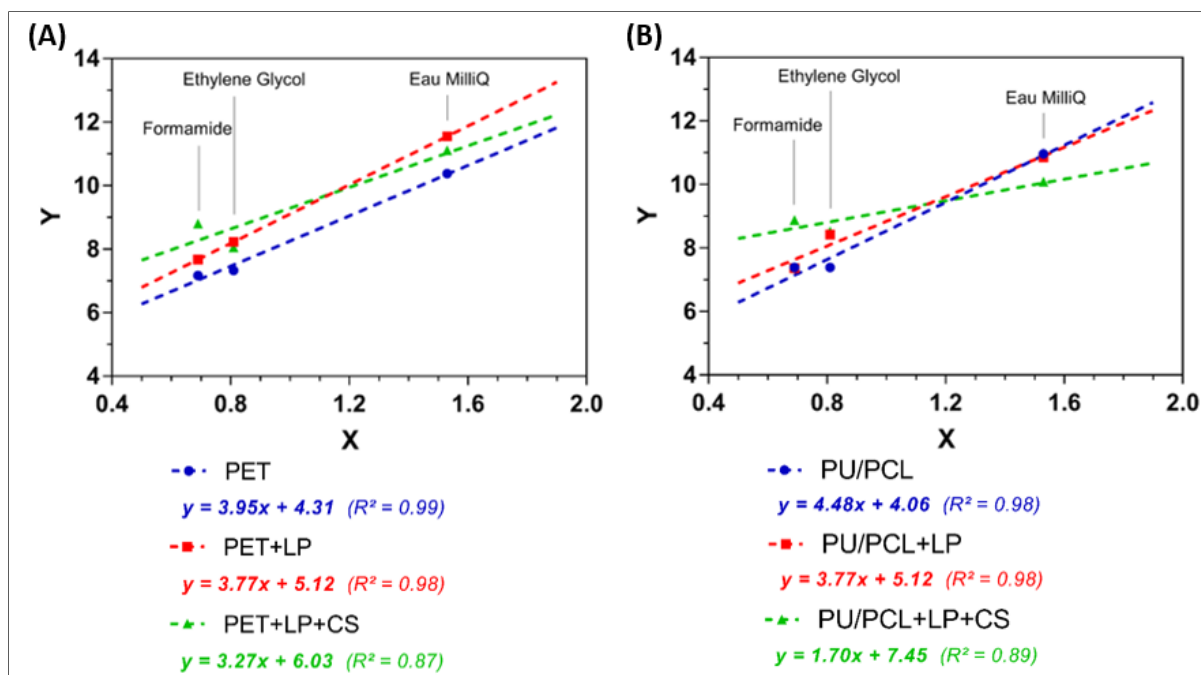


Figure-A IV-3 Régressions linéaires et équations correspondantes selon le modèle d'Owens-Wendt pour les matériaux (A) en PET et (B) en PU/PCL, dans les conditions vierges, avec dépôt L-PPE:N (LP) et revêtement CS (LP+CS). Avec x et y à partir de l'équation (A IV-3).

Les coefficients a et b correspondent, respectivement, à la racine des composantes polaires et dispersives de l'énergie de surface. Ainsi, ces composantes sont calculées selon les formules en (A IV-4), les valeurs sont regroupées à la Figure-A IV-4.

$$\begin{cases} \gamma_{SV}^d = b^2 \\ \gamma_{SV}^p = a^2 \end{cases} \quad (\text{A IV-4})$$

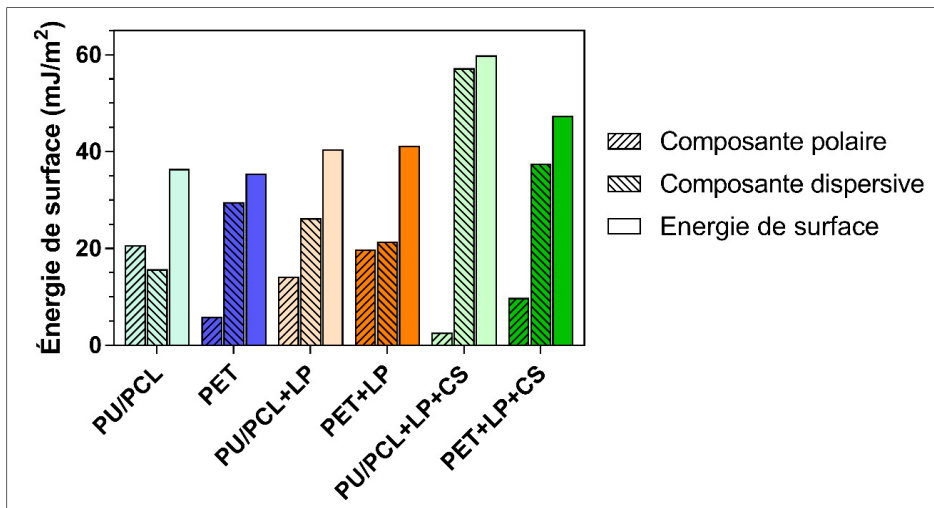


Figure-A IV-4 Énergies de surface avec leurs composantes polaire et dispersive des matériaux PU/PCL et PET, dans les conditions vierges, avec dépôt L-PPE:N (LP) et revêtement CS (LP+CS)

Les énergies de surface du PU/PCL et du PET vierges sont semblables (36 mJ/m^2 pour les deux matériaux). Ceci est également le cas avec le dépôt L-PPE:N (40 et 41 mJ/m^2 , respectivement pour PU/PCL et PET). Cependant, un écart existe après le greffage de CS, avec 60 mJ/m^2 pour le PU/PCL et 47 mJ/m^2 pour le PET. Leurs composantes polaires et dispersives diffèrent aussi : elles sont respectivement de 3 et 57 mJ/m^2 pour le PU/PCL et de 10 et 38 mJ/m^2 pour le PET. Plusieurs facteurs peuvent impacter les mesures d'angles de contact tels que des contaminations et la rugosité des surfaces. Les mesures ont été réalisées sur des films afin de s'affranchir de ce dernier paramètre, néanmoins la rugosité n'a pas été précisément évaluée et il est possible qu'il y ait des hétérogénéités de la surface pour les films fabriqués. Au vu des valeurs obtenues ici, les états de surface après greffage de la CS sur ces deux matériaux semblent alors différents. La méthode de greffage de la CS étant bien établie sur dépôt L-PPE:N sur des matériaux en PET (Charbonneau et al., 2012; Savoji et al., 2017), cela suggère que cette méthode de greffage impacte différemment les propriétés de surface des films PU/PCL de ceux en PET, et il est possible qu'elle ne soit pas entièrement adaptée pour un matériau en PU/PCL. Néanmoins, afin d'améliorer les régressions linéaires par Owens-Wendt et de confirmer ces résultats, il serait intéressant de réaliser des mesures avec d'autres liquides, tels que le diiodométhane ($x = 0.22$) ou le tricrésyl phosphate ($x = 0.16$).

ANNEXE 2A

SUPPLEMENTAL DETAILS ON MATERIAL AND METHODS

Ci-dessous la première annexe du second article intitulé : « Design and In Vivo Testing of a Compliant and Bioactive Electrospun Polyurethane Vascular Prosthesis » (CHAPITRE 4).

2A.1 Animal preoperative quarantine details

Animals were group housed in a room ventilated with filtered 100 % outside air (room temperature 19 +/- 1° C, relative humidity 50 +/-10 %). A 12-h: 12-h light: dark cycle was used. The animals had free access to good quality hay (Norfoin Inc., Saint-Césaire, QC, Canada) and water. The quantity of pelleted diet (Teklad Ruminant Diet 7060, Envigo, Madison, WI, USA) was limited to 250 ml/day. The animals were treated 5 days with fenbendazole per os (5 mg/kg, Safe-Guard Suspension, Merck Animal Health, Kirkland, QC, Canada) to control parasites.

2A.2 Perioperative anesthesia protocol

On the day of the procedure the sheep received a premedication of butorphanol subcutaneously (SC) (0.05mg/kg Torbugesic® Zoetis Canada Inc., Kirkland, QC, Canada). A 20 G catheter (Jelco, Smiths Medical ASD, Inc., Southington, CT, USA) was introduced in the cephalic vein and general anesthesia was induced with an intravenous (IV) injection of diazepam (0.2mg/kg, Diazepam injection USP, Sandoz, Boucherville, QC, Canada) and ketamine (2mg/kg Ketalean Bimeda-MTC Animal Health Inc., Cambridge, ON, Canada). Endotracheal intubation was performed with a 8.5 mm (ID) cuffed endotracheal tube (Teleflex, Research Triangle Park, NC, USA) and anesthesia was maintained with isoflurane (2-3 %, Forane, Baxter, Mississauga, ON, Canada) and a FiO₂ of 1. Intermittent positive pressure ventilation (Ohio 7000, Omeda, Rexdale, ON, Canada) was use and ventilation parameters were adjusted to maintain the end-tidal carbon dioxide concentration (EtPCO₂) between 35 and 45 mmHg. A positive end-expiratory pressure (PEEP) was maintained with a 5 cm H₂O PEEP valve (Hallowell EMC,

Pittsfield, MA, USA) installed on the expiratory limb of the circle system. An orogastric tube (Stomach Tube, JorVet, McCarthy & Sons Service, Calgary, AB, Canada) was used to prevent free gas bloat.

To ensure preemptive analgesia the animal received an IV bolus of ketamine (0.2 mg/kg), fentanyl (0.005 mg/kg, Sandoz, Boucherville, QC, Canada) and lidocaine hydrochloride (1 mg/kg, Hospira, Montreal, QC, Canada) followed by constant rate infusion (CRI) of ketamine (0.3 mg/kg/h), fentanyl (0.005 mg/kg/h) and lidocaine (1.5 mg/kg/h). The surgical site was infiltrated with bupivacaine hydrochloride (2 mg/kg, Marcaine, Hospira, Montreal, QC, Canada). The animal also received IV Meloxicam (0.5 mg/kg, Metacam, Boehringer Ingelheim Ltd., Burlington, ON, Canada) and SC buprenorphine (0.005 mg/kg, Vetergesic[®], Sogeval UK Limited, Sheriff Hutton York, UK) 1 hour prior to the surgical procedure. Cefazolin was administered IV (22 mg/kg, Hospira, Montreal, QC, Canada), at the beginning of the surgical procedure to prevent microbiological infection.

To ensure postoperative analgesia a fentanyl transdermal patch (1.5 µg/kg, Mylan Pharmaceutical ULC, Etobicoke, ON, Canada) was placed at the beginning of the anesthesia and removed 72 hours later. Post-operative analgesia was also provided for 3 days with daily meloxicam per os (1 mg/kg, Meloxicam oral suspension Solvet Alberta Veterinary Laboratories, Calgary, AB, Canada).

2A.3 Sedation protocol for echographic follow-up

The echography was performed under butrophanol sedation (0.05mg/kg Torbugesic, Zoetis Canada Inc., Kirkland, QC, Canada).

ANNEXE 2B

SUPPLEMENTARY DATA

Ci-dessous la deuxième annexe du second article intitulé : « Design and In Vivo Testing of a Compliant and Bioactive Electrospun Polyurethane Vascular Prosthesis » (CHAPITRE 4).

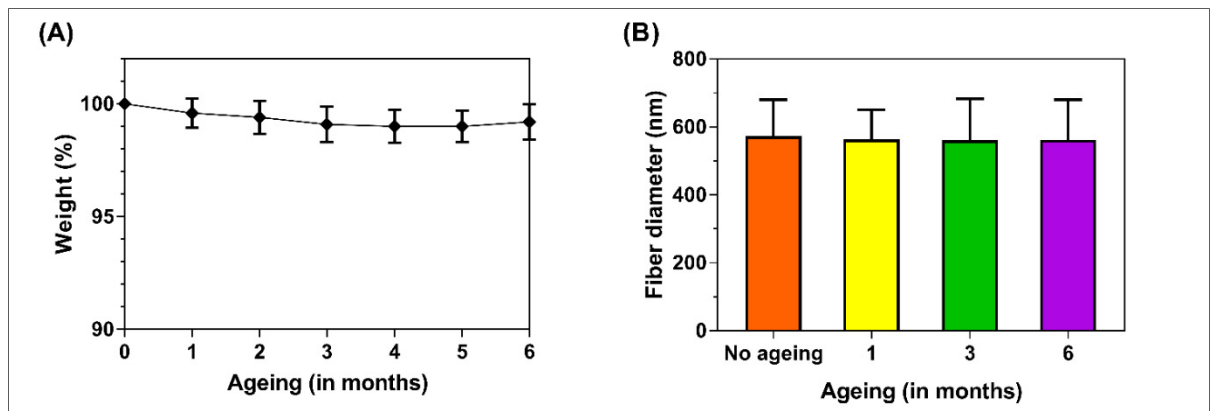


Figure-A 2B-1 Measurements of (A) weight and (B) fiber diameter of the eVG scaffolds as a function of ageing duration in a saline solution at 37°C over 6 months.

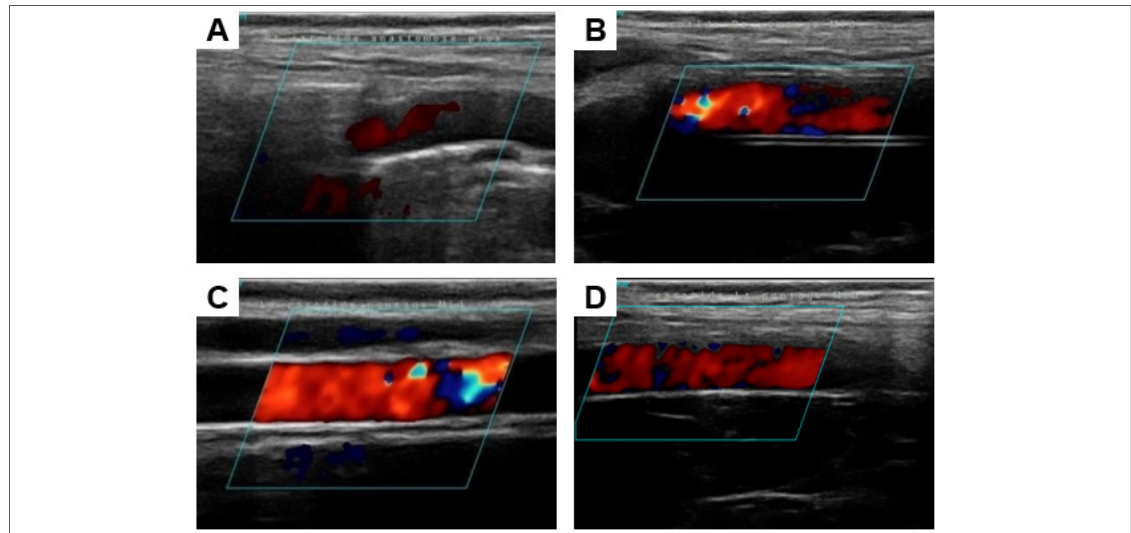


Figure-A 2B-2 Doppler ultrasound images for ePTFE (A, B) and eVG-CS (C, D) grafts post-operatively (A, C) and 1 week after the implantation (B, D). All images taken at mid graft, except for (A) taken at proximal anastomosis because of the absence of Doppler signal inside the ePTFE prosthesis just after implantation.

LISTE DE RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, W. M., Callow, A., Moore, W., Rutherford, R., Veith, F., & Weinberg, S. (1993). Evaluation and performance standards for arterial prostheses. *Journal of Vascular Surgery*, 17(4), 746-756.
- Abbott, W. M., Megerman, J., Hasson, J. E., L'Italien, G., & Warnock, D. F. (1987). Effect of compliance mismatch on vascular graft patency. *Journal of Vascular Surgery*, 5(2), 376-382. doi: 10.1016/0741-5214(87)90148-0.
- AFSSAPS, & Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé. (2011). *Rapport NanoDM : Évaluation biologique des dispositifs médicaux contenant des nanomatériaux*. (DTABAB101115931).
- Ahanchi, S. S., Tsihlis, N. D., & Kibbe, M. R. (2007). The role of nitric oxide in the pathophysiology of intimal hyperplasia. *Journal of Vascular Surgery*, 45(6), A64-A73. doi: 10.1016/j.jvs.2007.02.027.
- Al-Husaini, I. S., Yusoff, A. R. M., Lau, W. J., Ismail, A. F., Al-Abri, M. Z., Al-Ghafri, B. N., & Wirzal, M. D. H. (2019). Fabrication of polyethersulfone electrospun nanofibrous membranes incorporated with hydrous manganese dioxide for enhanced ultrafiltration of oily solution. *Separation and Purification Technology*, 212, 205-214. doi: 10.1016/j.seppur.2018.10.059.
- Al Meslmani, B., Mahmoud, G., Strehlow, B., Mohr, E., Leichtweiß, T., & Bakowsky, U. (2014). Development of thrombus-resistant and cell compatible crimped polyethylene terephthalate cardiovascular grafts using surface co-immobilized heparin and collagen. *Materials Science and Engineering: C*, 43, 538-546. doi: 10.1016/j.msec.2014.07.059.
- Albers, M., Battistella, V. M., Romiti, M., Eyer Rodrigues, A. A., & Bragança Pereira, C. A. (2003). Meta-analysis of polytetrafluoroethylene bypass grafts to infrapopliteal arteries. *Journal of Vascular Surgery*, 37(6), 1263-1269. doi: 10.1016/S0741-5214(02)75332-9.
- American National Standards Institute. (2010). *ANSI/AAMI/ISO 7198:1998/2001/(R)2010, Cardiovascular implants - Tubular vascular prostheses*. ISBN 1-57020-169-2. Association for the Advancement of Medical Instrumentation.
- Amini, G., & Gharehaghaji, A. A. (2018). Improving adhesion of electrospun nanofiber mats to supporting substrate by using adhesive bonding. *International Journal of Adhesion and Adhesives*, 86, 40-44. doi: 10.1016/j.ijadhadh.2018.08.005.

- Anderson, D. E. J., Glynn, J. J., Song, H. K., & Hinds, M. T. (2014). Engineering an Endothelialized Vascular Graft: A Rational Approach to Study Design in a Non-Human Primate Model. *PLoS ONE*, 9(12), e115163. doi: 10.1371/journal.pone.0115163.
- Anderson, J. M., Rodriguez, A., & Chang, D. T. (2008). Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in Immunology*, 20(2), 86-100. doi: 10.1016/j.smim.2007.11.004.
- Andreassian, B., Bonithon-Kopp, C., Bonnet, J., Becker, F., Drouet, L., Dumont, E., . . . Simon, A. (1994). *Arthériopathie des membres inférieurs : dépistage et risque cardiovasculaire*. Institut national de la santé et de la recherche médicale (INSERM).
- Arbade, G. K., Kumar, V., Tripathi, V., Menon, A., Bose, S., & Patro, T. U. (2019). Emblica officinalis-loaded poly(ϵ -caprolactone) electrospun nanofiber scaffold as potential antibacterial and anticancer deployable patch. *New Journal of Chemistry*, 43(19), 7427-7440. doi: 10.1039/c9nj01137d.
- Asplund, B., Aulin, C., Bowden, T., Eriksson, N., Mathisen, T., Bjursten, L. M., & Hilborn, J. (2008). In vitro degradation and in vivo biocompatibility study of a new linear poly(urethane urea). *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials*, 86(1), 45-55. doi: 10.1002/jbm.b.30986.
- ASTM International. (2012a). *ASTM D882-12, Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting*. West Conshohocken, PA: ASTM International. doi: 10.1520/d0882-12
- ASTM International. (2012b). *ASTM D3166-99, Standard Test Method for Fatigue Properties of Adhesives in Shear by Tension Loading (Metal/Metal)*. doi: 10.1520/D3166-99R12
- ASTM International. (2015). *ASTM D1876-08, Standard Test Method for Peel Resistance of Adhesives (T-Peel Test)*. West Conshohocken, PA: ASTM International. doi: 10.1520/D1876-08
- ASTM International. (2019). *ASTM D1002-10, Standard Test Method for Apparent Shear Strength of Single-Lap-Joint Adhesively Bonded Metal Specimens by Tension Loading (Metal-to-Metal)*. doi: 10.1520/D1002-10R19
- Aussel, A., Thébaud, N. B., Bérard, X., Brizzi, V., Delmond, S., Bareille, R., . . . Bordenave, L. (2017). Chitosan-based hydrogels for developing a small-diameter vascular graft: In vitro and in vivo evaluation. *Biomedical Materials (Bristol)*, 12(6). doi: 10.1088/1748-605X/aa78d0.
- Baguneid, M. S., Seifalian, A. M., Salacinski, H. J., Murray, D., Hamilton, G., & Walker, M. G. (2006). Tissue engineering of blood vessels. *British Journal of Surgery*, 93(3), 282-290. doi: 10.1002/bjs.5256.

- Bard Pheripheral Vascular Inc. (2011). Vectra® Vascular Access Graft - Instructions for Use.
- Bartels, V. T. (2011). Handbook of medical textiles. In Textile Institute (Éd.). Oxford: Woodhead Publishing.
- Bazergui, A., Bui-Quoc, A., Biron, A., MacIntyre, G., & Laberge, C. (2002). Résistance des matériaux, 3ème édition. Dans (pp. 220;392-398). Montréal: Presses internationales Polytechnique.
- Benjamin, E. J., Muntner, P., Alonso, A., Bittencourt, M. S., Callaway, C. W., Carson, A. P., . . . Virani, S. S. (2019). Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*, 139(10), e56-e528. doi: 10.1161/cir.0000000000000659.
- Berger, K., Sauvage, L. R., Rao, A. M., & Wood, S. J. (1972). Healing of arterial prostheses in man: its incompleteness. *Annals of Surgery*, 175(1), 118-127. doi: 10.1097/00000658-197201000-00018.
- Bergmeister, H., Schreiber, C., Grasl, C., Walter, I., Plasenzotti, R., Stoiber, M., . . . Schima, H. (2013). Healing characteristics of electrospun polyurethane grafts with various porosities. *Acta Biomaterialia*, 9(4), 6032-6040. doi: 10.1016/j.actbio.2012.12.009.
- Bhardwaj, N., & Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28(3), 325-347. doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.01.004.
- Billiar, K., Murray, J., Laude, D., Abraham, G., & Bachrach, N. (2001). Effects of carbodiimide crosslinking conditions on the physical properties of laminated intestinal submucosa. *Journal of Biomedical Materials Research*, 56(1), 101-108. doi: 10.1002/1097-4636(200107)56:1<101::AID-JBM1074>3.0.CO;2-6.
- Bobaru, F. (2007). Influence of van der Waals forces on increasing the strength and toughness in dynamic fracture of nanofibre networks: a peridynamic approach. *Modelling and Simulation in Materials Science and Engineering*, 15(5), 397-417. doi: 10.1088/0965-0393/15/5/002.
- Boland, E. D., Coleman, B. D., Barnes, C. P., Simpson, D. G., Wnek, G. E., & Bowlin, G. L. (2005). Electrospinning polydioxanone for biomedical applications. *Acta Biomaterialia*, 1(1), 115-123. doi: 10.1016/j.actbio.2004.09.003.
- Bonani, W., Maniglio, D., Motta, A., Tan, W., & Migliaresi, C. (2011). Biohybrid nanofiber constructs with anisotropic biomechanical properties. *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials*, 96(2), 276-286. doi: 10.1002/jbm.b.31763.

- Bordenave, L., Fernandez, P., Rémy-Zolghadri, M., Villars, S., Daculsi, R., & Midy, D. (2005). In vitro endothelialized ePTFE prostheses: Clinical update 20 years after the first realization. *Clin Hemorheol Microcirc*, 33(3), 227-234.
- Botting, R., & Vane, J. R. (1989). Mediators and the anti-thrombotic properties of the vascular endothelium. *Annals of Medicine*, 21(1), 31-38. doi: 10.3109/07853898909149179.
- Bouchet, M., Ajji, A., & Lerouge, S. (2019). Determination of the Adhesion between Electrospun Mats through Peel Testing. *Manuscrit soumis pour publication*.
- Bouchet, M., Fortin, W., Maire, M., Héon, H., Ajji, A., Soulez, G., . . . Lerouge, S. (2019). Design and in vivo Testing of a Compliant and Bioactive Electrospun Polyurethane Vascular Prosthesis. *Manuscrit soumis pour publication*.
- Bouchet, M., Gauthier, M., Maire, M., Ajji, A., & Lerouge, S. (2019). Towards Compliant Small-Diameter Vascular Grafts: Predictive Analytical Model and Experiments. *Materials Science and Engineering: C*, 100, 715-723. doi: 10.1016/j.msec.2019.03.023.
- Buncan, B., & Crocker, L. (2001). *NPL Report, Review of Tests for Adhesion Strength*. Teddington: National Physical Laboratory.
- Buscemi, S., Palumbo, V. D., Maffongelli, A., Fazzotta, S., Palumbo, F. S., Licciardi, M., . . . Lo Monte, A. I. (2017). Electrospun PHEA-PLA/PCL Scaffold for Vascular Regeneration: A Preliminary in Vivo Evaluation. *Transplant Proc*, 49(4), 716-721. doi: 10.1016/j.transproceed.2017.02.017.
- Bussi eres, S., Tremblay, C., & Lacasse, Y. (2018). * valuation du débitmètre ultrasonique pour la vérification de la perméabilité des greffons lors des pontages aortocoronariens – Rapport d’évaluation* (n  VIII). Québec: Unité d’évaluation des technologies et des modes d’intervention en santé de l’Institut universitaire de cardiologie et de pneumologie de Québec (UETMIS-IUCPQ-UL).
- Buxton, B. F., Hayward, P. A. R., Newcomb, A. E., Moten, S., Seevanayagam, S., & Gordon, I. (2009). Choice of conduits for coronary artery bypass grafting: craft or science? *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 35(4), 658-670. doi: 10.1016/j.ejcts.2008.10.058.
- Byrne, R. A., Stone, G. W., Ormiston, J., & Kastrati, A. (2017). Coronary balloon angioplasty, stents, and scaffolds. *The Lancet*, 390(10096), 781-792. doi: 10.1016/S0140-6736(17)31927-X.
- Byrom, M. J., Bannon, P. G., White, G. H., & Ng, M. K. C. (2010). Animal models for the assessment of novel vascular conduits. *Journal of Vascular Surgery*, 52(1), 176-195. doi: 10.1016/j.jvs.2009.10.080.

- Caracciolo, P. C., Buffa, F., Thomas, V., Vohra, Y. K., & Abraham, G. A. (2011). Biodegradable polyurethanes: Comparative study of electrospun scaffolds and films. *Journal of Applied Polymer Science*, 121(6), 3292-3299. doi: 10.1002/app.33855.
- Carrabba, M., & Madeddu, P. (2018). Current Strategies for the Manufacture of Small Size Tissue Engineering Vascular Grafts. *Front Bioeng Biotechnol*, 6, 41. doi: 10.3389/fbioe.2018.00041.
- Castillo-Cruz, O., Perez-Aranda, C., Gamboa, F., Cauich-Rodriguez, J. V., Mantovani, D., & Aviles, F. (2018). Prediction of circumferential compliance and burst strength of polymeric vascular grafts. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 79, 332-340. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.12.031.
- Catto, V., Farè, S., Cattaneo, I., Figliuzzi, M., Alessandrino, A., Freddi, G., . . . Tanzi, M. C. (2015). Small diameter electrospun silk fibroin vascular grafts: Mechanical properties, in vitro biodegradability, and in vivo biocompatibility. *Materials Science and Engineering: C*, 54, 101-111. doi: 10.1016/j.msec.2015.05.003.
- Catto, V., Farè, S., Freddi, G., & Tanzi, M. C. (2014). Vascular Tissue Engineering: Recent Advances in Small Diameter Blood Vessel Regeneration. *ISRN Vascular Medicine*, 2014, 27. doi: 10.1155/2014/923030.
- Cauich-Rodriguez, J. V., Chan-Chan, L. H., Hernandez-Sanchez, F., & Cervantes-Uc, J. M. (2013). Degradation of Polyurethanes for Cardiovascular Applications. Dans *Advances in Biomaterials Science and Biomedical Applications*. doi: 10.5772/53681.
- Cavanaugh, K., Holt, V., Goode, J., & Anderson, E. (2006). FDA Recommendations for Nitinol Stent and Endovascular Graft Fatigue Characterization and Fracture Reporting. *Journal of ASTM International*, 3(6), 1-7. doi: 10.1520/JAI100384.
- Cha, D. I., Kim, K. W., Chu, G. H., Kim, H. Y., Lee, K. H., & Bhattarai, N. (2006). Mechanical behaviors and characterization of electrospun polysulfone/polyurethane blend nonwovens. *Macromolecular Research*, 14(3), 331-337. doi: 10.1007/BF03219090.
- Chafi, H. (2017). *Optimization of stresses in an adhesive bonded curved joint (Steel/composite)* (Université Paris-Est). (2017PESC1221).
- Chakfé, N., Dieval, F., Thaveau, F., Rinckenbach, S., Hassani, O., Camelot, G., . . . Kretz, J. G. (2004). Substituts vasculaires. *Annales de Chirurgie*, 129(5), 301-309. doi: 10.1016/j.anchir.2004.05.002.
- Charbonneau, C., Gautrot, J. E., Hébert, M.-J., Zhu, X. X., & Lerouge, S. (2007). Chondroitin-4-Sulfate: A Bioactive Macromolecule to Foster Vascular Healing around Stent-Grafts after Endovascular Aneurysm Repair. *Macromolecular Bioscience*, 7(5), 746-752. doi: 10.1002/mabi.200700008.

- Charbonneau, C., Liberelle, B., Hébert, M.-J., De Crescenzo, G., & Lerouge, S. (2011). Stimulation of cell growth and resistance to apoptosis in vascular smooth muscle cells on a chondroitin sulfate/epidermal growth factor coating. *Biomaterials*, 32(6), 1591-1600. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.10.055.
- Charbonneau, C., Ruiz, J. C., Lequoy, P., Hébert, M. J., De Crescenzo, G., Wertheimer, M. R., & Lerouge, S. (2012). Chondroitin sulfate and epidermal growth factor immobilization after plasma polymerization: a versatile anti-apoptotic coating to promote healing around stent grafts. *Macromolecular Bioscience*, 12(6), 812-821. doi: 10.1002/mabi.201100447.
- Chemla, E. S., & Morsy, M. (2009). Randomized clinical trial comparing decellularized bovine ureter with expanded polytetrafluoroethylene for vascular access. *British Journal of Surgery*, 96(1), 34-39. doi: 10.1002/bjs.6434.
- Chen, J., Sun, L., & Wang, X. (2011). Enhanced mechanical performance of electrospun nanofibrous membrane by solvent effect. Dans *ICAFPM 2011 - Proceedings of 2011 International Conference on Advanced Fibers and Polymer Materials* (pp. 545-547).
- Chen, Y., Ding, X., Li, Y. L., Zhao, X. Q., & Hu, J. Y. (2011). Experimental Models of Compliance and Young's Modulus of Woven Vascular Prosthesis. *Advanced Materials Research*, 332-334, 609-612. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.332-334.609.
- Chlupáč, J., Filová, E., & Bacáková, L. (2009). Blood Vessel Replacement: 50 years of Development and Tissue Engineering Paradigms in Vascular Surgery. *Physiological Research*, 58(2), S119-S139.
- Chopra, H., Hung, M. K., Kwong, D. L., Zhang, C. F., & Pow, E. H. N. (2018). Insights into Endothelial Progenitor Cells: Origin, Classification, Potentials, and Prospects. *Stem Cells International*, 2018, 24. doi: 10.1155/2018/9847015.
- Claes, E., Atienza, J. M., Guinea, G. V., Rojo, F. J., Bernal, J. M., Revuelta, J. M., & Elices, M. (2010). Mechanical properties of human coronary arteries. Dans *2010 Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, EMBC'10* (pp. 3792-3795). doi: 10.1109/IEMBS.2010.5627560
- Clowes, A. W., Kirkman, T. R., & Reidy, M. A. (1986). Mechanisms of arterial graft healing. Rapid transmural capillary ingrowth provides a source of intimal endothelium and smooth muscle in porous PTFE prostheses. *American Journal of Pathology*, 123(2), 220-230.
- Cognard, P. (2006). 3. Design and Stress Calculations for Bonded Joints. Dans *Handbook of Adhesives and Sealants, Volume 2 - General Knowledge, Application of Adhesives, New Curing Techniques*. Elsevier.

- Collins, M. J., Li, X., Lv, W., Yang, C., Protack, C. D., Muto, A., . . . Dardik, A. (2012). Therapeutic strategies to combat neointimal hyperplasia in vascular grafts. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 10(5), 635-647. doi: 10.1586/erc.12.33.
- Conte, S. M., & Vale, P. R. (2018). Peripheral Arterial Disease. *Heart, Lung and Circulation*, 27(4), 427-432. doi: 10.1016/j.hlc.2017.10.014.
- Cortez Tornello, P. R., Caracciolo, P. C., Cuadrado, T. R., & Abraham, G. A. (2014). Structural characterization of electrospun micro/nanofibrous scaffolds by liquid extrusion porosimetry: A comparison with other techniques. *Materials Science and Engineering C*, 41, 335-342.
- Creton, C., & Ciccotti, M. (2016). Fracture and adhesion of soft materials: a review. *Rep Prog Phys*, 79(4), 046601. doi: 10.1088/0034-4885/79/4/046601.
- Cui, W., Li, X., Zhu, X., Yu, G., Zhou, S., & Weng, J. (2006). Investigation of Drug Release and Matrix Degradation of Electrospun Poly(dl-lactide) Fibers with Paracetanol Inoculation. *Biomacromolecules*, 7(5), 1623-1629. doi: 10.1021/bm060057z.
- Cutiongco, M. F., Kukumberg, M., Peneyra, J. L., Yeo, M. S., Yao, J. Y., Rufaihah, A. J., . . . Yim, E. K. (2016). Submillimeter Diameter Poly(Vinyl Alcohol) Vascular Graft Patency in Rabbit Model. *Front Bioeng Biotechnol*, 4, 44. doi: 10.3389/fbioe.2016.00044.
- Darque-Ceretti, E., & Felder, E. (2003). *Adhésion et Adhérence*. CNRS Editions.
- de Mel, A., Jell, G., Stevens, M. M., & Seifalian, A. M. (2008). Biofunctionalization of biomaterials for accelerated in situ endothelialization: A review. *Biomacromolecules*, 9(11), 2969-2979. doi: 10.1021/bm800681k.
- de Valence, S., Tille, J.-C., Mugnai, D., Mrowczynski, W., Gurny, R., Möller, M., & Walpoth, B. H. (2012). Long term performance of polycaprolactone vascular grafts in a rat abdominal aorta replacement model. *Biomaterials*, 33(1), 38-47. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.09.024.
- de Valence, S., Tille, J. C., Giliberto, J. P., Mrowczynski, W., Gurny, R., Walpoth, B. H., & Moller, M. (2012). Advantages of bilayered vascular grafts for surgical applicability and tissue regeneration. *Acta Biomaterialia*, 8(11), 3914-3920. doi: 10.1016/j.actbio.2012.06.035.
- De Vrieze, S., Van Camp, T., Nelvig, A., Hagström, B., Westbroek, P., & De Clerck, K. (2009). The effect of temperature and humidity on electrospinning. *Journal of Materials Science*, 44(5), 1357-1362. doi: 10.1007/s10853-008-3010-6.

- Del Gaudio, C., Fioravanzo, L., Folin, M., Marchi, F., Ercolani, E., & Bianco, A. (2012). Electrospun tubular scaffolds: on the effectiveness of blending poly(epsilon-caprolactone) with poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate). *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials*, 100(7), 1883-1898. doi: 10.1002/jbm.b.32756.
- Desai, M., Seifalian, A. M., & Hamilton, G. (2011). Role of prosthetic conduits in coronary artery bypass grafting. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 40(2), 394-398. doi: 10.1016/j.ejcts.2010.11.050.
- Deutsch, M., Meinhart, J., Zilla, P., Howanietz, N., Gorlitzer, M., Froeschl, A., . . . Grabenwoeger, M. (2009). Long-term experience in autologous in vitro endothelialization of infrainguinal ePTFE grafts. *Journal of Vascular Surgery*, 49(2), 352-362. doi: 10.1016/j.jvs.2008.08.101.
- Dhakate, S., Singla, B., Uppal, M., & Mathur, R. B. (2010). Effect of processing parameters on morphology and thermal properties of electrospun polycarbonate nanofibers. *Advanced Materials Letters*, 1. doi: 10.5185/amlett.2010.8148.
- Dieval, F., Chakfe, N., Bizonne, S. C., Le Magnen, J. F., Beaufigeau, M., Mathieu, D., . . . Durand, B. (2001). Les tests mécaniques d'évaluation des prothèses vasculaires. *ITBM-RBM*, 22(2), 70-87. doi: 10.1016/S1297-9562(01)90033-6.
- Ding, J., Zhang, J., Li, J., Li, D., Xiao, C., Xiao, H., . . . Chen, X. (2019). Electrospun polymer biomaterials. *Progress in Polymer Science*, 90, 1-34. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2019.01.002.
- Dong, X., Yuan, X., Wang, L., Liu, J., Midgley, A. C., Wang, Z., . . . Kong, D. (2018). Construction of a bilayered vascular graft with smooth internal surface for improved hemocompatibility and endothelial cell monolayer formation. *Biomaterials*, 181, 1-14. doi: 10.1016/j.biomaterials.2018.07.027.
- Dora, K. A. (2001). Cell-cell communication in the vessel wall. *Vascular Medicine*, 6(1), 43-50. doi: 10.1191/135886301666458055.
- Drilling, S., Gaumer, J., & Lannutti, J. (2009). Fabrication of burst pressure competent vascular grafts via electrospinning: effects of microstructure. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 88(4), 923-934. doi: 10.1002/jbm.a.31926.
- DuPont Fluoroproducts. *Teflon® PTFE, Properties Handbook*. USA: DuPont.
- Eda, G., & Shivkumar, S. (2006). Bead structure variations during electrospinning of polystyrene. *Journal of Materials Science*, 41(17), 5704-5708. doi: 10.1007/s10853-006-0069-9.

- Eichhorn, S. J., & Sampson, W. W. (2005). Statistical geometry of pores and statistics of porous nanofibrous assemblies. *Journal of the Royal Society, Interface*, 2(4), 309-318. doi: 10.1098/rsif.2005.0039.
- Ercolani, E., Del Gaudio, C., & Bianco, A. (2015). Vascular tissue engineering of small-diameter blood vessels: reviewing the electrospinning approach. *J Tissue Eng Regen Med*, 9(8), 861-888. doi: 10.1002/term.1697.
- Es-saheb, M., & Elzatahry, A. (2014). Post-Heat Treatment and Mechanical Assessment of Polyvinyl Alcohol Nanofiber Sheet Fabricated by Electrospinning Technique. *International Journal of Polymer Science*, 2014, 1-6. doi: 10.1155/2014/605938.
- Fernández, J., Auzmendi, O., Amestoy, H., Diez-Torre, A., & Sarasua, J.-R. (2017). Mechanical properties and fatigue analysis on poly(ϵ -caprolactone)-polydopamine-coated nanofibers and poly(ϵ -caprolactone)-carbon nanotube composite scaffolds. *European Polymer Journal*, 94, 208-221. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2017.07.013.
- Ferraresso, M., Bortolani, E. M., & Amnon, G. (2016). A two-year experience with a rapid access, self-sealing, polycarbonate urethane nanofiber vascular access graft for hemodialysis. *Journal of Vascular Access*, 17(3), 210-214. doi: 10.5301/jva.5000541.
- Fischer, G. M., & Llaurodo, J. G. (1966). Collagen and elastin content in canine arteries selected from functionally different vascular beds. *Circ Res*, 19(2), 394-399.
- Freed, L. E., Vunjak-Novakovic, G., Biron, R. J., Eagles, D. B., Lesnoy, D. C., Barlow, S. K., & Langer, R. (1994). Biodegradable polymer scaffolds for tissue engineering. *Bio/Technology*, 12(7), 689-693. doi: 10.1038/nbt0794-689.
- Gauthier, M. (2016). *Conception et optimisation d'une prothèse artérielle multicouche composée de tissu électrofilé* (École de technologie supérieure, Montréal).
- Geens, J., Van der Bruggen, B., & Vandecasteele, C. (2006). Transport model for solvent permeation through nanofiltration membranes. *Separation and Purification Technology*, 48(3), 255-263. doi: 10.1016/j.seppur.2005.07.032.
- Gigout, A., Ruiz, J. C., Wertheimer, M. R., Jolicoeur, M., & Lerouge, S. (2011). Nitrogen-rich plasma-polymerized coatings on PET and PTFE surfaces improve endothelial cell attachment and resistance to shear flow. *Macromolecular Bioscience*, 11(8), 1110-1119. doi: 10.1002/mabi.201000512.
- Gluais, M., Clouet, J., Fusellier, M., Decante, C., Moraru, C., Dutilleul, M., . . . Le Visage, C. (2019). In vitro and in vivo evaluation of an electrospun-aligned microfibrillar implant for Annulus fibrosus repair. *Biomaterials*, 205, 81-93. doi: 10.1016/j.biomaterials.2019.03.010.

- Goh, E. T., Wong, E., Farhatnia, Y., Tan, A., & Seifalian, A. M. (2014). Accelerating in situ endothelialisation of cardiovascular bypass grafts. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(1), 597-627. doi: 10.3390/ijms16010597.
- Goh, Y.-F., Shakir, I., & Hussain, R. (2013). Electrospun fibers for tissue engineering, drug delivery, and wound dressing. *Journal of Materials Science*, 48(8), 3027-3054. doi: 10.1007/s10853-013-7145-8.
- Goins, A., Webb, A. R., & Allen, J. B. (2019). Multi-layer approaches to scaffold-based small diameter vessel engineering: A review. *Materials Science and Engineering: C*, 97, 896-912. doi: 10.1016/j.msec.2018.12.067.
- Goldman, S., Zadina, K., Moritz, T., Ovitt, T., Sethi, G., Copeland, J. G., . . . Henderson, W. (2004). Long-term patency of saphenous vein and left internal mammary artery grafts after coronary artery bypass surgery: Results from a Department of Veterans Affairs Cooperative Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 44(11), 2149-2156. doi: 10.1016/j.jacc.2004.08.064.
- Gómez, K. A., & Gómez, A. A. Statistical procedures for agricultural research. Dans. John Wiley.
- Gorbet, M. B., & Sefton, M. V. (2004). Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials*, 25(26), 5681-5703. doi: 10.1016/j.biomaterials.2004.01.023.
- Grainger, D. W., Pavon-Djavid, G., Migonney, V., & Josefowicz, M. (2003). Assessment of fibronectin conformation adsorbed to polytetrafluoroethylene surfaces from serum protein mixtures and correlation to support of cell attachment in culture. *J Biomater Sci Polym Ed*, 14(9), 973-988.
- Greenhalgh, S. E., & Dunn, M. W. (1998). Modeling Blood Flow Through Vascular Grafts. *National Textile Center*.
- Greenwald, S. E., & Berry, C. L. (2000). Improving vascular grafts: The importance of mechanical and haemodynamic properties. *Journal of Pathology*, 190(3), 292-299.
- Greiner, A., & Wendorff, J. H. (2007). Electrospinning: a fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Angew Chem Int Ed Engl*, 46(30), 5670-5703. doi: 10.1002/anie.200604646.
- Grey, C. P., Newton, S. T., Bowlin, G. L., Haas, T. W., & Simpson, D. G. (2013). Gradient fiber electrospinning of layered scaffolds using controlled transitions in fiber diameter. *Biomaterials*, 34(21), 4993-5006. doi: 10.1016/j.biomaterials.2013.03.033.

- Guan, J., Sacks, M. S., Beckman, E. J., & Wagner, W. R. (2002). Synthesis, characterization, and cytocompatibility of elastomeric, biodegradable poly(ester-urethane)ureas based on poly(caprolactone) and putrescine. *Journal of Biomedical Materials Research*, 61(3), 493-503. doi: 10.1002/jbm.10204.
- Gui, L., & Niklason, L. E. (2014). Vascular Tissue Engineering: Building Perfusable Vasculature for Implantation. *Current opinion in chemical engineering*, 3, 68-74. doi: 10.1016/j.coche.2013.11.004.
- Guo, F., Wang, N., Wang, L., Hou, L., Ma, L., Liu, J., . . . Zhao, Y. (2015). An electrospun strong PCL/PU composite vascular graft with mechanical anisotropy and cyclic stability. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(9), 4782-4787. doi: 10.1039/c4ta06845a.
- Gupta, P., Elkins, C., Long, T. E., & Wilkes, G. L. (2005). Electrospinning of linear homopolymers of poly(methyl methacrylate): Exploring relationships between fiber formation, viscosity, molecular weight and concentration in a good solvent. *Polymer*, 46(13), 4799-4810. doi: 10.1016/j.polymer.2005.04.021.
- Hadjizadeh, A., Ajji, A., & Bureau, M. N. (2011). Nano/micro electro-spun polyethylene terephthalate fibrous mat preparation and characterization. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 4(3), 340-351. doi: 10.1016/j.jmbbm.2010.10.014.
- Hadjizadeh, A., Ajji, A., Jolicoeur, M., Liberelle, B., & De Crescenzo, G. (2013). Effects of Electrospun Nanostructure versus Microstructure on Human Aortic Endothelial Cell Behavior. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9, 1159-1209. doi: 10.1166/jbn.2013.1622.
- Hanel, K. C., McCabe, C., Abbott, W. M., Fallon, J., & Megerman, J. (1982). Current PTFE grafts: a biomechanical, scanning electron, and light microscopic evaluation. *Annals of Surgery*, 195(4), 456-463.
- Harrison, S., Tamimi, E., Uhlorn, J., Leach, T., & Vande Geest, J. P. (2015). Computationally Optimizing the Compliance of a Biopolymer Based Tissue Engineered Vascular Graft. *Journal of Biomechanical Engineering*, 138(1), 014505-014505-014505. doi: 10.1115/1.4032060.
- Harskamp, R. E., Lopes, R. D., Baisden, C. E., De Winter, R. J., & Alexander, J. H. (2013). Saphenous vein graft failure after coronary artery bypass surgery: Pathophysiology, management, and future directions. *Annals of Surgery*, 257(5), 824-833. doi: 10.1097/SLA.0b013e318288c38d.
- Haruguchi, H., & Teraoka, S. (2003). Intimal hyperplasia and hemodynamic factors in arterial bypass and arteriovenous grafts: a review. *J Artif Organs*, 6(4), 227-235. doi: 10.1007/s10047-003-0232-x.

- Hasan, A., Memic, A., Annabi, N., Hossain, M., Paul, A., Dokmeci, M. R., . . . Khademhosseini, A. (2014). Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. *Acta Biomaterialia*, 10(1), 11-25. doi: 10.1016/j.actbio.2013.08.022.
- Hashi Craig, K., Derugin, N., Janairo Randall Raphael, R., Lee, R., Schultz, D., Lotz, J., & Li, S. (2010). Antithrombogenic Modification of Small-Diameter Microfibrous Vascular Grafts. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 30(8), 1621-1627. doi: 10.1161/ATVBAHA.110.208348.
- Hassiba, A. J., El Zowalaty, M. E., Webster, T. J., Abdullah, A. M., Nasrallah, G. K., Khalil, K. A., . . . Elzatahry, A. A. (2017). Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of novel double layer nanocomposite electrospun fibers for wound dressing applications. *Int J Nanomedicine*, 12, 2205-2213. doi: 10.2147/IJN.S123417.
- Haute Autorité de Santé. (2013). *Implants de pontage. Révision de catégories homogènes de dispositifs médicaux*. Saint-Denis La Plaine: HAS.
- Hayoz, D., Rutschmann, B., Perret, F., Niederberger, M., Tardy, Y., Mooser, V., . . . Brunner, H. R. (1992). Conduit artery compliance and distensibility are not necessarily reduced in hypertension. *Hypertension*, 20(1), 1-6. doi: 10.1161/01.hyp.20.1.1.
- Hehrlein, F. W., Schlepper, M., Loskot, F., Scheld, H. H., Walter, P., & Mulch, J. (1984). The use of expanded polytetrafluoroethylene (PTFE) grafts for myocardial revascularization. *Journal of Cardiovascular Surgery*, 25(6), 549-553.
- Herring, M. B., Dilley, R., Jersild, R. A., Jr., Boxer, L., Gardner, A., & Glover, J. (1979). Seeding arterial prostheses with vascular endothelium. The nature of the lining. *Annals of Surgery*, 190(1), 84-90. doi: 10.1097/00000658-197907000-00019.
- Hillis, L. D., Smith, P. K., Anderson, J. L., Bittl, J. A., Bridges, C. R., Byrne, J. G., . . . Winniford, M. D. (2011). 2011 ACCF/AHA Guideline for Coronary Artery Bypass Graft Surgery. *Circulation*, 124(23), e652-e735. doi: 10.1161/CIR.0b013e31823c074e.
- Holzapfel, G. (2001). *Biomechanics of Soft Tissue* (Vol. 3). doi: 10.1016/B978-012443341-0/50107-1.
- How, T. V. (1992). Mechanical Properties of Arteries and Arterial Grafts. Dans G. W. Hastings (Éd.), *Cardiovascular Biomaterials* (pp. 1-35). London: Springer London. doi: 10.1007/978-1-4471-1847-3_1.
- Hristov, M., Erl, W., & Weber Peter, C. (2003). Endothelial Progenitor Cells. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 23(7), 1185-1189. doi: 10.1161/01.ATV.0000073832.49290.B5.

- Hu, Z. J., Li, Z. L., Hu, L. Y., He, W., Liu, R. M., Qin, Y. S., & Wang, S. M. (2012). The in vivo performance of small-caliber nanofibrous polyurethane vascular grafts. *BMC Cardiovascular Disorders*, 12. doi: 10.1186/1471-2261-12-115.
- Huang, C., Geng, X., Qinfei, K., Xiumei, M., Al-Deyab, S. S., & El-Newehy, M. (2012). Preparation of composite tubular grafts for vascular repair via electrospinning. *Progress in Natural Science: Materials International*, 22(2), 108-114. doi: 10.1016/j.pnsc.2012.03.005.
- Huang, Z.-M., Zhang, Y.-Z., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, 63, 2223–2253. doi: 10.1016/S0266-3538(03)00178-7.
- Inoguchi, H., Kwon, I. K., Inoue, E., Takamizawa, K., Maehara, Y., & Matsuda, T. (2006). Mechanical responses of a compliant electrospun poly(L-lactide-co-epsilon-caprolactone) small-diameter vascular graft. *Biomaterials*, 27(8), 1470-1478. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.08.029.
- Jasim, T. Y., Najim, M. A., & Jabur, A. R. (2019). Improving the mechanical properties of (chitosan/polyurethane) electrospun blend scaffold used for skin regeneration. *AIP Conference Proceedings*, 2123(1), 020042. doi: 10.1063/1.5116969.
- Jeong, K.-Y., Paik, D.-H., & Choi, S.-W. (2014). Fabrication of Tubular Scaffolds with Controllable Fiber Orientations Using Electrospinning for Tissue Engineering. *Macromolecular Materials and Engineering*, 299(12), 1425-1429. doi: 10.1002/mame.201400178.
- Jia, Y., Qiao, Y., Ricardo Argueta-Morales, I., Maung, A., Norfleet, J., Bai, Y., . . . DeCampi, W. M. (2017). Experimental Study of Anisotropic Stress/Strain Relationships of Aortic and Pulmonary Artery Homografts and Synthetic Vascular Grafts. *Journal of Biomechanical Engineering*, 139(10), 101003-101001 - 101003-101010. doi: 10.1115/1.4037400.
- Jing, X., Mi, H. Y., Salick, M. R., Cordie, T. M., Peng, X. F., & Turng, L. S. (2015). Electrospinning thermoplastic polyurethane/graphene oxide scaffolds for small diameter vascular graft applications. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 49, 40-50. doi: 10.1016/j.msec.2014.12.060.
- Jirofti, N., Mohebbi-Kalhari, D., Samimi, A., Hadjizadeh, A., & Kazemzadeh, G. H. (2018). Small-diameter vascular graft using co-electrospun composite PCL/PU nanofibers. *Biomed Mater*, 13(5), 055014. doi: 10.1088/1748-605X/aad4b5.
- Johnson, J. (2015). *Development of Novel, Bioresorbable, Small-Diameter Electrospun Vascular Grafts* (Vol. 06). doi: 10.4172/2157-7552.1000151.

- Ju, Y. M., Ahn, H., Arenas-Herrera, J., Kim, C., Abolbashari, M., Atala, A., . . . Lee, S. J. (2017). Electrospun vascular scaffold for cellularized small diameter blood vessels: A preclinical large animal study. *Acta Biomaterialia*, 59, 58-67. doi: 10.1016/j.actbio.2017.06.027.
- Ju, Y. M., Choi, J. S., Atala, A., Yoo, J. J., & Lee, S. J. (2010). Bilayered scaffold for engineering cellularized blood vessels. *Biomaterials*, 31(15), 4313-4321. doi: 10.1016/j.biomaterials.2010.02.002.
- Kancheva, M., Toncheva, A., Manolova, N., & Rashkov, I. (2015). Enhancing the mechanical properties of electrospun polyester mats by heat treatment. *Express Polymer Letters*, 9(1), 49-65. doi: 10.3144/expresspolymlett.2015.6.
- Kannan, R. Y., Salacinski, H. J., Butler, P. E., Hamilton, G., & Seifalian, A. M. (2005). Current status of prosthetic bypass grafts: A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 74B(1), 570-581. doi: 10.1002/jbm.b.30247.
- Kassab, G. S. (2006). Biomechanics of the cardiovascular system: the aorta as an illustratory example. *Journal of the Royal Society Interface*, 3(11), 719-740. doi: 10.1098/rsif.2006.0138.
- Keane, T. J., Londono, R., Turner, N. J., & Badylak, S. F. (2012). Consequences of ineffective decellularization of biologic scaffolds on the host response. *Biomaterials*, 33(6), 1771-1781. doi: 10.1016/j.biomaterials.2011.10.054.
- Keuren, J. F. W., Wielders, S. J. H., Willems, G. M., Morra, M., Cahalan, L., Cahalan, P., & Lindhout, T. (2003). Thrombogenicity of polysaccharide-coated surfaces. *Biomaterials*, 24(11), 1917-1924. doi: 10.1016/S0142-9612(02)00620-8.
- Khoffi, F. (2012). *Contribution to the study of the compliance and the ageing of arterial prostheses* (Université de Haute Alsace - Mulhouse).
- Khoo, W., & Koh, C. T. (2016). *A review of electrospinning process and microstructure morphology control* (Vol. 11).
- Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique*. Bruxelles: De Boeck.
- Kilkenny, C., Browne, W. J., Cuthill, I. C., Emerson, M., & Altman, D. G. (2010). Improving Bioscience Research Reporting: The ARRIVE Guidelines for Reporting Animal Research. *PLoS Biology*, 8(6), e1000412. doi: 10.1371/journal.pbio.1000412.
- Kinloch, A. J., Lau, C. C., & Williams, J. G. (1994). The peeling of flexible laminates. *International Journal of Fracture*, 66(1), 45-70. doi: 10.1007/BF00012635.

- Kirkton, R. D., Santiago-Maysonet, M., Lawson, J. H., Tente, W. E., Dahl, S. L. M., Niklason, L. E., & Prichard, H. L. (2019). Bioengineered human acellular vessels recellularize and evolve into living blood vessels after human implantation. *Sci Transl Med*, 11(485). doi: 10.1126/scitranslmed.aau6934.
- Klabunde, R. E. (2012). *Cardiovascular physiology concepts*. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins/Wolters Kluwer.
- Klinkert, P., Post, P. N., Breslau, P. J., & van Bockel, J. H. (2004). Saphenous Vein Versus PTFE for Above-Knee Femoropopliteal Bypass. A Review of the Literature. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 27(4), 357-362. doi: 10.1016/j.ejvs.2003.12.027.
- Konig, G., McAllister, T. N., Dusserre, N., Garrido, S. A., Iyican, C., Marini, A., . . . L'Heureux, N. (2009). Mechanical properties of completely autologous human tissue engineered blood vessels compared to human saphenous vein and mammary artery. *Biomaterials*, 30(8), 1542-1550. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.11.011.
- Kónya, A., Wright, K. C., Gounis, M., & Kandarpa, K. (2008). Animal Models for Atherosclerosis, Restenosis, and Endovascular Aneurysm Repair. Dans P. M. Conn (Éd.), *Sourcebook of Models for Biomedical Research* (Vol. XVI, pp. 369-384). Totowa, NJ: Humana Press. doi: 10.1007/978-1-59745-285-4_40.
- Kottke-Marchant, K., & Larsen, C. (2006). Vascular Graft Prosthesis. Dans *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation*. doi: 10.1002/0471732877.emd257.
- Kováčik, J. (2008). Correlation Between Elastic Modulus, Shear Modulus, Poisson's Ratio and Porosity in Porous Materials. *Advanced Engineering Materials*, 10(3), 250-252. doi: 10.1002/adem.200700266.
- Kuji, T., Masaki, T., Goteti, K., Li, L., Zhuplatov, S., Terry, C. M., . . . Cheung, A. K. (2006). Efficacy of local dipyridamole therapy in a porcine model of arteriovenous graft stenosis. *Kidney International*, 69(12), 2179-2185. doi: 10.1038/sj.ki.5000383.
- L'Heureux, N., Dusserre, N., König, G., Victor, B., Keire, P., Wight, T. N., . . . McAllister, T. N. (2006). Human tissue-engineered blood vessels for adult arterial revascularization. *Nature Medicine*, 12(3), 361-365. doi: 10.1038/nm1364.
- L'Heureux, N., Dusserre, N., Marini, A., Garrido, S., de la Fuente, L., & McAllister, T. (2007). Technology Insight: the evolution of tissue-engineered vascular grafts—from research to clinical practice. *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine*, 4, 389. doi: 10.1038/ncpcardio0930.
- L'Heureux, N., Pâquet, S., Labbé, R., Germain, L., & Auger, F. A. (1998). A completely biological tissue-engineered human blood vessel. *FASEB Journal*, 12(1), 47-56.

- Laurent, M. (2017). *Utilisation d'une décharge à barrière diélectrique pour développer une matrice polymère plasma dégradable pour des applications vasculaires* (Université Laval, Québec).
- Lawson, J. H., Glickman, M. H., Ilzecki, M., Jakimowicz, T., Jaroszynski, A., Peden, E. K., . . . Niklason, L. E. (2016). Bioengineered human acellular vessels for dialysis access in patients with end-stage renal disease: Two phase 2 single-arm trials. *The Lancet*, 387(10032), 2026-2034. doi: 10.1016/S0140-6736(16)00557-2.
- Lee, M. W., An, S., Jo, H. S., Yoon, S. S., & Yarin, A. L. (2015). Self-healing Nanofiber-Reinforced Polymer Composites. 2. Delamination/Debonding and Adhesive and Cohesive Properties. *ACS Appl Mater Interfaces*, 7(35), 19555-19561. doi: 10.1021/acsami.5b03470.
- Lee, S. J., Liu, J., Oh, S. H., Soker, S., Atala, A., & Yoo, J. J. (2008). Development of a composite vascular scaffolding system that withstands physiological vascular conditions. *Biomaterials*, 29(19), 2891-2898. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.03.032.
- Lee, S. J., Yoo, J. J., Lim, G. J., Atala, A., & Stitzel, J. (2007). In vitro evaluation of electrospun nanofiber scaffolds for vascular graft application. *Journal of Biomedical Materials Research - Part A*, 83(4), 999-1008. doi: 10.1002/jbm.a.31287.
- Lehnert, P., Møller, C. H., Damgaard, S., Gerds, T. A., & Steinbrüchel, D. A. (2015). Transit-Time Flow Measurement as a Predictor of Coronary Bypass Graft Failure at One Year Angiographic Follow-Up. *Journal of Cardiac Surgery*, 30(1), 47-52. doi: 10.1111/jocs.12471.
- Lei, I., Frey, M., & Green, T. (2006). Modification Of Air Filter Media With Nylon6 Nanofibers. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, 1. doi: 10.1177/155892500600100101.
- Lemson, M. S., Tordoir, J. H., Daemen, M. J., & Kitslaar, P. J. (2000). Intimal hyperplasia in vascular grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 19(4), 336-350. doi: 10.1053/ejvs.1999.1040.
- Lequoy, P., Liberelle, B., De Crescenzo, G., & Lerouge, S. (2014). Additive benefits of chondroitin sulfate and oriented tethered epidermal growth factor for vascular smooth muscle cell survival. *Macromolecular Bioscience*, 14(5), 720-730. doi: 10.1002/mabi.201300443.
- Lequoy, P., Murschel, F., Liberelle, B., Lerouge, S., & De Crescenzo, G. (2016). Controlled co-immobilization of EGF and VEGF to optimize vascular cell survival. *Acta Biomaterialia*, 29, 239-247. doi: 10.1016/j.actbio.2015.10.026.

- Lequoy, P., Savoji, H., Saoudi, B., Bertrand-Grenier, A., Wertheimer, M. R., De Crescenzo, G., . . . Lerouge, S. (2016). In Vitro and Pilot in Vivo Evaluation of a Bioactive Coating for Stent Grafts Based on Chondroitin Sulfate and Epidermal Growth Factor. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*, 27(5), 753-760e753. doi: 10.1016/j.jvir.2016.02.004.
- Li, C., Wang, F., Douglas, G., Zhang, Z., Guidoin, R., & Wang, L. (2017). Comprehensive mechanical characterization of PLA fabric combined with PCL to form a composite structure vascular graft. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 69, 39-49. doi: 10.1016/j.jmbbm.2016.11.005.
- Li, D., Wang, Y., & Xia, Y. (2003). Electrospinning of Polymeric and Ceramic Nanofibers as Uniaxially Aligned Arrays. *Nano Letters*, 3(8), 1167-1171. doi: 10.1021/nl0344256.
- Li, D., & Xia, Y. (2004). Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel? *Advanced Materials*, 16(14), 1151-1170.
- Li, H., Zhu, C., Xue, J., Ke, Q., & Xia, Y. (2017). Enhancing the Mechanical Properties of Electrospun Nanofiber Mats through Controllable Welding at the Cross Points. *Macromol Rapid Commun*, 38(9). doi: 10.1002/marc.201600723.
- Li, M., Mondrinos, M. J., Chen, X., Gandhi, M. R., Ko, F. K., & Lelkes, P. I. (2006). Co-electrospun poly(lactide-co-glycolide), gelatin, and elastin blends for tissue engineering scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 79(4), 963-973. doi: 10.1002/jbm.a.30833.
- Li, S., & Henry, J. J. D. (2011). Nonthrombogenic Approaches to Cardiovascular Bioengineering. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 13(1), 451-475. doi: 10.1146/annurev-bioeng-071910-124733.
- Li, Z., & Wang, C. (2013). Effects of Working Parameters on Electrospinning. Dans *One-Dimensional nanostructures* (pp. 15-28). Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-36427-3_2.
- Lindsey, P., Echeverria, A., Cheung, M., Kfoury, E., Bechara, C. F., & Lin, P. H. (2018). Lower Extremity Bypass Using Bovine Carotid Artery Graft (Artegraft): An Analysis of 124 Cases with Long-Term Results. *World J Surg*, 42(1), 295-301. doi: 10.1007/s00268-017-4161-x.
- Liu, F., Guo, R., Shen, M., Wang, S., & Shi, X. (2009). Effect of Processing Variables on the Morphology of Electrospun Poly[(lactic acid)-co-(glycolic acid)] Nanofibers. *Macromolecular Materials and Engineering*, 294(10), 666-672. doi: 10.1002/mame.200900110.

- Liu, K., Wang, N., Wang, W., Shi, L., Li, H., Guo, F., . . . Zhao, Y. (2017). A bio-inspired high strength three-layer nanofiber vascular graft with structure guided cell growth. *Journal of Materials Chemistry B*, 5(20), 3758-3764. doi: 10.1039/c7tb00465f.
- Liu, R. H., Ong, C. S., Fukunishi, T., Ong, K., & Hibino, N. (2018). Review of Vascular Graft Studies in Large Animal Models. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, 24(2), 133-143. doi: 10.1089/ten.TEB.2017.0350.
- Lloyd-Jones, D., Adams, R. J., Brown, T. M., Carnethon, M., Dai, S., De Simone, G., . . . Wylie-Rosett, J. (2010). Heart disease and stroke statistics - 2010 update: A report from the American heart association. *Circulation*, 121(7), 948-954. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192666.
- Londrey, G. L., Ramsey, D. E., Hodgson, K. J., Barkmeier, L. D., & Sumner, D. S. (1991). Infrapopliteal bypass for severe ischemia: Comparison of autogenous vein, composite, and prosthetic grafts. *Journal of Vascular Surgery*, 13(5), 631-636. doi: 10.1016/0741-5214(91)90346-V.
- Lu, G., Cui, S. J., Geng, X., Ye, L., Chen, B., Feng, Z. G., . . . Li, Z. Z. (2013). Design and preparation of polyurethane-collagen/ heparin-conjugated polycaprolactone double-layer bionic small-diameter vascular graft and its preliminary animal tests. *Chinese Medical Journal*, 126(7), 1310-1316. doi: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.20130029.
- Machado, D. R., Hasson, D., & Semiat, R. (2000). Effect of solvent properties on permeate flow through nanofiltration membranes. Part II. Transport model. *Journal of Membrane Science*, 166(1), 63-69. doi: 10.1016/S0376-7388(99)00251-3.
- Madden, R. L., Lipkowitz, G. S., Browne, B. J., & Kurbanov, A. (2005). A comparison of cryopreserved vein allografts and prosthetic grafts for hemodialysis access. *Annals of Vascular Surgery*, 19(5), 686-691. doi: 10.1007/s10016-005-6621-2.
- Mantovani, D., Castonguay, M., Pageau, J. F., Fiset, M., & Laroche, G. (1999). Ammonia RF-Plasma Treatment of Tubular ePTFE Vascular Prostheses. *Plasmas and Polymers*, 4(2), 207-228. doi: 10.1023/A:1021805110689.
- Marelli, B., Alessandrino, A., Fare, S., Freddi, G., Mantovani, D., & Tanzi, M. C. (2010). Compliant electrospun silk fibroin tubes for small vessel bypass grafting. *Acta Biomaterialia*, 6(10), 4019-4026. doi: 10.1016/j.actbio.2010.05.008.
- Marga, F., Jakab, K., Khatiwala, C., Shepherd, B., Dorfman, S., Hubbard, B., . . . Gabor, F. (2012). Toward engineering functional organ modules by additive manufacturing. *Biofabrication*, 4(2). doi: 10.1088/1758-5082/4/2/022001.
- Masson, I. (2019). Contribution à la modélisation mécanique du comportement dynamique, hyperélastique et anisotrope de la paroi artérielle.

- Mathisen, S. R., Wu, H. D., Sauvage, L. R., Robel, S. B., Wechezak, A. R., & Walker, M. (1986). The influence of denier and porosity on performance of a warp-knit Dacron arterial prosthesis. *Annals of Surgery*, 203(4), 382-389.
- Matthews, J. A., Wnek, G. E., Simpson, D. G., & Bowlin, G. L. (2002). Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules*, 3(2), 232-238.
- Mazoochi, T., Hamadani, M., Ahmadi, M., & Jabbari, V. (2012). Investigation on the morphological characteristics of nanofibrous membrane as electrospun in the different processing parameters. *International Journal of Industrial Chemistry*, 3(1), 2. doi: 10.1186/2228-5547-3-2.
- McClure, M. J., Sell, S. A., Ayres, C. E., Simpson, D. G., & Bowlin, G. L. (2009). Electrospinning-aligned and random polydioxanone-polycaprolactone-silk fibroin-blended scaffolds: geometry for a vascular matrix. *Biomed Mater*, 4(5), 055010. doi: 10.1088/1748-6041/4/5/055010.
- McClure, M. J., Sell, S. A., Simpson, D. G., Walpoth, B. H., & Bowlin, G. L. (2010). A three-layered electrospun matrix to mimic native arterial architecture using polycaprolactone, elastin, and collagen: a preliminary study. *Acta Biomaterialia*, 6(7), 2422-2433. doi: 10.1016/j.actbio.2009.12.029.
- McClure, M. J., Simpson, D. G., & Bowlin, G. L. (2012). Tri-layered vascular grafts composed of polycaprolactone, elastin, collagen, and silk: Optimization of graft properties. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 10, 48-61. doi: 10.1016/j.jmbbm.2012.02.026.
- McClure, M. J., Wolfe, P. S., Rodriguez, I. A., & Bowlin, G. L. (2011). Bioengineered vascular grafts: Improving vascular tissue engineering through scaffold design. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 21(3), 211-227. doi: 10.1016/S1773-2247(11)50030-9.
- McKavanagh, P., Yanagawa, B., Zawadowski, G., & Cheema, A. (2017). Management and Prevention of Saphenous Vein Graft Failure: A Review. *Cardiology and therapy*, 6(2), 203-223. doi: 10.1007/s40119-017-0094-6.
- McKenna, K. A., Hinds, M. T., Sarao, R. C., Wu, P.-C., Maslen, C. L., Glanville, R. W., . . . Gregory, K. W. (2012). Mechanical property characterization of electrospun recombinant human tropoelastin for vascular graft biomaterials. *Acta Biomaterialia*, 8(1), 225-233. doi: 10.1016/j.actbio.2011.08.001.
- Mercado-Pagan, A. E., Stahl, A. M., Ramseier, M. L., Behn, A. W., & Yang, Y. (2016). Synthesis and characterization of polycaprolactone urethane hollow fiber membranes as small diameter vascular grafts. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 64, 61-73. doi: 10.1016/j.msec.2016.03.068.

- Meyer, S. R. (2015). *Adhesion - Considerations, Testing and Interpretation*. St. Paul: 3M.
- Mi, H.-Y., Jing, X., McNulty, J., Salick, M. R., Peng, X.-F., & Turng, L.-S. (2016). Approaches to Fabricating Multiple-Layered Vascular Scaffolds Using Hybrid Electrospinning and Thermally Induced Phase Separation Methods. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 55(4), 882-892. doi: 10.1021/acs.iecr.5b03462.
- Milleret, V., Hefti, T., Hall, H., Vogel, V., & Eberli, D. (2012). Influence of the fiber diameter and surface roughness of electrospun vascular grafts on blood activation. *Acta Biomaterialia*, 8(12), 4349-4356. doi: 10.1016/j.actbio.2012.07.032.
- Mirafteb, M., Saifullah, A. N., & Çay, A. (2014). Physical stabilisation of electrospun poly(vinyl alcohol) nanofibres: comparative study on methanol and heat-based crosslinking. *Journal of Materials Science*, 50(4), 1943-1957. doi: 10.1007/s10853-014-8759-1.
- Mitchell, S. B., & Sanders, J. E. (2006). A unique device for controlled electrospinning. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 78(1), 110-120. doi: 10.1002/jbm.a.30673.
- Montini-Ballarín, F., Abraham, G. A., & Caracciolo, P. C. (2016). Mechanical Behavior of Polyurethane-Based Small-Diameter Vascular Grafts. Dans S. L. Cooper & J. Guan (Éds.), *Advances in Polyurethane Biomaterials* (1st éd., pp. 451-477). Woodhead Publishing,. doi: 10.1016/b978-0-08-100614-6.00015-9.
- Montini-Ballarín, F., Calvo, D., Caracciolo, P. C., Rojo, F., Frontini, P. M., Abraham, G. A., & G, V. G. (2016). Mechanical behavior of bilayered small-diameter nanofibrous structures as biomimetic vascular grafts. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 60, 220-233. doi: 10.1016/j.jmbbm.2016.01.025.
- Montini Ballarín, F., Blackledge, T. A., Capitos Davis, N. L., Frontini, P. M., Abraham, G. A., & Wong, S.-C. (2013). Effect of topology on the adhesive forces between electrospun polymer fibers using a T-peel test. *Polymer Engineering & Science*, 53(10), 2219-2227. doi: 10.1002/pen.23474.
- Moreno, M. J., Ajji, A., Mohebbi-Kalhor, D., Rukhlova, M., Hadjizadeh, A., & Bureau, M. N. (2011). Development of a compliant and cytocompatible micro-fibrous polyethylene terephthalate vascular scaffold. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 97(2), 201-214. doi: 10.1002/jbm.b.31774.
- Morris, B. A. (2017). 10. Adhesion. Dans *Science and Technology of Flexible Packaging - Multilayer Films from Resin and Process to End Use*. Elsevier.
- Moussavian, M., Casterella, P. J., & Teirstein, P. S. (2001). Restenosis after Angioplasty. *Curr Treat Options Cardiovasc Med*, 3(2), 103-113.

- Mrówczyński, W., Mugnai, D., de Valence, S., Tille, J.-C., Khabiri, E., Cikirikcioglu, M., . . . Walpoth, B. H. (2014). Porcine carotid artery replacement with biodegradable electrospun poly-ε-caprolactone vascular prosthesis. *Journal of Vascular Surgery*, 59(1), 210-219. doi: 10.1016/j.jvs.2013.03.004.
- Mun, C. H., Jung, Y., Kim, S.-H., Lee, S.-H., Kim, H. C., Kwon, I. K., & Kim, S. H. (2012). Three-Dimensional Electrospun Poly(Lactide-Co-ε-Caprolactone) for Small-Diameter Vascular Grafts. *Tissue Engineering Part A*, 18(15-16), 1608-1616. doi: 10.1089/ten.tea.2011.0695.
- Nagiah, N., Johnson, R., Anderson, R., Elliott, W., & Tan, W. (2015). Highly Compliant Vascular Grafts with Gelatin-Sheathed Coaxially Structured Nanofibers. *Langmuir*, 31(47), 12993-13002. doi: 10.1021/acs.langmuir.5b03177.
- Najem, J. F., Wong, S.-C., & Ji, G. (2014). Shear Adhesion Strength of Aligned Electrospun Nanofibers. *Langmuir*, 30(34), 10410-10418. doi: 10.1021/la502402y.
- Nguyen, T. H., Padalhin, A. R., Seo, H. S., & Lee, B. T. (2013). A hybrid electrospun PU/PCL scaffold satisfied the requirements of blood vessel prosthesis in terms of mechanical properties, pore size, and biocompatibility. *J Biomater Sci Polym Ed*, 24(14), 1692-1706. doi: 10.1080/09205063.2013.792642.
- Nicast Ltd. (2014). AVflo Vascular Access Graft. Repéré à www.nicast.com
- Niklason, L. E., Gao, J., Abbott, W. M., Hirschi, K. K., Houser, S., Marini, R., & Langer, R. (1999). Functional arteries grown in vitro. *Science*, 284(5413), 489-493. doi: 10.1126/science.284.5413.489.
- Niu, Z., Wang, X., Meng, X., Guo, X., Jiang, Y., Xu, Y., . . . Shen, C. (2019). Controllable fiber orientation and nonlinear elasticity of electrospun nanofibrous small diameter tubular scaffolds for vascular tissue engineering. *Biomedical Materials*, 14(3), 035006. doi: 10.1088/1748-605x/ab07f1.
- Norgren, L., Hiatt, W. R., Dormandy, J. A., Nehler, M. R., Harris, K. A., & Fowkes, F. G. R. (2007). Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Journal of Vascular Surgery*, 45(1 Suppl.), S5-S67. doi: 10.1016/j.jvs.2006.12.037.
- Olausson, M., Kuna, V. K., Travnikova, G., Bäckdahl, H., Patil, P. B., Saalman, R., . . . Sumitran-Holgersson, S. (2014). In Vivo Application of Tissue-Engineered Veins Using Autologous Peripheral Whole Blood: A Proof of Concept Study. *EBioMedicine*, 1(1), 72-79. doi: 10.1016/j.ebiom.2014.09.001.

- Olausson, M., Patil, P. B., Kuna, V. K., Chougule, P., Hernandez, N., Methe, K., . . . Sumitran-Holgersson, S. (2012). Transplantation of an allogeneic vein bioengineered with autologous stem cells: A proof-of-concept study. *The Lancet*, 380(9838), 230-237. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60633-3.
- Ong, C. S., Fukunishi, T., Liu, R. H., Nelson, K., Zhang, H., Wieczorek, E., . . . Hibino, N. (2017). Bilateral Arteriovenous Shunts as a Method for Evaluating Tissue-Engineered Vascular Grafts in Large Animal Models. *Tissue engineering. Part C, Methods*, 23(11), 728-735. doi: 10.1089/ten.TEC.2017.0217.
- Ott, J. B., & Boerio-Goates, J. (2000). Chapter 11 - Summary of Thermodynamic Relationships. Dans J. B. Ott & J. Boerio-Goates (Éds.), *Chemical Thermodynamics: Advanced Applications* (pp. 1-42). London: Academic Press. doi: 10.1016/B978-012530985-1.50002-3.
- Padhye, N., Parks, D. M., Slocum, A. H., & Trout, B. L. (2016). Enhancing the performance of the T-peel test for thin and flexible adhered laminates. *Rev Sci Instrum*, 87(8), 085111. doi: 10.1063/1.4960172.
- Pai, C.-L., Boyce, M. C., & Rutledge, G. C. (2011). On the importance of fiber curvature to the elastic moduli of electrospun nonwoven fiber meshes. *Polymer*, 52(26), 6126-6133. doi: 10.1016/j.polymer.2011.10.055.
- Pashneh-Tala, S., MacNeil, S., & Claeysens, F. (2016). The Tissue-Engineered Vascular Graft-Past, Present, and Future. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, 22(1). doi: 10.1089/ten.teb.2015.0100.
- Patel, H. N., Thai, K. N., Chowdhury, S., Singh, R., Vohra, Y. K., & Thomas, V. (2015). In vitro degradation and cell attachment studies of a new electrospun polymeric tubular graft. *Progress in biomaterials*, 4(2-4), 67-76. doi: 10.1007/s40204-015-0038-y.
- Pearson, J. D. (1999). Endothelial cell function and thrombosis. *Bailliere's Best Practice and Research in Clinical Haematology*, 12(3), 329-341. doi: 10.1053/beh.1999.0028.
- Peck, M., Gebhart, D., Dusserre, N., McAllister, T. N., & L'Heureux, N. (2011). The evolution of vascular tissue engineering and current state of the art. *Cells Tissues Organs*, 195(1-2), 144-158. doi: 10.1159/000331406.
- Pennel, T., Bezuidenhout, D., Koehne, J., Davies, N. H., & Zilla, P. (2018). Transmural capillary ingrowth is essential for confluent vascular graft healing. *Acta Biomaterialia*, 65, 237-247. doi: 10.1016/j.actbio.2017.10.038.
- Pennel, T., Zilla, P., & Bezuidenhout, D. (2013). Differentiating transmural from transanastomotic prosthetic graft endothelialization through an isolation loop-graft model. *Journal of Vascular Surgery*, 58(4), 1053-1061. doi: 10.1016/j.jvs.2012.11.093.

- Pensalfini, M., Meneghello, S., Lintas, V., Bircher, K., Ehret, A. E., & Mazza, E. (2018). The suture retention test, revisited and revised. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 77, 711-717. doi: 10.1016/j.jmbbm.2017.08.021.
- Perouse Medical. (2017). Catalogue général - Cardiovasculaire. France: Vygon.
- Pham, Q. P., Sharma, U., & Mikos, A. G. (2006). Electrospinning of polymeric nanofibers for tissue engineering applications: a review. *Tissue Engineering*, 12(5), 1197-1211. doi: 10.1089/ten.2006.12.1197.
- Pitt, C. G., Chasalow, F. I., Hibionada, Y. M., Klimas, D. M., & Schindler, A. (1981). Aliphatic polyesters. I. The degradation of poly(ϵ -caprolactone) in vivo. *Journal of Applied Polymer Science*, 26(11), 3779-3787. doi: 10.1002/app.1981.070261124.
- Pu, J., Yuan, F., Li, S., & Komvopoulos, K. (2014). Electrospun bilayer fibrous scaffolds for enhanced cell infiltration and vascularization in vivo. *Acta Biomaterialia*.
- Putti, M., Simonet, M., Solberg, R., & Peters, G. W. M. (2015). Electrospinning poly(ϵ -caprolactone) under controlled environmental conditions: Influence on fiber morphology and orientation. *Polymer*, 63, 189-195. doi: 10.1016/j.polymer.2015.03.006.
- Qi, H. J., & Boyce, M. C. (2005). Stress-strain behavior of thermoplastic polyurethanes. *Mechanics of Materials*, 37(8), 817-839. doi: 10.1016/j.mechmat.2004.08.001.
- Quint, C., Arief, M., Muto, A., Dardik, A., & Niklason, L. E. (2012). Allogeneic human tissue-engineered blood vessel. *Journal of Vascular Surgery*, 55(3), 790-798. doi: 10.1016/j.jvs.2011.07.098.
- Radke, D., Jia, W., Sharma, D., Fena, K., Wang, G., Goldman, J., & Zhao, F. (2018). Tissue Engineering at the Blood-Contacting Surface: A Review of Challenges and Strategies in Vascular Graft Development. *Advanced healthcare materials*, 7(15), e1701461. doi: 10.1002/adhm.201701461.
- Radomski, M. W., Palmer, R. M. J., & Moncada, S. (1987). The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *British Journal of Pharmacology*, 92(3), 639-646. doi: 10.1111/j.1476-5381.1987.tb11367.x.
- Rae, P. J., & Dattelbaum, D. M. (2004). The properties of poly(tetrafluoroethylene) (PTFE) in compression. *Polymer*, 45(22), 7615-7625. doi: 10.1016/j.polymer.2004.08.064.
- Raju, I. S., & O'Brien, T. K. (2008). 1 - Fracture mechanics concepts, stress fields, strain energy release rates, delamination initiation and growth criteria. Dans S. Sridharan (Éd.), *Delamination Behaviour of Composites* (pp. 3-27). Woodhead Publishing. doi: 10.1533/9781845694821.1.3.

- Reed, G. F., Lynn, F., & Meade, B. D. (2002). Use of coefficient of variation in assessing variability of quantitative assays. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, 9(6), 1235-1239. doi: 10.1128/cdli.9.6.1235-1239.2002.
- Ren, X., Feng, Y., Guo, J., Wang, H., Li, Q., Yang, J., . . . Li, W. (2015). Surface modification and endothelialization of biomaterials as potential scaffolds for vascular tissue engineering applications. *Chemical Society Reviews*, 44(15), 5680-5742. doi: 10.1039/C4CS00483C.
- Ribeiro, C., Sencadas, V., Costa, C. M., Gómez Ribelles, J. L., & Lanceros-Méndez, S. (2011). Tailoring the morphology and crystallinity of poly(L-lactide acid) electrospun membranes. *Science and Technology of Advanced Materials*, 12(1). doi: 10.1088/1468-6996/12/1/015001.
- Rizvi, M. S., Kumar, P., Katti, D. S., & Pal, A. (2012). Mathematical model of mechanical behavior of micro/nanofibrous materials designed for extracellular matrix substitutes. *Acta Biomaterialia*, 8(11), 4111-4122. doi: 10.1016/j.actbio.2012.07.025.
- Roach, M. R., & Burton, A. C. (1957). The reason for the shape of the distensibility curves of arteries. *Can J Biochem Physiol*, 35(8), 681-690.
- Rocco, K. A., Maxfield, M. W., Best, C. A., Dean, E. W., & Breuer, C. K. (2014). In vivo applications of electrospun tissue-engineered vascular grafts: A review. *Tissue Engineering - Part B: Reviews*, 20(6), 628-640.
- Roeder, R. A., Lantz, G. C., & Geddes, L. A. (2001). Mechanical remodeling of small-intestine submucosa small-diameter vascular grafts--a preliminary report. *Biomedical Instrumentation & Technology*, 35(2), 110-120.
- Rostad, H., Grip, A., & Hall, C. (1987). Blood flow measurement in PTFE grafts. *Journal of Cardiovascular Surgery*, 28(3), 262-265.
- Rüder, C., Sauter, T., Kratz, K., Haase, T., Peter, J., Jung, F., . . . Zohlhöfer, D. (2013). Influence of fibre diameter and orientation of electrospun copolyetheresterurethanes on smooth muscle and endothelial cell behaviour. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, 55(4), 513-522. doi: 10.3233/CH-131787.
- Russell, S. J., & Textile, I. (2007). *Handbook of nonwovens*. Boca Raton, Fla.; Cambridge: CRC Press ; Woodhead Pub.
- Rutherford, R. B., Baker, J. D., Ernst, C., Johnston, K. W., Porter, J. M., Ahn, S., & Jones, D. N. (1997). Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: Revised version. *Journal of Vascular Surgery*, 26(3), 517-538. doi: 10.1016/S0741-5214(97)70045-4.

- Sakariassen, K. S., Orning, L., & Turitto, V. T. (2015). The impact of blood shear rate on arterial thrombus formation. *Future science OA*, 1(4), FSO30-FSO30. doi: 10.4155/fso.15.28.
- Salacinski, H. J., Goldner, S., Giudiceandrea, A., Hamilton, G., Seifalian, A. M., Edwards, A., & Carson, R. J. (2001). The Mechanical Behavior of Vascular Grafts: A Review. *Journal of Biomaterials Applications*, 15(3), 241-278. doi: 10.1106/na5t-j57a-jtdd-fd04.
- Sánchez, P. F., Brey, E. M., & Briceño, J. C. (2018). Endothelialization mechanisms in vascular grafts. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 12(11), 2164-2178. doi: 10.1002/term.2747.
- Sandoo, A., van Zanten, J. J. C. S. V., Metsios, G. S., Carroll, D., & Kitas, G. D. (2010). The endothelium and its role in regulating vascular tone. *Open Cardiovascular Medicine Journal*, 4, 302-312. doi: 10.2174/1874192401004010302.
- Sarkar, S., Salacinski, H. J., Hamilton, G., & Seifalian, A. M. (2006). The mechanical properties of infrainguinal vascular bypass grafts: their role in influencing patency. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 31(6), 627-636. doi: 10.1016/j.ejvs.2006.01.006.
- Savoji, H. (2016). *Innovative vascular prostheses combining 3D electrospun nanofiber matrices and bioactive coatings prepared by plasma-polymerization* (École Polytechnique de Montréal, Montréal).
- Savoji, H., Hadjizadeh, A., Maire, M., Ajji, A., Wertheimer, M. R., & Lerouge, S. (2014). Electrospun nanofiber scaffolds and plasma polymerization: a promising combination towards complete, stable endothelial lining for vascular grafts. *Macromolecular Bioscience*, 14(8), 1084-1095. doi: 10.1002/mabi.201300545.
- Savoji, H., Maire, M., Lequoy, P., Liberelle, B., De Crescenzo, G., Ajji, A., . . . Lerouge, S. (2017). Combining Electrospun Fiber Mats and Bioactive Coatings for Vascular Graft Prostheses. *Biomacromolecules*, 18(1), 303-310. doi: 10.1021/acs.biomac.6b01770.
- Schmidt, D. R., Waldeck, H., & Kao, W. J. (2009). Protein Adsorption to Biomaterials. Dans D. A. Puleo & R. Bizios (Éds.), *Biological Interactions on Materials Surfaces: Understanding and Controlling Protein, Cell, and Tissue Responses* (pp. 1-18). New York, NY: Springer US. doi: 10.1007/978-0-387-98161-1_1.
- Seifu, D. G., Purnama, A., Mequanint, K., & Mantovani, D. (2013). Small-diameter vascular tissue engineering. *Nature Reviews Cardiology*, 10, 410. doi: 10.1038/nrcardio.2013.77.

- Sell, S. A., McClure, M. J., Barnes, C. P., Knapp, D. C., Walpoth, B. H., Simpson, D. G., & Bowlin, G. L. (2006). Electrospun polydioxanone-elastin blends: potential for bioresorbable vascular grafts. *Biomed Mater*, 1(2), 72-80. doi: 10.1088/1748-6041/1/2/004.
- Servier Medical Art. (2019): Servier.
- Shabunin, S. A., Yudin, E. V., Dobrovolskaya, P. I., Zinovyev, V. E., Zubov, V., Ivan'kova, M. E., & Morganti, P. (2019). Composite Wound Dressing Based on Chitin/Chitosan Nanofibers: Processing and Biomedical Applications. *Cosmetics*, 6(1). doi: 10.3390/cosmetics6010016.
- Shadwick, R. E. (1999). Mechanical design in arteries. *Journal of Experimental Biology*, 202(23), 3305-3313.
- Shalumon, K. T., Deepthi, S., Anupama, M. S., Nair, S. V., Jayakumar, R., & Chennazhi, K. P. (2014). Fabrication of poly (l-lactic acid)/gelatin composite tubular scaffolds for vascular tissue engineering. *Int J Biol Macromol*, 72C, 1048-1055. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2014.09.058.
- Sharma, P. K., & Hanumantha Rao, K. (2002). Analysis of different approaches for evaluation of surface energy of microbial cells by contact angle goniometry. *Advances in Colloid and Interface Science*, 98(3), 341-463. doi: 10.1016/S0001-8686(02)00004-0.
- Shaw, J. A., Kingwell, B. A., Walton, A. S., Cameron, J. D., Pillay, P., Gatzka, C. D., & Dart, A. M. (2002). Determinants of coronary artery compliance in subjects with and without angiographic coronary artery disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 39(10), 1637-1643. doi: 10.1016/S0735-1097(02)01842-9.
- Shenoy, S. L., Bates, W. D., Frisch, H. L., & Wnek, G. E. (2005). Role of chain entanglements on fiber formation during electrospinning of polymer solutions: good solvent, non-specific polymer-polymer interaction limit. *Polymer*, 46(10), 3372-3384. doi: 10.1016/j.polymer.2005.03.011.
- Shi, Q., Wan, K.-T., Wong, S.-C., Chen, P., & Blackledge, T. A. (2010). Do Electrospun Polymer Fibers Stick? *Langmuir*, 26(17), 14188-14193. doi: 10.1021/la1022328.
- Shi, Q., Wong, S. C., Ye, W., Hou, J., Zhao, J., & Yin, J. (2012). Mechanism of adhesion between polymer fibers at nanoscale contacts. *Langmuir*, 28(10), 4663-4671. doi: 10.1021/la204633c.
- Shin'Oka, T., Imai, Y., & Ikada, Y. (2001). Transplantation of a tissue-engineered pulmonary artery [5]. *New England Journal of Medicine*, 344(7), 532-533. doi: 10.1056/NEJM200102153440717.

- Shin'oka, T., Matsumura, G., Hibino, N., Naito, Y., Watanabe, M., Konuma, T., . . . Kurosawa, H. (2005). Midterm clinical result of tissue-engineered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 129(6), 1330-1338. doi: 10.1016/j.jtcvs.2004.12.047.
- Shojaee, M., & Bashur, C. A. (2017). Compositions Including Synthetic and Natural Blends for Integration and Structural Integrity: Engineered for Different Vascular Graft Applications. *Advanced healthcare materials*, 6(12), 1700001. doi: 10.1002/adhm.201700001.
- Singh, C., Wong, C. S., & Wang, X. (2015). Medical Textiles as Vascular Implants and Their Success to Mimic Natural Arteries. *Journal of functional biomaterials*, 6(3), 500-525. doi: 10.3390/jfb6030500.
- Skovrind, I., Harvald, E. B., Juul Belling, H., Jorgensen, C. D., Lindholt, J. S., & Andersen, D. C. (2019). Concise Review: Patency of Small-Diameter Tissue-Engineered Vascular Grafts: A Meta-Analysis of Preclinical Trials. *Stem Cells Transl Med*, 8(7), 671-680. doi: 10.1002/sctm.18-0287.
- Smith, M. J., McClure, M. J., Sell, S. A., Barnes, C. P., Walpoth, B. H., Simpson, D. G., & Bowlin, G. L. (2008). Suture-reinforced electrospun polydioxanone-elastin small-diameter tubes for use in vascular tissue engineering: a feasibility study. *Acta Biomaterialia*, 4(1), 58-66. doi: 10.1016/j.actbio.2007.08.001.
- Soffer, L., Wang, X., Zhang, X., Kluge, J., Dorfmann, L., Kaplan, D. L., & Leisk, G. (2008). Silk-based electrospun tubular scaffolds for tissue-engineered vascular grafts. *Journal of biomaterials science. Polymer edition*, 19(5), 653-664. doi: 10.1163/156856208784089607.
- Soletti, L., Hong, Y., Guan, J., Stankus, J. J., El-Kurdi, M. S., Wagner, W. R., & Vorp, D. A. (2010). A bilayered elastomeric scaffold for tissue engineering of small diameter vascular grafts. *Acta Biomaterialia*, 6(1), 110-122. doi: 10.1016/j.actbio.2009.06.026.
- Soliman, S., Sant, S., Nichol, J. W., Khabiry, M., Traversa, E., & Khademhosseini, A. (2011). Controlling the porosity of fibrous scaffolds by modulating the fiber diameter and packing density. *Journal of Biomedical Materials Research, Part A*, 96(3), 566-574. doi: 10.1002/jbm.a.33010.
- Sorrentino, S., & Haller, H. (2011). Tissue Engineering of Blood Vessels: How to Make a Graft. Dans N. Pallua & C. V. Suscheck (Éds.), *Tissue Engineering: From Lab to Clinic* (pp. 263-278). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-02824-3_14.

- Steele, J. G., Dalton, B. A., Johnson, G., & Underwood, P. A. (1995). Adsorption of fibronectin and vitronectin onto Primaria™ and tissue culture polystyrene and relationship to the mechanism of initial attachment of human vein endothelial cells and BHK-21 fibroblasts. *Biomaterials*, 16(14), 1057-1067. doi: 10.1016/0142-9612(95)98901-P.
- Steris Healthcare. (2019). V-PRO® maX Low Temperature Sterilization System. Repéré à <https://www.steris.com/healthcare/products/v-pro-sterilizers/v-pro-max-low-temperature-sterilization-system/>
- Stewart, S. F., & Lyman, D. J. (1990). Predicting the compliance of small diameter vascular grafts from uniaxial tensile tests. *Journal of Biomechanics*, 23(7), 629-637.
- Stewart, S. F. C., & Lyman, D. J. (1992). Effects of a vascular graft/natural artery compliance mismatch on pulsatile flow. *Journal of Biomechanics*, 25(3), 297-310. doi: 10.1016/0021-9290(92)90027-X.
- Stitzel, J., Liu, J., Lee, S. J., Komura, M., Berry, J., Soker, S., . . . Atala, A. (2006). Controlled fabrication of a biological vascular substitute. *Biomaterials*, 27(7), 1088-1094. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.07.048.
- Suarez Bagnasco, D., Montini Ballarin, F., Cymberknop, L. J., Balay, G., Negreira, C., Abraham, G. A., & Armentano, R. L. (2014). Elasticity assessment of electrospun nanofibrous vascular grafts: A comparison with femoral ovine arteries. *Materials Science and Engineering: C*, 45, 446-454. doi: 10.1016/j.msec.2014.09.016.
- Sun, H., Mei, L., Song, C., Cui, X., & Wang, P. (2006). The in vivo degradation, absorption and excretion of PCL-based implant. *Biomaterials*, 27(9), 1735-1740. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.09.019.
- Tai, N. R., Salacinski, H. J., Edwards, A., Hamilton, G., & Seifalian, A. M. (2000). Compliance properties of conduits used in vascular reconstruction. *British Journal of Surgery*, 87(11), 1516-1524. doi: 10.1046/j.1365-2168.2000.01566.x.
- Tai, N. R., Salacinsky, H. J., Edwards, A., Hamilton, G., & Seifalian, A. M. (2000). Compliance properties of conduits used in vascular reconstruction. *British Journal of Surgery*, 87(11), 1516-1524.
- Tamimi, E. A., Ardila, D. C., Ensley, B. D., Kellar, R. S., & Vande Geest, J. P. (2019). Computationally Optimizing the Compliance of Multilayered Biomimetic Tissue Engineered Vascular Grafts. *Journal of Biomechanical Engineering*, 141(6), 061003-061003-061014. doi: 10.1115/1.4042902.
- Tan, L., Hu, J., & Zhao, H. (2015). Design of bilayered nanofibrous mats for wound dressing using an electrospinning technique. *Materials Letters*, 156, 46-49. doi: 10.1016/j.matlet.2015.04.119.

- Tan, S. H., Inai, R., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2005). Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process. *Polymer*, 46(16), 6128-6134. doi: 10.1016/j.polymer.2005.05.068.
- Tan, Z., Wang, H., Gao, X., Liu, T., & Tan, Y. (2016). Composite vascular grafts with high cell infiltration by co-electrospinning. *Materials Science and Engineering C*, 67, 369-377. doi: 10.1016/j.msec.2016.05.067.
- Tanaka, K. (1978). Physicochemical Properties of Chondroitin Sulfate: I. Ion Binding and Secondary Structure. *The Journal of Biochemistry*, 83(3), 647-653. doi: 10.1093/oxfordjournals.jbchem.a131955.
- Tang, S. K., Xie, J. J., & Xiong, J. (2010). Influences of thermal treatment on the morphology and properties of electrospun ultrafine poly(ϵ -caprolactone) fibers. *Gaofenzi Cailiao Kexue Yu Gongcheng/Polymeric Materials Science and Engineering*, 26(2), 66-69.
- Teebken, O. E., & Haverich, A. (2002). Tissue engineering of small diameter vascular grafts. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 23(6), 475-485. doi: 10.1053/ejvs.2002.1654.
- Teo, W. E. (2012). Electrospinning Parameters: Voltage. Repéré à <http://electrospintech.com/voltage.html>
- Teo, W. E. (2016). Improving Uniformity of Electrospun Membrane. Repéré à <http://electrospintech.com/membuniformity.html>
- Teo, W. E., & Ramakrishna, S. (2006). A review on electrospinning design and nanofibre assemblies. *Nanotechnology*, 17(14), R89-R106. doi: 10.1088/0957-4484/17/14/R01.
- Thalla, P. K., Fadlallah, H., Liberelle, B., Lequoy, P., De Crescenzo, G., Merhi, Y., & Lerouge, S. (2014). Chondroitin sulfate coatings display low platelet but high endothelial cell adhesive properties favorable for vascular implants. *Biomacromolecules*, 15(7), 2512-2520. doi: 10.1021/bm5003762.
- Thermo Fisher Scientific Inc. (2019). XPS Simplified. Repéré à <https://xpssimplified.com/>
- Theron, J. P., Knoetze, J. H., Sanderson, R. D., Hunter, R., Mequanint, K., Franz, T., . . . Bezuidenhout, D. (2010). Modification, crosslinking and reactive electrospinning of a thermoplastic medical polyurethane for vascular graft applications. *Acta Biomaterialia*, 6(7), 2434-2447. doi: 10.1016/j.actbio.2010.01.013.
- Thomas, V., Donahoe, T., Nyairo, E., Dean, D. R., & Vohra, Y. K. (2011). Electrospinning of Biosyn((R))-based tubular conduits: structural, morphological, and mechanical characterizations. *Acta Biomaterialia*, 7(5), 2070-2079. doi: 10.1016/j.actbio.2011.01.008.

- Tondreau, M. (2015). *Développement à visée clinique d'une prothèse vasculaire décellularisée de faible diamètre produite par génie tissulaire* (Université Laval, Québec, Canada).
- Toussaint, J. F. (2003). *L'athérosclérose: physiopathologie, diagnostics, thérapeutiques*. Masson.
- Truica-Marasescu, F., & Wertheimer, M. R. (2008). Nitrogen-Rich Plasma-Polymer Films for Biomedical Applications. *Plasma Processes and Polymers*, 5(1), 44-57. doi: 10.1002/ppap.200700077.
- U.S. National Library of Medicine. (2019). ClinicalTrials.gov, database of privately and publicly funded clinical studies conducted around the world. Repéré à clinicaltrials.gov
- Valenti, M. (2012). *Study of the hemocompatibility of non-woven sub-microfibrous structures of polyethylene terephthalate (PET): Effect of sub-microfibres diameter and alignment* (École Polytechnique de Montréal, Montréal).
- Van Haften, E. E., Bouten, V. C., & Kurniawan, A. N. (2017). Vascular Mechanobiology: Towards Control of In Situ Regeneration. *Cells*, 6(3). doi: 10.3390/cells6030019.
- van Lith, R., & Ameer, G. A. (2011). Biohybrid Strategies for Vascular Grafts. Dans N. Pallua & C. V. Suscheck (Éds.), *Tissue Engineering: From Lab to Clinic* (pp. 279-316). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg. doi: 10.1007/978-3-642-02824-3_15.
- van Oeveren, W. (2013). Obstacles in Haemocompatibility Testing. *Scientifica*, 2013, 14. doi: 10.1155/2013/392584.
- Vara, D. S., Salacinski, H. J., Kannan, R. Y., Bordenave, L., Hamilton, G., & Seifalian, A. M. (2005). Cardiovascular tissue engineering: state of the art. *Pathologie Biologie*, 53(10), 599-612. doi: 10.1016/j.patbio.2004.12.006.
- Varagnolo, S., Raccanello, F., Pierno, M., Mistura, G., Moffa, M., Persano, L., & Pisignano, D. (2017). Highly sticky surfaces made by electrospun polymer nanofibers. *RSC Adv*, 7(10), 5836-5842. doi: 10.1039/c6ra24922a.
- Vaz, C. M., van Tuijl, S., Bouten, C. V. C., & Baaijens, F. P. T. (2005). Design of scaffolds for blood vessel tissue engineering using a multi-layering electrospinning technique. *Acta Biomaterialia*, 1(5), 575-582. doi: 10.1016/j.actbio.2005.06.006.
- Veith, F. J., Gupta, S. K., Ascer, E., White-Flores, S., Samson, R. H., Scher, L. A., . . . Bergan, J. J. (1986). Six-year prospective multicenter randomized comparison of autologous saphenous vein and expanded polytetrafluoroethylene grafts in infrainguinal arterial reconstructions. *Journal of Vascular Surgery*, 3(1), 104-114. doi: 10.1067/mva.1986.avs0030104.

- Venkatraman, S., Boey, F., & Lao, L. L. (2008). Implanted cardiovascular polymers: Natural, synthetic and bio-inspired. *Progress in Polymer Science*, 33(9), 853-874. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2008.07.001.
- Vermeer, A. W. P., Giacomelli, C. E., & Norde, W. (2001). Adsorption of IgG onto hydrophobic teflon. Differences between the Fab and Fc domains. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1526(1), 61-69. doi: 10.1016/S0304-4165(01)00101-5.
- Vindigni, V., Abatangelo, G., & Bassetto, F. (2011). New Developments in Tissue Engineering of Microvascular Prostheses. Dans R. Pignatello (Éd.), *Biomaterials Science and Engineering*. IntechOpen. doi: DOI: 10.5772/24899.
- Voorhees, A. B., Jr., Jaretzki, A., 3rd, & Blakemore, A. H. (1952). The use of tubes constructed from vinyon "N" cloth in bridging arterial defects. *Annals of Surgery*, 135(3), 332-336. doi: 10.1097/00000658-195203000-00006.
- Voorneveld, J., Oosthuysen, A., Franz, T., Zilla, P., & Bezuidenhout, D. (2017). Dual electrospinning with sacrificial fibers for engineered porosity and enhancement of tissue ingrowth. *Journal of Biomedical Materials Research, Part B: Applied Biomaterials*, 105(6), 1559-1572. doi: 10.1002/jbm.b.33695.
- Walden, R., L'Italien, G. J., Megerman, J., & Abbott, W. M. (1980). Matched elastic properties and successful arterial grafting. *Arch Surg*, 115(10), 1166-1169.
- Wang, S., Mo, X. M., Jiang, B. J., Gao, C. J., Wang, H. S., Zhuang, Y. G., & Qiu, L. J. (2013). Fabrication of small-diameter vascular scaffolds by heparin-bonded P(LLA-CL) composite nanofibers to improve graft patency. *Int J Nanomedicine*, 8, 2131-2139. doi: 10.2147/IJN.S44956.
- Wesolowski, S. A., Fries, C. C., Karlson, K. E., Bakey, M. D., & Sawyer, P. N. (1961). Porosity: primary determinant of ultimate fate of synthetic vascular grafts. *Surgery*, 50(1), 91-96.
- White, J. V., & Mazzacco, S. L. (1996). Formation and growth of aortic aneurysms induced by adventitial elastolysis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 800, 97-120. doi: 10.1111/j.1749-6632.1996.tb33302.x.
- White, R. A. (1988). The effect of porosity and biomaterial on the healing and long-term mechanical properties of vascular prostheses. *ASAIO Transactions*, 34(2), 95-100.
- Whited, B. M., & Rylander, M. N. (2014). The influence of electrospun scaffold topography on endothelial cell morphology, alignment, and adhesion in response to fluid flow. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(1), 184-195.

- Wiedeman Mary, P. (1963). Dimensions of Blood Vessels from Distributing Artery to Collecting Vein. *Circulation Research*, 12(4), 375-378. doi: 10.1161/01.RES.12.4.375.
- Wise, S. G., Byrom, M. J., Waterhouse, A., Bannon, P. G., Ng, M. K. C., & Weiss, A. S. (2011). A multilayered synthetic human elastin/polycaprolactone hybrid vascular graft with tailored mechanical properties. *Acta Biomaterialia*, 7(1), 295-303. doi: 10.1016/j.actbio.2010.07.022.
- Wise, S. G., Liu, H., Kondyurin, A., Byrom, M. J., Bannon, P. G., Edwards, G. A., . . . Bilek, M. M. (2016). Plasma Ion Activated Expanded Polytetrafluoroethylene Vascular Grafts with a Covalently Immobilized Recombinant Human Tropoelastin Coating Reducing Neointimal Hyperplasia. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 2(8), 1286-1297. doi: 10.1021/acsbiomaterials.6b00208.
- Wolfenbarger Jr, L., Lange, P., Linhurst, A., Moore, E., & Nolf, B. (2004). Process for decellularizing soft-tissue engineered medical implants, and decellularized soft-tissue medical implants produced: Google Patents.
- Woods, I., & Flanagan, T. C. (2014). Electrospinning of biomimetic scaffolds for tissue-engineered vascular grafts: Threading the path. *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 12(7), 815-832. doi: 10.1586/14779072.2014.925397.
- World Health Organization. (2019). Cardiovascular diseases (CVDs). Repéré à [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- Wu, J., Hu, C., Tang, Z., Yu, Q., Liu, X., & Chen, H. (2018). Tissue-engineered Vascular Grafts: Balance of the Four Major Requirements. *Colloid and Interface Science Communications*, 23, 34-44. doi: 10.1016/j.colcom.2018.01.005.
- Wu, T., Zhang, J., Wang, Y., Li, D., Sun, B., El-Hamshary, H., . . . Mo, X. (2018). Fabrication and preliminary study of a biomimetic tri-layer tubular graft based on fibers and fiber yarns for vascular tissue engineering. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 82, 121-129. doi: 10.1016/j.msec.2017.08.072.
- Wystrychowski, W., Cierpka, L., Zagalski, K., Garrido, S., Dusserre, N., Radochonski, S., . . . L'Heureux, N. (2011). Case Study: First Implantation of a Frozen, Devitalized Tissue-engineered Vascular Graft for Urgent Hemodialysis Access. *The Journal of Vascular Access*, 12(1), 67-70. doi: 10.5301/JVA.2011.6360.
- Wystrychowski, W., McAllister, T. N., Zagalski, K., Dusserre, N., Cierpka, L., & L'Heureux, N. (2014). First human use of an allogeneic tissue-engineered vascular graft for hemodialysis access. *Journal of Vascular Surgery*, 60(5), 1353-1357. doi: 10.1016/j.jvs.2013.08.018.

- Xue, J., Wu, T., Dai, Y., & Xia, Y. (2019). Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications. *Chem Rev*, 119(8), 5298-5415. doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00593.
- Yalcin Enis, I., & Gok Sadikoglu, T. (2016). Design parameters for electrospun biodegradable vascular grafts. *Journal of Industrial Textiles*, 47(8), 2205-2227. doi: 10.1177/1528083716654470.
- Yalcinkaya, F. (2016). Preparation of various nanofiber layers using wire electrospinning system. *Arabian Journal of Chemistry*. doi: 10.1016/j.arabjc.2016.12.012.
- Yin, A., Zhang, K., McClure, M. J., Huang, C., Wu, J., Fang, J., . . . El-Newehy, M. (2013). Electrospinning collagen/chitosan/poly(L-lactic acid-co-epsilon-caprolactone) to form a vascular graft: mechanical and biological characterization. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 101(5), 1292-1301. doi: 10.1002/jbm.a.34434.
- Yokota, T., Ichikawa, H., Matsumiya, G., Kuratani, T., Sakaguchi, T., Iwai, S., . . . Sawa, Y. (2008). In situ tissue regeneration using a novel tissue-engineered, small-caliber vascular graft without cell seeding. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 136(4), 900-907. doi: 10.1016/j.jtcvs.2008.02.058.
- Zamani, M., Prabhakaran, M. P., & Ramakrishna, S. (2013). Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *Int J Nanomedicine*, 8, 2997-3017. doi: 10.2147/IJN.S43575.
- Zanatta, G., Steffens, D., Braghirolli, D. I., Fernandes, R. A., Netto, C. A., & Pranke, P. (2012). Viability of mesenchymal stem cells during electrospinning. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45(2), 125-130.
- Zeugolis, D. I., Khew, S. T., Yew, E. S. Y., Ekaputra, A. K., Tong, Y. W., Yung, L.-Y. L., . . . Raghunath, M. (2008). Electro-spinning of pure collagen nano-fibres – Just an expensive way to make gelatin? *Biomaterials*, 29(15), 2293-2305. doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.02.009.
- Zeus Industrial Products Inc. (2019). Bioweb™ Composites. Repéré à <https://www.zeusinc.com/products/biomaterials/bioweb-composites/>
- Zhang, M., Desai, T., & Ferrari, M. (1998). Proteins and cells on PEG immobilized silicon surfaces. *Biomaterials*, 19(10), 953-960. doi: 10.1016/S0142-9612(98)00026-X.
- Zhang, X., Peng, X., & Zhang, S. W. (2017). 7. Synthetic Biodegradable Medical Polymers: Polymer Blends. Dans *Science and Principles of Biodegradable and Bioresorbable Medical Polymers - Materials and Properties*. Elsevier.

- Zhang, X., Thomas, V., & Vohra, Y. K. (2010). Two ply tubular scaffolds comprised of proteins/poliglecaprone/polycaprolactone fibers. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(2), 541-549. doi: 10.1007/s10856-009-3922-y.
- Zhang, Z., Marois, Y., Guidoin, R. G., Bull, P., Marois, M., How, T., . . . King, M. W. (1997). Vascugraft® polyurethane arterial prosthesis as femoro-popliteal and femoro-peroneal bypasses in humans: pathological, structural and chemical analyses of four excised grafts. *Biomaterials*, 18(2), 113-124. doi: 10.1016/S0142-9612(96)00054-3.
- Zhang, Z., Wang, Z., Liu, S., & Kodama, M. (2004). Pore size, tissue ingrowth, and endothelialization of small-diameter microporous polyurethane vascular prostheses. *Biomaterials*, 25(1), 177-187. doi: 10.1016/s0142-9612(03)00478-2.
- Zhou, M., Qiao, W., Liu, Z., Shang, T., Qiao, T., Mao, C., & Liu, C. (2014). Development and in vivo evaluation of small-diameter vascular grafts engineered by outgrowth endothelial cells and electrospun chitosan/poly(ϵ - caprolactone) Nanofibrous Scaffolds. *Tissue Engineering - Part A*, 20(1-2), 79-91.
- Zhu, M., Wang, Z., Zhang, J., Wang, L., Yang, X., Chen, J., . . . Wang, L. (2015). Circumferentially aligned fibers guided functional neoartery regeneration in vivo. *Biomaterials*, 61, 85-94. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.05.024.
- Zhu, Y., Gao, C., He, T., & Shen, J. (2004). Endothelium regeneration on luminal surface of polyurethane vascular scaffold modified with diamine and covalently grafted with gelatin. *Biomaterials*, 25(3), 423-430. doi: 10.1016/S0142-9612(03)00549-0.
- Zhu, Y., Gao, C., Liu, X., & Shen, J. (2002). Surface Modification of Polycaprolactone Membrane via Aminolysis and Biomacromolecule Immobilization for Promoting Cytocompatibility of Human Endothelial Cells. *Biomacromolecules*, 3(6), 1312-1319. doi: 10.1021/bm020074y.
- Zilla, P., Bezuidenhout, D., & Human, P. (2007). Prosthetic vascular grafts: Wrong models, wrong questions and no healing. *Biomaterials*, 28, 5009-5027. doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.07.017.
- Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B. S., & Chu, B. (2002). Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. *Polymer*, 43(16), 4403-4412. doi: 10.1016/S0032-3861(02)00275-6.

