UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉTUDE DES EFFETS DE TRAITEMENTS DE SURFACE SUR LA RÉSISTANCE À LA CORROSION ET LA BIOCOMPATIBILITÉ DE STENTS EN NITI

CHRISTINE TRÉPANIER
INSTITUT DE GÉNIE BIOMÉDICAL
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES (M.SC.A.)
(GÉNIE BIOMÉDICAL)
JUILLET 1997

©Christine Trépanier, 1997

National Library of Canada
Bibliothèque nationale du Canada

Acquisitions and Bibliographic Services
Acquisitions et services bibliographiques

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-33189-X

Canada

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé

ÉTUDE DES EFFETS DE TRAITEMENTS DE SURFACE SUR LA RÉSISTANCE À LA CORROSION ET LA BIOCOMPATIBILITÉ DE STENTS EN NITI

présenté par: TRÉPANIER Christine

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

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

M. SAVARD Pierre, Ph.D., président

M. YAHIA L'Hocine, Ph.D., membre et directeur de recherche

M. BILODEAU Luc, M.D., membre et codirecteur de recherche

M. PIRON L. Dominique, Ph.D., membre et codirecteur de recherche

M. MARCHAND Richard, M.D., membre

À ma famille.

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier sincèrement mon directeur de recherche, Dr Yahia, pour m'avoir permis d'effectuer ma maîtrise au sein du Groupe de Recherche en Biomécanique et Biomatériaux (GRBB). Son encadrement et ses encouragements ont été très appréciés tout au long de ces 2 années.

De même, j'adresse mes remerciements à mes codirecteurs Dr Bilodeau et Dr Piron qui m'ont accueillie au sein de leurs laboratoires, ont supervisé avec attention mon travail et m'ont constamment encouragée lors du déroulement de ma maîtrise.

Également, je voudrais remercier très chaleureusement Dr Tabrizian qui s'est impliquée à tous les niveaux de mon projet; pour sa disponibilité, sa patience et ses judicieux conseils qui m'ont beaucoup aidée.

Je tiens à remercier Dr Savard et Dr Marchand qui ont gracieusement accepté de faire partie de mon jury.

Je tiens, par ailleurs, à remercier toutes les personnes qui m'ont apporté une aide scientifique ou technique lors de ce travail, notamment:

Dr Tanguay et Dr Bienvenu pour avoir rendu possible mon étude d'implantation *in vivo*;

Dr Leung, et son équipe, pour m'avoir initié à l'histopathologie et m'avoir guidée dans mon analyse des résultats de l'étude *in vivo*;

Dr Thorin pour avoir supervisé mon travail de culture cellulaire;

Mme Poulin, du laboratoire ESCALAB, et M. Martel, du centre CM^2, pour leurs expertises au niveau des techniques d'analyse de surface.

Je remercie, par ailleurs, Nitinol Devices & Components (Californie, É.-U.), et tout particulièrement Dr Duerig et Dr Pelton, qui ont rendu possible ce projet de maîtrise par un soutien matériel et financier.

Je remercierai aussi le Conseil de Recherche en Sciences Naturelles et en Génie (CRSNG) pour son support financier.

Un grand merci aussi à :

Franceline Villermaux, pour nos fructueuses et interminables discussions, ses encouragements, ses conseils et son amitié.

Tous les employés et étudiants du GRBB pour leur présence et leur soutien tout au long de ces deux années de maîtrise.

Résumé

Les propriétés de mémoire de forme, de superélasticité et de radiopacité confèrent à l'alliage NiTi un statut très intéressant pour la fabrication d'endoprothèses coronaires (stents). Ces propriétés permettent, en effet, de guider plus facilement et de déployer avec plus de précision la prothèse au site de blocage dans les artères.

Bien que les études précliniques et cliniques aient donné de bons résultats, la biocompatibilité du NiTi est encore sujet à controverses. En effet, des résultats contradictoires au niveau de la biocompatibilité tissulaire de ce matériau ont été obtenus par différents chercheurs. Il semblerait que cet aspect soit relié en particulier au relargage d'ions Ni à caractère toxique, allergène et cancérigène, en milieu physiologique durant le processus de corrosion du matériau. L'amélioration de la résistance à la corrosion par différents traitements de surface peut permettre de limiter cette dissolution sélective de Ni et augmente ainsi la biocompatibilité de l'alliage. Parmi les traitements possibles pour modifier la surface, le renforcement de la couche passive est prometteur car en plus de protéger le NiTi de la corrosion, la couche d'oxyde mince est en mesure de supporter les grandes déformations imposées par la mémoire de forme.

L'objectif de ce projet est d'évaluer le comportement en corrosion et la biocompatibilité de quatre traitements de surface visant à modifier la couche d'oxyde soit l'électropolissage (EP) suivi de traitements thermiques dans un four (AA), dans un bain de sel (HT) ou de la passivation chimique dans l'acide nitrique (PA) afin de développer des stents en NiTi performants.

Dans un premier temps, nous avons étudié le comportement en corrosion des stents par des essais de polarisation potentiodynamiques anodiques. Ensuite, nous avons caractérisé la surface des dispositifs par des techniques d'analyse telles la microscopie

électronique à balayage (MEB), la spectroscopie Auger (AES) et la spectroscopie photoélectronique à rayons-X (XPS) afin d'étudier les effets des différents traitements et de la corrosion sur la topographie, la nature chimique et l'épaisseur de la couche d'oxyde.

Dans un deuxième temps, la biocompatibilité des traitements de surface a été évaluée *in vitro* par une étude de cytocompatibilité et *in vivo* par une implantation intramusculaire des dispositifs chez des lapins.

Il ressort des essais de corrosion que tous nos traitements (EP, AA, HT, PA) améliorent, à différents degrés, la résistance à la corrosion en comparaison avec du NiTi non-traité (NT). L'amélioration la plus marquée, en ce qui concerne la tension de piqûration, a été observée pour les stents PA et EP.

L'analyse physico-chimique indique que les stents PA et EP présentent la couche d'oxyde la plus uniforme et régulière sur toutes les faces du dispositif ainsi que l'épaisseur de la couche d'oxyde la plus mince (3 nm comparativement à 60 nm pour AA, 90 nm pour HT et 1000 nm pour NT). Par ailleurs, tous les traitements ont favorisé la croissance d'un oxyde similaire principalement composé de TiO_2.

Suite à ces résultats, nous avons pu démontrer que l'uniformité de la couche passive est le paramètre déterminant pour la résistance à la corrosion de stents en NiTi. L'épaisseur variable et la nature chimique similaire de la couche d'oxyde générée par les traitements ne suggère aucune relation directe de ces paramètres avec la résistance à la corrosion de nos dispositifs.

En ce qui a trait aux résultats de l'étude de biocompatibilité *in vitro*, tous nos traitements excepté EP, ont permis une croissance similaire de fibroblastes comparativement au

groupe contrôle (CON). Les échantillons EP, quant à eux, ont légèrement inhibé le taux de prolifération et ralenti le dédoublement cellulaire. Cependant, en comparant nos résultats à ceux de d'autres études, il apparaît que tous nos traitements de surface ont amélioré la cytocompatibilité du NiTi non-traité.

Les essais de biocompatibilité *in vivo* ont montré qu'après 12 semaines d'implantation, les implants engendraient une réponse inflammatoire similaire. Cette réponse, caractérisée par l'épaisseur de la couche fibro-cellulaire péri-implant, est en général décroissante entre 2 et 12 semaines et se stabilise autour de 0,07 mm après 12 semaines. Ceci suggère une bonne acceptation de nos dispositifs traités par l'environnement biologique. De plus, au vu des études effectuées par d'autres chercheurs, une diminution de l'épaisseur de la capsule fibreuse suite à nos traitements, par rapport aux implants non-traités a été observée.

En conclusion, en se basant sur les résultats de notre étude, il apparaît que l'électropolissage seul de la surface de stents en NiTi soit suffisant pour améliorer leur comportement en corrosion et leur biocompatibilité. Les traitements thermiques et la passivation chimique subséquents ont peu d'effets ou un effet dommageable sur l'amélioration de ces 2 paramètres par rapport au traitement d'électropolissage. Ainsi, afin de mettre au point des stents en NiTi performants et de minimiser les coûts de production il est recommandé d'électropolir les dispositifs avant de les utiliser.

Abstract

Because of its radiopacity, superelasticity and shape memory properties, nickel-titanium alloy (NiTi) is a potential material for the fabrication of stents, since these properties can facilitate their implantation and precise positioning. Furthermore, temporary implantation of these devices offers the possibility to minimize long-term restenosis related to these implants.

Even though preclinical and clinical studies have demonstrated promising results, biocompatibility of NiTi still remains controversial. Conflicting results on tissue compatibility of this material were obtained by different authors. It seems that this aspect may be related essentially to dissolution of Ni ions, that have been proven to generate toxic, allergenic and cancerogenic reactions, in the physiological environment during the corrosion process of the alloy. Improvement of corrosion resistance by different surface modifications may limit this selective dissolution and increase biocompatibility of NiTi. Among possible surface treatments, reinforcement of its passive layer seems to be very promising since it has been shown not only to improve its corrosion resistance but also to be able to sustain large deformations induced by the shape memory effect.

The objective of this project is to evaluate corrosion behavior and biocompatibility of four different surface treatments performed on NiTi stents. The studied treatments are electropolishing (EP) followed by heat treatments in air (AA), in a salt bath (HT) or by chemical passivation in nitric acid solution (PA).

During the first part of this project, we have studied the corrosion behavior of stents by potentiodynamic anodic polarization tests. Then, we have characterized the surface of our prostheses by scanning electron microscopy (SEM), Auger electron spectroscopy

(AES) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) in order to determine the effect of surface treatments and corrosion process on topography and chemical nature and thickness of the oxide layer.

During the second part, surface treatments bicompatibility has been evaluated by *in vitro* cytotoxicity tests and by *in vivo* paramuscular implantation of devices in rabbits.

Corrosion tests have shown that all our surface treatments (EP, AA, HT, PA) improved to different extents corrosion resistance of non-treated NiTi stents. The improvement of the pitting potential was more pronounced for EP and PA samples.

Our physicochemical analyses have indicated that EP and PA surface treated present the more uniform and regular oxide topography on all faces of devices and they are characterized by the thinnest oxide layer (3 nm compared to 60 nm for AA, 90 nm for HT and 1000 nm for NT samples). By XPS analyses we have found that all surface treatments promoted the growth of an oxide layer primarily composed of TiO_2.

Our results indicate that uniformity of the passive oxide layer is the predominant factor related to the corrosion resistance of NiTi stents. However, no direct relations between oxide thickness, chemical composition and corrosion behavior were established.

Regarding our *in vitro* biocompatibility tests, our results demonstrated a good cytocompatibility of PA, AA and HT samples. Fibroblast human cells in contact with those samples exhibited similar growth curves as the control group (CON). EP samples have, however, lightly inhibited the proliferation and doubling time of these cells. Still, when our results are compared to other published studies, we can deduce that all our surface treatments have improved cytocompatibility in comparison with non-treated NiTi.

In vivo biocompatibility tests have shown that, after 12 weeks, all surface treated implants generated a similar inflammatory response. The fibrocellular capsule thickness, in general decreased over the total implantation period and stabilize itself around 0,07 mm after 12 weeks. This result suggests a good acceptation of our surface treated NiTi material by the physiological environment. Furthermore, when we compare our results to other studies, our surface treatments seem to have decreased the inflammatory response of non-treated NiTi.

In conclusion, on the basis of our results, electropolishing of NiTi stents significantly increases the corrosion resistance and the biocompatibility of the alloy. Subsequent treatments such as air aging, heat treatment and nitric acid passivation seem to have a detrimental or slightly beneficial effect when compared to electropolishing. Moreover, these additional steps may increase the cost of production of these devices.

Table des matières

Dédicace iv
Remerciements v
Résumé vii
Abstract x
Table des matières xiii
Liste des tableaux xvi
Liste des figures xvii
Liste des sigles et abréviations xix

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1. ÉTAT DES CONNAISSANCES 3

1.1 Athérosclérose: pathologie menant à l'utilisation de stents 3

1.2 Critères de design et choix de matériaux pour la fabrication d'un stent 7

1.3 Stents commerciaux 9

1.3.1 Wallstent 10
1.3.2 Gianturco-Roubin 13
1.3.3 Palmaz-Schatz 14
1.3.4 Wiktor 16

1.4 Avantages du NiTi pour la fabrication de stents 17

1.4.1 Description des propriétés de mémoire de forme et de superélasticité du NiTi.. 17
1.4.2 Développement de stents en NiTi 19

1.5 Limitations du NiTi pour la fabrication de stents 23

1.5.1 Biocompatibilité du NiTi 24
1.5.2 Résistance à la corrosion du NiTi 29

1.6 Choix des traitements de la surface 36

CHAPITRE 2. OBJECTIF 41

CHAPITRE 3. PROCÉDURES EXPÉRIMENTALES 43

3.1 Matériel 43
3.1.1 Échantillons 43
3.1.2 Traitements de surface 44

3.2 Méthodes d'analyse 45
3.2.1 Essais de voltampérométrie potentiodynamiques 45
3.2.2 Caractérisation physico-chimique de la surface 46
3.2.3 Étude du taux de prolifération cellulaire 48
3.2.4 Étude de la réaction tissulaire in vivo 49

CHAPITRE 4. RÉSULTATS DES ÉTUDES DE CORROSION ET DE CARACTÉRISATION PHYSICO-CHIMIQUE 50

4.1 Abstract 53

4.2 Introduction 53

4.3 Materials and methods 55

4.4 Results 58

4.5 Discussion 66

4.6 Conclusion 70

4.7 References 71

CHAPITRE 5. RÉSULTATS DES ÉTUDES DE BIOCOMPATIBILITÉ *IN VITRO* ET *IN VIVO* 75

5.1 Abtract 78

5.2 Introduction 78

5.3 Materials and methods 81

5.4 Results 84

5.5 Discussion 90

5.6 Conclusion 93

5.7 References 94

CHAPITRE 6. DISCUSSION GÉNÉRALE 100

6.1 Étude de la résistance à la corrosion 102

6.2 Étude de la biocompatibilité 106

CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS 110

RÉFÉRENCES 113

ANNEXE A. DONNÉES NON PUBLIÉES 126

Liste des tableaux

Tableau 1.1 Stents commerciaux 10

Table 4.1 Description of elements distribution and oxide layer thickness..... 64

Table 5.1 Doubling time of cells as a function of surface treatments..... 85

Table 5.2 Fibro-cellular capsule thickness as a function of implantation time and surface treatment..... 92

Liste des figures

Figure 1.1 Morphologie d'une artère normale versus une artère athérosclérotique 4
Figure 1.2 Mécanisme d'action de l'angioplastie 5
Figure 1.3 Mécanisme d'action d'un stent 7
Figure 1.4 Stent Wallstent 11
Figure 1.5 Stent Gianturco-Roubin 13
Figure 1.6 Stent Palmaz-Schatz 15
Figure 1.7 Stent Wiktor 17
Figure 1.8 Effet mémoire de forme 18
Figure 1.9 Oxydation du NiTi sous différentes conditions de pression et de concentration d'oxygène. 38
Figure 3.1 Stent en expansion 44
Figure 3.2 Schématisation d'une courbe de polarisation anodique 46
Figure 4.1 Typical potentiodynamic scanning curves 58
Figure 4.2 Variation of pitting potential as a function of surface treatment 59
Figure 4.3 Porous and irregular surface of non-treated stent 59
Figure 4.4 Typical smooth and uniform topography of treated stent (EP) 60
Figure 4.5 Presence of cracks on lateral face of devices at end point of 2 NiTi stent strut 60
Figure 4.6 External faces of stent 61
Figure 4.7 Lateral face of stent 61
Figure 4.8 Typical AES depht profiles of surface treated NiTi stents for the distribution of oxygen (O), titanium (Ti) and nickel (Ni) 63
Figure 4.9 Ni/Ti ratio as a function of surface treatment before and after corrosion experiment 65

Figure 5.1 Growth curves of fibroblast cells 85
Figure 5.2 Average cell proliferation on surface treated NiTi plates 86
Figure 5.3 Histological section after 2 weeks of implantation 87
Figure 5.4 Macrophages, fibroblasts and fibrous tissue near implant sites 87
Figure 5.5 Typical histological section 6 and 12 weeks after implantation 88
Figure 5.6 Typical fibrous tissue surrounding NiTi stent strut after 6 or 12 weeks of implantation 88
Figure 5.7 Fibrocellular capsule thickness as a function of surface treatment and implantation period 89
Figure A.1 Variation de la densité du courant de passivation en fonction du traitement de surface 126

Liste des sigles et abréviations

% at.	pourcentage atomique
A	adventicia
AA	traitement thermique dans un four (air aging)
AES	Auger electron spectroscopy
A_f	température de fin de transformation de l'austénite
AMF	alliage à mémoire de forme
ANOVA	analysis of variance
A_s	température de début de transformation de l'austénite
ASTM	American Standards for Testing and Materials
at %	atomic percent
CON	contrôle
CSE	calomel saturated electrode
DMEM	Dubbelco's Modified Eagles Medium
E	tension
ECS	électrode au calomel saturée
EP	électropolissage (electropolishing)
E_{pit}	tension de piqûration
FDA	Food and Drug Administration
FVS	fetal veal serum
HPB	Health Protection Branch
HT	traitement thermique dans un bain de sel (heat treatment)
i	densité de courant
I	intima
i_{pas}	densité de courant de passivation
ISO	International Standard Organization

L	lumière d'un vaisseau sanguin
m	métal
M	media
MEB	microscopie électronique à balayage
MEE	membrane élastique externe
MEI	membrane élastique interne
M_f	température de fin de transformation de la martensite
M_s	température de début de transformation de la martensite
OCP	open circuit potential
PA	passivation dans l'acide nitrique (passivation)
PTFE	polytétrafluoroéthylène
SEI	second electron imaging
SEM	scanning electron microscopy
SMA	shape memory alloy
T	température
XPS	x-ray photoelectron spectroscopy

Introduction

Les maladies cardiovasculaires sont l'une des causes les plus importantes de mortalité dans notre société. Cette situation est due à la formation de plaque athérosclérotique et de dépôts lipidiques dans les parois des artères coronaires qui cause une diminution importante du diamètre de ces vaisseaux. Cette réduction de la lumière des artères entrave le débit sanguin et favorise la formation de caillots ce qui augmente les risques d'infarctus du myocarde.

Depuis 1977, des interventions percutanées semi-invasives, nommées angioplasties, sont effectuées afin de comprimer les dépôts lipidiques et de briser la plaque. Ces interventions consistent à gonfler un cathéter-ballon au site de blocage. Malgré un taux élevé de succès immédiat, cette intervention est limitée par un taux de thrombose variant de 5 à 7% (Cowley et al., 1984) et un taux de resténose variant entre 30 et 40% dans les 6 mois suivants la procédure (Hirshfeld et al. 1991). Afin d'améliorer les résultats de cette intervention, depuis 1986, l'implantation d'endoprothèses coronaires (stents ou tuteurs) est effectuée. Les stents sont des prothèses tubulaires métalliques qui permettent d'obtenir une plus grande ouverture des vaisseaux sanguins et un soutien mécanique de la partie dilatée. Malgré leur taux d'efficacité élevé, les stents implantés actuellement, à base de tantale ou d'acier inoxydable, présentent des limitations dues à leur radiopacité limitée, leur rigidité et à leurs propriétés à induire une prolifération fibrointimale dans les parois des vaisseaux sanguins.

L'utilisation de l'alliage nickel-titane (NiTi) pour la fabrication d'une telle prothèse introduit une nouvelle technique pour implanter ces prothèses grâce à ses propriétés de mémoire de forme. De plus, l'alliage étant superélastique, (déformation réversible de l'ordre de 8%), son passage dans les vaisseaux tortueux est facilité et rend son déploiement plus précis. Finalement, la nature du matériau offre une radiopacité améliorée qui rehausse la visibilité du stent sur les angiographies et donc, en facilite le

positionnement au site de blocage. Cependant, la teneur élevée en nickel de l'alliage (50 % at.) et la possibilité de libération des ions Ni potentiellement toxiques, allergènes et cancérigènes dans le corps humain durant la corrosion doit être empêchée. Plusieurs études ont montré que la formation d'un film d'oxyde sur le NiTi, par des traitements de surface, est très efficace et fiable pour l'amélioration de la résistance à la corrosion.

Ainsi, au cours de ce projet, nous avons étudié l'effet de 4 techniques de renforcement de la couche d'oxyde à la surface du NiTi (électropolissage, traitements thermiques dans un four et dans un bain de sel et passivation dans une solution d'acide nitrique) sur la résistance à la corrosion par des essais de polarisation anodique. Afin d'expliquer le comportement en corrosion des différents stents et l'effet des traitements de surface, la caractérisation physico-chimique de la surface est effectuée. Dans une deuxième étape, la biocompatibilité des surfaces traitées est évaluée par des tests *in vitro* et *in vivo*. Des essais de culture cellulaire montrent l'effet des différents traitements de surface sur des fibroblastes humains. Finalement, l'implantation paramusculaire des stents chez des lapins est effectuée afin de déterminer la réponse des tissus vivants en contact avec les différents stents pour différentes périodes de temps.

Le premier chapitre de ce mémoire met à jour l'état des connaissances de l'utilisation des stents dans les artères coronaires et expose les avantages et les limitations de l'utilisation du NiTi. Au chapitre 2, les principaux objectifs de ce projet sont présentés. Le chapitre 3 décrit le matériel et les méthodes utilisées pour étudier les stents. La résultats obtenus sont présentés au chapitre 4 et 5 sous forme d'articles. La discussion de ces résultats est rapportée au chapitre 6. Finalement, ce mémoire se termine par la conclusion de ces travaux et des recommandations pour des projets futurs.

Chapitre 1. État des connaissances

1.1 Athérosclérose: pathologie menant à l'utilisation de stents

Les maladies du système vasculaire sont tenues responsable de plus de 45% des décès de la population Nord-Américaine (Fung et al., 1993). Celles-ci sont principalement dues au rétrécissement ou à l'obstruction des artères coronaires. Cette condition des vaisseaux sanguins réduit l'approvisionnement en oxygène du myocarde, ce qui peut entraîner la mort de certaines zones du muscle cardiaque. Cet état, communément appelé infarctus du myocarde, peut réduire la capacité du muscle cardiaque à faire circuler le sang dans tout l'organisme et même, s'avérer fatal.

La cause la plus fréquente de la diminution du calibre des artères est l'athérosclérose. Cette pathologie se définit comme une accumulation locale de lipides et de calcium dans la paroi intimale des artères de gros et de moyen calibre. Il se produit une déposition de ces matières sous la couche de cellules endothéliales dans le tissu conjonctif qui induit des changements chimiques et morphologiques des parois vasculaires (Weinbaum et al., 1993). Suite à cette déposition, il y a formation de plaque athérosclérotique sur la surface interne des artères. Les artères présentent alors une lumière diminuée à cause de la plaque athérosclérotique qui s'y est formée, ce qui empêche l'écoulement normal du sang. Les facteurs de risques associés au développement de cette pathologie sont: la prédisposition génétique à l'athérosclérose, l'hypercholestérolémie, le diabète, l'hypertension artérielle, le tabagisme et à un degré moindre, la sédentarité et le stress. La Figure 1.1 illustre schématiquement l'aspect morphologique d'une section d'une artère normale et d'une artère athérosclérotique.

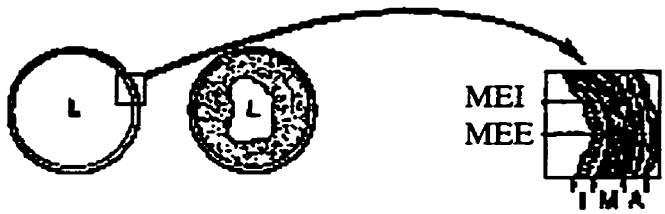


Figure 1.1 Morphologie d'une artère normale versus une artère athérosclérotique L: lumière, MEI: membrane élastique interne, MEE: membrane élastique externe, I: intima, M: media, A: adventitia (Source: Waller et al., 1992)

Lorsqu'une obstruction des artères coronaires se produit à cause de la formation de lésions athérosclérotiques, plusieurs traitements peuvent être envisagés pour rétablir le flot sanguin. Le premier traitement consiste en la prescription de médicaments tels l'aspirine qui vont permettre de diminuer le taux de lipides, d'éviter la formation de caillots sanguins et diminuer la viscosité du sang facilitant ainsi son écoulement. D'autre part, on peut avoir recours à une recanalisation mécanique des artères obstruées à l'aide d'une intervention semi-invasive: l'angioplastie transluminale par ballonnet (PTCA: Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty) associée ou non à l'implantation d'une endoprothèse coronaire (stent). Finalement, dans certaines situations, on peut avoir recours à une intervention chirurgicale de pontage des artères coronaires. Au cours de ce travail, nous nous intéresserons au mode de recanalisation mécanique semi-invasive et plus particulièrement à l'implantation de stents.

L'angioplastie, pour le traitement des lésions artérielles, a vu le jour en 1977 (Gruentzig et al., 1979). Cette méthode entraîne l'écrasement, la rupture et la dissection de la plaque sur les parois des artères et la dilatation de la paroi saine (plaque excentrique). Ceci permet d'obtenir une ouverture plus grande des artères, ce qui rend possible un écoulement normal du sang.

Cette intervention est exécutée sous anesthésie locale en introduisant par voie percutanée un cathéter porteur via l'artère fémorale, brachiale ou radiale. À l'aide d'un liquide de contraste (radiopaque) injecté dans un des ostiums coronariens via le cathéter porteur, il est possible de visualiser et de guider un fil-guide et un cathéter-ballon sous contrôle radiologique jusqu'au site de blocage. Le ballon est ensuite positionné grâce à des marqueurs radiopaques et gonflé à un diamètre prédéterminé à des pressions de 5 à 12 atmosphères à plusieurs reprises si nécessaire (Vacheron, 1995). Ce gonflement provoque ainsi la rupture, la fissuration et l'écrasement de la plaque athérosclérotique ainsi qu'une dilatation de la paroi saine (Figure 1.2).

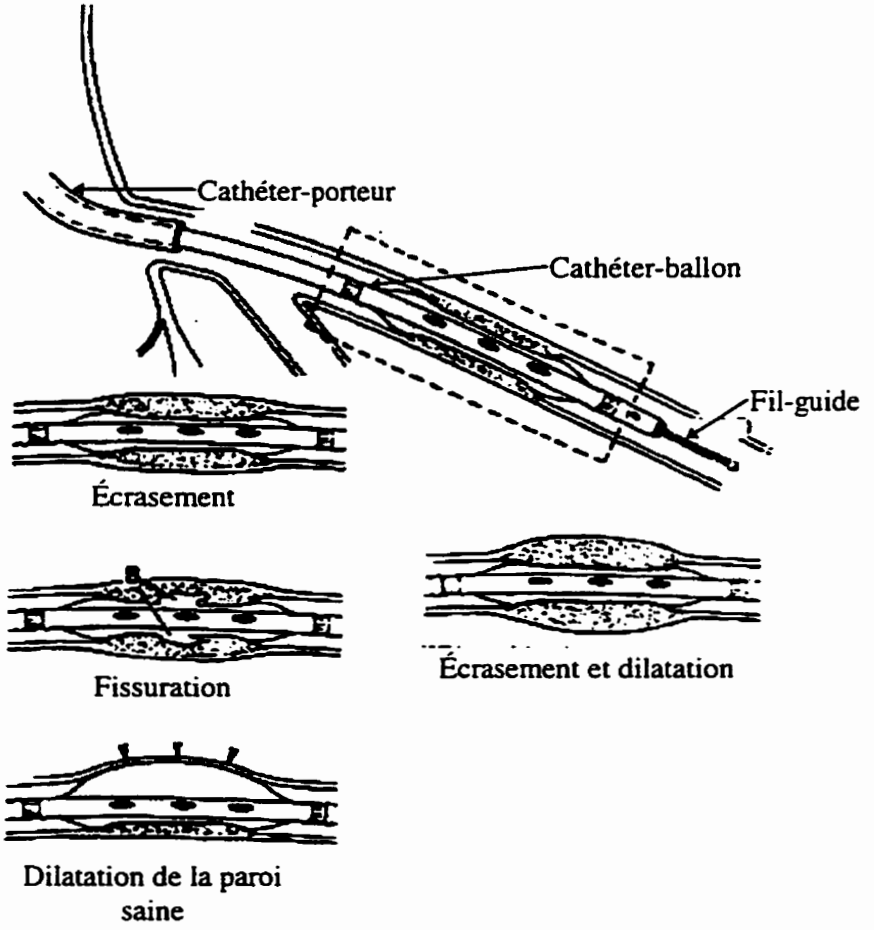


Figure 1.2 Mécanisme d'action de l'angioplastie (Source: Waller et al., 1994)

Malgré son taux élevé de succès immédiat (85% à 90%) (Detre et al., 1988), cette méthode est limitée par deux problèmes: l'obstruction aiguë de l'artère dilatée et la resténose. L'obstruction aiguë survient dans 5 à 7% des cas (Cowley et al., 1984) et se produit dans les 24 heures suivant l'intervention. Elle consiste généralement en un retour élastique de la paroi saine de l'artère, la formation *in situ* de caillots et la présence de dissections associée ou non à un vasospasme. La resténose se produit dans 30 à 40% des cas (Hirshfeld et al., 1991) au cours des 6 mois suivants la procédure. Elle est due à un retour élastique des parois, une prolifération fibrointimale et/ou au remodelage vasculaire.

Afin de palier à ces problèmes, plusieurs méthodes ont vu le jour et ont permis de compléter cette intervention: athérectomie directionnelle ou rotative qui permet l'excision ou le forage de la plaque et l'angioplastie laser qui élimine la plaque pour n'en nommer que quelques unes. Cependant, ces techniques sont également affectées par un taux de resténose élevé (Wong et al., 1993).

Parallèlement à l'utilisation de ces nouvelles méthodes, un autre moyen de traiter l'obstruction aiguë et la resténose est maintenant utilisé: l'implantation d'une endoprothèse coronaire (stent). Cette prothèse a été implantée pour la première fois chez l'humain en 1986 par Sigwart et al. (1987).

Elle consiste en l'insertion à l'endroit dilaté d'une prothèse qui permet le support mécanique des parois de l'artère empêchant ainsi un retour élastique et en comprimant les dissections sur les parois afin de maintenir une ouverture maximale. Le mécanisme d'action d'une endoprothèse est présenté à la Figure 1.3. Les stents réduisent d'au moins 30% le taux de resténose après angioplastie (Fishman et al., 1994; Serruys et al., 1994).

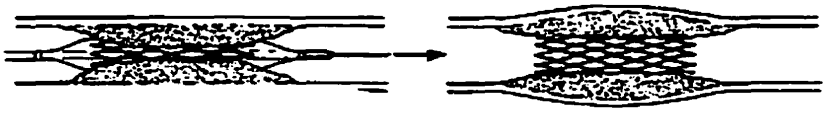


Figure 1.3 Mécanisme d'action d'un stent (Source: Waller et al., 1994)

À la section 1.2, la description des caractéristiques optimales pour une endoprothèse sera présentée. Ensuite, une revue critique des différents stents existants ainsi que les problèmes qui leur sont associés seront décrits. Enfin, les avantages d'un stent en alliage à mémoire de forme seront présentés.

1.2 Critères de design et choix de matériaux pour la fabrication d'un stent

Une prothèse coronaire doit satisfaire certains critères afin de remplir son rôle adéquatement. La suite de cette section décrit les paramètres à optimiser lors du développement d'un stent.

Tout d'abord, le matériau utilisé pour la fabrication du stent doit être **biocompatible** et plus spécifiquement **hémocompatible**. Il ne doit pas provoquer d'interactions néfastes avec les tissus (inflammation chronique, nécrose des tissus, etc.) et doit posséder une bonne résistance à la corrosion afin de minimiser la dissolution d'ions dans le corps humain. Également, le matériau ne doit pas favoriser la formation de caillots sanguins (thrombose). À ce niveau, les matériaux électropositifs favorisent la thrombose car ils attirent les constituants du sang chargés négativement. Cependant, en général, les métaux électronégatifs ne possèdent pas une bonne résistance à la corrosion car leur tension de piqûration est souvent assez faible à moins qu'ils ne soient caractérisés par un domaine passif très étendu. La modification de la surface du matériau pour le rendre thromborésistant (surface hydrophile, revêtement à l'héparine, fini de surface lisse, etc.)

et faciliter sa réendothélialisation (recouvrement de cellules endothéliales, de protéines, etc.) vont maximiser son hémocompatibilité.

De plus, la prothèse doit respecter l'**hémodynamique** laminaire de l'écoulement sanguin. La création de turbulence dans le flot sanguin favorise la progression de l'athérosclérose, l'agrégation de plaquettes menant à la formation de caillots sanguins, et l'hémolyse des constituants du sang.

Le **rapport métal/surface** du stent après expansion doit être suffisant pour bien soutenir les parois des artères mais pas trop élevé pour favoriser la thrombose. Ce rapport se situe habituellement autour de 15% mais peut aller jusqu'à 36% (stent ACT-One™) dans certains cas.

Ensuite, la prothèse doit générer une **force radiale** suffisante de façon constante sur toute sa longueur afin de maintenir l'ouverture des vaisseaux sanguins et de comprimer les dissections sur les parois sans toutefois entraîner la compression à outrance des tissus. La valeur de la force radiale générée par un stent varie en fonction du diamètre de la prothèse déployée. À titre d'exemple, les forces radiales caractéristiques des stents peuvent varier entre 30 MPa (stent Cardiocoil™, Instent) et 150 MPa (stent Cordis, Cordis).

Le matériau constitutif ou le design du stent doit permettre de minimiser la **taille** de la prothèse au moment de l'insertion afin de faciliter les déplacements dans les veines et les artères de faibles diamètres et également de posséder un **facteur d'expansion** (rapport diamètre du stent en expansion / diamètre du stent comprimé sur le cathéter) élevé afin d'être dilaté jusqu'au diamètre final du canal sans endommager le matériau. La taille des dispositifs actuellement utilisé varie entre 1 mm (stent NIR, Medinol) et 1.65 mm (stent Palmaz-Schatz™, Johnson&Johnson) de diamètre lors de leur insertion.

Par ailleurs, la prothèse doit être suffisamment **flexible** pour permettre son passage dans les vaisseaux tortueux lors de l'implantation.

Afin de facilité le positionnement du stent au site d'obstruction, la prothèse doit posséder une **radiopacité** suffisante pour permettre de visualiser les tissus et le matériau simultanément sur les radiographies.

Le matériau doit avoir une bonne **résistance à la fatigue** puisqu'il va devoir subir plusieurs millions de cycles de battements cardiaques (760 millions de cycles en 20 ans).

Le système doit être **simple** et **rapide** à insérer et à positionner dans les vaisseaux afin de minimiser le temps de l'intervention et l'inconfort du patient. Également, la prothèse doit posséder une **efficacité instantanée** au niveau du support mécanique et de la compression des dissections lors de son déploiement.

Finalement, les **coûts** reliés à l'intervention doivent être minimisés.

1.3 Stents commerciaux

De nos jours, plusieurs modèles d'endoprothèses sont implantées dans les artères coronaires ou sont au stade d'évaluation clinique ou préclinique: Wallstent, Palmaz-Schatz™, Gianturco-Roubin, Wiktor, ACS Multi Link™, ACT-One™, AVE Micro Stent™, Cardiocoil™, Cordis, Freedom, NIR, pour n'en nommer que quelques unes. Le Tableau 1.1 résume les caractéristiques de quelques types de stents implantés de nos jours.

Comme on peut le constater, les matériaux fréquemment utilisés pour la fabrication de stents sont l'acier inoxydable et le tantale.

Suite à ce résumé des différentes prothèses existantes, la présentation plus détaillée de certains stents qui ont été utilisés le plus en clinique (Wallstent, Palmaz-Schatz, Gianturco-Roubin et Wiktor) sera effectuée.

Tableau 1.1 Stents commerciaux

Nom	Fabricant	Coûts ($)	Matériau
Wallstent	Schneider	-	platine Cobalt
Palmaz-Schatz™ *†	Johnson & Johnson	995 - 1295	Acier inox. 316L
Gianturco-Roubin(I)*†	Cook	-	Acier inox. 316L
Wiktor*	Medtronic	-	Tantale
ACS Multi Link™*	Guidant	1000	Acier inox. 316L
ACT-One™	Advanced Coronary Technologies	-	NiTi
AVE Micro Stent™	Applied Vascular Engineering, Inc.	-	Acier inox. 316L
Cardiocoil™	Instent, Inc.	-	NiTi
Cordis Crossflex*	Cordis	1095	Acier inox. 316L
Freedom*	Global Therapeutics, Inc.	-	Acier inox. 316L
NIR*	Medinol	850 - 995	Acier inox. 316L

Le symbole * indique que le stent est approuvé l'organisme Canadien HPB (Health Protection Branch) tandis que † dénote l'approbation de l'organisation Américaine FDA (Food and Drug Administration).

1.3.1 Wallstent

L'endoprothèse Wallstent est fabriquée d'acier inoxydable et est implantée dans les artères par un système d'auto-déploiement. Cette prothèse a été mise au point par

l'Hôpital Universitaire de Lausanne (Suisse) en collaboration avec la compagnie Medinvent (SA). La configuration du stent dilaté à son diamètre maximal est présentée à la Figure 1.4. Cette prothèse a été la première implantée chez l'humain en 1986 (Strauss et al., 1994).

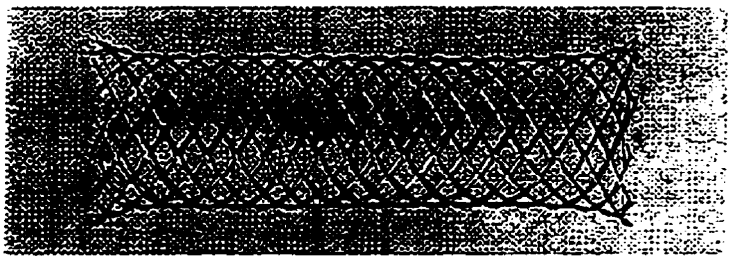


Figure 1.4 Stent Wallstent (Source: Strauss et al., 1994)

Cette prothèse est composée de 16 à 24 fils (0,06 à 0,08 mm de diamètre) d'acier inoxydable entrecroisés. Sa longueur varie entre 15 et 30 mm et son diamètre extérieur maximal, lorsque dilaté complètement, est de 2.5 à 6 mm. La présence de 3 marqueurs radiopaques sur le cathéter à déploiement (positionnés aux extrémités et au milieu) améliore sa visibilité sur les angiographies lors de son positionnement dans l'artère.

Le mécanisme d'auto-déploiement de la prothèse consiste à retirer une gaine sur le stent (qui comprime et étire le stent sur le cathéter pour en faciliter l'insertion). Ce retrait permet au stent de se déployer et de reprendre sa forme initiale en exerçant une pression sur les parois de l'artère. Le diamètre optimal du stent déployé devrait être 0,5 mm supérieur au diamètre de l'artère de référence afin de générer une lumière assez grande pour minimiser l'effet métal et maximiser le diamètre minimal après implantation (gain initial).

Les avantages de cette endoprothèse sont: bonne stabilité géométrique, facteur d'expansion élevé, bonne flexibilité, insertion facile et génération d'une force radiale

uniforme (Lau et al., 1991). Un des points faibles du Wallstent est son raccourcissement significatif et variable lors de son déploiement (environ 25%) et sa faible radiopacité qui compliquent son positionnement au site d'obstruction (Yadav et al., 1994). De plus, étant donné son mode d'expansion (auto-déploiement), le stent continue de dilater le vaisseau au cours des 24 h suivant l'intervention, ce qui peut stimuler le processus de prolifération cellulaire (Beatt et al., 1989).

Le taux de succès lors de l'implantation d'une endoprothèse Wallstent est de 95% (Strauss et al., 1994). Les résultats cliniques obtenus lors de l'implantation de ce stent démontrent un taux de resténose variant entre 17 et 32%. Le taux de thrombose rapporté, très élevé, est de l'ordre de 15%. Cette complication fut alors expliquée par une implantation sous-optimale, une anticoagulation inappropriée des patients et par la géométrie du stent.

En 1989, la géométrie du stent a été modifiée en modifiant l'angulation du "tressage" (130° à 110°) afin de diminuer le taux de thrombose. Les résultats cliniques obtenus, avec le stent modifié, illustrent une baisse du taux de thrombose à 12% (sous coumadin et aspirine)mais une hausse du taux de resténose à 32% (Strauss et al., 1994).

Malgré cette amélioration, l'endoprothèse coronaire Wallstent a été retirée du marché en 1990, peu après avoir été achetée par la compagnie Schneider (Suisse). Le retrait de la prothèse est dû à la difficulté à bien la déployer lors de l'implantation et à son rapport métal/surface totale possiblement trop élevée.

Depuis peu de temps, le Wallstent est utilisé de nouveau mais seulement pour traiter certains cas d'obstruction. La prothèse est maintenant fabriquée à partir de platine recouvert d'un alliage à base de cobalt. La combinaison de ces deux matériaux permet d'améliorer la radiopacité de la prothèse.

1.3.2 Gianturco-Roubin

L'endoprothèse coronaire Gianturco-Roubin est fabriquée par la compagnie Cook (É.-U.) depuis 1985. Elle est constituée d'un fil d'acier inoxydable (0,15 mm de diamètre), de forme sinusoïdale, enroulé pour former un cylindre dont le diamètre varie entre 2,5 et 4 mm et la longueur entre 20 et 40 mm (Cannon et al., 1994). Cette endoprothèse est la première qui a été approuvée par l'organisme FDA en juin 1993 (Food and Drug Administration) (Yadav et al., 1994).

Le système d'expansion consiste à gonfler un cathéter-ballon sur lequel la prothèse est montée, ce qui permet le déploiement du stent au diamètre final voulu. L'endoprothèse sous sa forme comprimée et après expansion est présentée à la Figure 1.5.

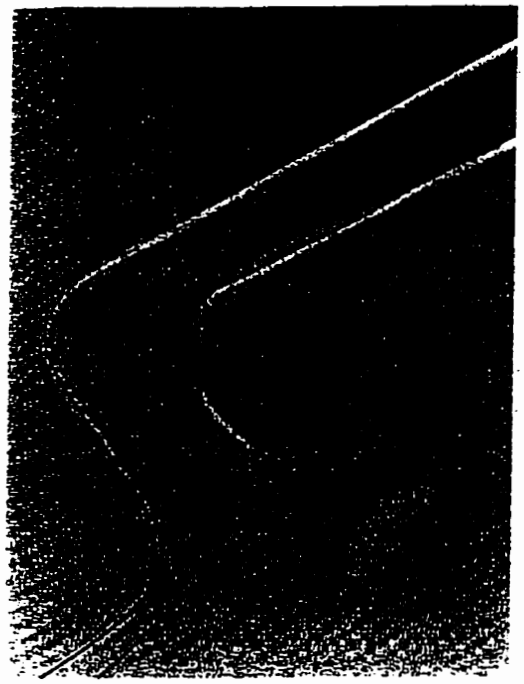


Figure 1.5 Stent Gianturco-Roubin (Source: Cannon et al., 1994)

Le stent Gianturco-Roubin a l'avantage de défavoriser la formation de caillots à cause de sa petite surface métallique (15%). Également, il ne subit pas de raccourcissement lors de son déploiement (Lau et al., 1991). De plus, le stent est très flexible, ce qui permet de faciliter le passage dans les vaisseaux tortueux. Enfin, cette prothèse peut être implantée au niveau d'une bifurcation d'artères car elle entrave très peu l'écoulement sanguin dans l'artère secondaire.

Cependant, le système étant fragile, il faut porter une attention particulière lors de la manipulation. En effet, le stent peut se déloger du ballon sous-jacent avant d'atteindre le site désiré. De plus, puisque le stent est constitué de peu de métal, il est peu visible sur les radiographies et peut donc être plus difficile à positionner. La faible surface métallique (< 12%) n'offre parfois pas suffisamment de support à la paroi artérielle.

Le taux de succès associé à l'implantation d'un stent Gianturco-Roubin est de 97% (Yadav et al., 1994). Lors d'essais cliniques, le taux de resténose voisine les 40 %. Ce taux de resténose très élevé est partiellement dû au retour élastique que subit la prothèse à cause de la faible quantité de métal dont elle est constituée. Le taux de thrombose associé au stent est de 7.6% (sous coumadin-aspirine).

Depuis 1996, la deuxième version soit le Gianturco-Roubin II caractérisé par un fil aplati et 2 marqueurs d'or est disponible. Le rapport métal/surface de ce stent a été augmenté à 15-20% pour améliorer le soutien des parois des vaisseaux.

1.3.3 Palmaz-Schatz

L'endoprothèse Palmaz-Schatz fabriqué par Jonhson & Jonhson Interventional System (É.-U.) consiste en un tube articulé usiné en acier inoxydable (Ellis, 1994). Il est composé de deux segments de 7 mm reliés par un pont de 1 mm (épaisseur des tiges est

de 0,006 mm). Une photographie du stent en présentée à la Figure 1.6. Ce modèle a été mis au point suite aux résultats plus ou moins satisfaisants obtenus avec le stent Palmaz qui était composé d'un seul segment de 15 mm.

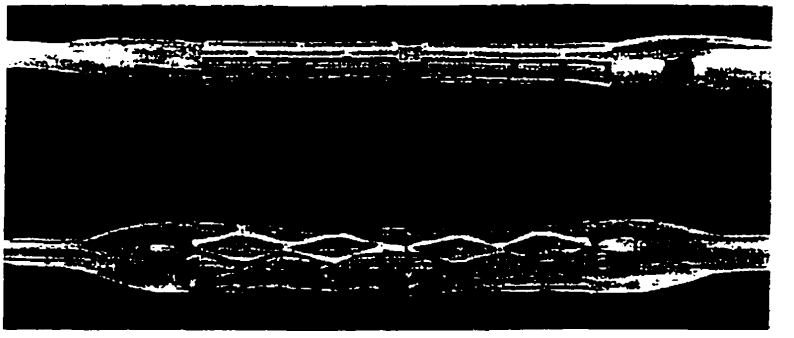


Figure 1.6 Stent Palmaz-Schatz (Source: Ellis, 1994)

Le déploiement du stent dans les artères se fait par cathéter-ballon. Le métal représente environ 10% de la surface totale de l'endoprothèse lorsqu'elle est déployée (Ellis, 1994). Pour des résultats optimaux, il est recommandé de dilater la prothèse afin d'obtenir un rapport stent/artère de 1.1/1.0 (Lau et al., 1991).

Le design articulé de la prothèse permet d'obtenir une bonne flexibilité et ainsi de faciliter le passage du stent dans les vaisseaux tortueux tout en exerçant un bon système de support radial afin de maintenir l'artère ouverte lors du déploiement.

Cependant, la faible quantité de métal le rend radiotransparent et ainsi, il est peu visible lors de son positionnement (Shaknovich et al., 1994). Également, le stent subit un raccourcissement significatif lors de son déploiement (environ 20%) (Lau et al., 1991).

L'utilisation de ce stent articulé a débuté en 1988 (Ellis, 1994). Le taux de succès lors du déploiement et de l'implantation de la prothèse est de 94% (Ellis, 1994). Le taux de

resténose qui lui est associé est 36%. Le taux de thrombose développé lors de l'implantation d'un stent Palmaz-Schatz est de 5% (sous coumadin et aspirine).

1.3.4 Wiktor

Le stent Wiktor est fabriqué par la compagnie Medtronic et consiste en un fil de tantale (0,125 mm de diamètre) préformé de façon sinusoïdale enroulé hélicoïdalement pour former un tube (Whitelow et al., 1994). Ce design spécial permet d'éviter que 2 fils de tantale soient en contact direct et ainsi minimise la quantité de métal en un point. Ce stent est déployé par un mécanisme de dilatation d'un cathéter-ballon. La longueur du stent varie entre 14 et 16 mm et le diamètre entre 3 et 4,5 mm. La surface totale couverte par le métal lorsque le stent est déployé est inférieur à 10%. La Figure 1.7 illustre le stent Wiktor déployé sur le cathéter.

L'avantage primaire de l'utilisation du tantale pour la fabrication de cette prothèse est sa radiopacité élevée qui permet d'en avoir une visibilité excellente sur les radiographies (Lau et al., 1991). Par contre, à cause de cette radiopacité élevée, il est plus difficile d'observer les contours des vaisseaux sanguins et d'évaluer la qualité de la lumière au site d'implantation.

De plus, puisque ce stent est constitué d'un seul filament de tantale, il est très flexible et peut se déplacer facilement dans les vaisseaux tortueux. Également, il apparaît que la couche d'oxyde qui recouvre le tantale (TaO_5) soit très stable et résistant bien à la corrosion ce qui augmente la biocompatibilité du matériau (Whitelow et al., 1994).

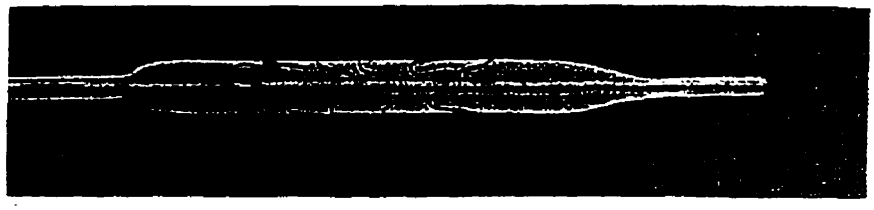


Figure 1.7 Stent Wiktor (Source: Whitelow et al., 1994)

Le taux de succès lors de l'implantation du stent est très bon: 98% (De Jaegere et al., 1992). Cependant, le taux de resténose est de 29%. Le taux de thrombose se situe à 10% (sous coumadin et aspirine).

1.4 Avantages du NiTi pour la fabrication de stents

1.4.1 Description des propriétés de mémoire de forme et de superélasticité du NiTi

Le NiTi est un alliage qui possède une composition atomique d'environ 50% nickel et 50% titane. Il est caractérisé par ses propriétés mécaniques spéciales de **mémoire de forme** et de **superélasticité** qui lui confèrent un statut particulièrement intéressant pour la fabrication de stents.

L'effet mémoire de forme simple sens peut être décrit par rapport aux températures de transition de l'alliage qui peuvent être modifiées par une légère variation du rapport Ni/Ti ou par des traitements thermiques (Figure 1.8) (Melton, 1990; Wayman et al., 1990; Wayman 1993). Lorsque le NiTi est refroidi d'une température supérieure à A_f (fin de transformation austénitique) à une température inférieure à M_f (fin de transformation martensitique), il se produit un changement de phase du matériau sans modification de sa forme géométrique. Le NiTi passe de la structure cubique simple (parent phase) de type CsCl (austénite) à une structure monoclinique (martensite) sous

l'action d'un cisaillement de la matrice (Miyazaki et al., 1989). Lors de l'application d'une contrainte, l'alliage subit et maintient une déformation plastique jusqu'à ce qu'il soit chauffé. L'effet mémoire permet au spécimen de reprendre intégralement sa forme initiale lorsque la température dépasse A_f. Cette propriété unique découle de la nature réversible de la transformation cristallographique martensitique dû au cisaillement homogène de la phase mère.

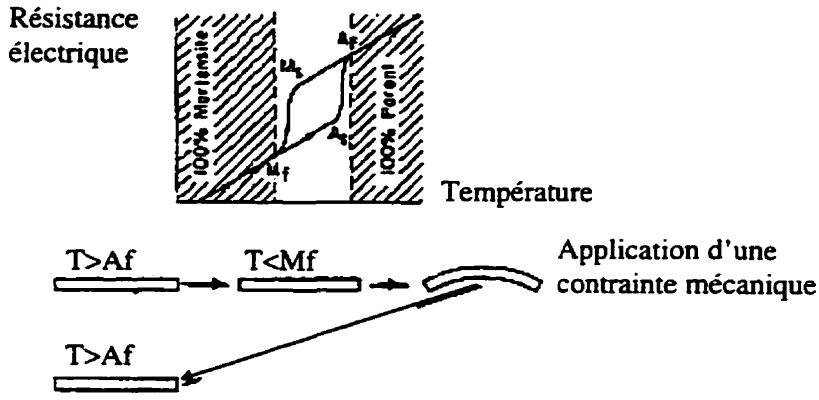


Figure 1.8 Effet mémoire de forme (Source: Wayman, 1993)

L'effet mémoire de forme double sens peut être obtenu par le traitement thermomécanique répété du matériau et permet d'associer deux formes distinctes à l'austénite et à la martensite. Suite à ce traitement, l'alliage passe d'une forme à l'autre sous l'effet d'une simple modification de la température.

La superélasticité du NiTi réfère à sa capacité à subir des déformations réversibles de l'ordre de 8% comparativement aux métaux conventionnels qui présentent un comportement élastique de l'ordre de 0,2%. Cette propriété est également reliée à la formation de la phase martensitique qui peut être induite soit par un abaissement de la température ou par l'application d'une contrainte mécanique.

1.4.2 Développement de stents en NiTi

Découlant de ces propriétés mécaniques, trois catégories de stents se distinguent:

1. Stent à mémoire de forme temporaire
2. Stent à mémoire de forme permanent
3. Stent superélastique permanent (ou temporaire)

Le **stent à mémoire de forme temporaire** utilise l'effet mémoire de forme double sens et est caractérisé par des températures de transformation près de la température maximale tolérée par les tissus humains (environ 42°C) (Bramfit et al., 1994; Dev et al., 1994; Eigler et al., 1994). Le stent est implanté en phase martensitique et est déployé par ballonnet au site d'obstruction. La martensite possédant un module d'élasticité moins élevée que l'austénite, le matériau est plus facilement déformable et ainsi son passage dans les vaisseaux tortueux est facilité. Afin de retirer le stent, un cathéter modifié est inséré jusqu'au stent et permet de libérer un certain volume de solution de Ringer chauffée. Cela permet de réchauffer le NiTi (jusqu'à 55°C) et de produire la transformation réversible en austénite de l'alliage. Alors, le stent se comprime sur le cathéter (à la vitesse du son) et il est possible de retirer l'endoprothèse.

Des études de faisabilité effectuée sur le stent HARTS (Heat Activated Removable Temporary Stent) implanté dans les artères de 28 chiens ont montré que la prothèse générait une force radiale suffisante au maintien de l'ouverture des vaisseaux 12 ± 6% plus grande que son diamètre initial pour la période d'implantation étudiée de 6 semaines (Eigler et al., 1993). Soixante-dix stents ont été retirés avec facilité après une semaine d'implantation. Par contre, les stents implantés pendant 6 semaines n'ont pu être retirés car ils étaient recouverts d'une capsule fibreuse.

De même, Khorsandi et al. (1992), ont réussi à retirer avec succès tous les stents implantés pour une période de 72 h chez des chiens. Aucune embolie, migration, rupture ou spasmes n'ont été enregistrés au cours de l'implantation et du retrait des prothèses. Par contre, les stents implantés pour une période de 6 semaines n'ont pu être retirés car ils étaient recouvert d'une repousse tissulaire.

Au vu de ces études, l'utilisation des propriétés mémoire de forme pour le retrait du stent donne de bons résultats pour des périodes d'implantation ne dépassant pas 1 semaine. De plus, l'efficacité du stent en NiTi apparaît comparable aux prothèses déjà utilisées.

Le **stent à mémoire de forme permanent** utilise les propriétés de mémoire de forme simple sens. Il présente la phase martensitique à température ambiante et subit une transformation austénitique lors de son implantation (températures de transformation de l'ordre de 20°C). Il est donc indispensable de maintenir la prothèse, sous sa forme comprimée, à des températures inférieures aux températures de transformations lors de son insertion par l'injection continue d'une solution saline à basse température. En position du site de blocage, l'introduction de solution est arrêtée et la prothèse passe à la phase austénitique et se déploie instantanément grâce à ses propriétés de mémoire de forme. L'avantage de la phase austénitique pour le stent déployé est sa plus grande rigidité qui permet de générer une plus grande force d'expansion radiale.

Une étude effectuée par Cragg et al. (1983) a montré des résultats favorables après l'implantation de stents en NiTi pour des périodes variant de 1 à 4 semaines. Une bonne hémocompatibilité a également été notée. Cependant, la nécessité de maintenir le dispositif à basse température durant son insertion a considérablement alourdit la technique d'implantation. Cette dernière observation semble avoir diminué l'intérêt pour ce genre de prothèse car très peu de travaux rapportent l'utilisation de ce stent.

Le **stent superélastique** exploite les propriétés de superélasticité du NiTi. Il possède des températures de transition inférieures aux températures ambiantes. Il est installé sur le cathéter en phase martensitique, plongé dans un milieu plus froid, et son expansion prématurée lorsqu'il passe en phase austénitique, est évitée soit par son recouvrement à l'aide d'une gaine polymérique ou par son immobilisation par des attaches distales et proximales. Au site d'implantation, la gaine est retirée ou les attaches sont relâchées et le stent se déploie immédiatement grâce à ces propriétés de superélasticité. Cette propriété présente les avantages de permettre l'obtention d'un ratio d'expansion plus élevée qu'avec les matériaux conventionnels ainsi qu'un raccourcissement minime de la prothèse. De plus, comme pour le prototype précédent, le stent déployé est en phase austénitique et présente donc une meilleure force radiale qu'en phase martensitique. Comme il s'agit d'un stent consistant en un fil unique enroulé, il est possible de retirer la prothèse en appliquant une tension à un des bouts, à l'aide de la superélasticité, pour la "dérouler" en l'introduisant dans un cathéter.

Cragg et al. (1993), Beyar et al. (1994) et Grenadier et al. (1994) rapportent que la facilité d'insertion, la fiabilité et la biocompatibilité de ce type de stent sont comparables aux stents déjà utilisés lors d'études précliniques. Par ailleurs, Hong et al. (1997), obtiennent des résultats supérieurs au niveau de la réponse tissulaire avec ce type de stent comparativement à d'autres prothèses. Par contre, Schürmann et al. (1995), observent une prolifération néointimale plus élevée autour de stents en NiTi comparativement au Wallstent. Cependant, au cours de cette dernière étude les stents en NiTi possédaient une géométrie différente de celle utilisée dans les études précédentes qui peut avoir favorisé la création de lésions plus importantes au site d'insertion.

Lors d'études cliniques, l'implantation de ce type de stents dans les artères périphériques a mis en évidence sa facilité d'insertion (Beyar et al., 1994; Hausegger et al., 1994). Cependant, Hausegger et al. (1994) dénotent un manque de rigidité radiale de la prothèse

qui doit être corrigé par un nouveau design. Finalement, le retrait de la prothèse a été validé avec succès chez quelques patients (Beyar et al., 1994).

Il semble donc, que ce type de stent superélastique donne de bons résultats sous sa forme temporaire ou permanente.

Suite à ces études, il est possible de dégager plusieurs avantages à l'utilisation de l'alliage NiTi pour la fabrication de stents.

Tout d'abord, ce matériau possède des propriétés uniques de mémoire de forme qui introduisent de nouveaux moyens d'implanter et même de retirer le stent. L'avantage de fabriquer des endoprothèses temporaires évitant ainsi les problèmes de resténose et de thrombose associées à la présence d'un corps étranger dans le corps humain. Par ailleurs, même implanté de façon permanente, l'**hémocompatibilité du NiTi est supérieure ou comparable** à celle des autres matériaux déjà utilisés. De plus, il présente une **bonne radiopacité** et est donc facilement visible lors d'une angiographie ce qui permet un positionnement précis de la prothèse. Son module d'élasticité plus faible que les autres matériaux permet d'utiliser des tiges de plus gros diamètre pour la fabrication des prothèses, augmentant ainsi la quantité de matériau et donc la radiopacité tout en maintenant une **bonne flexibilité**. Finalement, ses propriétés superélastiques permettent d'obtenir une prothèse présentant un **ratio d'expansion plus élevé** que les matériaux conventionnels permettant ainsi de **diminution la taille comprimée** de la prothèse lors de son insertion et une **meilleure dilatation** des stents à auto-déploiement.

1.5 Limitations du NiTi pour la fabrication de stents

Depuis quelques années, l'alliage NiTi est utilisé pour la fabrication d'implants en orthopédie et en orthodontie (Duerig et al., 1996; Haasters et al., 1990). Cependant, la teneur élevée en Ni de l'alliage, de l'ordre de 50% atomique, suscite des inquiétudes au niveau de la biocompatibilité du matériau. En effet, même si cet élément, présent en quantité de l'ordre de 0,1 ppm dans les tissus humains, est essentiel au niveau diététique pour le fonctionnement biologique (Anke et al., 1984;Williams et al., 1981), en concentrations plus élevées, il peut générer des réactions non souhaitables. Le nickel est responsable des réactions d'hypersensibilité (allergies) se manifestant par des dermatites suivant un contact avec la peau ou l'implantation de ce matériau chez 10% de la population (Bass et al., 1993; Williams et al., 1981). De plus, Takamura et al. (1994) ont montré que le nickel possédait un potentiel toxique et cancérigène élevé comparativement à l'acier inoxydable, l'alliage Ti-6Al-4V (pur et recouvert d'hydroxy-apatite), l'oxyde d'aluminium contenant de l'oxyde d'yttrium et l'oxyde de zircone contenant également de l'oxyde d'yttrium lors d'une étude d'implantation musculaire chez des souris.

Par ailleurs, une étude menée par Laing et al. (1967) sur l'évaluation de la biocompatibilité de plus de 40 implants métalliques différents a montré que le nickel libérait des ions dans les tissus environnants et qu'il générait une réaction inflammatoire intense. Par contre le titane, même s'il était également présent dans les tissus, a provoqué très peu de réaction tissulaire, évidence d'une bonne biocompatibilité. De plus, Williams et al. (1981) ont souligné la capacité du corps humain a tolérer de grande quantité de Ti sans démontrer d'effet toxique. Ainsi, contrairement au Ni, le Ti et ses alliages sont considérés comme des métaux possédants une bonne biocompatibilité.

Ces résultats très partagés au niveau de l'effet biologique du Ti et du Ni soulignent l'importance d'étudier la réaction biologique *in vitro* et *in vivo* générée par le NiTi afin de connaître le niveau de biocompatibilité de cet alliage. Puisque les stents sont en contact direct avec les parois des vaisseaux sanguins, nous allons nous attarder spécialement sur la réponse des tissus mous au contact avec le NiTi.

1.5.1 Biocompatibilité du NiTi

1.5.1.1 Études comparatives de la biocompatibilité in vivo *du NiTi*

Cutright et al. (1973) ont étudié la réaction tissulaire de dispositifs en NiTi par l'implantation sous-cutanée de fils pendant une période de 9 semaines chez des rats. Leur étude a montré que la réaction inflammatoire était minime à partir de 3 jours suivant l'implantation jusqu'à la fin de la période d'étude. Le processus de guérison initié après 1-2 semaines se résume à la formation d'une capsule de tissu conjonctif fibreux autour de l'implant. Cette réaction était comparable à la réaction générée par l'implantation de dispositifs similaires en acier inoxydable.

Par ailleurs, Castleman et al. (1976) ont évalué la biocompatibilité du matériau par l'implantation de plaques dans des fémurs de beagles. Les analyses histologiques du tissu musculaire adjacent aux sites d'implantation ont montré une variation aléatoire considérable de l'épaisseur de la capsule fibreuse en fonction du temps d'implantation (3 mois: 0,62 mm, 6 mois: 0,21 mm, 12 mois: 0,6 mm, 17 mois: 0,39 mm). Les résultats de cette étude ont montré que pour ces périodes, il n'y avait pas de différence significative entre la réaction provoquée par des implants de NiTi et celle générée par des plaques de Co-Cr. De plus, des analyses à l'aide de la méthode de l'activation neutron ont montré qu'il n'y avait pas de dissolution significative de Ni métallique dans le muscle adjacent aux implants de NiTi. Donc, basé sur leurs observations, ils ont

conclu que le NiTi était suffisamment biocompatible pour passer à des essais *in vivo* plus poussés.

La biocompatibilité tissulaire du NiTi a été évaluée également par l'implantation sous-cutanée de cylindres chez le rat pour des périodes de 6 à 24 semaines (Haaster, 1990). L'analyse histologique a révélé que le NiTi générait une réaction inflammatoire fibreuse typique de la présence d'un implant métallique. Une décroissance de l'épaisseur de la couche fibreuse a été notée en fonction de la durée de la période d'implantation.

De même Oonishi et al. (1984) n'ont observé aucune inflammation pathologique dans les tissus mous entourants des implants de NiTi après 2, 3, 4 et 6 semaines d'implantation chez des lapins. Toutefois, la présence de particules de Ni a été détectée dans les membranes des tissus conjonctifs. Les auteurs n'ont pas décelé de Ti métallique dans ces mêmes tissus mous.

L'observation de l'accumulation d'ions Ni lors de l'analyse de poils de chiens porteurs de disques métalliques sous-cutanés pour des périodes de 6, 9, 12, 18 et 24 mois a soulevé de l'inquiétude (Lu, 1990). La concentration d'ions Ni variait en fonction de la période d'implantation, pour atteindre un maximum après 1 an et le retour vers des valeurs normales après 2 ans. Pourtant, aucune modification de poids ou de la forme des échantillons n'a été relevée pouvant mettre en évidence la dégradation du matériau.

D'après les résultats des études *in vivo*, il existe une controverse au niveau de la dissolution d'ions Ni décelée dans certains cas et considérée négligeable dans d'autres. Ceci mène à deux conclusions partagés: 1) le NiTi peut être classé comme matériau biocompatible et sécuritaire, 2) la dissolution des ions Ni par les implants de NiTi peut avoir des effets néfastes sur les tissus biologiques et doit donc être empêchée par une modification préalable de la surface de ce matériau.

Par ailleurs, il est important de souligner, qu'à ce jour, même si plusieurs chercheurs se sont penchés sur la biocompatibilité relative de l'alliage NiTi, aucun travail n'a été publié jusqu'à maintenant sur l'effet d'une modification de la surface du matériau sur la réponse tissulaire.

1.5.1.2 Études comparatives de la biocompatibilité in vitro *du NiTi*

L'effet d'implants en NiTi, Ni, Ti, acier inoxydable 316L et en Cr-Co sur le taux de reproduction cellulaire a été évalué lorsqu'ils sont mis en contact avec des fibroblastes humains par Castleman et al. (1981). Après une période d'incubation de 4 jours, le NiTi et le Ti ont diminué de façon significative la prolifération cellulaire des fibroblastes. Par ailleurs, un effet toxique marqué a été associé au Ni puisqu'une diminution du nombre de cellules a été observée. Par contre, aucune différence significative n'a été enregistrée sur la croissance des cellules en contact avec les échantillons de Cr-Co et d'acier inoxydable. De plus, des changements morphologiques plus prononcés ont été rapportés pour les cellules en contact avec le NiTi.

Oshida et al. (1990) ont montré que la prolifération de cellules L1210 était légèrement inhibée en présence du NiTi. Cet effet était similaire à celui enregistré pour les cellules en contact avec le Ti dans la phase plateau de la courbe de croissance. En revanche, la cytotoxicité du Ni était beaucoup plus marquée.

Lors d'une étude comparative sur la cytocompatibilité du NiTi, Putters et al. (1992) ont conclu que le NiTi présentait une bonne cytocompatibilité. En effet, les cultures de fibroblastes humains n'ont pas été significativement affectée par la présence de ce matériau. La prolifération cellulaire notée a été similaire pour les cellules en contact avec le NiTi, le Ti et le groupe contrôle, signe d'une très faible toxicité.

Par contre, Villermaux et al. (1997) ont observé une cytocompatibilité intermédiaire du NiTi comparativement au Ti (compatibilité supérieure) et au Co-Cr-Mo (compatibilité inférieure) après des tests de prolifération cellulaire d'une durée de 9 jours.

D'après ces études, il semble qu'en général, la cytocompatibilité du NiTi soit comparable au Ti. Le Ti étant reconnu comme un matériau très biocompatible (Williams, 1981), ces résultats sont très encourageants. Par ailleurs, les effets néfastes du nickel sur les cultures soulignent l'importance de minimiser sa dissolution dans les tissus environnants afin d'éviter une réaction toxique.

1.5.1.2.1 Effets de la modification de la surface

Certains auteurs ont mis en évidence l'effet d'une modification de la surface sur la réponse cellulaire.

Abiko et al. (1994) ont constaté qu'une modification de l'état du NiTi (solide, en couche mince ou poreux) n'avait pas d'effet sur la prolifération de cellules MC3T3-E au cours d'une période de 24 h. Cette croissance était comparable au groupe contrôle constitué d'échantillons de Ti. Par contre, l'étude au MEB des surfaces ensemencées a révélé que les cellules sur les échantillons poreux présentaient une morphologie dégénérative caractérisée par une diminution de la quantité de filopodes des fibroblastes, indication d'une toxicité plus élevée de cet échantillon. Il est intéressant de noter que des études sur la résistance à la corrosion de ces échantillons ont mis en évidence une faible résistance à la corrosion de l'alliage poreux comparativement aux autres spécimens et donc une dissolution active des éléments métalliques plus intense.

De même, Villermaux et al. (1997) et Assad et al. (1994) ont mis en évidence une cytocompatibilité significativement plus élevée du NiTi traité au laser excimer ou recouvert d'un film de PTFE par rapport à des échantillons de NiTi non-traités. En effet, suite aux deux traitements de surface, une compatibilité comparable au groupe contrôle a été observée. Une amélioration de la résistance à la corrosion a été également notée suite à ces deux traitements indiquant donc une diminution de la dissolution des ions du NiTi (Lombardi et al., 1994; Villermaux et al. 1996; Villermaux et al., 1997).

L'effet de la modification du film d'oxyde sur la cytocompatibilité de cellules BHK-21 a été observé par Xiao-Xiang et al. (1994). Les résultats de leur étude démontrent que l'oxydation de particules de NiTi à 400°C pendant 1 h favorise la formation d'une couche d'oxyde protectrice qui permet de diminuer par un facteur de 10 la dissolution d'ions Ni dans le milieu et améliore la cytocompatibilité du matériau.

Par ailleurs, Shabalovskaya et al. (1994) ont effectué une étude sur l'effet de différentes méthodes de stérilisation conventionnelles d'implants métalliques. Ils ont établi un lien entre la modification chimique de la surface et son effet sur la prolifération de splénocytes de rats pendant une période de 72 h. Leur recherche démontre que les cellules sont fortement affectées par la méthode de stérilisation utilisée. De plus, la toxicité des échantillons de NiTi est reliée à la quantité d'éléments métalliques, et plus particulièrement du Ni, libérée dans le milieu en fonction de la méthode de stérilisation utilisée.

Ainsi, la modification de la surface du NiTi joue un rôle important au niveau de la réponse cellulaire. La toxicité de l'alliage est fortement reliée à la quantité d'ions relargués dans le milieu, et particulièrement le Ni, pouvant être dommageable pour les cellules. Cet effet sur le métabolisme cellulaire des ions métalliques a été mis en évidence au cours de différentes études (Sun et al., 1997; Wataha et al., 1993). De plus,

le potentiel toxique du Ni a été corrélé à sa plus grande tendance à s'accumuler dans les cellules (Wataha et al., 1993). Des études ont montré que la forme ionique Ni^{+2} induit des transformations au niveau cellulaire par la création de liens enzymatiques et protéiques en remplaçant d'autres éléments essentiels comme Ca^{+2}, Mg^{+2} et Zn^{+2} (Shabalovskaya, 1996; Williams, 1981).

Les études de biocompatibilité *in vitro* (culture cellulaire) ne peuvent pas remplacer des études *in vivo*. Cependant, ce type d'essais permet d'obtenir de l'information sur la toxicité des matériaux rapidement. Toutefois, aucune étude sur les effets génotoxiques, tératogéniques ou mutagéniques du NiTi n'a été effectuée jusqu'à maintenant. Les mécanismes d'action du NiTi sur les fonctions cellulaires sont donc peu connus et restent à déterminer.

1.5.2 Résistance à la corrosion du NiTi

Comme on l'a souligné au chapitre précédent, la compatibilité du NiTi avec les tissus humains dépend fortement de la quantité et de la nature des ions dissous dans le corps. En ce qui concerne la dégradation des implants métalliques et la dissolution de leurs composantes dans le milieu, Mears et al. (1979) ont montré que ce processus se produisait lors de la corrosion du métal. En effet, la corrosion métallique se définit comme un processus électrochimique d'oxydo-réduction de différentes espèces (Mears et al., 1979; Piron, 1991):

$$m \rightarrow m^{n+} + n\,e^- \qquad \text{(oxydation)}$$

$$O_2 + 2\,H_2O + 4\,e^- \rightarrow 4\,OH^- \qquad \text{(réduction)}$$

$$2\,H^+ + 2\,e^- \rightarrow H_2$$

où m représente les espèces métalliques. Ces éléments sont le titane et le nickel dans notre cas, qui sont ionisés durant le processus d'oxydation et peuvent réagir avec les constituants du milieu. Ce processus de corrosion peut mener à une dégradation précoce du matériau qui diminue ses capacités mécaniques et donc, à long terme, peut mener au bris de la prothèse.

Afin d'améliorer la biocompatibilité du NiTi et de diminuer la libération néfaste d'ions dans les tissus, l'amélioration de sa résistance à la corrosion en milieu physiologique doit être recherchée. Avant de comparer la résistance à la corrosion de différents traitements de surface, nous allons d'abord situer son comportement en corrosion par rapport à d'autres matériaux utilisés dans le domaine biomédical.

1.5.2.1 Études comparatives de la résistance à la corrosion du NiTi

Speck et al. (1980), Cigada et al. (1990) et Rondelli (1996) ont observé que le NiTi présentait un résistance à la corrosion inférieure au Ti-6Al-4V mais supérieure à l'acier inoxydable AISI 316L. Lors d'essais de polarisation anodique dans une solution physiologique de Hank's, les résultats suivants ont été enregistrés pour les tensions de piqûration:

$$\text{Ti-6Al-4V} > \text{NiTi} > \text{316L}$$

De même, la résistance à la corrosion supérieure du NiTi par rapport à l'acier inoxydable 316L a été observée en se basant sur les valeurs de courant de passivation (Dutta et al., 1993).

Par ailleurs, Randin (1988), lors d'une étude sur la résistance à la corrosion de métaux contenant du Ni, a observé un comportement similaire pour le NiTi et les aciers inoxydables austénitiques (AISI 316L, 304, 303, etc.). Il a classé ces métaux comme

étant très résistants car recouverts d'un film passif ne pouvant être détruit que dans des environnements très agressifs. Cependant, malgré ce bon comportement du NiTi et de l'acier, le titane présentait une résistance supérieure à ces deux métaux.

Par contre, une étude menée par Sarkar et al. (1983) a montré que le NiTi possédait une tension de piqûration beaucoup plus active que le Ti et l'acier inoxydable. En effet, ces derniers présentaient un état passif dans une région variant de -500 à 300 mV vs ECS alors que le NiTi commençait à piqûrer vers 140 mV vs ECS.

De plus, une non-reproductibilité du comportement en corrosion et en particulier de la valeur de la tension de piqûration du NiTi a été rapportée lors de plusieurs études (Kimura et al., 1987; Nakayama et al., 1988; Villermaux et al., 1996).

Par ailleurs, étant donné la nature nocive des ions Ni dans le corps, plusieurs chercheurs ont analysé la dissolution de cette composante au cours du processus de corrosion de l'alliage. Ainsi, suite à une étude aux rayons-x des piqûres de corrosion, un phénomène de dissolution sélective du Ni a été mis en évidence (Sarkar et al., 1983). Ce résultat a été également observé par Oshida et al. (1992) par la mesure de l'augmentation du ratio Ti/Ni aux endroits où des fils de NiTi étaient endommagés (ratio Ti/Ni = 5,9 ± 0,4 par rapport à 2,2 ± 0,2 sur les régions non-attaquées), évidence d'une libération préférentielle du Ni lors de la dégradation du NiTi. De plus, ce phénomène a été enregistré lorsque le NiTi se trouvait dans le domaine passif de la courbe de polarisation anodique (Okuyama et al., 1995).

Donc, il n'existe pas de consensus au niveau de la résistance à la corrosion du NiTi par rapport à d'autres biomatériaux. Plusieurs raisons ont été mises de l'avant pour expliquer le comportement variable du NiTi en corrosion:

- influence du milieu des essais de corrosion (acides aminés, pH, température, concentration en ions Cl^-, etc.),
- influence de l'état de la surface (non-uniformité de la couche d'oxyde, présence d'inclusions métalliques, etc.),
- influence de la phase du matériau (austénitique versus martensitique).

Tout d'abord, la présence de certains acides aminés dans la solution utilisée pour les essais de corrosion inhibe la passivation du NiTi en modifiant sa tension de piqûration vers des valeurs plus actives (Endo et al., 1994; Speck et al., 1980). Les auteurs attribuent cette modification à une instabilité du film d'oxyde passif due à une interaction surface-protéines.

Une augmentation du taux de corrosion a également été notée lors d'une élévation de la température (passant de 3 à 60°C à un pH de 7) ou d'une diminution du pH (passant de 11 à 3 à 37 °C) par Oshida et al. (1992). De même, Rondelli (1996) a observé un déplacement vers des valeurs plus actives de la tension de piqûration suite à un abaissement du pH de 7,8 à 1,5 à 37°C. Par contre, une autre étude a montré que le NiTi est moins résistant lors d'une modification du pH vers des valeurs plus alcalines (pH=10) ou plus acides (pH=3) par rapport un pH de 5,8 à 20°C (Oshida et al., 1990).

Un effet des ions chlorures a été également rapporté par différents auteurs (Dutta et al., 1993; Speck et al., 1980) indiquant une diminution de la résistance à la corrosion du NiTi avec une augmentation de la concentration de ces ions en solution. Ces ions agissent à titre d'obstacles à la formation d'un film passif sur le matériau et en facilite la destruction par la piqûration.

En ce qui concerne la relation entre la résistance à la corrosion et l'homogénéité du film, Rondelli (1996) a étudié ce paramètre par la réalisation de tests potentiostatiques d'endommagement du film passif et de tests ASTM F746 modifiés. Les résultats de cette étude montrent que lorsque le film d'oxyde est endommagé, les performances en corrosion du NiTi en sont grandement diminuées. Les résultats suivants pour la tension de piqûration ont été obtenus suite à ces tests:

$$\text{Ti-6Al-4V} \gg 316\text{L} > \text{NiTi}$$

Cette faible résistance à la corrosion localisée du NiTi par rapport aux aciers inoxydables et au titane suite à l'endommagement de la couche passive indique que le processus de repassivation de la couche d'oxyde en surface est un processus lent.

Par ailleurs, Dutta et al. (1993) ont observé que les sites de piqûration préférentiels du NiTi se trouvaient aux inclusions de phase intermétallique de $NiTi_2$, tandis que Kimura et al. (1987) ont relié une faible résistance à la corrosion à la présence de carbures à teneur élevée en Ti en surface. Ces derniers justifient ces résultats par le fait que les précipités peuvent causer une différence de potentiel électrique entre les particules et la matrice qui peut favoriser l'amorce de la corrosion.

Finalement, une étude a mis en évidence une plus faible résistance à la corrosion du NiTi en phase martensique qu'en phase austénitique (Dutta et al., 1993). En effet, la tension de piqûration du NiTi austénitique est environ 500 mV plus noble que le NiTi martensitique lors d'essais de polarisation anodique dans une solution physiologique de Hank's.

Ces résultats soulignent la susceptibilité du comportement en corrosion de l'alliage NiTi et donc, les précautions avec lesquelles cet alliage doit être utilisé comme implants médicaux. De plus, étant donné l'impossibilité de contrôler les conditions de température, de composition et de pH du corps humain et que ces paramètres sont

appelés à changer en fonction de différentes situations physiologiques (Barbosa, 1991), il est plus approprié de modifier la surface du NiTi pour accroître sa résistance à la corrosion que de tenter de contrôler les conditions du milieu. Finalement, une attention particulière doit être portée au développement de stents à mémoire de forme temporaire puisqu'ils sont en phase martensitique au cours de leur vie en service et que cette phase présente une résistance à la corrosion inférieure à la phase austénitique.

1.5.2.2 Effet de la modification de la surface

Différents traitements de la surface ont été entrepris afin d'améliorer la résistance à la corrosion du NiTi. Cette section décrit les différents résultats obtenus au cours de ces études.

Le **recouvrement de la surface par des biocéramiques** a été effectué par Kimura et al. (1987). La méthode de déposition chimique en phase vapeur d'une couche de 4 µm de TiCN sur le NiTi a amélioré la résistance à la corrosion de l'alliage en diminuant légèrement la densité du courant de passivation (moins d'une décade) et en augmentant la reproductibilité des mesures. Par contre, lorsque l'échantillon est déformé, la couche de TiCN s'écaille et ne protège plus le substrat de NiTi. De plus, une fragilisation du NiTi est observée, causée par la technique de déposition, à haute température (1000°C). Ces chercheurs ont également étudié l'effet sur le comportement en corrosion d'une couche de 1,6 µm de TiN sur le NiTi. Lorsque l'échantillon était intact, une diminution du courant de passivation de l'ordre d'une décade, a été enregistré. Par contre, comme précédemment, le traitement était incapable de supporter les grandes déformations et s'effritait. Les auteurs ont attribué la défaillance des revêtements céramiques à leur manque d'élasticité et d'adhérence au substrat et à leur épaisseur trop élevée.

Endo et al. (1994) ont constaté des résultats similaires lors du recouvrement de la surface du NiTi par placage ionique de nitrures de titane (TiN et TiN_x, x>1) d'une épaisseur variant entre 1 et 2 µm. Une diminution de la densité de courant (2 ordres de grandeur) a été observée indiquant une diminution du taux de corrosion de l'alliage. Par contre, un déplacement de la tension de piqûration vers des valeurs plus actives (différence de 400 mV) a été notée, évidence d'une baisse de la résistance à la corrosion localisée du NiTi. De plus, lorsque le matériau est soumis à de forts potentiels, la dégradation du film se produit et favorise la corrosion du matériau.

Par ailleurs, l'**implantation ionique de N^+** à forte dose a amélioré la résistance à la corrosion du NiTi sans affecter son comportement mémoire de forme (Green et al., 1993).

De plus, le **recouvrement de la surface par un film polymérique** a donné des résultats encourageants. Lombardi et al. (1994) et Villermaux et al. (1996) ont montré que la déposition de PTFE (0,4 µm) améliorait de façon significative la résistance à la corrosion de plaques polies en NiTi. Cependant, une amélioration moins marquée de la résistance à la corrosion d'agrafes d'ostéosynthèses traitée de la même façon a été rapportée par Villermaux et al. (1996). Les auteurs ont attribué ce résultat à une plus grande rugosité des agrafes comparativement à des plaques polies qui pourrait induire une variation de l'épaisseur de film déposé et ainsi contribué à une baisse de l'effet protecteur (Lombardi et al., 1994; Villermaux et al., 1996). Toutefois, malgré la grande flexibilité du PTFE, des tests d'adhérence ont mis en évidence la fragilité du revêtement (Villermaux et al., 1997). De plus, une faiblesse de cohésion intrinsèque au matériau le rend susceptible à l'endommagement.

Le **renforcement de la couche de passivation** de plaques de NiTi à 900°C a permis d'améliorer la résistance à la corrosion par la modification d'une couche mince d'oxydes

(Kimura et al. 1987). De plus, les auteurs ont montré la bonne résistance de cette couche aux grandes déformations. De même, Xiao-Xiang et al. (1994) ont observé une augmentation substantielle de la résistance à la corrosion après un traitement thermique à 400°C. Finalement, Villermaux et al. (1997) ont également observé un effet bénéfique sur la résistance à la corrosion de la modification de la couche d'oxyde par un traitement laser de la surface. Ils attribuent, en partie, cette amélioration à un épaississement et une uniformisation de la couche d'oxyde ainsi qu'à une incorporation d'azote dans le matériau.

1.6 Choix des traitements de la surface

Suite aux résultats encourageants obtenus lors des études sur le renforcement de la couche de passivation, différents traitements visant à modifier le film d'oxyde ont été envisagés au cours de ce projet. Les méthodes proposées visent un traitement rapide, efficace et peu coûteux du NiTi applicables à toutes géométries d'implants.

De plus, les données thermodynamiques de formation d'oxydes à la surface du NiTi (énergie libre de formation à 298 K pour NiO -50.6, TiO -118.3 et TiO_2 -212.6 kcal/mol) montrent que l'oxydation de ses deux composantes s'effectue de façon spontanée et que le processus le plus favorable est la formation d'une couche d'oxydes de Ti à la surface du matériau (Chan et al., 1990). Par exemple, lors d'une étude du processus d'oxydation du NiTi, Chuprina et al. (1993) ont décrit ce phénomène pour des températures variant de 600-1000°C. Initialement, le NiTi est recouvert de TiO_2 et d'une faible quantité de NiO. A 600°C, le complexe $NiO{\cdot}TiO_2$ se forme. Pour des températures inférieures à 800°C, la croissance de la couche externe est favorisée par la diffusion du Ni^{+2}. Toutefois pour des températures supérieures à 800°C le phénomène de diffusion du Ti^{+4} devient prédominant. L'étude de la diffusion de l'oxygène met en évidence la croissance de la couche interne du film. De plus, étant donné la diffusion importante du Ti vers

l'extérieur, une couche riche en Ni (Ni_3Ti) apparaît près du NiTi tel que prédit par le diagramme de phase du matériau (Murray, 1991). Ensuite, l'interaction entre la sous-couche d'oxyde et cette région riche en Ni engendre la formation d'une solution solide de Ni avec du Ti. Cette nouvelle couche subit une oxydation en fonction du temps et se transforme en Ni et TiO_2. Ce Ni s'oxyde par la suite pour former la composante $NiO{\cdot}TiO_2$. Ainsi, il le NiTi est séparé de l'atmosphère par une multitude de couches:

$$NiTi \rightarrow Ni_3Ti \rightarrow Ni(Ti) \rightarrow NiO \rightarrow NiO{\cdot}TiO_2$$

Chan et al. (1990) ont mis en évidence l'importance de la nature du traitement de surface sur la couche d'oxyde formée. En effet, ils rapportent la formation de différentes couches d'oxyde (Figure 1.9). De plus, ils ont observé que même si une couche de TiO_2 est habituellement formée lors de l'oxydation du NiTi, un phénomène de ségrégation du Ni métallique ou de NiO peut se produire sous certaines conditions.

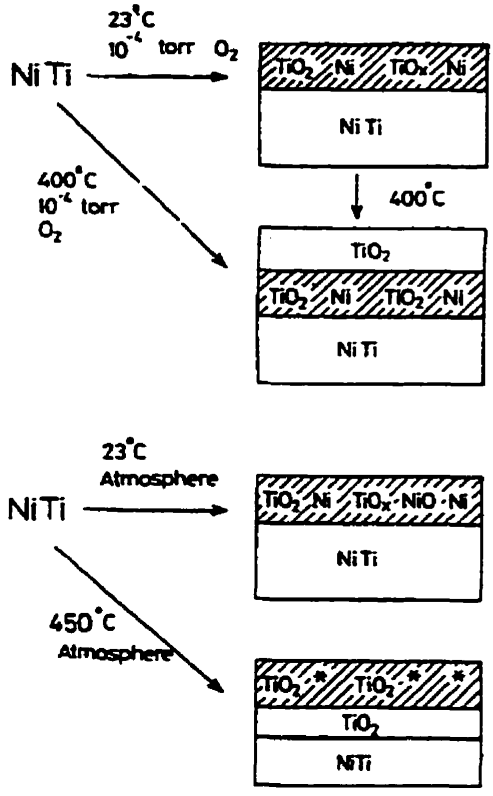


Figure 1.9 Oxydation du NiTi sous différentes conditions de pression et de concentration d'oxygène. * Mélange de NiO et TiO_2 (Source : Chan et al. 1990)

Ainsi, l'oxydation du NiTi peut se résumer à la formation d'une couche d'oxydes principalement composée de Ti, dépourvue d'éléments de Ti ou Ni métallique et favorisant la création d'une barrière à la dissolution du Ni. En général, ces résultats sont très encourageants puisque la biocompatibilité élevée du Ti et de ses alliages est attribuée à la présence d'un film passif d'oxyde de Ti très protecteur et stable (Williams, 1981).

Toutefois, toute couche d'oxyde formée à la surface du NiTi n'a pas le même pouvoir protecteur. En effet, la croissance d'une couche d'oxyde amorphe obtenue suite à un

traitement approprié de passivation, par opposition à une couche polycristalline, semble protéger mieux le NiTi de la corrosion (Su et al., 1997).

Les résultats rapportés lors d'études sur le Ti indiquent que les caractéristiques de l'oxyde se formant sur un matériau dépendent directement de la microstructure du métal sous-jacent. Un polissage chimique ou électrochimique permet d'éliminer la couche plastiquement déformée d'une pièce machinée et polie mécaniquement afin d'en améliorer l'état de surface et de permettre la croissance d'une couche d'oxyde plus protectrice (Rajurkar et al., 1994). La technique d'électropolissage consiste à augmenter l'uniformité de la surface d'un métal de façon électrochimique anodique dans une solution acide ou basique. Cette méthode permet d'éliminer de façon sélective toutes rugosités afin d'obtenir un fini métallique très lisse. Cette technique est utilisée pour plusieurs raisons: amélioration de l'apparence extérieure, amélioration de la résistance à la corrosion et préparation de la surface pour d'autres traitements subséquents pour n'en nommer que quelques-unes.

De plus, il a été montré que l'électropolissage du Ti produisait un état de surface optimal pour l'adhésion et la croissance de fibroblastes comparativement à des échantillons polis chimiquement ou mécaniquement (Könönen et al., 1992). Ce sont les raisons pour lesquelles, l'organisme American Society for Testing and Materials (ASTM) recommande un traitement d'électropolissage des implants métalliques en acier inoxydable avant leur utilisation (F86-91).

Ceci se rajoute aux traitements thermiques du NiTi qui améliorent sa résistance à la corrosion et de sa cytocompatibilité. Par contre, il faut faire preuve de prudence lors du traitement de ce genre d'alliage car une exposition à des températures trop élevées pour des périodes trop longues peuvent affecter les températures de transformation de l'alliage et son comportement mécanique (Kimura et al., 1987; Melton, 1990). La formation de

précipités et l'apparition de nouvelles phases seraient à l'origine de la modification des propriétés du NiTi.

Par ailleurs, la passivation chimique d'un métal dans une solution aqueuse d'acide tels l'acide sulfurique, chlorhydrique ou nitrique, permet de réduire l'épaisseur de la couche d'oxyde par une simple immersion. Cette méthode permet également d'améliorer les propriétés de surface des métaux. Étant donné ces effets bénéfiques sur les métaux, la passivation dans une solution d'acide nitrique est également recommandée pour les implants métalliques par l'organisme ASTM (F86-91). Ce procédé favorise une passivation appropriée de la surface du métal et permet d'en augmenter l'inertie par rapport à son environnement.

Selon notre revue bibliographique, encore aucun travail n'a été publié sur l'effet de l'électropolissage et de la passivation chimique du NiTi sur sa résistance à la corrosion et sa biocompatibilité. Les résultats encourageants obtenus sur des implants métalliques à base d'acier inoxydable ou de Ti permettent de supposer qu'ils seraient appropriés dans le cas du NiTi. Par ailleurs, l'étude de la résistance à la corrosion d'implants métalliques en NiTi à leur stade final de fabrication n'a été rapportée que par Villermaux et al. (1996, 1997) dans la littérature et leurs résultats mettent en évidence l'importance de la méthode d'élaboration sur l'effet des traitements de surface. Ainsi, l'effet de la géométrie des échantillons est un paramètre important qui peut influencer l'efficacité et le degré protecteur des revêtements.

Ainsi, l'étude de l'électropolissage, du traitement thermique et de la passivation chimique de stents en NiTi est un projet innovateur et original qui s'inscrit dans le développement de traitements efficaces pour l'amélioration de la biocompatibilité de stents en NiTi.

Chapitre 2. Objectif

Comme nous avons pu le constater au chapitre précédent, l'alliage NiTi offre des avantages significatifs pour son utilisation potentielle à titre d'implants coronaires. Pourtant, peu d'études ont évalués de façon approfondie leur mode d'action spécifique. Ainsi, l'objectif de ce projet de maîtrise est d'évaluer la performance de stents en NiTi. Comme il a été mentionné à la section 1.2, les endoprothèses coronaires doivent répondre à plusieurs critères pour être performantes. Dans le cadre de ce projet, nous nous restreindrons à l'étude de la biocompatibilité de stents en NiTi.

En effet, bien que les essais précliniques et cliniques présentent des résultats encourageants, la biocompatibilité du NiTi soulève quelques inquiétudes. Étant donné le potentiel allergène, toxique et cancérigène du Ni libéré dans le corps humain, il est indispensable d'en minimiser la dissolution par l'amélioration de la résistance à la corrosion du NiTi. Comme nous l'avons mentionné à la section 1.6, le renforcement de la couche passive par différentes techniques sera utilisé pour améliorer la biocompatibilité de stents en NiTi.

Au cours de ce projet, l'amélioration de la biocompatibilité de stents en NiTi suite à 4 traitements de surface visant à renforcer la couche passive sera évalué à 2 niveaux:

1. Effets des traitements sur la résistance à la corrosion
2. Effets des traitements sur la biocompatibilité

La première étape sera effectuée par une évaluation comparative du comportement anodique de stents en NiTi traités et non traités lors de tests de corrosion électrochimiques. Ensuite, afin de connaître l'effet des différents traitements sur la surface du matériau sur la corrosion, la caractérisation physico-chimique de la surface par des méthodes d'analyses de surface sera étudiée.

Au cours d'une deuxième partie de cette étude l'évaluation *in vitro* de la biocompatibilité sera entreprise par des essais de proliférations cellulaires de fibroblastes humains en contact avec le matériau traité avec les différents traitements de surface. Enfin, la biocompatibilité *in vivo* sera déterminée par l'évaluation de la réaction fibro-cellulaire suivant l'implantation de ces stents près du muscle dorsal paravertébral chez le lapin pour des périodes de 2, 6 et 12 semaines.

Chapitre 3. Procédures expérimentales

3.1 Matériel

3.1.1 Échantillons

Au cours de cette étude deux géométries d'échantillons ont été employées. Pour l'évaluation de la corrosion, la caractérisation physico-chimique et l'étude de la réaction tissulaire *in vivo*, du NiTi en forme de stent après expansion a été utilisé. En effet, l'étude des traitements de surface sur le dispositif en phase finale de mise en forme est plus pertinente que l'utilisation d'échantillons de formes plus simples. Ceci nous permet de connaître non seulement les effets des traitements de surface mais également, l'effet de l'usinage sur l'efficacité des traitements. Cependant, l'étude du taux de prolifération cellulaire de fibroblastes ne peut être effectuée sur de tels échantillons puisque les cellules doivent être en contact avec un échantillon plat pour pouvoir y croître. Ainsi, pour cette partie du projet, des plaques minces de la même composition et ayant subit les mêmes traitements de surface ont été utilisées. Tous les échantillons ont été fournis par Nitinol Devices & Components (Californie, États-Unis).

L'alliage utilisé au cours de cette étude est du NiTi contenant 50.8% atomique de Ni. Les impuretés contenues dans l'alliage, exprimées en pourcentage massique, sont 0,01% Al, 0,03% Co, 0,05% Cu, 0,06% Cr, 0,01% Fe, 0,02% O et 0,004% C. Les stents ont été obtenus à partir d'un tube de NiTi, usiné à l'aide d'un laser YAG pour découper les ouvertures dans les parois du tube. Lors de son expansion, la prothèse présente des ouvertures en forme de pointes de diamant (Figure 3.1). Suite à cet usinage, les pièces ont été traitées thermiquement afin d'obtenir une température de transition A_f de 24°C. Les stents présentent une longueur d'environ 14 mm, le diamètre de la prothèse dilatée est approximativement 4 mm et l'épaisseur des parois est environ 0,5 mm. Les plaques

possèdent la même composition nominale que les stents. Leurs dimensions sont de 10 mm de coté et 0.70 mm d'épaisseur.

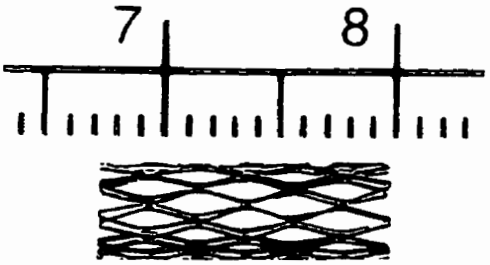


Figure 3.1 Stent en expansion

3.1.2 Traitements de surface

Des stents traités et non-traités ont été fournis directement après leur mise en forme. Toutes les pièces ont été traitées par Nitinol Devices & Components (Californie, États-Unis). Les détails des modifications de la surface, non-mentionnés dans cette section, demeurent confidentiels à ce jour. Les traitements effectués sur tous les stents sont:

1. Polissage mécanique: fini de 240 grit,
2. Polissage chimique: 5 s à température ambiante,
3. Électropolissage.

Ensuite, certains échantillons ont subi soit:

Traitement thermique dans un four: 2 min à 450°C, ou
Traitement thermique dans un bain de sel: 3 min à 500°C, ou
Passivation chimique dans une solution d'acide nitrique: 30 min à température ambiante.

Ainsi, au cours de ce projet, 4 types de traitements ont été étudiés:

- Électropolis seulement (EP)

  Électropolis et :
- Traités thermiquement dans un four (AA)
- Traités thermiquement dans un bain de sel (HT)
- Passivés dans une solution d'acide nitrique (PA)

3.2 Méthodes d'analyse

Afin d'atteindre les objectifs fixés au cours de ce projet, différentes méthodes d'analyse ont été utilisées. Pour chaque étape, les résultats obtenus pour les échantillons traités ont été comparés avec ceux des échantillons non-traités. Tout d'abord, la résistance à la corrosion des stents traités et non traités a été évaluée par des essais de voltampérométrie potentiodynamique. Ensuite, afin de déterminer l'effet des traitements, une analyse physico-chimique de la surface a été effectuée. Dans une deuxième partie du projet, visant l'évaluation de la biocompatibilité, des tests de culture cellulaire et d'implantation animale ont été entrepris. La description détaillée des appareils et des méthodes employés lors de ces études est effectuée dans les articles aux chapitres 4 et 5.

3.2.1 Essais de voltampérométrie potentiodynamiques

Ce type d'essais consiste en des tests électrochimiques de base qui permettent de connaître le comportement en corrosion d'un métal dans un milieu donné. Au cours de notre étude, des essais potentiodynamiques dans la région anodique ont été réalisés. Ils consistent à faire varier la tension de manière continue (10 mV/min), de la valeur obtenue en circuit ouvert vers des valeurs plus nobles, et à enregistrer le courant généré. Une courbe typique de polarisation anodique est présentée à la Figure 3.2. La densité de courant de passivation (i_{pas}) caractérise la vitesse de dissolution du métal passivé. Plus

cette valeur est faible, plus le taux de corrosion métallique est faible. La tension de piqûration (E_{piq}) indique la fin du palier du courant qui correspond au domaine passif. Au-delà de cette valeur, la densité de courant augmente en raison de la dissolution transpassive du matériau qui peut se faire par piqûration. Une tension de piqûration élevée indique que le matériau résiste bien à ce genre de corrosion localisée.

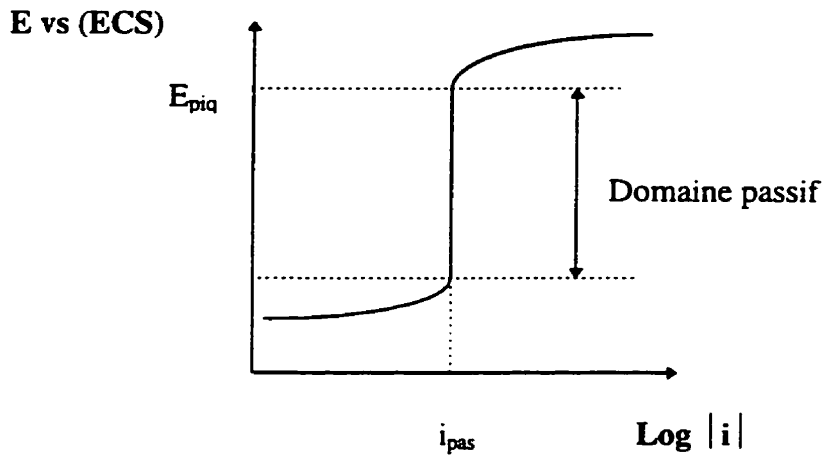


Figure 3.2 Schématisation d'une courbe de polarisation anodique

Ainsi, suivant la valeur de i_{pas} et de E_{piq}, il est possible de connaître la résistance à la corrosion respective de chaque échantillon et de déterminer s'il s'est produit une amélioration du comportement en corrosion du NiTi. Toutefois, ce type d'essais ne permet pas de conclure quant aux résultats obtenus et doivent être complétés par une analyse plus approfondie des propriétés de la surface.

3.2.2 Caractérisation physico-chimique de la surface

3.2.2.1 MEB

L'étude au microscope électronique à balayage de nos échantillons permet de visualiser l'effet des traitements sur la topographie de la surface. De plus, l'identification des sites

plus propices à la corrosion et l'analyse des piqûres de corrosion peut être effectuée sur les échantillons ayant subit les essais de voltampérométrie. Le principe de cet appareil est de générer une image à l'aide des électrons secondaires qui sont émis par l'échantillon suite au bombardement de sa surface par un faisceau d'électrons incident à haute énergie. Les avantages de ce type d'appareil est sa capacité à générer de forts grossissements, sa bonne résolution et sa profondeur de champ élevée qui est nécessaire à l'analyse de nos dispositifs tridimensionnels.

3.2.2.2 AES

L'analyse aux électrons Auger permet de déterminer la composition élémentaire de la surface sur une profondeur d'environ 3 nm. Cette technique consiste à insérer l'échantillon dans une chambre isolée avec un vide poussé et à bombarder l'échantillon avec des électrons de faible énergie. Les électrons incidents interagissent avec les atomes de la cible qui peuvent émettre, si l'énergie est suffisante, des électrons Auger qui sont récupérés par un détecteur et analysés en fonction de leur énergie résiduelle. Cette énergie est caractéristique de l'élément qui a émis la particule et donc sert à identifier la nature des éléments à la surface du matériau.

Lorsque cette méthode est combinée à une pulvérisation simultanée à l'aide d'un jet d'Argon, il est possible d'établir les profils de concentration de la surface du matériau et donc de connaître la distribution de chacun des éléments en fonction de la profondeur. Dans le cas de notre étude, ce profil permet de connaître, entre autre, l'épaisseur de la couche d'oxyde générée par les différents traitements.

3.2.2.3 XPS

L'analyse photoélectronique par rayons-X permet de connaître la composition élémentaire et la nature chimique de la surface sur une profondeur de 3 nm. Le principe de cette technique consiste à bombarder un échantillon, placé sous un vide poussé, d'un rayon-x incident, de longueur d'onde connue, et d'analyser l'énergie des photoélectrons émis. L'énergie de ces électrons est caractéristique de l'élément qui l'a émis et de ses liens chimiques dans le matériau.

Suite à l'enregistrement de ces données, deux types d'information peuvent être obtenus avec cette technique. Tout d'abord, le spectre de survol d'un matériau permet d'identifier toutes les composantes élémentaires présentes sur l'échantillon. Par le calcul de l'aire occupée par chacun des pics, et en connaissant le facteur de sensibilité associé à chaque élément, il est possible d'en déterminer la concentration atomique. Dans notre étude, la comparaison de la région occupée par les pics de Ti et de Ni permet de calculer le rapport des concentrations atomiques Ni/Ti à la surface du matériau. Par ailleurs, le spectre à haute résolution d'un élément permet, suite à une déconvolution de l'enveloppe du pic, de connaître la nature des liens chimiques de cet élément avec d'autres composantes. Dans notre cas, les spectres à haute résolution du Ti et du Ni, permettent de déterminer la nature chimique de l'oxyde de Ti (TiO, TiO_2 et/ou Ti_2O_3) et de Ni (NiO, Ni_2O_3) à la surface de nos échantillons.

3.2.3 Étude du taux de prolifération cellulaire

Cette catégorie de tests permet de déterminer le potentiel cytotoxique d'un matériau sur la prolifération d'une lignée cellulaire. Ces tests sont préconisés dans le cadre de l'évaluation biologique *in vitro* de dispositifs médicaux par l'organisme ISO (10993-5). Ils consistent à incuber pendant une période déterminée des cellules mises en contact

avec le matériau à tester. À intervalle régulier, la mesure du nombre de cellules est effectuée et rapportée sur un graphique représentant le nombre de cellules en fonction du temps d'incubation.

Suite, à l'obtention de ce graphique, il est possible de comparer l'allure de la prolifération de cellules en contact avec les échantillons par rapport à la croissance normale d'un groupe contrôle dans les mêmes conditions et de déterminer la toxicité relative du matériau. De plus, de façon quantitative, il est possible de déterminer le temps de dédoublement des cellules en calculant la pente de la courbe dans la portion de croissance logarithmique. Cette donnée est un autre indice de l'effet du matériau sur le taux de prolifération cellulaire.

3.2.4 Étude de la réaction tissulaire *in vivo*

L'utilisation de tests d'implantation animale permet d'étudier les effets localisés d'un dispositif médical après son implantation. Ces tests, préconisés par l'organisme ISO (10993-6), aident à caractériser la réponse biologique d'un tissus vivant à un matériau étranger et d'en quantifier la biocompatibilité relative par rapport à un groupe témoin. Des études à courts termes (jusqu'à 12 semaines), chez les petits animaux tels que le lapin, permettent d'évaluer la réponse sub-chronique générée par un matériau.

La procédure consiste à implanter le dispositif dans le muscle dorsal paravertébral de l'animal pour différentes périodes de temps. Suite au sacrifice, la réponse biologique est évaluée en étudiant la réponse histopathologique et son évolution en fonction du temps. La quantification de cette réponse peut être effectuée en mesurant l'étendue de la capsule fibro-cellulaire entourant l'implant. Ainsi, une plus faible capsule fibreuse et une diminution de celle-ci en fonction du temps sont des indices d'une bonne acceptation du matériau par le tissu biologique.

Chapitre 4. Résultats des études de corrosion et de caractérisation physico-chimique

Ce chapitre est constitué du premier article «Effect of the modification of the oxide layer on NiTi stent corrosion resistance» présente les résultats de l'étude voltampérométrique et de caractérisation physico-chimique de la surface. Cet article a été soumis au Journal of Biomedical Materials Research.

Comme nous l'avons mentionné à la section 1.5.2.2, la modification de la surface du NiTi par différentes méthodes permet d'améliorer la résistance à la corrosion du matériau. De plus, cette amélioration de la résistance à la corrosion du NiTi a été liée à une amélioration de sa biocompatibilité (section 1.5.1.1). Afin d'étudier l'efficacité des différents traitements de surface et d'identifier un ou plusieurs traitements performants, nous avons initié ce projet en étudiant la résistance à la corrosion par des tests potentiodynamiques anodiques de stents en NiTi électropolis, passivés dans l'acide nitrique et traités thermiquement dans un four ou un bain de sel en comparaison avec des stents non-traités.

Ensuite, afin de déterminer l'effet de chaque traitement sur la couche d'oxyde passive renforcée et d'identifier les paramètres déterminants le pouvoir protecteur de cette couche contre la corrosion, nous avons procédé à une caractérisation approfondie de la surface des stents. Le MEB nous a permis d'observer la topographie de la couche et d'étudier l'effet de son uniformité sur la résistance à la corrosion. L'analyse AES a permis de déterminer la distribution de différents éléments à la surface et de connaître l'effet de l'épaisseur de la couche d'oxyde. L'analyse XPS a permis d'étudier la nature chimique de la couche d'oxyde.

Au cours de ce chapitre nous allons tout d'abord présenter un résumé en francais de l'article écrit suite aux résultats obtenus au cours de cette étude suivi de l'article en lui-même.

En raison de sa bonne radiopacité, superélasticité et de ses propriétés mémoire de forme, le nickel-titane (NiTi) est un matériau intéressant pour la fabrication de stents puisque ces propriétés permettent de faciliter l'implantation et de positionner de facon plus précise le stent au site d'obstruction. Cependant, des études *in vitro* sur les alliages de NiTi ont souligné la dépendance de la biocompatibilité et de la résistance a la corrosion sur les conditions de surface. Le renforcement de la couche d'oxyde est une méthode prometteuse pour l'amélioration de la résistance à la corrosion et la biocompatibilité du matériau. Au cours de ce travail, nous avons étudié l'effet de l'électropolissage, de traitements thermiques et de la passivation à l'acide nitrique effectué sur des stents en NiTi sur la résistance à la corrosion et les conditions de surface. Des techniques de caractérisation telles des tests de polarisation potentiodynamiques, la microscopie électronique à balayage, la spectroscopie aux électrons Auger et la spectroscopie photoélectronique à rayons-X ont été utilisées pour établir des liens entre le comportement en corrosion, les conditions de surface et les traitements de surface. Les résultats obtenus montrent que tous les traitements de surface améliorent la résistance à la corrosion de cet alliage. Cette amélioration est attribuée au remplacement d'une couche d'oxyde déformée plastiquement par une nouvelle couche plus uniforme. L'uniformité de la couche d'oxyde plutôt que son épaisseur et sa composition chimique semble être le facteur déterminant l'amélioration de la résistance à la corrosion du matériau.

Effects of the modification of the oxide layer on NiTi stent corrosion resistance

C. Trépanier[1], M. Tabrizian[1], L'H. Yahia[1*] L. Bilodeau[2], D.L. Piron[3]

[1]GRBB, Biomedical Engineering Institute, École Polytechnique de Montréal, CANADA;

[2]Institut de Cardiologie de Montréal, CANADA;

[3]Department of Material Engineering, École Polytechnique de Montréal, CANADA

*To whom correspondence should be addressed

4.1 ABSTRACT

Because of its good radiopacity, superelasticity and shape memory properties, nickel-titanium (NiTi) is a potential material for fabrication of stents, since these properties can facilitate their implantation and precise positioning. However, *in vitro* studies of NiTi alloys report the dependence of alloy biocompatibility and corrosion behavior on surface conditions. Surface oxidation seems to be very promising for improving both corrosion resistance and biocompatibility of NiTi. In this work, we studied the effect on corrosion resistance and surface characteristics of electropolishing, heat treatment and nitric acid passivation of NiTi stents. Characterization techniques such as potentiodynamic polarization tests, scanning electron microscopy, Auger electron spectroscopy and X-ray photoelectron spectroscopy were used to relate corrosion behavior to surface characteristics and surface treatments. Results show that all these surface treatments improve corrosion resistance of the alloy. This improvement is attributed to the plastically deformed native oxide layer removal and replacement by a newly grown more uniform one. The uniformity of the oxide layer, rather than its thickness and composition, seems to be the predominant factor to explain the corrosion resistance improvement.

KEYWORDS: NiTi shape memory alloy, Stents, Surface treatments, Corrosion resistance, Surface characterization.

4.2 INTRODUCTION

Since 1986, implantation of tubular endoprostheses (stents) in blood vessels is performed in humans to prevent occlusion and restenosis of coronary arteries after a percutaneous intervention, e.g. angioplasty[1]. These devices nowadays constitute one of the most effective ways to treat coronary stenosis. Clinical results have demonstrated a

decrease, of at least 30%, of the restenosis rate after their implantation[2,3]. However, clinically used stainless steel- and tantalum-based metallic stents have limitations because of their suboptimal radiopacity and mechanical properties which may complicate the insertion and positioning of stents at the site of obstruction[4]. In contrast, optimal radiopacity, superelasticity and shape memory properties make nickel-titanium (NiTi) an attractive material for such an application. Indeed, these properties can facilitate positioning of stents for a precise implantation.

However, before any new alloy can be approved for implantation in the human body, the biocompatibility of the material must be established. In a recent study, Berger-Gorbet et al. have underlined the slower osteogenesis process associated with NiTi by *in vivo* implantation of non-treated NiTi screws in the tibias of rabbits[5]. This finding was associated to the release of a cytotoxic constituent by NiTi during corrosion of the alloy.

Among the factors which determine the biocompatibility of an implant, surface properties and corrosion resistance are the most important characteristics of the material. *In vitro* studies of NiTi in contact with different cell cultures have demonstrated the dependence of the alloy biocompatibility behavior on surface treatments[6-8]. Indeed, passive metals, like NiTi, have a stable oxide layer on their surface which helps to render them corrosion resistant and relatively inert in physiological conditions. This passivity may be enhanced by modifying the thickness, topography and chemical composition of this oxide layer by different surface treatments[7,9,10]. This improved oxide layer has been shown to be very protective and promising for improving both corrosion resistance and biocompatibility of NiTi[9-11]. Also, Sohmura has shown that this layer is able to sustain large deformations induced by the shape memory effect[10].

Several surface treatments have been developed, such as the laser surface melting technique which promotes the oxidation of NiTi and improves the corrosion resistance

of the alloy[9]. However, this technique is expensive and inappropriate for implants such as stents with a complex geometry. Modification of the oxide layer can also be achieved by more conventional methods, such as chemical polishing and heat treatment[12]. A study of Ti-based implants demonstrated a reduction of ion dissolution by aging of the surface oxide or by thermal oxidation[13]. Electropolishing and nitric acid passivation are two other techniques recommended for surface treatment of medical devices to remove deformed native oxide layers and replace them by more uniform ones (ASTM-F86)[14]. These methods are simple, non-expensive and effective in treating implants of different shapes and geometries.

The primary goal of this study was to investigate the effect of electropolishing, heat treatment (in air and in a salt bath) and nitric acid passivation on corrosion behavior of NiTi stents by potentiodynamic anodic polarization tests. The second objective was to describe the relationships between corrosion behavior, surface characteristics and surface treatment of NiTi stents by using scanning electron microscopy (SEM) to study the topography, Auger electron spectroscopy (AES) and X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) to analyze the chemical composition of the scale.

4.3 MATERIALS AND METHODS

The NiTi stents (50,8 at% Ni) manufactured by Nitinol Devices & Components (California, USA), consisted of rigid slotted tubes 4 mm in diameter (expanded state) and 12 mm long, with laser-cut rows of rectangles which become diamond shape apertures in the expanded state. Five different groups of samples were prepared: non-treated (NT), electropolished (EP), air-aged (AA), heat-treated (HT) and passivated (PA). The control group of stents (NT) are supplied with a self-generated heavy oxide layer directly after the machining and expansion. Electropolished stents (EP) were first micro-abraded to remove the primary oxide layer mechanically, then chemically

polished at room temperature and finally, electropolished. After electropolishing, a mirror-like surface finish is obtained. Air-aged samples (AA) are electropolished stents that have been aged at 450°C, resulting in a surface covered with a light yellow oxide layer. The heat-treated stents (HT) are electropolished stents heated in a salt bath at 500°C until obtention of a dark blue oxide layer. The chemically passivated stents (PA) are electropolished stents that were passivated in a nitric acid solution at room temperature. They exhibit the same surface finish optically as the electropolished stents. All surface treatments described in this paper were performed by Nitinol Devices & Components (California, USA). The minute details of each sample preparation remain confidential.

The corrosion resistance of the stents was evaluated by **anodic polarization tests**. The potentiodynamic experiments were carried out using a computer-controlled potentiostat (EG&G Princeton Applied Research, model 273). The tests were conducted in 37°C Hank's physiological solution with the following composition: NaCl 8 g/l, KCl 0,4 g/l, $NaHCO_3$ 0,35 g/l, KH_2PO_4 0,06 g/l, Na_2HPO_4 0,0475 g/l and $C_6H_{12}O_6$ (glucose) 1 g/l. This solution was buffered with HEPES (3,5745 g/l) at the normal physiological pH of 7,4. A saturated calomel electrode (SCE) was used as the reference and platinum as the counter electrode. The solution was deoxygenated with nitrogen gas for 1 hour before starting the experiment. The samples were immersed 30 minutes prior to the test to stabilize the open circuit potential (OCP). A scan rate of 10 mV/min. was applied starting from the OCP until obtention of the sample pitting potential. For reproducibility of results, all corrosion tests were performed continuously over a short period of time.

Scanning Electron Microscopy (SEM). A Jeol JSM 840 microscope was used to study the topography of samples before and after corrosion tests. Micrographs were taken at areas located on the external and lateral faces of the stents in the second electron imaging (SEI) mode.

Auger Electron Spectroscopy (AES) analyses were performed on samples before and after corrosion experiments with a Jeol JAMP 30 microscope. AES survey spectra (100-1200 eV) were recorded from two different spots (5 μm^2) on the external faces of each sample to identify the surface composition. Then depth profiles were measured by combining AES analysis and Argon ion sputter etching to evaluate the oxide layer thickness and the distribution of each element in the sample. Oxide thickness was evaluated from the sputtering time required to decrease the O signal in the oxide halfway from its initial intensity to the background noise level. The thickness in terms of sputtering time was converted to Angstroms by using the sputtering rate of a SiO_2 standard (10 nm/min), assuming that the sputtering rate was equivalent for NiTi oxide.

The **X-Ray Photoelectron Spectroscopy** (XPS) measurements were performed with a vacuum generator ESCALAB 3 MK II spectrometer, using Al kα radiation on samples before and after corrosion experiments. To remove salts from the physiological solution, all corroded stents were cleaned with deionized water in an ultrasound bath for 5 minutes prior to the analyses. An angulation of 20° of the specimens was used to maximize the signal from the surface of the NiTi sample. The data were collected and analyzed by a PC-AT computer. Atomic percentages of titanium and nickel were derived by survey spectra. The sensitivity factors used were 1,8 for Ti and 4,5 for Ni[15]. Furthermore, high resolution XPS spectra of C 1s, O 1s, Ni 2p and Ti 2p regions were also performed to determine the nature of their chemical bonds. Binding energies and peak areas were determined by using curvefitting routines provided by a Sursoft program. Due to the special shape of the stents, a copper sample holder was used for easy identification of any peak contribution from this device on the survey scans.

4.4 RESULTS

Anodic polarization tests

Typical potentiodynamic scanning curves for each surface condition are illustrated in Figure 4.1. These scanning curves reveal an increase of the pitting potential of treated samples ranging from 100 to 600 mV and a decrease of their passivation current density when compared to the control group (NT). In Figure 4.2, the variation of the pitting potential is reported with regard to surface treatments.

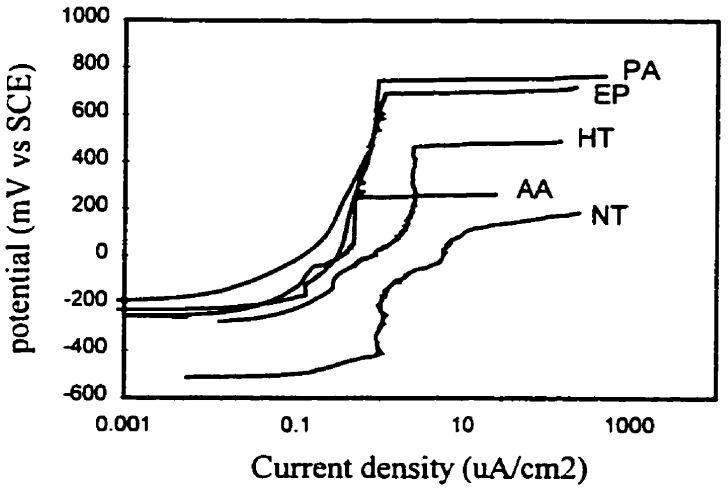


Figure 4.1 Typical potentiodynamic scanning curves

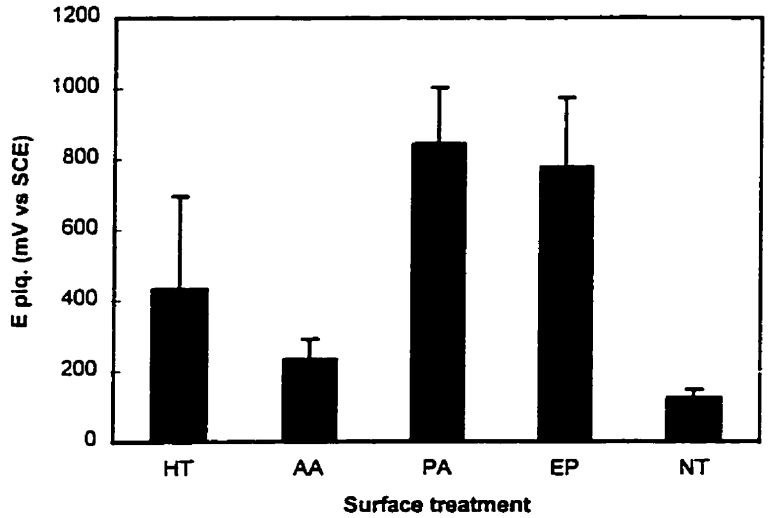


Figure 4.2 Variation of pitting potential as a function of surface treatment

SEM study

Before corrosion experiment, NT stents exhibited a very porous and irregular surface topography (Figure 4.3). After all treatments, the stent surface appeared smoother and more uniform (Figure 4.4 show EP stent). However, some cracks were visible on the lateral faces of devices at the end point of the diamond apertures (Figure 4.5).

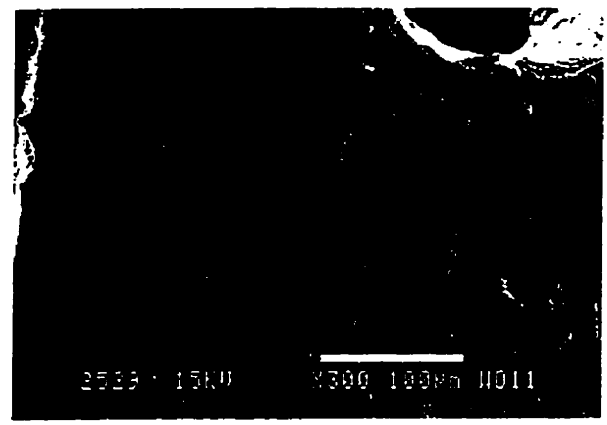


Figure 4.3 Porous and irregular surface of non-treated stent

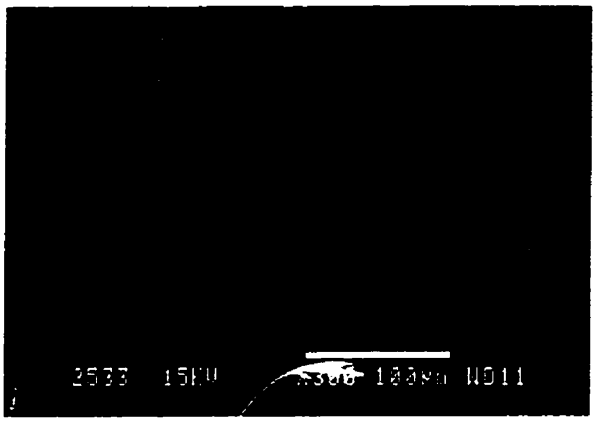


Figure 4.4 Typical smooth and uniform topography of treated stent (EP)

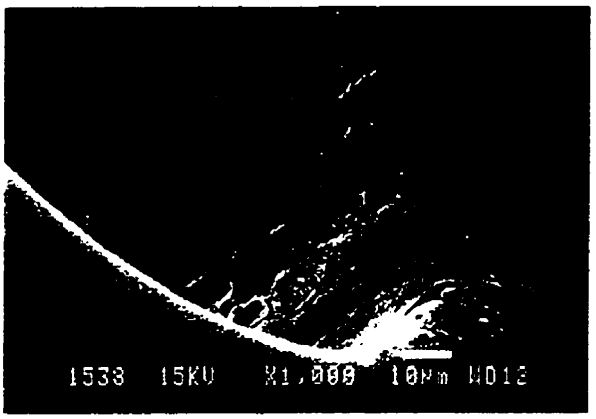


Figure 4.5 Presence of cracks on lateral face of devices at end point of 2 NiTi stent strut

Machining scratches were also apparent on external faces of all samples. Still, the topography was not uniform on all faces of devices for different surface treatments. Indeed, the oxide layer on the lateral faces of HT and AA treated stents seemed irregular compared to external faces.

After corrosion experiment, SEM analyses revealed that the corrosion process was more severe on lateral parts of all devices. Figures 4.6 and 4.7 compare the local corrosion process of the external and lateral face of stent AA.

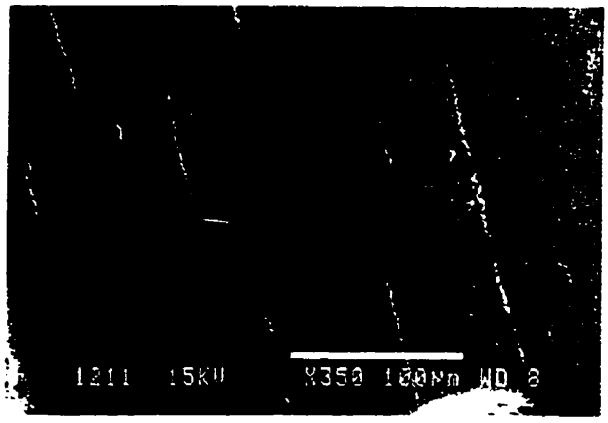


Figure 4.6 External faces of stent

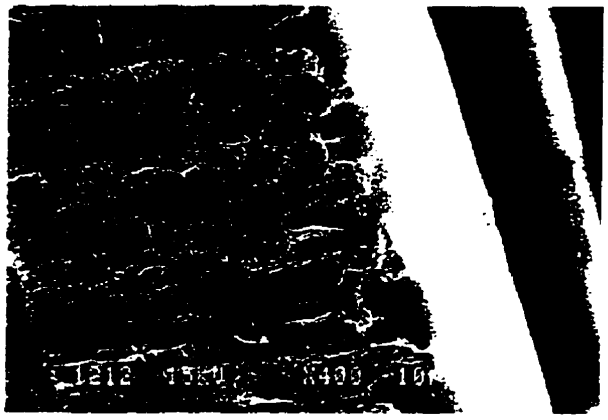


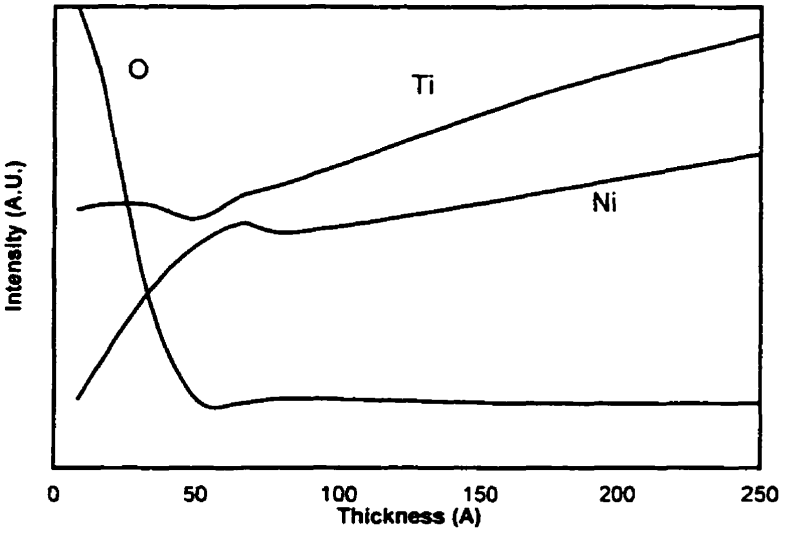
Figure 4.7 Lateral face of stent

AES study

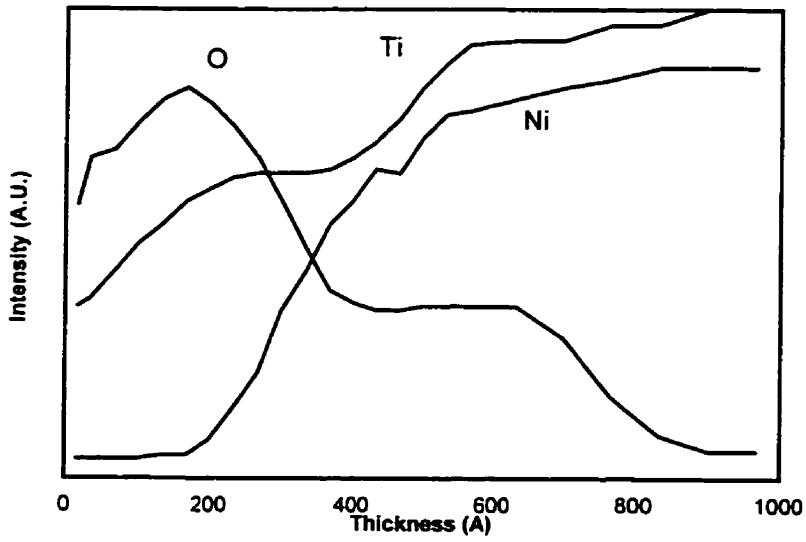
Before and after corrosion experiment, AES survey spectra demonstrated the presence of C, Ti and O on all the devices. Except on AA stents, small signals from Ni could also be randomly recorded on the survey scans. Also, signals from Ca, P, S and Cl were

randomly observed, these are attributed to the contamination of samples during manipulations and/or to the physiological solution used for the corrosion tests. No significant differences between AES survey scans and depth profiles were observed among the corroded and non-corroded specimens.

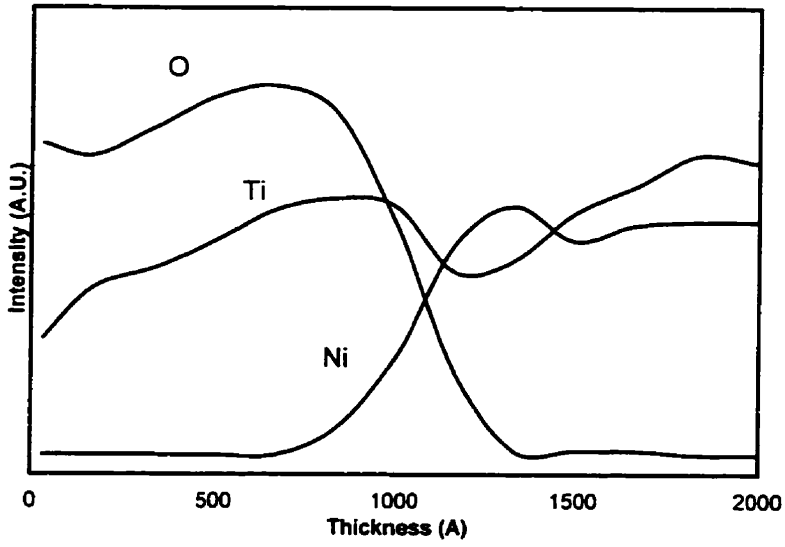
AES depth profiles of O, Ti and Ni from the surface-treated stents are reported in Figure 4.8. Elements distribution for EP and PA samples was similar while HT and AA samples exhibited very caracteristic depth profiles. The AES depth profile of the NT stent is not shown because the stents were covered by a thicker oxide layer than the Argon beam could sputter. Still, NT stent oxide layer thickness was evaluated to be on the order of 1000 nm; its main composition was of Ti and O, with a random presence of Ni.



A)



B)



C)

Figure 4.8 Typical AES depth profiles of surface treated NiTi stents for the distribution of oxygen (O), titanium (Ti) and nickel (Ni)

A) EP and PA, B) AA, C) HT

Oxide layer thicknesses of treated NiTi stents were derived from the O depth profile of samples. Table 4.1 summarizes the distribution of Ti, Ni and O and oxide layer thicknesses obtained from depth profiles for each surface-treated stent. AES depth profiles of treated samples indicated not only a variation in oxide thickness among different treatments, as reported in Table 4.1, but also a significant difference between non-treated and treated stents. No significant difference in the oxide layer thickness could be observed before and after corrosion experiments for stents with the same surface treatment.

Table 4.1 Description of elements distribution and oxide layer thickness

Surface treatment	Ni, Ti, O distribution	Oxide layer thickness (nm) mean ± STD
EP	Ti, O, Ni* → Ni, Ti	3 ± 1
PA	Ti, O, Ni* → Ni, Ti	3 ± 1
AA	Ti, O → Ti, O, Ni → Ni, Ti	24 ± 8†
		26 ± 14
HT	Ti, O, Ni* → Ni‡, Ti → Ni, Ti	91 ± 27

* random Ni signal
† thickness of each oxide layer
‡ Ni rich region

XPS study

Before and after corrosion experiments, survey scans of the treated stents indicated the presence of Ti and O from the oxide layer and also other peaks such as Cu and C from the sample holder and the contamination. Again, a low concentration of other elements (< 5%) was recorded and attributed to contamination during the preparation procedure and/or to the physiological solution. By considering the area of Ni and Ti peaks on the survey scans and their sensibility factors, the Ni/Ti ratio for each stent could be evaluated, as shown in Figure 4.9.

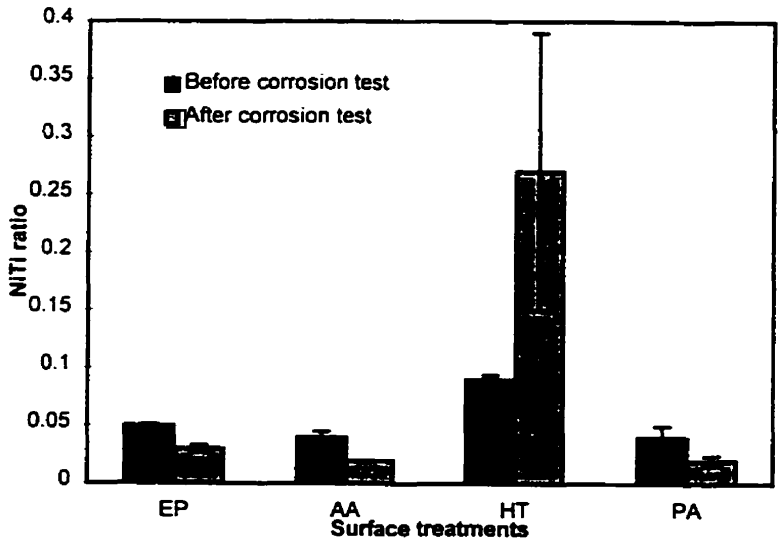


Figure 4.9 Ni/Ti ratio as a function of surface treatment before and after corrosion experiment

High resolution spectra of C, Ti, O and Ni were performed to determine the nature of the bonding between elements. Our results show that all samples exhibited the same oxide chemical composition before and after corrosion experiments. The presence of carbon on all samples (C-C, C-O and C=O) was imputed to contamination of the stent and the sample holder by organic substances. Ti spectrum for EP and PA stents was dominated by three peaks, at 454,1, 456,4 and 458,8 eV, which are assigned to metallic Ti (Ti^0), Ti_2O_3 (Ti^{+3}) and TiO_2 (Ti^{+4}) respectively[16,17]. HT and AA stents exhibited only one peak, at 458,6 or 458,8 eV, that was attributed to the TiO_2 form (Ti^{+4}). O 1s high resolution spectrum consisted of TiO_2 (529,9 eV) from the oxide layer and C=O and C-O bondings due to contamination. The very low signal from the Ni 2p region rendered difficult the precise analysis of the chemical bonding for this element. However, the higher signal from the Ni 2p region on HT stents after corrosion made it possible to determine the position of 2 peaks, at 854,7 eV and 856,4 eV, assigned to NiO and Ni_2O_3, respectively.

4.5 DISCUSSION

In the literature, the corrosion behavior of NiTi alloys in physiological environments is not clearly established and rather controversial. Sarkar et al. demonstrated that NiTi alloy was subject to an earlier breakdown of its passive film when compared to other implant materials (titanium, stainless steel and cobalt-chrome alloys) during potentiodynamic cyclic polarization tests[20]. On the other hand, Speck et al. showed that NiTi had a better resistance to corrosion, exhibiting a pitting potential during anodic polarization measurements more than 700 mV higher than 316L stainless steel, CoCrMo alloys or CoNiMo alloys[19]. Finally, a study performed by Rondelli on the corrosion performance of several commercial implant-based materials, has shown that NiTi presents an intermediate pitting potential, approximatively 800 mV vs SCE, inferior to Ti-6Al-4V (>1000 mV vs SCE) but superior to AISI 316L (approximatively 400 mV vs SCE) during potentiodynamic tests[18]. However, its corrosion resistance was significantly inferior to that of these two metals when potentiostatic scratch tests were performed. These results illustrate the variable corrosion behavior of the alloy. The complex and slow process of repassivation of the NiTi alloy once the passive film has been damaged may account for the different results obtained in the literature[18]. This finding emphasizes the importance of controlling the nature and homogeneity of the NiTi oxide film by different surface treatments. Furthermore, results from our study have underlined the importance of surface conditions on the corrosion behavior of NiTi alloy.

Polarization curves (Figure 4.1) demonstrated that all surface treatments improved the corrosion resistance of the NiTi stents in comparison with the non-treated stents (NT). As shown in Figure 4.2, all treated stents presented an increase in pitting potential values denoting a higher resistance to localized corrosion of treated samples. Furthermore, this improvement was more prominent in the case of EP and PA samples.

As we can observe by SEM, comparison of micrographs of treated and non-treated stents (Figures 4.3 and 4.4) before corrosion indicates an improvement in the topography after treatments which all produce a smoother surface. This uniformisation of the oxide layer was accentuated for our EP and PA samples. Earlier studies on Ti have shown that the morphology of the surface oxides strongly depends on the nature and microstructure of the underlying metal[21-22]. Our non-treated machined sample surfaces consisted of a plastically deformed layer. Electropolishing removed this layer, resulting in surfaces with a more homogeneous and uniform morphology. The oxide growth from this new underlying metal presented therefore a new morphology with new characteristics. Subsequently, the improvement in corrosion resistance of our samples was explained either by improvement of surface uniformity or by growth of a less deformed oxide layer on the surface.

Microscopic analysis of stents after corrosion showed a difference in the corrosion behavior on different faces of the devices. Indeed, the lateral faces of stents corroded faster than the external faces (Figures 4.6 and 4.7). This vulnerability of lateral faces may be attributed to several factors namely, heterogeneity of the surface treatment or the presence of cracks. These were observed before the corrosion experiments (Figure 4.5), and could be caused either by the laser cutting process of the tubing or by the stress concentration on these parts of the device during expansion. Also, as shown in Figure 4.6, machining marks rendered the external surface of stents more vulnerable to corrosion on all samples. The importance of surface coating homogeneity for the corrosion resistance of NiTi alloy has been underlined by many authors[8,9,17]. The effect of stress and strain is not well established, but some studies have shown that these factors may play a role in the corrosion behavior of NiTi alloys[22,23]. Our SEM results demonstrated that an uniform and smooth oxide layer was a predominant factor for the improvement of the corrosion behavior of surface-treated NiTi stents. The non

uniformity of the oxide layer on areas of high mechanical stress may therefore highlight the importance of strain on corrosion behavior.

Furthermore, Auger analyses of the oxygen distribution demonstrated the effect of oxide thickness on the corrosion behavior. A variation of oxide layer thickness ranging from 1000 nm (NT stents) to 3 nm (PA stents) was measured. When these results were related to those obtain for the corrosion behavior of the samples, it was possible to conclude that oxide layer thickness controlled corrosion resistance less than surface uniformity. Stents which resisted during corrosion were characterized by a thinner oxide layer (EP and PA stents) compared with the other treated and non-treated devices. Similar results, on plates heated at 900°C, were obtained by Sohmura on the reliability of a thin oxide layer for improvement of corrosion resistance of NiTi[9].

Because of stents geometry, lateral and external faces are oriented differently with respect to the Argon sputter beam and analyzer. This situation makes it difficult to compare the composition and oxide layer thickness of these two faces. Thus, we were unable to discern to what extent the thickness and composition of the oxide layer controlled the corrosion behavior of these parts of the stents.

Ni/Ti ratios determined by XPS survey scans, reported in Figure 4.9, demonstrated a higher value associated with HT stents than with the other surface-treated devices. Moreover, while AA, EP and PA samples are characterized by a decrease in this ratio after corrosion experiments, HT Ni/Ti ratio significantly increased. This result supposes that AA, PA and EP samples are subjected during the corrosion process to Ti enrichment in the surface oxide and that the higher ratio measured for HT stents may be attributed to the diffusion of more Ni elements on the alloy surface. Diffusion of Ni in a defective titanium oxide layer has already been shown in many studies [11,25-27]. These findings suggest that the oxide layer on HT stents may have been defective and promoted the

diffusion of Ni, confirmation of this hypothesis was however not obtained during this work. Transmission electron spectroscopy (TEM) or more extensive XPS studies should be undertaken to confirm this assumption.

XPS results on similar chemical composition of the surface oxide layer for EP and PA stents were in accordance with our Auger analyses. Even though AES depth profiles showed that the surface oxide of HT devices seemed to be composed only of Ti and O, Ni signals recorded during XPS scans may be due to the Ni-rich region observed on these stents above the NiTi bulk material. Also, the random nature of Ni in the oxide may explain that the Ni signal was not recorded on those stents during our Auger analyses. Chan et al. attributed this Ni signal in the oxide layer to segregation of Ni that can occur in NiTi alloys under certain oxidation conditions[17].

XPS high resolution spectra also showed that our surface treatments encouraged the growth of a Ti oxide layer to the detriment of Ni oxidation. This finding is very favorable for good biocompatibility of surface-treated NiTi stents, since the titanium oxide layer has been shown to be very stable and protective of titanium implant materials and is responsible for its high tissue compatibility[21]. This preferential oxidation process of NiTi alloy has already been described by other authors. A study of the oxidation process of NiTi demonstrated that formation of TiO_2 was predominant and oxidation of Ni was insignificant [28]. From a thermodynamic standpoint, formation of a TiO_2 oxide layer on NiTi is a more favorable process than oxidation of Ni, which explains the very low concentration of Ni in our samples[17]. On EP and PA samples, it is evident that this Ti oxide coating is thin, since peaks from the underlying substrate (metallic Ti) were apparent in the high resolution spectra of this element.

From our Auger depth profile analyses and XPS results, it seems that except for the nitric acid passivated samples (PA), surface treatment of NiTi stents affects both the

composition and thickness of the oxide layer of the devices. However, no direct relation could be established with respect to the effect of the composition of the oxide layer on the corrosion resistance, because of the variation of the layer as a function of its thickness and uniformity.

4.6 CONCLUSION

Results showed that electropolishing (EP), heat treatment (HT), air aging (AA) and nitric acid passivation (PA) of NiTi improved the corrosion behavior of the alloy. Surface topography analyses by SEM and chemical analyses by AES and XPS provided relations between surface physicochemical properties and corrosion behavior. Our study demonstrated that the surface treatments performed on NiTi stents modified the topography, thickness and composition of the oxide layer. These parameters influenced the corrosion behavior of our treated samples to different extents.

SEM micrographs indicated that the surface condition plays an important role in NiTi stent corrosion resistance. Treated samples with smooth and uniform surfaces demonstrated a higher corrosion resistance than non-treated ones which possessed a very porous and irregular oxide layer. From the AES results, it seems that corrosion resistance of NiTi stents is not directly related to oxide layer thickness. Indeed, the best corrosion behavior was observed for stents with the thinnest and most uniform oxide layers (EP and PA). Our XPS and Auger analyses revealed the effect of surface treatments on promoting the growth of a more protective Ti oxide layer on the surface of the alloy and emphasized the different oxide compositions of the scale. In conclusion, our results show that oxide layer uniformity is a predominant factor for the protection of NiTi stents against corrosion.

The present study has important implications for the final steps of fabrication of NiTi implants. Our results show that electropolishing NiTi significantly increases the corrosion resistance of the alloy. Subsequent treatments such as air aging, heat treatment and passivation in a nitric acid solution seem to have a detrimental or slightly beneficial effect. Moreover, these additional steps may increase the cost of of stent production.

The authors gratefully acknowledge the financial and material support of NSERC (Canada) and Nitinol Devices & Components Inc. (California, USA). They also want to thank S. Poulin from ESCALAB and S. Martel from $(CM)^2$ (École Polytechnique of Montreal, Canada) for their technical help and advises.

4.7 References

1. U. Sigwart, J. Puel, V. Mirkovitch, F. Joffre, L. Kappenberger, "Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty", *N. Eng. J. Med.*, **316**, 12, 701-706, (1987).
2. P.W. Serruys et al., " A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease", *N. Eng. J. Med.*, **331**, 489-495, (1994).
3. D.L. Fishman et al., " A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease", *N. Eng. J. Med.*, **331**, 496-501, (1994).
4. K.W. Lau, U. Sigwart, "Intracoronary stents", *Ind. Heart J.*, **43**, 3, 127-139, (1991).
5. M. Berger-Gorbet, B. Broxup, C.H. Rivard, L'H. Yahia, "Biocompatibility testing of NiTi screws using immunohistochemistry on sections containing metallic implants", *J. Biomed. Mat. Res.*, **32**, 243-248, (1996).

6. M. Assad, L'H. Yahia, E.A. Desrosiers, S. Lombardi, C.H. Rivard, "Cyto-compatibility testing of Ni-Ti", in *Shape Memory and Superelastic Technologies*, edited by A. Pelton, D. Hodgson and T. Duerig (Shap. Mem. Super. Tech. Proc., Pacific Grove, CA, 1994), 215-220, (1994).

7. S.A. Shabalovskaya, J. Cunnick, J. Anderegg, B. Harmon, R. Sachdeva, "Preliminary data on in vitro study of proliferative rat spleen cell response to Ni-Ti surface characterized using ESCA analysis", in *Shape Memory and Superelastic Technologies*, edited by A. Pelton, D. Hodgson and T. Duerig (Shap. Mem. Super. Tech. Proc., Pacific Grove, CA, 1994), 209-214, (1994).

8. J.L.M. Putters, D.M.K.S. Kaulesar Sukul, G.R. de Zeeuw, A. Bijma, P.A. Besselink, "Comparative cell culture effects of shape memory metal (Nitinol®), nickel and titanium: a biocompatibility estimation", *Eur. Surg. Res.*, **24**, 378-382, (1992).

9. F. Villermaux, M. Tabrizian, L'H. Yahia, M. Meunier, D.L. Piron, "Excimer laser treatment of NiTi shape memory alloy biomaterials", *Appl. Surf. Sci.*, **110**, 62-66, (1997).

10. T. Sohmura, "Improvement in corrosion resistance in Ti-Ni shape memory alloy for implant by oxide film coating", in World Biomat. Congress Proc., Kyoto, Japan, 1988, p. 574.

11. J. P. Espinos, A. Fernandez, A.R. Gonzalez-Elipe, "Oxidation and diffusion processes in nickel-titanium oxide systems", *Surf. Sci.*, 295, 402-410, (1993).

12. A. Bloyce, P.H. Morton, T. Bell, "Surface engineering of Titanium and Titanium alloys", in *ASM Handbook*, 5, ASM International, 835-851, (1994).

13. A. Wisbey, P.J. Peter, M. Tuke, "Effect of surface treatment on the dissolution of titanium-based implant materials", *Biomat.*, **12**, 470-473, (1990).

14. Annual Book ASTM Standards, Section 13, "Medical devices and services", Vol. 13.01, ASTM, Philadelphia, PA, (1996).

15. J.B. Lumsden, "X-ray photoelectron spectroscopy", in Metals Handbook, 9th ed., Vol. 10, ASTM, 568-580, (1986).

16. J.F. Moulder, W.F. Stickle, P.E. Sobol, K.D. Bomben, *Handbook of x-ray photoelectron spectroscopy* edited by J. Chastain, Perkin-Elmer Corporation, (1992).

17. C.-M. Chan, S. Trigwell, T. Duerig, "Oxidation of a NiTi alloy", *Surf. Interf. Anal.*, **15**, 349-354, (1990).

18. G. Rondelli, "Corrosion resistance tests on NiTi shape memory alloy", *Biomat.*, **17**, 20, 2003-2008 (1996).

19. M. Speck, A.C. Fraker, "Anodic polarization behavior of Ti-Ni and Ti-6Al-4V in simulated physiological solutions", *J. Dent. Res.*, **59**, 10, 1590-1595 (1980).

20. K. Sarkar, W. Redmond, B. Schwaninger, A.J. Goldberg, "The chloride corrosion behavior of four orthodontic wires", *J. Oral Rehab.*, **10**, 121-128 (1983).

21. J. Lausmaa, L. Mattsson, U. Rolander, B. Kasemo, "Chemical composition and morphology of titanium surface oxides", in *Material Research Society Symposium Proceeding*, **55**, 351-359, (1986).

22. C. Larsson, P. Thomsen, J. Lausmaa, M. Rodhal, B. Kasemo, L. E. Ericson, "Bone response to surface modified titanium implants: studies on electropolished implants with different oxide thicknesses and morphology", *Biomat.*, **15**, 13, 1062-1074, (1994).

23. F. Villermaux, M. Tabrizian, L'H. Yahia, G. Czeremuskin, D.L. Piron, "Corrosion resistance improvement of NiTi osteosynthesis staples by plasma polymerized tetrafluoroethylene coating", *Bio-Med. Mat. Engin.*, **6**, 241-254, (1996).

24. C. Montero-Ocampo, H. lopez, A. Salinas Rodriguez, "Effect of compressive straining on corrosion resistance of a shape memory Ni-Ti alloy in ringer's solution", *J. Biomed. mat. Res.*, **32**, 583-591, (1996).

25. S. Bourgeois, D. Diakité, F. Jomard, M. Perdereau, R. Poirault, "Nickel deposition on TiO_2(100): Characterization by AES and SIMS", *Surf. Sci.*, **217**, 78-84, (1989).

26. A. R. Gonzalez-Elipe, A. Fernandez, J. P. Espinos, G. Munuera, Role of Hydrogen in the mobility of phases in Ni-TiO_x systems, *J. Catal.*, **131**, 51-59, (1991).

27. G. Munuera, A.R. Gonzalez-Elipe, J.P. Espinos, XPS study of phase mobility in Ni/TiO_2 systems, *Surf. Sci.*, **211/212**, 1113-1122, (1989).

28. V.G. Chuprina, "A study of the process of oxidation of titanium nickelide II. Phase composition of the scale", *Sov. powder metal. and metal cer.*, **28**, 4, 468-472, (1989).

Chapitre 5. Résultats des études de biocompatibilité *in vitro* et *in vivo*

Ce chapitre constitué de l'article intitulé « A preliminary investigation of biological response to shape memory NiTi stents», soumis au Journal of Applied Biomaterials, présente les résultats obtenus lors des essais de prolifération cellulaire et d'implantation paramusculaire chez des lapins.

Comme nous avons pu le constater au chapitre précédent, tous les traitements de surface (électropolissage, passivation à l'acide nitrique et traitements thermiques) améliorent à différents degrés la résistance à la corrosion de stents en NiTi. La caractérisation physico-chimique de la surface de nos échantillons nous a par ailleurs permis d'étudier l'uniformité, l'épaisseur et la nature chimique de la couche d'oxyde formée par les différentes méthodes.

Maintenant, afin d'établir le lien entre la résistance à la corrosion, les conditions de surface et la biocompatibilité, nous avons entrepris, dans cette deuxième partie du projet d'étudier la biocompatibilité *in vitro* et *in vivo* de nos échantillons. Pour ce faire, l'étude de la cytotoxicité de plaques de même composition avec les mêmes traitements de surface a été évaluée par un test de prolifération cellulaire. L'utilisation de ce type d'échantillon de géométrie plus simple que les stents est nécessaire pour l'étude de l'attachement cellulaire sur une surface plane. Ensuite, dans un deuxième temps, la caractérisation de la réponse inflammatoire de tissu musculaire en contact avec des stents en NiTi traités a été évaluée chez des lapins.

Au cours de ce chapitre, nous allons tout d'abord présenter un résumé en francais de l'article qui a été écrit suite aux résultats obtenus, suivi de l'article en lui-même.

L'alliage NiTi offre plusieurs avantages pour la fabrication de stents coronariens grâce à ses propriétés de mémoire de forme, sa superélasticité et sa radiopacité. Cependant, plusieurs auteurs ont souligné la dissolution sélective de Ni durant le processus de corrosion du NiTi qui peut avoir des conséquences néfastes étant donné le potentiel toxique de cet ion. L'amélioration de la résistance à la corrosion de stents en NiTi par différents traitements de la surface (électropolissage, traitements thermiques et passivation à l'acide nitrique) a été rapportée lors de travaux précédents. Au cours de cette étude, une évaluation comparative de la biocompatibilité de ces stents a été effectuée par des tests *in vitro* et *in vivo*. Tout d'abord, un test de proliferation cellulaire a été accompli pour évaluer la cytotoxicité du NiTi traité en contact avec des fibroblastes humains. Ensuite, l'implantation de stents dans le muscle dorsal paravertébral de lapins a été effectué afin d'étudier la réponse inflammatoire générée par ces implants. Les tests de prolifération cellulaire ont indiqué, en général, une biocompatibilité *in vitro* de nos échantillons similaire au groupe contrôle. L'étude d'implantation *in vivo* a démontré, une réduction graduelle de l'épaisseur de la capsule fibro-cellulaire entourant les implants en fonction du temps. Après une période de 12 semaines, les capsules fibreuses entourant les différents implants mesuraient environ 0.07 mm suggérant une réponse biologique similaire à tous les traitements de surface. Cette faible valeur de capsule fibro-cellulaire indique que tous nos implants en NiTi étaient également relativement inertes.

A preliminary investigation of biological response to shape memory NiTi stents

C. Trépanier[1], T.K. Leung[2], M. Tabrizian[1], L'H. Yahia[1]*, J.-G. Bienvenu[2], J.-F. Tanguay[2], D.L. Piron[3], L. Bilodeau[2]

[1]Biomedical Engineering Institute, Ecole Polytechnique of Montreal, Quebec, H3C 3A7, Canada

[2]Montreal Heart Institute, Quebec, H1T 1C8, Canada

[3]Metallurgy and Material Engineering Department, Ecole Polytechnique of Montreal, Quebec, H3C 3A7, Canada

*to whom correspondence should be addressed

5.1 ABSTRACT

NiTi offers many advantages for the fabrication of coronary stents, namely its shape memory, superelasticity and radiopacity properties. However, many authors highlighted a selective dissolution of Ni from the alloy during the corrosion process that could lead to potential toxicity. The improvement of NiTi stents corrosion resistance by different surface treatments (electropolishing, heat treatment and nitric acid passivation) has already been reported in a previous paper. In the present study, a comparative biocompatibility evaluation of such stents was performed through *in vitro* and *in vivo* assays. First, a cell proliferation test was accomplished to evaluate the cytotoxicity of surface treated NiTi using human fibroblasts. Then, stent implantation was performed, in rabbit paramuscular muscle, in order to study the inflammatory response generated by the same implants. Cell proliferation tests indicated, in general, an *in vitro* biocompatibility of our samples similar to the control group. *In vivo* implantation study demonstrated, overall, a gradual reduction of the fibro-cellular capsule thickness surrounding the implants with time. After a 12 weeks implantation period, the fibrous capsules surrounding the different implants tended toward the same value of 0,07 mm suggesting that all surface treatments produced a similar biological response. This low value of fibro-cellular capsule indicated that our NiTi surface treated implants were relatively inert

5.2 INTRODUCTION

Implantation of coronary artery stents after angioplasty has become a well-established procedure in interventional cardiology[1]. Recent studies have shown that these devices were highly effective for the prevention of occlusion and restenosis of atherosclerotic arteries after angioplasty[2,3]. The use of NiTi, as an alternative material to stainless steel and tantalum, offers many advantages such as shape memory, superelasticity and

radiopacity properties[4]. Preclinical studies performed on dogs and pigs have underlined the efficacy, hemocompatibility and reliability of NiTi stents[5-7]. In addition, implantation of these devices in human peripheral arteries yielded good acute results[8]. The long-term outcome is however still unknown.

Despite all its potential advantages, this alloy high Ni content (50 at.%) is of great concern for its biocompatibility. Release of Ni ions for all metallic implants takes place during the corrosion process in the physiological environment. Several authors have already reported on the selective dissolution of Ni ions during the corrosion process of NiTi[9,10]. Even though Ni is an essential element in the human body, its excess may cause allergy[11] and promote carcinogenesis and toxic reactions[12]. It seems that substitution of essential divalent metals like Ca^{+2}, Mg^{+2} and Zn^{+2} by Ni^{+2} in proteins and enzymes is responsible for modification of their structure[13]. Other studies have shown that this Ni^{+2} ion tends to accumulate in the cells and affects their cellular metabolism like DNA synthesis[14,15]. In addition, *in vivo* studies have clearly shown that nickel can cause a significant inflammatory reaction by opposition to titanium, which causes minimal cell damage and foreign body reaction when inserted in rabbits paravertebral mucles[16].

Furthermore, *in vitro* and *in vivo* biocompatibility evaluation of NiTi through cell cultures or animal implantation methods revealed conflicting results. Some *in vitro* studies have shown that NiTi led to a significative diminution of cell proliferation rate[17,18] while others observed no significant influence of the metal[19]. Also, Abiko et al. have correlated a decrease in cytocompatibility to a poor corrosion resistance of NiTi porous samples[20]. In addition, cell morphological modifications were associated to NiTi by Castleman et al.[17] as opposed to more inert material such as stainless steel.

Regarding the *in vivo* biocompatibility of NiTi, Cutright et al. demonstrated minimal tissue reaction around sutures wire in rats, results that were in fact comparable to those obtained with stainless steel[21]. In a study on the biological reaction to NiTi implanted in rabbits tibias, Oonishi et al. have observed Ni elements in the tissues surrounding the implants even though no adverse biological reaction could be noticed[22]. A more recent study performed by Berger-Gorbet et al., demonstrated a slower osteogenesis process associated to NiTi screws implanted in rabbits tibias compared to vitallium, titanium and stainless steel screws, suggesting that NiTi might be a less biocompatible material[23]. Since biocompatibility seems to vary with local Ni ions release and this release is highly related to corrosion[24,25], the key to NiTi biocompatibility resides in improvement of the corrosion behavior of the material.

In order to achieve this goal, differentsurface treatments have been proposed to protect the surface of the alloy from corrosion. For example, improvement of corrosion behavior has been reported after covering NiTi with a polymeric film or by laser and oxidation treatments of its surface[26-28]. Among those treatments, oxidation of the surface of NiTi seems to be very promising because a thin oxide layer was shown to be able not only to protect the surface from corrosion but also to sustain large deformations induced by the shape memory effect[28].

Improvement of NiTi stents corrosion resistance by modification of the oxide layer by electropolishing, heat treatments (in air or in salt bath) and nitric acid passivation has been previously demonstrated[29]. The aim of the present study is to evaluate the biological response to surface treated NiTi stents, specifically addressing cytotoxicity and inflammatory response issues, by undertaking *in vitro* cell proliferation tests and *in vivo* animal implantation assays.

5.3 Materials and methods

Materials

Stents (diameter of 4 mm, length of 14 mm in the expanded state) were manufactured by machining equiatomic (50,8 at% Ni) NiTi tubing and by laser cutting diamond shaped apertures. Four different groups of samples were prepared by Nitinol Devices and Components Inc. (Fremont, California, USA). Electropolished stents (EP) have been first, micro-abraded to remove mechanically the primary oxide layer, then, chemically polished at room temperature and finally, electropolished to obtain an oxide layer with a mirror-like surface finish. Air aged samples (AA) are electropolished and air aged at 450°C to produce a light yellow oxide layer. The heat treated stents (HT) are electropolished and heat treated in salt at 500°C to produce a dark blue oxide layer. The passivated stents (PA) are electropolished and passivated in a nitric acid solution at room temperature. They optically exhibit the same surface finish as the electropolished stents. The details of each surface treatments remain confidential.

For the *in vivo* experiment, the stents were longitudinally cut in two hemicylinders in order to maximize the contact area between the implant and muscle and avoid creating a hollow space. NiTi plates with the same surface conditions were used for the cell proliferation test to allow the study of cellular attachment on the metal surface and isolate the effect of the material itself from the implant design

All samples were cleaned ultrasonically in soapy water (5 min) and acetone (5 min), rinsed in deionized water (2 X 5 min), air dried and autoclaved prior to experiments.

In vitro cell proliferation test

Cell culture

Derm was collected from biopsy performed on human arm skin. Sections of 2 mm of diameter were preserved in Dubelcco's Modified Eagles Medium (DMEM) containing 4,5 g glucose/l (high glucose) and supplemented with non-essential amino acids (Gibco), 1 mM sodium pyruvate, 100 U/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycine. Each segment was cleaned under sterile conditions, cut in small fragments and placed in a culture dish containing growth medium (DMEM containing 1000 mg/l glucose (low glucose), 2 mM/l glutamine, 100 U/ml penicillin, 100 ug/ml streptomycine, 10% FVS (Fetal Veal Serum), 10 % CF (Calf Serum)). Then, the growing human fibroblast cells were incubated at 37°C in an atmosphere of 5% CO_2 at 95% humidity. When confluent, the cells were trypsinized and seeded in large culture dishes. For our experiments, the fibroblasts were used after their 7th passage.

Growth curves

NiTi surface treated plates were placed in the bottom of 35 mm of diameter petri dishes. 10^4 cells were seeded in each petri dish, covering the upper surface of samples and were incubated at 37°C with 5% CO_2. During the incubation period, cell culture medium was changed every 4 days. To determine the growth curves of the fibroblasts, cells were detached with a 0,025% trypsin solution, rinsed with PBS and counted using an hemocymeter grid. This procedure was repeated at intervals of 2 days for a total period of 10 days. In order to study the attachment of the cells on treated metallic surface and also to eliminate the possibility of disruption of the cell layer by plate movement in petri dish during the manipulations, NiTi plates were removed and placed in a new sterile petri dish containing only PBS prior to trypsinization. The average cell number on the plates was estimated by trypsinization of all the plates in a unique petri dish .

Doubling time (period required to double the cell number) was also calculated for each growth curve by calculating the slope in the logarithmic growth portion and was expressed in hours.

The negative control (CON) consisted of the measurement of the cell proliferation of fibroblasts in Petri dishes devoid of metallic plates.

In vivo implantation experiment

Animals

Fifteen healthy female New Zealand white rabbits, weighing 2-3 kg, were used for this study. The animals were divided in three groups for 2, 6 and 12 weeks implantation periods. The rabbits were taken care of according to the Canadian Council on Animal Care Regulations during the course of this study.

Implantation

The rabbits were anesthetized by intramuscular injection of a combination of Ketamin (35 mg/kg) and Xylazin 5 mg/kg (Rogar STD Inc., Montreal, QC, Canada). The low dorsal region of the rabbit was shaved and the skin was cleaned and disinfected with isopropylic alcohol and Stanhexidin. Longitudinal incisions of approximately 2 cm were made in the skin, on each side of the spine, near the paravertebral back muscle. Xylocaine (Astra Pharma Inc., Mississauga, Ont., Canada) was sprayed in the incision to locally anesthetize the implantation area. Four NiTi hemicylinders with 4 different surface treatments were inserted on a predefined muscle bundle of the paravertebral muscles (2 on each side with a distance of at least 2 cm between them) and the aponeurosis was closed with Dexon II 4-0 monofilament suture (Davis and Geck Cyanamid Inc., Montreal, QC, Canada).

Histology

The animals were sacrificed using an overdose of Penthotal (Abbott laboratories Ltd., Montreal, QC, Canada) administrated intravenously. Each implant and surrounding tissues were removed *en bloc* and immersed in 10% buffered formalin solution. Excess tissue was removed and then, the implants and remaining tissues were sectioned in the middle in order to study the cellular reaction in this region of the hemicylinder. The embedded stent struts were then carefully cut and then extracted by one end. The stented segment was processed with paraffin, and transverse sections (approximately 5 μm) were cut perpendicular to the longitudinal axis of the implant and stained with HPS (Hematoxylin-Phloxin-Safran) or Gomori trichrome to allow the evaluation of the tissular reaction to NiTi with different surface conditions. The inflammation was quantified by measuring the fibrous capsule thickness surrounding NiTi implants through optical microscopy (Leitz, Diaplan). An average of multiple measurements was made from each stent strut site to the limit of the normal muscle fibres to characterize the cellular response around it.

5.4 RESULTS

In vitro cell proliferation test

Growth curves of fibroblasts in contact with NiTi plates (EP, PA, HT, AA) and in the control group (CON) as a function of the incubation period are reported in Figure 5.1. After 10 days of incubation, there was no significant differences between cell number in Petri dishes containing HT, AA and PA samples compared to CON. However, after the same period of time, there was fewer cells in dishes with EP samples ($P<0.05$) than in all other cultures. Furthermore, from day 6, fibroblasts cells in contact with EP samples exhibited a slower rate of cell proliferation than the control group (ANOVA and Scheffe F-tests, $P<0.05$).

During the logarithmic growth phase, no significant differences were found between doubling times of the control group and PA, AA and HT groups (Table 5.1). However, doubling times of fibroblast cells were significantly longer in dishes containing EP samples than in HT and CON culture media.

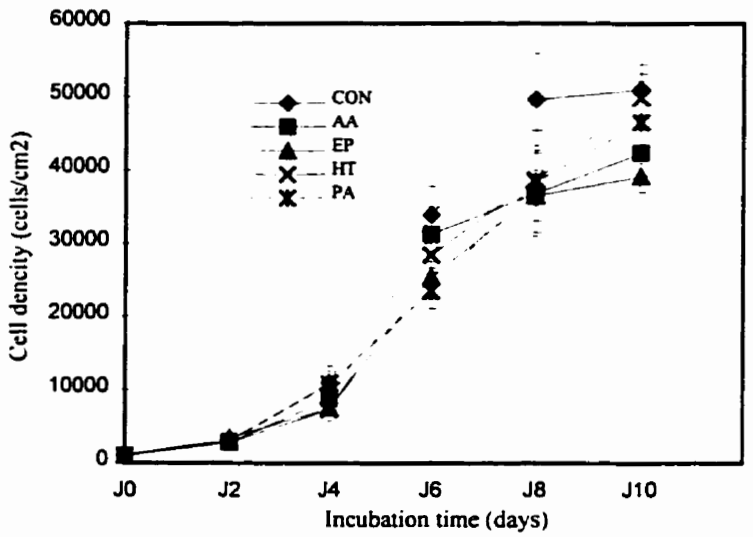


Figure 5.1 Growth curves of fibroblast cells

Table 5.1 Doubling time of cells as a function of surface treatments

Surface treatment	Doubling time (h)
CON	8,2 ± 1,0
HT	8,1 ± 1,1
AA	8,7 ± 1,5
PA	9,2 ± 1,9
EP	11,6 ± 1,8

Values are means ± SD

The average cell proliferation curves of fibroblasts on the different surface treated NiTi plates are presented in Figure 5.2. Similar growth end attachment can be seen on HT, PA and AA samples. On the other hand, cell density on EP plates appeared lower than on the other samples after more than 6 days of incubation.

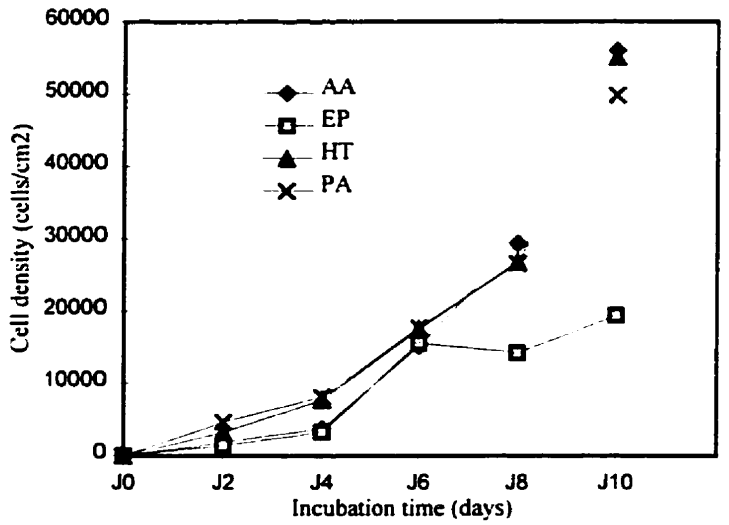


Figure 5.2 Average cell proliferation on surface treated NiTi plates

In vivo implantation experiment

All implant sites were square holes surrounded by a thin layer of fibro-cellular tissue near normal or degenerative muscle fibers for all periods of implantation. Figure 5.3 illustrates an histological section where an implant has been inserted for 2 weeks. In the proximity of NiTi stent struts, macrophages, fibroblasts and connective tissue were easily identified (Figure 5.4). Thereafter (6 to 12 weeks), a general decrease in fibrous capsule thickness and in cellularity of the peri-implant reaction were noticed (Figures 5.5 and 5.6). Degenerative muscle fibers could be distinguished when a stent strut was in direct contact with the endomysium membrane. The presence of a few red cells could also be noticed, indicating internal bleeding during the devices implantation. In addition,

for the 12 weeks implantation period group, some areas of fatty infiltration were evident near some implants.

Figure 5.3 Histological section after 2 weeks of implantation (100X)

Figure 5.4 Macrophages, fibroblasts and fibrous tissue near implant sites (300X)

Figure 5.5 Typical histological section 6 or 12 weeks after implantation (100X)

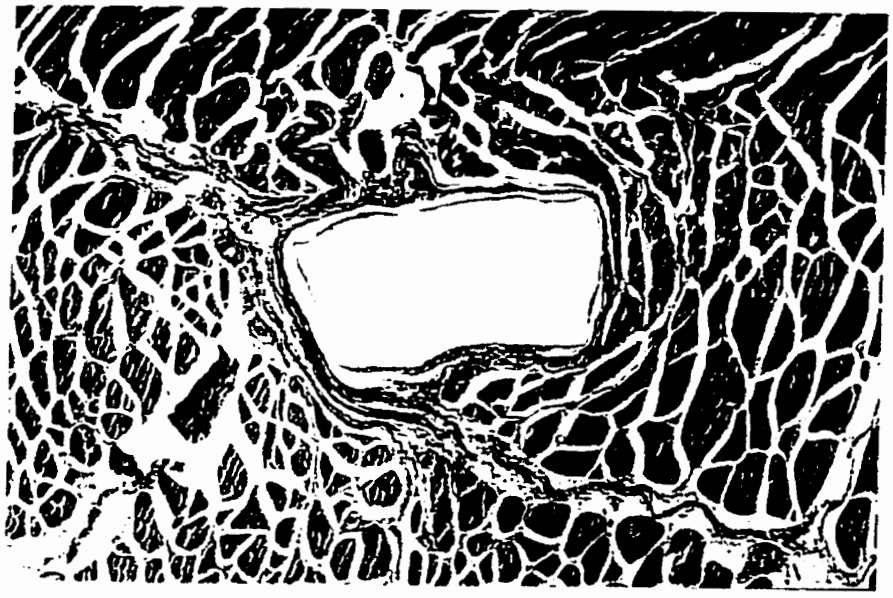


Figure 5.6 Typical fibrous tissue surrounding found near the junction of 2 NiTi stent struts after 6 or 12 weeks of implantation (200X)

Thickness of the fibro-cellular capsule ranged from 0,07 mm to 0,17 mm after 2 weeks, from 0.04 mm to 0.18 mm after 6 weeks and 0,06 to 0,09 mm after 12 weeks as shown in Figure 5.7. Data from 1 animal after 6 weeks of implantation were eliminated since the peri-implant (all 4 samples) observed inflammatory reaction was more than twice the values of other specimen. For the 2 weeks assessment, no significant difference could be observed in the fibrous response for the different surface treated stents mainly due to the high variability of the tissue response. After 6 weeks, however, statistical analysis revealed a significant greater fibrous capsule thickness around the HT stents compared to the other samples (ANOVA and Tukey tests, $P<0.05$). The 12 weeks implantation period demonstrated a converging trend to the same level of fibrous tissue thickness, generally lower than the 6 weeks implantation group biological response, for all specimens.

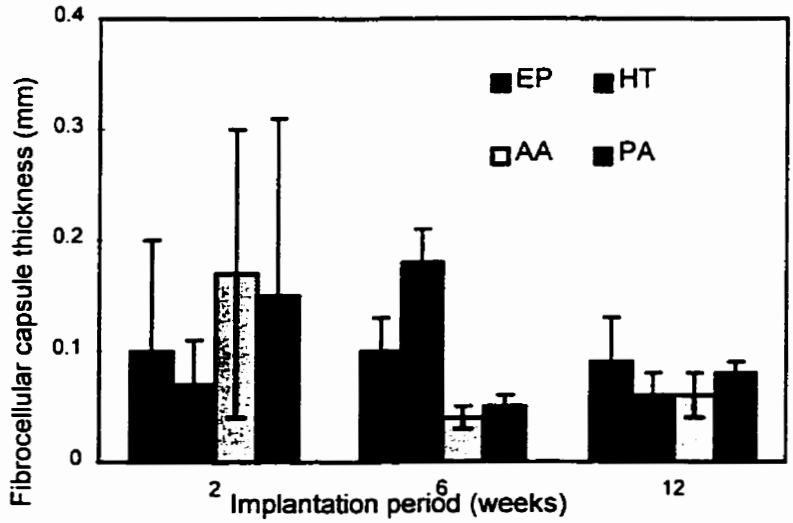


Figure 5.7 Fibrocellular capsule thickness as a function of surface treatment and implantation period

5.5 DISCUSSION

Biocompatibility of metallic implant materials can be related to their ability to generate changes, even minimal, to adjacent living cells. The presence of an irritant, like Ni in our case, may cause certain toxic effects when it is present in a sufficient concentration and a long enough period of time. *In vitro* studies of cell proliferation provide, thus, valuable preliminary information on metals toxicity but they can not substitute for animal implantation experiments. Indeed, after *in vivo* implantation of a foreign material, restoration of the tissue is a normal host response of biological living system. The inflammatory process is closely related to the repair process as it reacts to destroy the injurious agent and minimize the contact between the foreign material and the living tissue.

During our *in vitro* biocompatibility tests, all surface treated plates, except EP plates, were found as compatible as the control group. Indeed, cell proliferation of the control group was similar to growth in dishes containing AA, PA and HT samples (Figure 5.1). Furthermore, no significant differences in cell doubling time was found among these surface treated specimens (Table 5.1). AA, PA and HT surface treatments seemed therefore to limit the dissolution of Ni ions and therefore represent enhanced biocompatible surfaces by *in vitro* standards.

EP samples had, however, a slowing effect on the human fibroblasts proliferation. In fact. when we observe the cells growth on plates (Figure 5.2), it seems that the primary effect of EP samples was to hinder the cells attachment on the metal. This effect of EP plates was surprising because, from our previous corrosion and surface characterization studies, we anticipated similar cytocompatibility behaviors for PA and EP samples. Indeed, EP specimens exhibited the same corrosion behavior and surface properties (roughness, oxide layer thickness and chemical composition) as PA samples even

though these were passivated in a nitric acid solution during the last step of production. We can hypothesize, thus, that chemical passivation by nitric acid of electropolished NiTi samples could affect other surface characteristics such as surface energy, removal of surface contaminants, which may influence the material cytocompatibility.

Still, if we compare our results to data obtained during other studies performed in similar conditions, we can appreciate that our EP plates did not affect as much cell proliferation as non-treated NiTi samples. Indeed, Villermaux et al.[18] observed a lower ratio cell in contact with NiTi / cell in control group equal to 0,7 than in our study (0,8). Also, Castleman et al., in their first set of experiments with human fetal lung fibroblasts observed a value of 0,5 for this ratio[17]. Thus, if we compare to other studies, all our surface treatments have improved cytocompatibility of NiTi material to different extents.

The *in vivo* experiment showed that all surface treated NiTi implants were characterized, in general, by a decrease of the inflammatory response as a function of the implantation time, indicating a good response to our surface treated NiTi material by the biological environment (Figure 5.7).

Many studies have used the inflammatory response expressed in fibrous capsule thickness to quantify the biocompatibility level of a material[16,30]. Castleman et al. reported a capsule thickness ranging from 0,38 to 0,81 mm for untreated NiTi plates implanted into beagles femurs after 3 months[30]. No significant differences were noted between histological analyses of samples of muscles fibers adjacent to NiTi and those taken from dogs with Co-Cr implants after a period of 17 months. On the basis of their study, they concluded that NiTi was sufficiently biocompatible in this biological environment. In another study comparing the biocompatibility of several metallic implant materials, Laing et al., found a fibrous capsule of a few mm near Ni implants

after a 6 month implantation period in the back muscle of rabbits while Ti generated a fibrous tissue layer thickness of only 0,003 to 0,015 mm [16]. This study also highlighted the direct relation between the degree of tissue reaction to the amount of constituent elements released during the corrosion process. The authors concluded that absence of a potentially toxic element, like Ni, could possibly improve the biocompatibility of a material. This hypothesis could explain the biocompatibility of our Niti samples since all surface treatments promoted the growth of a titanium oxide layer which limit the contact between the metal and the biological environment[31].

In our *in vivo* study, the 2 weeks implantation period was characterized by a high variability of fibro-cellular capsule thicknesses (Table 5.2). For this early assessment after implantation, cellular response to local trauma seemed to predominate. The fibrous capsule could either originate from the surgical trauma or from the inflammatory reaction caused by the implants themselves. In addition, muscle solicitation inducing minor implants movements may have contributed to exacerbate the local trauma.

Table 0.2 Fibro-cellular capsule thickness as a function of implantation time and surface treatment

	EP	HT	AA	PA
2 weeks	0,12 ± 0,11	0,07 ± 0,04	0,17 ± 0,13	0,15 ± 0,16
6 weeks	0,10 ± 0,03	0,18 ± 0,03	0,04 ± 0,01	0,05 ± 0,01
12 weeks	0,09 ± 0,04	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,08 ± 0,01

Values are means (mm) ± SD (mm)

For the 6 weeks implantation period, the higher inflammatory response found around HT samples (Table 5.2) could be mainly related to non-uniformity of the oxide layer of these samples and their higher current density during potentiodynamic studies. As a

result, a less resistant protective film and a higher release of constituents could be generated from these implants. However, for the same period, AA samples produced an inflammatory response comparable to PA samples, even though it was covered by a similar non-uniform oxide layer as HT. After the 12 weeks implantation period, the fibrous capsule thickness seemed to stabilize around the same value of 0,07 mm for all samples. This finding may indicate a predominant effect of the chemical nature of the oxide layer that was similar for all surface treated devices (titanium oxide layer).

If we compare the data obtained from our 12 weeks implantation period to the results of the study from Castleman et al., our surface treatments have decrease at least 5 times the inflammation generated by NiTi implants[30]. Furthermore, the fibro-cellular capsule generated by our surface treated NiTi implants resembles more the one produced by Ti than Ni implants (Laing et al.) confirming our hypothesis on the importance of the protective film chemical nature. Modification of the protective oxide layer by surface treatments of NiTi seems, thus, to be very promising to improve its biocompatibility.

However, it is unfortunately difficult to draw conclusion when comparing our results with the published data because we have to consider implant shapes, surface areas, animal models, cell line, duration of the experiment and surface preparations that are different from one study to another.

5.6 CONCLUSION

In vitro proliferation tests have shown good cytocompatibility of passivated (PA), air aged (AA) and heat treated (HT) samples. Fibroblast human cells in contact with those samples exhibited similar growth curves and doubling times as the control group. However, a slight decrease of the proliferation rate was attributed to EP samples.

Further analyses of surface energy and contaminants are needed to explain this result for the electropolishing treatment. Still, when comparing our results to other published data on non-treated NiTi, it seems that all our surface treatments have improved cytocompatibity of non-treated NiTi material.

In vivo study demonstrated a good response to our surface treated NiTi samples by the physiological environment characterized by a decrease of the fibrous capsule surrounding them as a function of time. In addition, after an implantation period of 12 weeks all fibro-cellular capsules thicknesses converged to a mean value of 0,07 mm without any significant differences among the surface treated NiTi devices. This final result indicates that further surface treatments such as heat treatments and nitric acid passivation after electropolishing of NiTi did not significantly improve the *in vivo* biocompatibility of the material and thus may not be required during manufacturing of stents.

This research was supported by NSERC (Canada) and Nitinol Devices & Components Inc. (Fremont, California, USA).The authors gratefully acknowledge help from Dr É. Thorin for the cell culture tests and P. Geoffroy for the preparation, sterilization and implantation of the stents at the Montreal Heart Institute. Also, they wish to thank M. Vasseur and D. Rodrigue for the preparation of the histological sections at the University of Montreal.

5.7 REFERENCES

1. Ellis, S.G. Perspectives on intracoronary stenting: 1992. Semin. Thor. Cardiov. Surg. 6:72-75; 1991.

2. Fishman, D.L. et al. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. N. Eng. J. Med.. 331: 496-501; 1994.

3. Serruys, P.W. et al. A comparison of ballon-expandable-stent implantation with ballon angioplasty in patients with coronary artery disease. N. Engl. J. Med. 331:489-495;.1994.

4. Beyar, R. Self-expanding Nitinol stents. Sigwart, U. ed. Endoluminal Stenting, Frontiers in Cardiology, London:W.B. Saunders Company Ltd.; 1996: 154-159.

5. Eigler, N.L.; Khorsandi, M.J.; Forrester, J.S.; Fishbein, M.C.; Litvack, F. Implantation and recovery of temporary stents in canine coronary arteries. J. Am. Coll. Cardiol. 22:1207-1213; 1993.

6. Cragg. A.H.; De Jong, S.C.; Barnhart, W.H.; Landas, S.K.; Smith, T.P. Nitinol intravascular stent: results of preclinical evaluation. Radiol. 189: 775-778; 1993.

7. Hong. M.; Beyar, R.; Kornowski, R.; Tio, F.O.; Bramwell, O.; Leon, M.B. Acute and chronic effects of self-expanding nitinol stents in porcine coronary arteries. Cor. Art. Dis. 8:45-48; 1997.

8. Beyar, R.; Shofti, R.; Grenedier, E.; Henry, M.; Globerman, O.; Beyar, M. Self-expandable nitinol stent for cardiovascular applications: canine and human experience. Cath. Cardio. Diag. 32: 162-170; 1994.

11. Williams, D.F. Toxicology of implanted metals. Fundamental aspects of biocompatibility, Vol. II, CRC Press, CRC Series in Biocompatibility, 1981:45-61.

12. Takamura, K.; Hayashi, K; Ishinishi, N.; Yamada, T.; Sugioka, Y. Evaluation of carcinogenecity and chronic toxicity associated with orthopedic implants in mice. J. Biomed. Mat. Res 28: 583-589; 1994.

13. Shabalovskaya, S.A. On the nature of the biocompatibility and medical applications of NiTi shape memory and superelastic alloys. Bio-Med. Mat. Eng. 6:267-289; 1996.

14. Wataha, J.C.; Hanks, C.T.; Craig, R.G. Uptake of metal cations by fibroblasts in vitro. J. Biomed. Mat. Res. 27:227-232; 1993.

15. Sun, Z.L.; Wataha, C.; Hanks, C.T. Effects of metal ions on osteroblast-like cell metabolism and differentiation. J. Biomed. Mat. Res. 34:29-37; 1997.

16. Laing, P.G.; Ferguson Jr., A.B.; Hodge, E.S. Tissue reaction in rabbit muscle exposed to metallic implants. J. Biomed. Mat. Res. 1:135-149; 1967.

9. Okuyama, M.; Yahia, L'H.; Piron, D.L.; Lombardi, S. Biocompatibility of Nickel-Titanium shape memory alloy: an in vitro electrochemical study. Biomaterial-Living Syst. Inter., 3:145-160; 1995.

10. Li, C.; Wu, K.H. Corrosion behavior of Ni-Ti shape memory alloy in artificial sea water. Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic

Technologies, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 227-232.; 1994.

17. Castleman, L.S., Motzkin, S.M. The biocompatibility of Nitinol. Biocompatibility of clinical implant materials, Vol. I, ed. D.F. Williams, CRC Press, 1981:130-154.

18. Villermaux, F.; Tabrizian, M.; Rhalmi, S. ; Rivard, C.; Meunier, M.; Czeremuszkin, G.; Piron, D.L.; Yahia, L'H. Cytocompatibility of NiTi shape memory alloy biomaterials. Proc. Second International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies, Pacific Grove, CA, (in press).

19. Putters, J.L.M.; Kaulesar Sukul, D.M.K.S.; de Zeeuw, G.R.; Bijma, A.; Besselink, P.A. Comparative cell culture effects of shape memory metal (Nitinol®), Nickel and Titanium: A biocompatibility estimation. Eur. Surg. Res.. 24: 378-382; 1992.

24. Xiao-Xiang, W.; Zhi-Yuan, M.; Zhen-Wang, C.; Ren-Yi, Q.; Xian-Chuan, J.; Shu-Yong, P. The oxide film and its effect on shape memory effect and biocompatibility in a TiNi alloy. Shape Memory Materials '94, ed. Chu and Tu, 621-625 ; 1994.

25. Shabalovskaya, S.A.; Cunnick, J.; Anderegg, J.W.; Harmon, B.N.; Sachdeva, R.L. Preliminary data on the in vitro study of proliferative rat spleen cell in response to NiTi surfaces characterized using ESCA analysis. Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 209-215; 1994.

20. Abiko, Y.; Sachdeva, R.; Endo, K.; Araki, Y.; Kaku, T.; Ohno, H. Corrosion resistance and biological evaluation of Ni-Ti alloys with varied sirface textures.

Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 203-208; 1994.

21. Cutright, D.E.; Bashker, S.N.; Perez, B.; Johnson, R.M.; Cowan Jr., G.S.M. Tisssue reaction to nitinol wire alloy. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 35: 578-584; 1973.

22. Oonishi, H.; Tsuji, E.; Miyaga, M.; Hamada, T.; Suzuki, Y.; Nabeshima, T.; Hamaguchi, T.; Okabe, N. Biological reaction of Ni in TiNi shape memory alloy. Trans. Second world congress on Biomaterials, Vol. VII, Washington, D.C., 183; 1984.

23. Berger-Gorbet, M.; Broxup, B.; Rivard, C.; Yahia,, L'H. Biocompatibility testing of NiTi screws using immunohistochemistry on sections containing metallic implants. J. Biomed. Mat. Res. 32:243-248; 1996

26. Villermaux, F.; Tabrizian, M.; Yahia, L'H.; Czeremuszkin, G.; Piron, D.L. Corrosion resistance of NiTi osteosynthesis staples by plasma polymerized tetrafluoroethylene coating. Bio-Med. Mat. Eng., 6: 241-254; 1996.

27. Villermaux, F.; Tabrizian, M.; Yahia, L'H.; Meunier, M.; Piron, D.L. Excimer laser treatment of NiTi shape memory alloy biomaterials. Appl. Surf. Sci. 110: 62-66; 1997.

28. Kimura, H.; Sohmura, T. Surface coating on TiNi shape memory implant alloys. J. Osaka Univ. Dent. Sch.. 27: 211-223; 1987.

29. Trépanier, C.;. Tabrizian, M; Yahia, L'H.; Bilodeau, L.; Piron D.L. Improvement of corrosion resistance of NiTi stents by surface treatments. Materials for Smart Systems II, (Mat. Res. Soc. Tech. Proc., Boston, MA, 1996), (in press).

30. Castleman, L.S.; Motzkin, S.M.; Alicandri, F.P.; Bonawit, V.L. Biocompatibility of Nitinol alloy as an implant material. J. Biomed. Mat. Res. 10: 695-731; 1976.

31. Williams, D.F. Titanium and titanium alloys. Biocompatibility of clinical implant materials, Vol. I, ed. D.F. Williams, CRC Press, 1981:9-44.

Chapitre 6. Discussion générale

L'objectif de ce projet de maîtrise était d'évaluer la performance de stents en NiTi et plus particulièrement, la biocompatibilité de ce type de dispositif. Étant donné les propriétés inusitées du NiTi telles que ses propriétés de mémoire de forme et de superélasticité, l'utilisation de ce matériau pour la fabrication de telles prothèses introduit de nouvelles possibilités pour faciliter leur implantation (section 1.4). Cependant, comme nous avons pu le constater à la section 1.5, il existe une divergence au niveau des résultats répertoriés dans la littérature sur la biocompatibilité *in vitro* et *in vivo* de l'alliage et de sa résistance à la corrosion. En effet, certains travaux indiquent une réponse biologique au NiTi comparable à d'autres matériaux métalliques utilisés dans le domaine médical (Castleman et al., 1976; Cutright et al., 1973). Par contre, d'autres résultats remettent en question sa biocompatibilité (Castleman et al., 1981; Lu, 1990). Le même type d'observations a été rapporté également au niveau de la résistance à la corrosion de l'alliage qui est considérée suffisante en milieu physiologique (Cigada et al., 1990; Rondelli, 1996; Speck et al. 1980) ou faible (Sarkar, 1983) en fonction des études effectuées.

Il existe un lien direct entre la dissolution d'éléments d'alliages dans le corps durant la corrosion et leurs potentiel toxique et allergène qui déterminent le niveau de biocompatibilité d'un matériau métallique. En conséquence, si un matériau présente un comportement en corrosion variable, il en résultera une variabilité au niveau de la dissolution en terme de la nature et de la quantité d'éléments dissous.

Il est donc primordial dans un premier temps de se pencher sur l'amélioration du comportement en corrosion d'un matériau métallique avant de s'intéresser aux modifications pouvant augmenter sa biocompatibilité. De plus, pour obtenir

l'approbation de la mise en marché de dispositifs médicaux, réglementée aux États-Unis et au Canada respectivement par la Food and Drug Administration (FDA) et le Health protection Branch (HPB), les compagnies doivent faire la démonstration du bon comportement en corrosion et en biocompatibilité de leur dispositif.

Comme nous l'avons souligné à la section 1.5.2.2, le comportement en corrosion du NiTi est étroitement lié aux conditions de surface des dispositifs. Un des buts de notre étude consiste donc à observer l'effet de différents traitements de surface visant à renforcer la couche d'oxyde, tels l'électropolissage, les traitements de thermiques et la passivation chimique dans une solution acide, sur la résistance à la corrosion. Pour ce faire, des essais potentiodynamiques anodiques ont été entrepris. Ces essais ont permis de connaître l'effet des différents traitements de surface sur les valeurs de tension de piqûration et de densité de courant de passivation qui caractérisent les matériaux métalliques. Par contre, les résultats obtenus à partir de ce type de test ne permettent pas d'expliquer et de conclure sur la cause de l'amélioration du comportement du matériau.

Ensuite, la caractérisation physico-chimique de la surface, à l'aide de la microscopie électronique à balayage, de la spectroscopie aux électrons Auger et de la spectroscopie photoélectronique à rayons-x, a permis d'atteindre 2 objectifs:

1. connaître l'effet des traitements de surface sur la topographie, la nature chimique et l'épaisseur de la couche d'oxyde.
2. connaître le mode de corrosion de stents en NiTi: processus de piqûration, surfaces plus sensibles à la corrosion, etc.

Conséquemment, cette caractérisation a permis de mieux illustrer la relation entre l'état de la surface du matériau et son comportement en corrosion. Après avoir constaté une augmentation de la résistance à la corrosion pour les stents traités, nous les avons testés

en milieu vivant lors d'essais de biocompatibilité *in vitro* et *in vivo*. Ces résultats ont permis de relier le comportement en corrosion, les propriétés physico-chimiques et les performances biologiques des dispositifs suite aux traitements de surface.

En premier lieu, les essais de cytotoxicité ont permis d'évaluer l'effet toxique associé à nos surfaces traitées et de voir s'il existait une différence au niveau de la cytocompatibilité de nos différents échantillons en fonction de l'épaisseur, de la nature et de la topographie de la couche d'oxyde.

En deuxième lieu, nous avons étudié la réponse biologique du tissu musculaire sain suite à l'implantation de nos prothèses dans le muscle dorsal paravertébral de lapins afin de quantifier la biocompatibilité *in vivo* du matériau et de voir s'il existe une différence au niveau de la réponse inflammatoire entre les différents traitements.

6.1 Étude de la résistance à la corrosion

Les essais de corrosion potentiodynamiques sur les stents non-traités et ayant subit un traitement de surface ont indiqué l'importance des conditions de surface sur le comportement en corrosion du NiTi.

Un déplacement de la tension de piqûration vers des valeurs plus nobles a été noté pour tous les stents traités comparativement aux stents non-traités indiquant ainsi une amélioration de la résistance à la corrosion localisée de l'alliage (Figure 4.1). Étant donné la faible variation de ce paramètre (Figure 4.2), nous préférons classer le comportement en 3 catégories :

$$NT < AA, HT < EP, PA$$

Ainsi, tous les traitements n'améliorent pas de façon identique la tension de piqûration.

En ce qui concerne le courant de passivation (Figure A.1), une faible amélioration de ce paramètre vers des valeurs moins élevées (baisse de la densité du courant de passivation d'environ une décade pour les stents traités) a été enregistrée par rapport au groupe contrôle. Ceci indique donc que le taux de corrosion des dispositifs traités est plus lent que celui des dispositifs non-traités. En raison de la faible différence de ce paramètre entre les échantillons, il est préférable d'utiliser la variabilité de la tension de piqûration pour classer l'effet des différents traitements de surface sur la résistance à la corrosion.

Notre étude au microscope électronique à balayage (MEB) des stents avant les essais de corrosion a mis en évidence l'amélioration évidente de la topographie des échantillons traités (Figures 4.3 et 4.4). En effet, une surface plus lisse et uniforme a été observée après le traitement de la surface rugueuse et poreuse des échantillons non-traités. Cette uniformité est par ailleurs plus marquée pour les stents EP et PA. Les stents HT et AA présentent, pour leur part, des surfaces latérales plus rugueuses et irrégulières. Le polissage chimique et électrochimique décapent la surface de la couche déformée lors de la mise en forme du dispositif et de son polissage mécanique et permet la croissance d'une nouvelle couche d'oxyde plus homogène et uniforme. Des résultats semblables ont été rapportés lors d'études effectuées sur des alliages de Ti (Larsson et al., 1994; Lausmaa et al., 1986,). De plus, il est important de noter la présence de fissures visibles sur la plupart des échantillons à la rencontre de 2 tiges métalliques (Figure 4.5). Ces fissures peuvent être causées par le faisceau laser utilisé pour l'usinage des stents ou par la concentration de contraintes à cet endroit du dispositif.

L'analyse après les essais de corrosion, souligne une hétérogénéité au niveau du processus de corrosion. Les faces latérales des stents sont attaquées plus rapidement que les faces externes lors des essais. Cette sensibilité des faces latérales peut être expliquée

par différents facteurs: hétérogénéité des traitements ou présence de fissures relevées lors de nos observations avant corrosion. De même, les marques laissées par le processus de mise en forme du tube en NiTi sont plus sensibles au processus de corrosion.

Lorsqu'on relie ces observations aux résultats de l'étude de corrosion, il apparaît que les stents qui possèdent la couche d'oxyde la plus uniforme et régulière soient ceux qui présentent la meilleure résistance à la corrosion. Ces résultats sont compatibles avec les données de la littérature qui soulignent l'importance de l'homogénéité du revêtement de la surface pour bien protéger le NiTi de la corrosion (Kimura et al., 1987; Rondelli, 1996; Villermaux et al., 1997).

Les analyses aux électrons Auger de la surface ont montré une différence significative de l'épaisseur de la couche d'oxyde suite aux différents traitements de la surface. Les stents EP et PA sont recouverts d'une couche d'oxyde la plus mince (3 nm), alors que les stents AA et HT possèdent une couche d'épaisseur intermédiaire (60 nm et 90 nm respectivement) et que les stents non-traités présentent une épaisseur de la couche d'oxyde de l'ordre de 1000 nm. Ainsi, il apparaît que l'épaisseur de la couche d'oxyde ne soit pas directement reliée à son pouvoir protecteur. En effet, les stents semblant être le mieux protégé de la corrosion sont ceux caractérisés par la couche d'oxyde la plus mince (EP et PA). De plus, une fine couche d'oxyde est d'autant plus importante dans le cas d'un matériau à mémoire de forme car elle est plus susceptible de résister aux déformations imposées qu'une couche épaisse (Kimura et al., 1987).

L'analyse photoélectronique à rayons-x a révélé que tous les traitements avaient favorisé la croissance d'une couche d'oxydes de titane principalement composée de TiO_2. Ce résultat est favorable à une amélioration de la biocompatibilité du NiTi puisque c'est ce même oxyde qui recouvre les implants en Ti considérés très stables (Lausmaa et al.,

1986). De plus, Espinos et al. (1993) ont montré que cette couche d'oxyde était très protectrice et efficace contre la dissolution du Ni.

Les rapports Ni/Ti des stents avant et après corrosion (figure 4.9) indiquent une très faible présence de Ni à la surface. Ceci peut être expliqué par un phénomène de ségrégation de cet élément durant les traitements (Chan et al., 1990). L'augmentation significative de ce rapport, après la corrosion, pour les stents HT peut être attribuée à une couche d'oxyde imparfaite qui permettrait une dissolution du Ni vers l'extérieur du matériau (Bourgeois et al., 1989; Espinos et al., 1993; Gonzalez-Elipe et al., 1991; Munuera et al., 1989). Le type d'analyse entrepris dans notre étude n'a cependant pas permis de vérifier cette supposition. L'étude au microscope électronique à transmission ou des analyses XPS plus poussées pourraient permettre de confirmer cette hypothèse.

Bien que nous n'avons pas pu déterminer de liens directs entre la nature chimique, l'épaisseur de la couche d'oxyde et la résistance à la corrosion, il apparaît que l'amélioration de l'uniformité de la couche d'oxyde en surface des stents en NiTi soit le paramètre déterminant dans la résistance à la corrosion de stents en NiTi traités.

Étant donné que le milieu physiologique est différent de celui reproduit *in vitro* durant les essais de corrosion (Endo et al., 1994; Speck et al., 1980), il est important après avoir effectué des essais préliminaires de corrosion de passer aux essais de biocompatibilité *in vitro* et *in vivo*. En effet, la présence de cellules, protéines, acides aminés, etc. peut également affecter la résistance à la corrosion de notre matériau.

6.2 Étude de la biocompatibilité

Les essais de prolifération cellulaire de fibroblastes humains en contact avec des échantillons de NiTi ont révélé que les plaques HT, AA et PA possédaient une cytocompatibilité comparable au groupe contrôle. Les cellules en contact avec ces plaques traitées ont présenté une croissance similaire à CON (Figure 5.1). De plus, lors de l'étude du temps de dédoublement cellulaire, aucune différence significative n'a été observée entre les échantillons AA, HT, PA et CON (Tableau 5.1).

Par contre, les échantillons EP ont affecté légèrement les fibroblastes en diminuant leur prolifération et en ralentissant leur vitesse de dédoublement. Plus particulièrement, l'effet primaire de ces échantillons est de défavoriser l'attachement et la croissance des cellules à leur surface (Figure 5.2). Ce résultat est inattendu puisque nous anticipions une cytocompatibilité similaire entre les échantillons EP et PA. En effet, d'après nos études de caractérisation physico-chimique, les spécimens EP et PA possèdent la même épaisseur et composition chimique de couche d'oxyde, une topographie similaire et un comportement en corrosion comparable. Suite aux résultats des essais de prolifération cellulaire, il apparaît donc, que le traitement de passivation chimique à l'acide nitrique influence d'autres paramètres tels l'énergie de surface ou la contamination à la surface qui peuvent également influencer la cytocompatibilité d'un matériau.

Tout de même, si on compare le rapport du nombre de cellules en contact avec le NiTi sur le nombre de cellules du groupe contrôle obtenu lors de différentes études similaires, on peut s'apercevoir que tous nos traitements ont, à différents degrés, amélioré la cytocompatibilité du NiTi non-traité. En effet, dans le cadre de notre étude le rapport calculé le plus faible est 0,8 pour les échantillons EP. Cette valeur est supérieure aux

résultats rapportés par Castleman et al. (1981) (0.5) et Villermaux et al. (1997) (0.7) pour des échantillons de NiTi non-traités.

Il faut cependant être prudent lors de la comparaison de nos résultats avec d'autres études car le choix de la lignée cellulaire, des intervalles de changement du milieu de culture, de la période d'incubation et du nombre d'échantillons peuvent influencer les résultats obtenus. Ainsi, ce n'est qu'à titre indicatif que cette comparaison a été effectuée dans le cadre de cette étude.

Les résultats de l'étude d'implantation animale montrent une diminution de la réponse inflammatoire, caractérisée par une résorption de l'enveloppe fibro-cellulaire autour de l'implant en NiTi, en fonction du temps (Figure 5.7). Cette observation indique donc que l'environnement physiologique réagit de façon favorable à nos échantillons de NiTi.

Au cours des 2 premières semaines suivant l'implantation, une variabilité élevée de l'épaisseur de tissu fibreux a été observée (Tableau 5.2) vraisemblablement due au traumatisme causé au tissu musculaire lors de l'implantation. Ainsi, à cette période le tissu fibreux peut être attribué non seulement aux implants mais également à la lésion due à l'intervention. Pour le groupe de lapins sacrifié après 6 semaines, les implants EP, PA et AA présentaient une épaisseur de tissu fibreux comparable. Par contre, une réponse inflammatoire significativement plus élevée autour des échantillons HT a été reliée principalement à la non-uniformité de sa couche d'oxyde et à sa densité de courant de passivation légèrement plus élevée que pour les autres implants traités. Par contre, cette différence significative est disparue pour le dernier groupe de notre étude (12 semaines d'implantation). En effet, une stabilisation de l'épaisseur de la capsule fibreuse autour de 0,07 mm pour tous les implants a été observée après 12 semaines. Ce résultat indique que tous nos traitements de surface améliorent de façon similaire la biocompatibilité du NiTi aux cellules musculaires. De plus, cela indique un effet

prédominant de la nature chimique de la couche d'oxyde, principalement composée d'oxyde de titane, sur la réponse tissulaire par rapport aux autres paramètres tels que l'épaisseur et l'uniformité.

Dans la littérature, Castleman et al. (1976) ont observé une épaisseur de tissu fibro-cellulaire variant entre 0.38 et 0,81 mm suite à l'implantation de plaques de NiTi non-traitées dans les fémurs de chien pour une période de 3 mois. Leur étude ne démontre, par ailleurs, aucune différence significative entre les résultats de l'analyse histologique du tissu musculaire en contact avec des plaques en NiTi et en contact avec un implant de Cr-Co. Les auteurs concluent donc que le NiTi est suffisamment biocompatible dans cet environnement physiologique.

Laing et al. (1967) ont observé une capsule fibro-cellulaire de l'ordre de quelques millimètres autour du Ni et variant entre 0,003 et 0,015 mm autour du Ti lors de l'implantation de ces métaux dans le muscle dorsal paravertébral de lapins pendant une période de 6 mois.

Si nous extrapolons les résultats obtenus lors d'études similaires, il est possible de situer nos résultats sur le NiTi en fonction d'autres biomatériaux. Ainsi, nous pouvons apprécier que nos traitements de surface ont amélioré la biocompatibilité du NiTi non-traité en diminuant l'épaisseur de la capsule fibro-cellulaire. De plus, cette épaisseur est plus comparable à celle générée par des implants en Ti qu'en Ni ce qui renforce notre hypothèse de l'effet prédominant de la nature chimique de la couche d'oxyde en Ti. Cette observation est encourageante puisque les implants en Ti sont reconnus pour être très biocompatibles.

Cependant, il faut encore être prudent lors de la comparaison de nos résultats puisque, les implants utilisés lors de ces études sont de nature, de forme et de surface différentes

et que la préparation de la surface, le modèle animal et la période d'implantation choisis sont également diffèrent de notre étude, ce qui peut influencer les résultats obtenus.

Conclusion et recommandations

Au cours de cette étude, l'évaluation de la résistance à la corrosion de stents traités (électropolissage suivi de traitements thermiques (dans un four ou dans un bain de sel) ou de la passivation chimique dans une solution d'acide nitrique) et non-traités a mis en évidence une amélioration de la tension de piqûration et de la densité du courant de passivation suite à tous les traitements. Suite à l'analyse physico-chimique de la surface des dispositifs avant et après corrosion, nous avons montré que l'uniformité de la couche d'oxyde apparaît être le facteur prédominant qui contrôle le comportement en corrosion du matériau. Cette étude nous a permis, par ailleurs, de constater que tous les traitements avaient favorisé la croissance d'une couche d'oxydes de Ti à la surface (principalement TiO_2). En étudiant l'épaisseur des couches d'oxydes formées par les différents traitements, nous avons mis en évidence le pouvoir supérieur d'une couche d'oxyde mince mais uniforme comparativement à une couche plus épaisse mais moins uniforme. De cette première partie de l'étude, il ressort que l'amélioration significative de la résistance à la corrosion peut être obtenue par le seul électropolissage de stents en NiTi.

Ensuite, les études de biocompatibilité *in vitro* ont montré que tous les traitements, amélioraient, à différents degrés la cytocompatibilité du NiTi non-traité.

Par ailleurs, l'implantation animale des dispositifs chez des lapins a indiqué que nos échantillons de NiTi traités étaient bien acceptés par l'environnement physiologique. En effet, une diminution de la réponse inflammatoire et de l'épaisseur de tissu fibreux entourant les implants ont été enregistrées en fonction du temps. De plus, cette étude a mis en évidence l'importance de la nature chimique de la surface.

De cette étude, il ressort également que l'électropolissage du NiTi est très efficace pour améliorer la biocompatibilité du matériau. Les traitements thermiques et la passivation chimique dans une solution d'acide nitrique n'augmentent pas de façon significative ni la résistance à la corrosion ni la biocompatibilité du matériau et sont donc superflus dans le développement d'un stent en alliage à mémoire de forme NiTi performant.

En ce qui concerne nos recommandations, suite aux résultats obtenus lors des essais de corrosion et de caractérisation, la modification des paramètres de découpage des tubes au faisceau laser doit être envisagée. L'élimination des fissures causées par cet outil pourra favoriser l'amélioration de la résistance à la corrosion de ces dispositifs en augmentant l'uniformité de la couche d'oxyde sur toutes les faces du dispositif.

Pour la suite de ce projet, au niveau de la résistance à la corrosion de stents en NiTi, il serait intéressant de modifier le milieu des essais et d'observer l'effet des constituants du sang sur la résistance du revêtement. En parallèle, la mesure du taux de dissolution de Ni, au cours de ces essais serait utile pour connaître l'efficacité des traitements pour la prévention de ce phénomène. De plus, l'utilisation de techniques de corrosion plus approfondies telles des essais potentiodynamiques cycliques pourraient permettre de connaître en plus la tension de repassivation du matériau qui est un indice important de sa résistance à la corrosion. Par ailleurs, d'autres essais comme les tests d'impédance AC informeraient sur la corrosion uniforme de nos échantillons. Des test potentiostatiques pourraient indiquer, par ailleurs, la capacité du matériau à réagir à un changement brusque des conditions du milieu. La stérilisation des dispositifs avant de faire ces essais permettrait de s'assurer qu'elle n'a aucun effet dommageable sur le matériau.

De plus, afin d'évaluer la performance de stents en NiTi, des essais biomécaniques doivent être effectués afin de déterminer :

- la résistance mécanique de la couche d'oxyde (cycle d'expansion et de compression sur un cathéter),
- la force radiale générée par le stent,
- la résistance à la fatigue de la prothèse.

En outre, l'évaluation de l'hémocompatibilité de ces prothèses doit être effectuée par des tests *in vitro* ou *ex vivo*. Par ailleurs, l'implantation *in vivo* des prothèses dans les artères peut nous informer sur l'hémocompatibilité, la rhéologie *in situ* et la réaction inflammatoire-cicatricielle vasculaire. En bref, ce type d'étude permet de reproduire chez le modèle animal, les conditions réelles d'utilisation de ces prothèses.

Enfin, le recouvrement de la surface par un revêtement hémocompatible est à envisager afin d'optimiser davantage la biocompatibilité de la prothèse. Dans cette optique, l'utilisation d'un polymère hémocompatible tel le PTFE, de protéines défavorisant la formation de caillots telles l'albumine ou de cellules endothéliales est à considérer.

Références

ABIKO, Y., SACHDEVA, R., ENDO, K., ARAKI, Y., KAKU, T., OHNO, H. (1994). Corrosion resistance and biological evaluation of Ni-Ti alloys with varied surface textures. *Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies*, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 203-208.

ANKE, M., GROPPEL, B., KRONEMANN, H., GRUN, M. (1984). Nickel - an essential element. *Nickel in the human environment*, ed. F.W. Sauderman, International Agency for Research on Cancer, 339-366.

ASSAD, M., LOMBARDI, S., BRENÈCHE, S., DESROSIERS, E.A., YAHIA, L'H., RIVARD, CH.H. (1994). Essais de cytotoxicité sur l'alliage à mémoire de forme Nickel-Titane. *Ann. Chir.*, 48, 731-736.

BARBOSA, M.A. (1991). Corrosion mechanisms of metallic biomaterials. *Biomaterials degradation, fundamental aspects and related clinical phenomena.* M.A. Barbosa, Elsevier Science Publishers B.V., 227-257.

BASS, J.K., FINE, H., CISNEROS, G.J. (1993). Nickel hypersensitivity in the orthodontic patient. *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.*, 103, 280-285.

BEATT, K.J., BERTRAND, M., PUEL, J., RICKARDS, A.F., SERRUYS, P.W., SIGWARTH, U. (1989). Additional improvement in vessel lumen in the first 24 hours after stent implantation due to radial dilating force. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 13, 224A.

BEYAR, R., SHOFTI, R., GRENEDIER, E., HENRY, M., GLOBERMAN, O., BEYAR, M. (1994). Self-expandable nitinol stent for cardiovascular applications: canine and human experience. *Cath. Cardio. Diag.*, 32, 162-170.

BLOYCE. A., MORTON, P.H., BELL, T. (1994). Surface engineering of titanium and titanium alloys. *ASM Handbook*, 5, ASM International, 835-851.

BRAMFITT, J.E., HESS, R.L. (1994). A novel heat activated recoverable temporary stent (HARTS system). *Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies*, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 435-442.

CANNON, A.D., ROUBIN, G.S. (1994). The Gianturco-Roubin stent. *Textbook of Interventional Cardiology*, vol. 2, ed. E.J. Topol, W.B. Saunders Company, 712-726.

CASTLEMAN, L.S., MOTZKIN, S.M. (1981). The biocompatibility of Nitinol. *Biocompatibility of clinical implant materials*, Vol. I, ed. D.F. Williams, CRC Press, 130-154.

CASTLEMAN, L.S., MOTZKIN, S.M., ALICANDRI, F.P., BONAWIT, V.L. (1976). Biocompatibility of Nitinol alloy as an implant material. *J. Biomed. Mat. Res.*, 10, 695-731.

CHAN, C.-M., TRIGWELL, S., DUERIG, T. (1990). Oxidation of a NITi alloy. *Surf. Interface Anal.*, 15, 349-354.

CHUPRINA, V.G. (1989). A study of the process of oxidation of titanium nickelide. II. Phase composition of the scale. *Soviet Powder Metall. Met. Ceram.*, 28, 468-472.

CIGADA, A., DE SANTIS, G., GATTI, A.M., RONDELLI, G., VINCENTINI, B., ZAFFE, D. (1990). In vitro and in vivo behaviour of a NiTi shape memory alloy. Clinical implant Materials, ed. G. Heimke, U. Soltész, A.J.C. Lee, *Advances in Biomaterials*, Vol. 9, Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 51-56.

COWLEY, M.J. ET AL. (1984). Acute coronary events associated with percutaneous transluminal angioplasty. *Am. J. Cardiol.*, 53, 12C-16C.

CRAGG, A., LUND, G., RYSAVY, J., CASTANEDA, F., CASTENADA-ZUNIGA, W., AMPLATZ, K., (1983). Nonsurgical placement of arterial endoprostheses: a new technique using Nitinol wire. *Radiol.*, 147, 261-263.

CRAGG. A.H., DE JONG, S.C., BARNHART, W.H., LANDAS, S.K. SMITH, T.P. (1993). Nitinol intravascular stent: results of preclinical evaluation. *Radiol.*, 189, 775-778.

CUTRIGHT, D.E., BASHKER, S.N., PEREZ, B., JOHNSON, R.M., COWAN JR., G.S.M. (1973). Tisssue reaction to nitinol wire alloy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 35, 578-584.

DE JAEGERE PP ET AL. (1992). Wiktor stent implantation in patients with restenosis following balloon angioplasty of a native coronary artery. *Am J Cardiol.*, 69:598-602.

DETRE, K. ET AL. (1988). Percutaneous transluminal angioplasty in 1985-1986 and 1977-1981. The National Heart, Lung, and Blood Institute Registry. *N. Engl. J. Med.*, 318, 265-270.

DEV, V., EIGLER, N., LITVACK, F. (1994). Current status and prospects for the use of temporary stents. *Cor. Art. Dis.*, 5, 597-604.

DUERIG, T.W., PELTON, A.R., STÖCKEL, D. (1996). The utility of superelasticity in medecine. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 6, 255-266.

DUTTA, R.S., MADANGOPAL, K., GADIYAR, H.S., BANERJEE, S. (1993). Biocompatibility of Ni-Ti shape memory alloy. *British Corr. J.*, 28, 217-221.

EIGLER, N., LITVACK, F., WHITLOW, P.L. (1994). Temporary stents. *Textbook of interventional cardiology*, ed. E.J. Topol, Philadelphia, W.B. saunders, 766-775.

EIGLER, N.L., KHORSANDI, M.J., FORRESTER, J.S., FISHBEIN, M.C., LITVACK, F. (1993). Implantation and recovery of temporary stents in canine coronary arteries. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 22, 1207-1213.

ELLIS, S.G. (1994). The Palmaz-Schatz stent: clinical applications. *Textbook of Interventional Cardiology*, vol. 2, ed. E.J. Topol, W.B. Saunders Company, 682-711.

ENDO, K., SACHDEVA, R., ARAKI, Y., OHNO, H. (1994). Corrosion behavior of Ni-Ti shape memory alloy in a cell culture medium. *Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies*, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA.,197-201.

ENDO, K., SACHDEVA, R., ARAKI, Y., OHNO, H. (1994). Effects of titanium nitride coatings on surface and corrosion characteristics of Ni-Ti alloy. Dent. Mat. J., 13, 228-239.

ESPINOS, J.P., FERNANDEZ, A., GONZALEZ-ELIPE, A.R. (1993). Oxidation and diffusion processes in nickel-titanium oxide systems. *Surf. Sci.*, 295, 402-410.

FISHMAN, D.L. ET AL. (1994). A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. *N. Eng. J. Med.*, 331, 496-501.

FUNG., Y.C., LIU, S.Q., ZHOU, J.B. (1993). Remodeling of the constitutive equation while a blood vessel remodels itself under stress. *J. Biomech. Eng.*, 115, 453-459.

GREEN, S.M., GRANT, D.M., WOOD, J.V., JOHANSON, A., JOHNSON, E., SARLOT-KRISTENSEN, L. (1993). Effest of N^+ implantation on the shape-memory behavior and corrosion resistance of an equiatomic Ni Ti alloy. *J. Mat. Sci. Lett.*, 12, 618-619.

GRENADIER, E., SHOFTI, R., BEYAR, M., LICHTIG, H., MORDECHOWITZ, D., GLOBERMAN, O., MARKIEWICZ, W., BEYAR, R. (1994). Self-expandable and highly flexible nitinol stennt: immediate and long-term results in dogs. *Am. Heart J.*, 128, 870-878.

HAASTERS, J., V. SALIS-SOLIO, G., BENSMANN, G. (1990). The use of Ni-Ti as an implant material in orthopedics. *Engineering aspects of shape memory alloys.* T.W. Duerig, K.N. Melton, D. Stöckel, C.M. Wayman, Butterworth-Heinemann, 426-444.

HAUSEGGER, K.A., CRAGG, A,H., LAMMER, J., LAFER, M., FLÜCKIGER, F., KLEIN, G.E., STERNTHAL, M., PILGER, E. (1994). Iliac artery stent placement: clinical experience witha Nitinol stent. *Radiol.*, 190, 199-202.

HIRSHFELD, J.W.ET AL. (1991). Restenosis after coronary angioplasty: a multivariate statistical model to relate lesion and procedure variables to restenosis. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 18, 647-656.

HONG. M., BEYAR, R., KORNOWSKI, R., TIO, F.O., BRAMWELL, O., LEON, M.B. (1997). Acute and chronic effects of self-expanding nitinol stents in porcine coronary arteries. *Cor. Art. Dis.*, 8, 45-48.

KHORSANDI, M.J., EIGLER, N.L., LAMBERT, T., WEINSTOCK, B.S., WHITING, J.S., LITVACK, F. (1992). Temporary stenting with the heat activated recoverable temporary stent: implantation up to six weeks. *Circ. Suppl. I*, 86, I-800.

KIMURA, H., SOHMURA, T. (1987). Surface coating on TiNi shape memory implant alloys. *J. Osaka Univ. Dent. Sch.*, 27, 211-223.

LAING, P.G., FERGUSON JR., A.B., HODGE, E.S. (1967). Tissue reaction in rabbit muscle exposed to metallic implants. *J. Biomed. Mat. Res.*, 1, 135-149.

LAU, K.W., SIGWART, U. (1991). Intracoronary stents. *Indian Heart J.*, 43, 127-139.

LOMBARDI, S., YAHIA, L'H., KLEMBERG-SAPIEHA, J.E., PIRON, D.L., SELMANI, A., RIVARD, C.-H., DROUIN, G. (1994). Improvement in corrosion resistance of Ni-Ti shape memry alloy by plasma surface modification. *Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies*, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 221-226.

LU, S. (1990). Medical applications of Ni-Ti alloys in China. *Engineering aspects of shape memory alloys.* T.W. Duerig, K.N. Melton, D. Stöckel, C.M. Wayman, Butterworth-Heinemann, 445-451.

MEARS, D.C. (1979). The dissolution of implantable materials. *Materials and Orthopaedic Surgery*, Williams & Wilkins Company, 107-135.

MELTON, K.N. (1990). Ni-Ti based shape memory alloys. *Engineering aspects of shape memory alloys.* T.W. Duerig, K.N. Melton, D. Stöckel, C.M. Wayman, Butterworth-Heinemann, 21-35.

MELTON, K.N., HARRISON, J.D. (1994). Corrosion of Ni-Ti based shape memory alloys. *Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies*, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 187-196.

MIYAZAKI, S., OTSUKA, K. (1989). Development of shape memory alloys. *ISIJ Inter.*, 29, 353-377.

MUNUERA, G., GONZALEZ-ELIPE, A.R., ESPINOS, J.P. (1989). XPS study of phase mobility in Ni/TiO_2 systems. *Surf. Sci.*, 211/212, 1113-1122.

MURRAY, J.L. (1991). Binary alloy phase diagrams. Ni-Ti. *ASM Handbook*, 3, ASM International, 319.

NAKAYAMA, Y., YAMAMURO, T. KOTOURA, Y., OKA, M. (1988). Electrochemical corrosion study of surgical implant metals in rabbit back muscle with comparison to in Ringer's solution. *Trans. Third world Biomaterials*, Kyoto, Japan., 202.

OKUYAMA, M., YAHIA, L'H., PIRON, D.L., LOMBARDI, S. (1995). Biocompatibility of Nickel-Titanium shape memory alloy: an in vitro electrochemical study. *Biomaterial-Living Syst. Inter.*, 3, 145-160.

OONISHI, H., TSUJI, E., MIYAGA, M., HAMADA, T., SUZUKI, Y., NABESHIMA, T., HAMAGUCHI, T., OKABE, N. (1984). Biological reaction of Ni in TiNi shape memory alloy. *Trans. Second world congress on Biomaterials*, Vol. VII, Washington, D.C., 183.

OSHIDA, Y., SACHDEVA, R., MIYAZAKI, S., FUKUYO, S. (1990). Biological and chemical evaluation of TiNi alloys. *Mat. Sci. Forum*, 56-58, 705-710.

OSHIDA, Y., SACHDEVA, R.C.L., MIYAZAKI, S. (1992). Microanalytical characterization and surface modification of TiNi orthodontic archwires. *Bio-Med. Mat. Eng.*, 2, 51-69.

PIRON, D.L. (1991). *The electrochemistry of corrosion*. National Association of Corrosion Engineers (NACE).

PUTTERS, J.L.M., KAULESAR SUKUL, D.M.K.S., DE ZEEUW, G.R., BIJMA, A., BESSELINK, P.A. (1992). Comparative cell culture effects of shape memory metal

(Nitinol®), Nickel and Titanium: A biocompatibility estimation. *Eur. Surg. Res.*, 24, 378-382.

RAJURKAR, K.P., KOZAK, J., CHATTERJEE, A. (1994). Nonabrasive finishing methods. *ASM Handbook*, 5, ASM International, 110-117.

RANDIN, J.P. (1988). Corrosion behavior of nickel containing alloys in artificial sweat. *J. Biomed. Mat. Res.*, 22, 649-666.

RONDELLI, G. (1996). Corrosion resistance tests on NiTi shape memory alloy. *Biomat.*, 17, 2003-2008.

SARKAR, N.K., REDMOND, W., SCHWANINGER, B., GOLDBERG, A.J. (1983). The chloride corrosion behaviour of four orthodontic wires. *J. Oral Rehab.*, 10, 121-128.

SCHÜRMANN, K., VORWERK, D., KULISCH, A., STROEHMER-KULISCH, E., BIESTERFELD, S., STOPINSKI, T., GÜNTHER, R.W. (1995). Experimental arterial stent placement. Comparison of a new nitinol stent and Wallstent. *Invest. Radiol.*, 30, 412-420.

SERRUYS, P.W. ET AL. (1994). A comparison of ballon-expandable-stent implantation with ballon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.*, 331, 489-495.

SHABALOVSKAYA, S.A. (1996). On the nature of the biocompatibility and medical applications of NiTi shape memory and superelastic alloys. *Bio-Med. Mat. Eng.*, 6, 267-289.

SHABALOVSKAYA, S.A., CUNNICK, J., ANDEREGG, J.W., HARMON, B.N., SACHDEVA, R.L. (1994). Preliminary data on the in vitro study of proliferative rat spleen cell in response to NiTi surfaces characterized using ESCA analysis. *Proc. First International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies*, A.R. Pelton, D. Hodgson, T.W. Duerig, Pacific Grove, CA., 209-215.

SHAKNOVICH, A. (1994). Complications of coronary stenting. *Cor. Art. Dis.*, 5, 583-589.

SIGWART, U., PUEL, J., MIRKOVITCH, V., JOFFRE, F., KAPPENBERGER, L. (1987). Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N. Eng. J. Med.*, 316, 701-706.

SPECK, K.M., FRAKER, A.C. (1980). Anodic polarization behavior of Ti-Ni and Ti-6Al-4V in simulated physiological solutions. *J. Dent. Res.*, 59, 1590-1595.

STRAUSS, B.H., SERRUYS, W. (1994). The coronary Wallstent. *Textbook of Interventional Cardiology*, vol. 2, ed. E.J. Topol, W.B. Saunders Company, 687-701.

SUN, Z.L., WATAHA, J.C., HANKS, C.T. (1997). Effects of metal ions on osteoblast-like cell metabolism and differentiation. *J. Biomed. Mat. Res.*, 34, 29-37.

TAKAMURA, K., HAYASHI, K., ISHINISHI, N., YAMADA, T., SUGIOKA, Y. (1994). Evaluation of carcinogenecity and chronic toxicity associated with orthopedic implants in mice. *J. Biomed. Mat. Res.*, 28, 583-589.

VACHERON, A. (1995). Les nouvelles techniques en cardiologie. *RBM*, 17, 107-108.

VILLERMAUX, F., TABRIZIAN, M., RHALMI, S., RIVARD, C., MEUNIER, M., CZEREMUSZKIN, G., PIRON, D.L., YAHIA, L'H. (1997). Cytocompatibility of NiTi shape memory alloy biomaterials. *Proc. Second International Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies*, Pacific Grove, CA, (in press).

VILLERMAUX, F., TABRIZIAN, M., YAHIA, L'H., CZEREMUSZKIN, G., PIRON, D.L. (1996). Corrosion resistance of NiTi osteosynthesis staples by plasma polymerized tetrafluoroethylene coating. *Bio-Med. Mat. Eng.*, 6, 241-254.

VILLERMAUX, F., TABRIZIAN, M., YAHIA, L'H., MEUNIER, M., PIRON, D.L. (1997). Excimer laser treatment of NiTi shape memory alloy biomaterials. *Appl. Surf. Sci.*, 110, 62-66.

WALLER, B.F., PINKERTON, C.A. (1994). The pathology of interventional coronary artery techniques and devices. *Textbook of Interventional Cardiology*, vol. 1, ed. E.J. Topol, W.B. Saunders Company, 449-476.

WALLER, B.F., PINKERTON, C.A., SLACK, J.D. (1992). Intravascular ultrasound: A histological study of vessels during life. The new 'Gold Standard' for vascular imaging. *Circ.*, 85, 2305-2310.

WATAHA, J.C., HANKS, C.T., CRAIG, R.G. (1993). The effect of cell monolayer density on the cytotoxicity of metal ions which are released from dental alloys. *Dent. Mater.*, 9, 172-176.

WATAHA, J.C., HANKS, C.T., CRAIG, R.G. (1993). Uptake of metal cations by fibroblasts in vitro. *J. Biomed. Mat. Res.*, 27, 227-232.

WAYMAN, C.M. (1993). Shape memory alloys. *MRS Bulletin*, April, 49-56.

WAYMAN, C.M., DUERIG, T.W. (1990). An introduction to martensite and shape memory. *Engineering aspects of shape memory alloys.* ed. T.W. Duerig, K.N. Melton, D. Stöckel, C.M. Wayman, Butterworth-Heinemann, 3-20.

WHITELOW, P.L., DE JAEGERE, P.P., SERRUYS, W. (1994). The Wiktor stent. *Textbook of Interventional Cardiology*, vol. 2, ed. E.J. Topol, W.B. Saunders Company, 727-741.

WIENBAUM, S., CHIEN, S. (1993). Lipid transport aspects of atherogenesis. *J. Biomech. Eng.*, 115, 602-610.

WILLIAMS, D.F. (1981) Titanium and titanium alloys. *Biocompatibility of clinical implant materials*, Vol. I, ed. D.F. Williams, CRC Press, 9-44.

WILLIAMS, D.F. (1981). Toxicology of implanted metals. *Fundamental aspects of biocompatibility*, Vol. II, CRC Press, CRC Series in Biocompatibility, 45-61.

WONG, C.S., LEON, M.B., POPMA, J.J. (1993). New device angioplasty: the impact on restenosis. *Cor. Art. Dis.*, 4, 243-253.

XIAO-XIANG, W., ZHI-YUAN, M., ZHEN-WANG, C., REN-YI, Q., XIAN-CHUAN, J., SHU-YONG, P. (1994). The oxide film and its effect on shape memory effect and biocompatibility in a TiNi alloy. *Shape Memory Materials '94*, ed. Chu and Tu, 621-625.

YADAV, S.S., ROUBIN, G.S. (1994). Coronary stenting for the treatment of abrupt or threatened closure complicating percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Cor. Atr. Dis.*, 5, 564-570.

Annexe A. Données non publiées

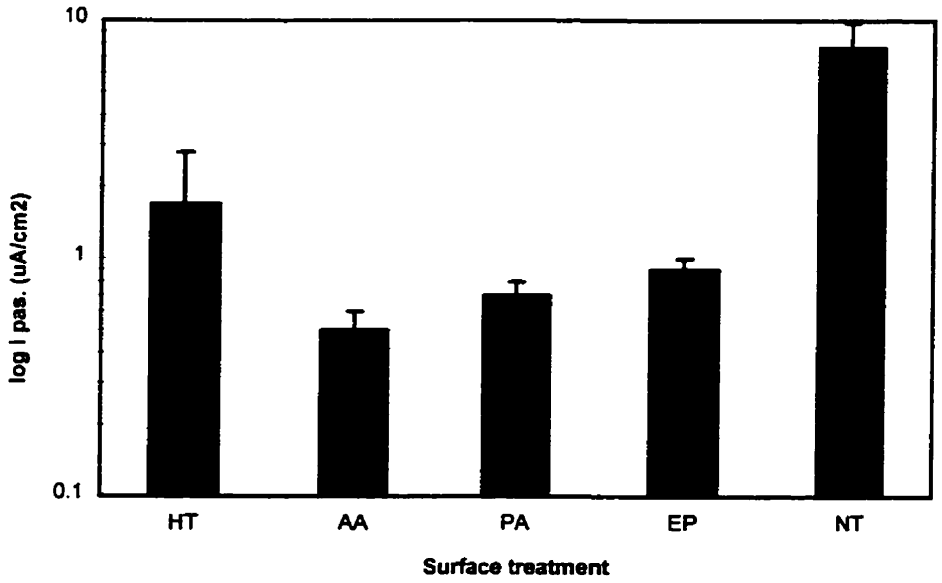
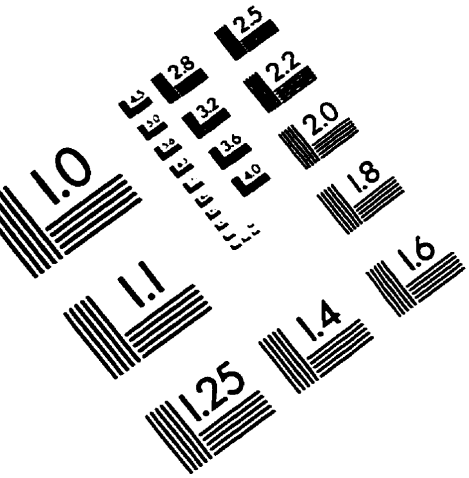
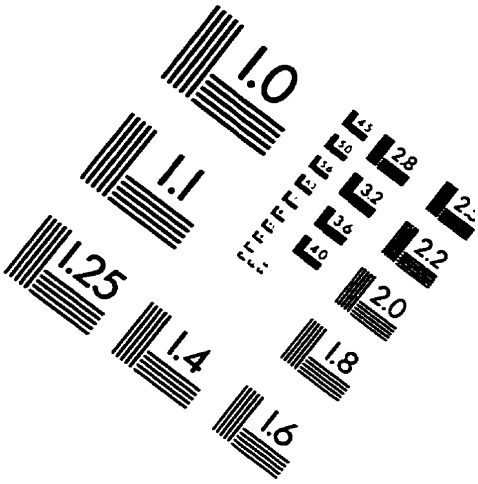
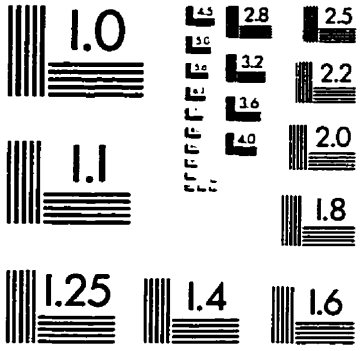


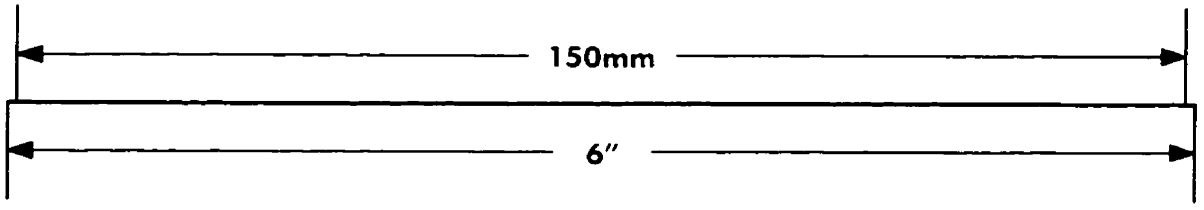
Figure A.1 Variation de la densité du courant de passivation en fonction du traitement de surface

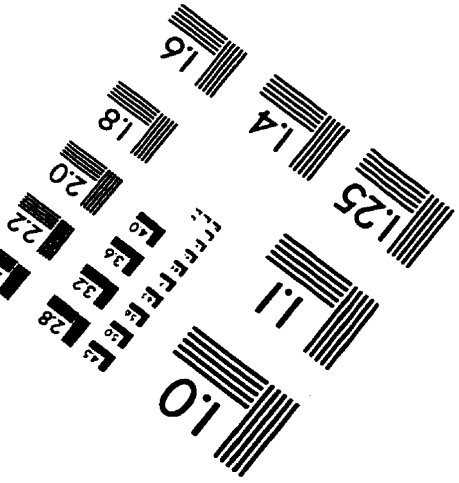
IMAGE EVALUATION TEST TARGET (QA-3)

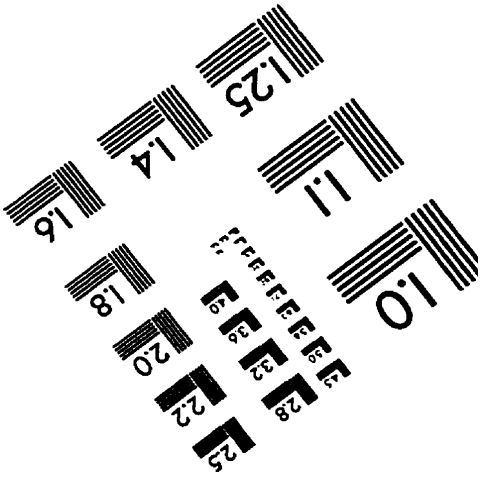












APPLIED IMAGE, Inc
1653 East Main Street
Rochester, NY 14609 USA
Phone: 716/482-0300
Fax: 716/288-5989

© 1993, Applied Image, Inc., All Rights Reserved