

# TROMBOGENNOŚĆ WARSTW $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ WYTWORZONYCH W OBSZARZE PLAZMY NA STOPIE TYTANU $Ti6Al4V$

M.GONSIOR<sup>1\*</sup>, R.KUSTOSZ<sup>1</sup>, M.SANAK<sup>2</sup>, B.JAKIEŁŁA<sup>2</sup>,  
T.BOROWSKI<sup>3</sup>, M.OSSOWSKI<sup>3</sup>, T.WIERZCHOŃ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>FUNDACJA ROZWOJU KARDIOCHIRURGII, ZABRZE

<sup>2</sup>II KATEDRA CHOROÓB WEWNĘTRZNYCH COLLEGIUM MEDICUM, KRAKÓW

<sup>3</sup>POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WARSZAWA

\*MAILTO: GOSIAG@FRK.PL

[Inżynieria Biomateriałów, 89-91, (2009), 143-145]

## Wstęp

Tytan i jego stopy wykazują wiele korzystnych własności w zastosowaniach medycznych. W stosunkowo małym stopniu ulegają metalozie, wykazują dobrą biotolerancję w środowisku tkanek, wysoką odporność na korozję i stabilność termodynamiczną w warunkach fizjologicznych. Jednym z problemów w zastosowaniach tytanu i jego stopów, jako biomateriałów jest ich trombogenność. Z tego względu szuka się odpowiedniej warstwy modyfikującej powierzchnię tytanu w celu polepszenia jego własności w kontakcie z krwią. Techniki inżynierii powierzchni są dziś punktem wyjścia dla prawidłowego doboru składu chemicznego, struktury i fizykochemicznego stanu powierzchni biomateriałów w celu zapewnienia im pożądaných właściwości i funkcji biologicznych. Obróbki powierzchniowe tytanu i jego stopów wpływają na strukturę i morfologię warstwy powierzchniowej, przyczepność oraz stan naprężeń własnych w warstwach, co ma wpływ na stabilność całego implantu w środowisku żywego organizmu oraz na polepszenie biokompatybilności.

W pracy określono mikrostrukturę, chropowatość oraz trombogenność dyfuzyjnych warstw azotku tytanu wytworzonych na stopie tytanu  $Ti6Al4V$  w celu weryfikacji ich biokompatybilności z krwią.

## Materiał i metody

Warstwy azotku tytanu zostały wytworzone w Zakładzie Inżynierii Powierzchni Politechniki Warszawskiej. Dyfuzyjne warstwy typu  $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$  wytworzono w obszarze plazmy w warunkach wyładowania jarzeniowego. Temperatura procesu wynosiła 700°C, czas obróbki 4 godz. Przed procesem azotowania próbki zostały wypolerowane przy pomocy zawiesiny koloidalnej tlenku krzemu. Wykonano badania:

1. Mikrostruktury i topografii powierzchni warstwy. Mikrostrukturę na przekroju poprzecznym warstw przeanalizowano przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego HITACHI S-3500N. Wartości stereometryczne uzyskano przy pomocy skanującego profilometru optycznego Wyko NT9300.

2. Badania trombogenności powierzchni, w warunkach oddziaływania sił ścinających w krwi pełnej, przeprowadzono na urządzeniu Impact-R (DiaMed, Szwajcaria), w Zakładzie Biologii Molekularnej i Genetyki Klinicznej II Katedry Chorób Wewnętrznych Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego. Badania przeprowadzono metodą Impact-R, która ocenia aktywację płytek krwi w warunkach zbliżonych do fizjologicznych, w pełnej krwi cytrynianowej, przepływającej nad powierzchnią próbki badanego biomateriału, z

# THROMBOGENICITY OF $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$ LAYER PRODUCED IN PLASMA SPACE ON $Ti6Al4V$ ALLOY

M.GONSIOR<sup>1\*</sup>, R.KUSTOSZ<sup>1</sup>, M.SANAK<sup>2</sup>, B.JAKIEŁŁA<sup>2</sup>,  
T.BOROWSKI<sup>3</sup>, M.OSSOWSKI<sup>3</sup>, T.WIERZCHOŃ<sup>3</sup>

<sup>1</sup>FUNDATION FOR CARDIAC SURGERY DEVELOPMENT, ZABRZE

<sup>2</sup>II DEPARTMENT OF INTERNAL DISEASES, COLLEGIUM MEDICUM, CRACOW

<sup>3</sup>TECHNICAL UNIVERSITY, WARSAW

\*MAILTO: GOSIAG@FRK.PL

[Engineering of Biomaterials, 89-91, (2009), 143-145]

## Introduction

Titanium and its' alloys demonstrate numbers of beneficial properties in medical applications. It are subject to metallosis in low range, demonstrate very good biotolerance to tissue habitat, high resistance to corrosion, and thermodynamical stability in physiological conditions.

The thrombogenicity is one among of problems, regarding titanium and its' alloys applications as the biomaterials. For that reasons appropriate surface modifying layer of titanium is developed - to improve material properties for blood contact. Nowadays, surface engineering techniques are used as base point for creation a proper chemical composition, structure and physicochemical status of biomaterials surfaces - to obtain its required biological properties and functions. The surface modifications of titanium and its' alloys influence surface layer structure and morphology, adhesion and inside layer residual stress. That influence total implant stability in live organism habitat as well as improve biocompatibility. The microstructure, roughness and thrombogenicity of diffusive titanium nitride layers on titanium  $Ti6Al4V$  alloy are examined in the work - to verify blood biocompatibility.

## Material and methods

The titanium nitride layers were formed in Surface Engineering Department of Technical University Warsaw. The  $TiN+Ti_2N+\alpha Ti(N)$  diffusive layers were formed in plasma space within glow discharge. The process temperature amounts 700°C, the treating time - 4 hours. The samples were polished before nitriding process, utilizing colloid silicon oxide suspension. The following examinations were performed:

1. Surface topography and microstructure. The cross-section layers microstructure was analyzed utilizing electron scanning microscope HITACHI S-3500N. Stereometric values were obtained using optical scanning profilometer Wyko NT9300

2. Surface thrombogenicity investigations, utilizing model of shear stress induced for whole blood by the biomaterial surface, were performed utilizing Impact-R device (DiaMed, Swiss). Examinations were completed by team of Molecular Biology and Clinical Genetic Lab of II Department for Internal Medicine in Collegium Medicum Jagiellonia University, Cracow. The Impact-R method determines platelets activation during experiment with simulation of citrated whole blood flowing above the biomaterial surface in physiological-like conditions. The 14,5mm discs of  $Ti6Al4V$  alloy with diffusive  $TiN+Ti_2N+\alpha TiN$  (titanium nitride) layer formed on

określoną szybkością i w określonym czasie. Do badań przygotowano krążki o średnicy 14,5mm ze stopu tytanu Ti6Al4V z wytworzoną warstwą dyfuzyjną TiN+Ti<sub>2</sub>N+ αTiN (azotek tytanu). Metoda sterylizacji jest ważnym czynnikiem wpływającym na własności powierzchni biomateriału. W celu porównania wpływu metod sterylizacji, testowano każdorazowo próbki sterylizowane dwoma metodami: sterylizacją gazową tlenkiem etylenu oraz sterylizacją plazmową. Celem badań było porównanie stopnia aktywacji, agregacji i adhezji płytek krwi na różnych powierzchniach biomateriału.

## Wyniki i wnioski

### Badania struktury warstwy

Warstwy wytworzone w procesie azotowania charakteryzowały się jednorodną strukturą na całej powierzchni próbek. Proces prowadzony w obszarze plazmy umożliwił eliminację efektu krawędziowego, dzięki czemu warstwy w środku i na krawędzi próbek posiadały jednakową grubość, twardość oraz skład fazowy i chemiczny.

Strefa azotków tytanu typu TiN+Ti<sub>2</sub>N wytworzona w procesie azotowania jarzeniowego posiadała grubość ok.

1,5μm, a ze strefą dyfuzyjną αTi(N) grubość warstwy wynosiła ok. 8μm. Twardość warstwy mierzona od powierzchni wynosiła 1180 HV<sub>0,05</sub> (stopu Ti6Al4V - 415HV<sub>0,05</sub>), z czego wynika, że wytworzenie warstw azotowanych pozwoliło zwiększyć twardość materiału prawie trzykrotnie. Warstwy azotowane w obszarze plazmy posiadały chropowatość rzędu Ra na poziomie 0,138μm, a Rq około 0,180μm.

### Badania trombogenności warstwy

Analizowane parametry wskazujące na poziom aktywacji trombocytów: odsetek agregatów monocytowo-płytkowych i granulocytowo-płytkowych, liczba płytek krwi, agregaty płytkowe, duże i małe agregaty płytkowe, stopień aktywacji płytek mierzony zmianą konformacji receptora integrynowego IIb/IIIa, stopień aktywacji płytek mierzony ekspresją P-selektyny.

## Wnioski

Analiza wyników badań trombogenności wykazuje, że warstwa TiN wytworzona dyfuzyjnie na stopie tytanu Ti6Al4V w mniejszym stopniu aktywuje płytki krwi niż powierzchnia czystego stopu tytanu. Otrzymane wyniki rokowują dobre własności nowych warstw w zastosowaniach biomateriałów mających kontakt z krwią.

the blood contact surface were prepared for examinations. The sterilization method is important factor, influencing the material surface properties. The samples sterilized with two methods: Ethylene Oxide and Plasma were tested simultaneously - to compare the sterilization influence. The aim of the study was to compare of platelets activation, aggregation and adhesion to the different biomaterials surfaces.

## Results and conclusions

### Layer structure examination

The layers formed with nitriding process were demonstrated homogenous structure on the whole surface of each sample. The glow discharge process performed in plasma space allows to eliminate shoulder effect – resulting with homogenous layer thickness, hardness, chemical and phase composition in the middle and edge of the sample.

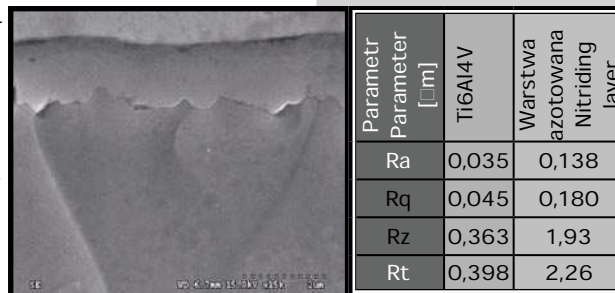
The area of titanium TiN+Ti<sub>2</sub>N like, formed due glow discharge nitriding process demonstrated thickness about 1,5μm, while including the αTi(N) diffusive zone thickness achieved about 8μm. The layer hardness measuring from the top of the sample obtained 1180 HV<sub>0,05</sub> (alloy of Ti6Al4V - 415HV<sub>0,05</sub>). This demonstrated that forming nitriding layer increased the surface hardness three times. The surfaces nitriding in plasma area achieved roughness Ra on the level of 0,138μm, and Rq about 0,180μm.

### Layer thrombogenicity examinations

The following aspects of platelet activation were examined: percentage of platelets-monocytes and platelets-granulocytes aggregates, number of platelets, number of platelets aggregates, including small and big aggregates, platelet activation ratio determining with change of IIb/IIIa integrine receptor conformation, platelet activation ratio determining with P-selectine expression.

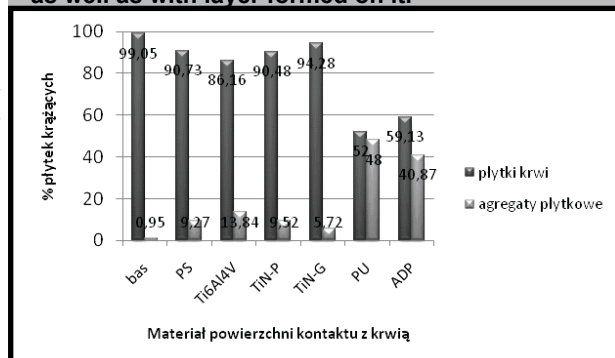
## Conclusions

The thrombogenicity examinations results analysis demonstrated that diffusive TiN layer produced on titanium Ti6Al4V alloy surface activates platelets less than pure titanium alloy. Results obtained in reported research promise good properties of new developed layers for application in blood contacting biomaterials.



**RYS.1. Struktura warstwy azotowanej typu TiN+Ti<sub>2</sub>N+αTi(N) na stopie tytanu Ti6Al4V oraz parametry stereometryczne powierzchni stopu tytanu bez i z wytworzoną warstwą.**

**FIG.1. The structure of nitriding layer like TiN+Ti<sub>2</sub>N+αTi(N) on the Ti6Al4V alloy and stereometric parameters of titanium alloy surface without as well as with layer formed on it.**



**RYS.2. Ilość obiektów krążących we krwi zidentyfikowanych jako obiekty aktywowane markerem CD61.**

**bas**–krew nieaktywowana; **PS**–polistyren; **Ti6Al4V**–stop tytanu; **TiN-P**– stop tytanu z wytworzoną warstwą dyfuzyjną TiN sterylizowany metodą plazmową, **TiN-G**–stop tytanu z wytworzoną warstwą dyfuzyjną TiN sterylizowany metodą gazową, **PU**– poliuretan; **ADP**– adenzynodwufosforan.

**FIG.2. Number of circulating elements identifying as CD61 marked.**

**bas**–non-activated blood; **PS**–polistyren; **Ti6Al4V** - titanium alloy; **TiN-P**–titanium alloy with TiN diffusive layer, plasma sterilized; **TiN-G**–titanium alloy with TiN diffusive layer, ETO sterilized; **PU**–polyurethane; **ADP**–adenosine diphosphate.

## Piśmiennictwo

- [1] Titanium in Cardiac and Cardiovascular Applications – Christian Olin – Titanium in Medicine – D.M.Brunette, P.Tengvall, M.Textor, P.Thomsen, Heidelberg, 2001
- [2] Inżynieria powierzchni w wytwarzaniu biomateriałów tytanowych T.Wierzchoń, E.Czarnowska, D.Krupa, Oficyna Wydawnicza Politechniki Warszawskiej, 2004, Warszawa

## References

- [3] Titanium in Medicine D.M.Brunette, P.Tengvall, M.Textor, P.Thomsen, Springer, 2001 Metallurgy and technological properties of Titanium and Titanium Alloys H.Freese, M.Volas, J.Wood, USA
- [4] Biomedical Applications of Titanium and its Alloys C.Elias, J.Lima, R.Valiev, M.Meyers Biological Materials Science, 2008

## OPRACOWANIE TECHNOLOGII WYTWARZANIA MODYFIKOWANYCH HYDROKSYAPATYTEM WŁÓKNIN WĘGLOWYCH PRZEZNACZONYCH NA PODŁOŻA DLA INŻYNIERII TKANKOWEJ

IZABELLA RAJZER\*, JOANNA GRZYBOWSKA-PIETRAS,  
SYLWIA MORCINEK, JAROSŁAW JANICKI

ATH AKADEMIA TECHNICZNO-HUMANISTYCZNA,  
WYDZIAŁ NAUK O MATERIAŁACH I ŚRODOWISKU, INSTYTUT INŻYNIERII  
TEKSTYLÓW I MATERIAŁÓW POLIMEROWYCH.  
UL. WILLOWA 2, 43-309 BIELSKO-BIAŁA, POLSKA  
\*MAILTO: IRAJZER@ATH.BIELSKO.PL

[*Inżynieria Biomateriałów, 89-91, (2009), 143-145*]

### Wstęp

Włókna węglowe są obiecującym materiałem, do regeneracji ubytków tkanki kostnej. Niestety pomimo wysokiej biogodności nie posiadają one aktywności biologicznej prowadzącej do stymulującego działania na komórki kostne. Z wcześniejszych badań przeprowadzonych nad modyfikacją włókien węglowych hydroksyapatytem wynika, że wprowadzenie hydroksyapatytu do włókien (zarówno w dyspersji nano- jak i mikrometrycznej) pozwoliło na nadanie im cech bioaktywnych [1]. Inkubacja włókien w sztucznym osoczu wykazała, że na powierzchni włókien węglowych modyfikowanych hydroksyapatytem tworzą się cząstki fosforanu wapnia [2]. Materiały, które w warunkach in vitro pokrywają się warstwą apatyty są dobrymi kandydatami do wytworzenia implantów, które po wprowadzeniu do żywego organizmu utworzą bezpośrednie wiązanie chemiczne z tkanką kostną. Również wyniki przeprowadzonych badań komórkowych świadczą o tym, że modyfikacja włókien fosforanem wapnia sprzyja proliferacji komórek kostnych, a przeprowadzone badania in vivo potwierdziły ich biogodność z tkankami [3-4].

Kontynuacją wcześniej przeprowadzonych badań są prace związane z zastosowaniem włókien modyfikowanych hydroksyapatytem do wytworzenia porowatych włóknistych podłoży dla potrzeb leczenia ubytków tkanek. Włókna węglowe modyfikowane hydroksyapatytem w formie trójwymiarowych układów stanowiąc mogą perspektywiczny materiał do wytwarzania biomimetycznych implantów przeznaczonych do regeneracji tkanki kostnej.

## DEVELOPMENT OF FABRICATION TECHNOLOGY OF CARBON NONWOVEN FABRICS MODIFIED WITH HYDROXYAPATITE, AS SCAFFOLD FOR TISSUE ENGINEERING

IZABELLA RAJZER\*, JOANNA GRZYBOWSKA-PIETRAS,  
SYLWIA MORCINEK, JAROSŁAW JANICKI

ATH UNIVERSITY OF BIELSKO-BIALA, FACULTY OF MATERIALS AND  
ENVIRONMENTAL SCIENCES, INSTITUTE OF TEXTILE ENGINEERING  
AND POLYMER SCIENCE. DEPARTMENT OF POLYMER MATERIALS.  
2 WILLOWA STREET, 43-309 BIELSKO-BIALA, POLAND,  
\*MAILTO: IRAJZER@ATH.BIELSKO.PL

[*Engineering of Biomaterials, 89-91, (2009), 143-145*]

### Introduction

Carbon fibers are promising material for regeneration of bone tissue defects. However even though they are biocompatible, they do not have the sufficient biological activity enabling the stimulation of bone tissue cells. Earlier research regarding modification of carbon fibers with hydroxyapatite indicated that addition of hydroxyapatite (both nano- and microsize) to precursor fibres can enhance their bioactivity [1]. Incubation of fibers in artificial plasma, produced apatite secretions on surface of modified carbon fibers [2]. Materials which in the in vitro conditions covers with an apatite layer are good candidates to produce implants and when implanted into living body leads to the formation of chemical bonds with bone tissue. The results of the cellular study confirmed that the modification of fibers with calcium phosphate enhanced proliferation of bone tissue cells and also results of in vivo study claimed their biocompatibility [3-4]. Continuation of earlier research is focused on application of carbon fibers (which were modified with hydroxyapatite) to produce three dimensional, porous scaffold for tissue defects treatment. Carbon fibers in the form of three dimensional fabrics may be perspective material for production of biomimetic implants for bone tissue regeneration.

### Materials and methods

Polyacrylonitrile fibers (PAN) modified with hydroxyapatite were prepared at the Technical University of Lodz (Poland) using PAN-terpolymer from Zoltek of the following composi-