

Univerzita Karlova v Praze

1. lékařská fakulta

**Postgraduální doktorské studium v biomedicíny při UK a AV ČR
v Praze**

MUDr. Michaela Beznosková Seydlová

**Biologické vlastnosti titanové slitiny povlečené hydroxyapatitem
ve vztahu k přímému zatížení dentálního implantátu**

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

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

128 51 Praha 2, Apolinářská 18

**Biologické vlastnosti titanové slitiny povlečené hydroxyapatitem ve vztahu
k přímému zatížení dentálního implantátu**

MUDr. Michaela Beznosková Seydlová

Autoreferát disertační práce k získání vědecké hodnosti Ph.D.

Praha 2006

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

Přednostka Dětské stomatologické kliniky

Fakultní nemocnice v Motole

150 06 Praha 5 – Motol, V Úvalu 84

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

I. Ú V O D

Dentální implantologie se zabývá zavedením biokompatibilního materiálu na povrch kosti nebo do kosti horní či dolní čelisti. Cílem je dokonalá integrace implantovaného materiálu zajišťující dlouhodobý léčebný efekt.

Snaha o rekonstrukci chrupu pomocí alogenního materiálu je stará několik tisíc let, v dřívějších dobách však často končila nezdarem. O nejvýznamnější přelom v dentální implantologii se zapříčinil Švéd Per-Ingvar Brånemark, který okolo roku 1952 jako mladý vědecký pracovník objevil při studiu krevních buněk víceméně náhodný jev, který byl později nazván osteointegrace (bude vysvětleno níže). Začátkem 80. let 20. století ovládly osteointegrované implantáty téměř celou dentální implantologii. Jedinou významnější novinkou bylo zavedení hydroxyapatitového povlaku na titanový povrch implantátu (1984).

Biomateriály obecně jsou definovány jako syntetické materiály, které navodí specifickou biologickou aktivitu. Vzhledem k implantátům je možno rozdělit biomateriály do čtyřech základních kategorií:

1. biologicky inaktivní – okolní tkáň reaguje tak, že je zaobalí do neadherující fibrosní tkáně (enkapsulace), sem patří chromkobalt, chromnikl, Al_2O_3 keramika, polyethylen a další.

2. porézní – umožňují vrůstání tkáně do pórů (biologická fixace), sem patří: hydroxyapatit a hydroxyapatitem povlakované kovy.

3. bioaktivní – vážou se k tkáním (biologická fixace díky chemické vazbě mezi implantátem a kostí). Bioaktivní materiál vyvolá specifickou biologickou odpověď, která vede posléze ke vzniku de novo tvořené mineralizované kosti. Tato skupina zahrnuje: denzní kalciumfosfátovou keramiku, bioaktivní sklo, bioaktivní sklo-keramiku a další.

4. resorbovatelné – ty jsou postupně časem nahrazovány tkání: např. trikalciumfosfát.

Kalcium hydroxyapatit (HA), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, neboli hydratovaný kalciumfosfát je svojí strukturou podobný minerálnímu složení kostí a zubů. Hydroxyapatitová keramika se užívá v medicínských aplikacích pro její rychlou a přímou vazbu na kostní tkáň. Je nositelem základních znaků bioaktivity – osteokondukce a možná i osteoindukce. Osteokondukčními vlastnostmi rozumíme schopnost sloužit osteoblastům a osteocytům jako mřížka pro překlenutí tkáňového defektu při postupující novotvorbě kosti. Tato vlastnost tvoří základ využití tohoto materiálu k povlakování v ortopedii a v dentální implantologii. Osteoindukce pak znamená podporu tvorby nové kostní tkáně prostřednictvím chemického agens. Schopnost vázat kostní tkáň je právě unikátní vlastností bioaktivní keramiky. Analýzy na rozhraní implantát-kost prokázaly přítomnost hydroxyapatitu jako klíčového pro vznik mezivrstvy. Chemická interakce mezi HA a kostní tkání umožňuje úspěch terapie.

Povlakování je z technologického hlediska velmi obtížný úkol. Vhojení bioaktivního hydroxyapatitu do kosti (biointegrace) je kvalitnější spojení než osteointegrace a podle mnohých autorů má dokonce povahu chemickou. Probíhá přibližně dvakrát rychleji, což dovoluje pak u povlakovaného implantátu zkrátit vhojovací období. Povlakované implantáty jsou zároveň podstatně tolerantnější k nepřesnostem vzniklých při preparaci kostního lože. Modifikovaný povrch implantátu podněcuje okolní buňky k sekreci matrix, buňky se poté začnou diferencovat v osteoblasty. Kalcifikace pak proběhne za 3-6 dní a kost se začíná remodelovat za 21 dní.

2. CÍL DISERTAČNÍ PRÁCE

Byl vyvinut nový typ implantátu z titanové slitiny Ti6Al4V se speciální úpravou povrchu - laserově nanesenou tenkou vrstvou krystalického hydroxyapatitu s mezivrstvou zirkonu.

Cílem mé disertační práce bylo otestovat tento nový povrch implantátu z hlediska biologické snášenlivosti. Mým úkolem bylo především provést základní testy cytotoxicity a na jejich základě pokračovat v biologické charakteristice povrchu implantátu. Bylo nutno vybrat vhodné buňky ke kultivaci a příslušné metodiky *in vitro* a s jejich pomocí zároveň zhodnotit, zda lze tento materiál splňují základní kritéria k provádění testů *in vivo*, které by mohly do budoucna vést k jeho využití v klinické praxi.

3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

Zatížení implantátu lze rozdělit na přímé (imediální), časné (early functional loading) a na tzv. odložené, tj. provedené ve druhé fázi. Chirurgická fáze zavedení implantátu nabízí dvě základní metody – metodu dvoufázovou (tzv. two-stage surgical protocol) a jednodobou implantaci (tzv. one-stage surgical procedure).

Klasický je tzv. two-stage protocol dle Brånemarka (publikovaný v roce 1977), jehož cílem je odložené zatížení. Mezi hlavní důvody této klasické metody patří zejména minimalizování rizika infekce, prevence fibrosního vhojení implantátu a snížení rizika neúspěchu časného zatížení. Mnozí autoři uvádějí, že implantát by měl být zanořen pod měkkými tkáněmi a po zavedení by rána neměla být insultována po nejméně 3–6 měsících. Doba klidu má napomáhat k nerušenému zhojení rány a zlepšit osteointegraci implantátu.

Za nejvíce kontroverzní u techniky přímého zatížení lze považovat pochybnost, zda při této metodě dochází k fibro - či osteointegraci. Mnoho studií dokazuje, že k fibrointegraci dochází, jiné studie zase naznačují opak. Fibrointegrací označujeme vytvoření vazivové mezivrstvy v mikroprostoru mezi implantátem a přilehlou kostí. Někdy je tato vrstva nazývána pseudo-periodonciem. Jedná se o selhání stabilní nitrokostní regenerace. Vazivová tkáň je obklopena nezralou pletivovou kostí – jizevnatou bariérou, která implantát obklopuje. Tento stav se nepovažuje za úspěšný výsledek implantace.

Podstatou osteointegrace je přímý kontakt povrchu implantátu s kostí bez jakékoliv mezivrstvy, dříve označováno Schroederem (1976) jako ankylotické ukotvení. Jedná se tedy o přímý adhesivní kontakt živé kosti s anorganickým materiálem. Tento kontakt vzniká právě díky povrchu implantátu či jeho povrchové úpravě. Úspěšně integrovaný implantát je ten, u něhož se vytvoří

přímý nezprostředkovaný kontakt živé kosti s vrstvou kovu nebo jeho povrchovou úpravou, ať je z jakéhokoli materiálu.

Proces vhojování implantátu v předem vypreparované kavitě je srovnatelný s hojením kostní rány, a sice dochází k fyziologické zánětlivé odpovědi organismu, která je modifikována přítomností implantátu.

Vhojování implantátu oseointegrací a její rozsah je proces, na který působí mnoho faktorů jak ze strany příjemce, tak ze strany vlastního materiálu. Mezi zásadní faktory vhojení implantátu oseointegrací patří:

- Charakter pacienta – celkový zdravotní stav, anatomie čelistí, bruxismus
- Design implantátu – tvar, velikost a povrchová úprava
- Chirurgické zavedení implantátu – atraumatická technika, stabilita implantátu, mikropohyby
- Charakter kosti – kvalita a kvantita
- Protetické ošetření – dlahování (splinting - dočasné, trvalé, snímatelné, fixní).

Nejčastěji používanými implantáty z hlediska tvaru jsou implantáty titanové válcové. Převládá názor, že pro kvalitní osteointegraci je výhodnější hrubší povrch s nerovnostmi o rozměru 1,0 – 1,5 μm . Volí se mezi dvěma základními skupinami technologií, jak povrch implantátu upravit. Jednak je to tzv. subtraktivní metoda, kdy se z původně hladkého povrchu hmota ubírá (sem patří zejména pískování a leptání kyselinou) a dále tzv. aditivní metoda, kdy se naopak přidává další materiál (plasma sprejování, pulzní laserová depozice).

Povlakované implantáty vznikly ze snahy vyrábět implantáty z více biokompatibilních materiálů. Jako velmi výhodný materiál se dle mnoha studií jeví hydroxyapatit, který má i vlastnosti osteokondukční, tj. má schopnost vést osteogenezi určitým směrem.

Mezi často zmiňované nevýhody tenkého povlaky HA na jádře implantátu patří tendence tohoto materiálu fragmentovat. Uvolnění partikulí materiálu může způsobit nepříznivou reakci okolní tkáně, která může být podobná situaci jako kdyby fragmentoval polymetymetakrylát či polyetylen. Mnoho typů studií prokázalo, že změna fyzikálních vlastností, či krystalické formy, jsou kritickou determinantou biologické odpovědi na HA či tricalciumfosfát.

Pulzní laserová depozice (PLD) byla poprvé představena v roce 1992. U PLD velmi rychle kondenzují páry hydroxyapatitu na kovové jádro jako tenká vrstva a mikročástice v ten samý čas. PLD je schopná vytvářet povlaky, které jsou v podstatě velmi hustě zkomprimovanými mikročásticemi. Změna parametrů laserového paprsku má vliv na velikost a distribuce mikročástic. To umožňuje tvorbu keramických povlaků, které jsou nanášeny velmi těsně na povrch a mají předem definovanou krystalinitu, morfologii i skladbu. Povrchové vlastnosti bioaktivních materiálů jsou tedy dány způsobem vlastní přípravy povlaku.

Technika přímého zatížení se dá teoreticky využít u všech typů indikací implantátu. Mezi hlavní indikace patří ztráta jednoho zubu, velká mezera, zkrácený zubní oblouk a zcela bezzubá čelist. U přímého zatížení bychom měli zvažovat, jaký druh implantátu užitíme a do jak kvalitní kosti budeme implantovat. Jak již bylo zmíněno výše, hladký povrch implantátu se kvůli možným mikropohybům jeví jako kontraindikovaný.

Adheze buněk k substrátu je prvním krokem v procesu interakce mezi buňkou a povrchem a ovlivňuje buněčnou a tkáňovou odpověď. V případě dentálních implantátů interakce mezi formujícími se osteoblasty a substrátem ovlivní rozhraní kost/implantát a tím ve výsledku determinuje dlouhodobou stabilitu implantátu.

Extracelulární matrix se skládá z makromolekul, které jsou vylučovány buňkami do jejich nejbližšího okolí. Tyto makromolekuly pak tvoří spojovací oblast mezi buňkami. Tato hmota je tvořena zejména z kolagenu, proteoglykanů

a množství glykoproteinových molekul jako jsou fibronektin a laminin. Tyto objemné glykoproteiny jsou zodpovědné za formování matrix a vlastních buněk do uspořádaných struktur.

4. MATERIÁL A METODY

Zkoumaným vzorkem byl titanový terčík o průměru 10 mm a celkové tloušťce 2 mm Ti6Al4V slitiny povlečený laserově nanesenou tenkou vrstvou krystalického hydroxyapatitu o tloušťce 6-12 μm s mezivrstvou ZrO_2 o tloušťce 100 nm.

Základní metodou sledování proliferační aktivity dané buněčné populace je stanovení počtu buněk. Provedli jsme přímý text cytotoxicity s myšími líniovými (3T3) a lidskými fibroblasty. Pozitivní kontrolou byly terčíky z keramiky Nori Take. Negativní kontrolu tvořily vzorky cytotoxické červené pryže (Vegum, Gumárne Dolné Vestenice), která se používá v laboratoři, a terčíky z pryskyřice Superpont C+B, vyrobené s přebytkem monomeru v poměru 3 g prášku a 5 ml tekutiny proti obvyklému stavu 1:1. Bylo použito kultivační médium vhodné pro pěstování fibroblastů H-MEMd (minimal essential medium) (Výrobní médií ÚMG AVČR, Praha, ČR).

Dále byly se zkoumanými terčíky provedeny testy adheze a proliferace. Po 72 hodinové kultivaci jsme pomocí imunohistochemické metody provedli průkaz exprese fibronektinu.

V další sérii pokusů jsme testovali tři typy vzorků (terče o průměru cca 10 mm a výšce 2 mm): titanovou slitinu Ti6Al4V, titanovou slitinu povlečenou zirkonem a titanovou slitinu povlečenou hydroxyapatitem s mezivrstvou zirkonu a s použitím buněčnou linií lidských embryonálních plicních fibroblastů (LEP₁₉) jsme provedli test proliferace počítáním a MTT test. Buňky byly kultivovány v bezsérovém médiu H-MEM.

Všechny výsledky jsme statisticky zpracovali pomocí Studentova t-testu v hladině pravděpodobnosti 0,05.

5. V Ý S L E D K Y

Nejlepších výsledků dosahuje kultivace buněk, ať myších nebo lidských, v přítomnosti terčů z titanu modifikovaných hydroxyapatitem a mezivrstvou zirkonu. Dle předpokladů je dalším potenciálně inertním materiálem i keramika. Červená pryž je cytotoxická a z kultivace pryskyřičných terčů s nadbytkem monomeru můžeme potvrdit obecně známou skutečnost, že monomer působí cytotoxicky a snižuje počet kultivovaných buněk.

Po vložení terčů z povlakovaného titanu a keramiky nedošlo ke změně morfologie kultivovaných buněk, a to ani v bezprostředním okolí vzorků. Fibroblasty i nadále proliferovaly a vytvořily subkonfluentní až konfluentní porost – později sledováno pomocí imunohistochemického barvení. Zcela změněnou morfologii myších fibroblastů jsme pozorovali u vzorků z červené pryže, kdy se adherované buňky v důsledku přítomnosti cytotoxického materiálu nejen nedělily, ale apopticky hynuly a odlučovaly se do média.

Fibroblasty kultivované po dobu 72 hodin byly rovnoměrně po podkladu rozprostřeny a tvořily subkonfluentní porost. Buňky exprimovaly fibronectin do cytoplazmy. Extracelulární produkce nebyla po této době kultivace pozorována.

V druhé sérii pokusů námi použité fibroblasty (LEP₁₉) byly schopné růst v přítomnosti testovaných vzorků. Morfologie i proliferační schopnost byla srovnatelná s kontrolním povrchem tkáňově upraveného polystyrenu. Žádný z testovaných materiálů nebyl cytotoxický a umožňoval růst buněk. Buňky adherovaly k povrchu vzorků a byly schopné na površích proliferovat.

Počet buněk vyrostlých na povrchu zkoumaných vzorků byl statisticky vyšší než na kontrolním povrchu. Na druhé straně jsme zjistili vyšší metabolickou aktivitu buněk na tkáňově upraveném polystyrenu, který je brán jako optimální materiál pro kultivaci buněk. Největší metabolické aktivity vrámci třech typů testovaných vzorků jsme však dosáhli u vzorků povlečených HA s mezivrstvou zirkonu, ačkoli absolutní počet buněk byl nižší.

6. DISKUZE

O čem se někdy velmi málo hovoří je skutečnost, že fyzikální vlastnosti daného povrchu jsou mnohdy více důležité než samotné chemické složení materiálu, a to hlavně z hlediska přilnavosti buněk. Design implantátu s povrchem podobným fyziologickému složení kosti nepochybně napomáhá novotvorbě kosti na rozhraní tkáně a vlastního biomateriálu.

Významnou vlastností hydroxyapatitu je biokompatibilita, neboť hydroxyapatit je integrální součástí kostní tkáně. Kalciumfosfátové povlaky zvyšují sorpci proteinů na povrch a umožňují tak aktivaci krevních destiček a vazbu fibrinu, což urychluje hojení. Z již publikovaných studií vyplynulo, že hydroxyapatitový povlak na kovovém implantátu urychlí rehabilitaci pacienta možností včasného odevzdání finální protetické práce, neboť takový implantát se rychleji oseointegruje, usnadňuje adhezi kostní hmoty a tím umožňuje přímý kontakt s kostí ve srovnání s nepovlakovanými implantáty.

Dle Trisi et al. se domnívají, že vymizení HA povlaku na některých místech povrchu implantátu po 10 letém zatížení může být pouze následek místního procesu remodelace kosti. Tento jev je vysvětlován tak, že během remodelace lokálně aktivované osteoklasty tvoří v kosti jamky hluboké 50-70 μm , kde pak mohou osteoblasty produkovat novou kostní matrix. Když se právě toto stane na povrchu povlakovaného implantátu, mohou být pak nějaké části povrchu resorbovány a nahrazeny kostí. Množství vymizelého HA tak přímo koreluje s objemem novotvořené kosti. Kalciumfosfátová keramika se řadí do skupiny bioaktivních keramik, což jsou materiály, které jsou schopné vázat okolní kostní tkáň a urychlit novotvorbu kosti.

Povrchy s vysokou krystalinitou se považují za mnohem více odolné vzhledem k možné rozpustnosti než amorfní struktura HA, ale naproti tomu bylo prokázáno, že povrchy s vysokou krystalinitou mohou inhibovat růst buněk. Zde zároveň tkví i hlavní rozdíl mezi technikou plasma naprašování a technikou pulzní laserové depozice. Zatímco u plasma naprašování solubilita

kalciumfosfátu závisí na vlastnostech původního prášku (tzn. velikost částic a krystalinita), metoda pulzní laserové depozice.

Fibroblasty jakožto osteoblastům podobné buňky jsem použili z toho důvodu, že vykazují obdobné chování jako osteoblasty, jak bylo prokázáno v mnoha studiích. Kvalitativní i kvantitativní studie buněčné morfologie prokázaly, že osteoblasty a fibroblasty se chovají na různých površích obdobně.

V naší studii jsme prokázali, že terčíky z titanové slitiny Ti6Al4V povlakované krystalickým hydroxyapatitem s mezivrstvou zirkonu nejsou cytotoxické. Velmi podobných výsledků jako námi testovaný materiál dosahují i terčíky z inertní keramiky (Noritake) běžně používané v zubním lékařství. Červená pryž je absolutně cytotoxická a uvolňující se monomer u terčíků z metylmetakrylátu snižuje proliferaci buněk a působí na fibroblasty také cytotoxicky.

V námi provedeném přímém testu cytotoxicity jsme také pozorovali rozdíly v počtu buněk mezi vzorky pěstovanými s myšimi a s lidskými fibroblasty. Tento jev může být dán jednak odlišnou reakcí stejných buněk různých živočišných druhů na kultivační prostředí, ale i rozdílným chováním liniových buněk a buněk získaných přímo z tkáně. Jisté rozdíly ve výsledcích mohou být také způsobeny chybou při ředění suspenze malého počtu buněk do relativně velkého objemu kultivačního média.

Největší metabolické aktivity ze sledovaných vzorků jsme však dosáhli u terčíků povlečených HA s mezivrstvou zirkonu, ačkoli absolutní počet buněk byl nižší. Vyšší metabolická aktivita buněk na sendvičově uspořádaném vzorku by mohla předpokládat i větší tvorbu extracelulární matrix. Spojení dvou metodik, tj. počítání buněk a MTT testu, který zároveň odráží metabolickou aktivitu buněk, nám poskytlo daleko komplexnější informace o stavu buněk na povrchu jednotlivých materiálů.

7. Z Á V Ě R

Cílem mé práce bylo zhodnotit nový typ implantátu zhotovený z titanové slitiny Ti6Al4V povlečené hydroxyapatitem s mezivrstvou zirkonu z hlediska jeho biologických vlastností. Jako srovnávací materiál byl použit čistý titan, titan povlečený vrstvou zirkonu a kulturační standard - tkáňově upravený polystyren.

Daný materiál nejeví známky cytotoxicity; u buněk kultivovaných v jeho přítomnosti (dospělé i embryonální fibroblasty) nedochází ke změně morfologie či ke snížení jejich proliferační aktivity. Zároveň jsou tyto buňky schopny kolonizovat jeho povrch, proliferovat až do dosažení konfluentního porostu a vytvářet extracelulární matrix. Dosažené výsledky potvrzují vhodnost sendvičového materiálu pro použití v zubní implantologii.

Z literárních údajů je známo, že speciálně upravený povrch zlepší a hlavně zrychlí oseointegraci implantátu a urychlí tak rehabilitaci pacienta. Proto by bylo žádoucí pokračovat v testování tohoto materiálu *in vitro* ve 3D experimentech a nakonec i v *in vivo* testech.

8. LITERATURA

Šimůnek, Antonín a kol. *Dentální implantologie*. I. vydání. NUCLEUS HK. 2001. 192 s. ISBN 80-86225-15-1

Schnettler R., Alt V., Dingeldein E., Pfefferle H.J., Kilian O., Meyer C., Weiss C., Wenish S. Bone ingrowth in bFGF-coated hydroxyapatite ceramic implants. *Biomaterials*, 2003, 24, s. 4603-4608

Blind O., Klein L.H., Dailez B., Jordan L. Characterization of hydroxyapatite films obtained by pulsed/laser deposition on Ti and Ti-6Al-4V substrates, *Dental Materials*, 2005, 21, 11, s. 1017-1024

Ducheyne P., Qui Q. Bioactive ceramics: the effect of surface reactivity on bone formation and bone cell function. *Biomaterials*. 1999. vol. 20. s. 2287-2303

Cleries L., Fernandes-Pradas J.M., Morenza J.L. Bone growth on and resorption of calcium phosphate coatings obtained by pulsed laser deposition. *J Biomed Mater Res*, 2000, 49, s. 43-52

Lo W.J., Grant D.M., Ball D.M., Welsh B.S., Howdle S.M., Antonov E.N. et al. Physical, chemical, and biological characterization of pulsed laser deposited and plasma sputtered hydroxyapatite films on titanium alloy. *J Biomed Mater Res*, 2000, 50, 4, s. 536-45

Oh S., Tobin E., Yang Y., Carnes D.L.Jr., Ong J.L. In vivo evaluation of hydroxyapatite coating of different crystallinities. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2005. vol.20.no. 5. s. 726-31

Ericsson I., Randaw K., Nilner K. Early Functional Loading of Brånemark Dental Implants- 5 years Clinical Follow Study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. 2000. 2. s. 70-77

Gapski R., Wang H.L., Mascarenhas P., Lang N. Critical review of immediate loading. *Clin. Oral Impl. Res*. 14. 2003. s. 515- 527

Szmukler-Moncler S., Piatelli A., Favero G.A., Dubrille J.H. Consideration preliminary to the application of early and immediate loading protocols in dental implantology. *Clin Oral Impl Res* 2000. 11. s. 12-25

Brånemark, P.I. Osseointegration and its experimental background, *The Journal of Prosthetic Dentistry*. 1983. 3. s. 399-410

Franchi M., Fini M., Giavaresi G., Ottani V. Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis. *Micron*, 2005, 36, s. 630-644

Romanos G., Toh C.G., Siar C.H., Swaminathan D., Ong A.H., Donath K., Yaacob H., Nentwig G.H. Peri-Implant Bone Reaction to Immediately Loaded Implants. An Experimental Study in Monkeys. *J Periodontol*. 2001. vol.72. no.4. s. 506-511

Lacefield, W.R. Current Status of Ceramic Coatings for Dental Implants. *Implant Dentistry*. 1998. vol.7.n.4.s. 315-322

Trisi P., Keith D.J., Rocco S. Human Histologic and Histomorphometric Analyses of Hydroxyapatite-Coated Implants After 10 Years of Function: A Case Report, *The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 2005, vol. 20, no. 1, s. 124-130

9. SUMMARY

Biological properties of hydroxyapatite coated titanium alloy in relation to direct implant loading

Coating dental implants with hydroxyapatite may give certain advantages such as active encouragement to new bone growth, a lower rejection rate and an improved long-term prosthesis fixation. The biological properties of dental implants coated by the sandwich technique with a thin layer of hydroxyapatite and an interlayer of zirconia were evaluated. The implant samples were covered by pulsed laser deposition. The aim of this study is to evaluate the cytotoxicity and the surface characteristics of the titanium targets modified with zirconia and hydroxyapatite. We used a direct test of cytotoxicity, tests of fibroblasts adhesion and proliferation using counting of harvested cells and providing a MTT assay. No changes in the morphology or the proliferation rate of the cells used were found in the presence of the modified titanium targets. The results show adhesion and cell proliferation, which in turn implies that the studied material is not cytotoxic and is suitable for cell colonization. Titanium modified with zirconia and crystalline hydroxyapatite can improve the biological properties and so can be beneficially employed in oral bone surgery.

10. PŘEHLED PUBLIKACÍ AUTORKY, VĚDECKÁ OCENĚNÍ

► Seydlová M., Teuberová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., 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 physics*, 2006, 99, 1, **IF - 1.642**

► Seydlová M., Teuberová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., Jelínek M., Kocourek T.: KrF laser coated titanium implants do not decrease cell proliferation *Lasers in medical science*, 2005, vol. 20, p. 34, abstraktová kniha, **IF: 1,90**

► Teuberová Z., Seydlová M., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., Jelínek M., Kocourek T.: Metabolic activity of LEP in the presence of KrF laser coated titanium implants, *Lasers in medical science*, 2005, vol. 20, p. 37, abstraktová kniha, **IF: 1,90**

► Jelínek M., Dostálová T., Teuberová Z., Seydlová M., Mašíňová 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**

► Teuberova Z., Seydlova M., Dostalova T., Dvorankova B., Smetana K. Jr., Jelinek 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*, akceptováno, bude v tisku 2007, **IF: 0,684**

Seydlová M., Havlová Z., Dostálová Z., Šimůnek P.: Přímé zatížení implantátu (souborný referát). *Prakt. Zub. Lék* 2004, vol. 52, no. 2, p. 54-63.

Seydlová M., Havlová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., Jelínek M.: Titanový terčik modifikovaný hydroxyapatitem a zirkonem- hodnocení povrchu in vitro. *Prakt. Zub. Lék* 2004, vol. 52, no. 6, p. 159-164.

Teuberová Z., Seydlová M., Dostálová T., Jelínek M., Dvořánková B.: Titanový terčik modifikovaný hydroxyapatitem a zirkonem nevykazuje známky cytotoxicity. *Prakt. Zub. Lék* 2005, vol. 53, no. 1, p. 7-11.

Havlová Z., Seydlová M., La Serra P., Dostálová Z., Jelínek M. Povlakování implantátů hydroxyapatite modifikovaným zirkonem. *Čes Stomat.* 2004, vol. 104, no. 4, p. 149 – 159

Seydlova M., Dostalova T., Dvorankova B., Smetana K. 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: 132.

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. Protetyka stomatologiczna, Wrocław, 2005, vol. 50, No. 5, Supl. LV, p.89.

Seydlova M., Dostalova T., Dvorankova B., Smetana K. 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: 132.

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

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

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. 29th Annual Conference of the European Prosthodontic Association Poznań, 1.-3. 9. 2005

Seydlová M., Teuberová Z., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., Jelínek M., Kocourek T.: KrF laser coated titanium implants do not decrease cell proliferation – Laser Florence 2005 – 20th int. Congress laser medicine - abstrakt book 10-12.11.2005, Florencie.

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

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: 133.

Teuberová Z., Seydlová M., Dostálová T., Dvořánková B., Smetana K., Jelínek M., Kocourek T.: Metabolic activity of LEP in the presence of KrF laser coated titanium implants Laser Florence 2005 – 20th int. Congress laser medicine - abstrakt book 10.-12.11.2005, Florencie.

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.

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