

ubytku chrzęstnego biomateriałem oraz powstanie rychłozrostu. Tkanki otaczające implantowane polimery charakteryzowały się typowymi sekwencjami bliznowacenia, włącznie z odczynem zapalnym, natomiast PLG-Hyal wyraźnie przyspieszał proces resorpcji i powstawanie blizny (zwłaszcza w 26 tygodniu obserwacji). Badania własne wskazywały jednak na długotrwały proces resorpcyjny z udziałem licznych komórek wielojądrowych, w których powstawaniu brały udział komórki żerne oraz makrofagi.

Podsumowując, ocena własna obydwu materiałów polimerowych wykazała, iż w jednakowym stopniu pozwalają one na odtworzenie chrząstki. Zarówno PLG jak i PLG-Hyal stanowią dobry materiał implantacyjny w rekonstrukcji ubytków tkanki chrzęstnej w obrębie twarzoczaszki.



**RYS.2. Obraz histologiczny PLG (a, b) i PLG-Hyal (c) oraz tkanek otaczających w 52 tygodniu po implantacji. Barwienie H&E, powiększenie 100x (a), 200x (b,c).**

**FIG.2. PLG (a, b), PLG-Hyal (c) and surrounding tissues histological samples in 52th week after implantation. H&E staining. Magnification 100x (a), 200x (b, c).**

In conclusion, the histological and macroanalysis examinations indicated that both biomaterials developed in this study have properties similar to cartilaginous tissue and seem to be good for her restoration. Although the quickest tissue regeneration was found after implantation of PLG-Hyal.

## Piśmiennictwo

- [1]. Haisch A, Klaring S, Groger A, Gebert Ch, Sittinger M. A tissue-engineering model for the manufacture of auricular-shaped cartilage implants. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 2002; 259: 316-321.
- [2]. Leiggener ChS, Curtis R, Muller AA, Pfluger D, Gogolewski S, Rahn BA. Influence of copolymer composition of polyactide implants on cranial bone regeneration. *Biomaterials* 2006; 27: 202-207.
- [3]. Ma Z, Gao Ch, Gong Y, Shen J. Chondrocyte behaviors on poly-L-lactic acid (PLLA) membranes containing hydroxyl, amide or carboxyl groups. *Biomaterials* 2003;24: 3725-3730.

## References

- [4]. Puelacher WC, Mooney D, Langer R, Upton J, Vacanti JP, Vacanti CA. Design of nasoseptal cartilage replacements synthesized from biodegradable polymers and chondrocytes. *Biomaterials* 1994; 15(10): 774-778.
- [5]. Gugala Z, Gogolewski S. Differentiation, growth and activity of rat bone marrow stromal cells on resorbable poly (L/DL-lactide) membranes. *Biomaterials* 2004; 25: 2299-2307.

## WARSTWY AZOTOWANE JARZENIOWO NA STOPIE TYTANU Ti6Al4V DLA ZASTOSOWAŃ W KARDIOLOGII

T.BOROWSKI<sup>1\*</sup>, A.SOWIŃSKI<sup>1,2</sup>, M.OSSOWSKI<sup>1</sup>, E.CZARNOWSKA<sup>2</sup>, T.WIERZCHOŃ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>POLITECHNIKA WARSZAWSKA, WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, UL. WOŁOSKA 141, 02-507 WARSZAWA

<sup>2</sup>INSTYTUT „POMNIK – CENTRUM ZDROWIA DZIECKA”, ZAKŁAD PATOLOGII, AL. DZIECI POLSKICH 20, 04-730 WARSZAWA

\*MAILTO: TBOROWSK@INMAT.PW.EDU.PL

[*Inżynieria Biomateriałów, 89-91, (2009), 49-51*]

### Wprowadzenie

Stopy tytanu są szeroko stosowane w przemyśle medycznym głównie na narzędzia chirurgiczne oraz na implanty, płytki i śruby do mocowania kości oraz endoprotezy stawu biodrowego lub kolanowego [1,2]. Ich zastosowanie jest często ograniczone niewystarczającą twardością i odpornością na zużycie przez tarcie [3]. Perspektywnym rozwiązaniem wydaje się być zastosowanie azotowania jarzeniowego w obszarze plazmy. Proces ten umożliwia wytworzenie warstw o jednorodnej mikrostrukturze na całej

## GLOW DISCHARGE NITRIDED LAYERS ON Ti6Al4V ALLOY INTENDED FOR CARDIOVASCULAR APPLICATIONS

T.BOROWSKI<sup>1\*</sup>, A.SOWIŃSKI<sup>1,2</sup>, M.OSSOWSKI<sup>1</sup>, E.CZARNOWSKA<sup>2</sup>, T.WIERZCHOŃ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, FACULTY OF MATERIALS SCIENCE AND ENGINEERING, 141 WOŁOSKA STR., 02-507 WARSAW, POLAND

<sup>2</sup>CHILDREN'S MEMORIAL HEALTH INSTITUTE, DEPARTMENT OF PATHOLOGY, 20 DZIECI POLSKICH AV, 04-730 WARSAW, POLAND

\*MAILTO: TBOROWSK@INMAT.PW.EDU.PL

[*Engineering of Biomaterials, 89-91, (2009), 49-51*]

### Introduction

Titanium alloys are widely used in medical industry chiefly for the manufacture of implants, plates, bone-fastening screws, and prostheses of the hip and knee joints and also medical instruments [1,2]. However, the insufficient hardness and poor frictional wear resistance of these alloys often restricts their application range [3]. A remedy for this drawback seems

powierzchni elementów z eliminacją efektu krawędziowego. Warstwy tego typu posiadają tę samą grubość, twardość, chropowatość oraz skład chemiczny na środku i na krawędzi próbki [4]. Dobre właściwości mechaniczne oraz biologiczne warstw typu  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  na stopie Ti6Al4V sprawiają, że mogą być materiałem z powodzeniem stosowanym na elementy sztucznego serca. W danych literaturowych [5,6] wykazano biogodność warstwy azotku tytanu (TiN) w kontakcie z krwią oraz zwiększoną trwałość zastawek serca wykonanych z tych materiałów. Aktualnie warstwa azotku tytanu (TiN) jest rozpatrywana pod względem zastosowania na materiał pracujący w kontakcie z krwią wykazujący dobre właściwości mechaniczne.

## Metodyka badań

Warstwy typu  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  zostały wytworzone w procesie azotowania jarzeniowego w obszarze plazmy stopu tytanu Ti6Al4V. Warstwy były azotowane w temperaturze  $800^\circ\text{C}$  przez 4 godziny w atmosferze czystego azotu. Badany stop tytanu posiadał następujący skład chemiczny w %wag.: C<0,08%, Fe<0,25%,  $\text{N}_2$ <0,05%,  $\text{O}_2$ <0,2%, Al: 5,5–6,76%, V: 3,5–4,5%, Ti–reszta. Przed procesem azotowania jarzeniowego próbki poddano polerowaniu mechanicznemu z zastosowaniem zawiesiny diamentowej i koloidalnej tlenku krzemu.

Mikrostruktura warstw w przekroju poprzecznym i od powierzchni, a także ilość, morfologia oraz akumulacja płytek zaadherowanych na powierzchni badanych materiałów były analizowane przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego Hitachi S-3500N. Chropowatość powierzchni preparatów mierzono przy pomocy optycznego profilometru Wyko NT9300. Badania in vitro wykrzepiania krwi na warstwach typu  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  były przeprowadzone w warunkach statycznych. W tym celu przygotowano bogatopłytkowe osocze (PRP – platelets-rich plasma). Próbkę ze stopu tytanu Ti6Al4V w stanie wyjściowym i z warstwą TiN z nałożonym PRP (50 $\mu\text{l}$ ) poddano inkubacji w temperaturze  $37^\circ\text{C}$  przez 20min i 2godz. Następnie niezaadherowane płytki usuwano przez przepłukiwanie. Zaadherowane na powierzchni badanych materiałów płytki utrwalano metodą rutynową do badań mikroskopowo-elektronowych. Próbkę napylone powłoką złota o grubości ok. 10nm oglądano i fotografowano przy pomocy skaningowego mikroskopu elektronowego. Do analiz adhezji płytek zebrano po 15 obrazów z różnych miejsc z każdej próbki, a do zliczania ilości płytek wykorzystano morfometryczny program CellP firmy Olympus.

## Wyniki badań

Warstwy typu  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  wytworzone w procesie azotowania jarzeniowego w obszarze plazmy posiadały grubość ok. 8 $\mu\text{m}$ . Strefa związków  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}$  posiadała grubość nieprzekraczającą 2 $\mu\text{m}$  (RYS.1A). Twardość tych warstw wahała się w granicach 1200HV0,05 i była ona o około 3 razy większa od stanu wyjściowego (415HV0,05).

Parametry sterometryczne warstw TiN wynosiły:  $R_a=138\text{nm}$ ,  $R_q=180\text{nm}$  (RYS.1B), a w przypadku wypolerowanych próbek w stanie wyjściowym odpowiednio 35nm i 45nm.

Wyniki badań biologicznych wykazały mniejszą adhezję płytek krwi na warstwie TiN po 20min. inkubacji, a także po 2 godz. (RYS.2A) oraz mniejszą ilość skrzepów niż na referencyjnym stopie tytanu (RYS.2B). Płytki na powierzchni warstwy TiN były mniej rozplaszczane (RYS.3A) niż w przypadku płytek na materiale wyjściowym (RYS.3B) i charakteryzowała je obecność cienkich pojedynczych wypustek.

to be glow discharge assisted nitriding of their surface in the plasma region. This process enables producing layers with a homogeneous microstructure on the entire surface without the edge effect. The layers have the same thickness, hardness, roughness and chemical composition equally at the centre and at the edge of the samples [4]. Thanks to the good mechanical and biological properties of the  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  layers formed on the Ti6Al4V alloy, the thus treated alloy can be used successfully for the manufacture of the components of artificial hearts. The literature reports [5,6] show that the titanium nitride (TiN) layers are biocompatible with human blood and prolong the service life of the heart valves made of the titanium alloy.

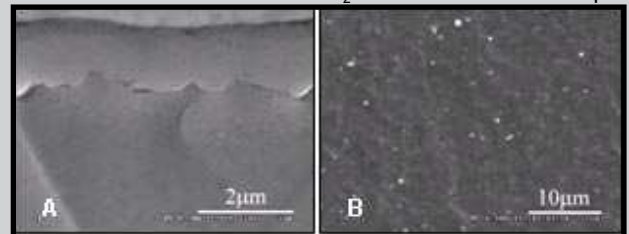
## Examination methods

The  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$ -type layers were produced on the Ti6Al4V titanium alloy by glow discharge assisted nitriding in the plasma region. The nitriding process was conducted at a temperature of  $800^\circ\text{C}$  in an atmosphere of pure nitrogen for 4 hours. The chemical composition of the titanium alloy was (in wt%): C<0.08%, Fe<0.25%,  $\text{N}_2$ <0.05%,  $\text{O}_2$ <0.2%, Al: 5.5 to 6.76%, V: 3.5 to 4.5%, Ti-balance. Prior to the glow discharge nitriding, the samples were polished mechanically using a diamond suspension and a colloidal silicon oxide suspension.

The microstructure of the nitrided layers, on both their cross-sections and surfaces, as well as the number, morphology, and accumulation of blood platelets adhered to their surface were analyzed in a Hitachi S-3500N scanning electron microscope. The roughness of the sample surface was examined with a Wyko NT9300 optical profilometer. The blood coagulation on the  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  layers was examined in vitro under static conditions using a specially prepared platelet-rich plasma (PRP). The Ti6Al4V samples in the starting state and those with the TiN layer were covered with the PRP (50 $\mu\text{l}$ ) and then incubated at a temperature of  $37^\circ\text{C}$  for 20 min and 2 hours. Then the platelets not adhered to the surface were removed by rinsing. The adhered platelets were fixed by the routine method. Then the specimens were evaporated with a gold coating about 10nm thick and observed in a scanning electron microscope. The adhesion of the platelets was examined by analyzing fifteen SEM photographs taken from various places, whereas their number was calculated using the Olympus Cellp morphometric computer program.

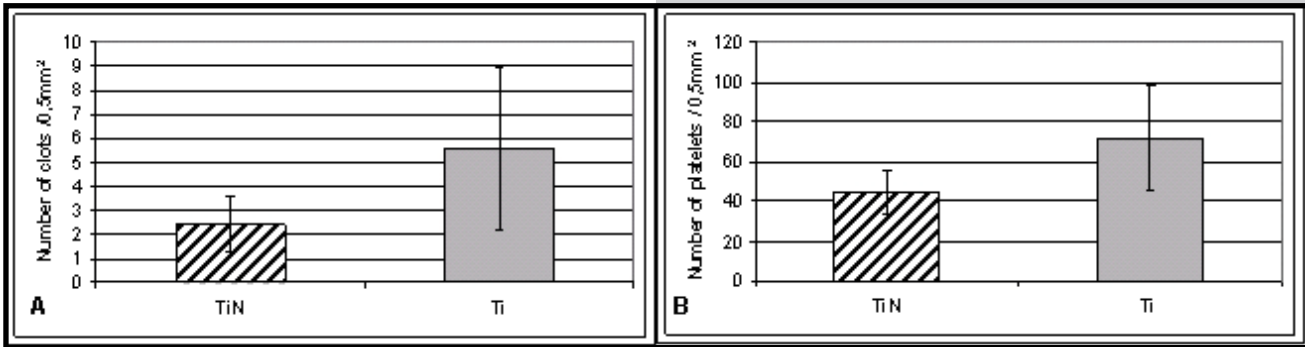
## Results

The layers of the  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  type produced by glow discharge assisted nitriding in the plasma region were about 8 $\mu\text{m}$  thick. The thickness of the  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}$  zone did not exceed 2 $\mu\text{m}$



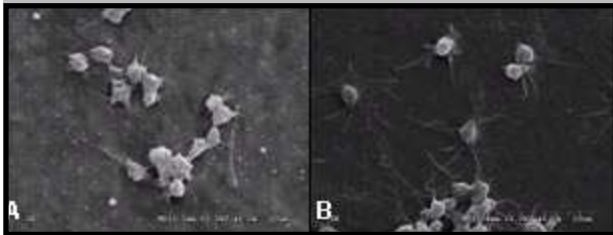
**RYS.1. Struktura i morfologia warstwy  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  na stopie tytanu Ti6Al4V na przekroju poprzecznym (A) i na powierzchni (B) warstwy.**

**FIG.1. Structure and morphology of a  $\text{TiN}+\text{Ti}_2\text{N}+\alpha\text{Ti(N)}$  layer produced on the Ti6Al4V titanium alloy as observed on a cross-section (A) and surface (B) of the layer.**



**RYS.2.** Ilość płytek (A) i skrzepów (B) na powierzchni warstwy TiN i stopu tytanu Ti6Al4V po 20min inkubacji w PRP.

**FIG.2.** Number of the platelets (A) and blood clots (B) present on the TiN layer surface and the Ti6Al4V titanium alloy surface after 20min of incubation in PRP.



**RYS.3.** Morfologia płytek i skrzepów na warstwie TiN (A) oraz na stopie Ti6Al4V (B) po dwóch godzinach inkubacji w PRP.

**FIG.3.** Morphology of the blood platelets and clots observed on the TiN layer (A) and the Ti6Al4V alloy (B) after 2h of incubation in PRP.

## Podsumowanie

Warstwy typu TiN+Ti<sub>2</sub>N+αTi(N) wytworzone w procesie azotowania jarzeniowego w obszarze plazmy charakteryzują się jednorodną strukturą na całej powierzchni elementów. Morfologia, struktura oraz chropowatość warstwy TiN mają szczególne znaczenie w aspekcie eliminacji wykrzepiania krwi. Bazując na wstępnych badaniach *in vitro* warstw TiN można stwierdzić, że materiał ten wykazuje dobrą hemozgodność. Przeciwdziałanie wykrzepianiu krwi powierzchni warstwy TiN pozwala zakwalifikować ten materiał jako perspektywiczny w aspekcie zastosowań biomedycznych. Jednakże zagadnienie to wymaga dalszych szczegółowych badań.

## Podziękowanie

Badania zrealizowane w ramach projektu MNiSzW nr 01/WR/PO1/001/SPB-PSS/2008.

## Piśmiennictwo

- [1] Mohammadi S., Esposito M., Wictorin, L., et al.: Bone response to machined cast titanium implants. *Journal of Materials Science* 36 (2001) 1987–1993.
- [2] Wang K.: The use of titanium for medical applications in the USA. *Materials Science and Engineering A213* (1996) 134–137.
- [3] Feng C., Khan, T. I.: The effect of quenching medium on the wear behaviour of a Ti6Al4V alloy. *Journal of Materials Science* 43 (2008) 788–792.

(FIG.1A). The hardness of the layers ranged from 1200HV0.05 which was about three times as high as that of the titanium alloy in the starting state (415HV0.05).

Stereometric parameters of the TiN layers were: Ra=138nm, Rq=180nm (FIG.1B), whereas in the polished samples these parameters were 35nm and 45nm, respectively.

The biological examinations have shown that, irrespective of whether the incubation lasted for 20 min or 2h, the numbers of the blood platelets (FIG.2A) adhered to the TiN layer and of the blood clots (FIG.2B) were smaller than those observed on the surface of the reference Ti6Al4V alloy. The platelets adhered to the surface of the TiN layer were less flattened (FIG.3A) than those adhered to the starting material (FIG.3B) and were characterized by the presence of not numerous thin pseudopodium.

## Conclusions

The TiN+Ti<sub>2</sub>N+αTi(N) type layers produced on the Ti6Al4V titanium alloy by glow discharge assisted nitriding in the plasma region have a homogeneous structure on the entire surface of the alloy sample. The morphology, structure and roughness of the TiN layers are of particular significance when the blood platelets adherence is considered. Based on the preliminary *in vitro* examinations we can state that the TiN layers show good haemocompatibility. They also reveal antithrombogenic properties which permits us to qualify these layers as a prospective material for biomedical applications. They however require further studies.

## Acknowledgement

The research work was supported by Ministry of Science and Higher Education No. 01/WR/PO1/001/SPB-PSS/2008.

## References

- [4] Ossowski M., Borowski T., Wierchoń T.: Analiza struktury warstw azotowanych wytworzonych na stopie tytanu w różnych obszarach wyładowania jarzeniowego. *Inżynieria Materiałowa* 2009 – w druku
- [5] Dion I., Roques X., More N et al.: Ex vivo leukocyte adhesion and protein adsorption on TiN. *Biomaterials* 14 (1993) 712–719.
- [6] Dion I., Rouais F., Trut L et al.: TiN coating: surface characterization and haemocompatibility. *Biomaterials* 14 (1993) 169–176.