

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

MUDr. Zuzana Teuberová

Postgraduální doktorské studium biomedicíny při UK a AV ČR v Praze

obor: Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady: **Prof. MUDr. Jaroslav Živný, DrSc.**

Gynekologicko-porodnická klinika 1. LF UK a VFN

128 51 Praha 2, Apolinářská 18

**PARAMETRY BIOKERAMICKÝCH VRSTEV, POVLAKOVÁNÍ
IMPLANTÁTŮ HYDROXYAPATITEM MODIFIKOVANÝM
ZIRKONEM A VÝHLED K OKAMŽITÉMU ZATÍŽENÍ ZUBNÍHO
IMPLANTÁTU**

MUDr. Zuzana Teuberová

Autoreferát disertační práce k získání vědecké hodnosti Ph.D.

Praha 2006

uchazeč:

MUDr. Zuzana Teuberová

Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN

120 00 Praha 2, Kateřinská 32

odborné vedení uchazeče:

Prof. MUDr. Tat'jana Dostálová, DrSc., MBA

Přednostka Dětské stomatologické kliniky 2. LF UK

Fakultní nemocnice v Motole

150 06 Praha 5 – Motol, V Úvalu 84

Disertační práce vznikala v letech 2003 – 2006 za přispění grantového projektu „Využití parametrů biokeramických vrstev a buněčné terapie při integraci dentálního implantátu“, IGA MZ ČR 8512-3, 2005 – 2007.

OBSAH

Obsah	2
1. Přehled současného stavu problematiky	3
1.1 Úvod	3
1.2 Zubní implantát	3
1.3 Druhy materiálů k povlakování	4
2. Cíle práce	5
3. Hypotéza	6
4. Materiál a metoda povlakování	7
4.1 Pulsní laserová depozice	7
4.2 Metody ověřování stability	8
5. Výsledky	10
5.1 Depoziční podmínky	10
5.2 Souhrn výsledků	11
6. Diskuse	15
7. Závěr	18
Summary	19
Literatura	20
Přehled publikací autorky a vědecká ocenění	21

1. PŘEHLED SOUČASNÉHO STAVU PROBLEMATIKY

1.1 Úvod

V úvodní části autoreferátu vymezují téma používání zubních implantátů, podávám přehled o jejich povlakování a o vhodných materiálech k modifikaci povrchu implantátů. Důležitou část práce jsem věnovala metodě pulsní laserové depozice, kterou jsme využili pro vytvoření vzorků představujících makety povrchů implantátů. Těžiště vlastní práce je v kapitole 4 a 5, kde se zabývám depozicí zirkonu a hydroxyapatitu na substrát z titanové slitiny. Dále rozebírám technické parametry, jejichž ovlivněním se mění i struktura tenkých vrstev. Depozice vrstev a fyzikálních testů jsem se zúčastnila na Fyzikálním ústavu Akademie věd České republiky pod vedením Doc. Ing. Miroslava Jelínka, DrSc. V poslední kapitole hodnotím dosažené výsledky a naznačuji další možný směr rozvoje problematiky povlakování zubních implantátů.

1.2 Zubní implantát

Obor dentální implantologie se zabývá zavedením biokompatibilního materiálu do kosti horní nebo dolní čelisti. Usilujeme o jeho dlouhodobé zabudování do kostních struktur. Zubní implantát se následně stává součástí konstrukce pro definitivní fixní nebo snímatelné protetické řešení za účelem komplexní estetické a funkční rehabilitace pacienta [1].

Cílem výzkumů na poli implantologie je podpora procesu oseointegrace, tedy vhojení implantátu do kosti bez mezivrstvy vazivové tkáně viditelné v optickém mikroskopu a tím zajištění dlouhodobé stability implantátu [1].

Dnes se zabýváme otázkou, jak zkvalitnit povrchy šroubovitých implantátů a zkrátit dobu vhojování. Dostupné prameny ukazují, že

technologickým pokrokem docházíme od klasického Brånemarkova protokolu zavádění implantátu s dobou vhojování 3 měsíce v dolní čelisti a 6 měsíců v horní čelisti, v indikovaných případech i k metodám časného zatížení implantátu. Pacient tak obdrží v indikovaných případech provizorní protetické řešení kotvené na zavedené implantáty v horizontu třech týdnů, nebo u okamžitého zatížení implantátu metoda umožňuje esteticky a funkčně rehabilitovat pacienta do 48 hodin [2].

1.3 Druhy materiálů k povlakování

V současnosti se k výrobě fixtur implantátů nejčastěji využívá titan a jeho slitiny. K povlakování titanových implantátů se užívá mnoha chemických látek, nejčastěji citovaným materiálem je hydroxyapatit (HA), a stále více nacházíme publikace o jeho kombinaci se zirkonem [1, 3].

Hydroxyapatit, je to látka chemicky definována jako $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, asi z 60 % je součástí kosti [3]. Samostatný HA je velmi křehký a neunes protetické zatížení, proto jeho dobrých vlastností nemůžeme využít k výrobě samostatných, nosných implantátů, ale jen k jejich povlakování [4]. HA je při neutrálním pH jen těžce rozpustný, naopak v kyselém, zánětlivém prostředí jeho rozpustnost vzrůstá. Problémem se tedy stává stabilita HA povlaku v biologickém prostředí [5].

Zirkon je chemicky definován jako ZrO_2 . Zirkonová keramika používaná v medicíně, např. v zubní protetice, má mnoho výhodných vlastností závislých na mikrostruktuře [6]. Přidáním zirkonu do povlaku nastane výrazné zpevnění, a tím i vyšší odolnost vůči opotřebení [3]. Nabízí se tedy možnost využití kombinace výhodných vlastností HA a zirkonu.

2. CÍLE PRÁCE

V disertační práci jsem se zaměřila na oblast aplikací laserové techniky ve vývoji nových depozičních metod tenkých vrstev pro dentální implantáty. Cíle práce jsou v oblasti experimentální, v realizaci a ověření vlastností tenkých vrstev hydroxyapatitu (HA) a oxidu zirkoničitého deponovaných na substrát ze slitiny titanu (Ti 6Al 4V). Depozice vrstev a fyzikálních testů jsem se zúčastnila na Fyzikálním ústavu Akademie věd České republiky pod vedením Doc. Ing. Miroslava Jelínka, DrSc.

Cíle práce jsem rozdělila do několika oblastí:

- Příprava experimentu pulsní laserovou depozicí s cílem zlepšení mechanických vlastností deponované vrstvy při zachování optimálních biokompatibilních vlastností.
- Studium depozičních parametrů zmíněné technologie pro povlakování titanového substrátu. Jedná se o zohlednění fyzikálních parametrů na vlastnosti výrobku - hustoty výkonu laserového záření nutného pro ablaci složek terče, tlak a složení okolního prostředí, ohřev podložky pro realizaci amorfních nebo krystalických struktur a kombinace jejich vlivu na požadované parametry vrstev.
- Zkoumání fyzikálních vlastností povlakovaných substrátů vyrobených z titanové slitiny, které simulují povrch nitrokostní části implantátu, tzv. fixtury. Povlak obsahuje vrstvu oxidu zirkonu a hydroxyapatitu. Popis výhod a nevýhod sendvičové struktury (HA na mezivrstvě zirkonu), stejně jako jednotlivé samostatně vytvořené vrstvy na titanovém terči s ohledem na morfologii a poměr Ca/P v deponované vrstvě HA.

- Vyhodnocení krystalinity vzorků metodou rentgenové difraktometrie (XRD), která je u HA určujícím faktorem pro úspěšné vhojování implantátu procesem oseointegrace.
- Mechanickými zkouškami – vrypovou a vpichovou metodou je nutné ověřit adhezi mezivrstvy oxidu zirkoničitého k podkladu.

3. HYPOTÉZA

Pulsní laserovou depozicí můžeme vytvářet tenké vrstvy materiálů na titanové podložce, která simuluje povrch zubního implantátu. Soustředíme se na vytvoření sendvičových povlaků titanové slitiny s mezivrstvou oxidu zirkoničitého a vrstvou hydroxyapatitu, u kterého chceme dosáhnout krystalické struktury pro zlepšení vhojení při procesu oseointegrace.

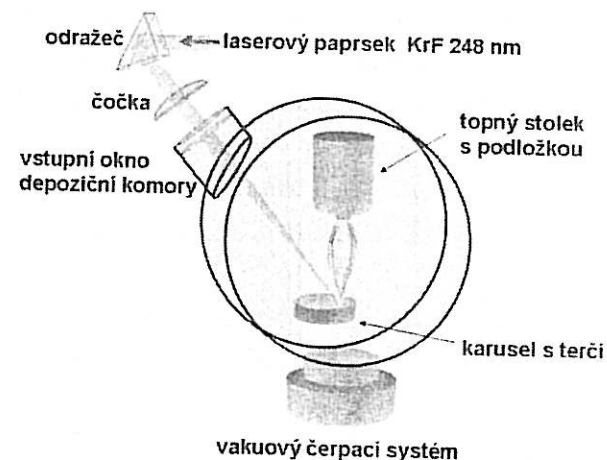
4. MATERIÁL A METODA POVLAKOVÁNÍ

4.1 Pulsní laserová depozice

Metoda pulsní laserové depozice (PLD) se objevila v 90. letech 20. století a záhy konkurovala jiným metodám depozic tenkých vrstev pro své možnosti nanášení pevně adherujících, uniformně tenkých vrstev široké škály materiálů používaných v implantologii a chirurgii. PLD je vcelku univerzální, efektivní, bez tvorby odpadů díky použití laserového paprsku. Při vhodném geometrickém uspořádání experimentu umožňuje deponovat vrstvy i na složitější reálné tvary, tedy i na implantáty se zářezy [3]. Mezi hlavní nevýhody laserové depozice patří tvorba kapiček na povrchu povlaku a poměrně malá plocha deponované vrstvy, obvykle 1 – 2 cm².

Základní experimentální uspořádání PLD tvoří vakuová depoziční komora, držák substrátu umožňující i jeho ohřev a přesné měření teploty, materiál terče a laser. Depoziční parametry nastavujeme experimentálně. Jedná se o teplotu a tlak v depoziční komoře před depozicí a v době nanášení tenkých vrstev, eventuálně o chemické složení ochranné atmosféry, energii laseru, frekvenci a tím i velikost stopy na terči, počet pulsů reguluje tloušťku deponovaného filmu, dále nastavujeme hustotu energie laseru a vzdálenost podložky terče a substrátu i jeho případný ohřev na teplotu v rozmezí 20 až 800 °C.

Laser použitý pro ablaci materiálu z terče umožní kondenzaci částic vzniklého plazmatického oblaku na substrátu, který je umístěn v držáku nad terčem. Tenká vrstva je v dobře volených podmínkách shodná s materiálem terče, je možné zachovat stechiometrický poměr prvků [7]. Schéma depozice je na obr. 4.1.1.



Obr. 4.1.1: Schéma pulsní laserové depozice KrF laserem.

Depoziční komory i optické soustavy jsou originálním výtvozem vzniklým na základě návrhů pracovníků Fyzikálního ústavu AV ČR.

Deponovali jsme dva druhy vzorků: ZRO (zkratka ZRO odpovídá titanové slitině s vrstvou zirkonu) a ZHA (zkratka ZHA odpovídá titanové slitině s mezivrstvou zirkonu a vrstvou hydroxyapatitu). Pro depozici ZrO₂ vrstev u vzorků ZRO-1 až ZRO-24 a následnou depozici HA u ZHA-22 až ZHA-24 jsme použili excimerový laser Lumonic PM 842 vyzařující na vlnové délce 248 nm. Pro depozici HA povlaků u vzorků ZHA-1 až ZHA-13 jsme použili Ar/F laser vyzařující na vlnové délce 193 nm.

4.2 Metody ověřování stability

Vhodné fyzikální a mechanické vlastnosti jsou jedním ze základních faktorů ovlivňujících délku funkčního období implantátu stejně jako je důležité chemické složení vytvořených povlaků a jejich struktura.

Jednotlivé typy titanových nosičů povlakovaných biokeramickou vrstvou podrobujeme komplexu mechanických a biologických zkoušek [8]. Nedílnou součástí optimalizace depozičního procesu je charakterizace mechanických a fyzikálních vlastností, které by měly odpovědět na otázku, jaké parametry jsou z hlediska depozičních podmínek nejdůležitější. V úvahu musíme brát teplotu kovového nosiče, prostředí depoziční komory, hustotu energie laserového paprsku a vzdálenost kovového nosiče od HA terčíku.

V přehledu uvádím jednotlivé analýzy a měření, které jsme použili pro zkoumání charakteristik experimentálně vytvořených vzorků (tab. 1).

Tab. 1: Typy provedených fyzikálních testů

Analýza	Metoda/ přístroj
Měření tloušťky vrstev	Alpha Step 500
Analýza morfologie povrchu	SEM (rastrovací elektronový mikroskop)
Analýza krystalinity	XRD (rentgenová difraktometrie)
Ca/P poměr	WDX (vlnově disperzní rentgenová analýza)
Testy přilnavosti povlaků	Vrypová metoda Vpichová metoda
Měření kontaktního úhlu	Kapková metoda

5. VÝSLEDKY

Vytvořili jsme metodou pulsní laserové depozice dvě skupiny vzorků: 1 – 13 a 14 – 24. Blíže jsme vzorky označili dle nanesených vrstev na podložku z titanové slitiny: ZRO 1 – 13 (zirkonová vrstva), ZHA 1 – 13 (zirkonová mezivrstva s vrstvou HA), ZRO 14 – 24 (zirkonová vrstva) a ZHA 21 – 24 (zirkonová mezivrstva s vrstvou HA). Charakteristika vzorků, popis depozičních podmínek a výsledky prvních testů (vzorky ZRO 1 – 13, ZHA 1 – 13) byly základem pro definitivní nastavení depozičních podmínek v druhé části experimentu. Detailně jsme prozkoumali zirkonové vrstvy, které jsou nosnou plochou pro HA film, a tím pro novou sendvičovou strukturu s očekávanými dobrými mechanickými i biologickými vlastnostmi. Důraz klademe na zachování pozitivních biokompatibilních vlastností HA se zlepšenou adhezí k titanové slitině pomocí mezivrstvy zirkonu.

5.1 Depoziční podmínky

První ucelený soubor vzorků vznikl depozicí s ArF a KrF excimerovými lasery. Zirkonové vrstvy jsme připravili excimerovým KrF laserem při frekvenci 10 Hz a výstupní energii 450 mJ, jehož paprsek prochází přes optickou soustavu čoček do depoziční komory (obr. 4.3.1.). Vzorky byly uchyceny ve vzdálenosti 4 cm od titanové slitiny tvaru ploché kruhové podložky o průměru 10 a 12 mm a tloušťce 2 mm. Depozice zirkonu probíhaly při teplotě 20 °C. Tloušťka této vrstvy činila 100 nm (4000 laserových pulsů).

V dalším kroku jsme deponovali HA vrstvy na titanovou slitinu pokrytou vrstvou oxidu zirkoničitého. HA vrstvy jsme vytvořili ArF laserem při teplotě 600 °C. Před vlastní depozicí jsme vyčerpali z komory

vzduch a vytvořili jsme tak podtlak v hodnotách 10^{-3} Pa a následně jsme promísili atmosféru z vodních par a argonu, která dosahovala tlaku 50 Pa. Soubor vzorků jsme deponovali při frekvenci 50 Hz, výstupní energii 300 a 330 mJ a hustotě energie 6 Jcm^{-2} . Substrát jsme umístili ve vzdálenosti 3 cm od HA terče.

Depozice povlaků u dalšího souboru vzorků 14 - 24 probíhala za nízkého tlaku ve zbytkové atmosféře. Vrstvy jsme opět nanášeli na ploché kruhové podložky ze slitiny Ti 6Al 4V.

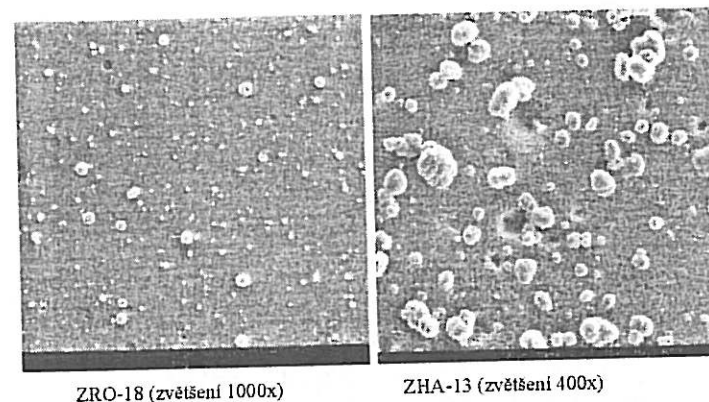
Vzduch v depoziční komoře jsme odčerpali na tlak v řádu 10^{-3} Pa. Hustota energie cílená na terč ZrO_2 dosahovala 4 Jcm^{-2} . Teplota vzorků při depozici zirkonových vrstev byla 20 °C, 400 °C a 700 °C. Zirkonovou mezivrstvu jsme na titanový vzorek deponovali pouze při pokojové teplotě a ve vzdálenosti terče 4 cm od substrátu. Vrstvu z HA jsme vytvořili na $\text{ZrO}_2/\text{Ti 6Al 4V}$ vzorcích rovněž pomocí excimerového laseru, ale při nižší hustotě energie - 4 Jcm^{-2} a ve vzdálenosti 6 cm mezi titanovým vzorkem a HA terčem. Depozice HA proběhly v pracovní atmosféře $\text{H}_2\text{O}:\text{Ar}$ při tlaku 40 Pa (poměr 22:18).

5.2 Souhrn výsledků

Tloušťka zirkonových vrstev, jejichž fyzikální vlastnosti jsme zkoumali, byla od 100 do 800 nm. HA vrstvy byly přibližně 600 nm silné. Povrch je relativně nerovný, což je v souvislosti s technikou nanášení povlaků. S rostoucí teplotou při depozici u vzorků pozorujeme hrubější povrch vrstev. Proto je většinou obtížné určit průměrnou tloušťku vrstev a naměřené hodnoty jsou spíše orientační.

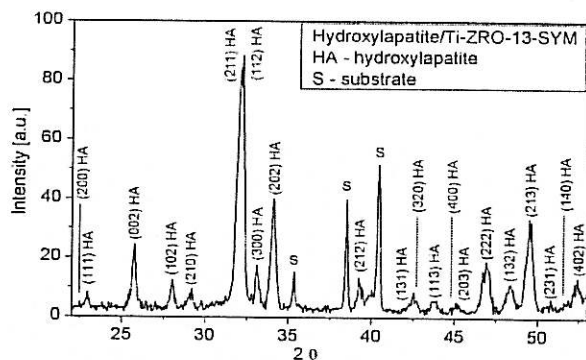
Skenovací elektronovou mikroskopií (SEM) jsme využili ke studiu morfologie vrstev. Typický hladký povrch s drobnými kapičkami jsme zjistili u HA i u zirkonových vrstev. Průměr kapiček byl u vrstev se

zirkonem přibližně stejný v rozsahu 1 – 5 μm a u sendvičových povlaků 5–20 μm (obr. 5.2.1). Hustota kapek byla nižší na povrchu zirkonových vrstev.



Obr. 5.2.1: SEM, detaily povlaků ZRO – 18 (titanová slitina s oxidem zirkoničitým - zvětšení 1000x) a vzorku ZHA-13 (titanová slitina s mezivrstvou oxidu zirkoničitého a vrstvou hydroxyapatitu - zvětšení 400x).

Všechny zirkonové povlaky jsme shledali při různých depozičních podmínkách jako amorfni, jejich povrch byl hladký s drobnými kapičkami typickými pro metodu pulsní laserové depozice. Vrstvy HA vytvořené ArF laserem jsme popisujeme jako krystalické (obr. 5.3.2), zatímco vrstvy vytvořené KrF byly amorfni nebo jen částečně krystalické. Důvodem není pouze jiná vlnová délka použitého laseru, ale i hustota energie a atmosféra v depoziční komoře.



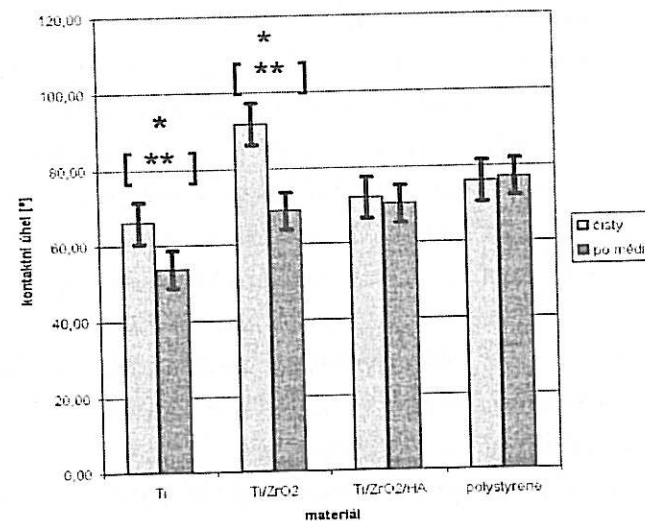
Obr. 5.2.2: XRD vzorku ZHA-13. Spektrum HA vrstvy na substrátu zirkonu a titanové slitiny prokazuje přítomnost HA v krystalické formě.

Testem přilnavosti povlaků jsme prokázali kritické hodnoty v rozmezí 3,0 – 9,5 N. Za depoziční teploty 20 °C nebyly přítomné žádné praskliny v zirkonové vrstvě. Tato hodnota tedy napovídá, že další depozice zirkonové vrstvy k vytvoření sendvičového povlaku bychom měli provádět při pokojové teplotě.

Průměrný poměr Ca/P u vytvořených HA vrstev byl u vzorků ZHA 21-24 1,65. Tato hodnota se blíží hodnotě stechiometrického poměru Ca/P přírodního HA, která je 1,67. Optimální poměr Ca/P HA vrstev lze získat při teplotě podložky 600°C a při pracovní atmosféře obsahující vodní páry a argon.

Kontaktní úhly u kombinovaného vzorku Ti/ZrO₂/HA a titanové slitiny jsou v rozmezí optima pro sorpci proteinů. Vzorky Ti/ZrO₂/HA a Ti/ZrO₂ vykazují vyšší hodnoty než vzorky bez povlaků (obr. 5.2.3). Všechny hodnoty kontaktního úhlu poklesly při vložení terčků do média H-MEM (ÚMG ČSAV, Praha, Česká republika), které obsahuje proteiny. Nepozorovali jsme změny hodnot kontrolního tkáňového polystyrenu, který

je všeobecně brán jako ideální povrch pro buněčnou kultivaci. Pokles kontaktního úhlu je známkou proteinové sorpce na povrchu vzorku.



Obr. 5.2.3: Měření kontaktního úhlu

Ti – titanová slitina Ti 6Al 4V

Ti/ZrO₂ - titanová slitina Ti 6Al 4V s povlakem zirkonu

Ti/ZrO₂/HA - titanová slitina Ti 6Al 4V s mezivrstvou zirkonu a povlakem hydroxyapatitu,

Signifikanční údaje jsou označeny hvězdičkou.

6. DISKUSE

Rychlejší vhojení povlakovaného implantátu a jeho aktivní začlenění v procesu oseointegrace dává naději na další zkrácení vhojovací fáze implantátu a potenciálně může naznačovat cestu k přímému zatížení povlakovaného implantátu, které umožňuje zkrátit terapeutický postup. Stále nevyřešenou otázkou je rychlost desintegrace HA vrstvy. Nové techniky se snaží tento problém vyřešit a zabránit mu zvýšenou odolností povlaku a také vyšší adhezí HA k titanovému implantátu. Histologické nálezy prokázaly vynikající vhojení titanu do kostní tkáně a jeho schopnost těsného kontaktu s okolní kostí. Elektronovým mikroskopem se podařilo odhalit pouze několik nanometrů silnou amorfní mezivrstvu. Pravou chemickou vazbu kosti s implantátem popisují někteří autoři pouze u HA povlakovaného implantátu. Vazba je výsledkem tzv. biointegrace, procesu charakteristického pro bioaktivní materiály, které dávají předpoklad k osteokondukčním procesům aktivní stimulací kosti [1].

Krystalická struktura je jedním z předpokladů úspěchu povlakovaného implantátu [9] a při metodě PLD je v přímé návaznosti na teplotu vzorku [10]. Krystalinita byla optimální u HA vzorků deponovaných PLD při teplotě 600°C, jak je patrné z grafů XRD (obr. 5.2.2). Tato skutečnost koresponduje s výsledky, které ve své studii uvádí Cotell. Poukazuje na konverzi amorfního HA na krystalický při teplotě 575°C. Významnou úlohu v celém procesu hraje tenze vodních par [11].

Výsledky našich experimentů dokládám skenovací elektronovou mikroskopii (SEM). Typický hladký povrch s drobnými kapičkami jsme zjistili u HA i u zirkonových vrstev. Rychlost, se kterou dopadají na povrch, je natolik vysoká, že nehrozí odloučení kapiček od povrchu. Hladký rovnoměrný povrch má menší tendenci k praskání než vrstva

nestejněměrné síly. K drsnějšímu povrchu lépe adherují kostní buňky, k hladkému povrchu spíše nasedají fibroblasty [8]. Povrch vytvořený metodou pulsní laserové depozice se svými nerovnostmi by neměl činit klinické obtíže, dovoluji si tvrdit, že vzhledem k výše uvedeným argumentům by naopak měl být pro osteoblasty atraktivní. Zkouškami přilnavosti povlaků jsme se snažili zjistit vzájemnou vazebnou sílu povlaků. Tyto vazebné síly mohou být charakteru van der Waalových sil, elektrostatických sil a nebo chemických vazebných sil, které působí v oblasti existujícího rozhraní. Přilnavost povlaku k podložce je jedním ze základních parametrů ovlivňujících životnost povlaku a je silně ovlivněna charakterem deponovaného materiálu, morfologií, mikrostrukturou a zbytkovým napětím vytvořeným při jeho nanášení. Měření a interpretace výsledků jsou ale značně problematické. Nemůžeme dobře srovnávat jednotlivé výsledky testů u různých měření, protože kritická síla naměřená u vrypových a vpichových zkoušek může kolísat i ve stejné vrstvě [3]. Podobné poznatky uvádí ve své studii i Blind [10]. Jednotlivé výsledky tedy hodnotím jako relativní a bude je třeba pro další posuzování porovnat s výsledky vzorků vytvořenými stejným postupem. Publikované studie toto srovnání nenahradí [3].

Poměr Ca/P blížící se hodnotě stechiometrického poměru Ca/P přírodního HA, která je 1,67 a vzrůstající stupeň krystalinity zlepšuje stabilitu a buněčnou aktivitu. Z experimentů vyplývá, že dochází k difúzi oxidu vápníku v zirkonu během splnutí HA/zirkonových komponent [10]. Krystalové defekty, jako jsou nečistoty, mezery nebo rozrušení, mají vliv na difúzní jevy ovlivňující míru rozpustnosti, ale metoda PLD zabraňuje během povlakování titanu vnikání nečistot do povlaku prací ve vakuu nebo v ochranné atmosféře [7]. Vysoce krystalické povrchy vytvořené pomocí PLD nejsou jednoduše resorbovatelné a některé studie dokonce dokazují,

že HA krystaly na povrchu implantátu mohou i stimulovat kostní apozici [12].

Titan je úspěšný biomateriál. Další vývoj ale nastiňuje modifikaci jeho povrchu a tím cílené ovlivnění procesu vhojování. Pokud poznáme biologické reakce na určitý druh povlakování, můžeme předpokládat kaskádu biologických reakcí spíše než jen čekat na adsorpci proteinů při oseointegraci [12].

Kritická místa povlakovaných implantátů jsou na rozmezí HA a kosti, uvnitř plochy povlakované vrstvy a na rozmezí HA a titanové slitiny. Cílem celého procesu hledání a experimentálního ověřování nových metod je urychlení vhojování implantátu se stabilním povrchem [7].

7. ZÁVĚR

Cílem výzkumu bylo vytvořit nový technologický postup pro zhotovení biokeramické vrstvy pevně adheující ke kovovému podkladu slitiny titanu s krystalickým, neresorbovatelným povlakem v tenké vrstvě. Z fyzikálních analýz vzorků vyplývá, že povrch z oxidu zirkoničitého a hydroxyapatitu vytvořený pulsní laserovou depozicí na titanové slitině tyto podmínky splňuje. Z mechanického hlediska je samostatný hydroxyapatit velmi křehký a nemůžeme ho použít jako nosnou část implantátu. Zirkon má bezpochyby lepší mechanické vlastnosti než ostatní biomateriály (jako Ti 6Al 4V, CoCr slitina) a jeho biokompatibilita je také zřejmá. Při použití implantátů pokrytých HA byla pozorována rychlejší a kvalitnější oseointegrace implantátu. Celistvá HA vrstva na titanovém implantátu zvyšuje stabilitu implantátu a biointegraci do kostní tkáně.

Závěrem můžeme konstatovat fakt, že zirkonová vrstva dostatečně silně adheuje k titanové slitině a umožňuje depozici krystalického HA, a tak zajišťuje vhodné materiálové podmínky pro možnou oseointegraci implantátu, protože krystalická struktura hydroxyapatitu je odolnější a neměla by podléhat desintegraci. Zirkonovou mezivrstvou je vhodné deponovat za pokojové teploty, hydroxyapatit za zvýšené teploty 600 °C. Nastavení kombinace depozičních podmínek našeho experimentu se jeví jako výhodné.

Předpokládáme, že využití titanových implantátů s hydroxyapatitovou vrstvou povede k rychlejšímu funkčnímu a estetickému ošetření pacientů v důsledku zkrácení doby od zavedení implantátu až do celkové protetické rekonstrukce.

SUMMARY

PHYSICAL PROPERTIES OF BIOCERAMIC LAYERS, ZIRCONIA/HYDROXYAPATITE IMPLANT COATING AND ITS CONSEQUENCES TO THE DIRECT IMPLANT LOADING

Coating of the implants is a possible way how to treat patients in a shorter time period with the similar results as following the classical Brånemark protocol.

Hydroxyapatite is one of the most attractive materials for human hard tissue implants because of its close resemblance to the bone and the teeth. Its positive influence on the healing process called osseointegration is obvious. Zirconia ceramics have several advantages such as the high strength and it is frequently used to reinforce other ceramics. The concept of adding zirconia as the second phase to hydroxyapatite significantly increased the bonding strength.

In the dissertation pulsed laser deposition is shown as one of the coating method. The bioceramic zirconia samples were characterized by methods for thin solid film analysis such as X-ray diffraction, morphology investigation by electron microscope and measurement of the film thickness. Afterwards we examined the mechanical properties of titanium alloy samples with the buffer layer from zirconia and the coating from hydroxyapatite. We measured crystallinity, morphology characteristics, wettability and Ca/P ratio of the hydroxyapatite layer. The methods used for physical evaluation were electron microscopy, X-ray diffraction, goniometric measurement of contact angle and wavelength dispersive X-ray analysis.

The physical tests summarized good mechanical properties and a satisfactory adhesion to a titanium core modified with zirconia and hydroxyapatite. Pulsed laser deposition was found to be a promising method of applying thin films to a metal core for dental implants.

LITERATURA

1. Šimůnek A. a spol.: Dentální implantologie (monografie). Nucleus, Hradec Králové, 2001.
2. Seydlová M., Havlová Z., Dostálová T., Nathanský Z., Šimůnek P.: Přímé zatížení implantátu (souborný referát), Prakt. Zub. Lék 2004, vol. 52, č. 2, s. 54-63.
3. Mihailescu I. N., Jelínek M., Nelea V.: Pulsed laser deposition of thin films. Applications – Led Growth of Functional Materials, Chapter 18, John Wiley and Sons, Inc, 2006, s. 421-459, v tisku.
4. Arias J. L., Mayor M. B., Pou J., Leon B., Pérez-Amor M.: Stochiometric transfer in pulsed laser position of hydroxylapatite, Applied Surface Science, 2000, 154 – 155, s. 434-438.
5. Kopecká D., Šimůnek A.: Současné názory na povlakování dentálních implantátů hydroxyapatitem, souborný referát, Česká stomatologie, 2000, č.1, s. 29-35.
6. Piconi C., Maccauro G.: Zirconia as a ceramic biomaterial. Review, Biomaterials, 1999, 20, s. 1-25.
7. Jelínek M.: Pulsní laserová depozice tenkých vrstev v elektronice, Fyzikální ústav AV ČR, Praha, 1999
8. Himmlová L., Dostálová T., Jelínek M.: Soubor optimálních mechanických vlastností biokeramických povlaků implantátů a jejich parametry pro techniku pulsní laserové depozice, Lékař a technika, 1999, č.6, s.126-134.
9. Ong J. L., Chan D. C.: Hydroxyapatite and their use as coatings in dental implants. Review, Crit Rev Biomed Eng., 2000, 28(5-6), s. 667-707.
10. Blind O., Klein L. H., Dailey B., Jordan L.: Characterization of hydroxyapatite films obtained by pulsed-laser deposition on Ti and Ti-6AL-4V substrates, Dent Mater., 2005, Nov, 21(11), s. 1017-1024.
11. Cotell C. M.: Pulsed laser deposition and processing of biocompatible hydroxylapatite thin films, Appl Surface Sci, 1993, 69, s. 140-148.
12. Brunette D. M., Tengvall P., Textor M., Thomsen P.: Titanium in Medicine, Material Science, Surface Science, Engineering, Biological Responses and Medical Applications (monografie), Springer, Germany, 2001.

PŘEHLED PUBLIKACÍ AUTORKY A VĚDECKÁ OCENĚNÍ

- Teuberova Z., Seydlova M., Dostalova T., Dvorankova B., Smetana K. Jr., Jelínek M., Masinova P., Kocourek T., Kolarova K., Wilson J.: Biological and physical properties of pulsed laser deposited zirconia/hydroxyapatite on titanium – in vitro study, *Laser physics*, 2007, no. 4, vol. 17, s. 1-5, v tisku, **IF: 0,684**
- Teuberová Z., Seydlová M., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Jelínek M., Kocourek T.: Metabolic activity of LEP in the presence of KrF laser coated titanium implants, *Lasers in medical science* (20th int. Congress laser medicine, abstrakt book 10-12.11.2005, Florencie.), 2005, vol. 20, s. S 37, **IF: 1,90**
- Seydlová M., Teuberová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Jelínek M., Kocourek T., Mroz W.: Biological properties of titanium implants covered with hydroxyapatite and zirconia layer by pulsed laser: In vitro study. *Journal of applied physic*, 2006, 99, s. 014905-1-014905-6, **IF: 1,642**
- Jelínek M., Dostalova T., Teuberova Z., Seydlova M., Masinova P., Kocourek T., Mroz W., Prokopiuk A., Smetana K. Jr.: Study of laser created ZRO₂ and hydroxyapatite/ZRO₂ films for implantology. *Biomol Eng.*, 2006, Jun 6, s. 1-4, **IF: 1,62**
- Seydlová M., Teuberová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Jelínek M., Kocourek T.: KrF laser coated titanium implants do not decrease cell proliferation. *Lasers in medical science* (20th int. Congress laser medicine, abstrakt book 10. -12.11.2005, Florencie.), 2005, vol. 20, s. S 34, S 37, **IF: 1,90**
- Seydlová M., Teuberová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Jelínek M., Kocourek T., Mroz W.: Biological and mechanical properties of titanium implant covered with hydroxyapatite and zirconia layer by pulsed laser. *Protetyka stomatologiczna*, Wroclaw, 2005, vol. 50, No. 5, Supl. LV, s. 89.
- Havlová (Teuberová) Z., Seydlová M., La Serna P., Dostálová Z., Jelínek M.: Povlakování implantátů hydroxyapatitem modifikovaným zirkonem. *Čes Stomat.*, 2004, vol. 104, no. 4, s. 149 – 159.
- Teuberová Z., Seydlová M., Dostálová T., Jelínek M., Dvořánková B.: Titanový terčík modifikovaný hydroxyapatitem a zirkonem nevykazuje známky cytotoxicity. *Prakt. Zub. Lék.*, 2005, vol. 53, no. 1, s. 7-11.
- Seydlová M., Havlová (Teuberová) Z., Dostálová Z., Šimůnek P.: Přímé zatížení implantátu (souborný referát). *Prakt. Zub. Lék.*, 2004, vol. 52, no. 2, s. 54-63.
- Seydlová M., Havlová (Teuberová) Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., Jelínek M.: Titanový terčík modifikovaný hydroxyapatitem a zirkonem - hodnocení povrchu in vitro. *Prakt. Zub. Lék.*, 2004, vol. 52, no. 6, s. 159-164.
- Dostálová T., Seydlová M., Bartoňová M., Teuberová Z., Radina P.: Klasifikace defektů chrupu. *Progressdent*, 2005, vol. 11, no. 1, s. 46-49.

Teuberová Zuzana, Dostálová Tatjana, Holakovský Jiří: Okamžité a časné zatížení implantátů u zdravotně rizikových pacientů. *Progressdent*, 2005, no. 2, s. 32-37

Seydlova M., Dostalova T., Dvorankova B., Smetana K. Jr.: Mice and human fibroblasts colonize the surface of titanium samples. Abstract book, 28th Annual Conference of the European Prosthodontic Association, Izmir, Turkey, 16. - 18. 9. 2004, s. 132.

Teuberova Z., Dostalova T., Jelínek M., Dvorankova B.: Titanium samples modified with hydroxyapatite and zirconia are not toxic. Abstract book, 28th Annual Conference of the European Prosthodontic Association, Izmir, Turkey, 16. - 18. 9. 2004, s. 133.

Seydlová M., Havlová (Teuberová) Z., Dostálová Z., Dvořánková B., Smetana K. Jr., Jelínek M.: Biologické vlastnosti titanové slitiny - přímý test cytotoxicity. *Pražské dentální dny*. 13.-16.10. 2004, s. 30.

Teuberova Z., Seydlova M., Dostalova T., Dvorankova B. Jelínek M.: Titanový terčík modifikovaný hydroxyapatitem a zirkonem nevykazuje známky cytotoxicity. 5. studentská vědecká konference 1. LF UK, Praha 24.5.2004, abstraktová kniha, s. 37.

Seydlova M., Teuberova Z., Dostalova T., Dvorankova B., Smetana K. Jr., Jelínek M.: Titanový terčík modifikovaný hydroxyapatitem a zirkonem – hodnocení povrchu in vitro. 5. studentská vědecká konference 1. LF UK, Praha 24.5.2004, abstraktová kniha, s. 39.

Vědecká ocenění:

Quintessence poster prize za rok 2005 za poster na 29th Annual Conference of the European Prosthodontic Association Poznaň, 1.-3. 9. 2005:

Seydlová M., Teuberová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., Jelínek M., Kocourek T., Mroz W.: Biological and mechanical properties of titanium implant covered with hydroxyapatite and zirconia layer by pulsed laser deposition

Cena Josefa Hlávky za rok 2006 – Nadání Josefa, Marie a Zdeňky Hlávkových