

**Titanové beta slitiny v dentální implantologii.
Materiálové vlastnosti, biokompatibilita a
oseointegrace**

Habilitační práce

MUDr. Sonia Bartáková, Ph.D.

Stomatologická klinika, Lékařská fakulta

Masarykovy univerzity

Pekařská 53, 621 56 Brno

Brno, 2020

Abstrakt

Výzkum nových materiálů uplatnitelných v medicíně je velmi důležitý. Výzkum a klinické testování titanu a jeho slitin přináší důležité poznatky pro budoucí aplikace v implantologii. Předkládaná habilitační práce je zaměřena na problematiku titanu a slitin titanu. Je tvořena a) přehledem současných znalostí o titanu a slitinách titanu z biomedicínského hlediska, b) přehledem a popisem výsledků autorky získaných v této problematice v období 2003–2020. Teoretická část práce je zaměřena na ty aspekty materiálu, které jsou důležité pro posouzení biokompatibility, oseointegrace a celkové úspěšnosti zubních implantátů z titanu a slitin titanu v klinické praxi. Přehledně jsou uvedeny poznatky o chemickém složení slitin titanu se zvláštním zřetelem na využití legujících prvků, mechanických vlastnostem titanu a jeho slitin, korozivě těchto materiálů a v neposlední řadě odolnosti vůči mechanickému namáhání a opotřebení. V práci jsou rovněž charakterizovány výhody a nevýhody jednotlivých metod výroby a materiálového zpracování, zejména s ohledem na povrchovou úpravu. Rovněž jsou uvedena základní kritéria a testy pro posouzení biokompatibility titanu a slitin titanu, a to v oblasti cytotoxicity materiálu, adherence buněk na povrch materiálu, a tvorby matrix. Pozornost byla věnována i faktorům ovlivňujícím oseointegraci, zejména s ohledem na metodické postupy vedoucí k vytvoření povrchu podporujícího oseointegraci. V neposlední řadě je pozornost věnována i moderním trendům ve výzkumu titanu a titanových slitin pro budoucí uplatnění slitin titanu v zubní implantologii.

Výsledky výzkumné práce jsou prezentovány formou přiložených článků publikovaných v odborných časopisech a formou popisu hlavních výsledků. Získané poznatky a hlavní závěry těchto publikovaných prací lze shrnout v následujících bodech: (1) Vhodnost legujících prvků (z hlediska cytokompatibility) ve slitinách titanu klesá v pořadí Ta Ni Va Mo. (2) Příměsové prvky Fe a V ve slitinách titanu snižují rychlost adherence buněk. (3) Různé metody tvorby mikrostruktury a mikroreliefu povrchu materiálu (sledované pomocí nejrůznějších mikroskopických metod) zlepšují adsorpci buněk. (4) Povlakování povrchu titanu a slitin titanu HA se v *in vitro* studii prokázalo jako vhodná úprava pro zvýšení adherence a růstu buněk na povrchu materiálu. (5) Implantologická studie *in vivo* testující titanové implantáty typu PV prokázala jejich velmi dobrou oseointegraci. (6) Matematické modelování je vhodným postupem pro určení částí zubních implantátů které po zavedení do kostní tkáně vykazují kriticky vysoké hodnoty napětí. Pomocí matematického modelování lze indikovat potenciální zlomy zubních implantátů a predikovat vznik kritického napětí v periodonciu a okolní kosti. Tato místa jsou potenciálně riziková, a to z hlediska vzniku resorpce kosti.

Na základě této předkládané práce lze shrnout, že problematika titanu a jeho slitin se v oblasti výzkumu a klinické praxe dynamicky vyvíjí a díky rychlému rozvoji technologií je příslibem pro široké uplatnění těchto materiálů v zubní medicíně.

Čestné prohlášení

Prohlašuji tímto, že habilitační práci na téma *Titanové beta slitiny v dentální implantologii. Materiálové vlastnosti, biokompatibilita a oseointegrace* jsem vypracovala samostatně s využitím odborné literatury a dalších zdrojů uvedených v seznamu literatury této práce.

V Brně, dne 6.4.2020

.....

MUDr. Sonia Bartáková, Ph.D.

Poděkování

Děkuji tímto svým kolegům ze Stomatologické kliniky Lékařské fakulty Masarykovy univerzity Brno za podporu a cenné diskuse, které vedly k formulaci výzkumné práce v oblasti výzkumu titanu a titanových slitin v rámci Stomatologického výzkumného centra. Rovněž děkuji spolupracovníkům z řady národních a zahraničních institucí, jmenovitě pak prof. Barešovi, prof. Izakovičové-Hollé, prof. Vaňkovi, MUDr. Prachárovi, doc. Floriánovi, prof. Kukletové, Prof. Kasugai, prof. Hanawa, prof. Tagami, Dr. Málkovi a prof. Vetterlovi. V neposlední řadě pak děkuji své rodině.

V Brně, dne 6.4.2020

.....

MUDr. Sonia Bartáková, Ph.D.

Bibliografická citace:

Bartáková, S. (2020): Titanové beta slitiny v dentální implantologii. Materiálové vlastnosti, biokompatibilita a oseointegrace. Habilitační práce. Lékařská fakulta Masarykovy univerzity v Brně, 364 s.

Obsah

1. Úvod	6
2. Titan a jeho slitiny	6
2.1. Chemicky čistý titan	6
2.2. Nanostrukturní titan	8
2.3. Slitiny titanu	8
3. Chemické složení slitin titanu	10
4. Vlastnosti titanu a jeho slitin	14
4.1. Mechanické vlastnosti slitin	14
4.2. Mikrostruktura slitin titanu	15
4.3. Odolnost vůči korozi	23
4.4. Odolnost vůči namáhání a opotřebení	26
5. Současné trendy v materiálovém zpracování slitin titanu	26
6. Povrchová úprava	27
7. Biokompatibilita beta slitin	40
7.1. Cytotoxicita	42
7.2. Adhezivita / Adherence	45
7.3. Tvorba matrix	47
7.4. Biokompatibilita	48
8. Oseointegrace dentálních implantátů	49
8.1. Vytváření vrstvy TiO ₂	51
8.2. Povlakování povrchu pro podporu oseointegrace	51
9. Klinické studie	53
10. Nové směry ve výzkumu, klinické praxi	54
11. Souhrn	61
12. Přehled vlastní práce a hlavních výsledků autorky	62
12.1. Testy biokompatibility titanových slitin	62
12.2. Studium korozivizy slitin titanu	65
12.3. Vliv příměsí legujících prvků ve slitině	67
12.4. Testy dentálních implantátů „ <i>in vivo</i> “	70

12.5. Povlakování hydroxyapatitem	72
12.6. Analýza mikrostruktury povrchu	76
12.7. Modelování přenosu napětí v systému implantát-kost	80
12.7.1. Čepelkové implantáty	80
12.7.2. Válcové implantáty	82
12.7.3. Diskové implantáty	83
12.8. Modelování periodontia	86
12.9. Průmyslové vzory zubních implantátů	88
12.10. Závěr	89
12.11. Seznam publikací autorky v období 2003-2019	90
13. Seznam použité literatury	94
14. Další zdroje	118
15. Příloha (originály odborných článků)	119

1. Úvod

Titan je prvek, který byl objeven roku 1791 anglickým chemikem Williamem Gregorem v minerálu ilmenitu. Z hlediska barvy se jedná se o šedý až stříbřitě zbarvený lehký kov. Titan se vyskytuje především v zemské kůře. Ve srovnání s ostatními kovy je poměrně tvrdý a mimořádně odolný vůči korozi. Má schopnost pasivace, tedy vzniku ochranné vrstvy oxidů na povrchu materiálu. Titan se vyznačuje mimořádnou chemickou stálostí a odolností. Tyto vlastnosti jej určují jako vhodný prvek pro tvorbu implantátů neboť dochází k relativně nízké interakci s biologickou tkání. Titan navíc není toxický, karcinogenní ani alergenní. Proto je titan a jeho slitiny považován za velmi perspektivní materiál v biomedicíně. V současné době existuje mnoho přehledových prací, které se věnují jednotlivým aspektům využití titanu a jeho slitin v dentální medicíně. Technologii přípravy výroby a opracování titanu a jeho slitin je v posledním desetiletí věnována celá řada publikací. Rovněž velké množství prací existuje v oblasti optimalizace složení slitin titanu z hlediska mechanicko-chemických vlastností, biokompatibility těchto slitin a využití možnosti technologického ovlivnění struktury povrchu dentálních implantátů pro optimalizaci přijetí dentálního implantátu po jeho zavedení do čelisti.

Předkládaná práce shrnuje současné poznatky o titanu a jeho slitinách z hlediska jejich složení, materiálových vlastností, biokompatibility a oseointegrace. V práci jsou rovněž uvedeny výsledky získané v této oblasti výzkumu a klinické praxe na našem pracovišti (Stomatologická klinika Masarykovy univerzity v Brně) v rámci Stomatologického výzkumného centra, jehož byla autorka v období řešení tohoto výzkumného projektu (2005-2011) součástí.

2. Titan a jeho slitiny

2.1. Chemicky čistý titan

Čistý titan (cpTi), jakož i titanové slitiny, jsou často používány v klinické praxi pro výrobu zubních protéz, dentálních implantátů, korunek a konstrukcí snímatelných náhrad. V současné době se velký počet výzkumných institucí a velkých klinických pracovišť zabývá výrobou vhodných titanových slitin, které by se mohly šířeji uplatnit ve stomatologické praxi. Stomatologické kliniky se podílejí nejen na vývoji a testování nově navržených titanových slitin, ale i na klinických testech.

Díky biokompatibilitě se titan využívá již od 60. let minulého století jako úspěšný biomateriál pro medicínské a dentální aplikace. Jeho nejčastější použití je ve formě technicky čistého titanu cpTi. Technicky čistý titan má základní chemické a fyzikální vlastnosti (přehledně viz tabulka 1), které jej předurčují pro tvorbu kovových slitin využívaných v medicíně.

Titan (Grade 1 až 5)

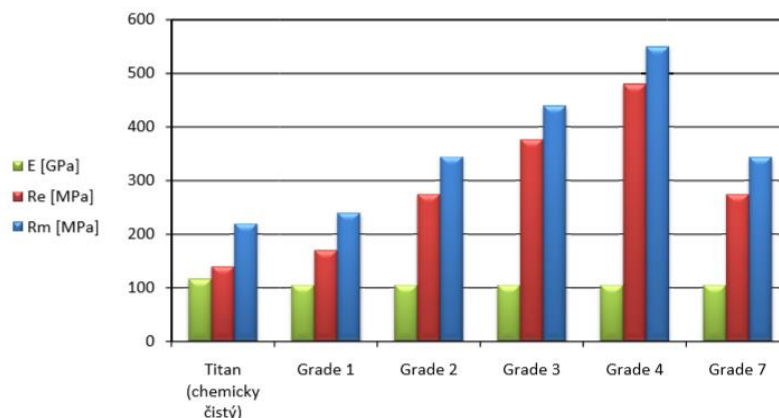
V porovnání s chemicky čistým titanem může technicky čistý titan obsahovat v malém množství další prvky, které mění jeho mechanické vlastnosti, zejména Youngův modul pružnosti. Podle podílu příměsových prvků jsou technicky čisté titany klasifikovány do několika různých stupňů (angl. *grades*). Tyto stupně čistoty jsou charakterizovány rozdílnými mechanickými vlastnostmi, které se mění se zvyšujícím se číslem (stupněm) označení (viz obr. 1). Následující tabulka (tabulka 2) uvádí srovnání jednotlivých stupňů titanu.

Základní charakteristiky Ti	
protonové číslo	22
relativní atomová hmotnost	47,88
teplota tání [°C]	1668
teplota varu [°C]	3287
hustota [g cm ⁻³]	4,5
hustota při teplotě tání [g cm ⁻³]	4,11
specifické teplo [J g ⁻¹ K ⁻¹]	0,52
slučovací teplo [kJ mol ⁻¹]	15,45
tepelná vodivost [W m ⁻¹ K ⁻¹]	21,9
elektrická vodivost [S m ⁻¹]	2,6.10 ⁶
měrný elektrický odpor [10 ⁻⁶ Ω.m]	0,42
tvrdost podle Vickerse [MPa]	970
tvrdost podle Brinella [MPa]	716
modul pružnosti ve smyku [GPa]	44
modul pružnosti v tahu [GPa]	116

Tabulka 1. Přehled základních vlastností titanu jako kovu. Upraveno s využitím elektronického zdroje: https://pt.kle.cz/cs_CZ/titan.html.

Podíl titanu a příměsových prvků ve slitině						
	Ti [%]	C [%]	H [%]	Fe [%]	N [%]	O [%]
Grade 1	99,5	≤ 0,10	≤ 0,015	≤ 0,20	≤ 0,03	≤ 0,18
Grade 2	99,2	≤ 0,10	≤ 0,015	≤ 0,30	≤ 0,03	≤ 0,25
Grade 3	99,1	≤ 0,10	≤ 0,015	≤ 0,30	≤ 0,05	≤ 0,35
Grade 4	99,0	≤ 0,10	≤ 0,015	≤ 0,50	≤ 0,05	≤ 0,40
Grade 5	99,0	≤ 0,10	≤ 0,015	≤ 0,30	≤ 0,03	≤ 0,25

Tabulka 2. Chemické složení cp-Ti materiálů (rozdílných stupňů čistoty) s vyznačením povolených množství příměsových prvků. Kompilováno podle Fernández et al. (2003).



Obr. 1. Rozdílné materiálové charakteristiky cp-Ti materiálů v závislosti na stupni čistoty. Youngův modul pružnosti (E), meze kluzu (Rm), pevnost v tahu (Re). Upraveno dle Legerský (2009).

2.2. Nanostrukturní titan

Nanostrukturní titan (nTi) je velmi perspektivním biomateriálem pro využití ve všeobecném lékařství i v dentální implantologii (Valiev et al. 2008). Nanostrukturní titan (nTi) je materiálem, jehož jednotlivé stavební prvky se pohybují v řádu nanometrů. Patří do skupiny tzv. objemových nanostrukturních kovových materiálů. Tímto názvem jsou označovány materiály s velmi jemným zrnem a to v rozměrech 1-100 nm. Jde o CP-Ti slitinu vyráběnou speciálním postupem: silnou plastickou deformací (angl. *Severe Plastic Deformation*), a to pomocí úhlového protlačování kanálem stejného průřezu s následným válcováním (angl. *Equal Channel Angular Pressing*).

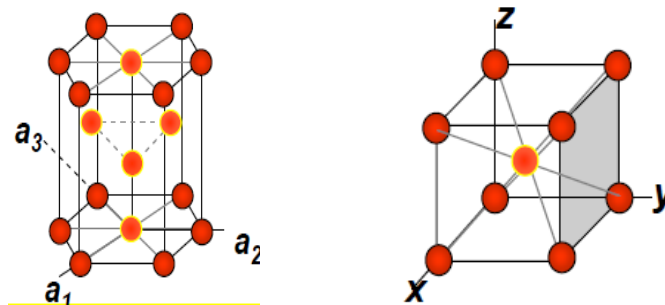
Nanomateriál nTi je, stejně jako materiál technicky čistého titanu (cpTi), inertní, neobsahuje žádné toxické nebo alergenní složky a jeho stabilita je vyšší než u mnoha druhů materiálů využívaných pro dentální implantáty (Petruželka et al. 2006, Hrušák et al. 2009). V posledním desetiletí je nTi používán zejména k výrobě šroubových implantátů typu nanoimplant (např. Mrázová et al. 2011). Nanostrukturní titan je vhodným materiálem podporujícím oseointegraci implantátů jak ukazují studie z poslední doby (přehledně viz např. Moztaarzadeh et al. 2018).

2.3. Slitiny titanu

Kromě čistého titanu se v medicíně výrazně uplatňují i slitiny titanu s dalšími prvky, které jsou do slitiny přidávány pro zlepšení mechanických vlastností a biokompatibility. Podle modifikace krystalové mřížky vznikající při tvorbě slitiny rozlišujeme následující kategorie titanových slitin:

- (1) α slitiny,
- (2) β slitiny,
- (3) slitiny $\alpha + \beta$ (přechodový typ)
- (4) intermetalika (např. Ni-Ti)

Mezi α slitiny, které jsou charakteristické šesterečnou krystalovou mřížkou, se počítají slitiny TiAl, ve kterých hliník (Al) působí jako stabilizátor α fáze. Slitiny TiAl dosahují velmi dobrých pevnostních vlastností. Kromě toho mohou být α slitiny legovány címem (Sn) nebo zirkonem (Zr). V omezeném množství se mohou ve slitině vyskytovat i Mn, Fe, Cr a Mo. Tyto prvky jsou, obdobně jako Al, považovány za stabilizátory α fáze.



Obr. 2. Schématická struktura šesterečné krystalické mřížky (α slitiny Ti) a krychlové krystalické mřížky (β slitiny titanu) – upraveno z Lütjering, C. et al. (2000).

V β slitinách jsou atomy uspořádány do krychlové krystalové mřížky. Tyto slitiny jsou legovány molybdenem (Mo), vanadem (Va), manganem (Mn), chromem (Cr). Tyto prvky snižují transformační teplotu a rozšiřují a stabilizují oblast β fáze. Rovněž přítomnost malého množství železa (Fe) ve slitině stabilizuje její β fázi. Tyto slitiny se díky jejich koeficientu tepelné roztažnosti, který dosahuje podobných hodnot jako u fazetovací keramiky, využívají v zubním lékařství. Jsou tedy vhodné pro aplikaci v protetických pracech (Hubálková et Krňoulová 2009).

Slitiny typu $\alpha + \beta$ obsahují α a β tuhé roztoky, jedná se tedy o dvoufázové materiály. Slitiny obsahují zejména Al spolu s vyšším množstvím prvků, které stabilizují fázi β Ti (2, 4 % β stabilizátorů). Hliník stabilizuje α fázi a vanad fázi β .

Mezi intermetalika patří například slitina Ni-TTi-i, která je typická tvarovou pamětí (SMA, angl. *Shape Memory Alloy*). V případě rovnátek se používá Ni-Ti drátek, který díky SMA působí na zuby konstantní silou.

Rozdělení titanových slitin z materiálového hlediska je poněkud detailnější, než je uvedeno výše. Úplná klasifikace zahrnuje ještě další typy, a to zejména kvůli charakteru jejich mikrostruktury (dle Bonollo et al. 2003)

1. α slitiny
2. slitiny blízké α fázi
3. α/β slitiny
4. metastabilní β slitiny
5. stabilní β slitiny

Pro potřeby dentální medicíny se titan a jeho slitiny připravují několika výrobními postupy, které do jisté míry mohou ovlivnit jejich mikrostrukturu a materiálové vlastnosti. Jde o (1) odlévání, při kterém se slitiny taví ve vakuu a odlévají do forem grafitu, (2) svařování, při kterém jsou slitiny tavně svařovány v prostředí inertních plynů nebo vakua. Tímto způsobem lze však vyrábět pouze slitiny s hexagonální krystalickou mřížkou. Dalšími postupy je (3) kování titanových slitin a (4) prášková metalurgie.

3. Chemické složení slitin titanu

K dosažení požadovaných mechanických vlastností slitin titanu pro aplikaci v zubním lékařství, a pro dosažení vhodných chemických vlastností a biokompatibility se do titanových slitin přidává celá řada příměsových (zušlechťujících) prvků. Mezi nejčastěji používané patří niob (Nb), tantal (Ta) a zirkon (Zr). Tyto prvky obecně zlepšují fyzikálně-chemické vlastnosti výsledných titanových slitin (1). Obecně platí, že se mohou tvořit slitiny titanu (v souladu s krystalickou strukturou), a to čtyři základní kategorie : (a) α slitiny, (b) β slitiny, (c) přechodové $\alpha + \beta$ slitiny, a (d) intermetalika (např. Ni - Ti). V poslední době je obecně uznáváno, že zejména β slitiny představují materiál s velmi vysokým potenciálním využitím v lékařství a dentálních aplikacích (přehledně viz např. Niinomi et al 2005, Niinomi 2008).

Pro požadované mechanické, fyzikálně chemické a hlavně biologické vlastnosti titanových slitin je důležité nejen množství a počet příměsových prvků ale zejména jejich hmotnostní či objemové poměry. Hmotnostní procenta těchto legujících prvků v titanové slitině se užívají pro specifické označení slitiny a tvoří její identifikační kód (například Ti-36Nb-6Ta pro slitinu s příměsí niobu a tantalu, viz Kuderman et al. 2008).

U většiny starších titanových slitin je legující přísada přidávána do základu Ti-Al. Důvodem přísady hliníku je stabilizace fáze α a tím dosažení velmi dobrých pevnostních vlastností. V současné době jsou sledovány dvě základní skupiny slitin, a to (1) slitiny, které jsou legovány hliníkem a které se stále používají pro medicínské účely a (2) moderní β slitiny s obsahem dalších legujících prvků, které jsou pokládány pro svou vysokou biokompatibilitu za velmi perspektivní pro výrobu implantátů. Na našem pracovišti jsme v posledních letech testovali desítky titanových β slitin s různými podíly legujících prvků: niob (Nb), molybden (Mo), tantal (Ta), vanad (Va), železo (Fe) – přehledně viz např. (Bartáková et al. 2009a, 2009b). Ve slitinách titanu se však mohou vyskytovat i nežádoucí příměsové prvky, jejichž podíl je nezbytné snížit, neboť negativně ovlivňují strukturu výsledné slitiny. Jsou to zejména intersticiální prvky kyslík, dusík, uhlík a vodík, které tvoří intersticiální tuhé roztoky (O, N a C jsou α -stabilizátory, H je β - stabilizátor) nebo křehké oxidy, karbidy, nitridy nebo hydridy. Tyto příměsi snižují úroveň plastických vlastností (klesá tažnost), zhoršují svařitelnost a zvyšují náchylnost ke korozi (Losertová 2012). Na druhé straně zvyšují pevnost a tvrdost.

Slitiny Ti-Al-Nb

Přísada niobu stabilizuje fázi β a uzavírá fázi α již při 4,7 %hm niobu. Maximální rozpustnost Nb je při teplotě 450 °C. V teplotách pod 400 °C existuje široká koncentrační oblast koexistence fází α a β . Fáze α se může vyskytovat až do koncentrace 50 %hm niobu. Toto široké pásmo podporuje při vyšších

rychlostech ochlazování vznik metastabilních fází, podle zvyšujícího se obsahu niobu, označovaných α' (0 – 9 %hm Nb), α'' (14 – 43 %hm Nb), ω (16 - 45 %hm Nb) a τ (26 – 41 %hm Nb). S hliníkem tvoří niob řadu intermetalických fází. Vzhledem ke složení experimentálních slitin je však výskyt intermetalických fází ve struktuře nepravděpodobný. Slitiny tohoto typu se tedy precipitačně vytvářejí pouze při vyšším obsahu niobu ve formě precipitátů fáze α v matici β titanu. Ze slitin obsahujících Nb jsou používány zejména slitiny Ti6-Al7-Nb, slitiny s 35 %hm. Při nejmenší koncentraci niobu byla zjištěna martenzitická struktura jak po odlití, tak po žíhání. S rostoucím obsahem niobu se po rychlém ochlazení stávají martenzitické destičky masivnější a v prostorech mezi martenzitem se postupně zvyšuje objemový podíl netransformované fáze β .

V současné době se mnoho slitin s různým chemickým složením na bázi Ti-Nb a různým opracováním povrchu slitiny (v mikrostrukturním měřítku) testuje s ohledem na Youngův modul pružnosti a hodnotu pevnosti v tahu (např. Hon et al. 2003, Nakai et al. 2009). Mnoho autorů zkoumalo vliv příměsí niobu, tantalu, zirkonia a přídavku kyslíku na fázovou stabilitu (poměr α a β fáze) a mechanické vlastnosti slitin. Tomuto aspektu, tedy příměsovým prvkům a přídavku kyslíku do slitiny, respektive vlivům těchto faktorů na mechanické vlastnosti slitin, se věnovala naše poslední práce (Bartáková et al. 2019).

Slitiny Ti-Al-Fe

Železo se v tuhém roztoku α Ti prakticky nerozpouští. Při teplotě 595 °C dochází k eutektoidní transformaci, při níž se tvoří eutektoid α Ti s intermetalickou fází TiFe. Maximální rozpustnost železa v tuhém roztoku je 0,047 %hm. S hliníkem tvoří železo intermetalickou fází FeAl_3 , vznikající eutekticky při 655 °C. Železo se prakticky nerozpouští ani v hliníku. V ternárním systému je možno očekávat binární fázi Fe-Ti a nelze vyloučit ani přítomnost fáze $\text{Fe}(\text{Ti},\text{Al})_3$, kde titan může být částečně substituován hliníkem.

S rostoucím obsahem železa se mírně snižuje podíl martenzitu, objevují se ostrůvky fáze α a zvyšuje se podíl částic intermetalické fáze. Tyto částice jsou u rychle ochlazených vzorků jemné, globulární a u pomalu ochlazených vzorků se vylučují na rozhraních martenzitu ve formě destiček. Vliv žíhání se výrazně neprojevuje, je-li příměs Fe relativně malá, a to do 6% hmotnosti slitiny (6%hm). Při vyšším obsahu železa ve slitině se mezi stavem po odlití a po žíhání projevují výrazné morfologické rozdíly vyloučené intermetalické fáze. V litém stavu je precipitát TiFe velmi jemný. Morfologie struktury po žíhání 850 a 950 °C s ochlazením v peci je odlišná. Tento režim vedl ke vzniku dvofázové struktury vytvrzené destičkami intermetalické fáze.

Slitiny Ti-Al-V

Přísada vanadu vede ve slitině k podobným mikrostrukturám jako přísada niobu. Vanad je v β slitinách titanu velmi dobře rozpustný a tuto fázi stabilizuje. Oblast α se uzavírá zhruba při 3 %hm. Při nižších teplotách existuje široká oblast koexistence fází α a β . Fázová transformace $\beta \leftrightarrow \alpha$ však není v odborné literatuře jednoznačně popsána. Ve starších pracích je uváděno, že při teplotě 675 °C a koncentraci vanadu přibližně 20 %hm dochází k eutektoidnímu rozpadu. Velmi široké koncentrační pásmo společného výskytu fází α a β má za následek vznik více typů metastabilních fází - $\alpha/$ (0 – 5

%hm V), α'' (5 – 16 %hm V), ω (12 – 51,5 %hm V). U slitin legovaných vanadem s obsahem hliníku 6 %hm byla prokázána precipitace intermetalické fáze Ti_3Al . Slitina se tedy může mírně vytvrzovat.

Slitina s koncentrací vanadu 1,75 %hm má po rychlém ochlazení strukturu tvořenou fází α , ve které jsou martenzitické jehlice fáze α' a drobné globulární částice intermetalické fáze Ti_3Al . Při postupu využívajícím pomalé ochlazování je objemový podíl martenzitické fáze α' znatelně vyšší. S rostoucím obsahem vanadu podíl fáze β vzrůstá. Po rychlém ochlazení je u slitiny legované 7,85 %hm vanadu struktura tvořena fází β , ve které jsou drobné jehlice α' . Po pomalém ochlazení se podíl martenzitické fáze α' zvyšuje. Velmi rozšířenou a v medicínské praxi využívanou je slitina Ti-6Al-4V, přičemž ve formě této slitiny se zpracovává zhruba polovina veškerého titanu.

Slitiny Ti s příměsí Zr, Nb, Ta

V posledním desetiletí je velká pozornost soustředěna na využití slitin s podílem příměsových prvků, které příznivě ovlivňují výslednou mikrostrukturu slitiny. Jde o takzvané izomorfní stabilizátory fáze β . Některé prvky jako tantal (Ta), molybden (Mo), niob (Nb), vanad (V) vytvářejí velký rozsah fází $\alpha+\beta$ bez intermediárních sloučenin, protože mají neomezenou rozpustnost ve fázi β a jen malou rozpustnost ve fázi α . V cílové slitině titanu se tyto prvky uplatňují relativně velkou měrou (viz tabulka 3) a klasifikace těchto slitin, rovněž jejich formální označení, odráží pouze zkratky prvků uvedených velkými písmeny. Uvedená TNZTO slitina (tabulka 3) obsahuje Nb a Ta, které patří mezi izomorfní β -stabilizátory. Ve slitině je Zr obvykle uváděn jako neutrální prvek, v kombinaci s Ti, Nb a Ta má však ve slitině β -stabilizační účinek. Slitina TNZTO je na rozdíl od výše uvedené a rozšířené slitiny Ti-6Al-4V složena z prvků, které jsou ze všech β -stabilizátorů nejvíce biokompatibilní (Eisenbarth et al. 2004).

Prvek	Ti	Nb	Zr	Ta	O
Hm %	51,0	35,3	7,3	5,7	0,7
At %	66,6	23,7	5,0	2,0	2,7

Tabulka 3. Složení slitiny TNZTO v hmotnostních (hm %) a atomových procentech (At %) - upraveno dle Stráský (2014).

Z hlediska mechanických vlastností je slitina TNZTO velmi výhodná, neboť Youngův modul pružnosti dosahuje relativně nízké hodnoty 80 GPa (Stráský 2014). V současné době je proto testováno velké množství slitin patřících do skupiny slitin titanu s významným podílem Nb, Ta, Zr zejména s ohledem na jejich korozivitu a biokompatibilitu s cílem nalézt nejvhodnější složení slitiny pro využití v ortopedické a dentální implantologii. Příkladem z poslední doby je studie Zareidoost et Yousefpour (2020), která je zaměřena na čtyři různé slitiny na bázi TZNT (Ti55-Zr25-Nb10-Ta10, (Ti55-Zr25-Nb10-Ta10) 99,5 Fe0,5, (Ti55-Zr25-Nb10-Ta10) 98 Sn₂ a (Ti55-Zr25-Nb10-Ta10) 98,5 Ag 1,5, (T%), TZN, TZN, Sn, TZNT-Ag. Tyto slitiny se vyrábějí vakuovým obloukovým tavením a pomocí sacího lití. Uvedená studie posuzuje korozivitu TZNT slitin s ohledem na jejich biokompatibilitu. Autoři rozsáhlé testování

uzavírají sdělením, že TZNT jsou při vhodném metalurgickém zpracování slitiny velmi dobrým kandidátem na využití v biomedicínských aplikacích. Podobně zaměřená současná studie (Acharya et al. 2020) charakterizuje TNTO slitinu jako velmi vhodnou díky nízké hodnotě Youngova modulu pružnosti, vhodné mikrostruktury povrchu (podíl α , β a přechodových α - β fází) jako vhodnou pro biomedicínské využití, zejména v ortopedii. Obdobně je hodnocena slitina TNZTO, a to s ohledem na nízkou korozivitu (Zhou et al. 2017).

Velkou roli pro využití slitin Ti s příměsí Zr, Nb, Ta hraje biokompatibilita, která je do značné míry závislá na povrchové úpravě materiálu. Na tuto problematiku se zaměřili Liu et al. (2004). Autoři uvádějí, že současné techniky (přehledně viz např. Jemat et al. 2015) opracování povrchu tohoto typu slitin jsou dostatečné pro to, aby tyto slitiny byly ve velké míře využívány pro výrobu dentálních implantátů. Rovněž současná studie TNTZ slitiny (Kuczyńska-Zemła et al. 2020) doporučuje tento materiál pro výrobu dentálních implantátů. V poslední době se do slitin tohoto typu přidává jako příměsový prvek i (Si), jak o tom svědčí studie Guo et al. (2000).

Binární slitiny

Během posledních desetiletí se ve výzkumu materiálů a lékařské klinické praxi používal nejen čistý Ti, ale i některé slitiny, jako jsou binární a terciární slitiny Ti. V současné době existuje široká škála binárních slitin titanu (přehledně porovnány například ve studii Liu et al. 2017): Ti-Zr, Ti-In, Ti-Ag, Ti-Cu, Ti-Au, Ti-Pd, Ti-Mo, Ti-Cr, Ti-Co, Ti-Sn, Ti-Ge a Ti-Ga. V následujícím textu jsou uvedeny a popsány hlavní binární slitiny titanu využívané pro výrobu dentálních implantátů.

Binární slitiny (Ni-Ti)

Slitiny na bázi Ni-Ti jsou považovány za velmi dobře využitelné v lékařství. Jejich využití v dentální implantologii nedosahuje významnějšího podílu. V praxi se používají zejména dvě hlavní slitiny: SE508 (superelastická slitina) a SM495 (slitina s projevem tvarové paměti). Tyto slitiny nacházejí uplatnění v traumatologii a ortopedii. Ve stomatologii se uplatňují zejména v ortodontii při výrobě rováček a nástrojů na úpravu kořenových kanálků. V poslední době se uplatňuje takzvaný nitinol (Ni, 55.91 %; Ti, 44.03 %), který je velmi odolný vůči korozi (Nasakina et al. 2014) a je využíván při výrobě stentů.

Binární slitiny (Ti-Nb)

Binární slitiny Ti-Nb jsou považovány za perspektivní biomateriály využitelné v lékařství. V poslední době se zkoumají materiálové vlastnosti těchto slitin ve vztahu jak k jejich biokompatibilitě (Bartáková et al. 2009d), tak ve vztahu ke složení slitiny. Například studie Friák et al. (2012) se zaměřila na zvyšující se podíl Nb ve slitině (Ti-10%Nb, Ti-20%Nb, Ti-25%Nb, Ti-30%Nb), a tím pozměněný podíl mezi částicemi α a β fází ve slitině. Tento fenomén se odrazil ve snížení hodnot Youngova modulu pružnosti se stoupajícím podílem β fáze ve slitině. Studie Friák et al. (2012) rovněž vnesla do výzkumu mechanicko-fyzikálních vlastností binárních titanových slitin nový aspekt, a to matematické modelování vlastností slitin pomocí „ad inicio“ výpočtů, které mohou významně napomoci při hledání optimálního chemického složení, respektive podílu jednotlivých prvků ve slitině.

Binární slitiny (Ti-Ta)

Slitiny Ti-Ta obvykle obsahují základní podíl Ti 40-50%. Tyto slitiny vykazují velmi dobré vlastnosti jak z hlediska materiálových vlastností (malé hodnoty Youngova modulu pružnosti a vysoká odolnost vůči korozi - Zhou et al. 2004), tak mikrostruktury povrchu a biokompatibility (Bartáková et al. 2009c) včetně malé cytotoxicity (Villa et al. 2002). Tyto slitiny jsou považovány za velmi perspektivní a v současné době se uplatňují jak v dentální, tak i v ortopedické implantologii. Výzkumy z poslední doby se zaměřují na vhodné opracování či úpravu povrchu těchto slitin tak, aby byla zvýšena schopnost jejich oseointegrace – například pomocí anodické oxidace (Lin et al. 2014).

Binární slitiny (Ti-Zr)

Binární Ti-Zr slitina je považována za velmi vhodnou pro aplikace v dentální implantologii a protetice, a to jak z hlediska mechanických charakteristik, tak biokompatibility (Grandin et al. 2012). Kromě výzkumu zaměřeného na mechanické vlastnosti Ti-Zr slitin je v poslední době věnována pozornost i možnostem úpravy mikrostruktury. Z tohoto pohledu se slitina Ti-15Zr jeví velmi slibnou pro budoucí uplatnění v dentální implantologii (Medvedev et al. 2016).

Binární slitiny (Ti-V)

Slitiny Ti-V jsou v poslední době detailně zkoumány pro využití v dentální implantologii. Jsou odlévány a studovány slitiny s různým podílem vanadu (Ti-xV), a to v rozmezí od 5 do 20% hmotnosti příměsi vanadu. Současná studie (Park et al. 2016) uvádí, že slitina Ti-V s obsahem vanadu nejméně 5% hm. je díky uspokojivým mechanickým vlastnostem vhodným kandidátem pro nové dentální materiály.

Binární slitiny (Ti-Ag)

Slitiny Ti-Ag jsou z materiálového hlediska a potenciálu pro zubní lékařství zkoumány v posledních dvou desetiletích (např. Takahashi et al. 2002). Ti-Ag slitiny vykazují velmi dobrou biokompatibilitu (Zhang et al. 2012). Studie z poslední doby se zaměřily na mikrostrukturu povrchu slitin Ti-Ag a její vlastnosti z hlediska výskytu dendritických α částic titanu ve slitině (Nagase et al. 2018).

4. Vlastnosti titanu a jeho slitin

4.1. Mechanické vlastnosti titanu a jeho slitin

Z mechanických vlastností titanu lze uvést zejména jeho vysokou pevnost v kombinaci s nízkou hmotností. Důležité jsou i technologické vlastnosti titanu. Titan nemá například příliš dobrou obrobitelnost, což může způsobovat dílčí technologické problémy při výrobě určitého konkrétního tvaru. Při svařování je nutné použití inertní atmosféry či vakua, aby nedocházelo k reakcím s atmosférickými plyny. Další vlastností titanu je, že jak komerčně čistý titan, tak jeho α slitiny (s šesterečnou krystalickou mřížkou) jsou dobře tvárné, a to i za studena.

	Typ slitiny	E (GPa)	YS (MPa)	US (MPa)
cpTi	α	105	692	785
Ti-6Al-4V	α / β	110	850-900	960-970
Ti-6Al-7Nb	α / β	105	921	1024
Ti-5Al-2.5Fe	α / β	110	914	1033
Ti-12Mo-6Zr-2Fe	β	74-85	1000-1060	1060-1100
Ti-15Mo-5Zr-3Al	β	82	771	812
Ti-0/20Zr-0/20Sn-4/8Nb-2/4Ta+	β	neurčeno	726-990	750-1200
Ti-Zr	$\alpha \times / \beta$	neurčeno	neurčeno	900
Ti-13Nb-13Zr	$\alpha \times / \beta$	79	900	1030
Ti-15Mo-3Nb-0.3O	β	82	1020	1020
Ti-35Nb-5Ta-7Zr	β	55	530	590
Ti-35Nb-5Ta-7Zr-0.4O	β	66	976	1010
kost		10-40	-	90-140

Tabulka 4. Mechanické vlastnosti vybraných titanových slitin ve vztahu k jejich složení a mikrostruktuře. E – Youngův modul pružnosti, YS – mez kluzu, (upraveno dle Liu et al. 2004).

Youngův modul pružnosti (E) β slitin titanu je v porovnání s ostatními kovovými materiály velmi nízký (viz tabulka 4). V současné době se výzkum materiálových vlastností slitin titanu zaměřuje na další snižování hodnot E za současného zachování charakteristik pevnosti. Svědčí o tom například současná studie Mohammed et al. (2014), která uvádí rozsah E od 14 do 85 GPa. V této studii byla nejnižší hodnota (E=14 GPa) zjištěna pro slitinu Ti-19Nb-14Zr a nejvyšší pro slitinu Ti-7,5Mo-3Fe. Nejnovější studie (např. Kang et Yang, 2019) hodnotí a srovnávají mechanické vlastnosti slitin titanu podle jejich způsobu výroby a úpravy mikrostruktury.

4.2. Mikrostruktura titanových slitin

Struktura alfa slitin

Základním variabilním prvkem mikrostruktury α slitin je velikost zrn, kterou lze ovlivnit zejména chemickým složením slitiny a postupem výroby. Hlavním legujícím prvkem v α slitinách je Al, ale některé α slitiny a většina čistého komerčního titanu obsahují malá množství prvků stabilizujících oblast β . Příkladem mohou být slitiny Ti8-Al1-Mo1-V nebo Ti-6Al-2Nb-1Ta-0,8Mo, které bývají označovány jako super α ".

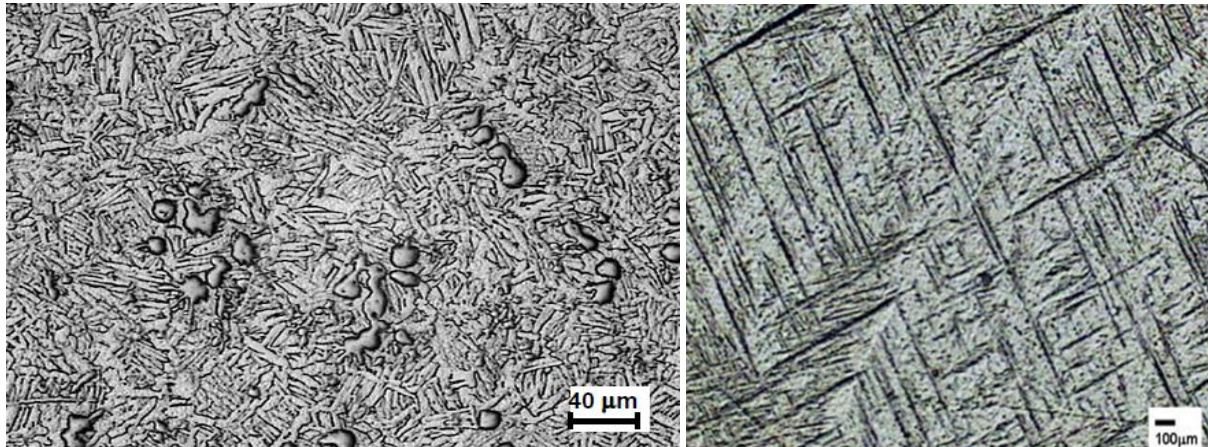
Martenzitická struktura

Martenzitická struktura slitin je typická výskytem fází ($\alpha + \beta$) a označuje se α' nebo α'' . Dochází k ní zpravidla při velmi rychlém ochlazení slitiny v procesu výroby. Touto přeměnou vzniká u kalených

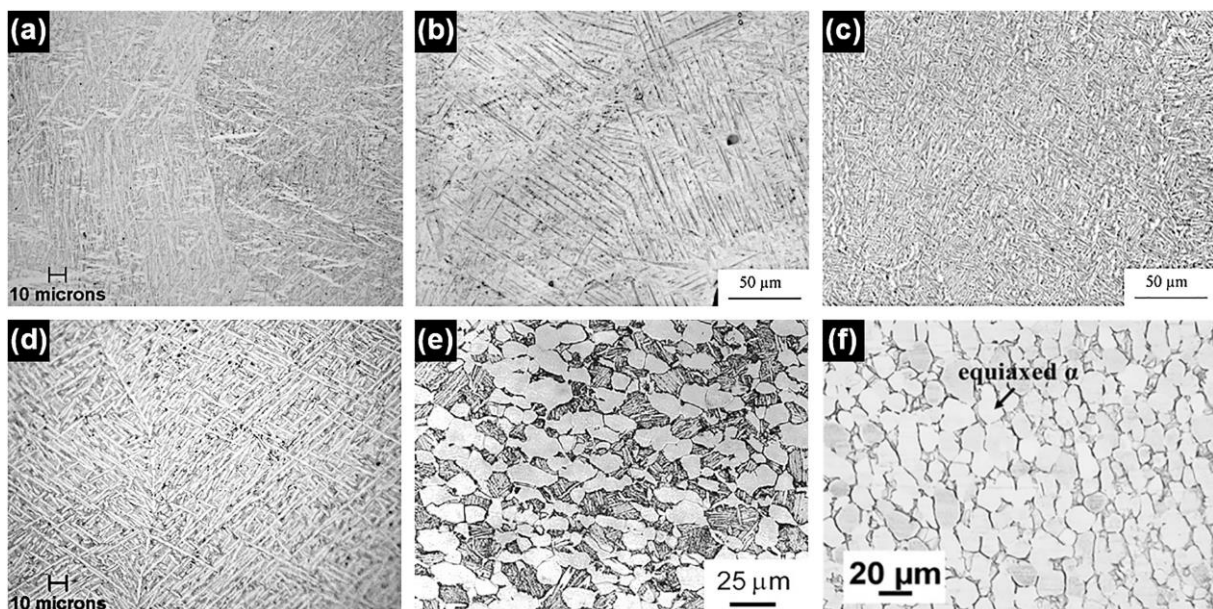
a/nebo kalených a stárnutých slitin jehlicovitá (acikulární) struktura. Mikrostruktury jsou však závislé na charakteru a množství legujících prvků, proto zatím nelze zobecnit výskyt typů jednotlivých variant martenzitické struktury (Losertová 2012).

Struktura alfa + beta slitin

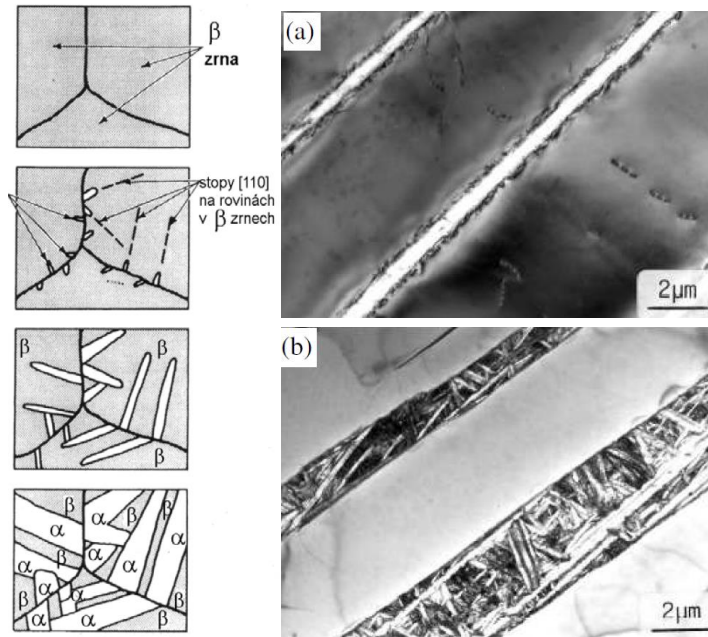
Slitiny $\alpha+\beta$ mají chemické složení, které umožňuje vznik směsi α a β fáze, při pokojové teplotě mohou obsahovat 10-50% β fáze. Nejběžnější $\alpha+\beta$ slitinou je Ti-6Al-4V. V této slitině mohou částice α a β fáze mít jehlicovitou, popřípadě při plazmovém přetavení přejít do dendritické formy mikrostruktury (viz obr. 3, 4, 5).



Obr. 3. Dendritická struktura slitiny Ti-6Al-4V po plazmovém přetavení (vlevo - převzato z Kurša et Žitňavský 2003). Lamelární (jehlicovitá) struktura Ti-6Al-4V připravená v teplotě 1000 °C (převzato z Andrade et al. 2010).

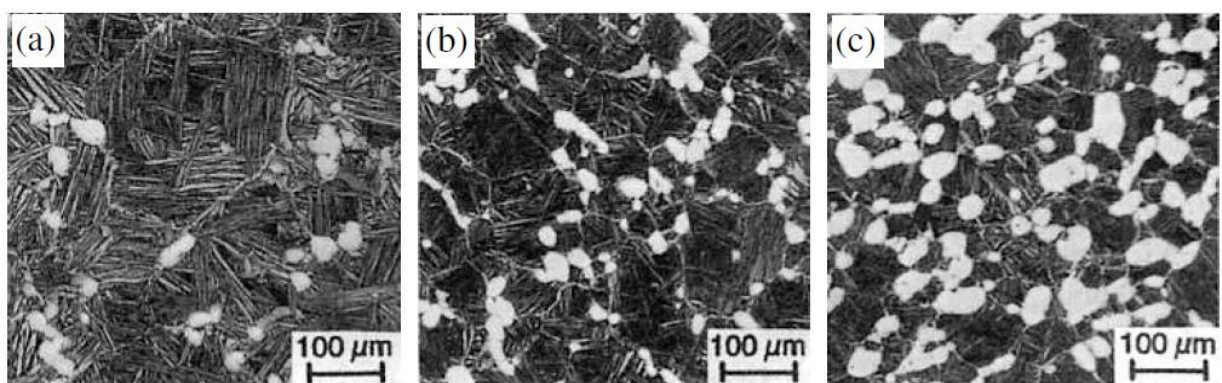


Obr. 4. Struktura povrchu slitiny Ti-6Al-4V: a) a b) α' martenzitická fáze, c) a d) $\alpha + \beta$ duální fáze, e) kombinace primární α a sekundární $\alpha + \beta$ fáze, e) ostrůvky α fáze uvnitř β fáze (upraveno dle Liu et Shin 2019).



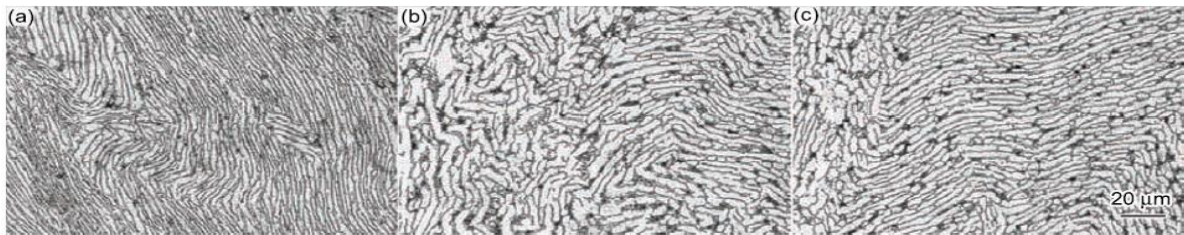
Obr. 5. Jehlicovitá struktura se vytváří formováním α fáze ve struktuře β zrn, a to díky vzniku a růstu Widmannstättenovy struktury (příklad slitiny Ti-6Al-4V, vlevo). Jehlice zpravidla dosahují šířky do 2 nm (upraveno z Losertová 2012 a Lütjering 1999).

Kromě jehlicovité struktury $\alpha+\beta$ slitin se může vyskytovat i bimodální struktura, a to tehdy, jestliže se slitina tvoří při relativně nízké teplotě. Za těchto podmínek vzniká globulární struktura α částic, zatímco fáze β je stabilizovaná. Velikost globulárních částic a jejich celkový výskyt v $\alpha+\beta$ slitině závisí na množství příměsí, teplotě zpracování (přehledně viz např. Lee 2004) a teplotě ochlazování (Lütjering 1998) slitiny titanu (viz Obr. 5). Současné studie ukazují, že ve slitinách titanu jsou globulární částice tvořeny jak jádry α , tak jádry $\alpha+\beta$, přičemž podíl jader $\alpha+\beta$ bývá zpravidla vyšší (Klimova et al. 2014). Nejčastějším druhem slitiny titanu, která vytváří globulární částice na povrchu slitiny je Ti-6Al-4V.



Obr. 6. Globulární struktura $\alpha+\beta$ slitin s rozdílným podílem základní fáze (a) 5%, (b) 15%, a (c) 25% (převzato z Helm 1999).

Typickou mikrostrukturu však vytváří kromě Ti-6Al-4V i celá řada dalších slitin titanu například Ti-4Al-4Mo-2Sn-0.5Si, Ti-5Al-2Sn-4Zr-4Mo-2Cr-1Fe, Ti-6Al-2Sn-4Zr-2Mo a řada dalších slitin (přehledně viz Sieniawski et Motyka, 2007).



Obr. 7. Deformované linie lamelární struktury $\alpha+\beta$ titanové slitiny vytvořené pomocí žhání (angl. *annealing*) - Převzato z Li et al. (2012).

Podíl α a β částic, respektive jejich lokalizace v titanové slitině se významně liší v závislosti na fyzikálně-chemických podmínkách tavení, lití a ochlazování slitiny. I ve slitině jednotného chemického složení se může v závislosti na výše uvedených faktorech významně odlišovat podíl α a β částic ve slitině, stejně tak jako mikrostruktura slitiny. V následujícím obrázku (Obr. 8) je uveden příklad těchto odlišností ve slitině Ti-35.5Nb-5.7T (Bartáková et al. 2015).

Dvoufázové slitiny titanu vytváří globulární a lamelární strukturu materiálu s rozdílným poměrem $\alpha+\beta$ částic. Ziaja et al. (2016) uvádí typický příklad takové slitiny: Ti-6Al-2Mo-2Cr a vliv jednotlivých fází na mikrostrukturu slitiny. Příkladem zvláštního uspořádání α a β částí je nově vyvinutá slitina Ti-6Cr-5Mo-5V-4Al% (Ti6554), která patří do skupiny metastabilních β slitin vykazujících vynikající pevnost. V této slitině jsou struktury vysrážených intragranulárních α částí uspořádané do tvaru řetězce v základní metastabilní slitině tvořené β částicemi (Zhan et al. 2018).

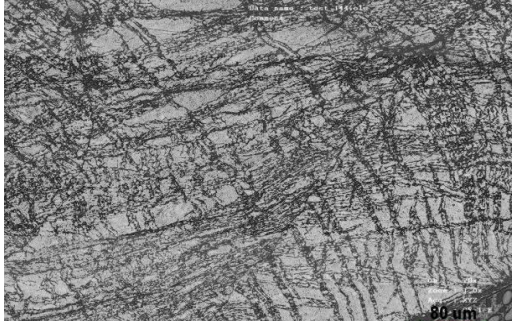
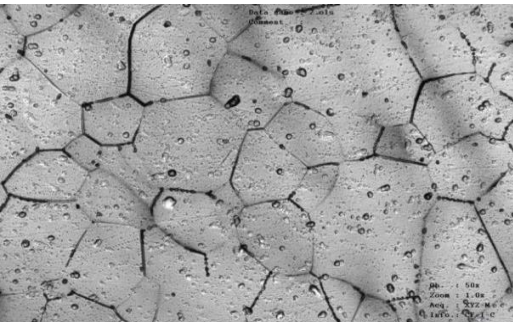
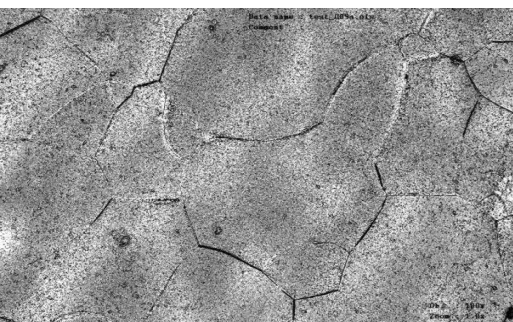
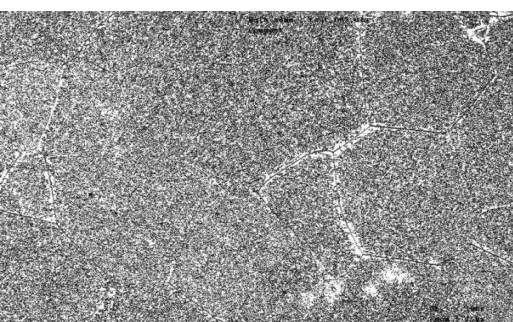
Struktura β slitin

V těchto slitinách se vyskytují β stabilizátory ve velkém množství. Zároveň tyto slitiny obsahují pouze malé množství α stabilizátorů, takže se typická β mikrostruktura struktura vytváří při ochlazování materiálu na pokojovou teplotu. Beta (β) slitiny jsou však metastabilní. Intermetalické slitiny Ti-AL-Nb vykazují dva základní typy mikrostruktury, a to lamelární a dendritickou. Podíl jednotlivých mikrostruktur v těle slitiny lze ovlivnit technologií přípravy, například plazmovou přípravou doplněnou o vakuově indukční tavení (Smíšek et al. 2004).

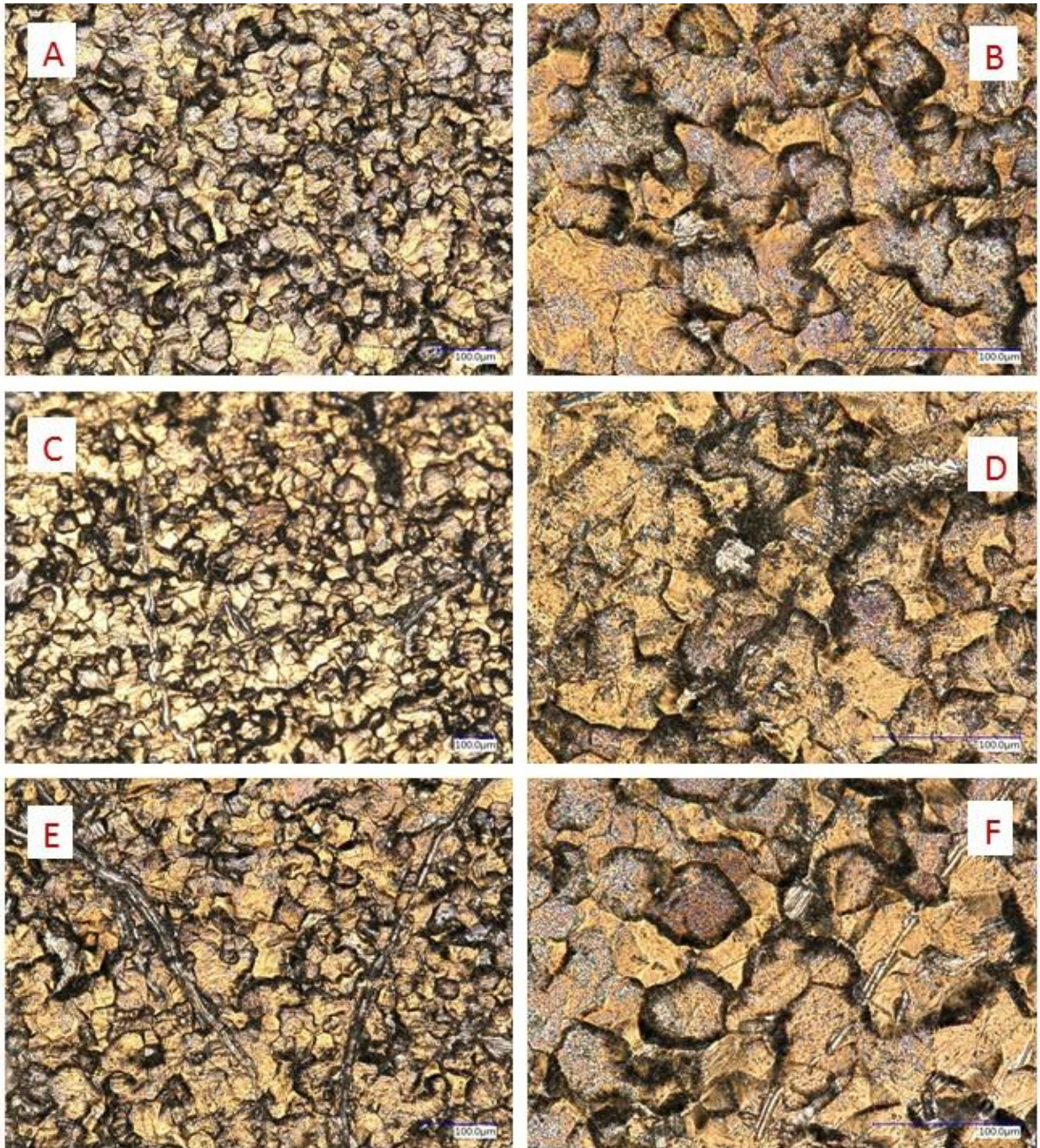
Mikrostruktura povrchu slitin titanu - reliéf

Vhodné třídimensionální (3-D) uspořádání mikrostruktury povrchu slitin titanu je základním předpokladem pro oseointegraci a biokompatibilitu zubního implantátu (přehledně viz např. Kumar et al. 2019). 3-D struktura povrchu tvoří mikroreliéf, který je specifický pro jednotlivé slitiny, respektive jejich metalurgickou přípravu a opracování povrchu. Měření výškových profilů mikrostruktury povrchu dentální slitiny či dentálního implantátu se používá pro ověření účinnosti metody povrchové úpravy (např. Tkhabisimov et al., 2018 - tradiční opracování povrchu, Shen et al. 2018 a Li et al. 2019 – laserové vyhlazování) nebo pro kontrolu vhodnosti výsledné mikrostruktury povrchu pro adhezi buněk cílové tkáně. V naší práci (Bartáková et al., MS in prep.) jsme se zaměřili na využití metody digitální mikroskopie, zejména techniky *Depth-up focus* pro tvorbu profilogramů titanových slitin využívaných na našem pracovišti pro dentální implantáty. Pro potřeby studie jsme

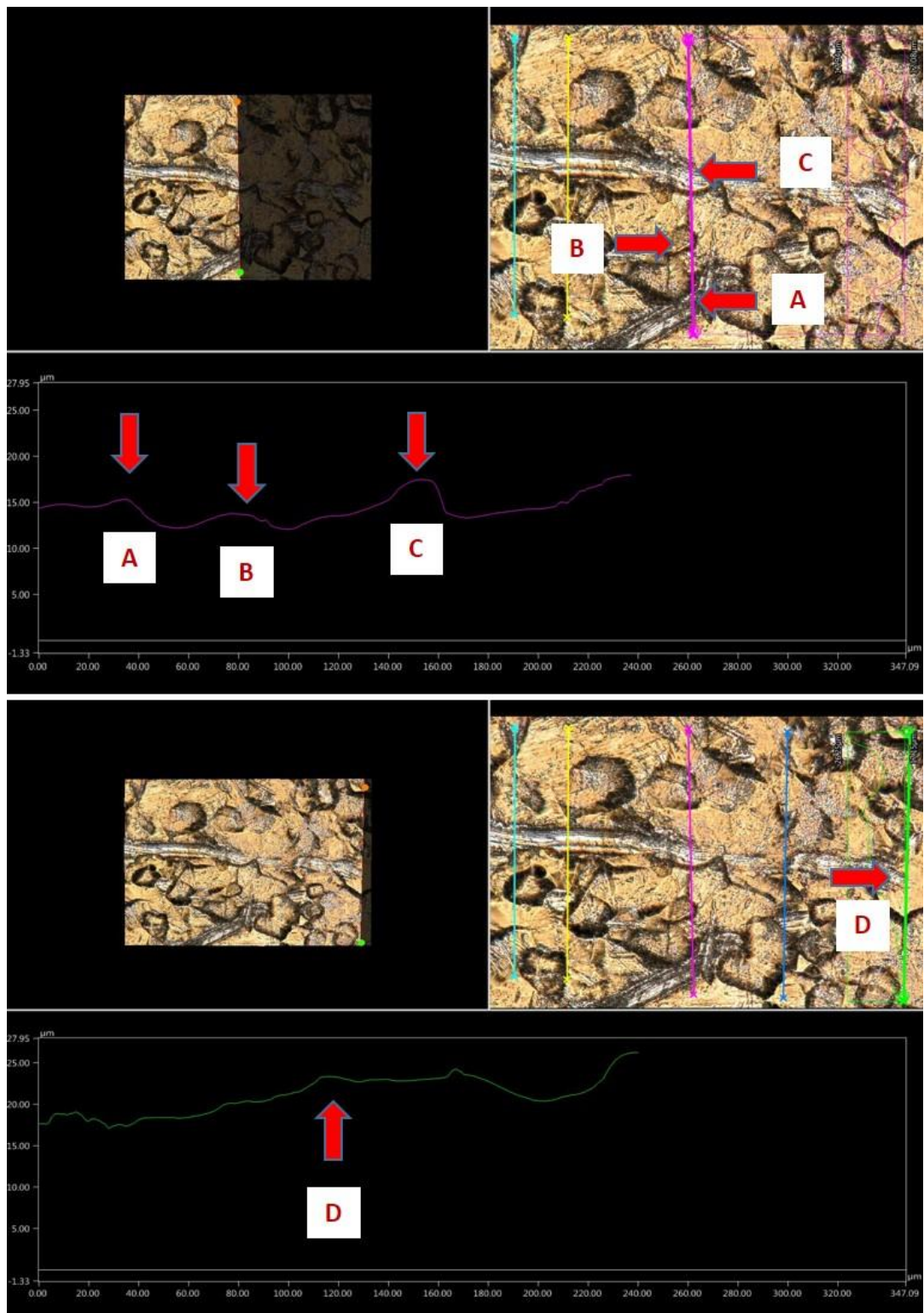
testovali čepelkový implantát vzor PV, TNT S 0,6 (Antonín Martikáň, SK). Profilování povrchu bylo uskutečněno na ploché části čepelky určené k oseointegraci. Byl využit digitální mikroskop Keyence VHX-5000 (Japonsko) při maximálním objektivovém zvětšení 5000x a jeho ovládací a vyhodnocovací software. Jednalo se o mikroskop pro pořízení 2-D a 3-D obrázků mikrostruktury povrchu s maximálním rozlišením 18 megapixelů. Snímky povrchu (viz Obr. 9) byly dokumentovány pomocí kamery s obrazovým snímačem CMOS a dále primárně zpracovány softwarem. Získané výstupy byly: digitální 2-D, 3-D fotografie a mikrometrická měření povrchu.

	<p>Teplotní ovlivnění A</p> <p>Mikrostruktura je tvořena poměrně velkými zrny deformovaného tvaru. Podél okraje zrn jsou patrné precipitáty fáze α a v menší míře precipitáty fáze ω.</p>
	<p>Teplotní ovlivnění B</p> <p>Zrna β fáze tvoří mikrostrukturu se zřetelnými hrubými částicemi ω fáze, které se nacházejí podél okrajů těchto zrn.</p>
	<p>Teplotní ovlivnění C</p> <p>Mikrostruktura je tvořena zrny β fáze, v nichž jsou precipitáty ω fáze. Malý podíl α fáze je rovněž možný (zvyšuje charakteristiky pevnosti).</p>
	<p>Teplotní ovlivnění C (550 °C)</p> <p>Mikrostruktura je tvořena zrny β s precipitáty α fáze. Tvorbě dalších fází brání s velkou pravděpodobností nerovnoměrné rozložení elementů stabilizujících β fázi ve slitině.</p>

Obr. 8. Vliv teploty popouštění na mikrostrukturu povrchu Ti-35,5Nb-5,7T (Bartáková et al. 2014).

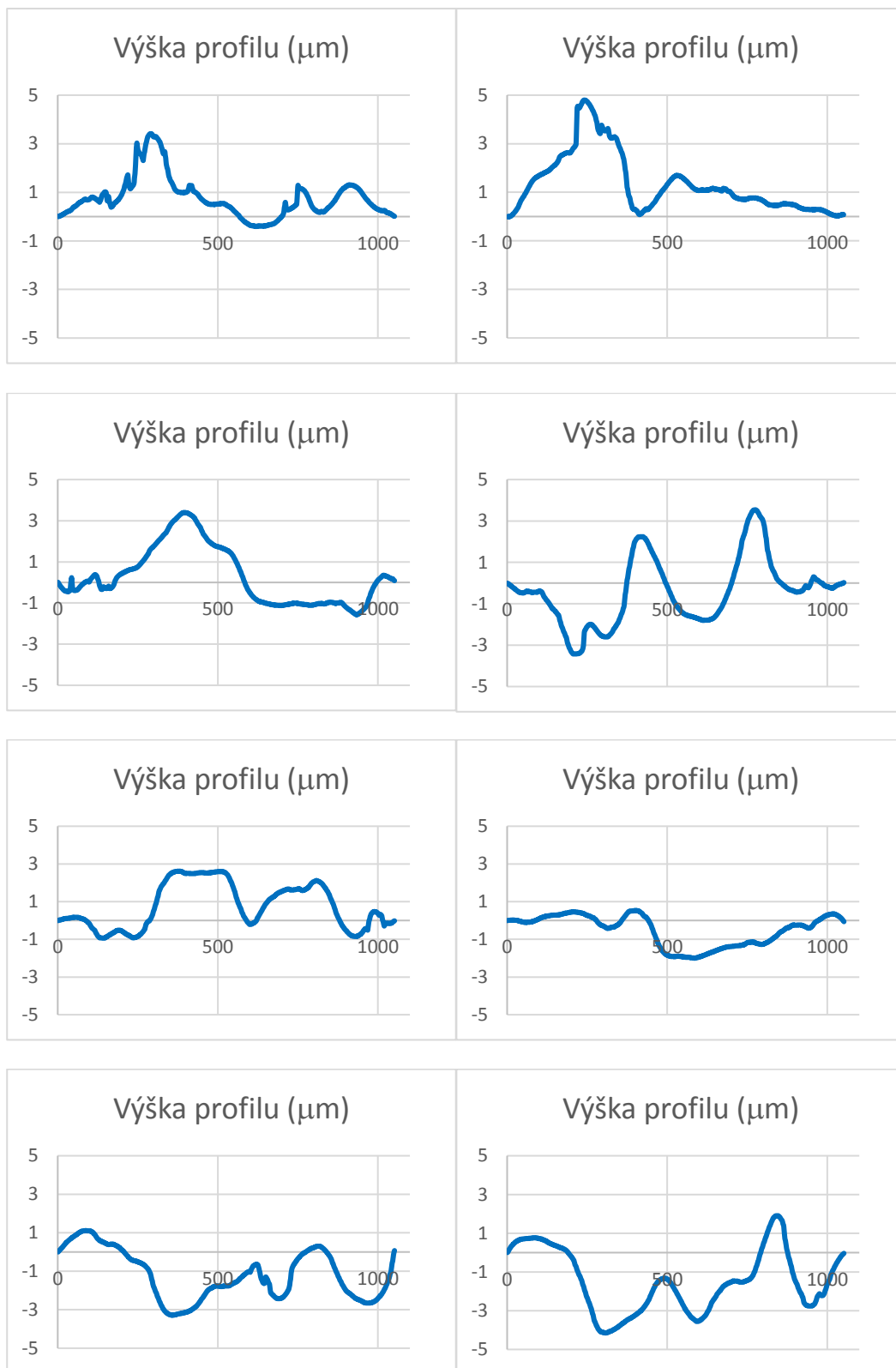


Obr. 9. Mikrostruktura povrchu slitiny titanu (Titan grade 5, Martikář, čepelkový implantát). Struktura povrchu je tvořena nepravidelně tvarovanými zrny (A, B, D, F) s občasnými liniemi jednotlivých lamel (C,D, F) - Bartáková et al. (MS in prep.).

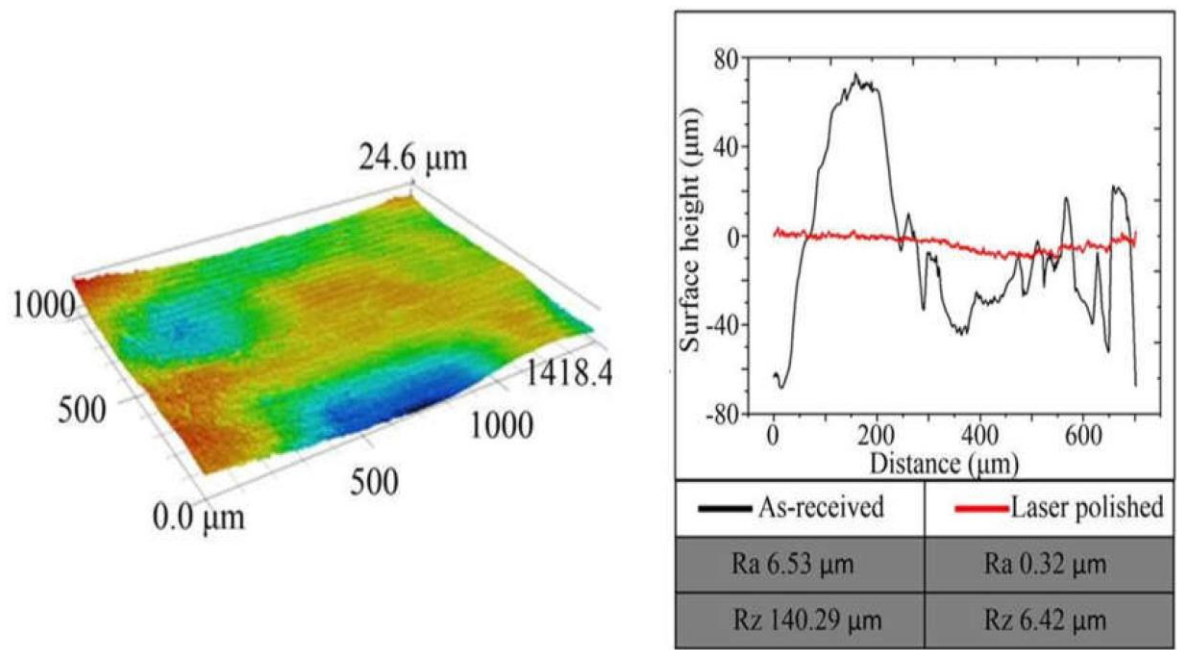


Obr. 10. Mikrorelief povrchu slitiny titanu (titan, grade 5, Martikář, čepelkový implantát). Profily jsou vyznačeny v různých částech povrchu (fialová a zelená úsečka). Vertikální profil lamel lze rozlišit: linie lamel jsou vystouplé přibližně o 3-5 μm oproti okolnímu povrchu (A, B, D). Mikrorelief mimo lamely je relativně plochý (D) - Bartáková et al. (MS in prep.).

Naše měření prokázala vertikální diferenciaci profilu od +3.0 to -4.0 μm (Obr. 11), což je ve shodě s údaji z literatury. Například práce Li et al. (2019) udává celkovou diferenciaci 6,42 μm (Obr. 12).



Obr. 11. Příklady výsledků měření profilů (vertikální mikrostruktury, viz také Obr. 9) povrchu implantátu (čepkový implantát Ti, Martikář) - Bartáková et al. (MS in prep.).



Obr. 12. Příklady vizualizace (vlevo) a měření profilů vertikální mikrostruktury povrchu slitiny titanu (vpravo) - Li et al. (2019).

Struktura β slitin

V těchto slitinách se vyskytují β stabilizátory (Mo, Nb, V, Cr a Fe) ve velkém množství. Zároveň tyto slitiny obsahují pouze malé množství α stabilizátorů (Al, Sn, C, O a N), takže se typická β mikrostruktura struktura vytváří při ochlazení materiálu do pokojových teplot – přehledně viz např. Findik (2020). Beta (β) slitiny jsou však metastabilní.

Intermetalické slitiny Ti-AL-Nb vykazují dva základní typy mikrostruktury, a to lamelární a dendritickou. Podíl jednotlivých mikrostruktur v těle slitiny lze ovlivnit technologií přípravy, například plazmovou přípravou doplněnou o vakuově indukční tavení (Smíšek et al. 2004).

4.3. Odolnost vůči korozi

Koroze kovových slitin, která se vyskytuje v dutině ústní, je elektrochemický proces, který probíhá v přítomnosti molekul vody, a proto bývá terminologicky vymezována jako mokrá koroze. Ta vyžaduje kromě přítomnosti vody také další tekutiny a elektrolyty v dutině ústní a slinu. Elektrochemický proces probíhající na dentálním materiálu v dutině ústní má komplexní charakter a je spojen s fenoménem galvanických proudů a povrchových korozí. Koroze kovových materiálů v dutině ústní se obecně dělí podle hlavní příčiny vzniku, a to do tří základních skupin (přehledně viz např. Chaturvedi (2009), Numbissi 2012):

1. Galvanické koroze
2. Trhlinové koroze
3. Mikrobiální koroze

Galvanická koroze vzniká při styku materiálu kovové slitiny s tekutinami v ústní dutině. Dochází k elektrickému toku a vzniká galvanický článek. Galvanický proud prochází přes kov a jeho hranici do okolí a sousedících tkání, ve kterých může způsobit zánět. Sliny a jiné tekutiny v měkkých tkáních i kosti se stávají elektrolyty a umožňují vznik korozivních galvanických proudů. Elektrony uvolněné v průběhu koroze mohou být vnímány pacientem jako „šok“ (galvanické koroze), který může být pro osobu znepokojující a dokonce vysilující. Kovové částičky uvolněné galvanickou korozí mohou rovněž způsobit nežádoucí kovovou příchut' pociťovanou pacientem v dutině ústní. Dlouhodobé působení galvanické koroze pak vyvolává imunitní odpověď a nakonec až ztrátu dentálního implantátu. Galvanická koroze je rychlejší a nastává preferenčně tam, kde je vyšší obsah ušlechtilých kovů ve slitině. Kromě titanu a titanových slitin, které vykazují vysoký stupeň rezistence vůči galvanické korozi se nejčastěji v dentální klinické praxi používají vysoce ušlechtilé zlaté slitiny (zejména jako materiál pro protézy a nástavby). Nicméně, tyto materiály jsou velmi nákladné, a proto se kromě nich využívají i cenově dostupnější, avšak méně ušlechtilé slitiny, jako je Ni -Cr , Ag - Pd a Co- Cr. Tyto slitiny oproti titanu a jeho slitinám mají horší mechanické vlastnosti, jsou méně ušlechtilé a jejich biologická kompatibilita, stejně tak jako jejich odolnost proti galvanické korozi jsou nižší (Mellado-Velero 2018). Koroze kovových slitin může být kvantifikována pomocí měření elektrického toku spojeného s oxidací kovu či koncentrace iontů uvolněných kovů. Tato měření mohou být prováděna za různých podmínek „*in vitro*“ nebo v některých případech, „*in vivo*“ (Wataha et Messer 2004).

Trhlinová koroze je druhým typem koroze, která se vyskytuje zejména v místě mechanického namáhání implantátu nebo nástavby. Implantát může mít při dlouhodobé mechanické zátěži drobné mikroskopické jamky a trhliny. Během žvýkání musí dentální implantát snášet působení relativně velkých hodnot sil jako je například torzní komprese. V důsledku tohoto mechanického stresu vznikají jamky a trhlinky, ve kterých dochází k trhlinové korozi.

Mikrobiální koroze je dalším druhem koroze, ke kterému dochází v dutině ústní, i když její vznik a charakter působení není dosud spolehlivě potvrzen „*in vitro*“ a „*in vivo*“ testy. Titan a jeho různé slitiny, které se používají k výrobě dentálních implantátů, mají vyšší adhezivitu k plaku než zubní tkáň a keramické materiály. Množství plaku je obvykle větší porovnáváme-li s keramickými či zirkonovými implantáty. V plaku se vyskytuje velké množství bakterií, které uvolňují vedlejší produkty svého metabolismu do bezprostředního okolí. Tyto metabolity mohou poškodit jak kostní tkáň, tak samotný zub. V případě dentálních implantátů z titanu a jeho slitin tyto kyselé vedlejší produkty bakteriálního metabolismu mohou vést ke korozi kovu implantátu.

Většina titanových slitin typu α vykazuje vynikající odolnost proti korozi, mají však omezenou pevnost při nízkých teplotách. Oproti tomu $\alpha + \beta$ slitiny vykazují vyšší pevnost v důsledku přítomnosti jak α , tak β fáze. β slitiny titanu mají kromě požadovaného nízkého modulu pružnosti rovněž vynikající odolnost proti korozi (přehledně viz např. Bania 1993). Elektrochemické studie z poslední doby využívající expozici v simulovaném prostředí s přidávkou chloridu sodného (NaCl) a fluoridu sodného (NaF) potvrdila, že slitiny titanu mají vyšší stupeň rezistence vůči korozi než Ni-Ti slitiny využívané zejména jako ortodontické drátky (např. Kassab et Poncio Gomes 2013). Po hodinové expozici 0.02 NaF vykazovaly drátky Ni-Ti známky povrchové lokalizované koroze, zatímco β slitiny titanu byly beze změny. Podobně jako Ni-Ti vykazují TiMo slitiny během elektrochemických experimentů využívajících roztok NaCl a Ringerův roztok jistý stupeň senzitivity vůči korozi, a to úbytek materiálu až 43 μm za rok (Magheru et al. 2013). Rezistence vůči korozi se však zvyšuje s vyšším obsahem Mo ve slitině. Kromě martenzických částí (α'') je slitina tvořena podílem β tuhého roztoku, který se zvyšuje se

vzrůstajícím podílem Mo ve slitině. Tím je dosaženo změny povrchové mikrostruktury slitiny a zvýšené rezistence TiMo vůči korozi. Korozní chování titanových slitin je testováno zejména na nejčastěji využívaných slitinách v dentálním výzkumu a v klinických studiích. Proto se v posledním desetiletí uskutečnilo velké množství korozních testů na slitině Ti-Al-V s různým zastoupením jednotlivých legujících prvků (např. Yamazone et al. 2007). Tyto studie se zaměřily zejména na tvorbu produktů korozního chování slitiny Ti-6Al-4V ve slině obohacené různým množstvím NaF (např. Huang et Lee, 2005). Z těchto studií lze odvodit, že slitina Ti-6Al-4V má podobné korozní chování jako chemicky čistý titan (přehledně viz např. Chandar et al. 2017). Tento závěr je však v současných srovnávacích studiích postupně zpřesňován (např. Luqman et al. 2020) a je zkoumána úloha dalších doplňkových (legujících) prvků. Jde například o experimenty, ve kterých se ve slitině testovaly další legující prvky namísto vanadu. Dilea et al. (2013) udávají, že relativně nová slitina Ti-6Al-4Zr vykazuje oproti tradiční Ti-6Al-7Nb lepší elektrochemické charakteristiky v umělé slině, stejně tak jako nižší rychlost koroze. Kromě běžných testů korozivity slitin titanu využívajících expozici ve standardních fyziologických roztocích (např. Fojt et al. 2013, Shivaram et al. 2020) se v posledních letech uplatňuje přístup simulace zánětlivého onemocnění v průběhu testů korozivity materiálu. Například Sotniczuk et al. (2019) v testech slitin titanu simulovala zánětlivou reakci přidavkem 33 mM (0,1%) H₂O₂ do expozičního media.

Charakteristika materiálu na bázi Ti (složení)	Oxidy na povrchu materiálu	Detailní charakteristika povrchu
Titanium (Ti)	Ti ⁰⁺ , Ti ²⁺ , Ti ³⁺ , Ti ⁴⁺	Ti ²⁺ oxid je z termodynamického hlediska méně vhodný než Ti ³⁺ . Proto je lépe, vytváří-li se na povrchu převážně Ti ³⁺ . Oxidační procesy tvořící Ti ²⁺ and Ti ³⁺ probíhají na horní vrstvě povrchového filmu a Ti ⁴⁺ je tvořen převážně na nejvzdálenější vrstvě povrchu.
Ti-6Al-4V	TiO ₂	Povrch slitiny je tvořen malým množstvím Al ₂ O ₃ , hydroxylovými skupinami a molekulami vody vázanými na povrch
Ni-Ti	Oxidy na bázi TiO ₂	Povrch je tvořen pouze minimálním množstvím niklu, jak ve formě kovu, tak oxidu.
Ti-56Ni	TiO ₂	Na povrchu se nachází pouze minimální množství niklu jak ve formě kovu, tak oxidu NiO, hydroxylových skupin a vázaných molekul vody.
Ti-Zr	Oxidy titanu a zirkonu	Titan a zirkonium jsou rovnoměrně zastoupeny na povrchu i v hlubších vrstvách slitiny. Tloušťka povrchového filmu oxidu se zvyšuje se zvyšujícím se obsahem zirkonia.

Tabulka 5. Přehled vybraných slitin titanu a základní charakteristika jejich povrchu, respektive oxidů, které se povrchu vytvářejí. Upraveno dle Manivasagam et al. (2010).

Mezi těmito třemi hlavními typy koroze, ke kterým může dojít u titanových slitin v dutině ústní, existují přechodové typy, jako například únavové koroze („*fretting corrosions*“), které jsou přehledně shrnuty a charakterizovány v práci Adya et al. (2005). Utváření vrstvy oxidů na povrchu titanu a titanových slitin je obecným mechanismem, který zabraňuje vzniku koroze. Tabulka 5 udává přehled oxidů titanu, které se vytvářejí na povrchu titanu a slitin titanu.

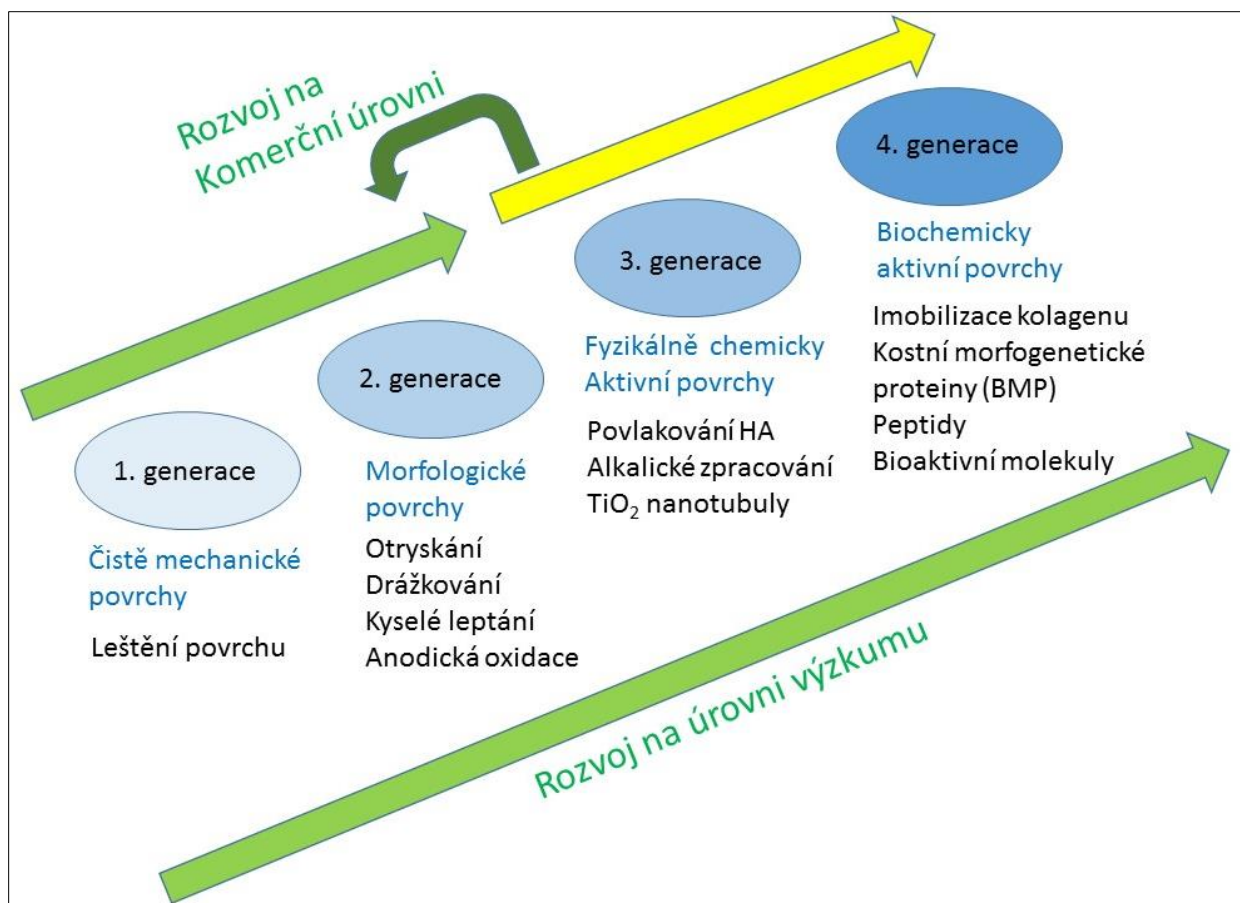
Úprava povrchu dentálního implantátu může rovněž výrazně ovlivnit korozi. Studie z poslední doby naznačují, že elektrolytické nebo magnetické leštění povrchu dentálního implantátu tvořeného čistým titanem nebo slitinami Ti6-Al4-V, Ti6-Al4-V-ELI ovlivňují mikrostrukturu povrchu, náboj na povrchu a tím odolnost vůči korozi (např. Rahman et al. 2014).

4.4. Odolnost vůči namáhání a opotřebení

V materiálové vědě je opotřebení (angl. *wear*) chápáno jako výsledek interakce vlivů působících na povrch zkoumaného materiálu, a to zejména odstraňování či deformace materiálu na povrchu, v důsledku mechanického působení protilehlé plochy či prostředí. Tato interakce je chápána jako mechanické tření (angl. *friction*). V lékařství je opotřebení materiálu titanových slitin chápáno jako poškození pevného povrchu, obvykle zahrnující postupnou ztrátu materiálu, a to v důsledku relativního pohybu mezi tímto povrchem a kontaktními plochami. Cílem současného rozvoje titanových slitin je proto zvyšování odolnosti vůči namáhání, a to zejména optimalizací přenosu napětí mezi dentálním titanovým implantátem a okolní kostní tkání, která je s tělem implantátu v bezprostředním kontaktu. Studie z poslední doby uvádějí jak opotřebení povrchu implantátu, tak resorpci kosti v okolí implantátu, která je nežádoucí (např. Niinomi et al. 2004, Capitanu et al. 2008). K velkému stupni opotřebení dochází zejména tehdy, jsou-li mechanické vlastnosti materiálu dentálního implantátu příliš odlišné od mechanických vlastností kosti. Opotřebení vzniká hlavně třením a posunem povrchů implantátu oproti kosti. V současné době je testováno mnoho postupů, jak snížit namáhání povrchu slitiny třením a následným opotřebením. Jedním z moderních trendů je kryogenní působení pomocí tekutého dusíku po dobu 24 h. Autoři Li et al. (2019) zjistili, že slitina Ti vystavená krogenním účinkům tekutého dusíku vykazuje nižší součinitel tření a míru opotřebení. Míra opotřebení zjištěná v této studii byla v rozmezí 5-17 mm³ m⁻².

5. Současné trendy v materiálovém zpracování slitin titanu

Současné trendy v materiálovém zpracování titanu a jeho slitin pro potřeby dentální implantologie lze charakterizovat jako stálou konfrontaci mezi nově se objevujícími technologickými postupy a ekonomickými možnostmi pro jejich využití v běžné klinické praxi. Je zřejmé, že metody fyzikálně-chemické či biologické úpravy povrchu materiálu již dnes umožňují ve výrazné míře podporu úspěšné oseointegrace, nicméně komercializace těchto typů úpravy povrchu (3. a 4. generace v obr. 13) naráží na ekonomickou rentabilitu těchto postupů.



Obr. 13. Schématické znázornění současných trendů v rozvoji povrchové úpravy titanu a titanových slitin pro budoucí aplikace v biomedicínských oborech. Jednotlivé generace opracování a úpravy povrchů odrážejí historický vědecký rozvoj v oblasti titanových slitin (upraveno dle Hanawa 2013).

6. Povrchová úprava

Texturovaný povrch dentálního implantátu patří mezi důležité faktory umožňující vrůstání tkáně (Lacefield 2007). Studium mikro a nanostruktury povrchu implantátu patří mezi současné směry v oblasti jak základního, tak klinického výzkumu. Některé způsoby povrchové úpravy mají schopnost výrazně zvýšit oseointegraci (Simon et Watson 2002).

V současném výzkumu i klinické praxi je velká pozornost věnována povrchové úpravě dentálních implantátů, která hraje významnou roli při interakci dentálního implantátu s okolní kostní tkání. Snahou současných studií je najít optimální metody úpravy povrchu tak, aby systém (implantát-kost) podporující rychlou oseointegraci a dlouhodobou funkčnost dentálního implantátu při zatížení, bez nutnosti reimplantací (přehledně viz např. Vrbová et Sochor 2010). Původní bioinertní povrchy dentálního implantátu se pomalu dostávají do pozadí a vývoj stále více směřuje k povrchům bioaktivním, které urychlují proces hojení a zajišťují vznik pevné vazby mezi kostní tkání a povrchem dentálního implantátu.

V současné době jsou komerčně dostupné zubní implantáty s různými konfiguracemi povrchu. U většiny implantátů se vychází ze skutečnosti, že kostní tkáň se dobře přizpůsobuje reliéfu povrchu implantátu v rozmezí 1 – 100 μm , a že změny reliéfu povrchu implantátu mohou výrazně zlepšit jeho stabilitu po implantaci (Albrektsson et al., 2003). Primárním cílem povrchové úpravy implantátu je zvýšit adhezi buněk a buněčnou aktivitu při vytváření kostní tkáň v bezprostředním okolí implantátu (Kohles et al. 2004). Dřívější klinické studie uskutečněné v devadesátých letech minulého století, které se zabývaly enoseálními zubními implantáty, ukázaly, že implantáty s hrubým povrchem (řádově v μm) se lépe integrovaly s kostí tkání než materiály s relativně hladkým povrchem (např. Cochran 1999). Kromě adheze buněk a následného zrychlení oseointegrace může povrchová úprava dentálního implantátu v omezené míře ovlivnit rovněž i biomechanické vlastnosti povrchu implantátu (Han et al. 2010).

Významným faktorem, který ovlivňuje oseointegraci titanových implantátů je krystalická forma a hydrofilita povrchu. Na něm se obvykle tvoří TiO_2 , který může mít tři různé krystalické formy. Povrchový oxid TiO_2 , respektive jeho krystalická forma, může být modifikována pomocí různých technik, jako je například tepelné zpracování, oxidace odvozená od sol-gelu a elektrochemická oxidace. Vliv různých titanových krystalických struktur na oseointegraci však není prozatím uspokojivě objasněn (viz např. Albrektsson 2019). Dosud uskutečněné studie „*in vitro*“ přinesly rozdílné výsledky. Například McAlarney et al. (1996) uvádí, že krystalická forma oxidu titaničitého může ovlivnit adhezi proteinu, a proto může být důležitá pro proces hojení. V nově publikovaných studiích (např. Wheelis et al., 2018) se však neprokázal žádný vliv krystalické formy TiO_2 na dlouhodobou životaschopnost preosteoblastů a fibroblastů na povrchu titanu.

Samotný titan je obvykle hydrofilní, což znamená, že kontaktní úhel s kapkou vody na povrchu dosahuje hodnoty pod 90 stupňů. Bylo však zjištěno, že většina běžných komerčních povrchů implantátů na bázi titanu je hydrofobní. Může to být způsobeno různými výrobními technikami a kontaminací, například uhlíkem a příměsovými prvky.

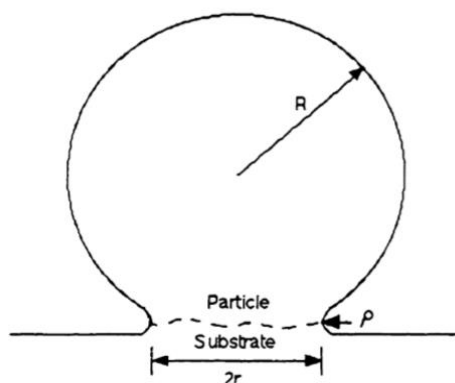
Pro proces vhojení dentálního implantátu z titanu a jeho slitin je výhodnější, pokud je povrch implantátu upraven. V současné době se používá mnoho metod zdrsňení povrchu materiálu, a to v měřítku mikrostruktur až nanostruktur (přehledně viz např. Alla et al. 2011). Mezi metody zdrsňení povrchu patří:

1. pískování,
2. plazmové sprejování (při němž se využívá plazmového nanášení nejčastěji titanového prášku),
3. leptání v minerálních kyselinách.
4. anodická oxidace ve vodných roztocích minerálních kyselin a solí
5. fyzikálně-chemická modifikace povrchu (otryskání, naprašování)
6. laserové opracování
7. nanášení bioaktivních povrchů

V následujícím přehledu jsou uvedeny pouze vybrané typy povrchové úpravy titanu a jeho slitin, neboť technologie se v současné době velmi dynamicky vyvíjejí a podat jejich vyčerpávající přehled a technologické principy jednotlivých metod je nad rámec této práce.

Leptání pomocí kyselin (*Etching*)

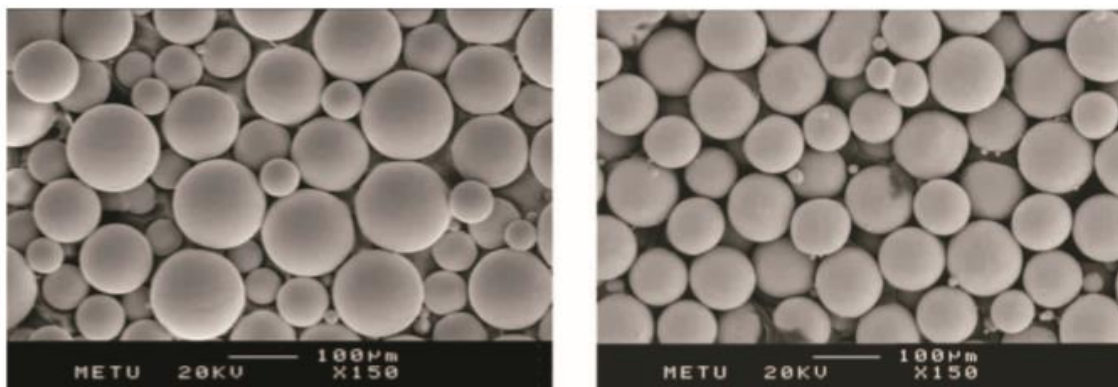
Pro úpravu povrchu dentálního implantátu se často využívá leptání v silné kyselině. Tento typ úpravy vytváří na povrchu mikroprohlubně o průměru v rozmezí 0,5 až 2,0 μm . Často se používá i modifikace této metody takzvané duální leptání. Podstatou metody je fakt, že se využívají současně dvě kyseliny (obvykle HCl a H₂SO₄). Leptání ať již pomocí jedné kyseliny nebo pomocí duálního principu se uskutečňuje v lázni o teplotě nad 100 °C. Takto naleptaný povrch je vhodný pro adhezi fibrinu a podporuje rovněž adhezi osteogenních buněk. Často se leptání kyselinou využívá po předchozím pískování povrchu. Tato metoda se nazývá anglicky *sandblasting and acid etching* (SLA) a jejím výsledkem jsou relativně velké prohlubně o rozměru 250-500 μm avšak s jemnou mikrostrukturou na povrchu těchto prohlubní vzniklou leptáním. Tento typ úpravy povrchu je obecně považován za velmi vhodný pro úspěšnou oseointegraci (Orsini et al. 2000).



Obr. 14. Schematický náčrt principu sinterování. Povrchová prášková částice (*Particle*) o poloměru R je přichycena na povrch materiálu (*Substrate*). Podél linie kontaktu (P) se díky vysoké teplotě vytvoří vazba se zvýšenou hustotou oproti materiálu částice a základnímu materiálu slitiny (upraveno dle Archbold 1999).

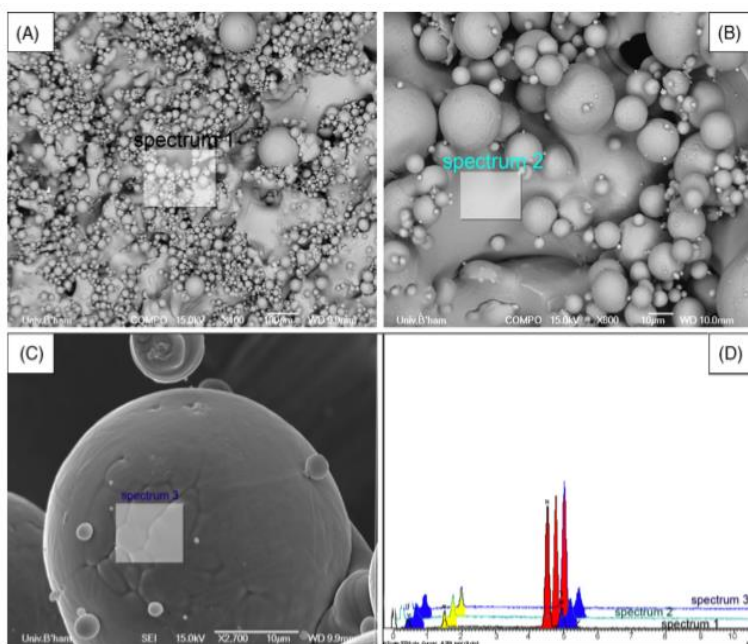
Sintrování

Sintrování je proces, respektive povrchová úprava materiálu titanové slitiny, při kterém je dosaženo vazby mezi použitým práškovým materiálem a částicemi povrchu v důsledku atomové difúze při zvýšených teplotách v peci. Tento proces obvykle probíhá za vysokých teplot, které podporují spékání prášku a částic, stejně tak jako atomové difúzní procesy. Všechny typy této úpravy jsou závislé především na umístění práškového materiálu na povrchu slitiny, neboť vazby mohou být vytvořeny mezi a) částicemi navzájem, b) částicemi a pevnou látkou, c) mezi částicemi a jednotlivými strukturními útvary pevných látek (vlákny). Sintrování má tři hlavní fáze. V první fázi se práškové částice přimknou pomocí adheze k cílovému materiálu slitiny bez toho, že by se vytvořila vazba mezi částicemi. Následuje druhá fáze, která je typická vytvořením vazeb podél linie kontaktu práškovou částicí a materiálem slitiny (viz níže), třetí fáze je charakteristická zpracováním při vysoké teplotě, která zmenší velikost pórů mezi jednotlivými (již vázanými) práškovými částicemi na povrchu materiálu.



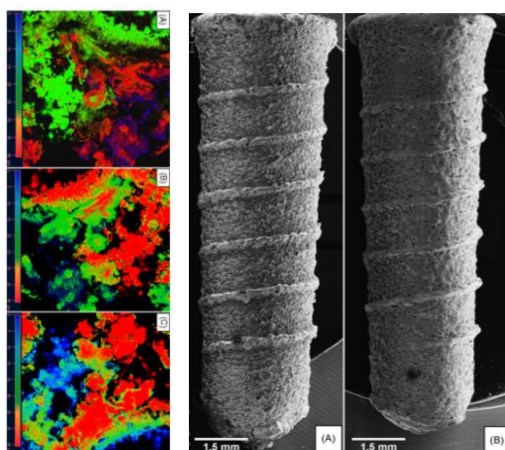
Obr. 15. Typická hemisférická struktura vzniklá sitrováním na povrchu chemicky čistého titanu (vlevo) a slitiny Ti-6Al-4V (vpravo) - převzato z Esen et al. 2009).

Technika sintrování se tradičně používá při úpravách povrchu materiálu dentálních implantátů. Tento způsob úpravy byl zaveden v 70. letech minulého století a je přehledně uveden v práci Ashby (1974). V současné době se tento způsob úpravy povrchu dynamicky rozvíjí, zejména díky širšímu zavedení laserových technologií (např. Traini et al. 2008).



Obr. 16. Příklad využití laserové technologie při úpravě povrchu titanové slitiny. Povrch je typický velkou různorodostí poloměru hemisférických útvarů, což umožňuje vznik širokého spektra mikrokavit různého tvaru a velikostí podporujících úspěšnou oseointegraci. Převzato z Traini et al. (2008).

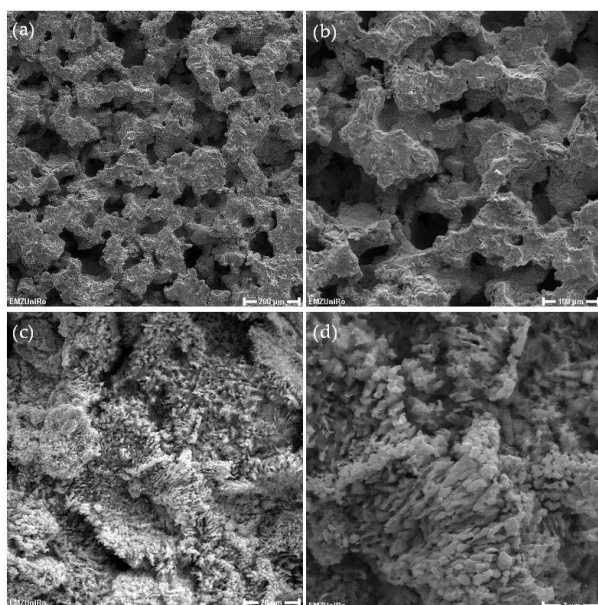
Metoda laserového sintrování utváří na povrchu titanové slitiny typickou porózní strukturu, ve které póry (kavity) mají různou velikost a tvar. Současné studie využívající slitiny s touto povrchovou úpravou se zaměřují na jejich oseointegraci. Testy konané na zvířatech (např. Fukuda et al. 2011), stejně tak jako klinické studie (např. Shibli et al. 2013) potvrzují výbornou oseointegraci takto upraveného povrchu, a to zejména v případech, kdy velikost póru je řádově desítky až stovky mikrometrů (μm).



Obr. 17. Ukázka povrchové úpravy implantátu pomocí laserového sintrování (vpravo) a ukázka heterogenního rozdělení velikosti pórů (kavit) na povrchu v nepravých (spektrálních) barvách: 0–15 mikrometru (modrá), 15–30 μm (zelená), 30–40 μm (červená). A – sintrovaný vzorek, B - sintrovaný vzorek očištěný organickou kyselinou (OK), C – sintrovaný vzorek očištěný OK. Převzato z Traini et al. 2008).

Otryskání (*Blasting*)

Požadované mikrostruktury povrchu titanu či slitiny titanu je dosaženo pomocí otryskání, a to zejména metodou otryskání pískem (*sand blasting*), která se vyznačuje „bombardováním“ povrchu silným proudem vzduchu, který nese částice o velikosti 250 μm (přehledně viz např. Contforto et al. 2004). Tato metoda úpravy povrchu bývá často kombinována s následným leptáním povrchu pomocí kyselin. Pak se tento typ úpravy nazývá SLA (*Sand-blasting and acid etching*). Pomocí SLA je dosaženo optimální drsnosti povrchu pro různé materiály (Nadar et al. 2014) tak, aby byla usnadněna oseointegrace. V současné době se využívají další moderní technologie otryskání povrchu titanu a slitin titanu, a to například otryskání plazmou – viz níže.



Obr. 18. Příklad otryskání pulzně-elektrickým proudem (plazma za 700 $^{\circ}\text{C}$ za tlaku 50 MPa) a návazného tepelného zpracování (1 100 $^{\circ}\text{C}$) povrchu. SEM snímky (a-d) ukazují nepravidelnou a pórovitou strukturu povrchu slitiny Ti-6Al-4V - upraveno dle Zhang et al. (2013).

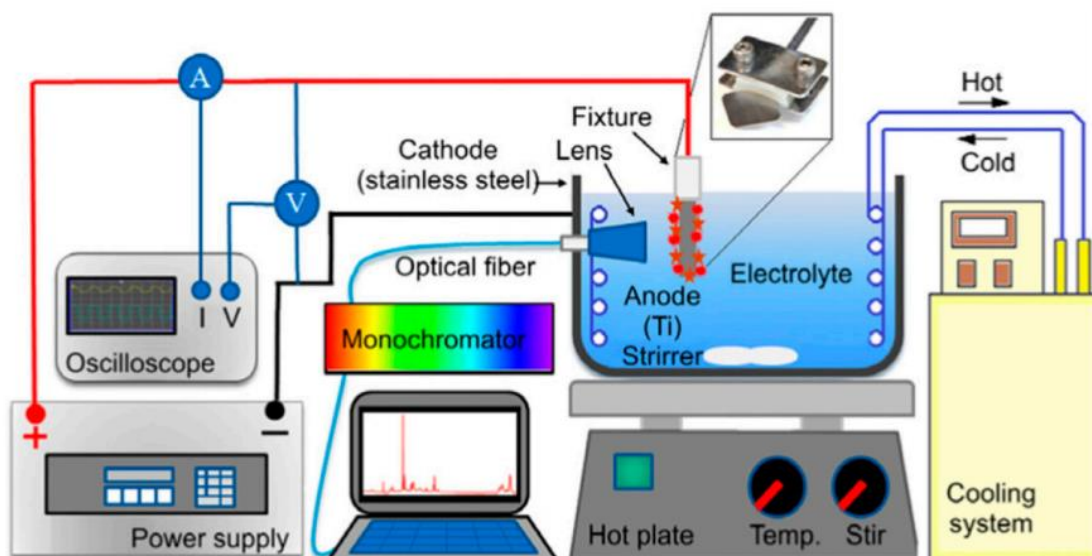
Anodická oxidace (*Anodic oxidation*)

Elektrolytické leštění a anodická oxidace patří mezi nejčastěji používané metody pro modifikaci povrchu titanu. Jsou založeny na různých chemických reakcích, které probíhají na elektricky napájeném povrchu (elektrodě) umístěném v elektrolytu. Za řízených podmínek probíhá vlivem elektrochemické reakce rozpouštění povrchu. Míra odstranění povrchu je závislá na mnoha fyzikálně-chemických parametrech nastavených při procesu, a to obvykle v rozmezí 1 až 10 mikrometrů povrchové vrstvy titanu za minutu. Odstraňování materiálu slitiny nastává zejména při okrajích zrn tvořících mikrostrukturu. Na povrchu titanu anodizovaného za použití vysokého napětí dochází ke krystalizaci oxidu, a tím se vytváří požadovaná drsnost a pórovitost. Druh oxidu vytvořeného během anodizace a jeho vlastnosti jsou závislé především na anodovém potenciálu, složení elektrolytu, teplotě a proudu použitém při procesu. Mezi hlavní kyseliny, které se běžně využívají jako elektrolyty, patří kyselina sírová, kyselina fosforečná, kyselina octová a další (přehledně viz např. Kim et Ramaswamy 2009). Často je lázeň doplněna o soli, které zlepšují mikrostrukturu povrchu tak, aby se zvýšila biokompatibilita a oseointegrace. Příkladem studií využívajících soli, jako příměsi do elektrolytu jsou současné práce Marenzi et al. (2019a,b), které použila fosfátové ionty (PO_4^{3-}). Autoři těchto studií konstatují, že navrhovaná metoda využívající fosfátové ionty vytváří povrchovou nanostrukturu titanu, která zlepšuje biokompatibilitu dentálních implantátů.

Posouzení vhodnosti využití anodické oxidace povrchu dentálních implantátů z hlediska klinické aplikace je předmětem dlouhodobého výzkumu. Výsledky klinických studií uveřejněné v posledních 10 letech zdůrazňují nutnost komplexní analýzy úspěšnosti různých povrchových úprav dentálních implantátů (např. Aalam et Nowzari 2005). Příkladem analýzy vhodnosti anodické oxidace pro podporu biokompatibility povrchu slitiny může být studie Kunii et al. (2019), ve které byla testována oseointegrace Ti-Nb-Sn slitiny. Výsledky této studie ukázaly, že anodická oxidace indukovala tvorbu apatitu a oxidů na povrchu slitiny, což zlepšilo biologickou kompatibilitu této slitiny v „*in vitro*“ testu, tak oseointegraci v „*in vivo*“ testu.

Mikrooblouková oxidace (*Micro-arch oxidation - MAO*)

Mikrooblouková oxidace je postup úpravy povrchu, který vytváří porézní, adhezivní a bioaktivní povlaky na povrchu implantátu. Tato úprava vykazuje dobré vlastnosti v oblasti biokompatibility. MAO v kombinaci s různými druhy elektrolytu, předběžné a následné úpravy povrchu vytvářejí vhodný mikrorelief pro adhezi buněk (přehledně viz např. Wang et al. 2015). Metoda MAO je založena na tvorbě vyztuženého keramického filmu na povrchu titanové slitiny či implantátu. V posledních letech byla povrchová úprava MAO detailně studována v mnoha oborech, včetně biomedicínských aplikací (předehdně viz např. Liu et al. 2019). Mikrostruktura a mechanické vlastnosti filmu z oxidu vytvořeného mikroobloukovou oxidací je určena především typem elektrolytu, složením matrice a parametry oxidačního procesu. Výsledná mikrostruktura pak určuje interakci mezi titanovými implantáty a okolními hostitelskými tkáněmi. Vlastnosti výsledné mikrostruktury povrchu řídí procesy buněčné adheze, proliferace buněk a jejich diferenciaci.

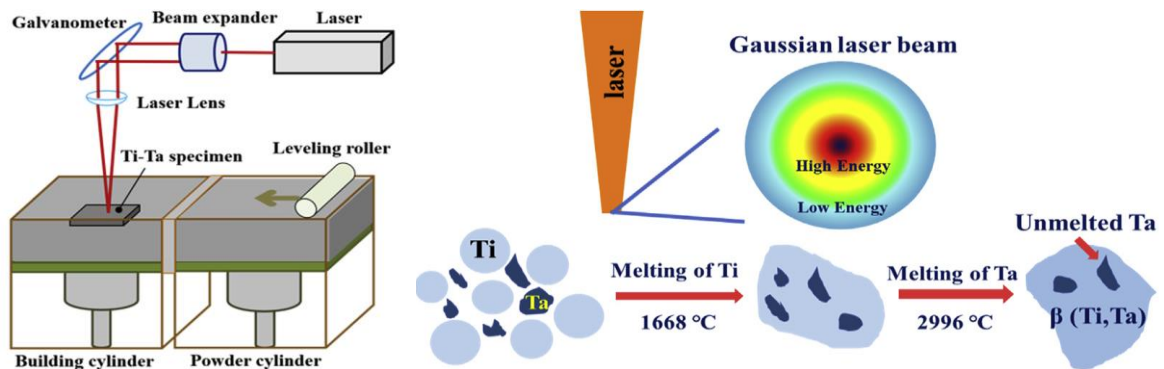


Obr. 19. Schéma metody mikroobloukové oxidace MAO – převzato z Chu et al. (2017).

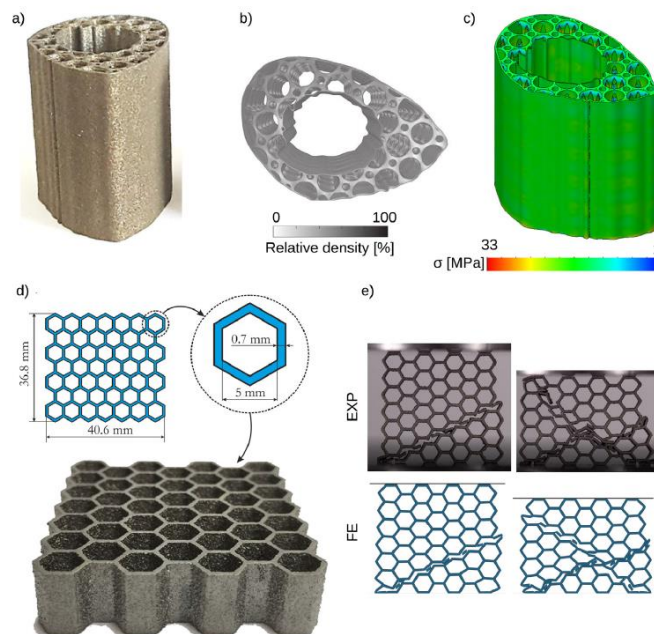
Laserové opracování

Některé z metod opracování povrchu dentálního implantátu s sebou mohou nést riziko nežádoucího znečištění povrchu příměsmi. Z tohoto důvodu se v poslední době stále více prosazuje metoda laserového opracování, která toto riziko eliminuje díky skutečnosti, že k úpravě povrchu dochází bez přímého kontaktu. Navíc současný rozvoj laserových technologií umožňuje precizní řízení tvorby mikrotopografie povrchu. Z tohoto pohledu patří laserové opracování k velmi perspektivním technikám s velkým potenciálem pro nejbližší budoucnost v dentální implantologii. Průměrná drsnost laserově opracovaného povrchu dosahuje rozměrů prohlubní okolo 2 nm. Klinické studie z posledního desetiletí potvrdily podporu tvorby kostní tkáně v okolí implantátu opracovaného touto metodou. Metoda laserového opracování tedy zlepšuje jeho biokompatibilitu implantátu (Matricorena et al. 2007). V poslední době se významně rozvíjí metoda selektivního laserového opracování/tavení (SLM - *selective laser melting*, viz Obr. 20), která podporuje tvorbu β struktury povrchu titanových slitin a zlepšuje jak mechanické vlastnosti, tak snižuje korozivitu povrchu slitiny (Zhao et al. 2019).

Další z nových metod je laserové nanášení kovových povrchů (LMD - *laser metal deposition*). Metoda LMD nabízí oproti jiným řadu jedinečných výhod zejména v tvorbě požadovaného tvaru (reliéfu) povrchu. Například atypické velké části, které vznikají ojediněle při využití metody napařování, mohou být eliminovány pomocí metody LMD (Azarniya et al. 2019). Mezi kovy, které jsou nanášeny na povrch slitiny pomocí LMD, patří například niob (Ni), který zvyšuje odolnost vůči korozi. Příkladem studie z poslední doby je práce Pityana et al. (2019), která konstatuje, že vrstva Ti-Nb vzniklá metodou LMD zvyšuje tvrdost povrchu slitiny Ti-6Al-4V a její odolnost vůči korozi. Kromě toho LMD techniky jsou vysoce účinné v kombinaci s jinými laserovými metodami při tvorbě uniformních povrchů - například *Direct Metal Laser Sintering* (Vance et al. 2018), viz Obr. 21.



Obr. 20. Schéma metody selektivního laserového tavení SLM – převzato z Zhao et al. (2019).



Obr. 21. Příklad prototypů implantátů vyrobených pomocí metody DMLS z Ti6Al4V [222], (b) mikroarchitektura buněčných struktur, které byly navrženy tak, aby odpovídaly tuhosti kostní tkáně (vypočteno pomocí modelů). Ve struktuře jsou oblasti, které ukazují vysokou úroveň napětí. Příklady d) a e) ukazují některé voštinové mřížové struktury vyrobené z Ti-6Al-4V - upraveno dle Vance et al. (2018).

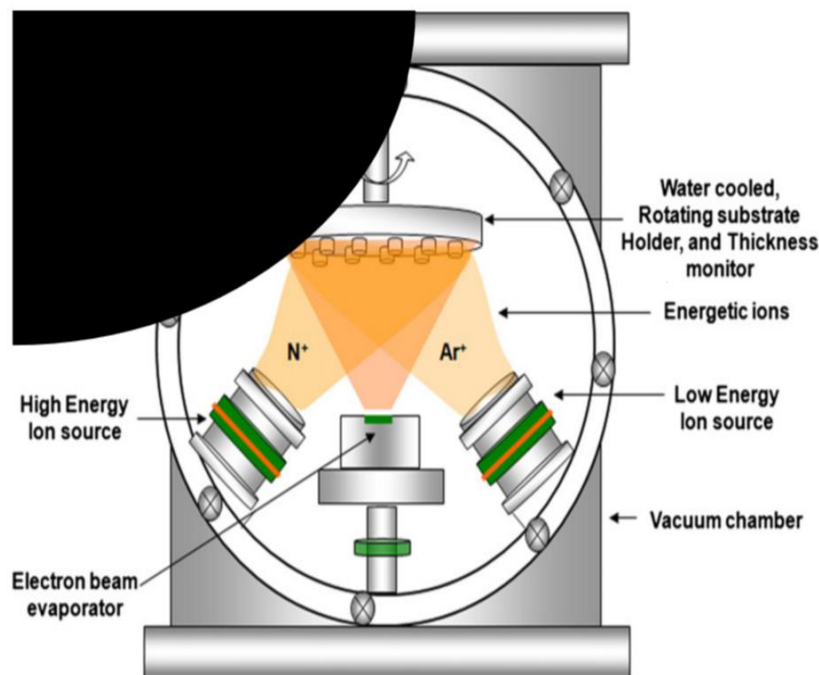
Další technologií využívající laser je metoda PLD (angl. *pulsed laser deposition*). Jedná se o laserem podporované nanášení cílového materiálu na povrch slitiny či implantátu. PLD probíhá ve vakuové depoziční komoře. Metoda je založena na interakci světelného záření produkovaného laserem s povrchovou vrstvou cílového materiálu (keramiky), při které dochází k ablaci materiálu terče a jeho přenosu na povrch implantátu. Částice cílového materiálu putují ve formě plazmového oblaku k implantátu, kde kondenzují. Metoda PLD se využívá například pro vytvoření krystalické apatitové

fáze na povrchu implantátu. Pro optimální vytvoření mikropovrchu je nezbytné, aby proces depozice probíhal za vysoké teploty (500 až 600 °C) a v přítomnosti reakčních plynů (např. kyslíku, vodní páry) - Cotell (1993) a optimalizovaných parametrech jako je např. vzdálenost povlakovaného substrátu od terče, tlak prostředí, hustota energie laserového paprsku (přehledně viz např. Eason 2007). Mezi nejnovější metody opracování povrchu patří laserem indukované periodické povrchové struktury (LIPSS), které jsou založeny na tvorbě povrchových struktur pomocí femtosekundových pulsů laseru (např. Florian et al. 2020).

Depozice podpořená pomocí 'bombardování' ionty

„Ion-bombardment-assisted deposition (IBAD), Dual-ion-beam-assisted-deposition (DIBAD)“

Podstatou této metody je využití dvou zdrojů o různě vysoké energii, jež bombardují povrch slitiny ionty. Tato metoda je založena na faktu že nízkoeenergetický tok čistí povrch slitiny, zatímco vysokoenergetický tok způsobuje požadovanou implantaci cílových iontů na povrch slitiny. Princip metody je zobrazen na schématu uvedeném na Obr. 22.

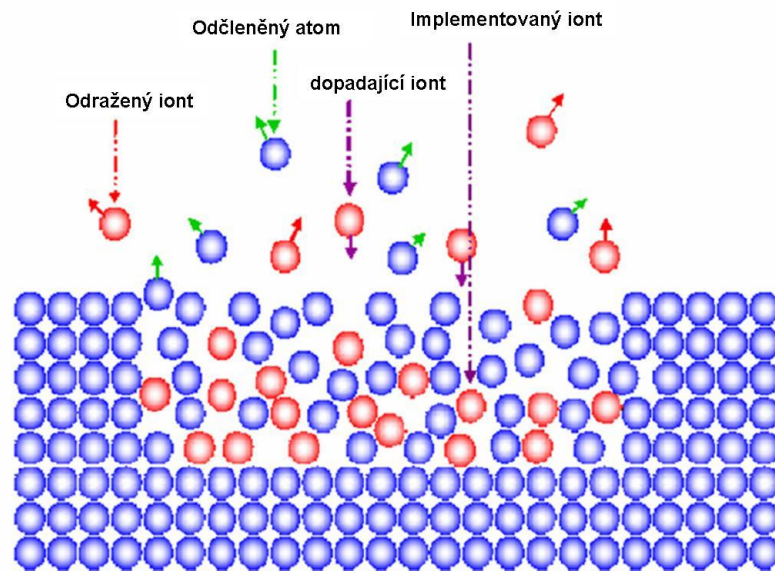


Obr. 22. Schéma DIBAD způsobu úpravy povrchu titanových slitin založené na toku vysokoenergetických iontů (N⁺) a nízkoeenergetických iontů (Ar⁺) – převzato z Rautray et al. (2011).

Implantace iontů s vysokou energií

V případě, že aktivní ionty o vysoké energii dopadají na povrch titanové slitiny, dochází v důsledku interakce ion-pevná látka k několika základním procesům. V případě, že ionty jsou trvale včleněny do materiálu titanové slitiny po ztrátě všech jejích energií, se proces nazývá iontová implantace. Během procesu iontové implantace jsou ionty urychlovány a směřovány k povrchu slitiny titanu. Dochází k interakcím s atomy materiálu slitiny (viz obr. 23) Základní energie dopadajících iontů je zvolena tak,

aby nepronikaly příliš hluboko do materiálu slitiny a zůstaly omezeny na oblasti blízké povrchu materiálu (Sioshansi et Tobin 1998). Obvyklá hloubka, do které jsou ionty touto metodou implantovány, dosahuje 1 nm.



Obr. 23. Schématické znázornění jednotlivých procesů při implantaci iontů s vysokou energií do povrchové vrstvy slitiny titanu (upraveno dle Rautray et al. 2011).

Povlakování hydroxyapatitem (angl. *HA coating*)

Hydroxyapatitová keramika s chemicky čistým základem $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ je materiál využívaný při povrchové úpravě implantátů povlakováním. Na povrch titanu či titanové slitiny je v poslední době nanášena především pomocí plazmového sprejování (např. Lu et al. 2004) nebo využitím laseru (přehled technologií viz např. Selingerová 2008). Povlakování hydroxyapatitem (HA) je však stále předmětem diskuse a experimentálního ověřování, neboť není dostatečně známo dlouhodobé chování a stabilita vrstvy HA v biologickém prostředí. Buněčné testy prokázaly například jen nepatrný vliv povlakování HA na adhezenci a proliferaci buněk oproti hladkému povrchu titanu (Borsari et al. 2005). Často však bývá uváděna výrazná bakteriální kolonizace povrchu HA, a tím i podpora vzniku zánětlivých onemocnění. Tento problém může být částečně omezen využitím povlaku fluorhydroxyapatitu (FHA), který díky uvolňování F⁻ potlačuje růst bakterií a podporuje tvorbu fosfátu vápenatého při tvorbě kostní tkáně (Kim et al. 2004).

Povlakování hydroxyapatitem je z technologického hlediska obtížný úkol, neboť HA je relativně křehký. Proto je žádoucí dosáhnout tloušťku vrstvy HA v rozmezí 50-100 μm . Díky skutečnosti, že HA vykazuje podobné biochemické vlastnosti jako kostní tkáň, dochází u dentálních implantátů na bázi titanu k rychlé oseointegraci, a to zejména v první fázi vhojování. Povlak na povrchu implantátu však není nikdy tvořen pouze krystalickým hydroxyapatitem, lze nalézt i amorfní hydroxyapatitovou fázi a další nestabilní složky na bázi kalcium fosfátu. Ty mohou být příčinou postupného rozpouštění materiálu na povrchu implantátu. Proto se pro zlepšení materiálových vlastností povrchu využívá v technologii povlakování kombinace HA s oxidy (ZrO_2 , Y_2O_3 , CaO), což výrazně zlepšuje mechanické

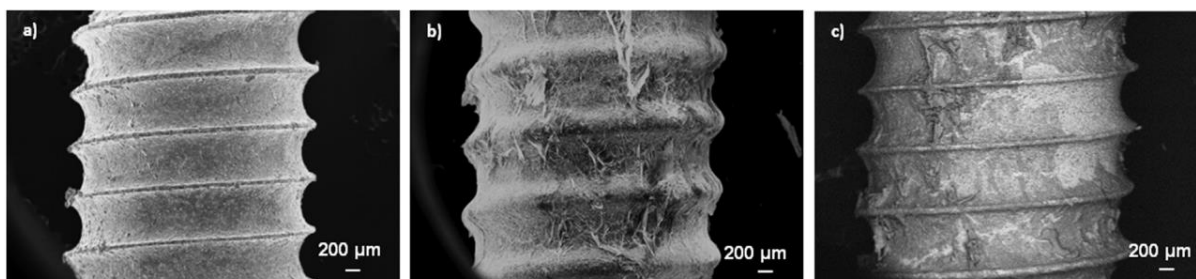
vlastnosti takto vzniklého povrchu (Dudek 2009). Technickou novinkou je kombinace povlakování HA v kombinaci se stronciem (např. Schmidt et al. 2020). Metoda využívá elektrodepozice stroncia do HA a nazývá se stronciem substituovaný HA povlak (angl. *Sr-substituted hydroxyapatite (Srx-HAp) coatings*).

V současné době se prosazuje povlakování titanu a titanových slitin hydroxyapatitem v tenké vrstvě. Tato technologie se nazývá nanopovlakování, neboť vytváří tloušťku vrstvy pouze 20 nm. Nanopovlakování HA podporuje biokompatibilitu titanových implantátů, jak naznačuje studie z poslední doby (Salaie et al. 2020). Mezi výhody povlakování hydroxyapatitem patří podpora smáčivosti takto ošetřeného povrchu slitiny, což umožňuje snazší biointegraci.

Povlakování Ca-P (angl. *Ca-P coating*)

Povlakování Ca-P na povrch titanu se uskutečňuje ponořením chemicky ošetřeného kovu do vodných roztoků, které obsahují vápník a fosfátové ionty při konstantním pH (většinou alkalický roztok) a za fyziologické teploty tak, aby byl napodoben biologický proces. Jako častější metoda povlakování Ca-P slouží ošetření povrchu nevodivými materiály, jako jsou polymery a uskutečnění následných redoxních reakcí probíhajících za vysokých teplot za použití chloridu paladia (PdCl_2) jako katalyzátoru (Oliviera et al. 2005). V první fázi dojde k chemické absorpci iontů paladia na povrch titanu. Ve druhé fázi dojde k depozici Ca-P na takto modifikovaný povrch. Tato metoda má v současnosti mnoho technologických úprav. Často bývají dentální materiály na bázi titanu povlakovány současně jak HA, tak Ca-F. Moderní techniky povlakování Ca-F (např. Le et al. 2014) umožňují u experimentů založených na buněčných „*in vitro*“ testech dosažení velmi dobré biokompatibility Ca-F upravených povrchů dentálních implantátů.

Problémem studovaným v poslední době je homogenita povlakované vrstvy Ca-P, a to jak z hlediska tloušťky, tak z hlediska tvorby aglomerátů povlakovaného materiálu na povrchu implantátu. Příkladem takové studie je práce Pierre et al. (2019), která uvádí, že bez odstředění po ukončení povlakování se vždy získá povlak s velkým množstvím aglomerátů, tedy nehomogenní tloušťkou povlaku.



Obr. 24. Vliv různých postupů při povlakování Ca-P na strukturu povrchu zubního implantátu. Je zřejmý vliv odstředění po vyjmutí implantátu z lázně Ca-P. Tento postus zaručuje homogenní vrstvu Ca-P (viz a). Pokud není implantát vystaven centrifugaci (odstředění), pak vznikají na povrchu implantátu agregáty Ca-P (viz b). Při zvolené nevhodné rychlosti otáček odstředění, dochází ke stavu částečné nehomogenity materiálu. Proto se oblast s větší tloušťkou vrstvy Ca-P se jeví jako tmavší (viz c) - převzato z Pierre et al. (2019).

Povlakování nitridy (TiN, ZrN)

Povlakování základního materiálu nitridy se uplatňuje jak u titanových, tak u chromkobaltových slitin (např. Bartáková et al. 2007). Naše poslední studie se zaměřují na povlakování čistého titanu, Ti6Al4V, Ti35Nb6Ta slitin titanu a slitiny CoCrMo. Z výsledků získaných pomocí testů cytotoxicity bylo zjištěno, že TiN vrstvy nanesené pomocí metody PVD (*Physical Vapour Deposition*) jsou vhodné pro výše uvedené typy materiálů. Povlaky TiN a ZrN splňují požadavky na biologickou kompatibilitu implantovaných materiálů (Prachár et al., 2014).

Povlakování Zirkoniem (Zr)

Povlakování Zr je v současné době rychle a dynamicky se rozvíjející metodou povrchové úpravy slitin titanu. Do této skupiny povlakování patří například yttriem zpevněný povlak zirkonia (YZP) na TiO₂ povrchu slitiny. Tato úprava má význam pro smáčitelnost při aplikaci zubního implantátu (Jemat et al. 2018).

Povlakování terapeutickými a bioaktivními látkami

V současné době se za nejvýhodnější považuje začlenění terapeutických a bioaktivních látek do Ca-P povlaku. Současné technologie umožňují možnost začlenit různá terapeutická činidla přímo do Ca-P povlaku. Molekuly cílové látky se rozpustí v kalcifikačním roztoku, který se během procesu potahování adsorbuje nebo inkorporuje do Ca-P povlaku (viz např. Lin et al. 2015).

Přehledná studie Al Mugeiren et Baseer (2019) uvádí hlavní skupiny terapeutických a bioaktivních látek, které se v současné době používají pro povlakování s cílem zvýšení biokompatibility a oseointegrace:

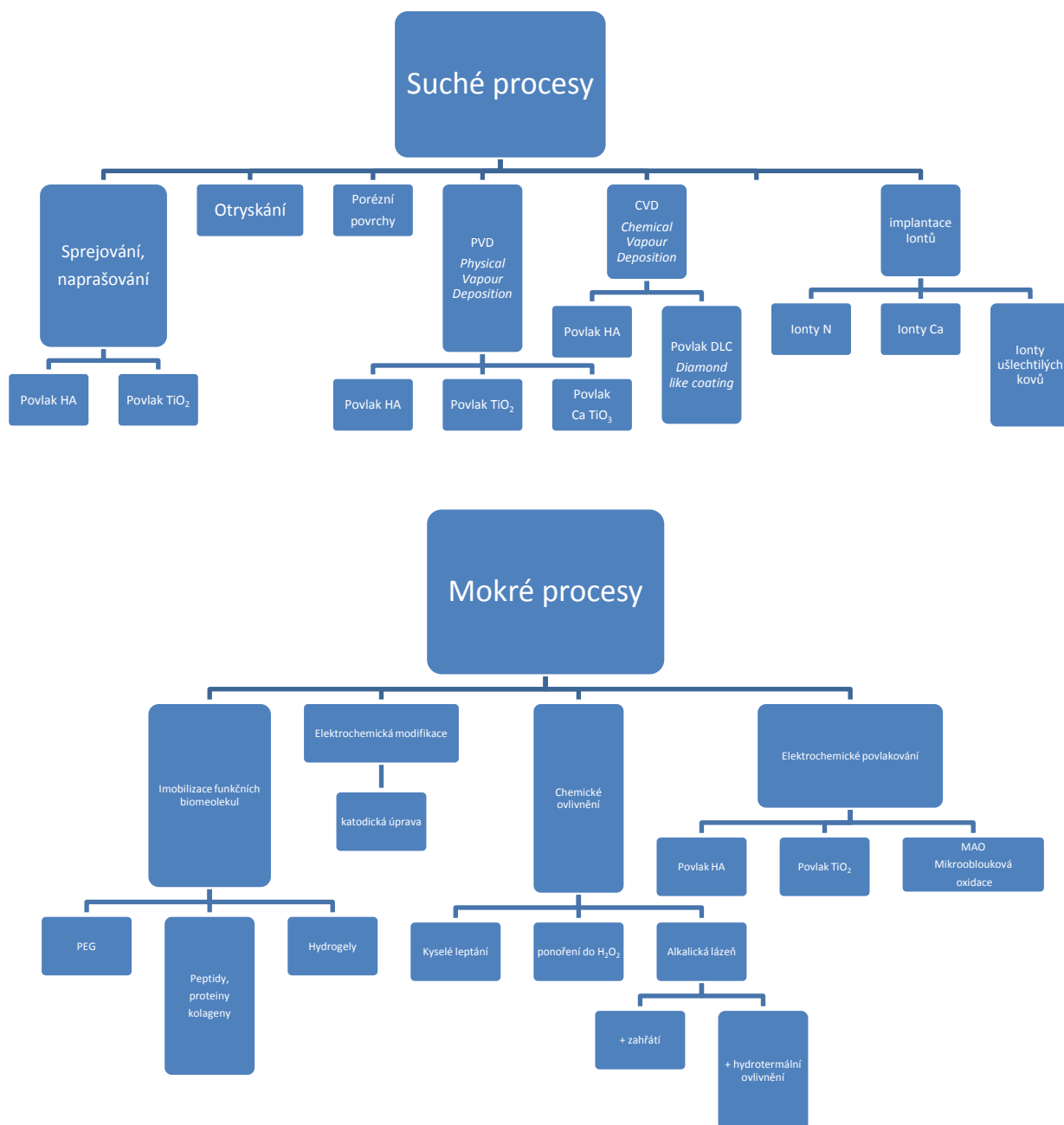
1. Albumin
2. Kostní morfogenní proteiny
3. Bisfosfonáty
4. Antibiotika
5. Amelogenin

Hodnocení povrchového opracování

V současné době existuje mnoho srovnávacích studií, které se zabývají porovnáním vhodnosti různých typů povrchové úpravy titanových dentálních implantátů, a to z hlediska optimální oseointegrace. Souhrnně lze říci, že většina prací upřednostňuje povrchovou úpravu zubních implantátů pomocí povlakování a leptání kyselinou před jinými metodami úpravy povrchu (přehledně viz např. Jemat et al. 2015). Tyto metody vedou k tvorbě drsnosti povrchu od 0,44 do 8,68 μm.

Pro hodnocení vhodnosti povrchové úpravy materiálu (Ti a slitin Ti) je nezbytné nalézt vhodnou metodu pro kvantifikaci biokompatibility. Obecně metody využívané pro úpravu povrchu mění jak morfologii povrchu, tak jeho strukturu a chemické složení, které však mohou mít vliv na mechanické vlastnosti. V případě stomatologie se u zubních implantátů vyžaduje kompatibilita materiálu s tvrdými tkáněmi při tvorbě kostí a oseointegraci. Rovněž je však důležitá kompatibilita měkkých tkání při adhezi gingiválního epitelu a v neposlední řadě vhodné antibakteriální vlastnosti pro inhibici

bakteriální invaze. Z těchto důvodů je hodnocení vhodnosti povrchové úpravy materiálu složité, neboť zahrnuje velmi mnoho kritérií. Aspekty hodnocení povrchové úpravy jsou shrnuty v přehledové studii Hanawa (2019), která konstatuje, že mechanismy biokompatibility u různě povrchově ošetřených materiálů (Ti, Ti slitiny) jsou dnes již uspokojivě popsány, nicméně hlubší analýza příslušných mechanismů může urychlit vývoj nových metod pro optimální úpravu povrchů.



Obr. 25. Metody úpravy povrchu slitin titanu zaměřené na povlakování a chemické, respektive elektrochemické metody. Dělené na suché (horní schéma) a mokré (dolní schéma) procesy úpravy povrchu (upraveno dle Hanawa 2013).

Chemické složení povrchové vrstvy

Na povrchu titanu či titanových slitin se po aplikaci implantátu/konstrukce do dutiny ústní vytváří na povrchu tenká vrstva (3-7 nm) amorfních nanokrystalů oxidu titanu TiO_2 (Liu et al. 2004). Ta je velmi důležitá pro uchycení implantátu do kostní tkáně neboť vytváří vhodné podmínky pro adhezi buněk. Na zvlhčeném povrchu TiO_2 se díky přítomnosti OH^- vytváří povrchový náboj, který podporuje tvorbu hydroxidových komplexů, a to jak kyselých, tak alkalických. Principy tvorby oxidu titanu na povrchu jsou detailněji popsány v oddílu 8.1. V této části (viz níže) jsou popsány pouze základní úpravy chemického složení povrchové vrstvy titanu založené na přidání dusíku ve fázi závěrečného zpracování slitiny titanu tak, aby v povrchové vrstvě vznikly nitridy titanu.

Slitiny titanu obohacené dusíkem (angl. *N-implanted*) podporují tvorbu nitridu titanu (TiN) na povrchu. Technologicky se tvorba TiN uskutečňuje pomocí povlakování či naprašování. Takto upravený povrch pak vykazuje jak lepší mechanicko-chemické vlastnosti zvyšující odolnost vůči korozi (Huang et al. 2005), tak vyšší adhezivitu buněk na povrchu (Annunziata et al. 2011). V posledním desetiletí několik přehledových studií potvrdilo přínosnost této povrchové úpravy z hlediska zlepšení parametrů biokompatibility (např. Gordin et al. 2012) především díky struktuře povrchové vrstvy tvořené směsí TiO_2 a TiN (Tobola et al 2020).

Dalším příkladem účinné úpravy povrchové vrstvy slitiny zvyšující zejména její biokompatibilitu může být řízená mikrooxidace povrchové vrstvy (angl. *micro arc oxidized titanium: MAO-Ti*), která potvrdila zlepšenou adhezi buněk („*in vitro*“) a oseointegraci („*in vivo*“) – Kwon et al. (2007). Naprašování nitridu titanu (TiN) nebo nitridu zirkonia (ZrN) patří k dalším úpravám povrchové vrstvy titanu či titanových slitin, která výrazně snižuje cytotoxicitu slitiny způsobenou legujícími prvky, které samy o sobě vykazují vyšší stupeň toxicity pro buňky (Prachár et al 2005).

7. Biokompatibilita titanových β slitin

Přehledně jsou testy biokompatibility titanových slitin shrnuty v několika přehledných pracích z poslední doby, např. Lee et al. (2011). Většina studií využívá „*in vitro*“ experimentů. Kromě „*in vitro*“ testů se často používají i „*in vivo*“ testy dentálních kovů a slitin. Ty se obecně dělí do tří základních kategorií (Black 1992): (1) nefunkční testy, (2) „*ex vivo*“ testy a (3) funkční testy.

V případě **nefunkčních testů**, které mají mnoho modifikací, se dentální implantáty vloží do měkkých tkání (subkutánně, intramuskulárně nebo intraperitonálně) nebo do tvrdých tkání experimentálních zvířat. Tyto studie jsou obvykle relativně krátkodobé (dny až měsíce) a poskytují cenné informace o místních interakcích mezi implantátem a okolní tkáně. Důležitým faktorem, který je třeba brát v úvahu při vyhodnocení výsledků je fakt, že experimentální údaje jsou získány při absenci mechanického zatížení (Ciocan et al. 2011). Testy „*ex vivo*“ využívají expozici materiálu slitiny či celého dentálního implantátu krví zvířete, která je přesměrována z krevního oběhu zvířete na materiál a zpět do oběhového systému. V takových případových studiích se získávají důležité informace pro určení kompatibility krve s použitými slitinami jako je například kumulace proteinů, buněčné adheze a tvorba buněčných shluků na povrchu testovaného materiálu. **Funkční testy** zahrnují implantaci do zvířecího organismu v podobě funkčních protéz či implantátů. Tyto testy jsou však zdlouhavé, vyžadují zvláštní podmínky týkající se konstrukce, výroby, zkoušení různých typů

protéz a implantátů. Z těchto důvodů se využívají jen výjimečně, jsou navíc nákladné. Poskytují však cenné informace o složitých interakcích, chronických i akutních zánětlivých reakcích a podobně, které se vyskytují mezi implantátem a organismem. Příkladem tohoto typu studií je práce Aparicio et al. (2011), ve které se autoři zaměřili na hodnocení vhodnosti povrchové úpravy titanových dentálních implantátů zavedených do horní a dolní čelisti prasete domácího. Úspěšnost oseointegrace byla v této studii (Aparicio et al., 2011) hodnocena histometricky.

Do skupiny „*in vivo*“ testů patří testy biokompatibility titanových slitin na zvířatech. Pro tyto účely se v závislosti na legislativě a zvyklostech v různých státech světa využívají různé druhy zvířat, různé typy aplikací a metod vyhodnocení biokompatibility. Chung et al. (2004) například použili podkožní aplikaci slitin titanu s nanoseným povrchem nitridu hliníku u morčat. Biokompatibilitu poté hodnotili jako rychlost tvorby fibrózní tkáně okolo testovaného materiálu po 12 týdenním pokusu. Zjistili, že nanosená vrstva pozitivně ovlivnila biokompatibilitu. Obdobný přístup, tedy podkožní aplikace testovaného materiálu, je aplikován i na jiných hlodavcích, například krysách (Lee et al. 2011 – intrakutální a subkutánní test β slitiny titanu). V poslední době se uplatňují i testy implantátů zavedených do kostní tkáně prasat. Do této skupiny můžeme zařadit například studii Friedmann et al. (2014), jejímž cílem bylo vytvořit model přizpůsobení kostního defektu klinické situaci, a to nepravidelné atrofii alveolárního výběžku, který by byl charakterizován určitým množstvím zbytkové alveolární kosti ve frontální části alveolu, a nedostatečné výšky kosti v distální části alveolu. Umístění implantátu v takové oblasti mělo odpovědět na otázku, s jakou úspěšností se uchytí implantát. Hlavním cílem však byla srovnávací analýza měření úspěšnosti integrace implantátu pomocí histomorfometrie a rentgenových snímků a rozhodnutí, zda je v takové situaci použití kontaktní radiografie výhodnější než histomorfometrie.

Funkční testy „*in vivo*“ jsou zaměřeny především na následující aspekty biokompatibility titanu a slitin titanu: (1) oseointegrace materiálu slitiny, (2) oseointegrace s ohledem na povrchovou úpravu implantátu. Do této skupiny patří testy dentálních implantátů zaváděných do kostí (nikoli čelistí) experimentálních zvířat, například stehenních kostí psů (Han et al. 2010). Jako testovací zvířata se používají také králíci, které ve své studii biokompatibility využili Li et al. (2018). Autoři se zaměřili na slitinu Ti6-Al4-V povlakovanou grafenem (nanopovlak jednovrstevného uhlíku) a sledování urychlení „*in vivo*“ osteogeneze a oseointegrace na povrchu implantátu. Po zavedení testovaného vzorku slitiny s takto bioaktivovaným povrchem do oblasti femorálního kondylu autoři sledovali pomocí histologických metod osteogenezi a oseointegraci po 4, 12 a 24 týdnech. Autoři uzavírají, že grafen může být novým typem nanopovlakovacího materiálu pro zvýšení povrchové biologické aktivity slitinových materiálů na bázi Ti a může dále podporovat osteogenezi a oseointegraci „*in vivo*“.

Rozdělení testů „*in vitro*“

Testy cytotoxicity titanu a titanových slitin se provádí zejména ve čtyřech základních skupinách, které jsou v různých experimentálních studiích často kombinovány, popřípadě doplňovány dalšími testy. Jde především o níže uvedené testy cytotoxicity, které jsme v uplynulém desetiletí využívali i na naší klinice pro hodnocení biokompatibility nově vznikajících materiálů na bázi titanu (např. Bartáková et al. 2009a).

1. Test inhibice růstu buněk
2. Test dilatace buněk

3. Test adherence buněk k testovanému materiálu
4. Test tolerance materiálu buňkami
5. Testy genotoxicity materiálu

Biologické vlastnosti byly testovány na vzorcích ve tvaru válečků 8x3 mm. Byly sledovány stavy po odlití a po tepelném zpracování při teplotě 650 °C po dobu 15 minut s ochlazením na vzduchu nebo při teplotě 950 °C po dobu 10 minut s velmi pomalým ochlazením v peci. Následovaly testy biokompatibility a genotoxicity (Výsledky studie Bartáková et al. 2009a - viz tabulka 6, s. 43).

Test inhibice růstu buněk se provádí na živočišných buňkách a hodnotí se toxicita výluhu z testované slitiny. Hodnoceným parametrem je počet buněk zjišťovaný v Bürkerově počítací komůrce v závislosti na koncentraci výluhu. Testy dilatace a adherence buněk kvantifikují schopnost buněk přichytit se a růst na povrchu testovaného materiálu. Testy tolerance materiálu buňkami se hodnotí pomocí biometrického kritéria, a to velikostí mezery mezi okrajem testovaného materiálu a dilatovanými buňkami po pěti dnech. Je-li mezera mezi okrajem materiálu a rostoucí buněčnou populací větší než stonásobek průměrného rozměru, pak se testovaný materiál považuje za netolerantní. Testy genotoxicity existují v současné době v mnoha podobách. Ve výzkumu titanu a titanových slitin se využívají například test frekvence chromozomálních aberací a test morfologických atypií mitóz. Detailní popis nejčastěji využívaných testů je uveden v následující kapitole (viz 8.4 Biokompatibilita).

7.1. Cytotoxicita

Titan a jeho slitiny vykazují velkou míru biokompatibility, zejména z histologického hlediska. Cytologické studie prováděné v minulosti prokázaly, že titan nemá vliv na rozšíření a aktivitu například myších makrofágů (Rae 1975). Pozdější navazující studie zaměřené na lidské fibroblasty (Rae 1981) prokázaly, že titan nevykazuje žádný toxický účinek ani zánětlivou reakci v okolí implantátu zaváděného do zvířecích i lidských kostí (Breme et al. 1988, Hansson et al. 1983). V průběhu posledních dvou desetiletí se postupně rozvíjely různé typy testů cytotoxicity kovových dentálních slitin včetně titanových slitin (přehledně viz např. Geurtsen 2002). Pro posouzení cytotoxických účinků zubních kovových materiálů se využívají kultivační systémy s různými typy primárních a imortalizovaných buněčných linií lidských či zvířecích buněk (fibroblasty nebo fibroblastům podobné buňky a kostní buňky) - např. Schmalz et al. (1997). V těchto studiích se hodnotilo velké množství parametrů, které mohou být využity ke kvantifikaci cytotoxických změn, nejčastěji buněčná proliferace, změna buněčné morfologie, uvolňování glykosaminoglykanů, exprese transformujícího růstového faktoru β , vliv látek uvolňovaných ze slitiny na různé enzymatické systémy (např. Leyhausen et al. 1998). V současné době se používá celá řada testů cytotoxicity, které hodnotí titan a jeho slitiny. Mezi nejčastěji používané testy řadíme test označovaný zkratkou MTT (MTT-3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid), který umožňuje detekovat cytotoxicitu vůči buněčné linii (např. Sjögren et al. 2000, Sabaliauskas et al. 2011). Dalším rozšířeným testem cytotoxicity titanu a jeho slitin je test MEM (angl. *Minimum Essential Medium*) – například Dragan-Raileanu et al. 2013)

Snaha sjednotit hodnocení titanu a jeho slitin vedla ke standardizaci, která vyústila v předepsanou a mezinárodně akceptovanou metodiku (viz ISO7405, ISO10993-5 v Dalšíh zdrojích). Tato metodika je v současné době často používána při hodnocení cytotoxicity titanu a jeho slitin (viz např. Velasco-Ortega et al. 2010). Práce z posledního desetiletí prokazují, že většina titanových slitin používaných v současné době v dentální klinické praxi nevykazuje cytotoxicitu nebo jen ve velmi omezené míře, a to zejména v závislosti na mikrostruktuře povrchu testované slitiny (Colceriu et al. 2008). Nově vyvíjené materiály na bázi slitin titanu jsou rovněž testovány a vykazují prakticky nulovou cytotoxicitu, jako je tomu například u Ti-Ag-Fe slitin (Zhang et al. 2012). Rovněž tak slitiny titanu, které mají SME (angl. *Shape memory effect*) a využívají se zejména v ortodontii, vykazují vynikající cytokompatibilitu, tedy nulovou cytotoxicitu zjištěnou pomocí MTT testu (Ti-Nb, Ti-Nb-Zr a Ti-Nb-Hf, Wang et al. 2010).

Mezi nejčastěji využívané slitiny v dentální praxi patří Ti-6Al-4V. Přes všechny mechanické výhody slitiny Ti-6Al-4V výzkumy z poslední doby naznačují určité obavy týkající se toxicity hliníku a vanadu přítomného v této slitině. Cytotoxicita patří mezi nevýhody spojené s uvolňováním Al a V do těla. Korozivita slitiny Ti-6Al-4V byla z tohoto pohledu sledována v modelových experimentech, např. Afzali et al. (2019).

Současné práce ukazují, že v textech toxicity, které byly v posledních desetiletích použity pro ohodnocení β slitin titanu, nebyl zohledněn faktor expoziční teploty během „*in vitro*“ studií. Faria et al. (2009) uvádějí, že expoziční teplota může výrazně ovlivnit výsledek testu toxicity. Autoři použili slinua posloupnost působení různých teplot (termocykly v teplotách 37°C/5°C/37°C/55°C/37°C) v průběhu expozice různým druhům slitin. Jejich výsledky prokázaly, že extrakty ze slitin Ni-Cr, Co-Cr-Mo, Ti-6Al-4V a cp Ti extract ($p > 0.05$) neovlivnily při použitém teplotním cyklu počet buněk a jejich viabilitu, avšak slitina Ni-Cr-Ti, respektive expozicí získaný extrakt, měl negativní vliv na počet buněk a jejich viabilitu.

Pro testy cytotoxicity je rovněž možno využít fluorescenčních barviv, která umožňují snadnější identifikaci buněk na povrchu testovaného materiálu a semiautomatizované vyhodnocení obrazu získaného během testů (Homolková et al. 2014). Tento trend v posledních letech získává na významnosti a slibuje zrychlení a zpřesnění vyhodnocení testů cytotoxicity. Dalším ze současných výzkumných trendů je propojení testů cytotoxicity testovaných slitin titanu s následnými testy biokompatibility založenými na adhezenci buněk na povrch testovaného materiálu (např. Dimić et al. 2017). Při hodnocení výsledků testů toxicity titanových a všeobecně všech kovových slitin využívaných v dentálním výzkumu a klinické praxi je nezbytné zohlednit fakt, že údaje získané při „*in vitro*“ studiích nemusí nezbytně odpovídat podmínkám během „*in vivo*“ aplikace materiálu v klinické praxi. V „*in vivo*“ podmínkách hraje roli celá řada biologických faktorů, které nelze v „*in vitro*“ testu dostatečně přesně napodobit. K těmto faktorům patří například výskyt a působení různých organických kyselin a enzymů, které jsou produkty metabolismu různých mikroorganismů přítomných v dutině ústní. Tyto faktory mohou oproti „*in vitro*“ podmínkám ovlivnit korozivní projevy na povrchu použité slitiny. Rovněž stravovací návyky pacientů mohou výrazně modulovat variabilitu hodnot pH v dutině ústní, složení sliny a další intraorální biochemické podmínky (Bumgardner and Johansson, 1998).

Kromě cytotoxicity se při hodnocení titanu a titanových slitin často hodnotí také genotoxicita. Typickým postupem stanovení genotoxicity testované slitiny je zhodnocení vlivu eluátu (roztok

získaný dlouhodobým působením kyselin a solí, například kyseliny octové a roztoku chloridu sodného na testovaný materiál) na poškození DNA v testovaných živočišných buňkách. Typickým představitelem tohoto přístupu je práce Ribeiro et al. (2007), ve které autoři sledovali vliv korozních sloučenin uvolněných z čistého titanu na zlomy DNA v kultuře buněk z vaječnicků křečka. Závěry jejich práce potvrzují fakt, že chemicky čistý titan je z hlediska genotoxicity velmi vhodným materiálem pro využití v dentální implantologii, neboť v jejich studii nebylo prokázáno poškození DNA.

Současné studie cytotoxicity Ti poukazují na různé metodické aspekty a rozdělují testy cytotoxicity do několika základních skupin. Příkladem takové práce je souhrnná publikace Kim et al. (2019), která rozděluje účinky Ti na negativní projevy cytotoxicity Ti na jednotlivé orgány, tedy buňky jater, plic a ledvin objevujících se v případě akumulace titanových částic v jednotlivých orgánech. Pro dentální implantologii má význam studium cytotoxicity Ti a titanových slitin, zejména ve vztahu k zánětlivé odpovědi okolních tkání v dutině ústní způsobené korozivními produkty titanu. V neposlední řadě studie Kim et al. (2019) ukázala na projevy senzitivity lidského organismu na titan a potenciální rizika nanočástic Ti používaných v titanových implantátech. V této souvislosti nelze opomenout toxicitu titanu při syndromu žlutých nehtů (ang. *yellow nail syndrome*), která vzniká jako choroba související s titanem. Klinická studie Ataya et al. (2019) popisuje pacienta, u kterého se krátce po zavedení dentálních implantátů rozvinul syndrom žlutých nehtů. Studie uvolňování nehtů u tohoto pacienta ukázala zvýšený obsah titanu v nehtech. Pacient s tímto syndromem vykazoval, po odstranění implantátů, úplné vymizení sinusových příznaků avšak stejnou úroveň Ti nehtech. Autoři se proto domnívají, že expozice titanu je příčinou syndromu žlutých nehtů. Na druhé straně nevylučují nepřímou souvislost mezi expozicí Ti a syndromem žlutých nehtů.

Ta %hm	Teplné zpracování	Typ testu cytotoxicity								Celkové Hodnocení	Kompatibilita
		1	2	3	4	5	6	7	8		
5,39	Litý stav	A	A	B	A	A	A	A	A	A	biokompatibilní
	650°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
9,83	Litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	biokompatibilní
	650°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
14,80	Litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	biokompatibilní
	650°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
19,70	Litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	biokompatibilní
	650°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
24,39	Litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	biokompatibilní
	650°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
28,95	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	iokompatibilní
	650°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
33,81	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní

Tabulka 6. Výsledky testů cytotoxicity a genotoxicity slitin titanu s přísadou tantalu. Jednotlivá hodnocení: A: bez výhrad; naměřené hodnoty byly na úrovni pozitivní kontroly nebo s minimální odchylkou, B: tolerantní; vykazuje malou negativní odchylku od pozitivní kontroly, nebo na úrovni kontroly, ale buňky vykazují atypické morfologické změny. Převzato z Bartáková et al. (2009a).

7.2. Adhezivita /Adherence

Adhezivita buněk, respektive jejich orientace, je závislá nejen na chemickém složení povrchu slitiny, množství a charakteru uvolňovaných látek, ale také na mikrorelífu povrchu. Bylo například prokázáno, že lidské gingivální fibroblasty byly orientovány náhodně na hladkém povrchu titanu, zatímco na mikrorelífu povrchu tvořeném souběžnými drážkami ve tvaru „V“ byly fibroblasty orientovány ve směru těchto drážek. Mikroreléf povrchu také výrazně ovlivňuje tvorbu metaloproteináz (např. Chou et al. 1998).

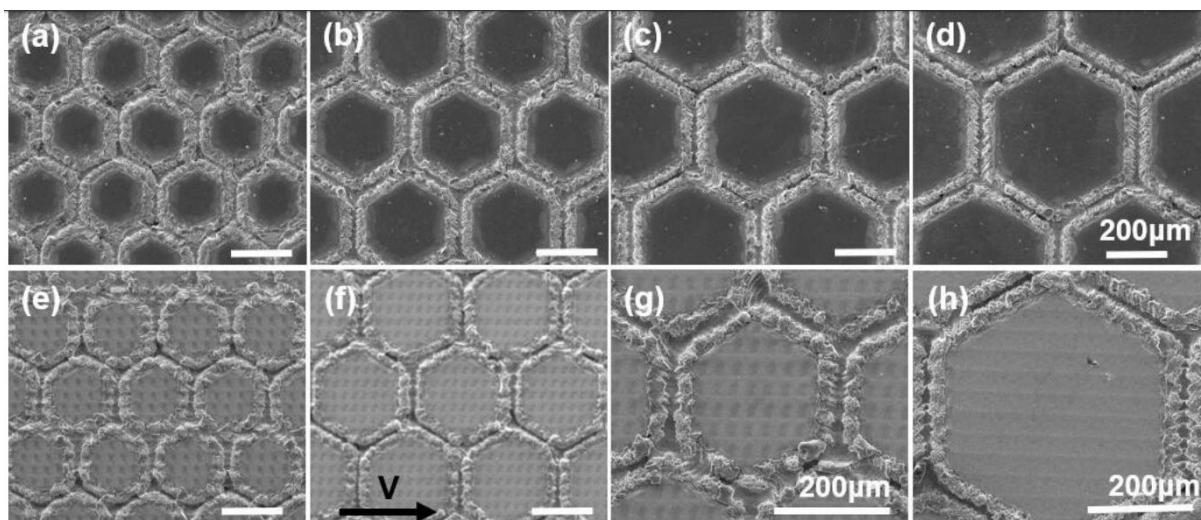
Adhezivitu buněk na povrchu titanu či titanových slitin lze ovlivnit rovněž pomocí oxidů, které jako keramické materiály (např. $ZrO_2 - TiO_2$) mohou být cíleně vytvářeny na povrchu slitiny. Marchi et al. (2010) testovali adhezivitu lidské buněčné linie fibroblastů. Zjistili, že buňky adherovaly rychleji, jestliže povrch byl tvořen směsí $ZrO_2 - TiO_2$ nežli v případě, že byl povrch tvořen pouze ZrO_2 . To znamená, že afinita buněk k povrchu TiO_2 keramiky se zlepšila smícháním se ZrO_2 . Proto lze konstatovat, že kromě prostého chemického složení mají pro adhezivitu buněk význam i další vlastnosti povrchu, jako je například biofyzikální chování povrchu, které může výrazně zlepšit biokompatibilitu povrchu.

Studie adhezivitu a proliferace buněk lidských osteoblastů potvrdily, že tvorba mikrostruktur na povrchu dentálního implantátu a to jak větších, než rozměr adhezující buňky (angl. *macro-roughness*), tak menších než rozměr buňky osteoblastu (angl. *micro-roughness*) tvoří vhodné isotropní prostředí. Pro adhezivitu osteoblastů má dle posledních studií význam i struktura nanoreliéfu (Babuška et al. 2015). Vlivu nanostruktury povrchu na adhezivitu buněk se věnují zejména současné studie. Jarolímová et al. (2020) využila lidské mesenchymální buňky (hMSC) pro testování adhezivitu na nanotubulární slitinu Ti6-Al4-V. Kromě velikosti mikrostruktur je důležitým faktorem pro adhezivitu a proliferaci rovněž jejich prostorová heterogenita (Bigerelle et al. 2002). Z dalších významných faktorů určujících adhezivitu buněk je doba kultivace osteoblastů na povrchu opracovaném různými technologickými postupy. Například studie Bačáková et al. (2006) potvrdila, že na titanových slitinách Ti6-Al4-V, Ti5-Al25-Fe lze po prvním dnu kultivace nalézt největší počet adhezujících buněk na středně velké mikrostrukturu (*medium roughness*). S pokračující dobou kultivace je proliferace buněk nejrychlejší na jemně mikrostrukturovaných površích. Zároveň s dobou kultivace roste koncentrace osteocalcinu a osteopontinu, které jsou markery diferenciaci osteoblastů. Při dlouhodobé kultivaci osteoblastů se na povrchu titanových slitin postupně vytváří typ adhezivitu CMS (angl. *cell/matrix/substrate*). Bezprostředně po nanosení osteoblastů buňky adhezují přímo na povrch materiálu (angl. *interface cell/material*) a teprve po několikadenní kultivaci na extracelulární proteinovou matrix (angl. *interface cell/extracellular matrix/material*).

Adherence a proliferace buněk může být ovlivněna i dalšími způsoby přípravy povrchu titanových slitin (Kawahara et al. 2004), které modifikuje biofyzikální okolí implantátu (Bartáková et al. 2009c). Například alkalicky a tepelně zpracovaný povrch příznivě ovlivňuje proliferaci buněk a aktivitu alkalické fosfázy (ALP) u Ti-Ta8-Ni3 slitin (Lee et al. 2012). Takto opracovaný povrch vytváří nanostrukturu (drsnot) vhodnou pro adhezivitu buněk, rovněž pro proliferaci a syntézu proteinů osteoblastů kultivovaných buněk, které se uchytí na povrchu slitiny (Lincks et al. 1998, Egusa et al. 2008). Další metodou, která příznivě ovlivňuje adhezivitu buněk díky vhodné nanostrukturu povrchu je tvorba nanotubulů TiO_2 , které se tvoří v průběhu anodového žíhání titanové slitivy. Například práce z poslední doby (Minaghar et al. 2013, Yu et al. 2010) uvádí, že nanostruktura o průměru jamek

tubulů v rozmezí 70-120 nm zvyšuje možnost přichycení preosteoblastů. Mezi moderní techniky úpravy povrchové struktury podporující adhezenci buněk je laserové opracování. Stelzer et al. (2009) ve své komplexní studii prokázali, že laserové opracování povrchu titanové slitiny podporuje adhezenci buněk a tvorbu extracelulární matrix. V jejich práci využili extrakt pokožkových buněk a zjistili, že jeho adherence je mnohem vyšší než u monomerů kolagenu I. Proto doporučují využívat extraktu pokožkových buněk jako testovací médium pro hodnocení a případné pokrývání kovových povrchů. Současné studie naznačují velký potenciál laserem upraveného povrchu slitin titanu, který vykazuje antibakteriální účinky (viz např. Shaikh et al. 2018). Studie z poslední doby srovnávají přilnutí osteoblastů k povrchu titanové slitiny s různou povrchovou úpravou. Do této skupiny patří například studie Hatamleh et al. (2018), která posuzuje mechanické leštění, pískování, ponoření do různých kyselin a elektrochemická anodizace, respektive jejich vliv na biokompatibilitu. Novým trendem je sledovat adhezenci buněk na laserově opracovaném povrchu do geometrických struktur - šestiúhelníků se speciálním mikrorelíefem (Li et al. 2020). Studován je i vliv působení UV záření na povrch slitin titanu, respektive UV-indukované tvorby povrchových biofilmů nežádoucích patogenů (Yamada et al. 2014). Zároveň expozice povrchu slitiny titanu UV zářením ovlivní vlastnosti tohoto povrchu a zlepší adhezenci proteinů. Do této skupiny prací patří např. studie Aried et al. (2018), která zjistila, že expozice povrchu Ti-6Al-4V slitiny UV zářením výrazně zlepšilo trombogenitu všech zkoumaných povrchů slitiny.

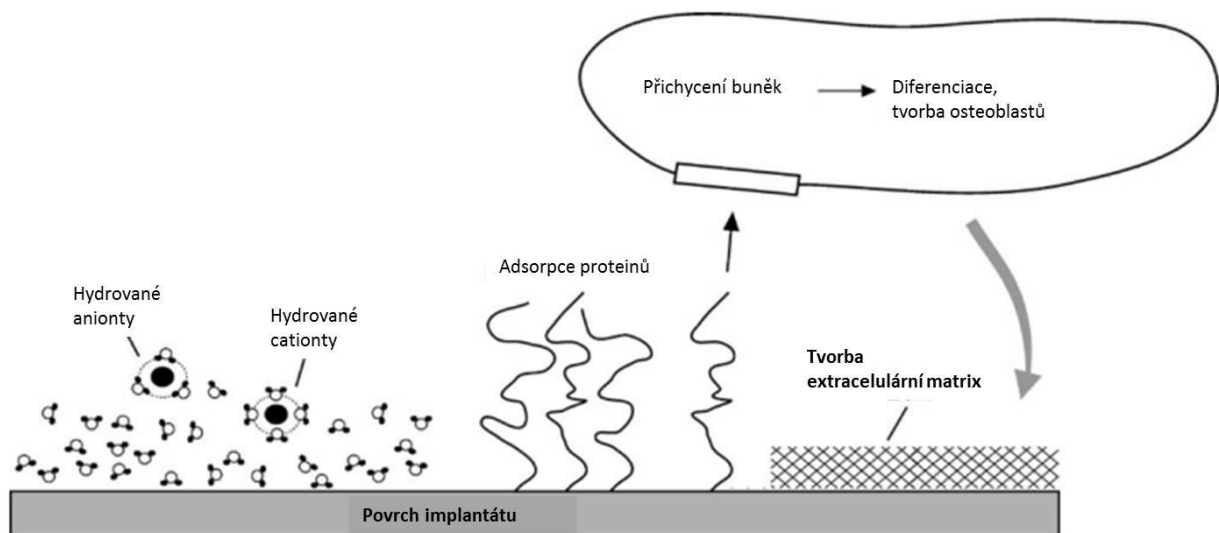
Materiálové charakteristiky slitiny mohou mít rovněž dopad na adhezenci buněk. Například podíl vanadu v titanové slitině může ovlivnit adhezenci buněk na její povrch. Studie (Eisenbarth et al. 2002) ukázala, že slitiny Ti-Al-Va s neupraveným i mikrostrukturovaným povrchem mohou v povrchové oxidované vrstvě obsahovat malé množství V_2O_5 , které je v přímém kontaktu s okolní tkání. Současná studie (Weiss et al. 2019) přináší poznatky o vlivu Mo a Nb na adhezivitu a proliferaci buněk na různě upravovaných površích slitin titanu. Zejména oxidované povrchy vykazují sníženou cytokompatibilitu. V poslední době se zkoumá vliv materiálových charakteristik slitiny na cytokompatibilitu a adhezenci buněk, a to ve srovnání se stejným, avšak povrchově povlakovaným materiálem. Příkladem takové studie z poslední doby je práce Burugapalli (2016), ve které je zkoumán vliv povlakování ZrO_2 nebo Zr na cytokompatibilitu slitiny Ti-35.5Nb-5.7Ta.



Obr. 26. SEM Snímky povrchové morfolofie vzorků Ti-6Al-4V se sadou šestiúhelníků různých délek stran (a-d): 150, 200, 250 a 300 µm. Detaily mikrostruktury povrchu (e-h) - upraveno dle Li et al. (2020).

7.3. Tvorba matrix

Tvorba matrix na povrchu implantátu je komplexní děj, který má několik dobře rozlišitelných fází. Bezprostředně po implantaci se na povrch vážou molekuly vody a vytvoří monovrstvu nebo dvojevrstvu. Poté se do této vrstvy dostávají a začleňují ionty Cl^- , Na^+ a Ca^{2+} . V dalším kroku se do této struktury vážou krevní proteiny a proteiny okolních tkání, jejichž adhezivitu může výrazně ovlivnit mikrostruktura povrchu implantátu (Puleo et Tomas 2006). Takto vytvořený biofilm poté určuje adhezenci buněk, neboť právě proteiny představují složku regulující rychlost adherence a množství adherovaných buněk. Rozhodující úlohu v tomto procesu mají integriny, specifické transmembránové receptory, které se vážou na příslušnou část proteinů, které jsou lokalizovány na povrchu biomateriálu, a rovněž také na cytoskelet okolních buněk přes jejich extra- a intracelulární domény (de Jonge et al. 2008).



Obr. 27. Schématické znázornění tvorby extracelulární matrix na povrchu titanového implantátu (upraveno dle de Jonge et al. 2008).

Práce z poslední doby uvádějí i testy tvorby biofilmů na povrchu materiálů na bázi titanu a jeho slitin. Podstatou těchto testů je „*in vitro*“ kultivace bakteriálních kmenů na vzorcích materiálů s různým chemickým složením a úpravou povrchu. Příkladem takové studie je práce (Sánchez et al. 2014), ve které byly použity bakterie s velmi rychlou kolonizací povrchů (*Streptococcus oralis* a *Actinomyces naeslundii*), časnou (*Veillonella parvula*), sekundární (*Fusobacterium nucleatum*) a pozdní kolonizací (*Porphyromonas gingivalis* and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*). Hodnocena byla rychlost tvorby biofilmu tvořeného bakteriemi na jednotlivých typech povrchu. Tento test prokázal, že tloušťka vytvořeného biofilmu, stejně tak jako tvorba extracelulární polysacharidové matrix a složení, respektive uspořádání bakteriálních buněk na povrchu byly závislé na zejména charakteru mikro povrchu jednotlivých testovaných materiálů. Tyto závěry jsou platné i pro současné studie zaměřené na faktory ovlivňující tvorbu matrix a biofilmu na povrchu různých slitin titanu (např. Reis Mello et al. 2019).

7.4 Biokompatibilita

Z hlediska biokompatibility můžeme implantační materiály využívané v lékařství rozdělit do tří následujících kategorií:

- (1) biotolerantní
- (2) bioinertní
- (3) bioaktivní

Materiály biotolerantní lze charakterizovat jako velmi vhodné při procesu vhojování implantátu. U těchto materiálů dochází k bezproblémové oseogenezi, k fibriogenezi. Bioinertní materiál nevykazuje žádnou biologickou aktivitu a bývá tkání zpravidla bezproblémově přijat. Oproti biotolerantním se bioinertní materiály vhojují bez vzniku vazivové vrstvy. To znamená, že nedochází k oseogenezi distanční, ale ke kontaktní oseointegraci (Šimůnek 2008). Chemicky čistý Ti a slitiny titanu patří k typickým představitelům bioinertních materiálů. Bioaktivní materiály zdůrazňují vyšší stupeň biokompatibility dosažený pomocí uvolňování kalciových a fosfátových iontů z kosti v okolí implantátu. V tomto případě dochází k vazební oseogenezi. Mezi materiály tohoto typu patří bioaktivní titan (přehledně viz např. Klusák 2010). V případě tohoto materiálu se jedná o úpravu povrchu implantátu formou nástřiku (např. nástřik plazmy, angl. *plasma spraying*) nebo formou chemického ošetření titanu v alkalickém prostředí s následným rozrušením pasivační oxidické vrstvy a aktivním rozpouštěním kovu. Výsledným efektem interakce s vodným prostředím je vznik hydratovaného mikro- až nanoporézního oxidu titaničitého TiO₂ (detailněji viz 9.2.).

Jak $\alpha + \beta$, tak β slitiny titanu jsou všeobecně považovány za biokompatibilní. Existují však rozdíly v biokompatibilitě jednotlivých slitin, a to zejména díky příměsovým prvkům stabilizujícím β fázi. Jde o ovlivnění biokompatibility způsobené jak přítomností či absencí některého z prvků, tak jejich celkového množství ve slitině. Ve srovnání s $\alpha + \beta$ titanovými slitinami používanými pro biomedicínské aplikace v současné době jsou β slitiny titanu výhodnější z mechanické vlastnosti. V těchto β slitinách však ne všechny prvky stabilizující vlastnosti v titanové slitině jsou vhodné z hlediska biomateriálových vlastností a biokompatibility, a to zejména díky korozi, opotřebením a následnému uvolnění těchto legujících prvků do okolní tkáně. Touto problematikou se detailně zabývali např. Eisenbarth et al. (2004), a to pomocí detailních „*in vitro*“ testů biokompatibility. Stanovili pořadí vhodnosti příměsových prvků (od nejvíce po nejméně vyhovující), a to: tantal, zirkon, hliník, molybden.

V současné době se ve výzkumu biokompatibility titanu a jeho slitin uplatňuje celá řada testů, které hodnotí vhodnost použití jednotlivých slitin pro biomedicínské aplikace. Na našem pracovišti jsme v rámci Stomatologického výzkumného centra hodnotili velké množství slitin a využívali standardizovaný jednotný postup (viz např. Bartáková et al. 2009c), který sestával z těchto testů: zkoušky cytotoxicity (test růstu buněk), test adherence buněk, dynamický dilatační test, test tolerance v monovrstvě a v suspenzi. Mezi zkoušky genotoxicity patřily test indukce atypických mitóz, test indukce chromozomálních aberací v buněčné linii a v periferních lymfocytech člověka. Jednotlivé testy jsou stručně charakterizovány v následujícím přehledu.

Test růstu buněčné suspenze ve výluhu testovaného materiálu

Tento test zjišťuje toxicitu výluhu testovaného materiálu. Je-li zjištěna závislost mezi koncentrací testovaného výluhu a rychlostí růstu buněk, pak je prokázána i toxicita.

Test adherence buněk k testovanému materiálu

V tomto testu se na povrch testovaného materiálu vysadí 5000 buněk. Počet buněk, které přilnou k materiálu, je porovnán s hodnotou počtu buněk na skleněném standardu a následně se jejich poměr vyjádří a hodnotí v procentech.

Dynamický dilatační test

Cílem tohoto testu je stanovit do jaké míry daný materiál ovlivňuje přilnavost buněk ke skleněnému substrátu a rozšíření jejich membrán. Tento test se provádí za přítomnosti výluhu materiálu a vypovídá o schopnosti buněk tolerovat tento výluh.

Test tolerance buněk v monovrstvě k testovanému materiálu

Principem tohoto testu je přidání pevného vzorku testovaného materiálu do narostlé buněčné kultury. Cílem testu je zjistit, zda se v důsledku přítomnosti testovaného materiálu vytváří zóna odumírajících buněk. Určuje se rovněž i její případná velikost. Výsledek tohoto testu vypovídá o míře tolerance rostoucích buněk k pevnému testovanému materiálu.

Test tolerance buněk v suspenzi k testovanému materiálu

Cílem testu je zjistit, zda se při adhezí buněk vytvoří kolem testovaného materiálu inhibiční zóna (zóna zábrany růstu). Výsledek testu pak kvantifikuje míru tolerance testovaného materiálu v kritických buněčných fázích.

Test indukce atypických mitóz

Cílem tohoto testu je stanovit zda výluh z testovaného materiálu může způsobit změny na chromozomech, a to při dlouhodobé kultivaci. Výsledek testu pak vypovídá o mutagenních vlastnostech materiálu.

Test indukce chromozomálních aberací v buněčné linii

V tomto testu se využívá klastogenního efektu, jenž vyvolává zlomy chromozomů. V tomto testu jsou spočteny strukturální a numerické aberace. Pokud testovaný materiál způsobí tvorbu více než 5% chromozomálních aberací z celkového počtu měření, pak je hodnocen jako nevhodný.

Test indukce chromozomálních aberací v periferních lymfocytech člověka

V tomto testu je buněčná suspenze naočkována na krycí skla, případně jiný vhodný materiál. V testu je hodnocen počet metafází, počet vícejaderných buněk, případně přítomnost mikrojader, počet vícepolárních dělení a je stanoven mitotický index.

8. Oseointegrace dentálních implantátů

Dentální implantáty z titátu a jeho slitin mají vhodné materiálové charakteristiky ve vztahu k oseointegraci (přehledně viz např. Sáenz de Viteri et Fuentes, E. (2013). V některých specifických případech však může dojít k nedostatečné oseointegraci dentálního implantátu. Nedostatečná schopnost integrace povrchu implantátu s přiléhající kostí vede k mikropohybům těla implantátu a jeho postupnému nežádoucímu uvolnění (Viceconti et al. 2000). Mezi nejčastější příčiny nedostatečné oseointegrace a uvolnění dentálního implantátu patří:

1. Reakce implantátu s cizím tělesem jako jsou například úlomky z implantátu způsobené degradací či opotřebením, popřípadě uvolněním toxických látek z implantátu.
2. Poškození nebo léze na kosti způsobené mechanicky.
3. Působení mimořádných nebo nefyziologické podmínky na kost, jako je například tlak tekutiny nebo pohybem proti tělu implantátu.
4. Změna mechanických signálů podporujících zahuštění kostní tkáně. Změna napětí v kosti.

Proto je dostatečná oseointegrace důležitým aspektem pro využití titanu a jeho slitin jako materiálu dentálních implantátů. Dobrá oseointegrace implantátu zajistí bezpečnost a účinnost implantátu v průběhu jeho životnosti. V dřívějších studiích bylo prokázáno, že zvýšení mechanického kontaktu kostní tkáně a povrchu implantátů může být dosaženo zvýšením drsnosti nebo pomocí jiných povrchových úprav (Carlsson et al. 2004). I když přesné molekulární mechanismy podpoření rychlosti růstu kostní tkáně v bezprostředním okolí dentálního implantátu nejsou dosud známy, je zřejmé, že chemické a fyzikální vlastnosti povrchu hrají hlavní roli v interakci mezi implantátem a okolní tkání, a to především prostřednictvím adherence buněk na povrch implantátu, jejich růstovým potenciálem (Junker et al. 2009, Kim et al. 2005, Vlacic-Zischke 2011).

Pro studie oseointegrace dentálních implantátů bývají často využívány studie na zvířatech, kterým bývají implantáty aplikovány a poté je oseointegrace sledována nejrůznějšími metodami. Příkladem naší práce uskutečňované na Stomatologické klinice v Brně jsou testy na prasatech, kterým byly ve spolupráci s japonskými kolegy implantovány dentální implantáty z titanových β slitin (Ti38-Nb6-Ta). Následně byly v tomto experimentu sledovány pomocí mikroskopických metod antikorozi charakteristiky a charakteristiky biokompatibility implantátu (Prachár et al. 2014). Celkově můžeme testy oseointegrace dentálních implantátů rozdělit do několika skupin, a to podle převažujícího typu analýzy a sledovaných parametrů:

1. „Push-out“ test
2. Mikro CT (stanovení objemu kosti)
3. Enzymová a imunologická histochemie
4. Histomorfometrická analýza (plocha kosti, délka kontaktu s kostí apod.)
5. Značení (barvení) fluorochromy (např. calcein, alazarin, rolitetracylin)

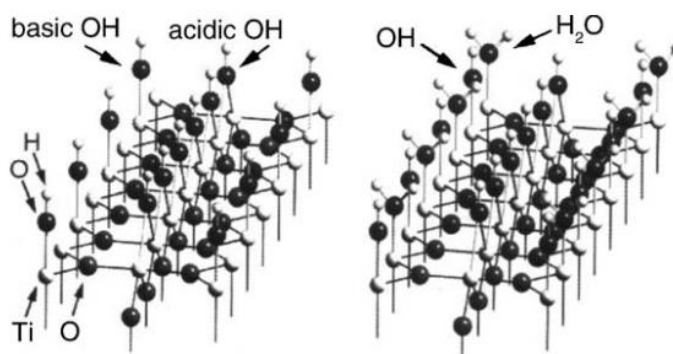
Povrchová úprava implantátu může výrazně zvýšit stupeň oseointegrace. Například magnetové naprašování fosforečnanu vápenatého (CaP), který vytváří povlak na povrchu dentálního implantátu, vedlo v 8 týdenním experimentu k výrazně lepší fixaci implantátů v kosti experimentálních krys (Alghamdi et al 2013). Rovněž složení slitiny titanu a její materiálové vlastnosti mohou ovlivnit oseointegraci dentálních implantátů podobně, jak je uváděno ve studii Sáenz de Viteri et Fuentes (2013). V současné době jsou intenzivně studovány postupy, jak podpořit úspěšnou oseointegraci dentálních implantátů. Jde například o experimenty podporující polarizaci osteoklastů. Studie Nakayama et al. (2014) ukázala, že polarizované osteoklasty tvoří aktinové kroužky, které podporují rychlou oseointegraci.

8.1. Vytváření vrstvy TiO₂

Na povrchu titanu či titanových slitin se po aplikaci implantátu/konstrukce do dutiny ústní vytváří tenká vrstva (3-7 nm) amorfních nanokrystalů oxidu titanu TiO₂ (Liu et al. 2004). Ta je velmi důležitá pro uchycení implantátu do kostní tkáně, neboť vytváří vhodné podmínky pro adhezii buněk. Na zvlhčeném povrchu TiO₂ se díky přítomnosti OH⁻ tvoří povrchový náboj, který podporuje tvorbu hydroxidových komplexů, a to jak kyselých, tak alkalických. Hydrolytické procesy, které usnadňují tvorbu TiO₂ se dají vyjádřit dvěma základními rovnicemi.



Reakce (1) vede k tvorbě záporných nábojů na povrchu, zatímco reakce (2) vytváří pozitivní náboj. Schematické znázornění strukturálně vytvářeného TiO₂ na povrchu se dvěma typy hydroxidů je znázorněn na Obr. 28.



Obr. 28. Vytváření vrstvy TiO₂ na povrchu titanu nebo slitiny titanu – schematické znázornění role OH iontů. Upraveno dle Textor et al. (2001).

8.2. Povlakování povrchu pro podporu oseointegrace

Jedním z moderních trendů dentální implantologie jsou povlakované implantáty, které jsou předmětem širokého uplatnění jak ve výzkumu, tak v klinické praxi. Kromě dnes již „klasických“ materiálů jako je povlak z hydroxyapatitu (HA) a zirkonia (Zr) – viz např. Seydlová et al. (2007) se v současné době využívá široká škála materiálů, kterými se povlakují implantáty z chemicky čistého titanu i z titanových slitin. Jako příklad může sloužit nová úprava dentálních implantátů využívající titanové β slitiny Ti-35Nb-6Ta a povlakové vrstvy DLC (uhlovodíková vrstva dopovaná titanem) – Hnilica et al. (2010). Tato struktura je vhodná k zajištění dokonalé dlouhodobé oseointegrace i u rizikových pacientů (Vaněk et al. 2011a). Dalšími materiály, které se osvědčily pro povlakování dentálních implantátů z titanu a slitin titanu, jsou keramické povlaky nitridem titanu (TiN) – Vaněk et al. (2011b) a povlak nitridem Zirkonia (ZrN) – např. Kabátová et al. (2009). Nejčastěji využívané povlakové materiály jsou shrnuty v práci Osman et Swain (2015) a uvedeny v následující tabulce (tabulka 7).

Hydroxylapatite (HA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
Tricalcium phosphate (TCP)	$\alpha, \beta, \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$
Fluorapatite (FA)	$\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$
Tetracalcium phosphate	$\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_9$
Calcium pyrophosphate	$\text{Ca}_4\text{P}_2\text{O}_7$
Brushite	$\text{CaHPO}_4, \text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Bioglasses	$\text{SiO}_2\text{-CaO-Na}_2\text{O-P}_2\text{O}_5\text{-MgO}$
Aluminium oxide	Al_2O_3
Zirconium oxide	ZrO_2

Tabulka 7. Přehled povlakových materiálů - upraveno dle Osman et Swain (2015) na základě údajů Lacefield (1998).

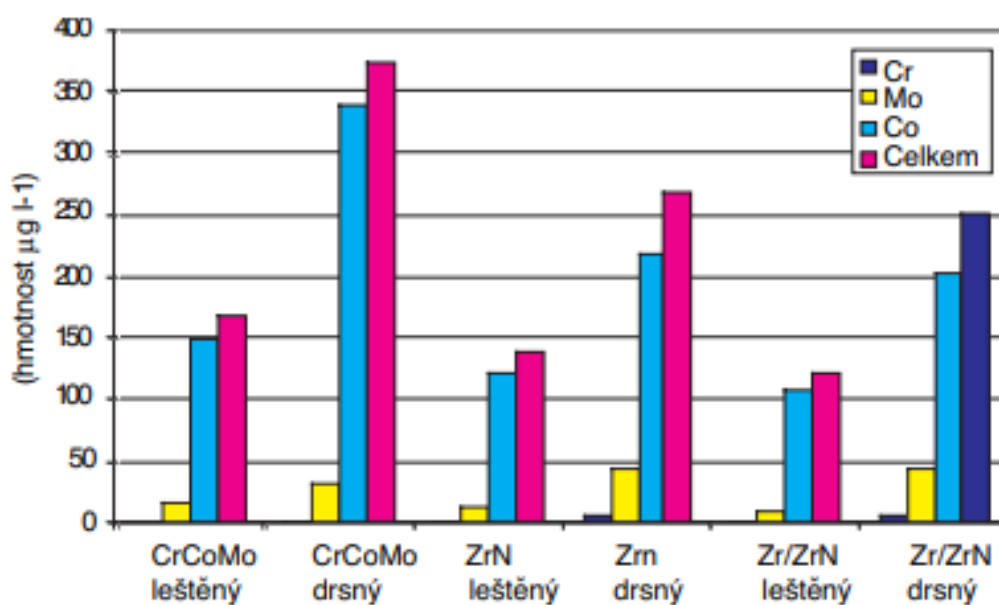
V současné době se testují povlakové materiály, které vykazují vhodné vlastnosti pro podporu biokompatibility titanových slitin. Jde zejména o grafen a jeho deriváty, včetně oxidu (GO) a redukováného oxidu (rGO). Li et al. (2017) testovali povlak rGO na slitinách Ti6Al4V a sledovali vliv povlaku rGO na růst a osteogenní diferenciaci buněk MC3T3-E1. Výsledky buněčných testů prokázaly stimulaci jak adheze, tak proliferace buněk na Ti-6Al-4V implantátech. Substrát rGO-Ti je tedy velmi biokompatibilní a vykazuje osteoinduktivní potenciál. V návazné studii (Li et al., 2018) autoři uzavírají že rGO je potenciálním povlakovým materiálem pro podporu osteogenních vlastností zubních implantátů ze slitin titanu.

Současným trendem je dosažení co nejtenčí vrstvy povlaku na povrchu implantátu tak, aby byly zachovány příznivé podmínky pro oseointegraci a byla snížena možnost adheze nežádoucích bakteriálních povlaků na povrchu (Mandracci et al. 2016). Pro povlakování hydroxyapatitem je v současné době technologicky dosažitelná tloušťka vrstvy v desítkách nanometrů (typicky 20 nm), jejíž vlastnosti jsou navíc optimalizovány pomocí různých aditiv v průběhu nanášení vrstvy (viz např. Abdel-Aal et al. 2013). V budoucnu se díky pokročilým technologiím dá očekávat další ztenčení povlakové vrstvy na povrchu implantátu, stejně tak jako vývoj dalších povlakových materiálů.

Povlakování nitridy však může vést k nežádoucím účinkům, tedy například vyplavování iontů kovů ze základní slitiny, na kterou je nitrid nanesen. Naše studie (Bartáková et al. 2007) se zaměřila na vyhodnocení chemické stability modelové konstrukce subperiostálního implantátu z chromkobaltové slitiny povlakované ZrN pomocí technologie PVD (Physical Vapour Deposition) metodou magnetotronového naprašování. Cílem bylo zjistit, kolik iontů kovu se vyloučí do fyziologického roztoku při dlouhodobé expozici. Jednotlivé konstrukce modelů subperiostálních implantátů z chromkobaltové slitiny CrCo (Co 60,5 %, Cr 28 %, W 9 %) byly využity v těchto variantách povrchu: drsný a leštěný, dále konstrukce drsné a leštěné povlakované ZrN a konstrukce drsné a hladké povlakované multivrstvou Zr/ZrN (obr. 28). V naší studii se potvrdilo, že při zdrsňelém povrchu se uvolňuje více iontů než při povrchu leštěném. Porovnání povlaku u drsného implantátu s nepovlakovaným leštěným implantátem přineslo zjištění, že povlak ZrN snižuje celkovou hmotnost uvolněných iontů o 28 %, v případě multivrstvy ZrN o 32 %. Povlakování keramickou vrstvou ZrN nebo multivrstvou Zr/ZrN přineslo významné snížení uvolňování iontů chromkobaltové slitiny (Obr. 30) oproti stavu bez povlakování. Tím byla prokázána dokonalá biokompatibilita povlaku ZrN.



Obr. 29. Nepovlakovaný implantát: (A) leštěný, (B) drsný, implantát povlakovaný vrstvou ZrN: (C) leštěný, (D) drsný. Upraveno dle Bartáková et al. (2007).



Obr. 30. Vyplavování iontů Cr, Mo, Co ve fyziologickém roztoku u implantátů povlakovaných ZrN. Převzato z Bartáková et al. (2007).

9. Klinické studie

Krátkodobé klinické studie se zaměřují na sledování úspěšnosti dentálních implantátů za neobvyklých či málo častých situací. Jde například o zavedení dentálního implantátu do místa po extrahovaném řezáku (nestandardně orientovaném) a sledování jeho další funkce při běžné zátěži v dutině ústní (Cardaropoli et al. 2007), úspěšnost oseointegrace dentálního implantátu, jehož povrch byl upraven speciální laserovou technikou (Pecora et al. 2009). Velmi cenné jsou zejména dlouhodobé klinické studie, které se zaměřují na úspěšnost zavedení a funkce dentálních implantátů, a to pomocí opakovaného sledování řady výzkumných charakteristik a klinických parametrů. Příkladem takové

dlouhodobé studie z poslední doby je práce Jemt et al. (2014), která sledovala uvedené parametry u implantátů zavedených v rámci jednoho pracoviště po dobu 27 let.

V poslední době se dlouhodobé klinické studie zaměřují na dosud méně prozkoumané aspekty dentální implantologie využívající titan a jeho slitiny. Příkladem je rozsáhlá studie alergie na titan (Sicilia et al. 2008), ve které autorský kolektiv zkoumal 1 500 dentálních implantátů a sledoval alergické projevy u pacientů. Studie udává v 0,6 % procentech případů alergickou reakci na titan, a to zejména ACRG (angl. *Allergy Compatible Response*). Jednoznačný mechanismus vzniku alergie na Ti nebyl dosud identifikován. Siddiqi et al. (2011) uvádějí, že přestože počet případů vykazujících hypersenzitivitu na titan roste, epidemiologické údaje o jejím výskytu a analýza alergických reakcí souvisejících s titanem stále chybí. Autoři potvrzují, že u pacientů s hypersenzitivitou vůči Ti by tato alergie mohla hrát klíčovou roli při selhání vhojování implantátu. Výše zmíněná studie (Sicilia et al. 2008) rovněž zjistila, že vyšší pravděpodobnost pozitivní alergické reakce je u pacientů, vykazující pooperační typ ACRG. Jiné studie (např. Oliva et al. 2010) potvrzují nutnost dalšího výzkumu složení implantátů a dopadů zaváděcích technik u pacientů alergických na titan.

10. Nové směry ve výzkumu, klinické praxi

Matematické modelování napětí v implantátu a okolních tkáních

Pro výpočet mechanické interakce mezi dentálním implantátem a kostní tkání, zejména rozložení redukovaného napětí vznikajícího díky působení žvýkacích sil se využívá deformačně napěťové analýzy. Matematické simulace se uskutečňují především pomocí konečných prvků (angl. *Finite Elements Method – FEM*) – přehledně viz např. Marcián et al. (2013). Počátečním krokem je vytvoření 3D modelu dentálního implantátu a segmentu či celé čelisti. V dalším kroku se parametrizují materiálové vlastnosti implantátu, kostní tkáň a případně gingivy a základní zatěžovací podmínky celé soustavy, tedy síly působící při funkčním stisku čelisti. Zpravidla se pro materiál dentálního implantátu stanovují dva základní parametry, a to Youngův modul pružnosti (E) a Poissonovo číslo (μ). Stejně parametry se určují pro kortikální a spongiózní kostní tkáň. Výsledkem simulace jsou potom vizualizace rozložení hodnot redukovaného či ekvivalentního napětí v těle implantátu a okolní kostní tkáni. Tyto výsledky mohou být využity při volbě vhodného tvaru implantátu, dimenzování jeho šroubové části, optimalizaci místa a techniky zavedení dentálního implantátu (např. van Staden et al. 2008, Guan et al. 2011). Rovněž jsou využitelné pro predikci míst v okolí implantátu vystavených vysokému namáhání (Qian et al. 2010), a tedy potenciální resorpci kostní tkáň (Kitamura et al. 2005), která je potvrzována klinickými studii uskutečňovanými souběžně s matematickým modelováním (Himmlová et al. 2005). Na našem pracovišti se matematická simulace využívá například pro výpočet napětí při zatížení kosti dolní čelisti snímatelnou náhradou ukotvenou na solo pilíři (Bartáková et al. 2003), či odhad vlastností periodontia (Borák et al. 2011).

Zvyšování podílu kyslíku ve slitinách titanu

Zvýšení obsahu zušlechťujících prvků (tj. O a N) ve slitinách titanu může být prospěšné pro konečné mechanické vlastnosti slitiny, protože výrazně zvyšuje jejich pevnost v tahu a nemá výrazný vliv na Youngův modul pružnosti (nedochází k významnému zvýšení, viz např. Geng et al. 2011). Zvýšení koncentrace kyslíku ve slitině titanu potlačuje nárůst Youngova modulu pružnosti díky snížení

množství α'' a ω fází ve slitině (Tane et al. 2011). Naopak, zvýšení podílu obsahu kyslíku ve slitině titanu vede ke zvýšení hodnot Youngova modulu (např. Martins, et al. 2014, Lei et al. 2018).

Na základě současných výsledků z naší poslední studie (Bartáková et al. 2019) lze shrnout vliv kyslíku na mechanické vlastnosti titanových (Ti-35Nb-6Ta-O, Ti-Nb-Ta-Sn-O, Ti-35Nb-2Zr-O) slitin takto:

(1) Přidání kyslíku do slitin β -titanu vede k vymizení martenzitické fáze α'' Ti v testovaných vzorcích slitiny Ti-35Nb-2Zr.

(2) Žíhání slitin v 450 °C / 8 h způsobilo významné zlepšení pevnosti v tahu (z hodnoty 800 a 465 MPa na 985 MPa) a zároveň vedlo k významnému zvýšení hodnot Youngova modulu pružnosti (na 75 GPa) ve slitině Ti-35Nb-6Ta. Výraznějšího zvýšení pevnosti v tahu na 1150 MPa pro tuto slitinu lze dosáhnout přidáním 0,4% (hmotnostního procenta) kyslíku společně s nižším zvýšením Youngova modulu pružnosti (na 62 GPa).

(3) Slitina Ti-25Nb-4Ta-8Sn má nejnižší hodnotu Youngova modulu pružnosti ze všech studovaných slitin (45 GPa) a dosahuje hodnotu pevnosti v tahu 820 MPa. Přídavek 0,4% hm. (hmotnostního procenta) kyslíku vede ke zvýšení pevnosti na hodnotu 1150 MPa při zachování Youngova modulu pružnosti 68 GPa.

(4) Přidání 0,4% (hmot.) kyslíku do slitiny Ti-35Nb 2Zr vede k nejvýraznějšímu zvýšení pevnosti v tahu mezi všemi studovanými slitinami (z 810 MPa na 1225 MPa), zatímco Youngův modul pružnosti se zvyšuje z 53 GPa na 62 GPa.

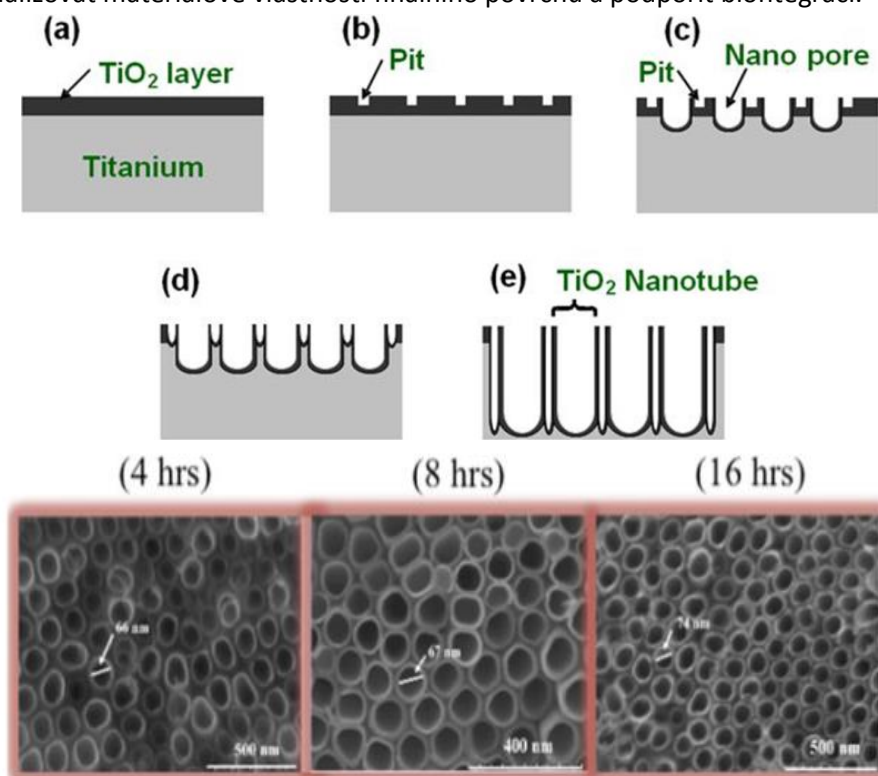
Využití nanotechnologií pro zlepšení oseointegrace

Nanotechnologie mohou být v budoucnu prospěšné pro získání dostatečné oseointegrace dentálního implantátu. Pro přímý kontakt mezi dentálním implantátem a kostní tkání je žádoucí biomechanické zakotvení implantátu v kosti oproti méně vhodnému zapouzdření ve vazivové tkáni. V současné době jsou nanotechnologie ve stále se zvyšujícím rozsahu využívány pro povrchovou úpravu dentálních implantátů. Dalším postupem pro zlepšení oseointegrace je aplikace tenké vrstvy fosforečnanu vápenatého (CaP) pomocí nástřiku nanokrystalů. Tyto bioaktivní nanokrystalové zvrstvení zvětší aktivní kontaktní plochu, a tím mohou ovlivnit rychlost a kvalitu oseointegrace (Lavenus et al. 2010). „*In vivo*“ studie prokázaly zvýšenou tvorbu kostní tkáně v okolí implantátů a vyšším stupněm kontaktu s povrchovou nanostrukturou. Tyto účinky byly přisuzovány zejména zvýšené aktivitě osteoblastů a mezenchymálních kmenových buněk. Nanopovrch implantátu podporuje tvorbu a uchycení aktinu cytoskeletu. V klinické praxi se využívají implantáty, u kterých se nanostruktura vytváří na již existující mikrostruktuře povrchu.

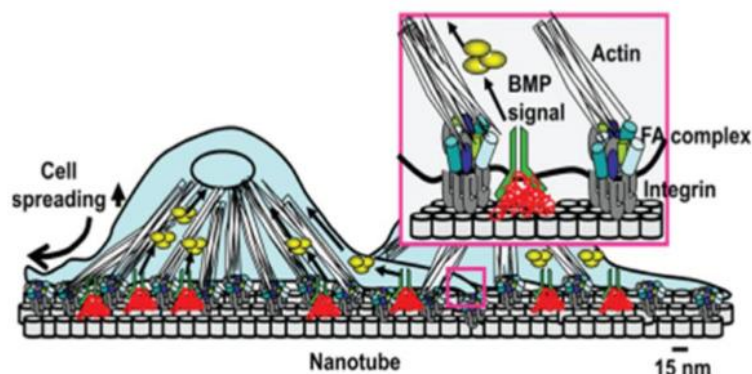
Nanotubuly titanu

Nanotubulární titan je v současné výzkumné i klinické praxi testován z mnoha aspektů, které determinují úspěšnost zavedení dentálního implantátu s tímto. Studie z poslední doby ukazují, že tento typ povrchové úpravy vykazuje velmi dobré parametry z hlediska biokompatibility dentálního implantátu a zároveň antimikrobiální aktivity povrchu implantátu (Mei et al. 2014). Antimikrobiálního

účinku je dosaženo díky iontům Ag dostupným na povrchu Ti nanotubulů, které však ve vyšších koncentracích mohou negativně ovlivnit biokompatibilitu. Současné „*in vitro*“ studie se proto zaměřují na optimalizaci antimikrobiálního účinku při současném zachování vysokého stupně biokompatibility dentálních implantátů s povrchem tvořeným nanotubulárním titanem. Testy z posledního období se zabývají zejména optimální velikostí průměru pórů nanotubulu titanu s cílem podpořit oseointegraci. Wally et al. (2015) v přehledné studii této problematiky uvádějí, že optimální průměr je v rozmezí 200 až 1000 μm . Kromě velikosti pórů nanotubulárního titanu má pro biokompatibilitu a oseointegraci velký význam rovněž 3 D uspořádání povrchu (geometrie pórů). Touto problematikou se detailně zabývá například Markhoff et al. (2015), který ve své studii hodnotí životaschopnost a proliferaci lidských osteoblastů na struktuře porézního Ti-6Al-4V v závislosti na různém 3 D uspořádání geometrie pórů (krychlové, diagonální, pyramidální). Tato studie uvádí, že nejlepší buněčné aktivity a adheze bylo dosaženo v případě pyramidové konstrukce s velikostí pórů 400 až 620 μm pórů a 75% pórovitosti. V současné době se výzkum nanotubulárního titanu jako dentálního materiálu dynamicky vyvíjí a jsou studována i další návazná témata související s jeho aplikací do dutiny ústní. Příkladem jsou práce zaměřené na adhezenci buněk bakterií *Streptococcus sanguinis* a *Streptococcus mutans* – viz například Narendrakumar et al. (2015). V oblasti výzkumu materiálu se uplatňují nejrůznější povlakové materiály a povlakovací techniky aplikované na povrch nanotubulů titanu. Příkladem tohoto přístupu je například studie Radtke et al. (2019), která je zaměřena na povlakování nanokompozitním hydroxyapatitem, nanášeným v tenké (atomární) vrstvě s cílem optimalizovat materiálové vlastnosti finálního povrchu a podpořit biontegraci.



Obr. 31. Schématické zobrazení postupu tvorby nanotubulů na povrchu Ti pokrytého vrstvou TiO_2 . Jednotlivé kroky zahrnují: (a) úvodní nanovrstva TiO_2 , (b) prvotní tvorba otvorů díky působení anodizace (konstantní elektrické napětí), (c) S délkou doby anodizace se tvoří větší, tj. širší a hlubší otvory, (d) jak nanopóry, tak otvory procházejí fází tvorby stěn, (e) zcela vyvinuté nanotubuly utvořené na povrchu Ti. Převzato z Brammer et al. (2011) – horní část obrázku, Shokufar (2010) – dolní část obrázku.



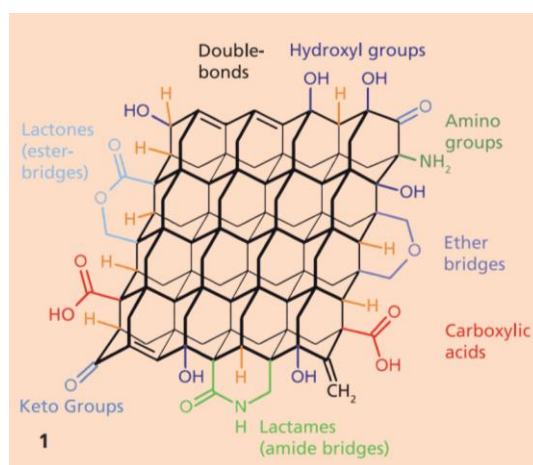
Obr. 32. Schématické zobrazení usnadněného přichycení buněk na povrch nanotubulárního titanu.

Nanotubuly uhlíku

Nanotubulární uhlík (CNTs) má vynikající chemickou odolnost a mechanické vlastnosti. Využití CNTs biomedicínských aplikacích si v posledních letech získává značnou pozornost jak v oblasti výzkumu dentálních implantátů, tak v návazných biomedicínských studiích. Například práce (Jung et al. 2014) se zaměřila na úpravu povrchu tvořeného TiO₂, respektive nanotubulárním titanem. Takto modifikovaný povrch byl dále elektroforeticky ovlivněn tak, že se na povrchu vytvořila další vrstva nanotubulárního uhlíku (CNTs). Studie uvádí, že nanotubuly uhlíku pomáhají zlepšit biologickou kompatibilitu tohoto povrchu a uzavírá, že tento typ modifikace povrchu je velmi vhodný pro biomedicínské aplikace.

Povlakování nanodiamanty

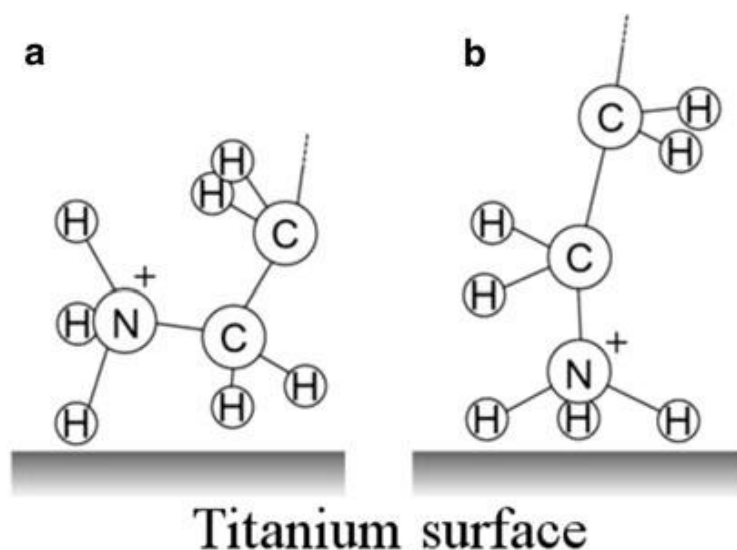
Současný technologický rozvoj umožňuje povlakovat dentální materiály na bázi titanu pomocí nanodiamantové vrstvy. Touto problematikou se zabývá pracoviště *Max Bergmann Centre for Biomaterials* (Technická univerzita Drážďany) studující biomedicínské aplikace detonačních nanodiamantů (DNDs – *detonation nanodiamonds*). Detonační nanodiamanty jsou nanočástice na bázi uhlíku. Kromě typických diamantových vlastností, jako je vysoká tepelná vodivost a extrémní tvrdost, mají tyto nanočástice různé funkční skupiny na svém povrchu, které umožňují biologickou adhezivitu. Navíc jsou netoxické a vysoce biokompatibilní (Shaikh et al. 2015).



Obr. 33. Schématické znázornění povrchu nanodiamantové vrstvy na titanovém materiálu s vyznačenými funkčními skupinami podporujícími biokompatibilitu (převzato z Shaik et al. 2015).

Podpora vzniku matrix na povrchu implantátu (biofunkční molekuly)

Tento současný trend bývá označován jako podpora biokompatibility titanového implantátu pomocí biofunkčních molekul (Li et Kawashita 2011). Například charakteristická molekula polyetylenglykolu (PEG) zakončená v obou termálních oblastech skupinou NH_2 ($\text{NH}_2\text{-PEG-NH}_2$) byla vyzkoušena tak, aby bylo dosaženo žádoucí modifikace povrchu titanového implantátu. Jestliže byl implantát ponořen do $\text{NH}_2\text{-PEG-NH}_2$, vznikla náhodná depozice molekul na povrchu. Vhodnější orientace molekul bylo dosaženo pomocí elektrolytické depozice. Molekuly uspořádané do tvaru „U“ zvýšily biofunkčnost celého komplexu (Tanaka et al. 2010).



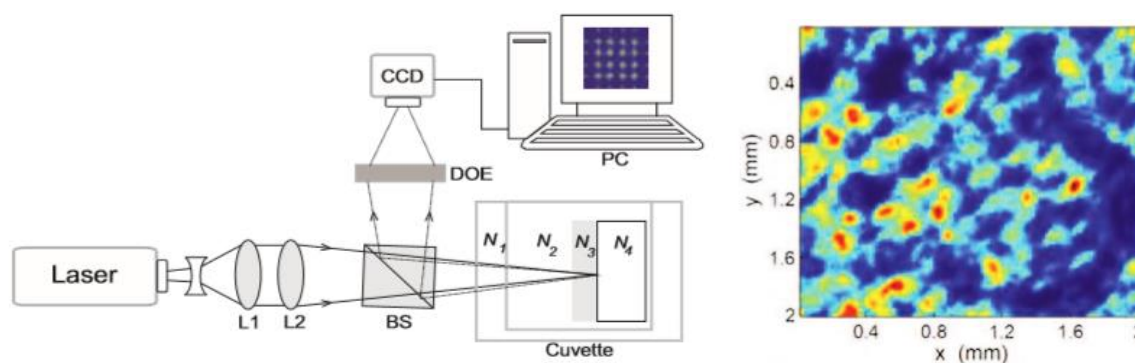
Obr. 34. Navrhovaná orientace modelové molekuly $\text{NH}_2\text{-PEG-NH}_2$ na povrchu titanu při ponoření (a) a při použití elektrolytické depozice (b). Koncové části molekuly $\text{NH}_2\text{-PEG-NH}_2$ jsou orientovány kolmo na povrch titanu a tvoří tvar „U“ v případě elektrolytické depozice, což usnadňuje tvorbu matrix (převzato z Li et Kawashita 2011).

Povlakování pomocí katodické polarizace

Lyngstadaas a Ellingsen (2002) navrhli použít proces polarizace biomolekul pro jejich lepší adhezenci na povrch materiálu implantátu s cílem stimulovat vhojení implantátu do kostí. Vhodnou biomolekulou, která by mohla být polarizací připojena k povrchu implantátu, se ukázal být derivát sklovinné matrix (EMD, Emdogain). Tato biomolekula je slibným kandidátem pro povlakování, protože obsahuje hlavně amelogeniny, které jsou hlavní složkou mezibuněčné hmoty skloviny (Grandin et al. 2012). Kromě toho bylo zjištěno, že hlavní komponenty v EMD mají bipolární vlastnosti, které jsou podmínkou pro použití v procesu elektropovlakování (např. Zilm et al. 2011). Proto se v poslední době provádí velké množství experimentálních studií zkoumajících vlastnosti EMD, zejména technikou proveditelnosti bioaktivní povrchové úpravy pomocí polarizace této molekuly. Například Frank et al. (2014) ukázali, že pomocí katodové polarizace se vytvoří modifikovaná povrchová bioaktivní vrstva, která vykazuje vhodné vlastnosti pro přichycení osteoblastů (MC3M3-E1 buněk) a podporuje zvýšenou expresi genu Coll-1.

Adsorpce oligonukleotidů a fibrinogenu

Pro studie adsorpce oligonukleotidů a fibrinogenu (Tuononen et al. 2008, Silvennoinen et al. 2010), na kterých jsme jako členové brněnského pracoviště (Stomatologické výzkumné centrum LF MU) spolupracovali, byly použity vzorky z technicky čistého titanu, různé titanové slitiny, Timetal 550 a Timetal 21SR. Tyto materiály měly navíc různě opracovaný povrch: leštěný nebo pískovaný brusivem o zrnitosti 22, 60 a 120. Tyto typy povrchů pak byly ještě upraveny leptáním bez povrchové ztráty materiálu a s povrchovou ztrátou materiálu 0,03 mm. Sledovali jsme adsorpci fibrinogenu na vzorcích uhlovodíkových povlaků obohacených titanem pomocí plazmového napařování (plasma - enhanced chemical vapour deposition). Drsnost povrchu byla měřena pomocí AFM mikroskopu Explorer III (Veeco, Santa Barbara, Kalifornie, USA) ve spolupráci s Českým metrologickým ústavem v Brně (laboratoř Dr. Klapetka). Lidský plazmatický fibrinogen (LPF), frakce I, typ III, byl zakoupen od firmy Sigma a rozpuštěn ve fosfátovém pufru s 0,136 M citrátem sodným, výsledná koncentrace LPF byla 500 nM. Oligodeoxynukleotid–homopurin (AAG)12 a homopyridin (TTC)12 byly získány od firmy Thermo Electron (Ulm, Německo) a rozpuštěny v 0,3 M NaCl + 50mM Na₂HPO₄ (pH 8,3). Koncentrace oligodeoxynukleotidů byla 5 μM. Z výsledků získaných pomocí optického difrakčního senzoru (DOE) a elipsometrie plyne, že na povrch titanu se nejlépe adsorbují jednořetězové pyrimidinové oligodeoxynukleotidy (ODN). Dvojšroubovicové ODN se na titanovém povrchu za daných experimentálních podmínek buď vůbec neadsorbují, anebo jen v malé míře, která neovlivní optické vlastnosti povrchu. Celkově lze shrnout, že na povrch titanu se snadněji a ve větší míře adsorbují jednořetězové pyrimidinové oligodeoxynukleotidy (TTC)12 než purinové (AAG)12. Z toho lze usoudit, že fibrinogen se lépe adsorbuje na povrchu leptaném a následně leštěném nežli na povrchu pouze leštěném. Proto lze také předpokládat, že leptaný povrch bude z hlediska oseointegrace titanových implantátů vhodnější nežli povrch pouze leštěný.



Obr. 35. Schéma aparatury, která nedestruktivním způsobem měří adhezi fibrinogenu na povrch titanu či titanové slitiny pomocí difrakční optiky (DOE) – vlevo. Příklad heterogenity povrchu: červené a žluté plochy představují adsorpci fibrinogenu HPF - vpravo (upraveno dle Silvennoinen et al. 2011). L1, L2–čočky zaostřující paprsek z laseru na kyvetu se studovaným vzorkem; kyveta, komplexní indexy lomu: N₁–okénko kyvety, N₂–studovaný vzorek, N₃–povrchová adsorbovaná vrstva, N₄–titan, BS–beam splitter, DOE–difrakční optický element, holografická mřížka, CCD–snímací kamera. Upraveno ze zdrojů: Bartáková et al. (2009e), Silvennoinen et al. (2011).

V naší další práci jsme ve spolupráci s finskými kolegy (Bartáková et al. 2009e, Silvennoinen et al. 2011) prokázali, že fibrinogen (HPF – *human plasma fibrinogen*), respektive jeho adheze na povrch titanu a titanových slitin, lze sledovat pomocí nedestruktivní techniky difrakční optiky (DOE) neboť místa, na kterých se HFP buňky přichytí, vykazují vyšší absorpci měřícího paprsku, než místa bez

adheze HFP, která jsou typická vyššími hodnotami odrazivosti. Úprava fyzikálních vlastností povrchu může zvýšit adsorpci fibrinogenu na implantát, a tím urychlit jeho oseointegraci. Pomocí DOE lze stanovit také vliv konformace oligodeoxynukleotidů na jejich adsorpci na povrch titanu.

Polymerní nanokompozita

Současný rozvoj nanotechnologií umožňuje nové úpravy povrchů implantátů. V posledních letech je patrný zejména vývoj nanostrukturovaných keramických materiálů, jejichž představitelem jsou polymerní nanokompozita (PNC). Tyto látky nabízí velmi slibnou cestu k vývoji nových materiálů dentálních implantátů s požadovanými vlastnostmi odvozenými přímo z počítačového modelu, který určí parametry tvarů a porézности (Shrestha et Joshi, 2014). Nicméně, na základě výzkumu a předběžných testů, není stále jasné, zda tyto úpravy povrchu (angl. *nanopatterning*) budou podstatně lepší a pro integraci dentálního implantátu vhodnější než úprava povrchu v měřítku mikronů. Například vysoká hustota nanostruktur na jednotce plochy implantátu se ukázala jako nevhodná, neboť za takových podmínek se vytváří superhydrofobní povrchová plocha, která není pro integraci implantátu žádoucí. Je proto nezbytné, aby se budoucí studie zaměřené na PNC u titanových dentálních implantátů věnovaly otázkám optimalizace složení látky, její tloušťky na povrchu implantátu, míry biodegradace na základě zatížení, vlivu topografie povrchu a chemie zubních implantátů.

Povlakování dentálních implantátů antibiotiky

Antibakteriální povlaky na povrchu dentálních implantátů jsou studovány jako jeden z možných způsobů, jak zabránit infekci v místě chirurgického výkonu při implantaci. Například povlak gentamycinu spolu s vrstvou HA může být umístěn na povrch implantátu. Tato vrstva pak může působit jako lokální profylaktický přípravek spolu s použitými antibiotiky. V poslední době byla provedena studie (Caous et al. 2013) zaměřená na interagující faktory, zejména na různé pH a povrchové úpravy dentálního implantátu. Cílem bylo zjistit, zda tento typ povlakování může omezit ulpívání bakterií na povrchu titanových zubních implantátů. Ve studii byly využity titanové disky s opracovaným nebo eloxovaným povrchem, které byly inkubovány kulturami *Streptococcus mitis* a *Actinomyces oris* (časté druhy v dutině ústní) při pH 5,0, 7,0 a 9,0 v aerobním nebo anaerobním prostředí. Výsledky prokázaly, že bakteriální adheze *S. mitis* a *A. oris* může být omezena v kyselém prostředí a aerobní atmosféře. Eloxovaný povrch snižoval adhezi *S. mitis* ve srovnání s běžně obroběným povrchem (Caous et al. 2013). V současné době se uskutečňuje mnoho testů zaměřených na povlakování materiálu antibiotiky a jejich uvolňování do okolí (např. vancomycin - Han et al. 2017).

Ovlivnění povrchu UV zářením

Tato nová metoda je souborně nazývána jako fotofunkcionalizace. Jde o vystavení povrchů zubních implantátů UV záření, což zvyšuje biologickou aktivitu a oseointegraci, a to změnou TiO₂ na povrchu. Jde o podporu interakce buněk a proteinů s implantátem na molekulární úrovni. Současné studie naznačují, že ovlivnění povrchu UV zářením zvyšuje osteokonduktivitu. UV záření snižuje množství uhlovodíků na povrchu a zvyšuje povrchovou energii a smáčivost (přeměnou hydrofobních implantátů na superhydrofilní). Práce naznačují, že UV záření zvyšuje absorpci proteinů a buněčného připojení k titanovým povrchům. Navíc je toto ošetření jednoduché a hlediska nákladů dostupné. Zdá se, že je vhodné pro všechny typy titanových povrchů (např. Smeets et al. 2016).

11. Souhrn

Současný výzkum v oblasti dentálních materiálů v posledních letech přinesl převratné změny v kvalitě a odolnosti slitin titanu. Nové technologie uplatňované ve výrobě slitin a úpravě jejich povrchu vedly k výraznému zlepšení biokompatibility, uchycení dentálních implantátů vyrobených z těchto slitin a jejich stability v kostní tkáni (přehledně viz např. Duraccio et al. 2015). V této práci jsou uvedeny základní materiálové charakteristiky a chemické složení slitin titanu s důrazem kladeným na β slitiny, velká pozornost je věnována hodnocení biokompatibility slitin titanu, jejich korozivitě a moderním metodám úpravy povrchu s cílem podpořit v nejvyšší možné míře přichycení buněk na povrch materiálu slitin titanu a jeho následnou oseointegraci. V neposlední řadě je pozornost zaměřena na nové trendy ve výzkumu titanových slitin a současné klinické studie hodnotící úspěšnost jednotlivých technologií použitých při přípravě dentálních implantátů. Na základě poznatků publikovaných předními světovými pracovišti i skupinou odborníků pracujících v rámci Stomatologického výzkumného centra Stomatologické kliniky, LF MU Brno lze shrnout, že titan a slitiny titanu jsou vhodným materiálem používaným v dentálním výzkumu i klinické praxi. Pro budoucí vývoj v této oblasti lze předpokládat zlepšování chemického složení slitin titanu dalšími zušlechťovacími prvky, širší využití paměťového efektu některých slitin titanu a optimalizaci povrchové úpravy dentálních implantátů. Slitiny titanu jsou v současné době považovány za velmi perspektivní materiály, a to zejména s ohledem na jejich velmi dobré mechanické vlastnosti, korozní odolnost, nízkou specifickou hmotnost a vysokou biokompatibilitu s cílovými tkáněmi. Na titanové slitiny pro biomedicínské aplikace jsou navíc kladeny specifické požadavky. Jde zejména o volbu vhodných legujících přísad a jejich hmotnostních poměrů ve slitině tak, aby byly vhodně ovlivněny mechanické vlastnosti a mikrostruktura slitiny a zároveň nebyla nepříznivě ovlivněna jejich biokompatibilita. Vhodnými legujícími prvky jsou z tohoto hlediska především niob, tantal, zirkonium a částečně i molybden (např. Kuroda et al. 2020). Výhodou těchto legujících prvků je fakt, že lze ve slitině použít v relativně vysokých koncentracích, aniž by to nepříznivě ovlivnilo biokompatibilitu.

Slitiny titanu jako materiály vhodné pro dentální implantáty jsou v současné době voleny tak, aby se zvýšila jejich biokompatibilita. Nezbytná je však jejich povrchová úprava zvolená tak, aby se podpořila oseointegrace. V současné době se jednotlivé titanové implantáty liší drsností povrchu a metodou opracování použitou ke zdrsnění. Další možné úpravy povrchu jsou založeny zejména na povlakování různými materiály s cílem podpořit kvalitu a rychlost oseointegrace zubního implantátu. Titan a jeho slitiny jsou kromě implantátů vhodnými materiály i pro zhotovování zubních protéz (především viz např. Koizumi et al. 2019). Využití titanu a slitin titanu pro zubní implantáty může vést také k řadě problémů: a) alergii na titan, b) rozdíly v modulu pružnosti titanových implantátů a okolní kosti mohou vést k mechanickému napětí při přenosu sil v rozhraní implantát - kost. Toto napětí může vyvolat resorpci kosti a v konečném důsledku ztrátu kostní tkáně v okolí implantátu. V takových podmínkách se úspěšnost funkce implantátu snižuje. Přestože v posledním desetiletí jsme svědky značného pokroku ve vývoji slitin titanu, je zřejmé, že je stále třeba pracovat na dalších vylepšeních. Jde zejména o metody výroby titanových slitin. Jejich parametry hrají klíčovou roli v mechanických vlastnostech, odolnosti proti korozi, velikosti pórů a distribuci materiálů ve slitině. Kromě tohoto výzkumu buněčných interakcí s modifikovanými povrchy implantátů musí probíhat na úrovni nanometrů tak, aby se mohly vyrábět implantáty s vysokou rychlostí oseointegrace a silnými antibakteriálními účinky. Lze uzavřít, že stále existuje prostor pro vylepšení materiálu implantátů, které poskytnou lepší kvalitu života stomatologickým pacientům.

12. Přehled vlastní práce a hlavních výsledků

V následujícím textu jsou shrnuty hlavní výsledky autorky se vztahem k tématu habilitační práce. Jde o vybrané výsledky z odborných prací publikovaných v období 2003 - 2019. Jednotlivé výstupy jsou členěny podle zaměření publikovaných odborných prací.

12.1 Testy biokompatibility titanových slitin

Na testy biokompatibility slitin titanu jsem se zaměřila jako členka kolektivu Stomatologického výzkumného centra (2005,-2011, Specifický výzkum MUNI/A/0888/2012). Autorský kolektiv byl tvořen: Prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc, MUDr. Sonia Bartáková, Ph.D., Ing. Vitězslav Březina, CSc., Ing. Jiří Kudrman, DrSc.

Koncentrace niobu	Tepelné zpracování	Typ testu cytotoxicity								Celkové hodnocení	Kompatibilita
		1	2	3	4	5	6	7	8		
2,42	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	B 1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950 °C/pec	A	B 1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
4,84	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	B 1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950 °C/pec	A	B 1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
7,16	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	B 1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950 °C/pec	A	B 1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
8,36	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	B 1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950 °C/pec	A	B 1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
10,45	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	B 1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950 °C/pec	A	B 1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
31,81	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	B 1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950 °C/pec	A	B 1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní

Tabulka 8. Výsledné hodnocení testů cytotoxicity slitin titanu a příměsí niobu. Seznam zkratk: A -bez výhrad, B - tolerantní, C - přijatelné, D - netolerantní, B1 - abnormalita skeletu. Jednotlivé testy cytotoxicity jsou označeny: 1 - Test růstu buněčné suspenze ve výluhu testovaného materiálu, 2 - Test adherence buněk k testovanému materiálu, 3 - Dynamický dilatační test, 4 - Test tolerance buněk v monovrstvě k testovanému materiálu, 5 - Test tolerance buněk v suspensi k testovanému materiálu, 6 - Test indukce atypických mitóz, 7 - Test indukce chromosomálních aberací v buněčné linii, 8 - Test indukce chromosomálních aberací v periferních lymfocytech člověka.

Cílem našich studií bylo uskutečnění série biotestů a testů biokompatibility nových titanových beta slitin typu Ti-38Nb a Ti-35Nb-6Ta a vytipovat ty z nich, které budou mít nejvhodnější vlastnosti pro klinické stomatologické využití. Naší pracovní hypotézou bylo, že změny v procentuálním zastoupení výše uvedených přísad titanových beta slitin mohou zásadním způsobem ovlivnit jejich vlastnosti, a tím i jejich vhodnost pro užití v humánní medicíně. Pro potřeby studie jsme vybrali biotesty, které se používají pro hodnocení biokompatibility materiálů. Biotesty byly zaměřeny na růst buněčné suspence ve výluhu z testovaných materiálů, testy adherence, dilatace, tolerance, test indukce atypických mitóz, test indukce chromosomálních aberací apod.

Koncentrace vanadu	Tepelné zpracování	Typ testu cytokompatibility								Celkové hodnocení	Kompatibilita
		1	2	3	4	5	6	7	8		
1,75	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	B 2	A	A	B	A	B	B	B	biotolerantní
	950 °C/pec	A	C 4	B	A	B	A	B	A	C	biotolerantní
3,71	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	B	biotolerantní
	650 °C/voda	A	B 2	A	A	B	A	B	B	B	biotolerantní
	950 °C/pec	A	C 4	B	A	B	A	B	A	C	biotolerantní
5,63	litý stav	C	A	A	A	A	B	B	B	C	biotolerantní
	650 °C/voda	A	C 2	A	A	B	A	B	B	B	biotolerantní
	950 °C/pec	A	C 4	B	A	B	A	B	A	C	biotolerantní
7,85	litý stav	C	A	A	A	A	A	B	B	C	biotolerantní
	650 °C/voda	A	C 2	A	A	B	A	B	B	B	biotolerantní
	950 °C/pec	A	C 4	B	A	B	A	B	A	C	biotolerantní

Tabulka 9. Výsledné hodnocení testů cytokompatibility slitin titanu a příměsí vanadu. Seznam zkratk: A - bez výhrad, B- tolerantní, C - přijatelné, D - netolerantní, B1 - abnormalita skeletu. B2 - buňky vytvářejí jemně vláknitou strukturu, C2 buňky vytvářejí vláknitou strukturu, C4 - byly zjištěny abnormality buněčných membrán. Jednotlivé testy cytokompatibility jsou označeny: 1 - Test růstu buněčné suspence ve výluhu testovaného materiálu, 2 - Test adherence buněk k testovanému materiálu, 3 - Dynamický dilatační test, 4 - Test tolerance buněk v monovrstvě k testovanému materiálu, 5 - Test tolerance buněk v suspensi k testovanému materiálu, 6 - Test indukce atypických mitóz, 7 - Test indukce chromosomálních aberací v buněčné linii, 8 - Test indukce chromosomálních aberací v periferních lymfocytech člověka.

Výsledky provedených testů cytokompatibility celkově ukázaly, že slitiny titanu legované niobem (tabulka 8) jsou pro výrobu implantátů velmi vhodné, neboť vykázaly ve všech parametrech hodnocení bez výhrad či tolerantní. Lze tedy konstatovat, že u všech sledovaných příměsí niobu slitiny vykázaly požadovanou biokompatibilitu, a to i při obsahu niobu 31,81 %hm. To znamená, že binární systém TiNb umožňuje připravit biokompatibilní beta slitiny, které jsou za studena tvářitelné. Získané poznatky je možno shrnout tak, že tyto slitiny je možno pro výrobu dentálních implantátů doporučit.

Slitiny titanu legované vanadem (tabulka 9) byly hodnoceny méně příznivě z hlediska cytokompatibility. Lze shrnout, že sledované slitiny byly ve všech posuzovaných stavech hodnoceny pouze jako biotolerantní. Navíc byly pozorovány některé anomálie, jako tvorba vláknité buněčné struktury nebo abnormality buněčných membrán, což bude nutno dále hlouběji analyzovat. Lze konstatovat, že slitiny legované vanadem jsou sice pro výrobu implantátů přijatelné a v současnosti

hojně používané, ale méně vhodné. Zřejmě se slabě projevuje toxicita vanadu, i když je u daných slitin rozpuštěn v tuhém roztoku.

Testy cytotoxicity ukázaly, že slitiny titanu legované tantalem (tabulka 10) jsou pro výrobu implantátů velmi vhodné, neboť vykázaly ve všech parametrech hodnocení bez výhrad či tolerantní. Výsledky testů biokompatibility u slitin titanu legovaných molybdenem (tabulka 11) jsou horší než u slitin legovaných tantalem nebo niobem a sledované slitiny byly v některých stavech hodnoceny pouze jako biotolerantní. Lze konstatovat, že slitiny legované molybdenem jsou sice pro výrobu implantátů přijatelné, ale méně vhodné.

Koncentrace tantalu	Tepelné zpracování	Typ testu cytotoxicity								Celkové hodnocení	Kompatibilita	
		1	2	3	4	5	6	7	8			
5,39	litý stav	A	A	B	A	A	A	A	A	A	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950 °C/pec	A	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
9,83	litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	950 °C/pec	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
14,80	litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	950 °C/pec	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
19,70	litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	950 °C/pec	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
24,39	litý stav	A	A	B	A	A	A	B	A	A	A	biokompatibilní
	650 °C/voda	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	950 °C/pec	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
28,95	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	650 °C/voda	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	950 °C/pec	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
33,81	litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	650 °C/voda	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	
	950 °C/pec	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní	

Tabulka 10. Výsledné hodnocení testů cytotoxicity slitin titanu a příměsí tantalu. Seznam zkratk: A - bez výhrad, B - tolerantní, C - přijatelné, D - netolerantní, B1 - abnormalita skeletu. Jednotlivé testy cytotoxicity jsou označeny: 1 - Test růstu buněčné suspenze ve výluhu testovaného materiálu, 2 - Test adherence buněk k testovanému materiálu, 3 - Dynamický dilatační test, 4 - Test tolerance buněk v monovrstvě k testovanému materiálu, 5 - Test tolerance buněk v suspensi k testovanému materiálu, 6 - Test indukce atypických mitóz, 7 - Test indukce chromosomálních aberací v buněčné linii, 8 - Test indukce chromosomálních aberací v periferních lymfocytech člověka.

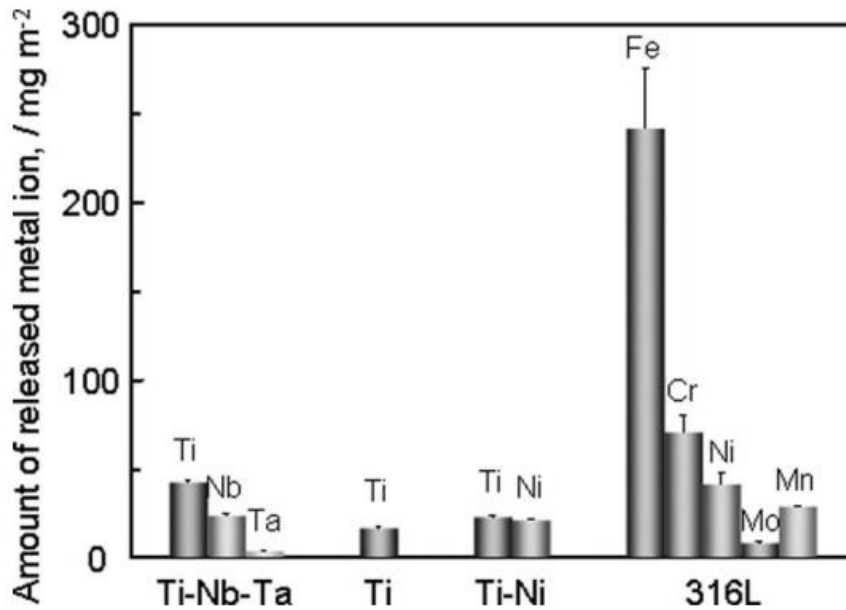
Tepelné zpracování (příměs Mo)	Typ testu cytotoxicity								Celkové hodnocení	Kompatibilita
	1	2	3	4	5	6	7	8		
litý stav (5,16)	A	A	A	A	C	A	B	B	B	biotolerantní
650 °C/voda	A	A	A	A	B	A	B	B	B	biotolerantní
950 °C/pec	A	A	A	A	B	A	B	B	A	biokompatibilní
litý stav (9,46)	A	A	A	A	C	A	B	B	C	biotolerantní
650 °C/voda	A	A	A	A	B	A	B	B	B	biotolerantní
950 °C/pec	A	A	A	A	B	A	B	B	A	biokompatibilní
litý stav (15,12)	A	A	A	A	B	A	B	B	A	biokompatibilní
650 °C/voda	A	A	A	A	B	A	B	B	B	biotolerantní
950 °C/pec	A	A	A	A	C	A	B	B	C	biotolerantní
litý stav (19,78)	A	A	A	A	B	A	B	B	A	biokompatibilní
650 °C/voda	A	A	B	B	B	A	B	B	B	biotolerantní
950 °C/pec	A	A	A	A	C	A	B	B	C	biotolerantní
litý stav (24,40)	A	A	A	A	B	A	B	B	C	biokompatibilní
650 °C/voda	A	A	B	C	B	A	B	B	C	biotolerantní
950 °C/pec	A	A	A	A	C	A	B	B	C	biotolerantní
litý stav (29,41)	A	A	C	A	B	B	B	B	C	biotolerantní
650 °C/voda	A	A	A	C	B	A	B	B	C	biotolerantní
950 °C/pec	A	A	A	A	C	A	B	B	C	biotolerantní
litý stav (34,49)	A	A	C	A	B	B	B	B	C	biotolerantní
650 °C/voda	A	A	A	A	B	A	B	B	C	biotolerantní
950 °C/pec	A	A	A	A	C	A	B	B	C	biotolerantní

Tabulka 11. Výsledné hodnocení testů cytotoxicity slitin titanu a příměsí molybdenu Seznam zkratk: A - bez výhrad, B - tolerantní, C - přijatelné. Jednotlivé testy cytotoxicity jsou označeny: 1 - Test růstu buněčné suspenze ve výluhu testovaného materiálu, 2 - Test adherence buněk k testovanému materiálu, 3 - Dynamický dilatační test, 4 - Test tolerance buněk v monovrstvě k testovanému materiálu, 5 - Test tolerance buněk v suspensi k testovanému materiálu, 6 - Test indukce atypických mitóz, 7 - Test indukce chromosomálních aberací v buněčné linii, 8 - Test indukce chromosomálních aberací v periferních lymfocytech člověka.

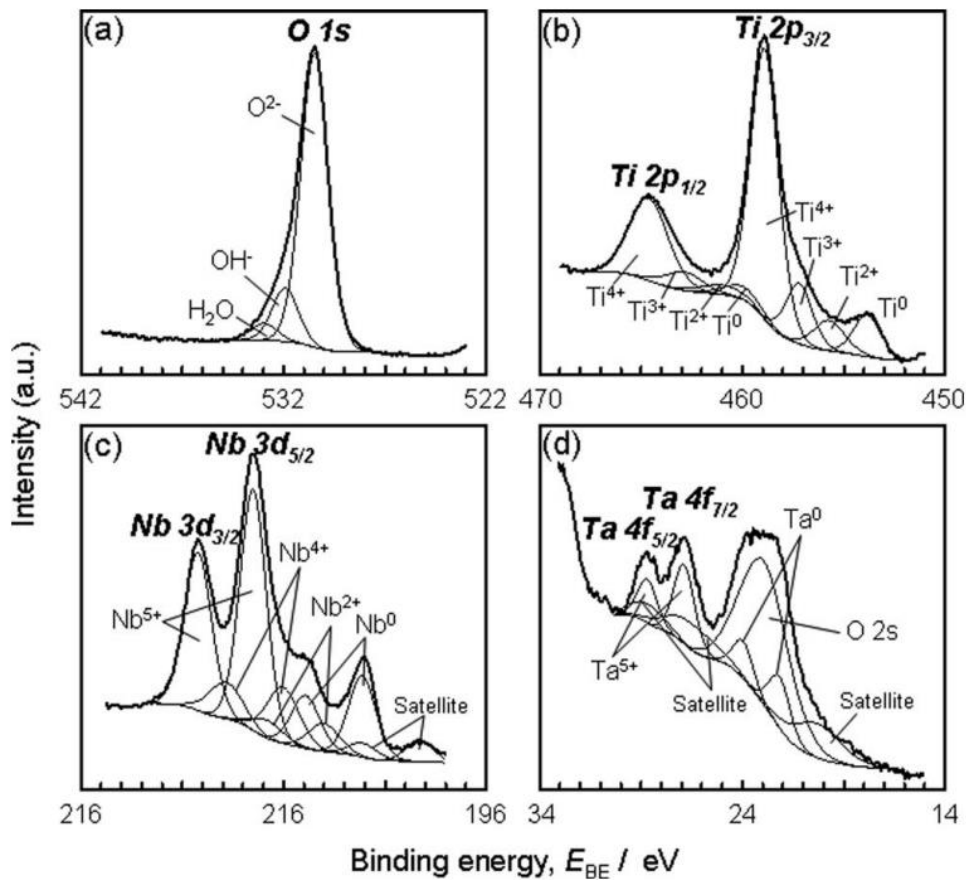
12.2. Studium korozivnosti slitin titanu

V rámci experimentů uskutečněných Stomatologickým centrem LF MU a ve spolupráci s japonskými kolegy z Tokijské lékařské a dentální univerzity (Tokyo Medical and Dental University) jsem se dále zaměřila na studium koroze vybraných slitin titanu opracovaných povrchově metodou anodické polarizace. Souborně byly výsledky experimentů publikovány v práci Tsutsumi et al. (2012). Zkoumali jsme korozi slitiny Ti-33.5Nb-5.7Ta (Ti-Nb-Ta) jako biokompatibilní slitiny Ti typu P během dlouhodobého ponoření do simulované tělní tekutiny. Ta byla složena z ultračisté vody (M Omega > 18%) a rozpuštěných látek: 5,85 g l⁻¹ NaCl a 10,0 g l⁻¹ kyseliny mléčné. Kyselost roztoku byla nastavena na hodnotu pH 2.30 ± 0,05 těsně po přípravě. Složení prvků v povrchové vrstvě slitin bylo po expozici v simulované tělní tekutině stanoveno pomocí rentgenové fotoelektronové spektroskopie (XPS). Tato kvantitativní technika velmi citlivě měří složení prvků pomocí stanovení vazebných energií (integrované intenzity píků fotoelektronů).

Mezi hlavní zjištění práce patří, že stejně jako u čistého Ti nedošlo během anodické polarizace na slitině Ti-Nb-Ta k důlkové korozi. Lze tedy konstatovat, že legování Ti pomocí příměsí Nb a Ta nezměnilo citlivost slitiny vůči chloridovým iontům. Uvolnění iontů Ti, Nb a Ta bylo detekováno po 7 dnech ponoření do roztoku. Množství uvolněných iontů ze sledovaných slitin Ti-33.5Nb-5.7Ta (Ti-Nb-Ta) však bylo mnohem menší než množství iontů uvolněných z nerezavějící oceli typu 316L (viz Obr. 36). Velmi významné bylo uvolnění iontů železa (Fe).



Obr. 36. Uvolnění iontů Ti, Nb a Ta ze slitin Ti-Nb-Ta, Ti-Ta a ocelové slitiny 316L po 7 dnech expozice v simulované tělní tekutině. Upraveno dle Tsutsumi et al. (2012).



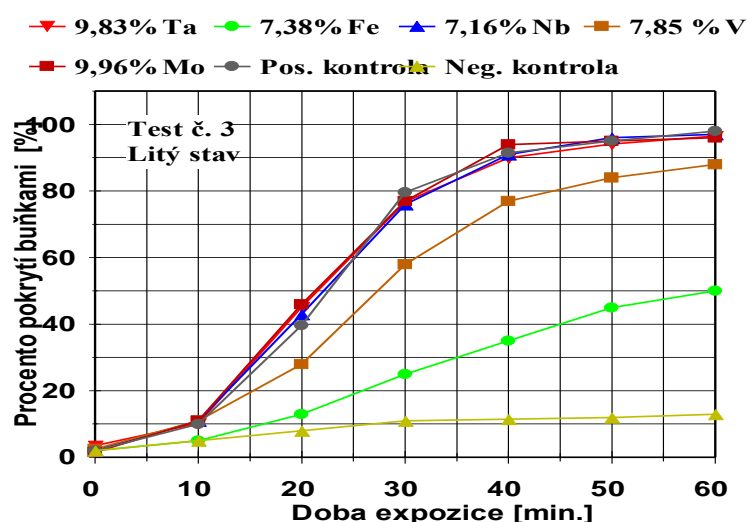
Obr. 37. XPS spectra (Rentgenová fotoelektronová spektroskopie) vazebné energie kyslíku (O 1s), titanu (Ti 2p), niobu (Nb 3d), a tantalalu (Ta 4f) ve slitině Ti-Nb-Ta. Převzato z Tsutsumi et al. (2012).

Rentgenová fotoelektronová spektroskopie (XPS) odhalila, že frakce Nb a Ta v pasivní vrstvě se během ponořování zvyšovaly, zatímco frakce Ti klesala. Rychlost koroze Ti-Nb-Ta stanovená elektrochemickou impedanční spektroskopií se po dobu 15 dnů nadále snižovala, zatímco tloušťka pasivní vrstvy se po 1 dnu neměnila. Ukázalo se tedy, že rekonstrukce pasivní vrstvy slitiny je důležitá pro uvolňování kovových iontů během dlouhodobé implantace v živém těle. Proto má Ti-Nb-Ta dostatečnou odolnost proti korozi jako biokompatibilní slitina Ti typu β .

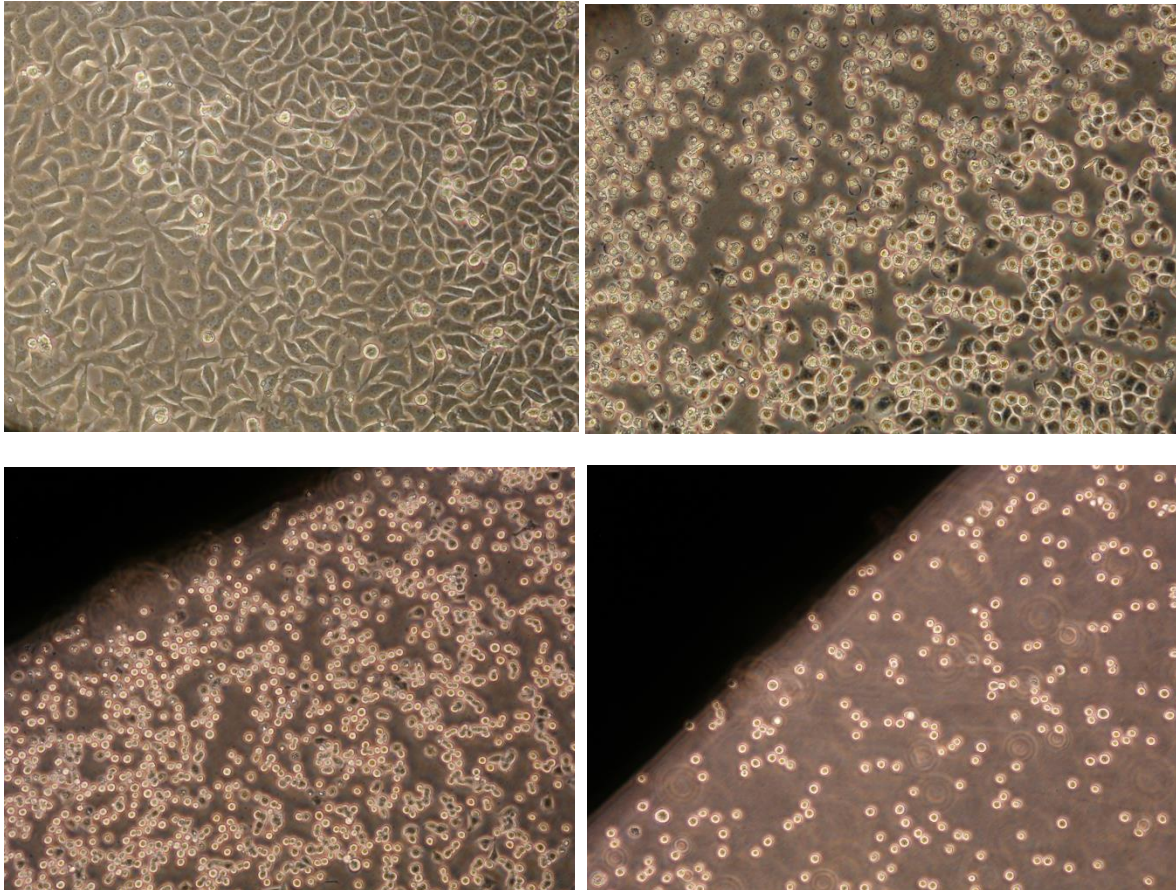
Souborně lze výsledky získané ve studii (Tsutsumi et al. 2012) shrnout takto: (1) Metoda ponoření testované slitiny do simulovaného tělního roztoku se ukázala jako vhodná pro posouzení korozního chování slitiny Ti-33.5Nb-5.7Ta (Ti-Nb-Ta), (2) obě testované slitiny mohou být na základě výsledků klasifikovány jako biokompatibilní. Pasivní vrstva Ti-Nb-Ta byla složena ze směsného oxidu Ti, Nb a Ta včetně malých množství neúplně oxidovaného Ti a Nb. Podíly Nb a Ta vzrostly po ponoření testovaných slitin do simulované tělní tekutiny. Díky tomuto zvýšení podílu Nb a Ta rychlost koroze po ponoření neustále klesala. Lze tedy konstatovat, že z hlediska biokompatibility, jsou testované β slitiny obsahující příměs Nb nebo Ta dlouhodobě výhodné.

12. 3. Vliv příměsí legujících prvků ve slitině na rychlost adherence buněk

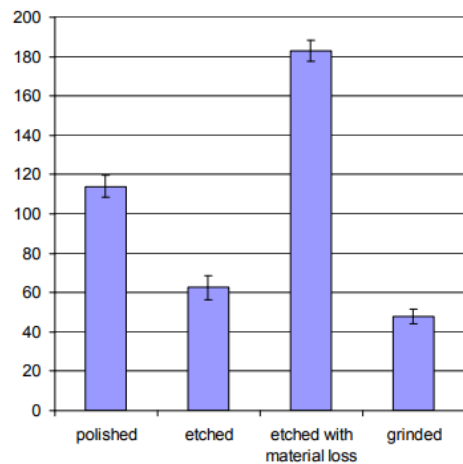
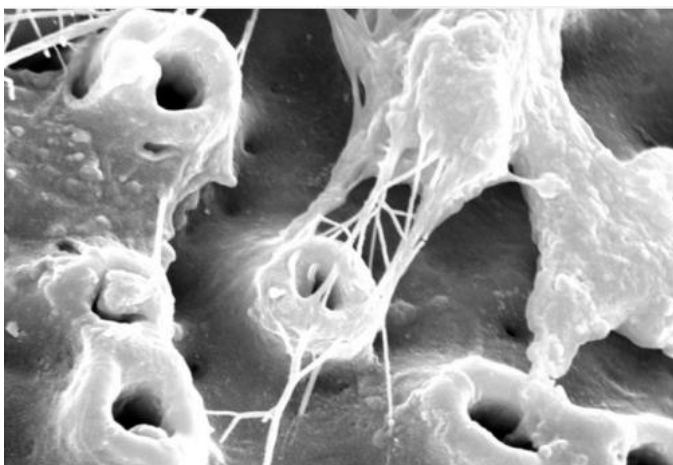
V práci Bartáková et al. (2009b) byla sledována rychlost adherence buněk na slitiny titanu s příměsí legujících prvků. Výsledky ukázaly, že negativní vliv má zejména přídavek Fe a V, ostatní sledované legující prvky neměly na rychlost adherence významný vliv. Relativní pokrytí plochy testovaných materiálů bylo sledováno v 10 minutových intervalech po dobu 1 hodiny. Výstupem měření byly typické S-křivky (Sigmoidy) - viz obr. 37. Dobré výsledky byly získány pro materiál s příměsí Ta, jak je patrné z obr. 36. Toxické účinky iontů některých kovů uvolňovaných z nejrůznějších slitin byly dobře rozlišitelné pomocí testu tolerance buněk v suspenzi k testovanému materiálu. Adherence buněk na povrchu byla v takových případech neúplná. Tvořily se různě velké plošky neobsazené buňkami v důsledku inhibičního působení iontů kovů (Fe, V). Tento test velmi dobře dokumentoval míru tolerance buněk vůči testovanému materiálu. Nepravidelné rozmístění buňkami neobsazených plošek může být spojeno s negativním vlivem mikrokoncentračního gradientu uvolněných iontů kovů.



Obr. 38. Růstové křivky vyjadřující rozdíly v pokrytí buňkami povrchu testovaných slitin Ti s různými příměsími legujících prvků (Ta, Fe, Nb, V, Mo). Převzato z Bartáková et al. (2009b).



Obr. 39. Výsledky testu adherence buněk k testované slitině Ti potvrzující vysokou biokompatibilitu tantalu (Ta) – vlevo nahoře. Je patrné, že buňky pokrývají 100 % povrchu testovaného materiálu. Příklad toxicity Cr/Co – vpravo nahoře, vlevo dole, vpravo dole - Cu, silná toxicita. Jsou patrné jasně ohraničené (mezi buňkami) nebo výrazné plošky neobsazené buňkami indikující zonální toxicitu uvolněných iontů kovů. Upraveno dle Bartáková et al. (2009b).



Obr. 40. Adherence a růst osteoblastů na titanových destičkách. Vlevo: tvorba biofilmu tvořeného osteoblasty, který pokrývá povrch materiálu destičky. Vpravo: Počty adheovaných buněk (x 1000 ml⁻¹) po 6-denní kultivaci na různě upravených površích destičky (leštěném - kyselinou upraveném - kyselinou upraveném pomocí odplavení nadbytečných částí - povrchově zrnitém) zjištěné v Bürkerově komůrce. Upraveno dle Silvenoinen et al. (2010) a Vetterl et al. (2011).

Růst osteoblastů na titanovém povrchu

V naší další práci (Bartáková et al. 2009a) jsme sledovali růst lidských osteoblastů na titanových destičkách. Buněčné linie lidských osteoblastů hFOB 1.19, použité v experimentu, byly získány ze sbírky *American Type Culture Collection* (ATCC). Zkoumané titanové destičky byly vysterilizovány a umístěny do živného média s buňkami osteoblastů. Kultivace probíhala 6 dnů při 37 °C a 5% CO₂. Zjistili jsme, že osteoblasty rostly lépe na povrchu II/3, který byl upraven leštěním a leptáním, nežli na povrchu pouze leštěném II/1. Poměr buněk (leštěný/leštěný a leptaný) = 66,8 ± 3,6. Tyto výsledky podpořily náš předpoklad, že úprava povrchu zvýhodňující adsorpci fibrinogenu bude také zvýhodňovat růst osteoblastů a urychlí oseointegraci implantátu.

Adsorpce fibrinogenu na povrch titanu a titanem dopovaných uhlovodíkových povlaků

V naší práci (Bartáková et al. 2009a) jsme se zaměřili na adsorpci fibrinogenu lidské krevní plazmy na vzorek z technicky čistého titanu, jehož povrch byl upraven leštěním. Adsorpci jsme sledovali pomocí laserového difrakčního senzoru (*diffractive optical element* - DOE). Z výsledků lze učinit závěr, že fibrinogen se lépe adsorbuje na povrchu leptaném a leštěném nežli na povrchu pouze leštěném. Proto lze také předpokládat, že leptaný povrch bude z hlediska oseointegrace vhodnějším materiálem než povrch leštěný.

Dále byly studovány 4 vzorky uhlovodíkových povlaků bez obohacení (dopování) a obohacené (dopované) titanem (Ti–C:H), a to v různém poměru Ti_x–C_{1-x}. Vzorky byly připraveny na pracovišti HVM Plasma, spol. s r. o., metodou reaktivního magnetronového naprašování, kde reaktivním plynem byl acetylen. K největším změnám optických parametrů po adsorpci fibrinogenu docházelo na vzorcích dopovaných v poměru Ti_{0,09} – C_{0,91} a Ti_{0,38} – C_{0,62}. Takto upravené povrchy by měly být nejvhodnější z hlediska oseointegrace povrchu implantátů. Na vzorcích bez dopování Ti_{0,00} – C_{1,00} (povrch odpovídá struktuře diamantu) a s velkým obsahem titanu Ti_{0,82} – C_{0,18} byly optické změny po adsorpci fibrinogenu velmi malé.

Adsorpce deoxyoligonukleotidů na povrch titanu

Pomocí optického difrakčního senzoru (DOE) a elipsometrie jsme sledovali vliv drsnosti povrchů titanových vzorků na adsorpci purinového (AAG)₁₂ a pyrimidinového (TTC)₁₂ oligodeoxynukleotidu. Měření koherentního výstupu DOE bylo zjištěno, že k největšímu zvýšení optické drsnosti R_{opt} (na hodnotu přibližně 35 nm) došlo po adsorpci jednořetězového pyrimidinového oligodeoxynukleotidu (TTC)₁₂. Elipsometrická měření v suchém stavu ukázala zvýšení tloušťky povrchové vrstvy h na přibližně 44 nm. Po adsorpci jednořetězového purinového deoxynukleotidu (AAG)₁₂ došlo k mnohem menšímu zvýšení optické drsnosti (na hodnotu asi 27 nm), z elipsometrie vyplynula tloušťka povrchové vrstvy h asi 25 nm. Adsorpce dvouřetězového oligodeoxynukleotidu (AAG.TTC)₁₂ nevyvolala téměř žádné změny optické drsnosti a tloušťka vrstvy se blížila hodnotám naměřeným v pufru (R_{opt} = 23 nm, h = 18–20 nm). Z těchto výsledků plyne, že na povrch titanu se nejlépe adsorbují jednořetězové pyrimidinové ODN. Dvořetězové ODN se pravděpodobně na titanovém povrchu za daných experimentálních podmínek buď vůbec neadsorbují, anebo jen v malé míře, která neovlivní optické vlastnosti povrchu. Zvýšení drsnosti povrchu Ti po adsorpci jednořetězových oligonukleotidů

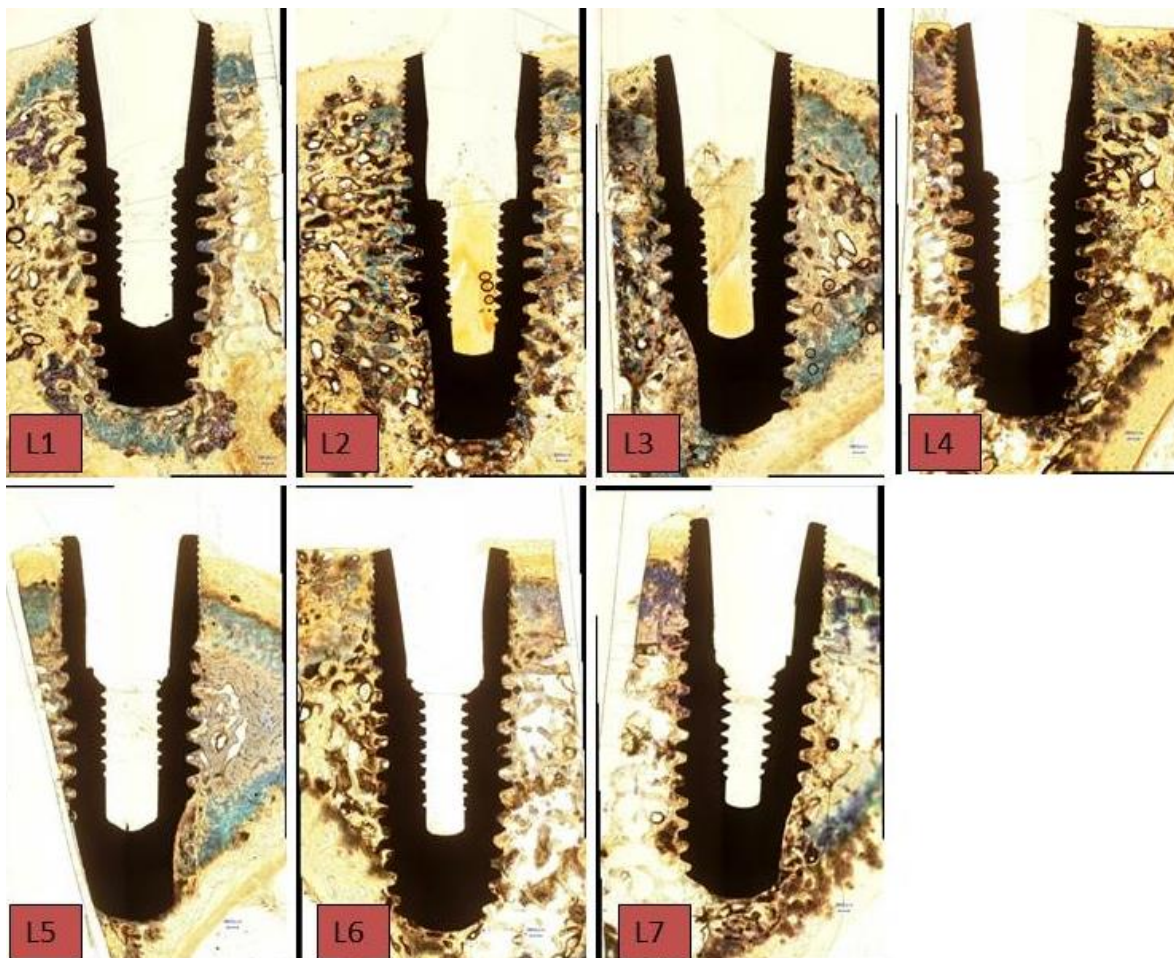
Ize připsat tomu, že tyto poměrně flexibilní oligonukleotidy (o šířce přibližně 1 nm a délce $36 \times 0,34 = 12,24$ nm), adsorbované na povrch Ti, kopírují nerovnosti povrchu a mohou tam vytvářet chaoticky neuspořádané „roští“ zvyšující drsnost povrchu. Bez aplikace elektrického pole se jednořetězové oligonukleotidy váží na hydrofobní povrch Ti přednostně hydrofobními bazemi. Z našich měření adsorpce oligodeoxynukleotidů (ODN) na Hg plyne, že pyrimidinové ODN se adsorbují více nežli purinové ODN. Podobně lze očekávat, že i na hydrofobní povrch Ti se budou pyrimidinové ODN adsorbovat více nežli purinové a budou výrazněji zvyšovat drsnost povrchu nežli purinové ODN, což bylo experimentálně potvrzeno. Aplikace elektrického pole způsobí, že se jednořetězové ODN adsorbují na povrch Ti také elektrostaticky negativními náboji na fosfátových skupinách. Elektrostatická adsorpce je silnější nežli adsorpce van der Waalsovými interakcemi uplatňujícími se bez pole. Proto jsme pozorovali zvýšení optické drsnosti po vložení potenciálu + 0,3 V na titanový vzorek.

12.4. Testy dentálních implantátů „in vivo“

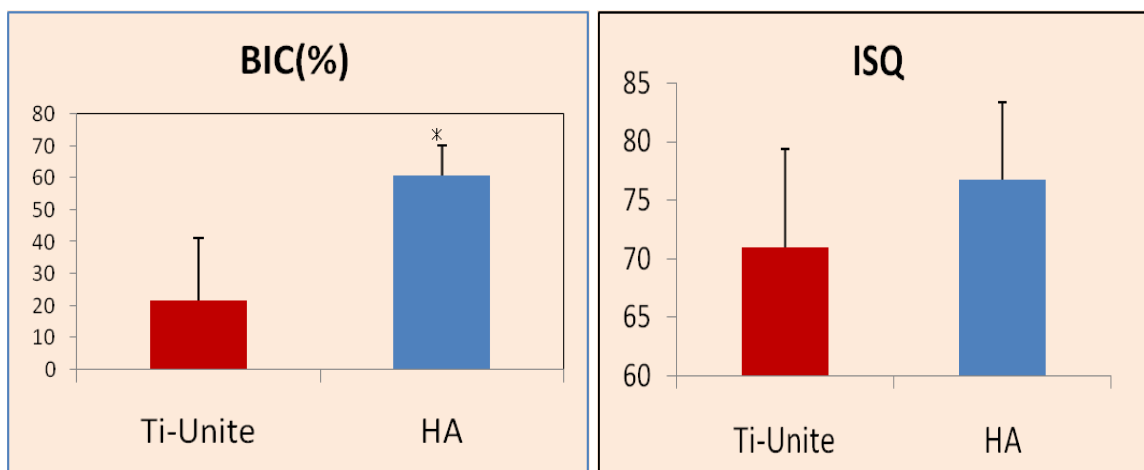
Testy dentálních implantátů byly uskutečněny ve spolupráci s Tokijskou lékařskou a dentální univerzitou (Tokyo Medical and Dental University) během zahraničního pracovního pobytu (Bartáková, Prachár). Pro testy oseointegrace nového typu dentálního implantátu (Ti38-Nb6-Ta) byla použita dvě jednoletá prasátka (samice, č. 1707, 1708). Tento experiment byl schválen Japonským etickým (The Tendo experiment byl schválen Japonským etickým výborem (Ethical Committee of Japan). Do holenní kosti zvířete bylo implantováno na každé straně 8 implantátů (obr. 41). Po jednom měsíci byla experimentální zvířata usmrcena. Stabilita dentálních implantátů byla měřena pomocí metody Ostell. Objem kosti v okolí implantátu byl stanoven pomocí mikro CT (obr. 42). Byly připraveny dekalcifikované řezy v pryskyřici a bylo vypočteno poměrné procento kontaktu kosti s tělem implantátu (BIC, viz obr. 43) pomocí software Image J. Dílčí výsledky experimentální studie jsou shrnuty v práci Prachár et al. (2015).



Obr. 41. Zavedení dentálních implantátů VP do holenní kosti miniprasátek (Foto S. Kasugai – dosud nepublikováno). Jednotlivé implantáty jsou označeny L1 až L8.



Obr. 42. Okolí dentálních implantátů PV zavedených do holenní kosti miniprasátek. Jednotlivé implantáty jsou označeny L1 až L8. Foto: S. Kasugai (dosud nepublikováno).



Obr. 43. Hodnoty BIC (*bone-to-implant contact*), poměrné procento kontaktu kosti s tělem implantátu dosažené v testu využívajícím miniprasátek (vlevo). Hodnoty ISQ (*Implant Stability Quotient*) - mezinárodní standard určující úroveň stability a oseointegrace zubních implantátů - dosažené v testu využívajícím miniprasátek (vlevo) - (dosud nepublikováno).

Kostní tkáň využitá v naší studii je charakterizována jako středně hustá. Získané výsledky lze interpretovat tak, že pokud je počáteční stabilita kosti nízká až střední, změní oseointegrace kostní tkáň v bezprostředním okolí dentálního implantátu tak, že se zvýší stabilita a tuhost (a také BIC). V tomto případě existuje dobrá korelace mezi ISQ a BIC, a to jak ve variantě Ti, tak ve variantě povlakované HA. V kostní tkáni s vysokou hustotou bývá dosaženo vysoké počáteční stability dentálního implantátu (např. ISQ hodnoty nad 75). Následná oseointegrace však nepřispěje významným způsobem k stabilitě implantátu. I když se BIC zvyšuje, stabilita implantátu se příliš nezmění, což se odráží v hodnotě ISQ. V tomto případě je korelace mezi BIC a ISQ velmi malá. ISQ byl však vyhodnocen jako vhodný indikátor úspěšnosti vhojování implantátu, podobně jako ve studii Šimůnek et al. (2012), která využívala přístup rezonanční frekvenční analýzy (*Resonance Frequency Analysis*, RFA) pro stanovení ISQ. Testy implantátů „*in vivo*“, s využitím miniprasátek se ukázaly jako vhodný metodický postup. Pro budoucí studie je však třeba rozšířit počet sledovaných parametrů například o hustotu kostní tkáně (Grobeck-Karl et al. 2019 - *Bone mineral density* (BMD)).

12.5. Slitina titanu povlakovaná hydroxyapatitem (testy využívající osteoblasty a osteoklasty)

Testy růstu osteoblastů a osteoklastů byly uskutečněny ve spolupráci s Tokijskou lékařskou a dentální univerzitou (Tokyo Medical and Dental University) a publikovány v práci Hao et al. (2011). Jednalo se o sérii experimentů zkoumajících reakce osteoblastů a osteoklastů na titanu povlakovaného hydroxyapatitem (HA). Na takto upraveném povrchu byly kultivovány stromální buňky krys (*Rattus norvegicus domestica*), a to z kostní dřevě. Buňky krysí kostní dřevě byly připraveny podle metody Maniopoulos et al. (1988) a poté kultivovány v MEM mediu (*Minimum Essential Medium*, medium dle Eagle) na destičkách titanu povlakovaného HA v jamkách kultivačních misek s hustotou buněk 106 buněk / cm². Medium MEM bylo obohaceno 10% fetálního hovězího séra. Kultivace byla provedena při teplotě 37 ° C a ve zvlhčené atmosféře sestávající z 95% vzduchu a 5% CO₂. Po 24 hodinách kultivace bylo výše uvedené médium odstraněno a změněno na čerstvé, které bylo navíc obohaceno o další činidla. Jednalo se o doplňky s osteogenními účinky: 50 μg ml⁻¹ kyselina askorbová, 10 mM beta-glycerofosfát, 10 nM dexamethason. Toto kultivační medium bylo měněno každý 2. den.

Vyhodnocení této série experimentů se zaměřilo především na kvantifikaci reakce v těchto oblastech: adherence a proliferace buněk, množství DNA a aktivita alkalické fosfatázy (ALP), test mineralizace povrchů, růst osteoklastické buněčné kultury, počet osteoklastů a jejich morfologie, degradace povlaku hydroxyapatitu (HA), izolace RNA a kvantitativní polymerázová řetězová reakce (*real time*) RT-PCR.

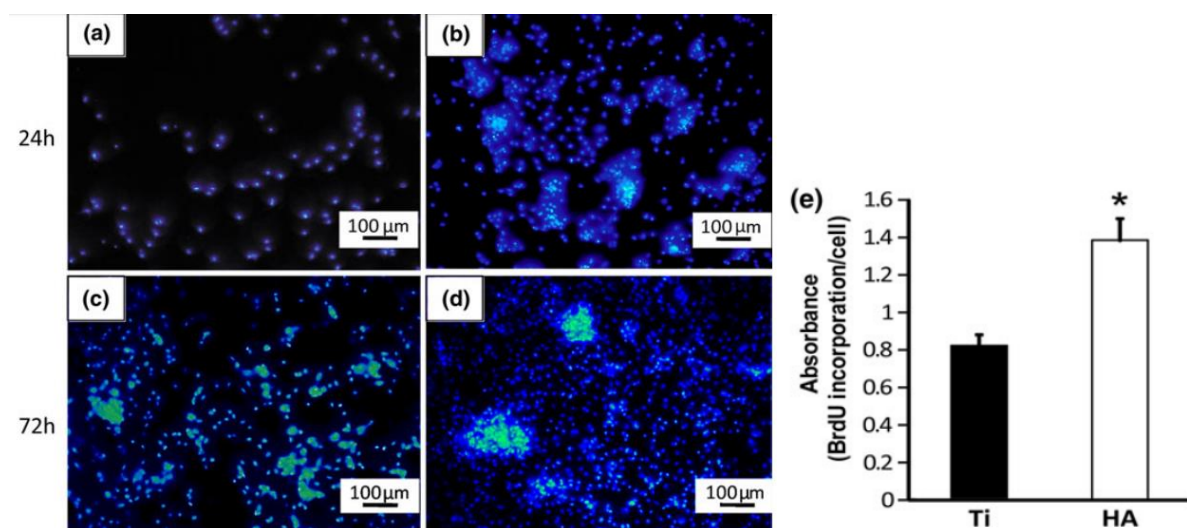
Adherence a proliferace buněk

Po 24 a 72 hodinách inkubace byly exponované vzorky vyjmuty z kultivačního média, promyty fosfátovým pufrům (PBS) s cílem odstanit neadherované buňky. Adherované stromální buňky kostní dřevě byly poté fixovány a označeny pomocí fluorescenčního barviva DAPI (4',6-Diamidin-2'-phenylindol dihydrochlorid). Poté byly adherované buňky pozorovány pod fluorescenčním mikroskopem (Biozero BZ-8000, Keyence).

Proliferační aktivita buněk byla měřena inkorporací BrdU (Bromodeoxyuridin (5-bromo-2'-deoxyuridin, BrdU je syntetický nukleosid, analog thymidinu) během syntézy DNA. Přídavek BrdU

činil 10 mikroM, a to po dobu 10 hodin v inkubační teplotě 37 °C. Po inkubaci byly vzorky promyty, poté byly přidány nejprve substrátový roztok (tetramethylbenzidin) a následně zastavovací roztok. Pak následovala fotometrická detekce proliferace buněk, a to pomocí měření absorbance při vlnové délce 450 nm (spektrofotometr Wallace).

Výsledky lze shrnout takto: Povlakování HA výrazně zlepšuje adhezenci a proliferaci buněk, jak o tom svědčí vizualizace adherence pomocí DAPI barvení a proliferace sledovaná pomocí inkorporace BrdU (viz Obr. 44).



Obr. 44. Adherence buněk kostní dřeně na povrchu Ti povrchu povlakovaného HA. Pomocí DAPI barvení je vizualizována přítomnost buněk kostní dřeně adherovaných k povrchu Ti (a, c) a HA (b, d) po 24 hodinách (a, b) a 72 h (c, d) inkubace. Proliferace buněk (sloupcový graf vlevo) byla určena pomocí BrdU a měření absorbance při 450 nm (e). Každý sloupec představuje hodnoty: průměr ± SD (n = 6). Statisticky průkazné rozdíly mezi HA a Ti skupinami (*) jsou stanoveny na hladině významnosti P (P = 0,05). Upraveno dle Hao et al. (2011).

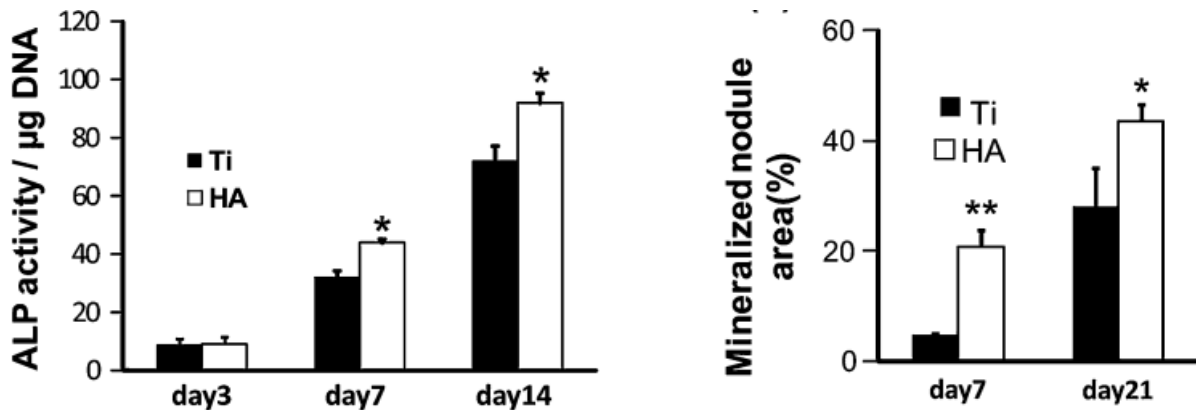
Markery využívající osteoblasty a osteoklasty

Množství DNA a aktivita alkalické fosfatázy (ALP) byly rovněž velmi výrazně závislé na úpravě povrchu. Povlakování HA výrazně přispělo ke zvýšení hodnot obou těchto parametrů (obr. 43). Výsledky analýzy sledující počet a morfologii osteoklastů ukazují rovněž na příznivý vliv povlakování povrchu titanu HA, neboť dochází ke zvýšení počtu osteoklastů na jednotku ploch (viz obr. 44, 45, 46). Morfologie osteoklastů byla ovlivněna povlakováním HA. Na takto upraveném povrchu došlo k výraznému snížení hodnoty Feretova průměru (*Feret's diameter*). Tento parametr je definován jako nejdelší vzdálenost určená mezi libovolnými dvěma body na povrchu osteoklastu. Tento parametr byl vyhodnocen biometrickou analýzou pomocí software (Image J) a dosahoval 3-4 krát nižší hodnoty než kontrola.

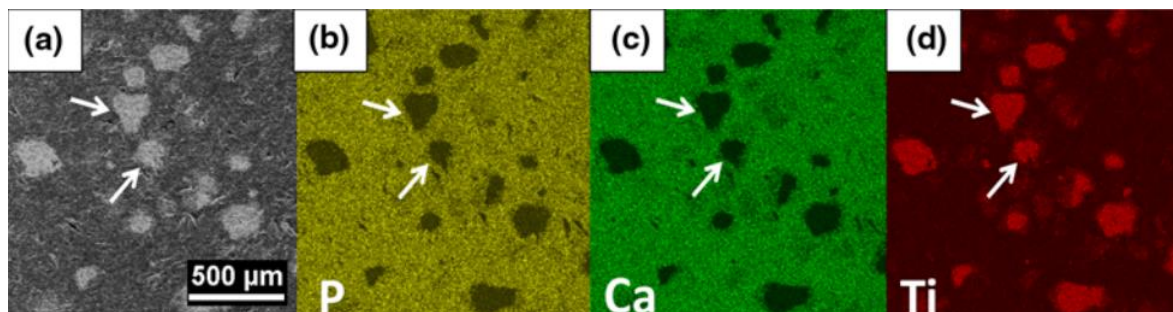
Lze konstatovat, že výše uvedená studie (Hao et al. 2011) prokázala, že tenký film (povlak) vzniklý napařováním HA na povrchu titanu poskytuje výhodnější povrch pro adhezenci buněk stromální kostní dřeně, jakož i pro procesy proliferace a osteoblastická diferenciaci než povrchově

modifikovaný titan bez naprašované vrstvy. Naprašovaný HA povlak použitý v naší studii také podporoval tvorbu osteoklastů a jejich funkci.

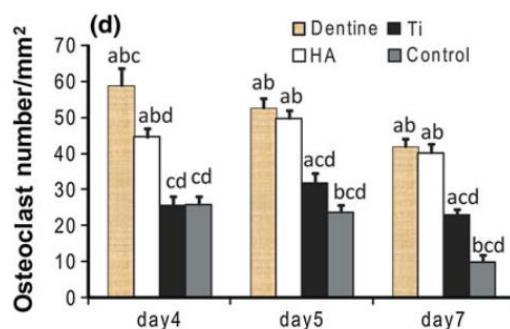
Naprášená vrstva HA proto představuje velmi vhodný povlak, který má vysoký potenciál pro použití v ortopedických a stomatologických aplikacích (jak v klinických studiích, tak v klinické praxi) pro rychlejší a úplnější integraci kostních implantátů na bázi titanu. V současné době je věnována velká pozornost osteoklastům, respektive faktu, že kromě resorpční aktivity mohou mít osteoklasty také anabolický účinek na tvorbu kostí. Zjištění získaná v naší práci (Hao et al. 2011) tedy ukazují na důležitost přítomnosti osteoklastů pro regulaci indukce tvorby kostní tkáně. Budoucí studie tedy budou s největší pravděpodobností směřovány tak, aby zjistily, jaké řídicí mechanismy určují stupeň reakce osteoklastů na různé povrchy implantátů. Lze shrnout, že kultivované osteoklasty vykazovaly výrazně odlišné množství buněk a morfologii mezi variantou povlakovanou hydroxyapatitem a čistým titanovým povrchem. Markerové geny osteoklastů byly více stimulovány na povrchu povlakovaném hydroxyapatitem. Tenkovrstvý naprašovaný hydroxyapatit je tedy vhodnou povrchovou úpravou, která poskytuje podmínky pro příznivý rozvoj a tvorbu osteoblastů a osteoklastů. Tyto nové poznatky mohou do budoucna přispět k vývoji implantátů, které mají lepší oseointegraci.



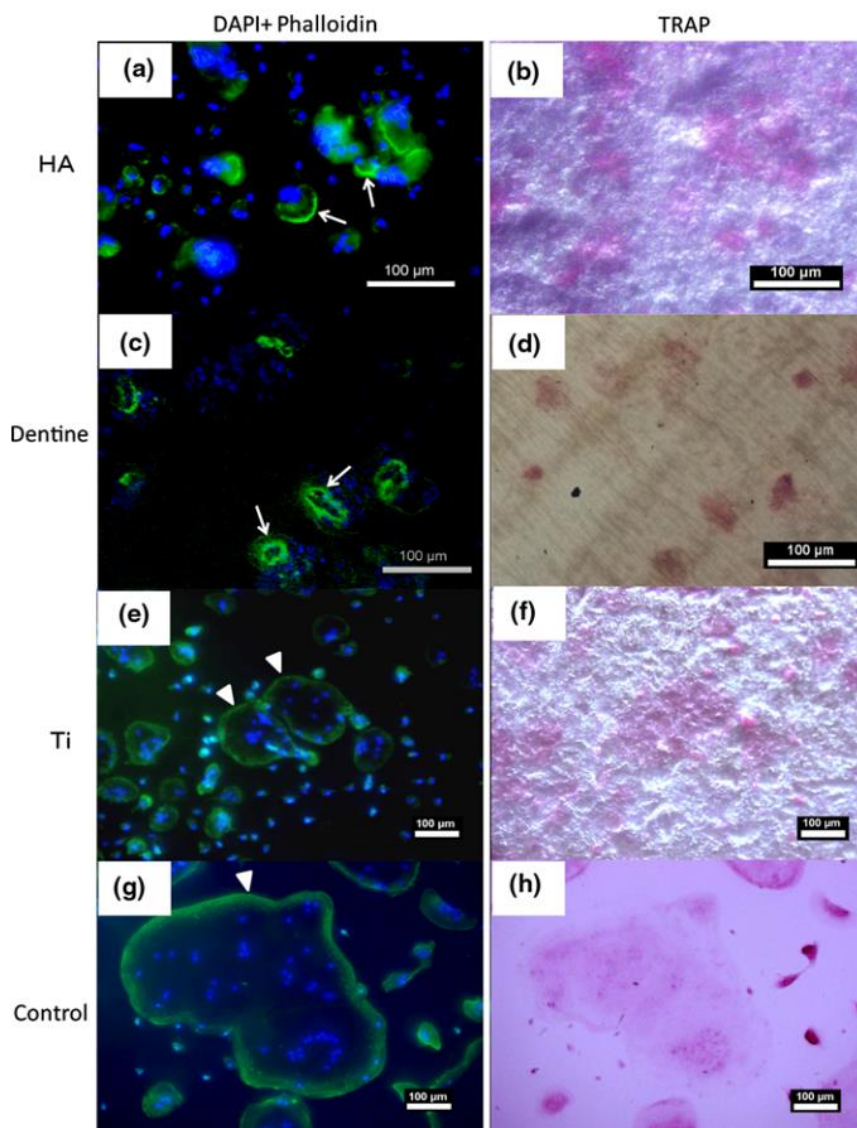
Obr. 45. Výsledky kvantitativní analýzy DNA a ALP (alkalické fosfatázy). Aktivita ALP je vyjádřena relativně k celkovému obsahu DNA (vlevo). Mineralizace vyjádřená jako procento celkové plochy kultury (metoda *Alizarin red positive staining*) je prezentována vpravo. V obou případech je zřejmý pozitivní efekt povlakování HA. Upraveno dle Hao et al. (2011).



Obr. 46. Vizualizace buněk osteoblastů adheřujících na povrch Ti s povlakem HA po 7 denní kultivaci. Jednotlivá barevná pole představují RTG mapu fosforu na ploše povrchu (žlutá), vápníku (zelená), titanu (červená). Reabsorpční plochy (tj. plochy bez adsorpce osteoblastů) jsou vyznačeny šipkami. Upraveno dle (Hao et al. 2011).



Obr. 47. Počet buněk osteoklastů zjištěný pomocí metody TRAP (*tartrate-resistant acid phosphatase*). Byly počítány buňky se třemi a více jádry. Upraveno dle (Hao et al. 2011).



Obr. 48. Vizualizace tvorby osteoklastů a jejich cytoskeletálního uspořádání. Mikrofotografie ukazují osteoklasty diferencované na povrchu HA (a, b), dentinu (c, d), Ti (e, f) a kontrolu polystyrenové kultury jamky (g, h) v pátý den kultivace. Buňky byly obarveny technikou DAPI pro jádra (modrá) a phalloidin pro aktinová vlákna (zelená) (a, c, e, g) a také pomocí metody TRAP, *tartrate-resistant acid phosphatase* - (b, d, f, h). Upraveno dle (Hao et al. 2011).

12.6. Analýza mikrostruktury povrchu (profilování)

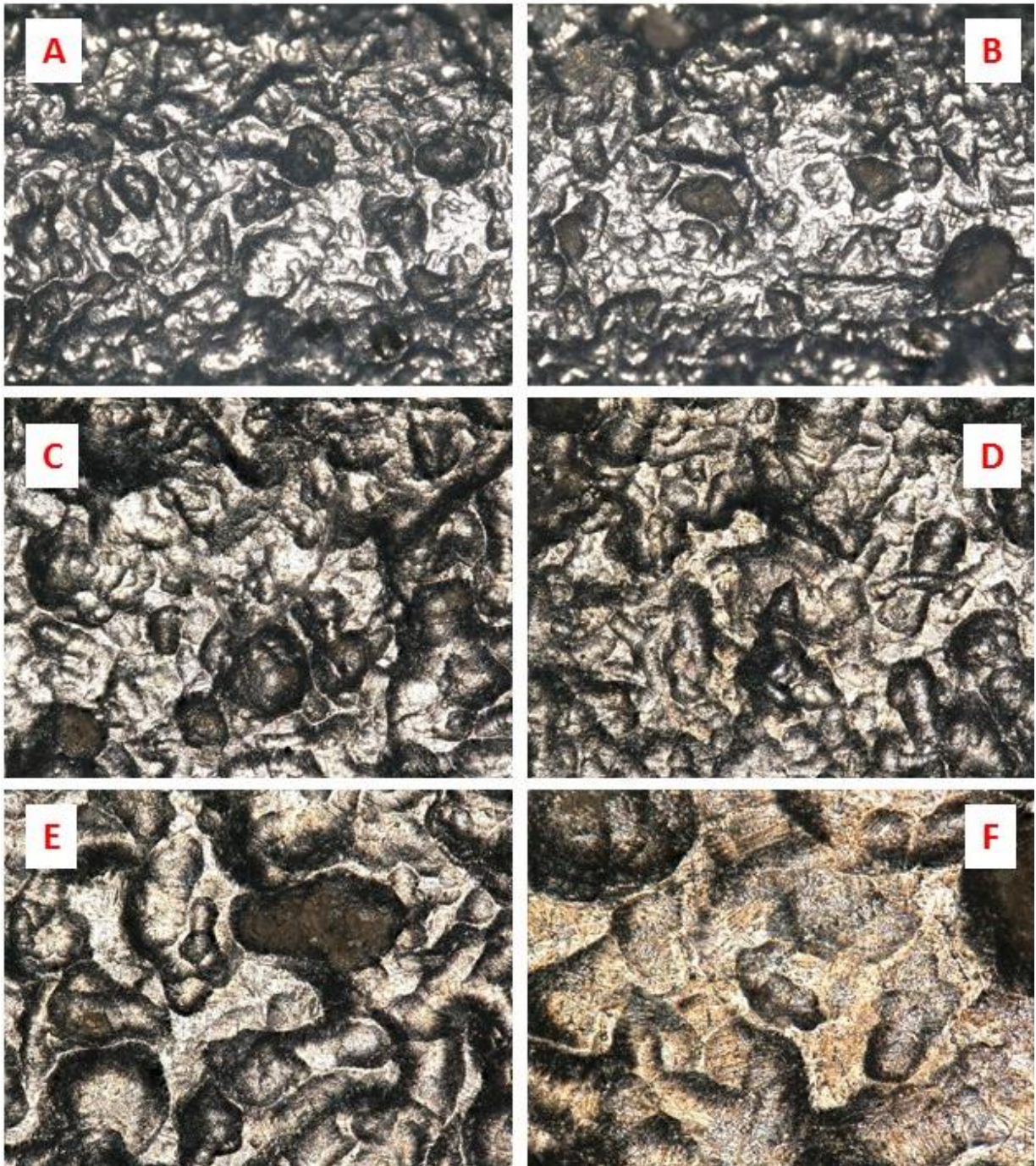
V současné době je velké množství odborných prací věnováno výzkumu povrchu dentálních implantátů, neboť mikrostruktura povrchu hraje významnou roli při interakci s okolní tkání. Výzkum mikrostruktury je zaměřen na optimalizaci systému implantát-tkáň s důrazem na rychlou oseointegraci a dlouhodobou funkčnost dentálního implantátu při zatížení, bez nutnosti reimplantací.

Moje odborná práce se v posledním období (2015-2019) zaměřila na charakteristiku jednotlivých strukturních částí tvořících mikrostrukturu dentálních implantátů využívaných na našem pracovišti. V odborné práci (Bartáková et al., MS in prep.) jsem se zaměřila na kvantifikaci rozdílů v mikrostruktuře povrchu pomocí profilování. Rovněž jsem pomocí matematicko-statistického zpracování určovala mikrodrsnost povrchu, tedy veličinu, která je definována v rozmezí 1–10 μm odchylky od ideálního (hladkého) povrchu implantátu. Použila jsem metodu profilování, která využívá digitální mikroskopie (mikroskop Keyence VHX-5000, Japonsko) založené na technice *Depth-up focus*. Fotografie získané tímto postupem byly uloženy v 2-D a 3-D formátech pro pozdější matematické zpracování (Obr. 49). Prvním krokem zpracování bylo vytvoření 3-D modelu pomocí vyhodnocovacího software (Keyence, Japonsko) a vytvoření profilů povrchu (10 opakování na jeden vzorek). Profilogramy byly v následujícím kroku vizualizovány (viz Obr. 47) a exportovány do formátu cvs. Poté byly matematicko-statisticky vyhodnoceny v Excelu (MS).

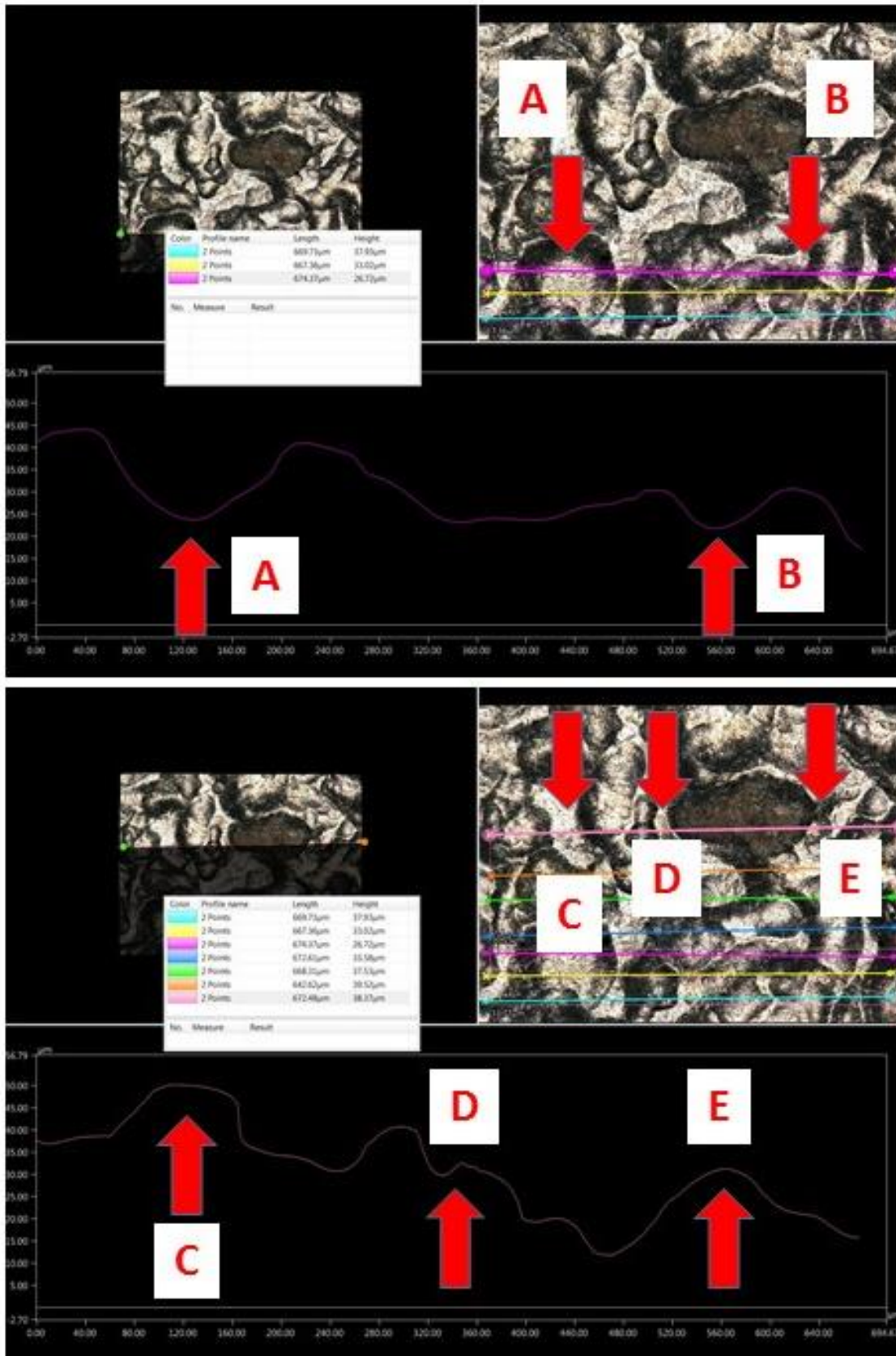
Z výsledků získaných studiem mikropovrchu dentálních implantátů a titanu a titanových slitin zde uvádím příklad povrchu zdrsňené části implantátu PV 3.6-14 (Martikář, SK) - viz Obr. 47. Ze získaných údajů je zřejmé, že rozměry (hloubka) prohlubní dosahuje až desítek mikrometrů (Obr. 50, 51). Rovněž velikost (výška zrn vystupující nad 'průměrnou výšku' povrchu) dosahuje hodnot kolem 10 μm . Dalším příkladem mohou být výsledky získané v dřívější studii (Bartáková et al. 2009), zaměřené na mikrostrukturu povrchu Ti6-Al4-V slitiny. V tomto případě byla drsnost povrchu měřena pomocí AFM mikroskopu Explorer III (mikroskop atomárních sil, AFM - *Atomic Force Microscope*, Veeco, Santa Barbara, Kalifornie, USA) v Českém metrologickém ústavu v Brně (Dr. Petr Klapetek). V tomto případě byla drsnost povrchu v rozmezí 1,0-5,5 mikrometru (viz Obr. 52). Lze tedy konstatovat, že naše práce klasifikovaly povrch materiálů na bázi titanu i dentálních implantátů používaných v praxi. Většina testovaných vzorků vykazovala takzvanou mikrodrsnost (viz tabulka 12).

Makrodrsnost
Makrodrsnost profilu povrchu se pohybuje v rozmezí jednotek milimetrů (mm) až desítek mikrometrů (μm) a souvisí především s geometrií implantátu (závity) a makroporézními povrchovými úpravami.
Mikrodrsnost
Mikrodrsnost je definována v rozmezí 1–10 μm a zvyšuje mechanické ukotvení mezi mineralizovanou kostí a povrchem implantátu. V současné době jsou nejběžnější implantáty s povrchovou drsností 1-2 μm .

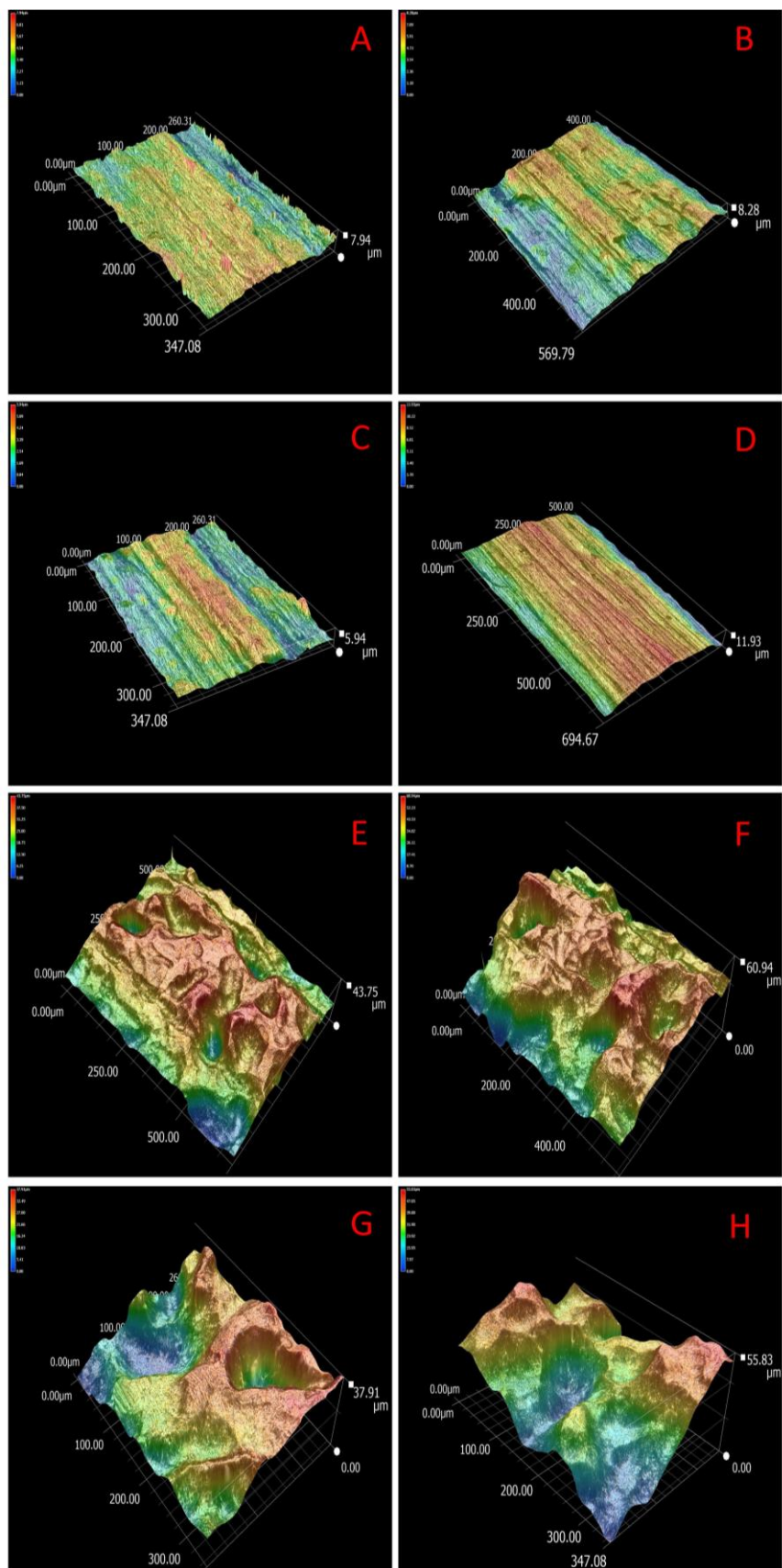
Tabulka 12. Klasifikace makrodrsnosti a mikrodrsnosti. Upraveno dle Albrektsson et Wennerberg (2005).



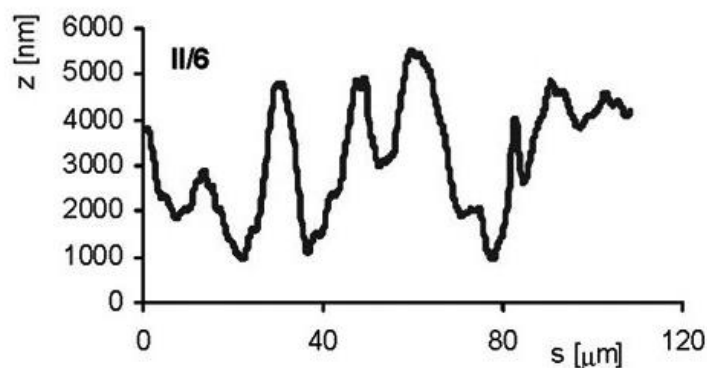
Obr. 49. Povrch implantátu PV 3.6-14 (Martikáš, SK) s typickými výstupky (zrna, světlé útvary) a prohlubněmi (tmavé útvary) o velikost i řádově desítek μm . (Bartáková et al., dosud nepublikováno)



Obr. 50. Profilogram povrchu dentálního implantátu ukazujícího prohlubně (A, B) a výstupky (C, D, E) tvořící mikrostrukturu povrchu (velikost prohlubně a výstupků v rozmezí 5-22 µm). Bartáková et al. (dosud nepublikováno).



Obr. 51. Vizualizace 3-D profilu povrchu čepelkového implantátu z Poldi Titan (A-D) s patrnými podélnými rýhami způsobenými metodou opracování a povrchu. Vizualizace válcového implantátu se zdrsňeným povrchem pro podporu oseointegrace (E-H). Bartáková et al. (dosud nepublikováno).



Obr. 52. Povrch slitiny titanu pískovaný zrnitostí 120 a poté leptaný. Profil měřený pomocí AFM mikroskopu Explorer III (převzato z Bartáková et al. 2009).

Obecně lze získané výsledky shrnout tak, že zkoumané povrchy implantátů vykazovaly různé úrovně drsnosti mikroprofilu ve vztahu k použité metodě úpravy povrchu (Bartáková et al., MS in prep). Tato zjištění zapadají do současné poznatkové báze. Je zřejmé, že leptané povrchy jsou zpravidla charakterizovány přítomností hlubších prohlubní a vyšších výčnělků než je tomu tak u povrchů opracovaných například pískováním (viz např. Marenzi et al. 2019a). Z tohoto důvodu mohou být povrchy leptané kyselinou snadněji poškozeny stresem, který může nastat v kostní tkáni během umístění chirurgického implantátu nebo po implantaci.

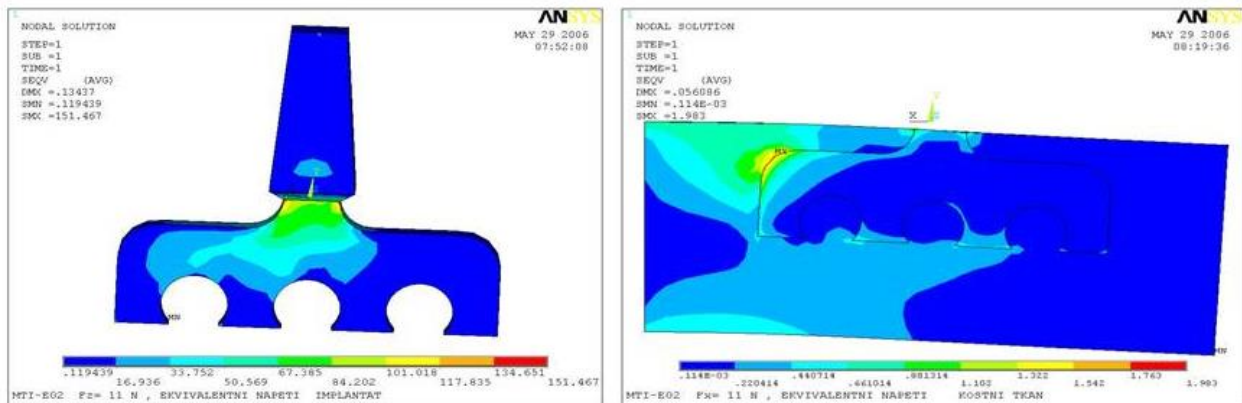
12. 7. Modelování přenosu napětí v systému implantát – kost

V období 2009-2012 jsem se spolu s kolegy z VUT Brno (Z. Florian, Krupa, Kršek, Marcián, Borák) a kolegy ze Stomatologického centra (Stomatologická klinika, LF MU Brno – J. Vaněk, P. Prachár) zabývala problematikou modelování napětí v dentálních implantátech a kostní tkáni za různých situací v dutině ústní (umístění implantátu v čelisti, přenos žvýkacích sil). Výsledky byly publikovány v odborných časopisech (Borák et al. 2010, Marcián et al. 2011) a ve sborníkových příspěvcích. Modelování mělo několik základních fází: (1) Vytvoření 3D modelu dolní čelisti, (2) převod CT dat do systému souřadnic x,y,z, (3) tvorba nemapové 3D sítě popisující tvar čelisti, (4) parametrizace mechanicko fyzikálních vlastostí kostí a periodontia, tj. zadání vhodných hodnot Youngova modulu pružnosti a Poissonovy konstanty, (5) parametrizace působících sil, místo retence implantátu, (6) ladění a validace modelu, (7) simulační výpočet a tvorba grafických výstupů. Pro jednotlivé body postupu bylo zvoleno programové prostředí ANSYS verze 3.5 a programovací prostředek ADPL (*Ansys Parameter Design Language*). Modulární struktura programového prostředí ANSYS umožnila provádět složité výpočty mechanického napětí zájmových třídimenzionálních objektů (implantátů, kosti).

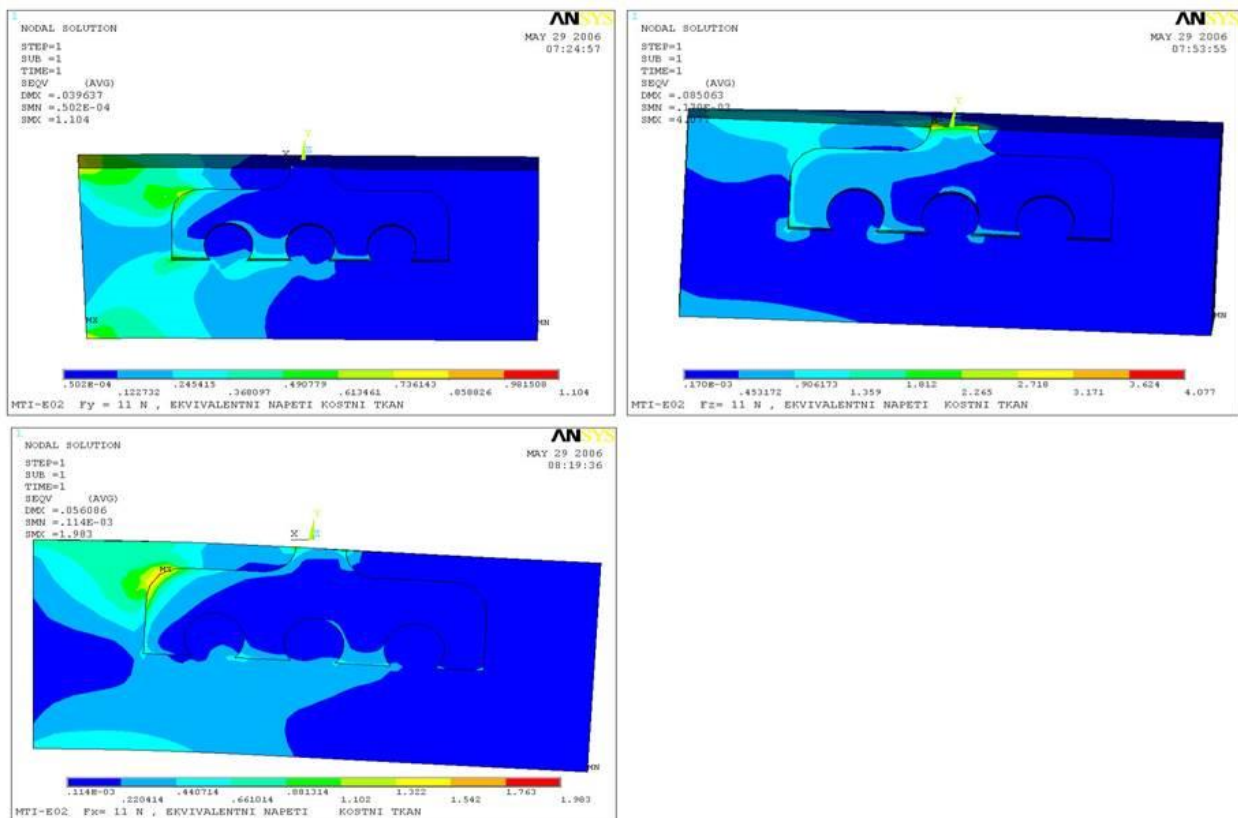
12. 7. 1. Čepelkové implantáty

Tímto způsobem bylo řešeno simulační výpočet pro několik typových situací, například solo implantát v dolní čelisti, čepelkový implantát, válcovitý implantát. V této habilitační práci uvádím několik vybraných příkladů: a) Rozložení napětí v implantátu čepelkovém implantátu MTI02 (Obr. 53, 54) a MTI-06 (Obr. 55).

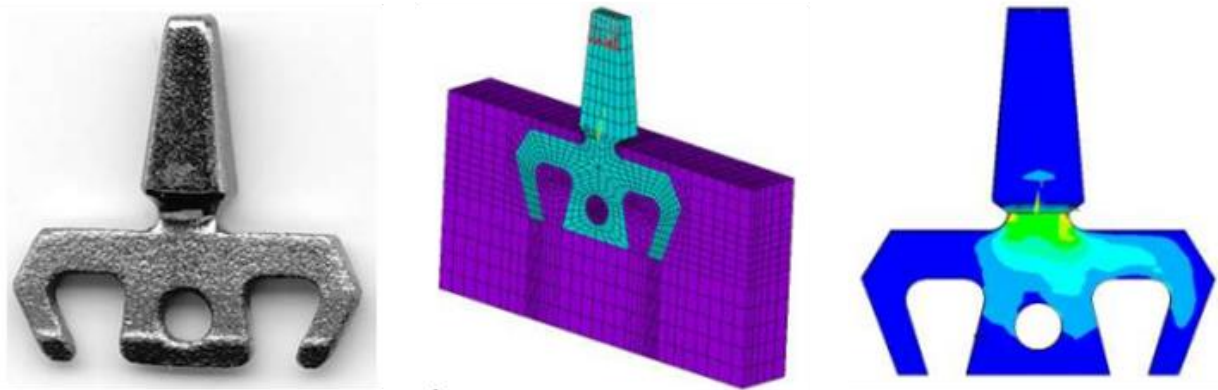
U čepelkového implantátu MTI-02 jsme zjistili, že největší napětí vzniká v oblasti krčku a při mastikační činnosti v distální části těla implantátu. Tomu odpovídalo i vyhodnocené napětí v kosti distálně od těla implantátu a v oblasti krčku.



Obr. 53. Napětí působící v čepelkovém implantátu MTI-02 (vlevo) a v kosti v okolí čepelkového implantátu (vpravo). Upraveno dle Bartáková et al. (2006).



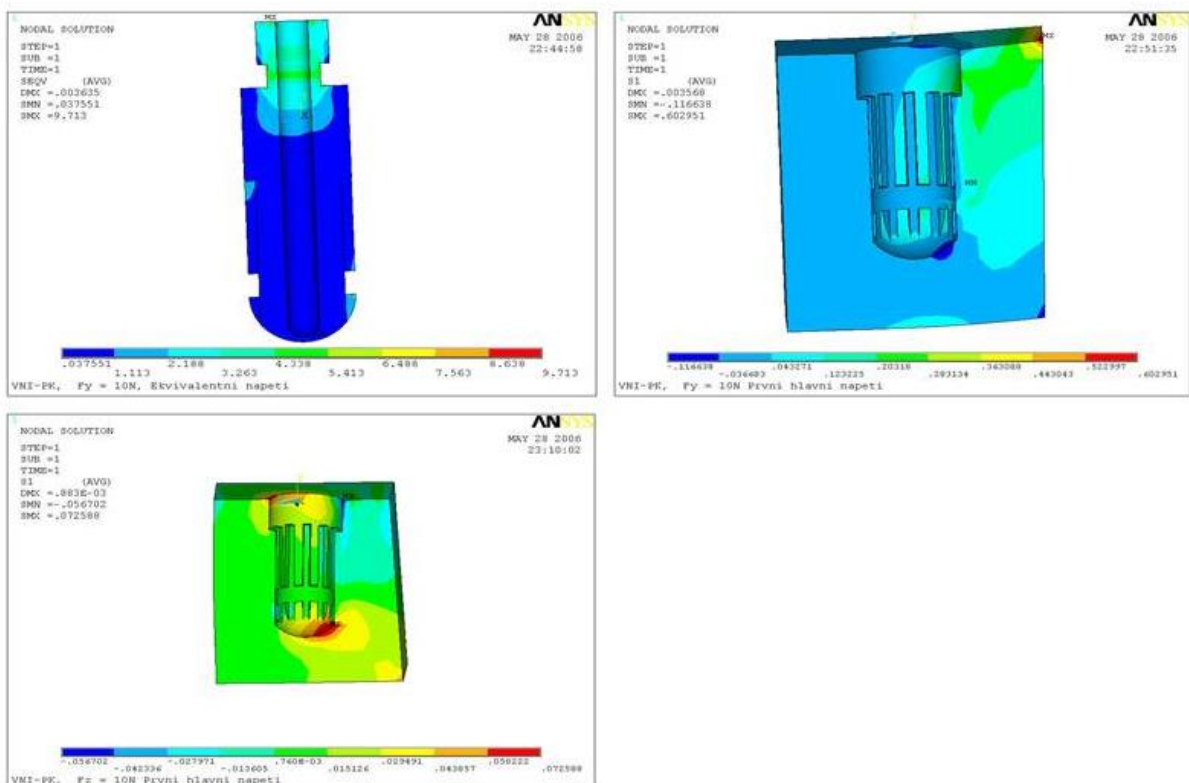
Obr. 54. Horní levý snímek ukazuje svisle působící napětí v kosti v okolí čepelkového implantátu (maximální napětí distálně). Horní pravý ukazuje vestibuloorální sílu (maximální napětí u krčku implantátu) Dolní snímek ukazuje distomesiální sílu (maximální napětí distálně). Upraveno dle Bartáková et al. (2006).



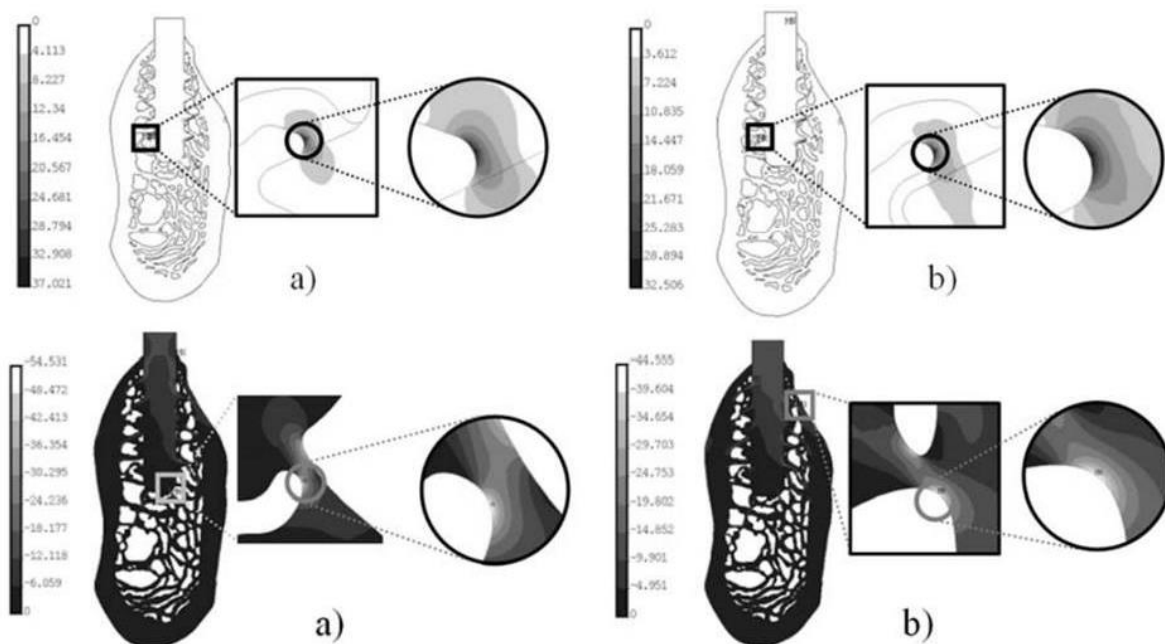
Obr. 55. Čepelkový implantát MTI-06 (vlevo), jeho geometrický model v kostní tkáni (uprostřed) a rozložení hodnot redukovaného napětí v těle čepelkového implantátu (vpravo). Upraveno dle Bartáková et al. (2006).

V případě čepelkového implantátu MTI06 jsme zjistili, že redukované napětí způsobené silou 11 N aplikovanou ve vodorovném směru velikosti dosahuje maximální hodnoty 159,6 MPa, a to v oblasti krčku čepelkového implantátu.

12. 7. 2. Válcové implantáty



Obr. 56. Napětí působící ve válcovém implantátu (vlevo nahoře) a v kosti v okolí válcového implantátu (vlevo dole, vpravo nahoře). Upraveno dle Bartáková et al. (2006).

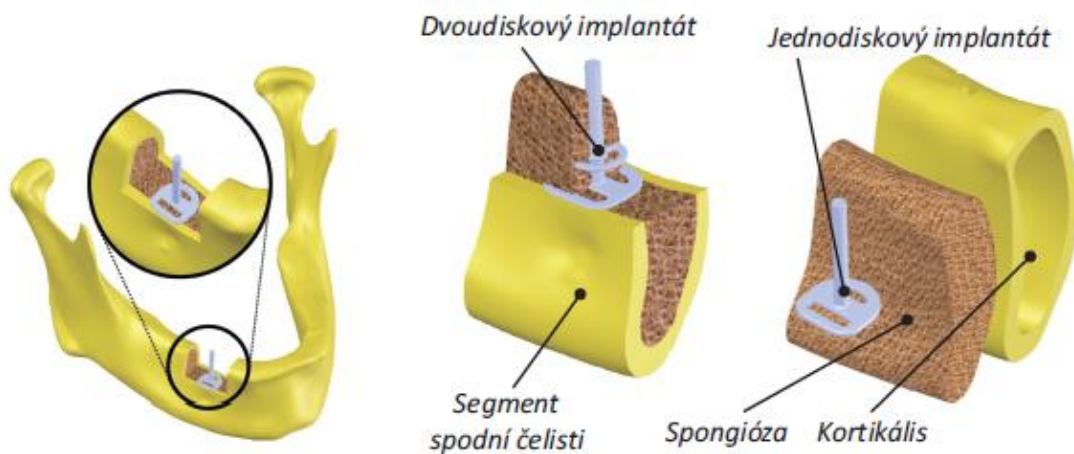


Obr. 57. Celkové napětí působící v okolí implantátu. Upraveno dle Marcián et al. (2009).

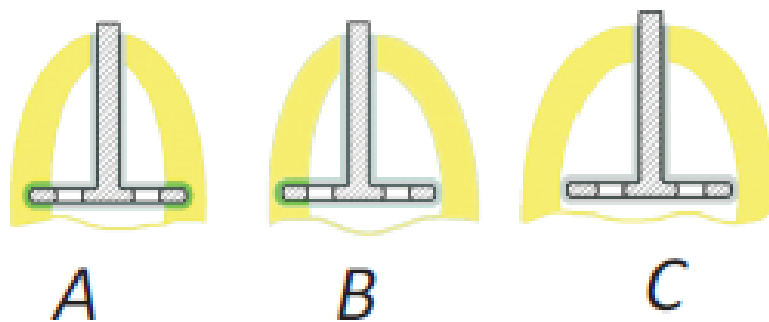
Výsledky tří analyzovaných fází oseointegrace jsou znázorněny na obr. 56. Maximální hodnoty intenzity napětí se vyskytovaly vždy na různých místech (obr. 57). Nejlepším případem je plně oseointegrovaný implantát (Obr. 56 vpravo).

12. 7. 3. Diskové implantáty

Ve spolupráci s Ústavem mechaniky těles, mechatroniky a biomechaniky, VUT FSI v Brně jsem se zaměřila na metody popisující a kvantifikující mechanickou interakci titanového implantátu s kostní tkání. Simulační výpočty byly založeny na modelování kosti a implantátu, a to metodou konečných prvků (FEM - *finite element method*, výpočtová numerická metoda). Nejprve byl vytvořen výpočtový model, který se skládal ze tří relativně nezávislých částí: (1) modelu geometrie, (2) modelu materiálu, (3) výpočtu zatížení a vazeb mezi prvky výpočtového (geometrického) modelu. Model geometrie kosti dolní čelisti byl tvořen 2 cm úsekem dolní čelisti z oblasti prvního moláru. Geometrie čelisti byla získána pomocí optického skeneru ATOS Standard 3D (ATOS, Milán, Itálie) z reálné čelisti. Výpočtové řešení zatížení systému implantát-kost bylo provedeno metodou konečných prvků ve výpočtovém prostředí ANSYS 11. Pro matematickou simulaci byly zvoleny jednodiskové a dvoudiskové implantáty (Obr. 53). Byly modelovány tři různé způsoby uložení diskového implantátu ve vztahu k prostorovému uspořádání: spongiosa, kortikalis a jejich mechanickým vlastnostem (Obr. 58, 59).



Obr. 58. Schématické znázornění modelů geometrie spodní čelisti s diskovými implantáty. Upraveno dle Marcián et al. (2009).



Obr. 59. Schématické znázornění použitých variant uložení diskového implantátu. A - oboustranné uložení v kortikális, B - jednostranné uložení v kortikális, C - uložení ve spongiózní části kosti. Upraveno dle Marcián et al. (2009).

Pro parametrizaci mechanických vlastností spongiózní kostní tkáně byly využity výsledky přímých měření charakterizujících geometrické vlastnosti spongiózní kosti. Potřebné parametry byly stanoveny na tenkých řezech. Na základě testování bylo zjištěno, že maximální možná tloušťka řezu je 0,02 mm. V případě řezů bylo nezbytné volné prostory mezi trámci tvořícími 3D strukturu spongiózní kostní tkáně dokonale vyplnit neprůhlednou látkou (EPOXY 371) tak, aby řez spongiózní kosti byl kompaktní. Zalévání se uskutečňovalo ve vakuu, následovalo barvení látky pryskyřice a bělení kostní tkáně peroxidem vodíku. Poté byla odebrána vrstva kostní tkáně s pryskyřicí strojní frézku pomocí rychlotoáčivého řezného zařízení.

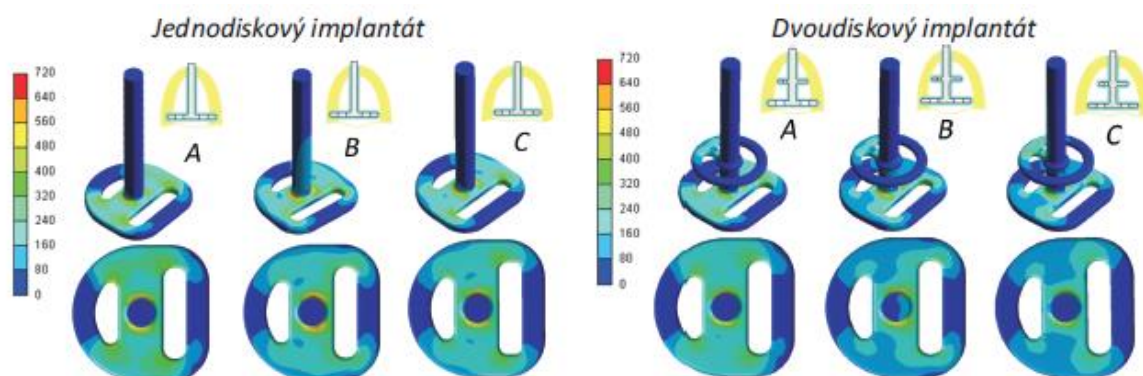
V modelovém výpočtu byl implantát zatížen v koronoapikálním směru silou 190 N. Poté byly vypočteny a vizualizovány hodnoty redukovaného napětí v těle implantátu. Výsledky jsou shrnuty v práci Marcián et al. (2009).



Obr. 60. Kost dolní čelisti (vlevo) použitá pro přípravu tenkých řezů (0,02 mm) pro potřeby parametrizace mechanických vlastností kostní tkáně (spongiozy) - vpravo. Upraveno dle Marcián et al. (2009).

Rozdíl mezi hodnotami redukovaného napětí při různých variantách zavedení A, B, a C (označení viz Obr. 59) je dán průběhy barevných isolinií (Obr. 61). Je zřejmé, že při uložení jednodiskových i dvoudiskových implantátů ve variantě A dojde k rovnoměrnému rozdělení redukovaného napětí po diskové části implantátu na rozdíl od uložení ve variantě B, při které vznikají největší hodnoty redukovaného napětí. Ve variantě C se napětí také rozkládá rovnoměrně.

Na základě napěťově deformační analýzy bylo možno určit riziková místa v těle implantátu, ve kterých byly zaznamenány vysoké hodnoty redukovaného napětí. U diskového implantátu bylo toto místo v oblasti zaoblení, tedy tam, kde krček přechází do disku (Obr. 62) a kde vzniká maximální hodnota napětí. Rizikové napětí dosahovalo hodnot 700 MPa při zavedení implantátu pouze do jedné části kompaktní kosti (viz varianta B). Z klinické praxe jsou známy případy, při kterých došlo k porušení dentálního diskového implantátu právě v tomto místě (Ihde 2004). Přenosem žvýkacích sil na tělo implantátu navíc vzniká napětí, které může vést k zvýšení napětí v okolní kostní tkáni a v kovečném důstředku k defektu kosti (Himmlová et al. 2004).



Obr. 61. Vizualizace rozložení hodnot redukovaného napětí při simulovaném zatížení implantátu silou 190 N. A - oboustranné uložení v kortikalis, B - jednostranné uložení v kortikalis, C - uložení ve spongiozní části kosti. Upraveno dle Marcián et al. (2009).

Přenosem žvýkacích sil na tělo implantátu navíc vzniká napětí, které může vést k zvýšení napětí v okolní kostní tkáni a v kovečném důstředku k defektu kosti (Himmlová et al. 2004).



Obr. 62. Vizualizace lokalizace maximálních hodnot modelového redukovaného napětí v krčku implantátu při simulovaném zatížení implantátu silou 190 N (vlevo, upraveno dle Marcián et al. (2009). Detail lomu v krčkové části diskového implantátu (převzato z Ihde 2004).

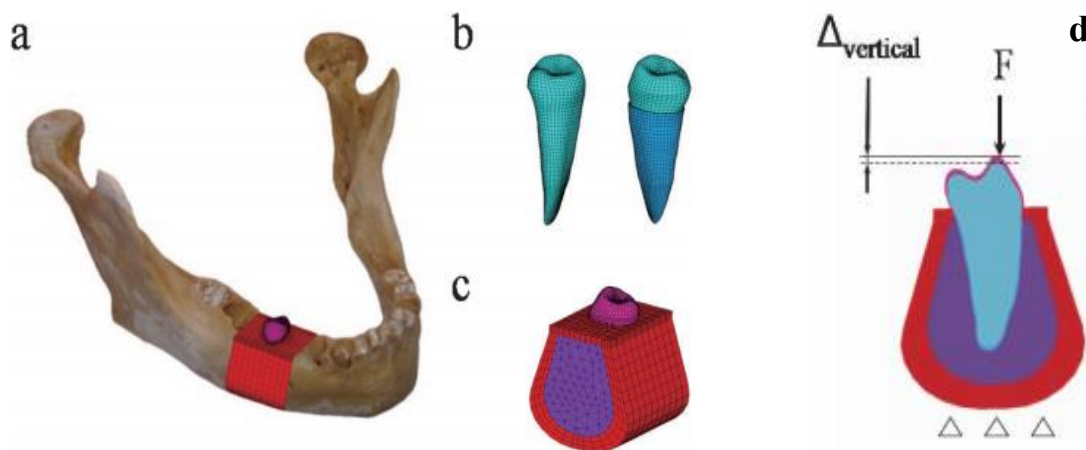
12.8. Modelování periodontia

Ve spolupráci se skupinou z VUT Brno a Tokyo Medical and Dental University (Japonsko) jsem se zabývala problematikou modelování přenosu žvýkacích sil na čelist a určením kritické velikosti působících sil ve vztahu k potenciálním rizikům poškození ústních tkání. Tato práce byla zaměřena na kvantifikaci a rozdělení redukovaného napětí vytvořeného v čelisti při přenosu žvýkacích sil (Borák et al. 2011).

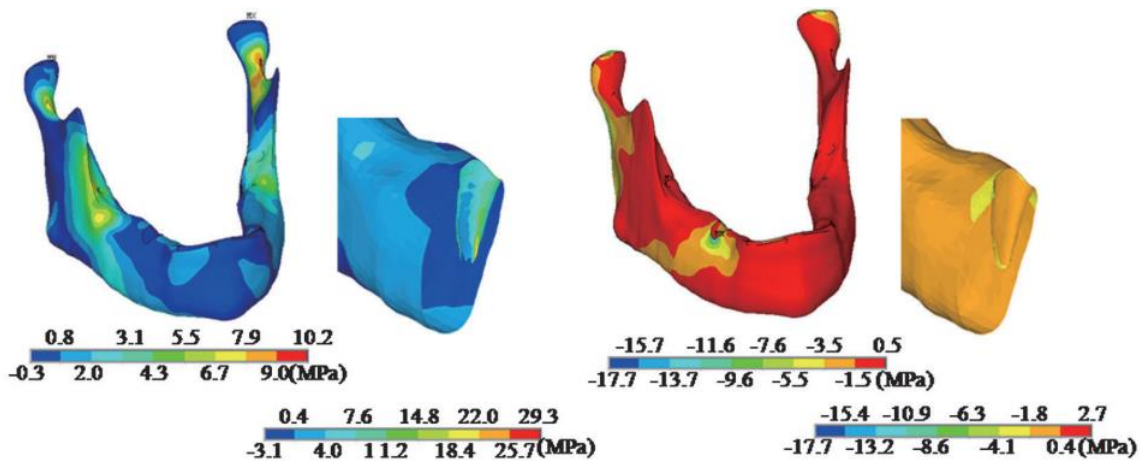
Cílem studie bylo zavést postup pro výpočet Youngových modulů pružnosti (E_1 a E_2 , fáze 1 a fáze 2) periodontálního vazů pro matematický model využitelný pro analýzu rozdělení napětí v čelisti. Hodnoty E_1 byly zvoleny v rozmezí 0,05 až 0,1 MPa. Hodnoty E_2 byly v rozmezí 0,1 až 10,0 MPa. Morfologie kostí a zubů byla skenována z reálných čelistí a zubů. Na základě 3D skenů byl vytvořen geometrický model dolní čelisti pomocí metody FEM.

Model (Obr. 63) ukázal dobrou shodu s dříve zjištěným pohybem premoláru „*in vivo*“. K této shodě došlo, když byly hodnoty Youngova modulu pružnosti E_1 pro první fázový pohyb zubu 0,05 MPa a hodnoty E_2 pro druhou fázi 8,0 MPa. Analýza modelu ukázala, že pozoruhodně vysoké maximum bylo zjištěno pro tlakové napětí v oblasti krčku zubu v kortikální kosti a pro napětí v tahu v oblasti připevnění žvýkacího svalu (Obr. 64).

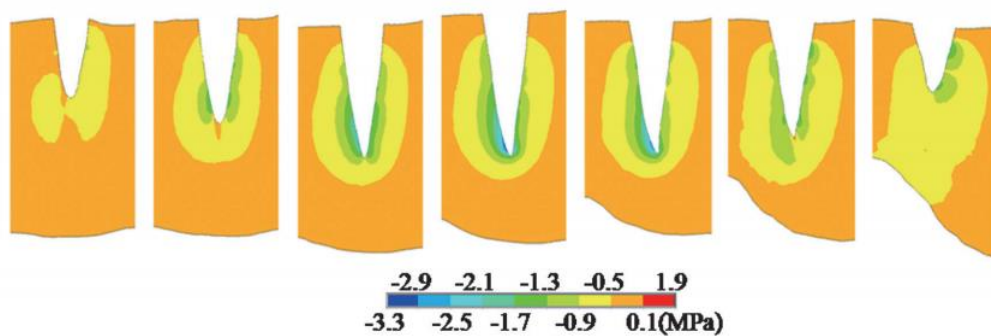
Bilineární elastické vlastnosti použité v modelu byly schopny předpovídat pohyby zubu s dostatečnou přesností. Pro budoucí matematické modely je však nezbytné zohlednit další faktory související s morfologií zubu a čelisti, které mohou mít významný vliv na výsledný výpočtový model a hodnoty napětí, respektive jeho rozložení v kostní tkáni dolní čelisti (Obr. 65). Proto je nezbytná pečlivá individuální parametrizace morfologie.



Obr. 63. Vizualizace geometrického modelu dolní čelisti (a), zubu (b), příčného řezu segmentem dolní čelisti (c) a specifikace směru působící (modelové) síly na zub a čelist. Červená - kortikalis, fialová - spongióza, Světle modrá - zub, tmavě modrá - periodoncium (Upraveno dle Borák et al. 2011).



Obr. 64. Vizualizace rozložení redukovaného napětí v dolní čelisti přizátížení jednoho zubu. Tahové napětí (vlevo) a tlakové napětí (vpravo) jsou znázorněny pro celou čelist a průřez distální polovinou u premoláru (Upraveno dle Borák et al. 2011).



Obr. 65. Vizualizace rozložení redukovaného napětí v okolí jednoho zubu (premoláru). Rozložení napětí spongiózní kosti na řadě průřezů z distální (vlevo) do mesiální (vpravo) roviny (Upraveno dle Borák et al. 2011).

12.9. Průmyslové vzory dentálních implantátů

V rámci Stomatologického výzkumného centra LF MU Brno (2005-2011) jsem se spolu s kolegy z našeho pracoviště (prof. J. Vaněk, MUDr. Patrik Prachár) a dalšími kolegy ze spolupracujících pracovišť podílela na vývoji dentálních implantátů PV-I až PV-V (přehledně viz tabulka 13). Cílem tvorby těchto dentálních implantátů, respektive jejich tvaru, bylo co nejširší možnost využití s ohledem na anatomickou variabilitu čelistí a rovněž indikaci, tedy tak, aby mohly být použity od náhrady jednotlivého zubu až po řešení čelistí bezzubých. Tyto implantáty byly schváleny jako průmyslové vzory. Popis a zkušenosti s těmito implantáty (PV I) byly publikovány v práci Prachár et al. (2015).

Průmyslové vzory zahrnují pět odlišných dentálních nitrokostních implantátů, které se liší svým tvarovým provedením. Nové tvary implantátů zabezpečují především optimální rozložení napětí při zatížení implantátu. Okraj koronární části je zkosen tak, aby pro umožnil hlubšího zavedení implantátu do kosti a zabránil napětí souvisejícímu s resorpcí kosti (corticalis). Implantáty byly konstruovány tak aby měly různé úhly sbíhavosti a měly různé typy a počty závitů přizpůsobené hustotě kosti se zvláštním ohledem na antirotačními prvky.

Dentální implantát I (PV I)

Autoři: Patrik Prachár, Sonia Bartáková, Juraj Strecha, Jiří Vaněk, František Hnilica, Vítězslav Březina, Antonín Martikář

Dentální implantát II (PV II)

Autoři: Patrik Prachár, Sonia Bartáková, Juraj Strecha, Jiří Vaněk, František Hnilica, Vítězslav Březina, Antonín Martikář

Dentální implantát III (PV III)

Autoři: Patrik Prachár, Sonia Bartáková, Juraj Strecha, Jiří Vaněk, František Hnilica, Vítězslav Březina, Antonín Martikář

Dentální implantát IV (PV IV)

Autoři: Patrik Prachár, Sonia Bartáková, Juraj Strecha, Jiří Vaněk, František Hnilica, Vítězslav Březina, Antonín Martikář

Dentální implantát V (PV V)

Autoři: Patrik Prachár, Sonia Bartáková, Juraj Strecha, Jiří Vaněk, František Hnilica, Vítězslav Březina, Antonín Martikář

Tabulka 13. Přehled průmyslových vzorů dentálních implantátů.

12.10. Závěr

Předkládaná habilitační práce je tvořena přehledem současných znalostí o titanu a slitinách titanu z biomedicínského hlediska. Jednotlivé kapitoly úvodní části práce jsou zaměřeny na aspekty důležité pro posouzení biokompatibility, oseointegrace a celkové úspěšnosti zubních implantátů v klinické praxi. Pozornost byla věnována především chemickému složení slitin titanu, mechanickým vlastnostem titanu a jeho slitin, korozivitě a odolnosti vůči mechanickému namáhání a opotřebením. Součástí posouzení vhodnosti titanu a jeho slitin pro zubní implantáty bylo i kritické zhodnocení jednotlivých metod výroby a materiálového zpracování. Nemenší pozornost byla věnována metodám povrchové úpravy materiálu pro podporu biokompatibility.

V práci jsem se zaměřila na popis a zhodnocení jednotlivých metod posouzení biokompatibility titanu a slitin titanu, a to jak v oblasti cytotoxicity materiálu, testů adherence buněk na povrch materiálu, tak v oblasti komplexních metod posouzení biokompatibility. Pozornost jsem věnovala i faktorům ovlivňujícím oseointegraci, tedy procesu vytváření povrchu TiO₂ a povlakování povrchu materiálu pro podporu oseointegrace. V neposlední řadě je obecná část práce věnována i současným trendům ve výzkumu titanu a titanových slitin pro budoucí uplatnění v zubní implantologii a klinickým testům.

Ve druhé části habilitační práce jsem se zaměřila na popis vlastních výsledků získaných v dané problematice v období 2003-2020. Výsledky byly publikovány v odborných časopisech a v habilitační práci jsem stručně popsala problematiku jednotlivých studií a uvedla hlavní výsledky. Získané poznatky a závěry těchto prací lze shrnout takto:

1. Testy cytotoxicity slitin titanu a zušlechťujících (legujících) prvků prokázaly, že vhodnost příměsí klesá v pořadí Ta Ni Va Mo.
2. V experimentu využívajícím simulované tělní tekutiny pro posouzení korozivity Ti-Nb-Ta byla prokázána malá korozivita a stinaTi-33.5Ni-5.7Ta byla charakterizována jako biokompatibilní a vhodná pro výrobu zubních implantátů.
3. Testy adherence buněk na povrch slitin titanu a různých legujících prvků (Ta, Fe, Nb, V, Mo) prokázaly, že ionty Fe a V snižují rychlost adherence a plochu pokrytí povrchu testovaného materiálu.
4. V testech bylo prokázáno, že metoda úpravy povrchu výrazně ovlivňuje růst lidských osteoblastů na povrchu Ti. Růst osteoblastů byl podpořen na leštěném a leptaném povrchu oproti pouze leštěnému povrchu. Adsorpci fibrinogenu podpořila úprava povrchu: uhlovodíkové povlaky obohacené titanem.
5. Mikrorelief povrchu materiálu (*microroughness*) pozitivně ovlivňuje adsorpci deoxynukleotidů na povrch titanu. Vhodnou mikro- a nano- strukturu lze sledovat pomocí difrakčního optického sensoru.
6. *In vitro* studie prokázala vhodnost povlakování povrchu titanu hydroxyapatitem (naprašovaný HA), a to pomocí hodnocení adherence, hustoty a růstu buněk kostní dřene laboratorních krys. Vhodnost povlakování pro adherenci buněk byla potvrzena i pomocí vybraných markerů (množství DNA a alkalické fosfatázy).
7. Testy dentálních implantátů VP uskutečněné *in vivo* v holenní kosti miniprasátek (ve spolupráci s Tokijskou lékařskou a dentální univerzitou) prokázaly dobrou oseointegraci a stabilitu implantátů v kosti (ISQ – *implant stability quotient*).

8. Pro biointegraci zubního implantátu je důležitá mikro- a nano- struktura povrchu. Naše studie prokázaly, že pomocí mikroskopických technik AFM (*Atomic force Microscopy*) a 3Digitální mikroskopie (*3-D digital microscopy*) lze účinně kontrolovat vhodnost struktury povrchu vzniklou po ukončení technologické fáze, tedy po jednotlivých typech opracování (úpravy) povrchu.
9. Matematickým modelováním v programovém prostředí ANSYS lze pomocí deformační analýzy určit části zubních implantátů (v habilitační práci jsou uvedeny čepelkové, válcové, diskové implantáty), které po zavedení do kostní tkáň vykazují kriticky vysoké hodnoty napětí. Lze tak indikovat potenciální zlomy zubních implantátů
10. Matematickým modelováním systému implantát-kost a simulací různě velikých žvýkacích sil působících na implantát lze simulovat a predikovat vznik kritického napětí v periodonciu a okolní kosti. Tato místa jsou riziková z hlediska vzniku resorpce kosti.

Závěrem lze říci, že předkládaná habilitační práce shrnuje současné poznatky o titanu a slitinách titanu z hlediska materiálových vlastností a biokompatibility a oseointegrace. Rovněž představuje průřez odbornou prací autorky za posledních 15 let. Na základě této habilitační práce lze shrnout, že problematika titanu a jeho slitin se v oblasti výzkumu a klinické praxe dynamicky vyvíjí a díky rychlému rozvoji technologií je příslibem pro široké uplatnění těchto materiálů v zubním lékařství.

12.11. Seznam publikací autorky v období 2003-2019

2003

Bartáková, S., Suchánek, J., Mičulka, J., Vaněk, J.: Computer simulation of bony tissue response to a partial removable denture fitted to a lower jaw. *Scr. Medica* 2003, 76, s. 21-28.

2004

Bartáková, S., Vaněk, J.: Index CPITN u fixních protetických náhrad z Wironu a drahokovu Aurixu. *Čes. Stomat.* 2004, 104, č. 104, s. 135-139, ISSN 1210-7891

2005

Prachár P., Vaněk J., **Bartáková S.**, Březina V.: Růst buněk stabilizované buněčné linie HeLa ve vyluhu chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Prakt. Zub. Lék.*, roč. 53, 2005, č. 1, s. 12-14. ISSN 1213-0613.

Prachár P., Vaněk J., Cvrček L., **Bartáková S.**: Vlastnosti povrchové vrstvy chromkobaltové slitiny povlakované nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Prakt. Zub. Lék.*, roč. 53, 2005, č. 4, s. 65-67. ISSN 1213-0613.

Vaněk J., Prachár P., **Bartáková S.**, Březina V., Freyburg L.: Biologické testy chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Čes. Stomat.*, roč. 105, 2005, č. 6, s. 149-153. ISSN 1213-0613.

2007

Bartáková, S., Prachár, P., Cvrček, L., Březina, V., Vaněk, J.: Vyhodnocení chemické stability povlakované vrstvy nitridu zirkonia na základní konstrukci z chromkobaltové slitiny. *Prakt. zub. Léč.*, Roč. 55, 2007, č. 4, s. 63-66.

Vetterl V., Vaněk J., Silvenninen M., Hasoň S., Strašák L., Černochová P., Prachár P., **Bartáková S.**, Jančářová E., Matalová S.: *Biophysical approaches in dentistry. European Biophysics Journal*, Berlín Heidelberg, 2007, vol. 36, s. 168. ISSN 1432-1017.

2008

Bartáková, S., Prachár, P., Vaněk J.: Klasifikace defektů chrupu. *StomaTeam*, 2/2008, roč. 8, s. 18-20, ISSN 1214-147X.

Bartáková, S., Prachár, P., Vaněk, J.: Klasifikace Defektů chrupu II. *StomaTeam*, 3/2008, roč. 8, s. 24-26, ISSN 1214-147X.

Vaněk J., Březina V., Prachár P., **Bartáková S.**, Jenča A. Regenerace mezenchymálních pluripotentních buněk maxilofaciální tkáně v experimentu in vitro; Biomedicíncké postupy, Zborník referátov, Slovensko, Košice, 2008, s. 8-12, ISBN 978-80-89361-28-1.

Prachár P., **Bartáková S.**, Kuklová J., Špička M., Vaněk J., Strecha J.: Získané hypodoncie – nádor a ozáření ve spojitosti s implantologií. Biomedicíncké postupy, Zborník referátov, Slovensko, Košice, 2008, s. 123-130, ISBN 978-80-89361-28-1.

Prachár P., **Bartáková S.**, Augustin P., Strecha J., Vaněk J. Paréza n. facialis v dětství a hypodoncie. Biomedicíncké postupy, Zborník referátov, Slovensko, Košice, 2008, s. 165-171, ISBN 978-80-89361-28-1.

Prachár P., **Bartáková S.**, Vaněk J. Lymfangioma faciei a hypodoncie. Biomedicíncké postupy, Zborník referátov, Slovensko, Košice, 2008, s. 176-181, ISBN 978-80-89361-28-1.

Prachár P., **Bartáková S.**, Černochová P., Vaněk J. Ektodermální dysplazie a dentální implantologie. Biomedicíncké postupy, Zborník referátov, Slovensko, Košice, 2008, s. 221-227, ISBN 978-80-89361-28-1.

Bartáková, S., Roubalíková, L., Vaněk, J.: E-learning ve stomatologii a zubním lékařství, MEFANET report 01, ISBN 987-80-4539-2

Tuononen, H., Sivennoinen, M., Myller, K., Silvennoinen, R., Vetterl, V., Vaněk, J., Hasoň, S., **Bartáková, S.** (2008): Optical sensing of attached ODN and dsDNA molecules on biomaterial surface. Proceedings of the 2nd International Topical Meeting on Optical Sensing and Artificial Vision (OSAV'2008), Saint Petersburg, Russia. 2008, p. 262-269.

2009

Bartáková, S., Prachár, P., Strecha, J., Podhorná, B., Březina, V., Vaněk, J. Titanové slitiny s příměsí železa: Analýza materiálových vlastností, biokompatibility a vhodnosti pro aplikaci v

dentální implantologii. *Stomatológ*, Bratislava: Slovenská komora zubných lekárov, 2009, XIX, 2, od s. 19-24, 6 s. ISSN 1335-0005.

Bartáková, S., Prachár, P., Kudrman, J., Březina, V., Podhorná, B., Černochová, P., Vaněk, J., Strecha, J. (2009): New titanium β alloys for dental implantology and their laboratory-based assays of biocompatibility. *Scripta Medica*, 2009, 82: 76-82.

Bartáková, S., Prachár P., Hasoň S., Silvennoinen R., Cvrček L., Strašák L., Fojt L., Avranas A., Vetterl V. (2009): Biofyzikální mechanismy určující biokompatibilitu dentálních implantátů a podmiňující jejich oseointegraci. *Česká stomatologie*, 2009, 109: 48–53.

Prachár, P., **Bartáková, S.**, Strecha, J., Březina, V., Kudrman, J. Struktura implantátů ovlivňuje růst buněk. *Stomatológ*, Bratislava: Slovenská komora zubných lekárov, 2009, XIX, 2, od s. 16-18, 3 s. ISSN 1335-0005.

Strecha, J., Jurkovič, R., Siebert, T., **Bartáková, S.** Poextrakčné augmentácie alveolárneho hrebeňa maxily. *Stomatológ*, Bratislava: Slovenská komora zubných lekárov, 2009, XIX, 2, od s. 45-51, 7 s. ISSN 1335-0005.

Strecha, J., Jurkovič, R., Siebert, T., Prachár, P., **Bartáková, S.** Plastika vestibularnej steny alveolárneho výbežku maxily periostálnym lalokom. *Stomatológ*, Bratislava: Slovenská komora zubných lekárov, 2009, XIX, 1, od s. 26-30, 5 s. ISSN 1335-0005.

Strecha, J., Jurkovič, R., Siebert, T., **Bartáková, S.**, Fojtíková, E. Individuálna titanokeramická nadstavba. *Česká stomatologie*, Praha: Česká lékařská společnost J.E.Purkyně, 2009, 109, 5, od s. 92-97, 6 s. ISSN 1213-0613.

Strecha, J., Jurkovič, R., **Bartáková, S.**, Siebert, T., Prachár, P. Implantologická liečba po parodontickej deštrukcii alveolárnej kosti. *Stomatológ*, Bratislava: Slovenská komora zubných lekárov, 2009, XIX, 3, od s. 28-32, 5 s. ISSN 1335-0005.

Bartáková, S., Prachár, P., Kudrman, J., Podhorná, B., Březina, V., a Strecha, J. Binární titan-niobové slitiny a jejich biokompatibilita. *Stomatológ*, Bratislava: Slovenská komora zubných lekárov, 2009, IX, 1, od s. 39-42, 4 s. ISSN 1335-0005. 2009.

2010

Silvennoinen, R., Hasoň S., Vetterl, V., Penttinen, N., Silvennoinen, M., Myller, K., Černochová, P., **Bartáková, S.**, Prachár, P., Cvrček, L.: Diffractive-optics-based sensor as a tool for detection of biocompatibility of titanium and titanium-doped hydrocarbon samples. *Applied Optics*. 2010, 49:5583-5591, ISSN: 0003-6935, IF 1,410.

Borák, L., Marcián, P., Florián, Z., **Bartáková, S.**: Biomechanical Study of Disk Implants, Part I. *Engineering Mechanics*, 2010, roč. 17, č. 1, s. 49-60. ISSN: 1802- 1484.

Strecha, J., Jurkovic, R., Siebert, T., Prachár, P., **Bartáková, S.**: Fixed Bicortical Screw and Blade Implants as a Non-Standard Solution to an Edentulous (Toothless) Mandible. *Int. J. Oral Sci.*, 2, od s. 105-110, 6 s. ISSN 1674-2818. 2010. doi:10.4248/IJOS10030

2011

Borák, L., Florian, Z., **Bartáková, S.**, Prachár, P., Murakami, N., Ona, M., Igarashi, Y., Wakabayashi, N.: Bilinear elastic property of the periodontal ligament for simulation using a finite element mandible model. *Dental Material Journal*, 2011, 30:448-454. ISSN: 0287-4547, IF 0,93.

Hao, J., Kuroda, S., Ohya, K., **Bartáková, S.**, Aoki, H., Kasugai, S.: Enhanced osteoblast and osteoclast responses to a thin film sputtered hydroxyapatite coating. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2011, 22:1489-99. ISSN: 0957-4530 (print version), ISSN: 1573-4838 (electronic version), IF 2,325.

Prachár, P., **Bartáková, S.**, Kassugai, S., Martikáň, A., Martikáň, T., Vaněk, J.: Povlakování HA u modifikace implantátu PV I, *Stomatológ*, 2011, Bratislava, 21, 1, s. 48- 54, 7 s. ISSN 1335-0005.

Strecha, J., **Bartáková, S.**, Prachár, P.: Dolná snímateľná totálna zubná náhrada podopretá bikortikálnymi skrutkovými implantátmi. *Stomatológ*, Bratislava, 2011: Slovenská komora zubných lekárov, 21, 1, od s. 42-47, 6 s. ISSN 1335-0005.

Prachár, P., **Bartáková, S.**, Kuklová, J., Strecha, J., Vaněk, J.: Možnosti ošetření u ektodermální dysplazie. *Stomatológ*, Bratislava: Slovenská komora zubných lekárov, 21, 3, od s. 25-29, 5 s. ISSN 1335-0005. 2011

2012

Málek J., Hnilica F., Smola B., **Bartáková S.**, Vaněk J.: The influence of chemical composition and thermo-mechanical treatment on Ti-Nb-Ta-Zr alloys. *Materials and Design*, 2012, 35: 731-740. ISSN: 0261-3069, IF: 2,200.

Málek, J., Hnilica, F., Veselý, J., Smola, B., **Bartáková, S.**, Vaněk, J.: Microstructure and mechanical properties of Ti-35Nb-6Ta alloy after thermomechanical treatment. *Materials Characterization*, 2012, 66: 75-82. ISSN 1044-5803. IF 1,572.

Tsutsumi, Y., **Bartáková, S.**, Prachár, P., Yalatu, S., Migita, S., Doi, H., Nomura, N., Hanawa, T. Long-Term Corrosion Behavior of Biocompatible β -Type Ti Alloy in Simulated Body Fluid. *Journal of The Electrochemical Society*, 2012, 159: 435-440, ISSN: 0013-4651. IF 2,59.

Marcián, P., Borák, L., Florián, Z., **Bartáková, S.**, Konečný, O., Navrátil, P. Biomechanical study of the bone tissue with dental implants interaction. *Applied and Computational Mechanics*, 2012, roč. 2011, č. 2, s. 173-186. ISSN: 1802- 680X.

2013

Prachár, P., **Bartáková, S.**, Černochová, P., Vaněk, J. (2013): Dentální implantologie při léčbě následků parézy nervus facialis v dětském věku. *Česká stomatologie a Praktické zubní lékařství*, Praha, Česká lékařská společnost Jana Evangelisty Purkyně. ISSN 1213-0613, 2013, vol. 113, no. 5, pp. 120-125.

2014

Prachár, P., **Bartáková, S.**, Vaněk, J. (2014): The titanium PV I endosteal implant from beta-titanium alloy Ti 38Nb 6Ta. *Biomedical Papers*, Doi: 10.5507/bp.2014.011.

2015

Bartáková, S., Prachár, P., Dvořák, I., Hrubý, V., Vaněk, J., Pospíchal, M., Svoboda, E., Martikář, A. (2015): Mechanical properties and microstructure of Ti-35.5Nb-5.7Ta beta alloy: Optimization of material processing for the alloy application in dental implantology. *Bratislava Medical Journal - Bratislavské lekárske listy*, 116(2): 88-92. AEPRESS, Slovakia. ISSN 0006-9248. doi:10.4149/BLL_2015_016.

Prachár, P., **Bartáková, S.**, Březina, V., Cvrček, L., Vaněk, J. (2015): Cytocompatibility of implants coated with titanium nitride and zirconium nitride. *Bratislava Medical Journal*, Bratislava, Slovakia. 116(3):154-6, ISSN 0006-9248.

2018

Málek, J., Hnilica, F., **Bartáková, S.**, Mika, P., Veselý, J. (2018): The effect of different forms of oxygen on properties of beta titanium alloys. *Acta Polytechnica*, 58: 179-183.

2019

Bartáková, S., Málek, J., Prachár, P. (2019): The Effect of Oxygen Addition on Microstructure and Mechanical Properties of Various Beta-Titanium Alloys. *JOM*, The Journal of Minerals, Metals & Materials Society. <https://doi.org/10.1007/s11837-019-03879-w>. Publikováno elektronicky: 29.10.2019, publikování fyzické kopie: duben 2020.

13. Seznam použité literatury

1. **Aalam, A.A., Nowzari, H.** (2005): Clinical Evaluation of Dental Implants with Surfaces Roughened by Anodix Oxidation, Dual-Etching Implants, and Machined Implants. *Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 20: 793-798.
2. **Adya, M., Alam, T., Ravindranath, T., Mubeen, A., Saluja, B.** (2005): Corrosion in titanium dental implants: literature review. *Journal of Indian Prosthodontic Society*, 5: 126-131.
3. **Afzali, P., Ghomashchi, R., Oskouei, R.H.** (2019): On the Corrosion Behaviour of Low Modulus Titanium Alloys for Medical Implant Applications: A Review. *Metals*, 9: 878.
4. **Acharya, T., Panicker, A.G., Gopal, V., Dabas, S.S., Manivasagam, G., Suwas, S., Chatterjee, K.** (2020): Surface mechanical attrition treatment of low modulus Ti-Nb-Ta-O alloy for orthopedic applications. *Materials Science and Engineering: C*. E-aheadd publication No. 110729.

5. **Albrektsson, T., Berglundh, T., Lindhe, J.** (2003): Osseointegration: Historic background and current concepts. In: *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*, 4th ed., Blackwell Munksgaard, Oxford, p. 809 – 820.
6. **Albrektsson, T., Wennerberg, A. (2005):** The impact of oral implants - past and future. *Journal of Canadian Dental Association*, 71: 327 s.
7. **Albrektsson, T., Wennerberg, A. (2019):** On osseointegration in relation to implant surfaces. *Clinical Implant Dental Related Research*, 21: 4–7.
8. **Alghamdi, H.S., Cuijpers, V.M.J.I., Wolke, J.G.C., van den Beucken, J.J.J.P., Jansen, J.A.** (2013): calcium-phosphate-coated Oral Implants Promote Osseointegration in Osteoporosis. *Journal of Dental Research*, DOI: 10.1177/0022034513505769.
9. **Alla, R.K., Ginjupalli, K., Upadhya, N., Shamma, M., Ravi, R.K., Sekhar, R.** (2011): Surface Roughness of Implants: A Review. *Trends Biomaterials and Artificial Organs*, 25: 112-118.
10. **Al Mugeiren, O.M., Baseer, M.A.** (2019): Dental implant bioactive surface modifiers: An update. *Journal of International Society of Preventive Community Dentistry*. 9: 1-4.
11. **Andrade, A., Morcelli, A., Lobo, R.** (2010): Deformation and fracture of an alpha/beta titanium alloy. *Matéria*, 15: 364-370.
12. **Annunziata, M., Oliva, A., Basile, M.A., Giordano, M., Mazzola, N., Rizzo, A., Lanza, A., Guida, L.** (2011): The effects of titanium nitride coating on the topographic and biological features of TPS implant surfaces. *Journal of Dentistry*, 39: 720–728.
13. **Archbold, J.** (1999): Sintering temperature effect on the mechanical properties of porous-coated Ti-6Al-4V ELI alloys. Thesis, University of Ottawa, 96 s.
14. **Aried, N., Kangasniemi, I., Soderling, E., Narhi, T.O.** (2018): Ultraviolet photofunctionalization of nanostructured titanium surfaces enhances thrombogenicity and platelet response. *Journal of Materials Science. Materials in Medicine*, 29: 56.
15. **Ashby, M.F.** (1974): A first report on sintering diagrams, *Acta Metalurgica*, 22: 275-288.
16. **Ataya, A., Kline, K.P., Cope, J., Alnuaimat, H.** (2015): Titanium exposure and yellow nail syndrome. *Respiratory Medicine Case Reports*, 16: 146-147.

17. **Azarniya, A., Colera, X.G., Mirzaali, M.J., Sovizi, S., Bartolomeu, F.** et al. (2019): Additive manufacturing of Ti-6Al-4V parts through laser metal deposition (LMD): Process, microstructure, and mechanical properties. *Journal of Alloys and Compounds* 804: 163-191.
18. **Babuška, V., Dobrá, J., Kulda, V., Kripnerová, M., Moztarzadeh, A., Bolek, L. Lahoda, J., Hrušák, D.** (2015): Comparison of Fibroblast and Osteoblast Response to Cultivation on Titanium Implants with Different Grain Sizes. *Journal of Nanomaterials*, Volu. 2015, Article ID 920893, 9 pages. <https://doi.org/10.1155/2015/920893>
19. **Bania, P.J.** (1993): Titanium Alloys in the 1990's. In: D. Eylon, R.R. Boyer, D.A. Koss (Eds.): *The Mineral, Metals & Materials Society*, Warrendale, PA, 1993, pp. 3–14.
20. **Bartáková, S.** (2005): Protetické řešení zkráceného zubního oblouku. *Doktorská disertační práce. Lékařská fakulta Masarykovy univerzity, Brno.* 94 s.
21. **Bartáková, S., Málek, J., Prachár, P.** (2019): The Effect of Oxygen Addition on Microstructure and Mechanical Properties of Various Beta-Titanium Alloys. *JOM*, <https://doi.org/10.1007/s11837-019-03879-w> 2019 The Minerals, Metals & Materials Society.
22. **Bartáková S., Prachár P., Cvrček L., Březina V., Vaněk J.** (2007): Vyhodnocení chemické stability povlakované vrstvy nitridu zirkonia na základní konstrukci z chromkobaltové slitiny. *Praktické zubní Lékařství*, 55: 63–66
23. **Bartáková, S., Prachár, P., Kudrman, J., Březina, V., Podhorná, B., Černochová, P., Vaněk, J., Strecha, J.** (2009a): New titanium β alloys for dental implantology and their laboratory-based assays of biocompatibility. *Scripta Medica*, 82: 76-82.
24. **Bartáková, S., Prachár, P., Strecha, J., Podhorná, B., Kudrman, J., Hnilica, F., Březina, V., Vaněk, J.** (2009b): Titanové slitiny s příměsí železa: Analýza materiálových vlastností, biokompatibility a vhodnosti pro aplikaci v dentální implantologii, *Stomatológ*, 19: 19-24.
25. **Bartáková S., Prachár P., Kudrman J., Podhorná B., Černochová P., Březina V.** (2009c): Binární titan-tantalové slitiny a jejich biokompatibilita. *Praktické zubní lékařství*, 57: 37-40.
26. **Bartáková S., Prachár P., Kudrman J., Podhorná B., Černochová P., Podhorná, B., Březina V., Strecha, J.** (2009d): Binární titan-niobové slitiny a jejich biokompatibilita. *Stomatológ*, Bratislava: 19: 39-42.
27. **Bartáková S., Prachár P., Hasoň S., Silvennoinen R., Cvrček L., Strašák L., Fojt L., Avranas A., Vetterl V.** (2009e): Biofyzikální mechanismy určující biokompatibilitu dentálních implantátů a podmiňující jejich oseointegraci. *Česká stomatologie*, 109: 48 –53.

28. **Bartáková S., Prachár P., Dvořák I., Hrubý V., Vaněk J., Pospíchal M., Svoboda E., Martikář A., Konečná H., Sedlák I.** (2015): Mechanical properties and microstructure of Ti-35.5Nb-5.7Ta beta alloy: Optimization of material processing for the alloy application in dental implantology. Bratislava Medical Journal - Bratislavské lékařské listy, 116: 88-92.

29. **Bartáková, S., Suchánek, J., Mičulka, J., Vaněk J.** (2003): Computer Simulation of Bony Tissue Response to a Partial Removable Denture Fitted to a Lower Jaw. Scripta medica, 76: 21-28.

30. **Black, J. (1992):** Biological Performance of Materials: Fundamentals of Biocompatibility, 2nd ed., Marcel Dekker.

31. **Bonollo, F., Natali, A. N., Pavan, P. G.** (2003): Dental devices in titanium-based materials via casting route. In: Dental Biomechanics . 1st edition. Taylor & Francis Group, p. 90-110.

32. **Borák, L., Florián, Z., Bartáková, S., Prachár, P., Murakami, N., Ona, M., Igarashi, Y., Wakabayashi, N.** (2011): Bilinear elastic property of the periodontal ligament for simulation using a finite element mandible model. Dental Materials Journal, 30: 448-454.

33. **Borsari, V., Giavaresi, G., Fini, M., Torricelli, P., Salito, A., Chiesa, R., Chiusoli, L., Volpert, A., Rimondini, L., Giardino, R.** (2005): Physical characterization of different-roughness titanium surfaces, with and without hydroxyapatite coating, and their effect on human osteoblast-like cells. Journal of Biomedical Materials Research B, Applied Biomaterials, 75: 359-68.

34. **Brammer, K.S., Brammer, Oh, S., Frandsen, C.J., Jin, S.** (2011): Biomaterials and Biotechnology Schemes Utilizing TiO₂ Nanotube Arrays. In: R. Pignatello (Ed.): Materials Science. Biomaterials. Biomaterials Science and Engineering. IntTech book.

<http://www.intechopen.com/books/biomaterials-science-and-engineering/biomaterials-and-biotechnology-schemes-utilizing-tio2-nanotube-arrays>

35. **Breme, J., Steinhäuser, E., Paulus, G.** (1988): Commercially pure titanium Steinhäuser plate ± screw system for maxillofacial surgery. Biomaterials, 9: 310–313.

36. **Bumgardner, J.D., Johansson, B.I. (1998).** Effects of titanium-dental restorative alloy galvanic couples on cultured cells. Journal of Biomedical Material Research, 43: 184–191.

37. **Burungapalli, K., Razavi, M., Zhou, L., Huang, Y.** (2016): *In Vitro* Cytocompatibility Study of a Medical beta-Type Ti-35.5Nb-5.7Ta Titanium Alloy. Journal of Biomaterials and Tissue Engineering, 6: 1–8.

38. **Carlsson, L.V., MacDonald, W., Magnus Jacobsson, C., Albrektsson T.** (2004): Osseointegration Principles in Orthopedics: Basic Research and Clinical Applications. In: M.J.

Yaszemski D.J. Trantolo, K.-U. Lewandrowski, V. Hasirci, D.E. Altobelli, D.L. Wise. (eds.) Biomaterials in Orthopedics. United States of America: Marcel Dekker, p. 223-240.

39. **Caous, J.S., Lövenklev, M., Fäldt, J., Langton, M.** (2013): Adhesion of *Streptococcus mitis* and *Actinomyces oris* in co-culture to machined and anodized titanium surfaces as affected by atmosphere and pH. *BMC Oral Health*, doi: 10.1186/1472-6831-13-4.
40. **Capitanu, L., Onisoru, J., Iarovici, A., Tiganesteanu, C.** (2008): Scratching mechanisms of hip artificial joints. *Tribology in Industry*, 30: 23-32.
41. **Chandar, S., Kotian, R., Madhyastha, P., Kabekkodu, S.P., Rao, P.** (2017): *In vitro* evaluation of cytotoxicity and corrosion behavior of commercially pure titanium and Ti-6Al-4V alloy for dental implants. *The Journal of Indian Prosthodontic Society*, 17: 35-40.
42. **Chaturvedi, T.P.** (2009): An overview of the corrosion aspect of dental implants (titanium and its alloys). *Indian Journal of Dental Research*, 20: 91-98.
43. **Chou, L., Firth, J.D., Uitto, V.J., Brunette, D.M.** (1998). Effects of titanium substratum and grooved surface topography on metalloproteinase-2 expression in human fibroblasts. *Journal of Biomedical Material Research*, 39: 437-445.
44. **Chu, H.J., Liang, C.J., Chen, C.H., He, J.L.** (2017): Optical emission spectroscopic determination of the optimum regions for micro-arc oxidation of titanium. *Surf. Coat. Technol.*, 325: 166-173.
45. **Chung, K.H., Liu, G.T., Duh, J.G., Wang, J.H.** (2004): Biocompatibility of a titanium-aluminium film coating on a dental alloy. *Surface and Coating Technology*, 188-189: 745-749.
46. **Ciocan, L.T., Miculescu, F., Miculescu, M., Patrascu, I.** (2011). Biological Reactions to Dental Implants, *Implant Dentistry - A Rapidly Evolving Practice*, Prof. Ilser Turkyilmaz (Ed.), ISBN: 978-953-307-658-4, InTech Publication, Available from: <http://www.intechopen.com/books/implant-dentistry-a-rapidly-evolving-practice/biological-reactions-to-dental-implants>
47. **Cochran, D.L.** (1999): Endosseous dental implant surfaces in human clinical trials. A comparison using meta-analysis. *Journal of Periodontology*, 70: 1523-1539.
48. **Colceriu, A., Fratila, C., Roman, I., Moldovan, M., Trif, M., Prejmorean, C., Tamas, C.** (2008): Microstructural and cytotoxicity evaluation for different surface treatments of TA6V4 alloy. *European Cells and Materials*, 16 (Suppl. 1), p. 29.

49. **Conforto, E., Aronsson, B.-O., Salito, A., Crestou, C., Caillard, D.** (2004): Rough surfaces of titanium and titanium alloys for implants and prosthesis. *Materials Science and Engineering, C*, 24: 611- 618.
50. **Cotell, C. M.** (1993): Pulsed-laser deposition and processing of biocompatible hydroxylapatite thin-films. *Applied Surface Science*, 69: 140-148.
51. **De Jonge, L.T., Leeuwenburgh, S.C.G., Wolke, J.G.C., Jansen, J.A.** (2008): Organic-inorganic surface modifications for titanium implant surfaces. *Pharmaceutical Research*, 25: 2357-2369.
52. **Dilea, M., Mazare, A., Ionita, D., Demetrescu, I.** (2013): Comparison between corrosion behaviour of implant alloys Ti6Al7Nb and Ti6Al4Zr in artificial saliva. *Materials and Corrosion*, 64: 493–499.
53. **Dimić, I., Cvijović-Alagić, I., Hohenwarter, A., Pippan, R., Kojić, V., Bajat, J., Rakin, M.** (2017): Electrochemical and biocompatibility examinations of high-pressure torsion processed titanium and Ti–13Nb–13Zr alloy. *Journal of Biomedical Material Research, Part B*, DOI: 10.1002/jbm.b.33919.
54. **Dragan-Raileanu, L.A., Cotrutz, C.E., Munteanu, C., Strugaru, S., Avram, P., Istrate, B., Petreus, T.** (2013): *In vitro* study regarding the cytotoxicity of some TiNbZr alloys. *Annals of RSCB*, 185: 186-191.
55. **Dudek, A.** (2009): Surface properties in titanium with hydroxyapatite coating. *Optica Applicata*, 34: 825-831.
56. **Duraccio, D., Mussano, F., Faga, M.G.** (2015): Biomaterials for dental implants: current and future trends. *Journal of Material Science*, 50: 4779–4812.
57. **Eason, R.W.** (2007): Pulsed Laser Deposition of Thin Films: Applications-Led Growth of Functional Materials. ISBN:9780471447092, John Willey and Sons. 649 p.
58. **Eisenbarth, E., Velten, D., Müller, M., Thull, R., Breme, J.** (2004): Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys. *Biomaterials*, 26: 5705–5713.
59. **Esen, Z., Tahrán Bor, E., Bor, S.** (2009): Characterization of loose powder sintered porous titanium and Ti6Al4V alloy. *Turkish Journal of Engineering and Environmental Science*, 33 : 207 – 219.
60. **Faria, A.C., Rodrigues, R.C., Antunes, R.P., de Mattos, Mda. G., Rosa, A.L., Ribeiro, R.F.** (2009): Effect of temperature variation on the cytotoxicity of cast dental alloys and commercially pure titanium. *Journal of Applied Oral Science*, 17: 421-6.

61. **Findik, F.** (2020): Recent developments of metallic implants for biomedical applications. *Periodicals of Engineering and Natural Sciences*, 8: 33-57.
62. **Florian, C., Wonneberger, R., Undisz,, A., Kirner, S.V., Wasmuth, K., Spaltmann, D., Krüger, J., Bonse, J.** (2020): Chemical effects during the formation of various types of femtosecond laser-generated surface structures on titanium alloy. *Applied Physics A*, 126, Article number: 266. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-3434-7>.
63. **Fojt, J. Joska L., Málek J.** (2013): Corrosion behaviour of porous Ti– 39Nb alloy for biomedical applications. *Corrosion Science*, 71: 78–83.
64. **Frank, M.J., Walter, M.S., Rubert, M., Thiede , B., Monjo, M., Reseland , J.E., 1, Haugen, H.J., Lyngstadaas, S.P.** (2014):Cathodic Polarization Coats Titanium Based Implant Materials with Enamel Matrix Derivate (EMD). *Materials*, 7: 2210-2228.
65. **Friák, M., Counts, W.A., Ma, D., Sander, B., Holec, D., Raabe, D., Neugebauer, J.** (2012): Theory-Guided Materials Design of Multi-Phase Ti-Nb Alloys with Bone-Matching Elastic Properties. *Materials*, 5: 1853-1872.
66. **Friendmann, A., Friedmann, A., Grize, L., Obrecht, M., Dard, M.** (2014): Convergent methods assessing bone growth in an experimental model at dental implants in the minipig. *Annals of Anatomy*, 196: 100-107.
67. **Fukuda, A., Takemoto, M., Saito, T., Fujibayashi, S., Neo, M., Pattanayak, D.K., Matsushita, T., Sasaki, K., Nishida, N., Kokubo, T. Nakamura, T.** (2011): Osteoinduction of porous Ti implants with a channel structure fabricated by selective laser melting. *Acta Biomaterialia*, 7: 2327–2336.
68. **Geng, F., Niinomi, M., Nakai, M.** (2011): Observation of yielding and strain hardening in a titanium alloy having high oxygen content. *Mater. Sci. Eng. A* 528, 5435–5445.
69. **Geurtsen, W.** (2002): Biocompatibility of Dental Casting Alloys. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 13: 71-83.
70. **Gordin, D.M., T. Gloriant, T., Chane-Pane, V., Busardo, D., Mitran, V., Ho`che, D., Vasilescu, C., Drob, S.I., Cimpean, A.** (2012): Surface characterization and biocompatibility of titanium alloys implanted with nitrogen by Hardion+ technology. *Journal of Material Science: Materials in Medicine*, 23: 2953–2966.
71. **Grandin, H.M., Berner, S., Dard, M. (2012):** A Review of Titanium Zirconium (TiZr) Alloys for Use in Endosseous Dental Implants. *Materials*, 5: 1348-1360.

72. **Grandin, H.M.; Gemperli, A.C.; Dard, M.** (2012): Enamel matrix derivative: A review of cellular effects *in vitro* and a model of molecular arrangement and functioning. *Tissue Eng. Part. B Rev.* 2012, 18, 181–202.
73. **Grobecker-Karl, T., Palarie, V., Schneider, S., Karl, M.** (2019): Does intraoperative bone density testing correlate with parameters of primary implant stability? A pilot study in minipigs. *Clin. Exp. Dent. Res.*, 5 :594–600.
74. **Guan, H., van Staden, R.C., Johnson, N.W., Loo, Y.-C.** (2011): Dynamic modelling and simulation of dental implant insertion process — A finite element study. *Computational Mechanics and Design*, special issue: Finite Elements in Analysis and Design, 47: 886-897.
75. **Guo, R., Liu, B., Xu, R., Cao, Y., Qiu, J., Chen, F., Yan, Z., Liu, Y.** (2020): Microstructure and mechanical properties of powder metallurgy high temperature titanium alloy with high Si content. *Materials Science and Engineering: A*, Paper reference No. 138993.
76. **Hamlekhan, A., Christos Takoudis, C., Sukotjo, C., Mathew, M.T., Viridi, A., Shahbazian-Yassar, R., Shokuhfar, T.** (2014): Recent Progress toward Surface Modification of Bone/Dental Implants with Titanium and Zirconia Dioxide Nanotubes. *Journal of Nanotechnology and Smart Materials*, 1: 1-14.
77. **Han, J., Yang, Y., Lu, J., Wang, C., Xie, Y., Zheng, X., Zao, Y. Zhang, C.** (2017): Sustained release vancomycin-coated titanium alloy using a novel electrostatic dry powder coating technique may be a potential strategy to reduce implant-related infection.
78. **Hanawa, T.** (2019): Titanium–Tissue Interface Reaction and Its Control With Surface Treatment. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 7: 170. doi: 10.3389/fbioe.2019.00170.
79. **Hansson, H.A., Albrektsson, T., Branemark, P.I.** (1983): Structural aspects of the interface between tissue and titanium implants. *Journal of Prosthetic Dentistry*. 50: 108–113.
80. **Hao, J., Kuroda, S., Ohya, K., Bartáková, S., Aoki, H., Kasugai, S.** (2011): Enhanced osteoblast and osteoclast responses to a thin film sputtered hydroxyapatite coating. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 22: 1489-99.
81. **Hatamleh, M.M., Wu, X., Alnazzawi, A., Watson, J., Watts, D.** (2018): Surface characteristics and biocompatibility of cranioplasty titanium implants following different surface treatments. *Dental Materials*, 34: 676-683.

82. **Helm, D.** (1999): Application of Ti-alloys as compressor discs and blades. In TMS - Miner. Metals & Mater. Soc., Warrendale, PA, USA, 1999, s. 291-298.
83. **Himmlová, L., Dostálová, T. Kácovský, A., Konvičková, S.** (2004): Influence of implant length and diameter on stress distribution: a finite element analysis. *Journal of Prosthetic Dentistry*, 91: 20-25.
84. **Homolková, M., Císař, P., Soukup, J., Březina, V.** (2014): Innovative test of non transparent material cytotoxicity. *Sborník příspěvků, Metal 2014, Brno*, s. 1-8.
85. **Hon, Y.-H., Wang, J.-Y., Pan, Y.-N.** (2003): Composition/phase structure and properties of titanium-niobium alloys. *Materials Transactions*, 44: 2384 – 2390.
86. **Hrušák, D., Zemko, M., Dluhoš, L., Kraus, L.** (2009): Použití nanostrukturního titanu pro nitrokostní implantáty. In: *NANOCON (2009)*, Sborník konferenčních příspěvků, Rožnov pod Radhoštěm, 20.-22.10.2009, s. 1-8.
87. **Hsu, S.H., Liu, B.S., Lin, W.H., Chiang, H.C., Huang, S.C., Cheng, S.S.** (2007): Characterization and biocompatibility of a titanium dental implant with a laser irradiated and dual-acid etched surface. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 17: 53–68.
88. **Huang, H.H., Hsu, C.H., Pan, S.J., He, J.L., Chen, C.C., Lee, T.L.** (2005): Corrosion and cell adhesion behavior of TiN-coated and ion-nitrided titanium for dental applications. *Applied Surface Science*, 244: 252–256.
89. **Huang, H.H., Lee, T.H.** (2005): Electrochemical impedance spectroscopy study of Ti-6Al-4V alloy in artificial saliva with fluoride and/or albumin. *Dental Materials*, 21: 749-755.
90. **Hubálková, H., Krňoulová, J.** (2009): *Materiály a technologie v protetickém zubním lékařství*. Praha: Galén, 2009. 301 s. ISBN 978-80-7262-581-9.
91. **Ihde, S.** (2005): *Principles of BOI: Clinical, Scientific, and Practical Guidelines to 4-D Dental Implantology*. Springer Science & Business Media, 416 s.
92. **Jarolímová, P., Voltrová, B., Blahnová, V., Sovková, V., Průchová, E., Hybášek, V., Fojt, J., Filová, E.** (2020): Mesenchymal stem cell interaction with Ti6Al4V alloy pre-exposed to simulated body fluid. *Royal Society of Chemistry Advances*, 10, No. 6858.
93. **Jemat, A., Ghazali, M.J., Razali, M., Otsuka, Y.** (2015): Surface Modifications and Their Effects on Titanium Dental Implants. *BioMed Research International*, Article ID 791725, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/791725>.

94. **Jemat, A., Ghazali, M.J., Razali, M., Otsuka, Y.** (2018): Microstructural, surface roughness and wettability of titanium alloy coated by YZP-30wt. % TiO₂ for dental application. *Jurnal Teknologi*, 80: 45-50.
95. **Jemt, T., Olsson, M., Stenport, V.F.** (2014): Incidence of First Implant Failure: A Retrospective Study of 27 Years of Implant Operations at One Specialist Clinic. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, elektronická publikace před zveřejněním: DOI 10.1111/cid.12277.
96. **Jung Eun, P., Il Song, P., Tae Sung, B., Min Ho, L.** (2014): Electrophoretic Deposition of Carbon Nanotubes over TiO₂ Nanotubes: Evaluation of Surface Properties and Biocompatibility. Hindawi Publishing Corporation *Bioinorganic Chemistry and Applications*, Volume 2014, Article ID 236521, <http://dx.doi.org/10.1155/2014/236521>.
97. **Junker, R., Dimakis, A., Thoneick, M., Jansen, J.A.** (2009): Effects of implant surface coatings and composition on bone integration: a systematic review. *Clinical Oral Implants Research*, 20: 185-206.
98. **Kang, L.M., Yang, C.** (2019): A Review on High-Strength Titanium Alloys: Microstructure, Strengthening, and Properties. *Advanced Engineering Materials*, 21(8), 1801359.
99. **Kassab, E. J., Ponciano Gomes, J.** (2013): Assessment of nickel titanium and beta titanium corrosion resistance behavior in fluoride and chloride environments. *Angle Orthodontist*, 83: 864-869.
100. **Kim K.H., Ramaswamy N.** (2009): Electrochemical surface modification of titanium in dentistry. *Dental Material Journal*, 28: 20-36.
101. **Kim, H.J., Kim, S.H., Kim, M.S., Lee, E.J., Oh, H.G., Oh, W.M., et al.** (2005): Varying Ti-6Al-4V surface roughness induces different early morphologic and molecular responses in MG63 osteoblast-like cells. *Journal of Biomedical Materials Research, A*, 74: 366-373.
102. **Kim, H.-W., Kim, H.-E., Knowles, J.C.** (2004): Fluor-hydroxyapatite sol-gel coating on titanium substrate for hard tissue implants. *Biomaterials*, 25: 3351-3358.
103. **Kim, K.T., Eo, M.Y., Nguyen, T.T.H., Kim, S.M.** (2019): General review of titanium toxicity. *International Journal of Implant Dentistry*. 5: 10. doi: 10.1186/s40729-019-0162-x.
104. **Kitamura E, Stegaroiu R, Nomura S, Miyakawa O.** (2005): Influence of marginal bone resorption on stress around an implant - a three-dimensional finite element analysis. *Journal of Oral Rehabilitation*, 32: 279-86.

105. **Klapková, A.** (2012): Mechanické vlastnosti titanových slitin. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství. 57 s.
106. **Klimova, M., Boeva, M., Zharebtsov, S., Salishchev, G.** (2014): Ultrafine-grained structure formation in Ti-6Al-4V alloy via warm swaging. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 63 (2014) 012070 doi:10.1088/1757-899X/63/1/012070.
107. **Klusák, O.** (2010): Biokompatibilní materiály na bázi kovů a jejich aplikační využití. VUT Brno, Fakulta strojního inženýrství, 74 s.
108. **Kohles, S.S., Clark, M.B., Brown, C.A., Kennedy, J.A.** (2004): Direct assessment of profilometric roughness variability from typical implant surface type. The International Journal of Oral and Maxillofacial Implants, 19: 510 – 516.
109. **Koizumi, H., Takeuchi, Y., Imai, H., Kawai, T., Yoneyama, T.** (2019): Application of titanium and titanium alloys to fixed dental prostheses. Journal of Prosthodontic Research, 63: 266-270.
110. **Kuczyńska-Zemła, D., Kijeńska-Gawrońska, E., Chlanda, A., Sotniczuka, A., M.Pisarek, M., Topolski, K., Swieszkowski, W., Garbacz, H.** (2020): Biological properties of a novel β -Ti alloy with a low young's modulus subjected to cold rolling. Applied Surface Science, 511, Paper reference No. 145523.
111. **Kudrman, J., Chlubnová, R., Veselý, J. Hnilica, F., Podhorná, B.** (2008): Vlastnosti titanových beta slitin vhodných pro použití v humánní medicíně. Sborník konference Metal 2008, Hradec nad Moravicí.
112. **Kumar, P.S., Kumar, S., Grandhi, V.V., Gupta, V.** (2019): The Effects of Titanium Implant Surface Topography on Osseointegration: Literature Review. JMIR Biomedical Engineering, 4: e13237.
113. **Kunii, T., Mori, Y., Tanak, H., Kogure, A., Kamimura, M., Mori, N., Hanada, S., Masahashi, N., Itoi, E.** (2019): Improved Osseointegration of a TiNbSn Alloy with a Low Young's Modulus Treated with Anodic Oxidation. Scientific Reports, 9: 13985. oi: 10.1038/s41598-019-50581-7.
114. **Kuroda, P.A.B., Lourenco, M.L., Correa, D.R.N., Grandini, C.R.** (2020): Thermomechanical treatments influence on the phase composition, microstructure, and selected mechanical properties of Ti-20Zr-Mo alloys system for biomedical applications. Journal of Alloys and Compounds, 812: UNSP 152108. 10.1016/j.jallcom.2019.152108.

115. **Kursa, M., Žitňanský, M.** (2003): Vakuová a plazmová metalurgie titanu a jeho slitin. Sborník konference Metal 2003, Hradec nad Moravicí. 1-10.
116. **Kwon S.-Y., Kim, Y.-S., Sun, D.-H., Kim, S.-S., Kim, H.-W.** (2007): Surface Characteristics and Biocompatibility of Micro Arc Oxidized (MAO) Titanium Alloy. In: Bioceramics and Alternative Bearings in Joint Arthroplasty. Ceramics in Orthopaedics, pp. 239-248.
117. **Lacefield, W.R.** (1998): Current status of ceramic coatings for dental implants. *Implant Dentistry*, 7: 315–322.
118. **Lacefield, W.R.** (2007): Materials Characteristics of Uncoated/Ceramic-coated Implant materials. *Advances in Dental research*, 13: 21-26.
119. **Lavenus, S., Louarn, G., Layrolle, P.** (2010): Nanotechnology and Dental Implants. *International Journal of Biomaterials*. 2010: 1-9.
120. **Le, V.Q., Pourroy, G., Cochis, A., Rimondini, L., Abdel-Fattah, W., Mohammed, H., Carrado, A.** (2014): Alternative technique for calcium phosphate coating on titanium alloy implant. *Biomaterial*, 4, e28534.
121. **Lee, E.** (2004): Microstructure evolution and microstructure/mechanical properties relationships in $\alpha+\beta$ titanium alloys. Ohio State University, 229 s.
122. **Lee, W.-W., Kim, W.-Y., Lee, H.-J., Kim, K.-H., Kwon, T.-Y.** (2011): Biocompatibility of β -Ti Alloy for Dental Implant. *Biomaterials Research*, 15: 43-51.
123. **Legerský, R.** (2009): Vývoj materiálů zubních implantátů. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta strojního inženýrství, 2009. 55 s.
124. **Lei Z., Liu, X., Wu, Y., Wang, H., Jiang, S., Wang, S., Hui, X., Wu, Y., Gault, B., Kontis, P., Raabe, D., Gu, L., Zhang, Q., et al.** (2018): Enhanced strength and ductility in a high-entropy alloy via ordered oxygen complexes. *Nature*, 563: 546.
125. **Leyhausen, G., Sapotnik, A., Bumgardner, J., Geurtsen, W.** (1998): Influence of extraction media on cytotoxicity of various alloys. *Trans. Acad. Dent. Mater.*, 12:220-222.
126. **Li, C., Yang, Z., Yang, L., Shi, Z., Yang, P., Cheng, G.** (2020): In Vitro Bioactivity and Biocompatibility of BioInspired Ti-6Al-4V Alloy Surfaces Modified by Combined Laser Micro/Nano Structuring. *Molecules*, 25, 1494. doi:10.3390/molecules25071494

127. **Li, Y.-H., Wang, B., Ma, Ch.-P., Fang, Z.-H., Chen, L.-F., Guan, Y.-Ch., Yang, S.F.** (2019): Material Characterization, Thermal Analysis, and Mechanical Performance of a Laser-Polished Ti Alloy Prepared by Selective Laser Melting. *Metals* 2019, 9(2), 112; <https://doi.org/10.3390/met9020112>
128. **Li, X., Lin, K., Wang, Z.** (2017): Enhanced growth and osteogenic differentiation of MC3T3-E1 cells on Ti6Al4V alloys modified with reduced graphene oxide. *Roayl Society of Chemistry Advances*, 7: 14430-14437.
129. **Li, K., Wang, Ch., Yan, J., Zhang, Q., dang, B., Wang, Z., Yao, Y., Lin, K., Guo, Z., Bi, L., Han, Y.** (2018): Evaluation of the osteogenesis and osseointegration of titanium alloys coated with graphene: an *in vivo* study. *Scientific Reports*, 8, Article number: 1843(2018), doi:10.1038/s41598-018-19742-y.
130. **Li, Y., Wang, X., Yang, S., Hou, L., Wei, Y., Zhang, Z., Yang, X.** (2019): Investigation on Wear Behavior of Cryogenically Treated Ti-6Al-4V Titanium Alloy under Dry and Wet Conditions. *Materials (Basel)*. 12: 2850. doi: 10.3390/ma12182850.
131. **Li, Z., Kawashita, M.** (2011): Current progress in inorganic artificial biomaterials. *Journal of Artificial Organs*, 14: 163–170.
132. **Li, S., Yang, L., Lei, L., Wei, C., Zhang, H.** (2012): Development of Microstructure and Texture Heterogeneities during Static Annealing of Ti–6.5Al–3.5Mo–1.5Zr–0.3Si Alloy Preformed by Hot Working. *Journal of Material Science and Technology*, 2012, 28: 1015–1024.
133. **Lin, H.-J., Ou, S.-F., Huang, T.-S., Fan, F.-Y., Ou, K.-L., Lin, L.-H.** (2014): Formation of an Anti-Bacterial Oxide Film on Ti-Ta Alloy by Anodic Oxidation. *ECS Transactions*, 58: 1-8.
134. **Lin X, de Groot K, Wang D, Hu Q, Wismeijer D, Liu Y, et al.** (2015): A review paper on biomimetic calcium phosphate coatings. *Open Biomedical Engineering Journal*, 9: 56-64.
135. **Liu, S., Shin, Y.C.** (2019): Additive manufacturing of Ti6Al4V alloy: A review. *Materials & Design*. 164, No. 107552. <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2018.107552>.
136. **Liu, X., Chub,P.K., Ding, C.** (2004): Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Materials Science and Engineering R* 47: 49–121.
137. **Liu, X., Chen, S., Tsoi, J.K.H., MatinlinnaJ.P.** (2017): Binary titanium alloys as dental implant materials—a review. *Regenerative Biomaterials*, 4: 315–323.

138. **Liu, W., Liu, S., Wang, L.** (2019): Surface Modification of Biomedical Titanium Alloy: Micromorphology, Microstructure Evolution and Biomedical Applications, *Coatings*, 9: 249. doi:10.3390/coatings9040249.
139. **Losertová, M.** (2012): *Progresivní materiály*. Vysoká škola báňská, Technická univerzita Ostrava. 266 s.
140. **Lu, Y.P., Li, M.S., Li, S.T., Wang, Z.G., Zhu, R.F.** (2004): Plasma-sprayed hydroxyapatite+titania composite bond coat for hydroxyapatite coating on titanium substrate. *Biomaterials*, 25: 4393-403.
141. **Luqman, M., Seikh, A.H., Sarkar, A., Ragab, S.A., Mohammed, J.A., Ijaz, M.F., Abdo, H.B.** (2020): A Comparative Study of the Electrochemical Behavior of α and β Phase Ti6Al4V Alloy in Ringer's Solution. *Crystals*, 10, 190, doi:10.3390/cryst10030190.
142. **Lütjering, G.** (1998): Influence of processing on microstructure and mechanical properties of titanium alloys. *Materials Science and Engineering A*, 243: 32-45.
143. **Lütjering, G.** (1999): Property optimization through microstructural control in titanium and aluminum alloys. *Materials Science and Engineering, A*, 263: 117-126.
144. **Lütjering, C. Williams, J.C., Gysler, A.** (2000): Microstructure and mechanical properties of titanium alloys. In: J.C.M. Li (Ed.): *Microstructure and Properties of Materials: (Vol. 2)*. World Scientific Publisher, pp. 1-77.
145. **Lyngstadaas, S.P., Ellingsen, J.E.** (2002): Astra Tech, A.B. Medical prosthetic devices and implants having improved biocompatibility. WO Patent: WO/2002/045,764, 2002.
146. **Magheru, A.M., Ghiban, B., Ghiban, N., Miculescu, M.** (2013): Corrosion resistance of new TiMo alloys for biomedical applications. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, 75: 187-196.
147. **Mandracci, P., Mussano, F., Rivolo, P., Carossa, S.** (2016): Surface Treatments and Functional Coatings for Biocompatibility Improvement and Bacterial Adhesion Reduction in Dental Implantology. *Coatings*, 6: 1-22. doi:10.3390/coatings6010007.
148. **Maniopoulos, C., Sodek, J., Melcher, A.H.** (1988): Bone formation in vitro by stromal cells obtained from bone marrow of young adult rats. *Cell and Tissue Research*, 254: 317-330.
149. **Manivasagam, G., Dhinasekaran, D., Rajamanickam, A.** (2010): Biomedical Implants: Corrosion and its Prevention - A Review. *Recent Patents on Corrosion Science*, 2: 40-54.

150. **Marenzi, G., Impero, F., Scherillo, F., Sammartino, J.C., Squillace, A., Spagnuolo, G.** (2019a): Effect of Different Surface Treatments on Titanium Dental Implant Micro-Morphology. *Materials* (Basel). 12: 733. doi: 10.3390/ma12050733.
151. **Marenzi, G., Spagnuolo, G., Sammartino, J.C., Gasparro, R., Rebaudi, A., Salerno, M.** (2019b): Micro-Scale Surface Patterning of Titanium Dental Implants by Anodization in the Presence of Modifying Salts. *Materials* (Basel), 12: 1753. doi: 10.3390/ma12111753.
152. **Marchi, J., Ussui, V., Delfino, C.S., Bressiani, A.H.A., Marques, M.M.** (2010): Analysis *in vitro* of the cytotoxicity of potential implant materials. I: Zirconia-titania sintered ceramics. *Journal of Biomedical Materials Research B: Applied Biomaterials*, 94B: 305-311.
153. **Marcián, P., Borák, L., Florian, Z., Bartáková, S.** (2009): Biomechanická studie diskovitých implantátů. In: Sborník abstraktů, Mezinárodní seminář: Tkáňová integrace implantačního materiálu, 15.12.2009, Brno, 12-16.
154. **Marcián, P., Borák, L., Konečný, O., Navrátil, P., Florian, Z.** (2013): Computational Modeling of Interaction of Dental Implant with Mandible. *Applied Mechanics and Materials*, 245: 57-62.
155. **Markhoff, J., Wieding, J., Weissmann, V., Pasold, J., Jonitz-Heincke, A., Bader, R.** (2015): Influence of Different Three-Dimensional Open Porous Titanium Scaffold Designs on Human Osteoblasts Behavior in Static and Dynamic Cell Investigations. *Materials*, 8: 5490–5507.
156. **Marticorena, M., Corti, G., Olmedo, D., Guglielmotti, M.B., Duhalde, S.** (2007): Laser surface Modification of Ti implants to improve osseointegration. *Journal of Physics: Conference Series* 59: 662–665.
157. **Martins, J.R.S., Araújo, R.O., Donato, T.A.G., Arana-Chavez, V.E., Buzalaf, M.A.R., Grandini, C.R.** (2014): Influence of Oxygen Content and Microstructure on the Mechanical Properties and Biocompatibility of Ti–15 wt%Mo Alloy Used for Biomedical Applications. *Materials*, 7: 232-243.
158. **McAlarney, M.E., Oshiro, M.A., McArarney, C.V.** (1996): Effects of titanium dioxide passive film crystal structure, thickness and crystallinity on C3 adsorption. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 11: 73-80.
159. **Medvedev, E.A., Molotnikov A., Lapovok R., Zeller R., Berner S., Habersetzer P., Dalla Torre F.** (2016): Microstructure and mechanical properties of Ti-15Zr alloy used as dental implant material. *Journal of Mechanical Behavior of Biomedical Materials*. 2016 Sep;62:384-98. doi: 10.1016/j.jmbbm.2016.05.008. Epub 2016 May 11.

160. **Mellado-Valero, A., Munoz, A.I., Pina, V.G., Sola-Ruiz, M.F.** (2018): Electrochemical Behaviour and Galvanic Effects of Titanium Implants Coupled to Metallic Suprastructures in Artificial Saliva. *Materials*, 11, 171; doi:10.3390/ma11010171.
161. **Mei, S. et al.** (2014): Antibacterial effects and biocompatibility of titanium surfaces with graded silver incorporation in titania nanotubes. *Biomaterials*, 35: 4255-4265.
162. **Mohammed, T.M., Khan, Z.A., Siddiquee, A.N.** (2014): Beta Titanium Alloys: The Lowest Elastic Modulus for Biomedical Applications: A Review. *International Journal of Chemical, Molecular, Nuclear, Materials and Metallurgical Engineering*, 8: 822-827.
163. **Moztarzahed, A., Moztarzahed, O., Kubíková, T., Tonar, Z., Hrušák, D., Zicha, A., Babuška, V.** (2018): Současné metody hodnocení oseointegrace implantátů z nanostrukturního titanu. *Chemické Listy*, 112: 148-158.
164. **Mrázová, M., Pilc, J., Semcer, J., Peter Kurňava, P.** (???): The Identification of Cutting Conditions in Turning of Titanium Materials for Dental Implants. *Manufacturing and Industrial Engineering*, 21-23. <http://web.tuke.sk/fvtpo/journal/>
165. **Nadar, Y.S., Kutty, M.G., Aziz, A.R.A** (2014): Relative Effect of Sand Blasting and Acid Etching on the Surface Roughness of Pure Titanium and Titanium Alloy for Dental Implants. *Advanced Materials Research*, 1043, 145-148.
166. **Nagase, T., Matsumoto, M., Fuji, I.**, (2018): Microstructure of Ti-Ag immiscible alloys with liquid phase separation. *Journal of Alloys and Compounds* 738: 440-447.
167. **Nakai, M. Niinomi, M., Akahori, T., Tsutsumi, H., Ogawa, M.** (2009): Effect of Oxygen Content on Microstructure and Mechanical Properties of Biomedical Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr Alloy under Solutionized and Aged Conditions. *Mater. Trans.*, 50: 2716–2720.
168. **Nakayama, T., Thirukonda, G.J., Nagasawa, S., Kawahara, I., Udagawa, N., Yagami, K., Kawatani, M., Osada, H., Doi, Y., Yoshinari, N., Takahashi, N.** (2014): Polarization of osteoclasts on dental implant materials is similar to that observed on bone. *Journal of Oral Biosciences*, 56: 136-142.
169. **Narendrakumar, K., Kulkarni, M., Addison, O., Mazare, A., Junkar, I., Schmuki, P., Sammons, R., Ilgič, A.** (2015): Adherence of oral streptococci to nanostructured titanium surfaces. *Dental Materials*, 31: 1460–1468.
170. **Nasakina, E.O., Baikin, A.S., Sevost'yanov, M.A., Kolmakov, A.G., Zabolotnyi, V.T., Solntsev, K.A.** (2014): Properties of nanostructured titanium nickelide and composite based on it. *Theoretical Foundations of Chemical Engineering*, 48: 477–486.

171. **Niinomi M.** (2008): Biologically and Mechanically Biocompatible Titanium Alloys. *Materials Transactions*, 49: 2170-2178.
172. **Niinomi, M., Hanawa, T., Narushima, T.** (2005): Japanese Research and Development on Metallic Biomedical, Dental, and Healthcare Materials. *JOM*, 18-24.
173. **Niinomi, M., Hattori, T., Niwa, S.** (2004): Material Characteristics and Biocompatibility of Low Rigidity Titanium Alloys for Biomedical Applications. In: M.J. Yaszemski, D.J. Trantolo, K-U. Lewandrowski, V. Hasirci, D.E. Altobelli, D.L. Wise (Eds.): *Biomaterials in Orthopedics*. Marcel Dekker Inc., New York, 2004, pp. 41-91.
174. **Oliveira, J.M., Leonor, I.B., Reis, R.L.** (2005): Carboxymethylchitosan/calcium phosphate, hybrid materials prepared by an innovative “auto-catalytic” co-precipitation method. *Key Eng. Mater.*, 284: 203-6.
175. **Osman R.B., Swain, M.B.** (2015): A Critical Review of Dental Implant Materials with an Emphasis on Titanium versus Zirconia. *Materials*, 8: 932-958.
176. **Orsini, G., Assenza, B., Scarano, A., Piattelli, M., Piattelli A.** (2000): Surface analysis of machined versus sandblasted and acid etched titanium implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*, 15: 779-84.
177. **Park, K.H., Hwang, M.-J., Song, H.-J., Park, Y.-J.** (2016) Electrochemical and Mechanical Properties of Cast Ti-V Alloys for Dental Applications. *International Journal of Electrochemical Science*, 11: 5552 – 5563.
178. **Petruželka, J., Dluhoš, L., Hrušák D., Sochová, J.** (2006): Nanostructured Titan – a New Material for Dental Implants. *Česká stomatologie*, 106: 72-77.
179. **Pierre, C., Bertrand, G., Rey, C., Benhamou, O., Combes, C.** (2019): Calcium phosphate coatings elaborated by the soaking process on titanium dental implants: surface preparation, processing and physical-chemical characterization. *Dental Materials*, 35 (2), pp.e25-e35. [ff10.1016/j.dental.2018.10.005](https://doi.org/10.1016/j.dental.2018.10.005).
180. **Pityana, S., Baloyi, N., Tlotnelg, M., Popoola, P.** (2019): Laser surface deposition of niobium and titanium-niobium on Ti6Al4V substrates for biomedical applications. *Journal of the Southern African Institute of Mining and Metallurgy* 119(4). DOI: 10.17159/2411-9717/16/211/2019.

181. **Prachár, P., Vaněk, J., Bartáková, S., Březina, V.** (2005): Růst buněk stabilizované linie HeLa ve výluhu chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Praktické zubní lékařství*, 53: 12-14.
182. **Prachár, P., Bartáková, S., Vaněk, J.** (2014a): The titanium PV I endosteal implant from beta-titanium alloy Ti 38Nb 6Ta. *Biomedical Papers of Medical Faculty, University of Palacký, Olomouc Czech Republic*, 158: 1-6.
183. **Prachár, P., Bartáková, S., Březina, V., Cvrček, L., Vaněk, J.** (2014b): Cytocompatibility of implants coated with titanium nitride and zirconium nitride. *Bratislava Medical Journal*, Bratislava, 2014, v tisku, v tisku.
184. **Qian, L., Todo, M., Matsushita, Y., Koyano, K.** (2010): Three-dimensional finite element analysis of overload-induced alveolar bone resorption around dental implants. In: *Interface Oral Health Science*, 2009, p. 155-157.
185. **Rae, T.** (1975): A study on the effects of particulate metals of orthopaedic interest on murine macrophages *in vitro*. *Journal of Bone Joint Surgery*, 57: 444–450.
186. **Rae, T.** (1981): The toxicity of metals used in orthopaedic prostheses. An experimental study using cultured human synovial fibroblasts. *Journal of Bone Joint Surgery*, 63: 435–440.
187. **Rahman, Z., Pompa, L., Haider, W.** (2014): Influence of Electropolishing and Magnetoelectropolishing on Corrosion and Biocompatibility of Titanium Implants. *Journal of Materials Engineering and Performance*. 23: 3907-3915.
188. **Rao, X., Li, J., Feng, X., Chu, C.L.** (2018): Bone-like apatite growth on controllable macroporous titanium scaffolds coated with microporous titania. *J. Mech. Behav. Biomed.*, 77: 225–233.
189. **Radtke, A., Ehlert, M., Jedrzejewski, T., Sadowska, B., Wieckowska-Szakiel, M., Holopainen, J., Ritala, M., Leskelä, M., Bartmanski, M., Szkodo, M., Piszczek, P.** (2019): Titania Nanotubes/Hydroxyapatite Nanocomposites Produced with the Use of the Atomic Layer Deposition Technique: Estimation of Bioactivity and Nanomechanical Properties. *Nanomaterials*, 9, 123; doi:10.3390/nano9010123.
190. **Rautray, T.R., Narayanan, N., Kim, K.-H.** (2011): Ion implantation of titanium based materials. *Progress in Materials Science*, 56: 1137-1177.
191. **Rautray, T.R., Narayanan, R., Kwon, T.Y., Kim, K.H.** (2010): Surface modification of titanium and titanium alloys by ion implantation. *Journal of Biomedical Materials. Res B. Applied Biomaterials*, 93: 581-91.

192. **Reis Mello, D.C., de Oliveira, J.F., Cairo, C.A.A., Ramos, L.S.D., Vegian, M.R.D., de Vasconcellos, L.G.O., de Oliveira, F.E., de Oliveira, L.D., de Vasconcellos, L.M.R.** (2019): Titanium alloys: in vitro biological analyzes on biofilm formation, biocompatibility, cell differentiation to induce bone formation, and immunological response. *Journal of Material Science - Materials in Medicine*, 30: 108.
193. **Ribeiro, D.A, Matsumoto, M.A., Padovan, L.E.M., Marques, M.E.A., Salvadori, D.M.F.** (2007): Genotoxicity of corrosion eluates obtained from endosseous implants. *Implant Dentistry*, 16: 101-109.
194. **Sabaliauskas, V., Juciute, R., Bukelskiene, V., Rutkunas, V. Trumpaite-Vanagiene, R., A Puriene, A.** (2011): In vitro evaluation of cytotoxicity of permanent prosthetic materials. *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal*, 13: 75-80.
195. **Sáenz de Viteri, V., Fuentes, E.** (2013): Titanium and Titanium Alloys as Biomaterials. In: *Tribology - Fundamentals and Advancements*. Chapter 5. InTech Open Access Publication. <http://dx.doi.org/10.5772/55860>: p. 155-181.
196. **Salaie, R.N., Besinis, A., Le, H., Tredwin, C., Handy, R.D.** (2020): The biocompatibility of silver and nanohydroxyapatite coatings on titanium dental implants with human primary osteoblast cells. *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 107, paper reference No. 110210, <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.1102>
197. **Sánchez, M.C., Llama-Palacios, A., Fernández, E., Figuero, E., Marín, M.J., León, R., Blanc, V., Herrera, D., Sanz, M.** (2014): An *in vitro* biofilm model associated to dental implants: Structural and quantitative analysis of *in vitro* biofilm formation on different dental implant surfaces. *Dental Materials*, DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dental.2014.07.008>.
198. **Selingerová, S.** (2008): Vývoj zubních implantátů. FAST Vysoké učení technické v Brně, 80 s.
199. **Shibli, A., Mangano, C., Mangano, F., Rodrigues, J.A., Cassoni, A., Bechara, K., Ferreira, D.J., Dottore, A.M., Iezzi, G., Piattelli, A.** (2013): Bone-to-implant contact around immediately loaded direct laser metal-forming transitional implants in human posterior maxilla. *Journal of Periodontology*, 84: 732–737.
200. **Shen, X., Shukla, P., Yao, F., Nath, S., An, Z., Lawrence, J.** (2018): Laser Shock Peening of Orthopaedic Ti-6Al-7Nb: Evaluation of Topography, Wetting Characteristics, Microstructure and Residual Stress. *Int. Journ. of Peening Science and Technology*, Vol. 1: 137–154.
201. **Shivaram, M.J., Arya, S.B., Nayak, J., Panigrahi, B.B.** (2020): Electrochemical Corrosion and Impedance Studies of Porous Ti-xNb-Ag Alloy in Physiological Solution. *Transactions of the Indian Institute of Metals*. 10.1007/s12666-020-01904-0.

202. **Shrestha, S., Joshi, S.** (2014): Current concepts in biomaterials in dental implant. *Science Research*, 2: 7-12.
203. **Schmidt, R., Gebert, A., Schumacher, M., Hoffmann, V., Voss, A., Pilz, S., Uhlemann, M., Lode, A., Gelinsky, M.** (2020): Electrodeposition of Sr-substituted hydroxyapatite on low modulus beta-type Ti-45Nb and effect on in vitro Sr release and cell response. *Materials Science and Engineering C, Materials for Biological Applications*. 108: 110425.
204. **Sicilia, A., Cuesta, S., Coma, G., Arregui, I., Guisasola, C., Ruiz, E., Maestro, A.** (2008): Titanium allergy in dental implant patients: a clinical study on 1500 consecutive patients. *Clinical Oral Implants Research*, 19: 823-835.
205. **Siddiqi, A., Payne, A.G.T., de Silva, R.K., Duncan, W.J.** (2011): Titanium allergy: could it affect dental implant integration? *Clinical Oral Implants Research*, 22: 673–680.
206. **Silvennoinen, R., Hasoň, S., Vetterl, V., Penttinen, N., Silvennoinen, M., Myller, K., Černochová, P., Bartáková, S., Prachár, P., Cvrček, L.** (2010): Diffractive-optics-based sensor as a tool for detection of biocompatibility of titanium and titanium-doped hydrocarbon samples. *Applied Optics*, 49: 5583-5591.
207. **Silvennoinen, R., Penttinen, N., Silvennoinen, M., Hasoň, S., Vetterl, V., Bartáková, S., Prachár, P., Vaněk, J., Březina, V.** (2011). Optical Detection of Protein Adsorption on Doped Titanium Surface, *Biomaterials Science and Engineering*, Prof. Rosario Pignatello (Ed.), ISBN: 978-953-307-609-6, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/biomaterials-science-and-engineering/optical-detection-of-protein-adsorption-on-doped-titanium-surface>.
208. **Simon, Z., Watson, P.A.** (2002): Biomimetic dental implants – New ways to enhance Osseointegration. *Journal of Canadian Dental Association*, 68: 286-288.
209. **Schmalz, G., Arenholt-Bindslev, D., Hiller, K.A., Schweikl, H.** (1997). Epithelium-fibroblast co-culture for assessing mucosal irritancy of metals used in dentistry. *European Journal of Oral Science*, 105: 86–91.
210. **Shaikh, A.Q., Kovalenko, D., Opitz, J.** (2015): Development of nanodiamonds-based coatings for titanium alloy implants. *Annual Reports*, 51-53.
211. **Shaikh, S., Kedia, S., Singh, D., Subramanian, M., Sinha, S.** (2018): Surface texturing of Ti6Al4V alloy using femtosecond laser for superior antibacterial performance. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 482: 63-72.

212. **Shokuhfar, T.** (2010): Structural and surface property characterization of titanium dioxide nanotubes for orthopedic implants. PhD Thesis. Michigan Technological University. 162 s.
213. **Šimůnek, A.** (2008): Dentální implantologie. 2. vyd. Hradec Králové: Nucleus HK, 2008. 296 s. ISBN 978-80-87009-30-7.
214. **Šimůnek, A., Kopecká, D., Brázda, T., Strnad, I., Čapek, L., Slezák, R.** (2012): Development of implant stability during early healing of immediately loaded implants. *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 27: 619–627.
215. **Sieniawski, J., Motyka, M.** (2007): Superplasticity in titanium alloys. *Journal of Achievements in Materials and Manufacturing Engineering*. 24: 123-130.
216. **Sjögren, G. Sletten, G., Dahl, J.E.** (2000): Cytotoxicity of dental alloys, metals, and ceramics assessed by Millipore filter, agar overlay, and MTT tests *Journal of Prosthetic Dentistry*, 84: 229–236.
217. **Smeets, R., Stadlinger, B., Schwarz, F., Beck-Broichsitter, B., Jung, O., Precht, C., et al.** (2016): Impact of dental implant surface modifications on osseointegration. *Biomed Research International*. Article ID 6285620 <http://dx.doi.org/10.1155/2016/6285620>.
218. **Smišek, V., Kursá, M., Losertová, M.** (2004): Struktura a vlastnosti titanových slitinze systému Ti-Al-Me. *Metal 2004, Hradec nad Moravicí*, 1-7.
219. **Sotniczuk, A., Kuczynska-Zemła, D., Kwasniak, P., Thomas, M., Garbacz, H.** (2019): Corrosion behavior of Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr and commercially pure Ti under simulated inflammatory conditions e comparative effect of grain refinement and non-toxic b phase stabilizers. *Electrochimica Acta*, 312: 369-379.
220. **Stráský, J.** (2014): Optimization of properties of Ti based alloys for biomedical and structural applications. PhD thesis, Charles University in Prague, 104 p.
221. **Tanaka, Y., Matsuo, Y., Komiya, T., Tsutsumi, Y., Doi, H., Yoneyama, T., Hanawa, T.** (2010): Characterization of the spatial immobilization manner of poly(ethyleneglycol) to a titanium surface with immersion and electrodeposition and its effects on platelet adhesion. *Journal of Biomedical Material Research. A*, 92: 350–358.
222. **Tane, M., Nakano, T., Kuramoto, S., Hara, M., Niinomi, M., Takesue, N., Yano, T., Nakajima, H.** (2011): Low Young's modulus in Ti–Nb–Ta–Zr–O alloys: Cold working and oxygen effects. *Acta Materialia*, 59: 6975-6988.

223. **Takahashi, M., Kikuchi, M., Takada, Y. Okuno, O.** (2002): Mechanical Properties and Microstructures of Dental Cast Ti-Ag and Ti-Cu Alloys. *Dental Materials Journal*, 21: 270-280.
224. **Textor, M., Sittig, C., Frauchiger, V., Tosatti, S., Brunette, D.M.** (2001): Titanium in Medicine. In: D.M. Brunette, P. Tengvall, M. Textor, P. Thomsen (Eds.), Springer, Berlin, 2001, pp. 171–230.
225. **Tkhabisimov, A.B., Mednikov, A.F., Marchenkov, A.Yu., Zilova, O.S., Burmistrov, A.A.** (2018): Metallographical researches results of titanium alloy Ti-6Al-4V samples obtained by using traditional and additive technologies. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series* 1050, 012087, doi :10.1088/1742-6596/1050/1/012087
226. **Tobola, D., Morgiel, J., Maj, L.** (2020): TEM analysis of surface layer of Ti–6Al–4V ELI alloy after slide burnishing and low-temperature gas nitriding. *Applied Surface Science*, Pre-proof, <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145942>
227. **Traini, T., Mangano, C., Sammons, M.R., Mangano, F. Macchi, A. Piattelli, A.** (2008): Direct laser metal sintering as a new approach to fabrication of as isoelastic functionally graded material for manufacture of porous titanium dental implants. *Dental Materials*, 24: 1525-1533.
228. **Tsutsumi, Y., Bartáková, S., Prachár, P., Yalatu, S., Migita, S., Doi, H., Nomura, N., Hanawa, T.** (2012): Long-Term Corrosion Behavior of Biocompatible β -Type Ti Alloy in Simulated Body Fluid. *Journal of The Electrochemical Society*, 159: 435-440.
229. **Tuononen, H., Sivennoinen, M., Myller, K., Silvennoinen, R., Vetterl, V., Vaněk, J., Hasoň, S., Bartáková, S.** (2008): Optical sensing of attached ODN and dsDNA molecules on biomaterial surface. *Proceedings of the 2nd International Topical Meeting on Optical Sensing and Artificial Vision (OSAV'2008)*, Saint Petersburg, Russia. 262-269.
230. **Valiev, R.Z., Semenova, I.P., Latysh, V.V., Rack, H., Lowe, T.C., Petruželka, J., Dluhoš, L., Hrušák, D., Sochová, J.** (2008): Nanostructured Titanium for Biomedical Applications. *Advanced Engineering Materials*, 10: 1-4.
231. **Vance, A., Bari, K., Arjunan, A.** (2018): Compressive performance of an arbitrary stiffness matched anatomical Ti64 implant manufactured using Direct Metal Laser Sintering, *Mater. Des.* 160: 1281e1294.
232. **Vaněk, J., Březina, V., Hnilica, F., Veselý, J., Vyskočil, J., Cvrček, L., Bartáková, S., Prachár, P.** (2011a): Dentální implantát z beta-titanové slitiny s povlakem DLC.

233. **Vaněk, J., Březina, V., Hnilica, F., Veselý, J., Vyskočil, J., Cvrček, L., Bartáková, S., Prachár, P.** (2011b): Dentální implantát z beta-titanové slitiny s povlakem TiN.
234. **van Staden, R.C., Guan, H., Johnson, N.W., Loo, Y.-C., Meredith, N.** (2008): Step-wise analysis of the dental implant insertion process using the finite element technique. *Clinical Oral Implants Research*, 19: 303-13.
235. **Velasco-Ortega, E., Jos, A., Cameán, A.M., Pato-Mourelo, J., Segura-Egea, J.J.** (2010): *In vitro* evaluation of cytotoxicity and genotoxicity of a commercial titanium alloy for dental implantology. *Mutat Research*, 702: 17-23.
236. **Vetterl, V., Silvennoinen, R., Hasoň, S., Vaněk, J., Cvrček, L., Fojt, L., Strašák, L., Bartáková, S., Prachár, P.** (2011): Optical sensing of protein absorption on titanium implants as a tool for determination of dental implants biokompatibility. Book of Abstracts, Sensing Technology (ICST), 2011 Fifth International Conference. Palmerston North, New Zealand.
237. **Viceconti, M., Muccini, R., Bernakiewicz, M., Baleani M., Cristofolini, L.** (2000): Large-sliding contact elements accurately predict levels of bone-implant micromotion relevant to osseointegration. *Journal of Biomechanics*, 33: 1611-1618.
238. **Villa, R., Ortiz, C.R., Tapia, S., Gonzalez, G., Trillo, E., Garza, K.M., Stafford, S.W., Murr, L.E.** (2002): *In vitro* biokompatibility studies of fibroblast cells on Ti-Ta alloys. *Materials Transactions*, 43: 2991-2994.
239. **Vlacic-Zischke, J., Hamlet, S.M., Friis, T., Tonetti, M.S., Ivanovski, S.** (2011): The influence of surface microroughness and hydrophilicity of titanium on the up-regulation of TGF β /BMP signalling in osteoblasts. *Biomaterials*, 32: 665-671.
240. **Vrbová, R., Sochor, M.** (2010): Povrch dentálních implantátů a jeho vliv na interakci s biologickým prostředím. *Česká stomatologie / Praktické zubní lékařství*, 110: 49-60.
241. **Wally, Z.J., van Grunsven, W., Claeysens, F., Goodall, R., Reilly, G.C.** (2015): Porous Titanium for Dental Implant Applications. *Metals*, 5: 1902-1920.
242. **Wang, B.L., Li, L., Zheng, Y.F.** (2010): *In vitro* cytotoxicity and hemocompatibility studies of Ti-Nb, Ti-Nb-Zr and Ti-Nb-Hf biomedical shape memory alloys. *Biomedical Materials*, 5: 1-7.
243. **Wang, Y., Yu, H., Chen, C., Zhao, Z.** (2015): Review of the biocompatibility of micro-arc oxidation coated titanium alloys. *Materials and Design*, 85: 640-652.
244. **Wataha, J.C., Messer, R. L.** (2004): Casting Alloys. *Dental Clinics of North America*, 48: 499-512.

245. **Weiss, L., Nessler, Y., Novelli, M., Lauherte, P., Grosdidier, T.** (2019): On the Use of Functionally Graded Materials to Differentiate the Effects of Surface Severe Plastic Deformation, Roughness and Chemical Composition on Cell Proliferation. *Metals*, 9: 1344. doi:10.3390/met9121344
246. **Wheelis, S.E., Montaña-Figueroa, A.G., Quevedo-Lopez, M., Rodrigues, D.C.** (2018): Effects of titanium oxide surface properties on bone-forming and soft tissue-forming cells. *Clin. Implant. Dent. Relat Res.*, 20: 838-847.
247. **Yamada, Y., Yamada, M., Ueda, T., Sakurai, K.** (2014): Reduction of biofilm formation on titanium surface with ultraviolet-C pre-irradiation. *Journal of Biomaterial Applications*, 29: 161–71.
248. **Yamazoe, J., Nakagawa, M., Matono, Y., Takeuchi, A., Ishikawa, K.** (2007): The development of Ti alloys for dental implant with high corrosion resistance and mechanical strength. *Dental Materials Journal*, 26: 260-267.
249. **Zareidoost, A., Yousefpour M.** (2020): A study on the mechanical properties and corrosion behavior of the new as-cast TZNT alloys for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, e-ahead publication No. 110725.
250. **Zhan, H., Ceguerra, A., Wang, G., Cairney, J., Dargusch, M.** (2018): Precipitation of string-shaped morphologies consisting of aligned α phase in a metastable β titanium alloy. *Scientific Reports*, 8, Article number: 2038(2018), doi:10.1038/s41598-018-20386-1.
251. **Zhang, B.B., Wang, B.L., Wang, Y.B., Li, L., Zheng, Y.F., Y. Liu, Y.** (2012): Development of Ti-Ag-Fe ternary titanium alloy for dental application. *Journal of Biomedical Material Research, B*, 100: 185–196.
252. **Zhang, B.B., Qiu, K.J., Wang, B.L., Li, L., Zheng, Y.F.** (2012): Surface Characterization and Cell Response of Binary Ti-Ag Alloys with CP Ti as Material Control. *Journal of Materials Science and Technology*, 28: 779-784.
253. **Zhang, F., Quan, Y., Reich, M., Kessler, O., Burkel, E.** (2013): Sintering and Heat Treatment of Titanium Alloys by Pulsed Electric Current Sintering. In: Burcu Ertuğ (Ed.): *Materials Science. Sintering Applications*, InTech publication.
254. **Zhao, D., Han, C., Li, Y., Li, J, Zhou, K., Wei, O., Liu, J., Shi, Y.** (2019): Improvement on mechanical properties and corrosion resistance of titanium-tantalum alloys in-situ fabricated via selective laser melting. *Journal of Alloys and Compounds*, 804: 288-298.

255. **Zhou, L.Y., Niinomi, M., Akahori, T.** (2004): Mechanical Properties of Binary Ti-Ta Alloys for Biomedical Applications. *Materials Science Forum*, 449-452: 1089-1092.
256. **Zhou, S., Wang, J., Cai, P.** (2017): Corrosion Resistance Investigation of Titanium Alloy as Tissue Engineered Bone Implant. *International Journal of Electrochemical Science*, 12: 7174-7182.
257. **Ziaja, W., Motyka, M., Kubiak, K., Sieniawsky, J.** (2016): Primary creep behaviour of two-phase titanium alloy with various microstructure. *Arch. Metall. Mater.*, 61: 683–688.
258. **Zilm, P.S., Bartold, P.M.** (2011): Proteomic identification of proteinase inhibitors in the porcine enamel matrix derivative, EMD(R). *Journal of Periodontal Research*, 46: 111–117.

14. Další zdroje

Hanawa, T. (2013): Titanium and titanium alloys as biomaterials for application in medicine. Nepublikovaná přednáška v rámci kursu Materiály a technologie v protetickém lékařství. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Brno, listopad 2013.

Hanawa, T. (2019): New trends in biomaterials in dentistry. Nepublikovaná přednáška v rámci kursu Materiály a technologie v protetickém lékařství. Masarykova univerzita, Lékařská fakulta, Brno, listopad 2019.

ISO7405, Evaluation of Biocompatibility of Medical Devices Used in Dentistry, 2008.

ISO10993-5, Biological Evaluation of Medical Devices. Part5. Test for In Vitro Cytotoxicity, 2009.

Specifické stránky na www

<http://www.prvky.com/22.html> (technické vlastnosti titanu).

<http://www.news-medical.net/whitepaper/20130903/Hydroxyapatite-Coating-for-Titanium-Implants.aspx> (nanopovlakování hydroxyapatitem).

Noumbissi, S. (2012): Risks of corrosion with titanium dental implants. E-publication: <http://www.milesofsmilesdental.net/1248/risks-of-corrosion-with-titanium-dental-implants/>

https://pt.kle.cz/cs_CZ/titan.html

15. Příloha

V příloze jsou uvedeny původní časopisecké práce, a to ve členění:

A) odborné články excerpované v databázi WOS


- Bartáková, S.**, Málek, J., Prachár, P. (2019): The Effect of Oxygen Addition on Microstructure and Mechanical Properties of Various Beta-Titanium Alloys. *JOM*, 72: 1656–1663. 120
- Málek, J., Hnilica, F., **Bartáková, S.**, Mika, P., Veselý, J. (2018): The effect of different forms of oxygen on properties of beta titanium alloys. *Acta Polytechnica*, 58: 179-183. 128
- Bartáková, S.**, Prachár, P., Dvořák, I., Hrubý, V., Vaněk, J., Pospíchal, M., Svoboda, E., Martikář, A. (2015): Mechanical properties and microstructure of Ti-35.5Nb-5.7Ta beta alloy. *Bratislava Medical Journal - Bratislavské lekárske listy*, 116: 88-92. 134
- Prachár, P., **Bartáková, S.**, Březina, V., Cvrček, L., Vaněk, J. (2015): Cytocompatibility of implants coated with titanium nitride and zirconium nitride. *Bratislava Medical Journal - Bratislavské lekárske listy*, Bratislava, Slovakia, 116(3): 154-156. 138
- Prachár, P., **Bartáková, S.**, Vaněk, J. (2014): The titanium PV I endosteal implant from beta-titanium alloy Ti 38Nb 6Ta. *Biomedical Papers*, 159: 503-507. Doi: 10.5507/bp.2014.011. 141
- Tsutsumi, Y., **Bartáková, S.**, Prachár, P., Yalatu, S., Migita, S., Doi, H., Nomura, N., Hanawa, T. (2012): Long-Term Corrosion Behavior of Biocompatible β -Type Ti Alloy in Simulated Body Fluid. *Journal of The Electrochemical Society*, 159: 435-440. 146
- Málek, J., Hnilica, F., Veselý, J., Smola, B., **Bartáková, S.**, Vaněk, J. (2012): Microstructure and mechanical properties of Ti-35Nb-6Ta alloy after thermomechanical treatment. *Materials Characterization*, 66: 75-82. 153
- Málek J., Hnilica F., Smola B., **Bartáková S.**, Vaněk J. (2012): The influence of chemical composition and thermo-mechanical treatment on Ti-Nb-Ta-Zr alloys. *Materials and Design*, 35: 731-740. 161
- Hao, J., Kuroda, S., Ohya, K., **Bartáková, S.**, Aoki, H., Kasugai, S. (2011): Enhanced osteoblast and osteoclast responses to a thin film sputtered hydroxyapatite coating. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 22: 1489-99. 171
- Borák, L., Florian, Z., **Bartáková, S.**, Prachár, P., Murakami, N., Ona, M., Igarashi, Y., Wakabayashi, N. (2011): Bilinear elastic property of the periodontal ligament for simulation using a finite element mandible model. *Dental Material Journal*, 30: 448-454. 182
- Strecha, J., Jurkovic, R., Siebert, T., Prachár, P., **Bartáková, S.** (2010): Fixed Bicortical Screw and Blade Implants as a Non-Standard Solution to an Edentulous (Toothless) Mandible. *International Journal of Oral Science*, 2: 105-110. 189
- Silvennoinen, R., Hasoň S., Vetterl, V., Penttinen, N., Silvennoinen, M., Myller, K., Černochová, P., **Bartáková, S.**, Prachár, P., Cvrček, L. (2010): Diffractive-optics-based sensor as a tool for detection of biocompatibility of titanium and titanium-doped hydrocarbon samples. *Applied Optics*, 49: 5583-5591. 195
- Manogue, M., Kelly, M., **Bartakova, S.**, Brown, G., Catalanotto, F., Choo-Soo, T., Delap, E., Godoroja, P., Morio, I., Rotgans, J., Saag, M. (2002): 2.1 Evolving methods of assessment. *Europaen Journal of Dental Education*, 6(Suppl.): 53-66. 204

B) odborné články v databázích (SCOPUS apod.) a ostatní články: Celkem 23 článků 218 -364

218/224/238/250/256/268/274/280/285/288/295/305/310/317/324/328/333/336/340/345/352/
358/363



The Effect of Oxygen Addition on Microstructure and Mechanical Properties of Various Beta-Titanium Alloys

SONIA BARTÁKOVÁ,¹ JAROSLAV MÁLEK ^{2,3,4}
and PATRIK PRACHÁR¹

1.—Department of Stomatology, Faculty of Medicine Masaryk University and St. Ann's University Hospital in Brno, Pekarska 53, 656 91 Brno, Czech Republic. 2.—UJP PRAHA a.s., Nad Kamínkou 1345, 156 00 Prague-Zbraslav, Czech Republic. 3.—Faculty of Mechanical Engineering, Czech Technical University in Prague, Karlovo Náměstí 13, 121 35 Prague 2, Czech Republic. 4.—e-mail: malek@ujp.cz

Simultaneously achieving high strength and low Young's modulus is essential for implant materials due to the “stress-shielding effect”. In this work, the mechanical properties and microstructure of various beta-titanium alloys based on the Ti-Nb system with additions of Zr, Ta and Sn have been studied. Those alloys were prepared via the arc melting process. Thermo-mechanical processing (i.e., hot forging, solution treatment and cold swaging) has been performed. The alloys exhibited low Young's modulus around 50 GPa (43 GPa was the lowest measured value) and tensile strength around 800 MPa. The tensile strength was increased via aging treatment (450°C/8 h) to 985 MPa while the modulus increased to 75 GPa. On the other hand the addition of 0.4 wt.% of oxygen seems to be more beneficial as the tensile strength reached values as high as 1225 MPa and simultaneously maintained low Young's modulus (~ 62 GPa) and sufficient elongation (~ 8%).

INTRODUCTION

The titanium alloys are considered as promising materials for hard tissue replacements in medicine due to their interesting properties such as high strength, good corrosion resistance and low density. Among titanium and its alloys, the so-called β -titanium alloys are the most intensively studied group of materials for bio-applications. Besides excellent corrosion resistance,¹ those alloys contain mainly fully biocompatible elements (Nb, Ta, Zr, etc.), which is very important, as the potentially harmful elements (Al, V, Cu) should be avoided for alloying.²⁻⁴ The beta-titanium alloys have microstructures consisting predominantly of the β -titanium (bcc) phase. Thanks to such microstructures, these alloys are suitable for cold working and usually exhibit lower Young's moduli than other titanium alloys. A low modulus is important in order to avoid the “stress-shielding effect” which can emerge when a material with significantly higher stiffness replaces hard tissue.⁵⁻⁷ In such cases, the rest of the surrounding tissue suffers from insufficient loading, and this can lead to bone

atrophy and subsequent problems. On the other hand, sufficient tensile strength is also required for the proper function of the implant, as it has to withstand the loading. Moreover, high strength can lead to a new construction of implants that could further suppress the stress-shielding effect (e.g., porous implants). Many alloys have been designed that exhibit relatively low Young's moduli (~ 50 GPa) and good tensile strength.⁸⁻¹¹ Nevertheless increasing the tensile strength of such alloys and maintaining their low modulus (or with an as small as possible increase) would be of great importance. Recently, many Ti-Nb-based alloys with different chemical compositions and microstructures have been tested for Young's modulus and tensile strength (e.g., Refs. 12 and 13). Many researchers have investigated the effect of niobium, tantalum, zirconium and oxygen content on the phase stability and mechanical properties of alloys. Several ways of how to improve the tensile strength can be found.¹⁴ Controlling the microstructure via adjusting the thermo-mechanical processing parameters along with proper alloying may lead to a significant improvement of mechanical properties (in beta-

titanium alloys, as well as in high-entropy alloys or metallic glasses, etc.).^{14–17} Increasing the content of interstitial elements (i.e., O and N) can be beneficial, as it intensively increases the tensile strength and does not dramatically increase the Young's modulus.^{13,18,19} Tane et al.²⁰ showed that increasing the oxygen concentration in the alloy suppresses the increase in the Young's modulus because the addition of oxygen decreases the amount of the α'' and ω phases. Yu et al.²¹ reported that the improvement of strength via the addition of oxygen is caused by the strong interaction of the screw dislocation with the strain field created by the oxygen atoms in the octahedral interstitial position, which significantly reduces the dislocation mobility. The increase of oxygen content in the alloy may lead to a decrease in elongation (plasticity).^{14,22,23} On the other hand Yan et al.²³ claimed that the β -titanium alloys are less prone to oxygen content (with respect to elongation drop) than other titanium alloys. Cold working combined with the addition of oxygen may result in a combination of low Young's modulus with high strength. In our work, we have focused on several Ti-Nb-based alloys with different oxygen contents. Since the 1990s, Ti-Nb-based alloys have been considered for implant materials because of their generally low modulus of elasticity and great strength (Kuroda et al.²⁴). Therefore, we aimed to study the possibility of tensile strength improvement via the addition of oxygen in various titanium alloys, and to compare this improvement with the conventional thermo-mechanical treatment, putting emphasis on maintaining a low Young's modulus.

EXPERIMENTAL

Several alloys have been prepared in this work in order to compare their properties and the effect of oxygen on them: Ti-35Nb-6Ta-O alloy, Ti-25Nb-4Ta-4,6,8,10 Sn-O alloy, and Ti-35Nb-2Zr-O alloy have been synthesized. The alloys were prepared in an electric arc melting furnace (Leybold Heraeus, type L, 200 h) with a water-cooled copper crucible. The melting was carried out by a non-consumable tungsten electrode under a helium protective atmosphere. Pure metals (Ti and Nb, and Ta, Zr, and Sn) along with TiO₂ powder were used. The addition of oxygen has been chosen to be 0.2 wt.%, 0.3 wt.%, 0.4 wt.%, 0.6 wt.% and 0.8 wt.%. In the case of specimens without the addition of oxygen, the oxygen content has been determined to be ~ 0.05 wt.%. Therefore, the total oxygen content in the alloy is considered to be the addition + 0.05 wt.%. Alloys were remelted at least six times to ensure chemical homogeneity. The as-cast alloys were machined to remove surface defects and then hot-forged at 700–1100°C into a cylindrical rod shape (diameter ~ 12 mm). Subsequently, specimens were solution-treated at 850°C (1000°C was used for alloys with a higher oxygen content in order to be sure, that the annealing temperature is above

the β -transus temperature) for 0.5 h and water-quenched. The solution-treated specimens were then cold-swaged with a section reduction of $\sim 80\%$. Specimens for light microscope observations (Nikon EPIPHOT 300) were ground with SiC papers up to #4000, polished with Struers OP-S emulsion with the addition of 0.6 ml OP-S, 2 ml H₂O and 2 ml NH₃ and finally etched with 3 ml HF + 8 ml HNO₃ + 100 ml H₂O etchant. Transmission electron microscopy (TEM) observations were carried out on a JEOL JEM 2000EX microscope operated at 160 or 200 kV in a bright-field imaging mode or selected area electron diffraction mode. The specimens for TEM observations were thinned by grinding to a thickness of about 100 μm and then electropolished in 10% HClO₄ + 20% glycerol + 70% methanol solution at -20°C using a Struers TENUPO 2 machine.

The content of oxygen in the studied alloys has been determined by using a Bruker Galileo G8 inert gas fusion analyzer. For this, the specimens of the alloys weighed about 0.1 g.

Tensile tests (ISO 6892–1:2009 standard) were performed on standard round tensile specimens (gauge diameter of 4 mm) with round shoulders on an INSTRON 1185 testing machine equipped with a video-extensometer. At least three specimens were tested for each value.

RESULTS

The Ti-35Nb-6Ta-O Alloy

The Ti-35Nb-6Ta alloy investigated in this work was modified by adding the above-mentioned oxygen additions.

After hot forging and solution treatment, the specimens were cold-swaged in several steps to final diameters with total section reductions of $\sim 80\%$. The same processing has been used for the alloys with and without the addition of oxygen. The specimens of the Ti-35Nb-6Ta alloy without oxygen have also been aged (450°C/8 h/furnace-cooled) after cold swaging.

The microstructure of the as-cast alloy consists of very coarse (> 1 mm) β -phase grains with small fractions of fine α -particles on the grain boundaries and interiors. This microstructure was refined during hot forging and solution treatment. The solution-treated alloy has a microstructure consisting of refined (~ 200 μm) pure and equiaxed β -phase grains, which became elongated in the direction of the swaging axis into a fiber-like structure during cold swaging. A very small fraction of a needle-like α'' -Ti martensitic phase has been detected.

On the other hand, no α or ω precipitates were observed during the TEM analysis or any other used methods. Dislocation tangles were observed by TEM. Numerous needle-like α -precipitates emerged during the aging treatment (450°C/8 h which was observed by TEM (see Fig. 1). Additionally, coarser

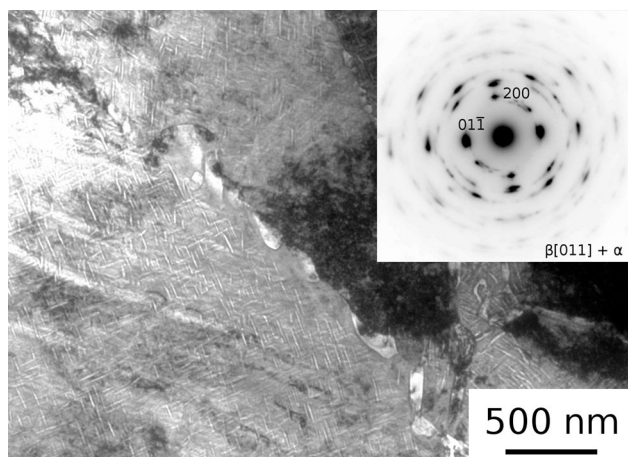


Fig. 1. Microstructure of cold-swaged and subsequently aged (450°C/8 h) Ti-35Nb-6Ta alloy.

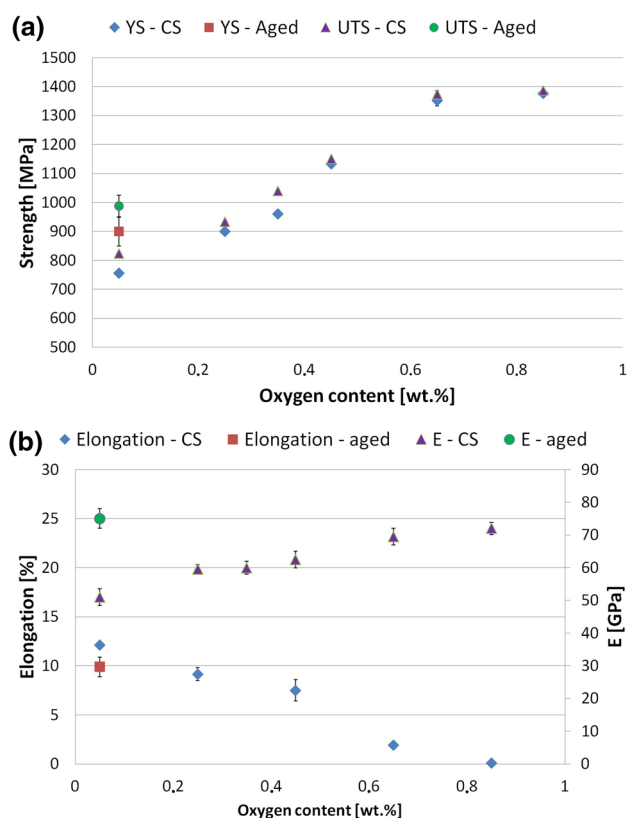


Fig. 2. (a) Dependence of mechanical properties versus oxygen content of cold-swaged (CS) and aged Ti-35Nb-6Ta alloy; YS, yield strength; UTS, ultimate tensile strength; (b) elongation (E) and Young's modulus.

precipitates along the grain boundaries can also be observed (Fig. 1). More details about the microstructure of those alloys have been described in our previous works.^{25,26} In the alloys with oxygen (even for the lowest 0.2 wt.% addition) only a deformed β -phase has been observed (no α'' , α or ω phases) after cold swaging.

The mechanical properties obtained from tensile tests of Ti-35Nb-6Ta- XO alloy are plotted in Fig. 2. It can be seen from Fig. 2a that the tensile strength values (as well as yield strength values) can be significantly improved via oxygen additions. The increase of tensile strength due to added oxygen can reach 80% of the original value (alloy with no added oxygen). Certain increases of tensile strength can also be attained by thermal treatment (aging 450°C/8 h). On the other hand, with a certain amount of the oxygen strongly deteriorated the plasticity of the alloy (elongation values). It can be seen from Fig. 2b that the elongation values for the alloys with 0.6 and 0.8% added oxygen has elongation values lower than 2% which is not suitable for many applications. Aging treatment also led to a decrease in elongation values; however, in aged alloys, the elongation is still around 10% and therefore acceptable for practical use. The Young's modulus values are plotted in Fig. 2b. It can be observed that the aging treatment caused significant increases in modulus values (from 50 GPa to 75 GPa). Also, the added oxygen caused an increase in the modulus (depending on the amount of oxygen added), but this increase is lower than that caused by the aging treatment (precipitation of the α -phase). So it can be assumed that, for potential use as biomaterial (desired high strength, low Young's modulus and sufficient elongation), the most convenient way of how to improve the mechanical properties is the addition of oxygen in amounts not exceeding 0.4 wt.%, which improved the strength up to (1150 MPa) with a small increase in Young's modulus (60 GPa) and retained sufficient elongation values ($\sim 8\%$).

The Ti-Nb-Ta-Sn-O Alloys

The microstructure of Ti-25Nb-4Ta-4,6,8,10Sn solution-treated alloys differs according to the change of Sn content. The alloys containing 4 wt.% and 6 wt.% of Sn (4Sn and 6Sn) exhibit coarse grains with α'' martensitic needles inside (Fig. 3a). The microstructures of the 8Sn (see Fig. 3b) and 10Sn-containing alloys have single-phase β -grains and only a very small fraction of α -precipitates (especially along grain boundaries) can be observed.

During the cold swaging, the microstructure of such alloys undergoes changes according to their Sn content. The 4Sn and 6Sn-containing alloys possess very fine microstructures elongated in the direction of the swaging axis. Similar effects can be observed in the 8Sn and 10Sn alloys along with deformation bands.

The tensile strength values are the highest for the 6Sn alloy, but the 4Sn and 8Sn alloys also have quite high values of tensile strength (Fig. 4a). On the other hand the 4Sn and 6Sn alloys exhibit low elongation values (up to 5%) which could be a problem for the practical use of these alloys (Fig. 4b). The 8Sn and 10Sn specimens have elongations above 15%. Moreover, the 8Sn specimen exhibits a

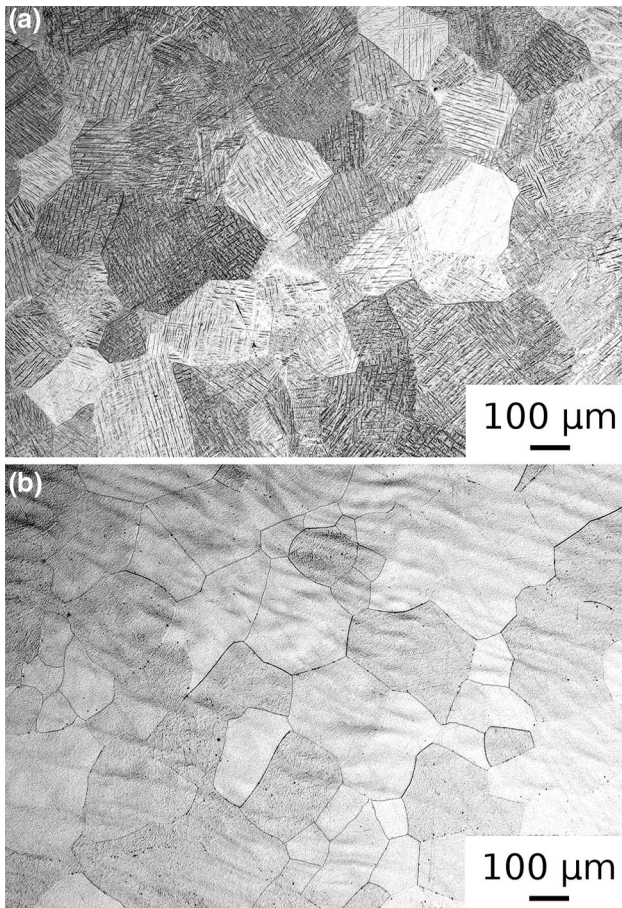


Fig. 3. Microstructure of solution-treated Ti-25Nb-4Ta-4Sn alloy (a) and 25Nb-4Ta-8Sn alloy (b).

promising combination of low Young's modulus (~ 43 GPa), sufficient elongation ($\sim 18\%$) and high strength (820 MPa). Therefore, the Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy has been chosen to study the influence of added oxygen on its properties.

The Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy after cold swaging exhibits a wave-like microstructure in the transversal direction and a fiber-like microstructure elongated in the direction of the swaging axis (as in the previously mentioned Ti-35Nb-6Ta alloy) in the longitudinal direction. The deformation is probably achieved mainly by multiple active slip systems inside the intensively deformed shear bands (highlighted in Fig. 5, obtained by TEM).

The Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy was modified by oxygen addition as was the previously mentioned Ti-35Nb-6Ta alloy. The microstructure of all the Ti-25Nb-4Ta-8Sn- x O ($x = 0.2, 0.4, 0.6,$ and 0.8) alloys consisted of pure β -phase grains. The cold-swaged microstructure is similar to that of the alloy without oxygen addition and to Ti-35Nb-6Ta- x O alloys.

The dependence of tensile strength and yield strength on the oxygen content in the Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy can be seen in Fig. 6a. On the basis of the above results, the oxygen was up to 0.4 wt.%. It can be seen that the tensile strength increased from

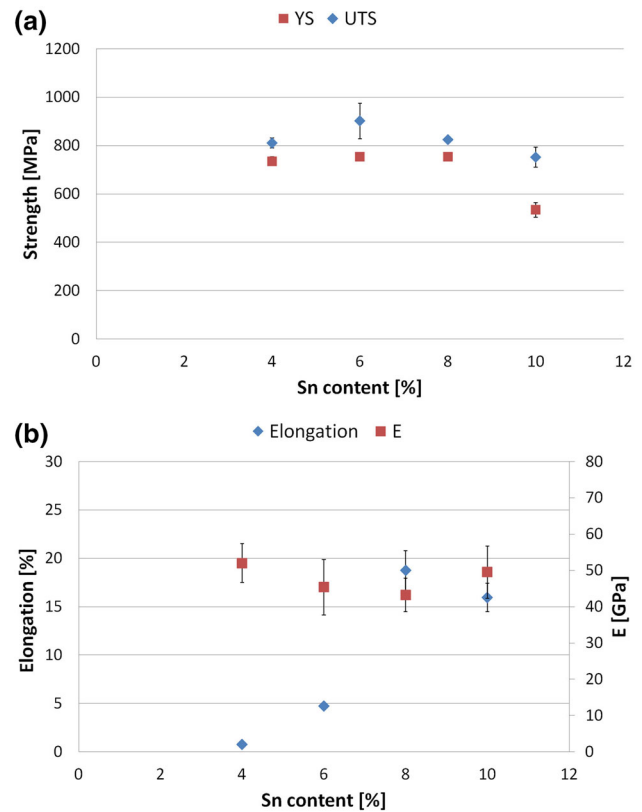


Fig. 4. Dependence of mechanical properties versus Sn content of cold-swaged (CS) Ti-25Nb-4Ta-XSn alloy; (a) YS, yield strength; UTS, ultimate tensile strength; (b) Elongation; E, Young's modulus.

845 MPa to 1150 MPa (0.4 wt.%). Simultaneously, the increase of Young's modulus has been observed (from 43 GPa to 68 GPa), as seen in Fig. 6b. The elongation value decreased from 14% (no added oxygen) to 8% (0.4 wt.% O).

The Ti-35Nb-2Zr-O Alloy

The previously developed Ti-35Nb-2Zr²⁷ alloy was also modified by adding 0.4 wt.% of oxygen on the basis of previous results, which have shown that this oxygen addition was the best to maintain a good compromise between an increase in strength and a reasonable plasticity of the alloy. In this case, the microstructure of the solution-treated alloy (without oxygen addition) consists predominantly of the α'' martensitic phase. The addition of oxygen into the Ti-35Nb-2Zr alloy caused a significant change in microstructure, as the α'' -martensitic phase disappeared (was not observed) and pure β -phase grains were observed in the alloys with added oxygen. This is different from the previously mentioned Ti-25Nb-4Ta-8Sn, as that alloy exhibited a pure β -phase structure after solution treatment (before oxygen modification). On the other hand, in the Ti-35Nb-6Ta, certain small amounts of α'' martensite have been observed which disappeared after oxygen addition. The microstructure of the Ti-35Nb-2Zr alloy after cold deformation consists mainly of very

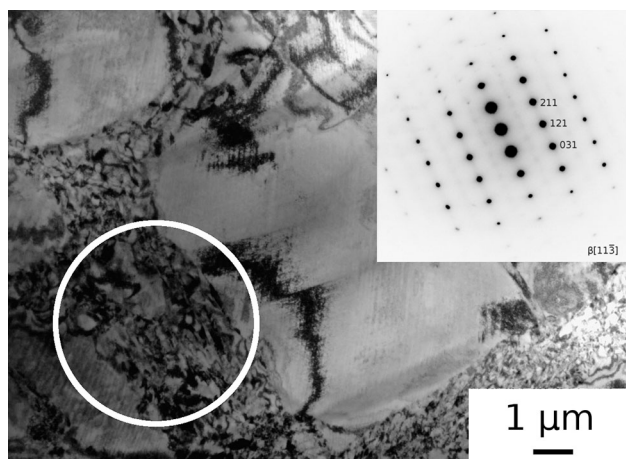


Fig. 5. Microstructure of Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy after cold swaging (by TEM) with highly deformed shear bands (indicated by the circle).

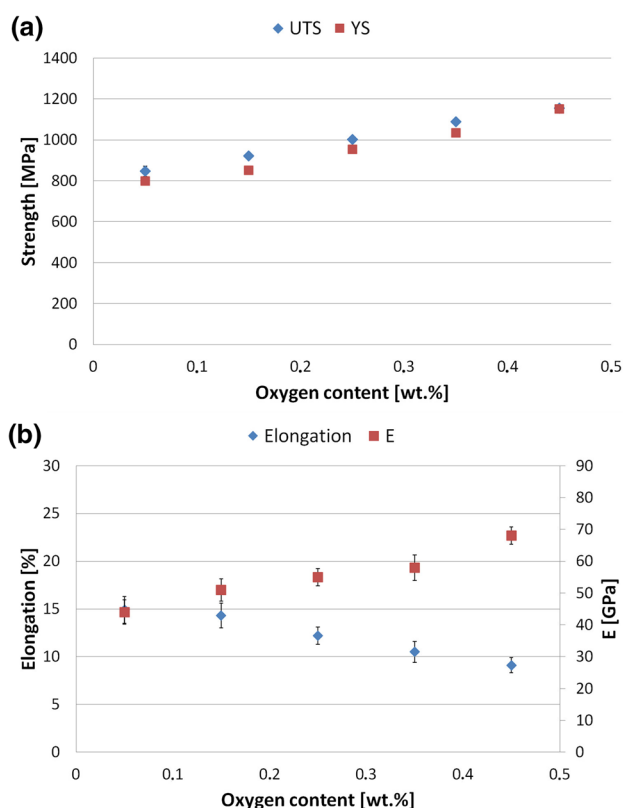


Fig. 6. Dependence of mechanical properties versus oxygen content of cold-swaged (CS) Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy; (a) YS, yield strength; UTS, ultimate tensile strength; (b) Elongation; E , Young's modulus.

fine deformed martensitic needles, together with elongated fiber-like features. Similar elongated β -grains can be observed in the Ti-35Nb-2Zr-0.4O cold-deformed alloy. Additionally, less deformed areas containing numerous slip bands are present in the microstructure. It can be seen from Table I that the addition of 0.4 wt.% of oxygen led to an increase in the tensile strength to 1225 MPa, which is the highest value among all the alloys studied in

this work. Moreover, the elongation is still close to 8% which is similar to other alloys, while the Young's modulus is comparable with other studied materials (~ 62 GPa).

Fractography

The fracture mechanisms during the tensile tests of the studied alloys are similar and therefore the main characterizations of their fracture surfaces are described simultaneously. During the plastic deformation, the so-called "necking" effect took place along with the formation of shear lips at the edge of the tensile specimens. The necking effect diminishes with the increasing oxygen content in the alloy. The nucleation of voids and their coalescence leads to the rupture of the specimens, and therefore a typical dimple-like morphology can be observed. The total number of dimples is lower in the case of alloys without oxygen modification compared to alloys with oxygen addition (compare Fig. 7a and b). Moreover, dimples in the alloys without oxygen addition are significantly deeper, which can be attributed to the limited plasticity of the modified (by oxygen) alloys.

DISCUSSION

The addition of oxygen caused changes in the microstructure when the α'' -Ti martensitic phase disappeared in favor of the β -Ti phase. This was observed in both the Ti-35Nb-6Ta alloy and the Ti-35Nb-2Zr alloy where this effect is obvious thanks to a high fraction of the martensitic phase in the solution-treated state. This can be ascribed to the role of oxygen that is known to significantly decrease the martensite start (M_s) temperature and therefore inhibit the formation of the α'' -Ti phase,²⁸⁻³² as well as inhibiting the formation of the ω -phase.^{28,33} In the case of the Ti-35Nb-2Zr alloy, the addition of 0.4 wt.% oxygen decreased the M_s temperature below room temperature and therefore pure β -phase has been retained, and the aging treatment increased the tensile strength of the Ti-35Nb-6Ta alloy. On the other hand, a significant increase in Young's modulus has also been observed, caused by the precipitation of a high fraction of the secondary α -phase as proved by TEM. It has been shown that the α -phase (and also the ω -phase) have significantly higher Young's moduli than the β -phase.³³⁻³⁵ Therefore, the precipitation of such phases causes the increase of the moduli according to their volume fraction. The needles of the α -particles can also hinder the dislocation movement and therefore increase the tensile strength and decrease the elongation value. The higher oxygen content in the alloy has a similar effect, as the atoms of oxygen are occupying the interstitial sites, which results in strain fields hindering the dislocation movement.^{29,36} Moreover, the oxygen can form atoms which may form the so-called Cottrell atmospheres when interacting with

Table I. Mechanical properties of Ti-35Nb-2Zr and Ti-35Nb-2Zr-0.4O alloys

Alloy	UTS (MPa)	YS (MPa)	Elongation (%)	<i>E</i> (GPa)
Ti-35Nb-2Zr	805	770	14	53
Ti-35Nb-2Zr-0.4O	1225	1170	8	62

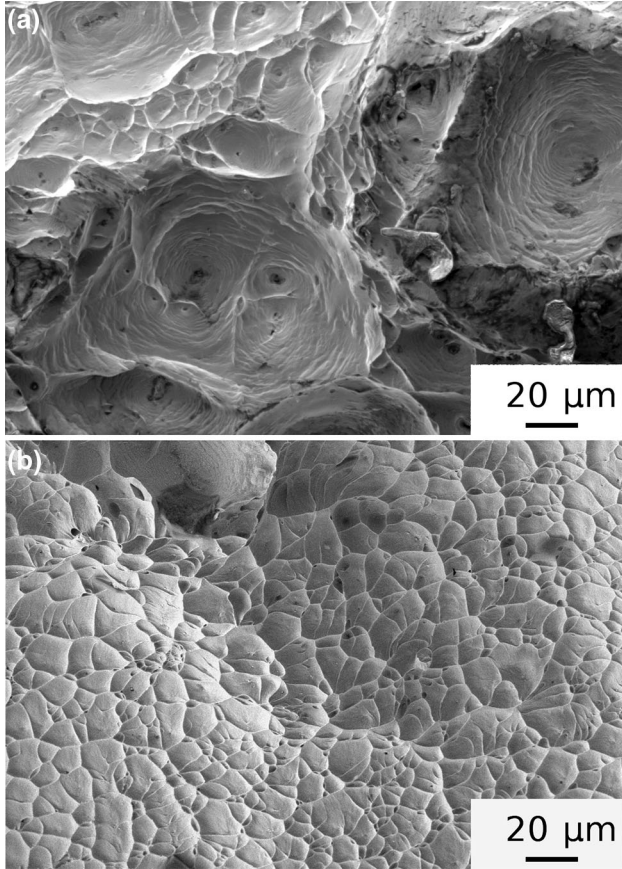


Fig. 7. Fracture surface of (a) Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy, and (b) Ti-25Nb-4Ta-8Sn-0.4O alloy; detail from the central region of the fracture surface.

edge dislocations or Snoek's atmospheres (interacting with screw dislocations).¹⁹ Those atmospheres further hinder dislocation movements and therefore increasing the strength and decreasing the elongation. It is evident from these results that the modulus increased significantly (to ~ 75 GPa) after aging. The alloy after aging has a tensile strength of 985 MPa. However if we consider the alloy with the same modulus value (75 GPa) strengthened via oxygen addition, then the value of tensile strength is around 1400 MPa (compared to 985 MPa of the aged alloy). It is therefore evident that, in this case, the strengthening via oxygen addition is more effective than the aging treatment (with respect to the strength to modulus ratio). It should be pointed out that the alloy with a tensile strength of 1400 MPa has poor ductility, as the elongation is

close to zero. In any case the addition of 0.4% oxygen may exhibit high tensile strength (~ 1150 MPa), sufficient elongation ($\sim 9\%$) and low modulus (~ 60 GPa). Due to those reasons, it can be considered as a more promising way of increasing the performance of β -titanium alloys for bio-applications compared with the aging treatment. A slight increase in the Young's modulus of beta-titanium alloys has been observed by various authors.^{29,37,38} However, different dependences of the modulus versus oxygen addition have been reported. Min et al.³⁸ reported that oxygen addition increases the Young's modulus mainly at lower concentrations, and that further addition has very little impact on the modulus value. Our results are more likely consistent with other authors^{13,19,29,37} who have reported continuous increases in modulus values with increasing oxygen content. On the other hand, Takesue et al.³⁹ claimed that, in beta-titanium monocrystals, the modulus remains almost independent of oxygen content in the observed crystallographic directions. The reason for the increase of Young's modulus caused by oxygen is unclear, as no α -particles were observed in such alloys. On the other hand, a small fraction of the α -phase cannot be excluded, as it has been reported⁴⁰⁻⁴² that oxygen is an α -stabilizer. On the other hand, Abdel-Hady et al.⁴¹ claimed that oxygen in solution-treated alloys may act as a β -stabilizer, and an α -stabilizing effect can be observed mainly during aging treatment. In any case, it seems that the effect of phase constitution is supposed to be of minor importance, as no significant changes in phase composition due to oxygen addition (except in the Ti-35Nb-2Zr alloy) have been observed. In the Ti-35Nb-2Zr alloy, the dominant α'' phase disappeared in favor of the β -phase after oxygen addition, but Hao et al.⁴³ claimed that the Young's modulus of the α'' phase is close to that of the β -phase modulus. It has been reported that the addition of oxygen (or other interstitial elements) increases the Young's modulus values due to changes in interatomic distances and interatomic force interactions. Those are, according to Geng et al.,⁴³ supposed to be stronger as the atoms are closer when oxygen is added to the alloy, and therefore a slight increase in the modulus can be observed. Another reason for an increase of Young's modulus could possibly be texture development during cold deformation (cold swaging). It is known that the β -phase modulus depends on the crystallographic orientation,^{39,44-46} and it is well known that, during severe cold deformation, the $\langle 110 \rangle$

fiber texture is developed.^{45,47,48} It could possibly be that alloys modified by oxygen addition have different (or weaker) textures due to their limited plasticity. However, this is only a hypothesis as no texture data for those alloys are available at this time.

CONCLUSION

On the basis of presented results can be concluded that:

- a. The addition of oxygen into β -titanium alloys leads to the disappearance of α' -Ti in the specimens where it was present after solution treatment (Ti-35Nb-2Zr alloy).
- b. The 450°C/8 h annealing caused a significant improvement of tensile strength (from 800 MPa to 985 MPa) simultaneously with a significant increase of Young's modulus (to 75 GPa) values in the Ti-35Nb-6Ta alloy. A more distinct increase in strength to 1150 MPa for this alloy can be achieved via the addition of 0.4 wt.% of oxygen together with a lower modulus increase (to 62 GPa).
- c. The Ti-25Nb-4Ta-8Sn alloy has the lowest modulus among all the studied alloys (~45 GPa) with a tensile strength of 820 MPa. The addition of 0.4 wt.% oxygen led to an increase in strength to 1150 MPa, while maintaining the modulus of 68 GPa.
- d. The 0.4 wt.% oxygen addition into the Ti-35Nb-2Zr alloy led to the most significant increase in tensile strength among all the studied alloys (from 810 MPa to 1225 MPa), while the Young's modulus increased from 53 GPa to 62 GPa.

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors would like to express thanks to the Czech Technology Agency for its financial support for this work [TE01020390], and to Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic program NPU1 [Project no. LO1207].

REFERENCES

1. N.S. Manam, W.S.W. Harun, D.N.A. Shri, S.A.C. Ghani, T. Kurniawan, M.H. Ismail, and M.H.I. Ibrahim, *J. Alloys Compd.* 701, 698 (2017).
2. A. Biesiekierski, J. Wang, M.A.-H. Gepreel, and C. Wen, *Acta Biomater.* 8, 1661 (2012).
3. J.M. Cordeiro and V.A.R. Barao, *Mater. Sci. Eng., C* 71, 1201 (2017).
4. D.F. Williams, *Biomaterials* 29, 2941 (2008).
5. N. Yamamoto, K. Ohno, K. Hayashi, H. Kuriyama, K. Yasuda, and K. Kaneda, *J. Biomech. Eng. Asme* 115, 23 (1993).
6. R. Huiskes, H. Weinans, and B. Van Rietbergen, *Clin. Orthop. Relat. Res.* 274, 124 (1992).
7. M.C. Kennady, M.R. Tucker, G.E. Lester, and M.J. Buckley, *Int. J. Oral Maxillofac. Surg.* 18, 307 (1989).
8. L. Kunčická, R. Kocich, and T.C. Lowe, *Prog. Mater. Sci.* 88, 232 (2017).
9. M. Niinomi and M. Nakai, *Int. J. Biomater.* 2011, 836587 (2011).
10. J. Málek, F. Hnilica, J. Veselý, B. Smola, S. Bartáková, and J. Vaněk, *Mater. Des.* 35, 731 (2012).
11. M.A.-H. Gepreel and M. Niinomi, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 20, 407 (2013).
12. Y.-H. Hon, J.-Y. Wang, and Y.-N. Pan, *Mater. Trans.* 44, 2384 (2003).
13. M. Nakai, M. Niinomi, T. Akahori, H. Tsutsumi, and M. Ogawa, *Mater. Trans.* 50, 2716 (2009).
14. L. Kang and C. Yang, *Adv. Eng. Mater.* 21, 1801359 (2019).
15. L. Li, J. Li, Y. He, W. Yi, H. Kou, and J. Wang, *J. Alloys Compd.* 784, 220 (2019).
16. Y.J. Hwang, S.H. Hong, Y.S. Kim, H.J. Park, Y.B. Jeong, J.T. Kim, and K.B. Kim, *J. Alloys Compd.* 737, 53 (2018).
17. S.H. Hong, Y.J. Hwang, S.W. Park, ChH Park, J. Yeom, J.M. Park, and K.B. Kim, *J. Alloys Compd.* 793, 271 (2019).
18. T. Ando, K. Nakashima, T. Tsuchiyama, and S. Takaki, *Mater. Sci. Eng., A* 486, 228 (2008).
19. F. Geng, M. Niinomi, and M. Nakai, *Mater. Sci. Eng., A* 528, 5435 (2011).
20. M. Tane, T. Nakano, S. Kuramoto, M. Hara, M. Niinomi, N. Takesue, T. Yano, and H. Nakajima, *Acta Mater.* 59, 6975 (2011).
21. Q. Yu, R. Traylor, D. Rugg, M. Asta, D.C. Chrzan, and A.M. Minor, *Science* 347, 635 (2015).
22. Z. Lei, X. Liu, Y. Wu, H. Wang, S. Jiang, S. Wang, X. Hui, Y. Wu, B. Gault, P. Kontis, D. Raabe, L. Gu, Q. Zhang, H. Chen, H. Wang, J. Liu, K. An, Q. Zeng, T. Nieh, and Z. Lu, *Nature* 563, 546 (2018).
23. M. Yan, W. Xu, M.S. Dargusch, H.P. Tang, M. Brandt, and M. Qian, *Powder Metall.* 57, 251 (2014).
24. D. Kuroda, M. Niinomi, M. Morinaga, Y. Kato, and T. Yashiro, *Mater. Sci. Eng., A* 243, 244 (1998).
25. J. Málek, F. Hnilica, J. Veselý, B. Smola, S. Bartáková, and J. Vaněk, *Mater. Charact.* 66, 75 (2012).
26. F. Hnilica, J. Málek, and J. Veselý, *Key Eng. Mater.* 647, 79 (2015).
27. J. Málek, F. Hnilica, J. Veselý, B. Smola, K. Kolařík, J. Fojt, M. Vlach, and V. Kodetová, *Mater. Sci. Eng., A* 675, 1 (2016).
28. M. Tane, T. Nakano, S. Kuramoto, M. Niinomi, N. Takesue, and H. Nakajima, *Acta Mater.* 61, 139 (2013).
29. X. Ji, S. Emura, T. Liu, K. Suzuta, X. Min, and K. Tsuchiya, *J. Alloys Compd.* 737, 221 (2018).
30. M. Tahara, H.Y. Kim, T. Inamura, H. Hosoda, and S. Miyazaki, *Acta Mater.* 59, 6208 (2011).
31. M. Besse, P. Castany, and T. Gloriant, *Acta Mater.* 59, 5982 (2011).
32. M. Tahara, H.Y. Kim, H. Hosoda, T.H. Nam, and S. Miyazaki, *Mater. Sci. Eng., A* 527, 6844 (2010).
33. M. Tane, T. Nakano, S. Kuramoto, M. Hara, M. Niinomi, N. Takesue, T. Yano, and H. Nakajima, *Acta Mater.* 58, 6790 (2010).
34. P. Majumdar, S.B. Singh, and M. Chakraborty, *Mater. Sci. Eng., A* 489, 419 (2008).
35. Q. Li, M. Niinomi, M. Nakai, Z. Cui, S. Zhu, and X. Yang, *Mater. Sci. Eng., A* 536, 197 (2012).
36. Y. Nii, T.H. Arima, H.Y. Kim, and S. Miyazaki, *Phys. Rev. B* 82, 1 (2010).
37. C. Lan, F. Chen, H. Chen, Y. Wu, and X. Wu, *J. Mater. Sci. Technol.* 34, 2100 (2018).
38. X. Min, P. Bai, S. Emura, X. Ji, C. Cheng, B. Jiang, and K. Tsuchiya, *Mater. Sci. Eng. A* 684, 534 (2017).
39. N. Takesue, Y. Shimizu, T. Yano, M. Hara, and S. Kuramoto, *J. Cryst. Growth* 311, 3319 (2009).
40. T. Li, D. Kent, G. Sha, M.S. Dargusch, and J.M. Cairney, *Scr. Mater.* 104, 75 (2015).
41. M. Abdel-Hady, K. Hinoshita, and M. Morinaga, *Scr. Mater.* 55, 477 (2006).
42. D. Raabe, B. Sander, M. Friák, D. Ma, and J. Neugebauer, *Acta Mater.* 55, 4475 (2007).
43. Y. Hao, M. Niinomi, D. Kuroda, K. Fukunaga, Y. Zhou, R. Yang, and A. Suzuki, *Metall. Mater. Trans. A* 33, 3137 (2002).
44. M. Awaji, H. Hashimoto, E. Sakedai, and F. Akao, *Acta Crystallogr. Sect. B* 48, 622 (1992).
45. M. Abdel-Hady, K. Hinoshita, H. Fuwa, Y. Murata, and M. Morinaga, *Mater. Sci. Eng., A* 480, 167 (2008).

46. M. Abdel-Hady, H. Fuwa, K. Hinoshita, H. Kimura, Y. Shinzato, and M. Morinaga, *Scr. Mater.* 57, 1000 (2007).
47. J. Malek, F. Hnilica, J. Veselý, K. Kolařík, and J. Capek, in *Metal 2015—24th International Conference on Metallurgy and Materials, Conference Proceedings*, 1294 (2015).
48. R.J. Talling, R.J. Dashwood, M. Jackson, and D. Dye, *Acta Mater.* 57, 1188 (2009).

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

THE EFFECT OF DIFFERENT FORMS OF OXYGEN ON PROPERTIES OF BETA TITANIUM ALLOYS

JAROSLAV MÁLEK^{a,*}, FRANTIŠEK HNILICA^a, SONIA BARTÁKOVÁ^b,
PATRIK MÍKA^c, JAROSLAV VESELÝ^a

^a UJP PRAHA a.s., Nad Kamínkou 1345, Praha Zbraslav 156 10

^b Fakultní nemocnice u Svaté Anny v Brně – Stomatologická klinika, Pekařská 53, Brno 656 91

^c VŠCHT v Praze, Technická 5, Praha 6, 166 28

* corresponding author: malek@ujp.cz

ABSTRACT. The beta-titanium alloys are widely used in many applications (medicine, aerospace industry etc.) due to their superior properties, such as corrosion resistance, biocompatibility and high strength to weight ratio. One of the ways how to increase the strength of those alloys is the addition of oxygen. The oxygen can be present in various forms in the alloy – in a solid solution or in the form of oxides. In this work, the effect of two forms of oxygen (i.e., solid solution and dispersion particles) was studied. Two alloys, one arc melted with different oxygen additions and one prepared via powder metallurgy where the titanium powder was oxidized, were prepared. The microstructure and mechanical properties were studied. A significant increase in strength with increasing the oxygen content in the solid solution has been observed. However, the powder oxidation has almost no effect on a tensile strength probably due to quite large interparticle distances between titanium oxide particles.

KEYWORDS: beta-titanium alloys; oxygen; microscopy; mechanical properties.

1. INTRODUCTION

The beta-titanium alloys are materials with a high potential of use in biomedical applications (e.g., artificial joints, implants, screws etc.) [1]. This is thanks to their suitable properties for such purpose. They exhibit excellent corrosion resistance, high strength to weight ratio and low Young's modulus (in comparison with other metallic materials used for bioapplications). The Young's modulus of an implant material should be close to that of the replaced bone to limit the so called stress shielding effect [2]. The modulus of a bone is reported to be between 10 and 40 GPa [3], which is significantly lower than the modulus of most metallic materials (stainless steel 210 GPa, or CoCrMo alloy 230 GPa). Moreover, the beta-titanium alloys are frequently composed of fully biocompatible elements that represent minimal risk for human body during a long term use [4]. Nevertheless, the tensile strength is desired to be further improved, maintaining the Young's modulus as low as possible. There are many ways how to increase the tensile strength (precipitation strengthening, deformation strengthening, dispersion strengthening, solid solution strengthening) [5–8]. It was reported that the addition of oxygen could significantly improve the tensile strength of the alloy [9, 10]. The oxygen could be present in various forms (i.e., oxides, soluted in the matrix). In this work, the oxygen addition has been carried out via two different ways and the effect on mechanical properties has been studied.

2. EXPERIMENTAL

The beta-titanium alloys with the nominal chemical composition Ti-25Nb-4Ta-8Sn-XO was prepared by arc melting in an electrical arc melting furnace with a non-consumable tungsten electrode and water cooled copper crucible under Ar atmosphere. Pure elemental metals were used for the arc melting (Ti – grade 2) and (Ta, Nb, Sn – minimum purity 99.9%). The oxygen addition was carried out by TiO₂ powder addition in different amounts into the batch. By this way, alloys with 0.1 (no addition); 0.3; 0.5; 0.7 and 0.9 wt% of oxygen were obtained. Alloys were remelted at least six times to ensure a good chemical homogeneity. The second type of the alloy synthesis was via blending elemental powders with a particle size of –325 mesh supplied by ALFA Aesar GmbH. The titanium powder was oxidized on air at 200 °C for 0.5, 1, 2 or 4 hours prior to the powder mixing. Elemental powders were weighted, mixed (in TURBULA 2F device for 10 h) and subsequently cold isostatically pressed (CIP) at 400 MPa. After the CIP, the alloy was sintered (1400 °C/10 h). All alloys were (after both arc melting and the CIP) hot forged with a minimal section reduction by 40 % and solution treated 1000 °C/0.5 h/water quenched. The microstructure was studied using the light microscope Nikon EPIPHOT 300 (LM) and scanning electron microscope JEOL JEM 7600F (SEM). The specimens for microstructural observations were prepared via a standard metallographic process (grinded

Oxidation time [h]	0	0.5	1	2	4
Weight increment [g]	0	0.0074	0.0198	0.0198	0.0267
Estimated oxygen increase [wt%]	0	0.036	0.087	0.102	0.118
Estimated total oxygen content [wt%]	0.31	0.35	0.40	0.41	0.43
Measured oxygen content [wt%]	0.31	0.55	0.55	0.52	0.56

TABLE 1. The dependence of oxygen content on oxidation time of powder metallurgy processed specimens.

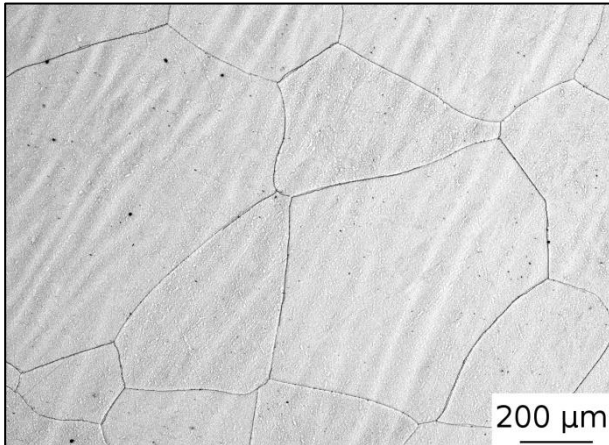


FIGURE 1. Microstructure of an arc melted alloy with 0.3 wt.% of oxygen after the solution treatment.

up to #4000 with SiC papers and polished with Struers OP-S emulsion with the addition of H_2O_2 . 3 ml HF + 8 ml HNO_3 + 100 ml H_2O etchant was used for the etching. Tensile tests have been performed on Instron 1185 machine according to ISO 6892-1:2009 standard. Standard round tensile specimens with a 5 mm diameter gauge and M8 shoulders were used. The oxygen content in final alloys has been determined by Bruker Galileo G8 gas fusion analyser. At least three measurements (specimens of 0.1 g) for each material have been performed. Which gives the final value with a scatter lower than ± 0.05 wt% (typically ± 0.03 wt%). The declared experimental scatter of the device itself is ± 1 % of the measured value. The amount of oxygen added to alloys prepared by powder metallurgy was also determined by the method of weighting. During this, approximately 70 g of titanium powder was weighted, subsequently oxidized and weighted again. This has been carried out by using a weighting machine with an accuracy of 0.0001 g. At least two measurements were repeated two times. The oxygen addition into the alloy was calculated on the basis of those measurements. Basic data are presented in Table 1.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The microstructures of as-cast and solution treated alloys consist of recrystallized grains of β -Ti (bcc) phase (Figure 1). This microstructure is typical for all arc-melted specimens. No other phases than the β - phase have been observed in the studied specimens. Therefore, it can be assumed that the oxygen

has been almost completely dissolved in the matrix as no oxides have been observed. The arc-melted specimens have a quite large grain size after hot forging and the solution treatment. The grain size has been determined to be approximately 500 μm . It can be seen from Figure 2a that the hardness of solution treated arc melted alloy increases significantly with the increasing oxygen content. It can be estimated that the increase in hardness is approximately 160 HV10 per 1 wt% O. The same trend has been observed for both tensile strength and yield strength values where the observed increment corresponds to about 400 MPa per 1 wt% O. However, the influence on Young's modulus was lower (see Figure 2b) with an estimated increase approximately 21 GPa per 1 wt% O. It was also observed that specimens with the highest oxygen content have a ductility close to zero, which could be limiting for many applications and for subsequent technological processing (e.g., cold rolling). In all that cases, the increase can be clearly observed and is supposed to be caused by the interstitial strengthening of the oxygen dissolved in the matrix.

During the specimen preparation via powder metallurgy process, the oxygen addition was performed by different way. The titanium powder oxidation has been used for this purpose. The powder contains a certain amount of oxygen before the oxidation (due to a technological process during powder production). The original oxygen is present in the form of an interstitial solid solution (as in the arc melted specimen). The titanium powder was oxidized at 200 °C on air for 0.5, 1, 2 and 4 hours. The powder was weighted before and after the oxidation. The weight change during the oxidation (70 g of titanium powder was oxidized) shows an increase, which could be ascribed mostly to the oxygen (weight increment in Table 1). Subsequently, the increase of oxygen content in the alloy has been calculated. The measured value of the alloy with an unoxidised powder was then used as the basis for the total estimated oxygen content in the mentioned in Table 1. It can be seen that the measured oxygen content is higher than the content estimated from weighting the powders (and initial content in powders). This may be caused by moisture evaporation that may slightly increase the initial weight (before oxidation). It can be also seen from Table 1 that the real oxygen content is similar for all oxidized specimen regardless of the oxidation period. This could imply that after oxidation of sur-

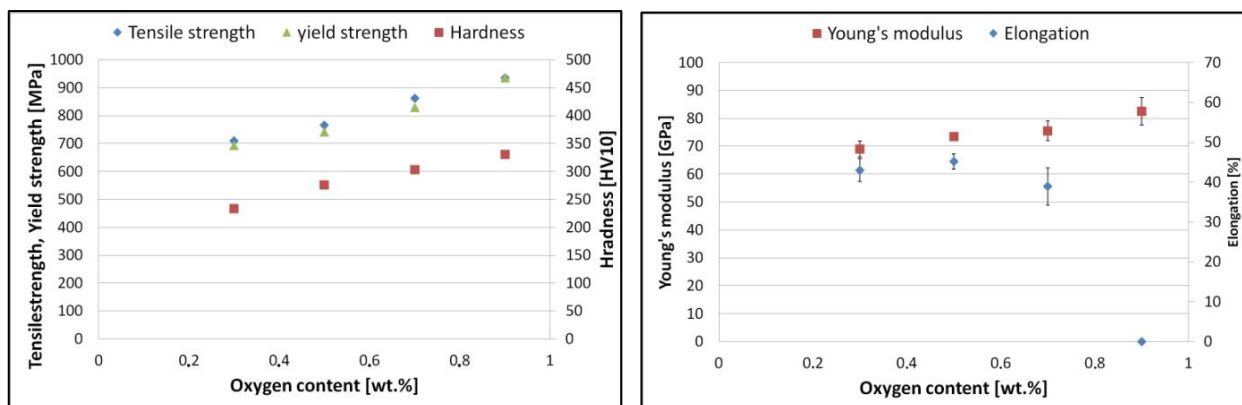


FIGURE 2. (a) Hardness and Tensile strength vs. oxygen content in the arc melted specimen. (b) Young's modulus and elongation values vs. oxygen content in the arc melted specimen.

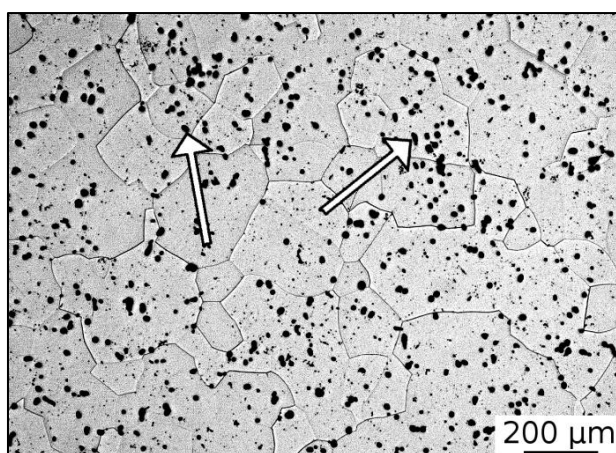


FIGURE 3. Microstructure of powder metallurgy specimen (powder oxidized 200 °C/0.5 h). Titanium oxide particles are marked by arrows.

face powder particles, further oxidation is prevented by those oxide layers as the temperature and time are not sufficient for a significant diffusion of oxygen into the titanium powder.

The typical microstructure of oxidized specimens after solution treatment can be seen in Figure 3. Numerous particles of fine titanium oxides can be seen there (marked by arrows in Figure 3). The composition containing high amount of oxygen and titanium has been determined by EDS (not shown here, however, further characterization (the oxide structure) has not been determined exactly. It can be assumed that most of the added oxygen (added via oxidation) is present in a form of titanium oxide particles. This is caused probably by the fact that the titanium oxides are stable even at the highest temperature used during the experiment (i.e., sintering temperature 1400 °C) and they are not dissolved even after 10 hours of sintering. This could also be derived from the Ti-O binary phase diagram [11]. Only the part of oxygen, which was present in the initial powder (i.e., ~ 0.3 wt%), is supposed to be dissolved in the matrix. The hardness values of solution

treated specimens along with tensile strength values can be seen in Figure 3. Those values are plotted as a dependence on the oxidation time. When compared with Table 1, it can be seen that the oxygen content is similar for all oxidized specimens (i.e., ~ 0.55%) and unoxidized (0 hours) corresponds to initial value of 0.3%. However, it can be seen that both the tensile strength and hardness values are nearly constant with respect to the experimental scatter. The hardness values of non-oxidized powders well correspond to that of arc melted specimen with the oxygen content of 0.3%, which is the same as in the initial powder specimens. The tensile strength values of powder metallurgy processed specimens are slightly higher than those of arc melted specimens. This is probably caused by the smaller grain size (150 μm vs. 500 μm) of the arc melted, which may cause the tensile strength according to Hall-Petch equation [7]. It should be pointed out that the increase of oxygen content during the oxidation had no (or very weak) effect on both hardness and tensile (yield) strength values. As mentioned above, the added oxygen is supposed to be almost completely present in the form of titanium oxide particles. On the one hand, the titanium oxide particles may have caused the increase of Young's modulus values as can be seen in Figure 4b. It has been reported that the Young's modulus of titanium oxides is higher (~ 250 GPa) than that of beta-titanium alloys [12]. On the other hand, the presence of titanium oxides in the current form (i.e., particle size and particle number) does not significantly deteriorate the plasticity (elongation values) as can be seen from Figure 4b. It can be seen in Figure 3 that the interparticle distance of oxides particles is in order of tens of micrometres. This is quite a big distance (e.g., in comparison with the ~ 10 nm interparticle α -precipitate distance, which caused a significant increase in strength as observed by Coakely et al. [13]), therefore, the strengthening effect of titanium oxide particles in the current work is negligible. This is consistent with the results of Song et al. [14] who studied the strengthening effect

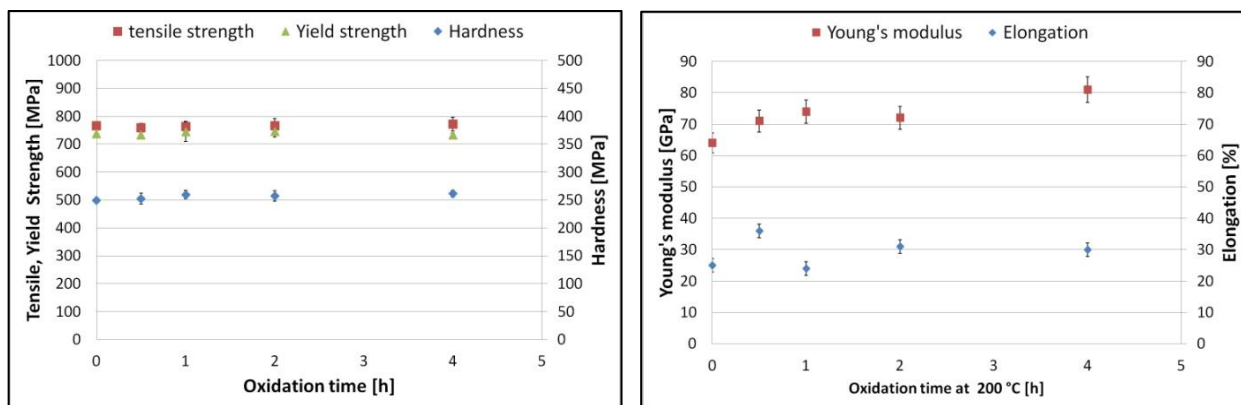


FIGURE 4. (a) Tensile strength, Yield strength and hardness values vs. oxidation time at 200 °C (powder metallurgy specimens). (b) Young's modulus and elongation values vs. oxidation time at 200 °C (powder metallurgy specimens).

of Y_2O_3 particles (with the comparable interparticle distance as in this paper) on beta-titanium alloys and they found it to be quite small. It can be therefore assumed that the oxygen content has much weaker effect on tensile strength in form of titanium oxide particles than in the form of a solid solution. The ductility values remain sufficiently high (far above 20 %) which is supposed to be enough for most intended applications. Longer oxidation times (or higher oxidation temperatures) could lead to a higher amount of titanium oxides particles, which could generate a more distinct strengthening effect. However, this could have a deteriorate effect on the ductility of the alloy or decrease the fatigue characteristics.

4. SUMMARY

Two ways of oxygen addition has been studied in this work. Accordingly to the way of addition, oxygen was present in form of titanium oxide particles or in a solid solution. It was observed that the oxygen dissolved in the matrix has a strong strengthening effect (~ 400 MPa per wt%), whereas in the form of titanium oxide particles, the strengthening effect is negligible for the currently studied contents and particle size. The tensile strength remains around 750 MPa. However, the elongation values also remains around 30 %. The strengthening effect of oxide particles could be possibly increased with a high amount of fine particles present in the microstructure

ACKNOWLEDGEMENTS

Authors would like to express thanks to the Czech Technology Agency for its financial support for this work (TE01020390).

REFERENCES

- [1] X. Liu, P. K. Chu, and C. Ding, "Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications," *@@Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 47, no. 3–4, pp. 49–121, 2004.
- [2] D. M. Gordin, T. Gloriant, G. Nemtoi, R. Chelariu, N. Aelenei, a. Guillou, and D. Ansel, "Synthesis,

structure and electrochemical behavior of a beta Ti-12Mo-5Ta alloy as new biomaterial," *@@Mater. Lett.*, vol. 59, no. 23, pp. 2959–2964, 2005.

- [3] D. Kuroda, M. Niinomi, M. Morinaga, Y. Kato, and T. Yashiro, "Design and mechanical properties of new β type titanium alloys for implant materials," *@@Mater. Sci. Eng. A*, vol. 243, no. 1–2, pp. 244–249, 1998.
- [4] A. Biesiekierski, J. Wang, M. Abdel-Hady Gepreel, and C. Wen, "A new look at biomedical Ti- based shape memory alloys," *@@Acta Biomater.*, vol. 8, no. 5, pp. 1661–1669, 2012.
- [5] E. Takahashi, T. Sakurai, S. Watanabe, N. Masahashi, and S. Hanada, "Effect of Heat Treatment and Sn Content on Superelasticity in Biocompatible TiNbSn Alloys," *@@Mater. Trans.*, vol. 43, no.12, pp. 2978–2983, 2002.
- [6] P. Laheurte, F. Prima, A. Eberhardt, T. Gloriant, M. Wary, and E. Patoor, "Mechanical properties of low modulus titanium alloys designed from the electronic approach," *@@J. Mech. Behav. Biomed. Mater.*, vol. 3, no. 8, pp. 565–573, 2010.
- [7] A. G. Paradkar, S. V. Kamat, A. K. Gogia, and B. P. Kashyap, "On the validity of Hall-Petch equation for single-phase β Ti-Al-Nb alloys undergoing stress-induced martensitic transformation," *@@Mater. Sci. Eng. A*, vol. 520, no. 1–2, pp. 168–173, 2009.
- [8] Y. Horiuchi, T. Inamura, H. Hosoda, K. Wakashima, H. Y. Kim, and S. Miyazaki, "Effect of boron addition on transformation behavior and tensile properties of Ti-Nb-Al alloy," *@@Mater. Sci. Eng. A*, vol. 438–440, no. SPEC. ISS., pp. 830–834, 2006.
- [9] P. L. Ferrandini, F. F. Cardoso, S. A. Souza, C. R. Afonso, and R. Caram, "Aging response of the Ti-35Nb-7Zr-5Ta and Ti-35Nb-7Ta alloys," *@@J. Alloys Compd.*, vol. 433, no. 1–2, pp. 207–210, 2007.
- [10] Q. Wei, L. Wang, Y. Fu, J. Qin, W. Lu, and D. Zhang, "Influence of oxygen content on microstructure and mechanical properties of Ti-Nb-Ta-Zr alloy," *@@Mater. Des.*, vol. 32, no. 5, pp. 2934–2939, 2011.
- [11] J. A. Murray and H. A. Wriedt, *Materials Properties Handbook: Titanium Alloys*. Metals Park Ohio: ASM International, 1994.

- [12] S. L. Tang, Y. F. Li, Y. R. Wang, Y. M. Gao, Q. L. Zheng, D. W. Yi, Y. F. Li, Y. R. Wang, Y. M. Gao, Q. L. Zheng, and D. W. Yi, "Accepted Manuscript," vol. 213, pp. 538–547, 2018.
- [13] J. Coakley, V. A. Vorontsov, K. C. Littrell, R. K. Heenan, M. Ohnuma, N. G. Jones, and D. Dye, "Nanoprecipitation in a beta-titanium alloy," @J. Alloys Compd., vol. 623, pp. 146–156, 2015.
- [14] X. Song, M. Niinomi, M. Nakai, H. Tsutsumi, and L. Wang, "Improvement in fatigue strength while keeping low Young's modulus of a β -type titanium alloy through yttrium oxide dispersion," @Mater. Sci. Eng. C, vol. 32, no. 3, pp. 542–549, 2012.

CLINICAL STUDY

Mechanical properties and microstructure of Ti-35.5Nb-5.7Ta beta alloy

Bartakova S¹, Prachar P¹, Dvorak I², Hruby V², Vanek J¹, Pospichal M², Svoboda E², Martikan A³, Konecna H², Sedlak I²

Stomatological Clinic, Medical Faculty, Masaryk University, Pekařská 53, 60200 Brno, Czech Republic.
sonia.bartakova@fnusa.cz

Abstract: *Objective:* Titanium and titanium alloys represent generally accepted metallic biomaterials for clinical dentistry and dental implantology. In this paper, we present a Ti-35.5Nb-5.7Ta alloy with a special respect to its microstructure and mechanical characteristics, such as Young modulus of elasticity.

Methods: Three thermal treatments differing in temperature and time of annealing were used during the Ti-35.5Nb-5.7Ta processing in order to evaluate the effects of ageing, melting annealing, and annealing on mechanical characteristics and microstructure.

Results: Using microscopy, the alloy was analyzed and the differences in shares of beta phase grains, alpha particles and precipitates evaluated. The three thermal treatments were evaluated also from technological point of view.

Conclusion: The following thermal treatment was found optimal for the Ti-35.5Nb-5.7Ta alloy: melting annealing at 800 °C for 0.5 hour followed by a cold swaging with a 52–79 % deformation, and final hardening at 500 °C for 2 hours in water (Tab. 2, Fig. 3, Ref. 24). Text in PDF www.elis.sk.

Keywords: titanium alloys, thermal processing, precipitation grains.

Introduction

Pure titanium as well as titanium alloys are frequently used in dental clinical practice for dentures, dental implants, crowns and constructions of partial removable dentures. A great number of material science institutions and dental clinics are involved into development and testing of newly-designed titanium alloys. To reach desired mechanical material properties, chemical characteristics and biocompatibility, numerous additive elements, their proportion in the alloy, respectively, are tested. Niobium (Nb), tantalum (Ta), and zirconium (Zr) are considered main additive (nobel) elements that can improve physical/chemical properties of resulting titanium alloys (1). In general, titanium alloys may form, according to crystal structure, four basic categories: (a) α alloys, (b) β alloys, (c) intermediate $\alpha + \beta$ alloys, and (d) intermetallics (e.g. Ni-T). Recently, it is widely accepted that β alloys represent the most prospective material for medical applications from the above-specified alloys (2).

Our earlier studies (see e.g. 3–5) carried within the framework of Stomatological Research Centre (Masaryk University,

Brno) focused on tests of mechanical properties and biocompatibility of titanium alloys with addition of Nb, Mo, Ta, Va and Fe. In these studies, it was shown that proportion of additive elements affected microstructure of the alloys, formation of phase of the alloy, in particular.

Recent requirements for titanium β alloys as materials for dental implantology comprise: (a) high biocompatibility including no or minimized toxicity, (b) good osseointegration, and (c) optimal mechanical properties. There are several major mechanical characteristics that titanium alloys must fit before being used in *in-vitro* testing and clinical studies. Among them, low value of Young's Modulus of Elasticity (E) represents one of the most common requirement. In dental titanium alloys, E varies within the range of 63–128 GPa. Generally, E of dental implant should not be too high compared to E of bone tissue (6) so that bone cells damage and resulting osteoporosis and/or poor osteointegration is avoided (7). High resistance to corrosion is another mechanical property that titanium alloys must have. Thanks to TiO₂ layer formed on the upper surface of titanium β alloys, dental implants made of titanium alloys exhibit high resistance (for review see 8). However, due to saliva and galvanic effects corrosion may happen to a certain extent as proved in *in vitro* (e.g. 9) and clinical studies (e.g. 10). Corrosion titanium alloy may be accelerated by inflammatory-induced decrease in pH in a neighbourhood of dental implant that may cause even small particles release from dental implant (11). In such cases, the rate of corrosion increases. The risk of corrosion-induced metal ion release decreases when some additional elements are included into titanium alloy. Some authors (12) report that Ta addition decreases corrosion in titanium alloys

¹Stomatological Clinic, Medical Faculty, Masaryk University, Brno, Czech Republic, ²Univerzita Obrany, Brno, Czech Republic, and ³MARTIKAN, Ing. Anton Martikán, Dolná Marikova, Slovakia

Address for correspondence: S.Bartakova, MD, Stomatological Clinic, Medical Faculty, Masaryk University, Pekařská 53, CZ-60200 Brno, Czech Republic
Phone: +420.543183406, Fax: +420.543183456

Acknowledgements: The study reported in this paper was funded by 1M0526 grant (Stomatological Research Centre).

thanks to formation of Ta_2O_5 on the upper surface that strongly reduces exchange of ions between material and surrounding tissue. There is a significant reduction of the exchange rate when compared to those titanium alloys forming only TiO_2 (13). Therefore, titanium alloys having Ta are considered promising dental materials with minimized corrosion behavior (14). Moreover, recent techniques that exploit coating of ceramics over dental implants (see e.g. 15) allow to suppress metal ion release from the alloy as well as creation of proper micro/nanostructure of dental implant surface for optimal biointegration (16).

Fretting and sliding wear resistance is another feature that dental implant materials based on titanium alloys should exhibit. Stress transmission between hard tissue and dental implant surface which are in contact plays a major role since further bone degradation and bone adsorption should be avoided. Within last decades, several research studies have been devoted to improvement of the performance in terms of the wear behaviour of the biomedical titanium alloys (for review see 6). Although the wear resistance of β -Ti alloys has shown some improvement when compared to $\alpha + \beta$ alloys, the ultimate utility of titanium alloys as wear components will require more complex studies including all wear mechanisms involved.

It is well established that majority of mechanical properties as well as microstructure of titanium alloys may be affected by processing of the material during manufacturing, heat treatment in particular (17). Cooling rate (e.g. 18) as well as ageing (e.g. 19) may play an important role in final microstructure and shape memory properties of titanium alloy (20). In our study, we focused on changes in mechanical properties and microstructure as affected by thermal treatment of titanium β alloy. For our study, the Ti-35.5Nb-5.7Ta β alloy was selected because the material is new and was subjected to a series of tests recently (21) in order to evaluate its applicability in dental implantology.

Material and methods

Alloy manufacturing

Titanium alloy Ti-35.5Nb-5.7Ta used in this study was developed and manufactured in UJP Prague. The alloy was melted in a vacuum arc furnace equipped with water-cooled Cu catalyzer, W electrode at undepressed He atmosphere. Annealing was performed at 800 °C for 30 min followed by hardening in water to reach β phase structure of the alloy. Experimental samples were prepared as cylindrical elements of a diameter ranging 9–11 mm. Elemental composition was measured on each sample three times by a NORAN Six/300 microanalyzer with nitrogenless detector. Mean values reached 63.5% Ti, 29.7% Nb and 6.85% Ta.

Thermal processing

Three following thermal treatments were used to produce different microstructure of the Ti-35.5Nb-5.7Ta alloy: (1) ageing at 500 °C for 2 hours, abbreviated as *A* in the following text, (2) melting annealing at 900 °C followed by ageing at 350 °C for 2 hours, abbreviated as *B*, and (3) melting annealing at 900 °C followed by ageing at 450/500 °C for 10 hours, abbreviated as *C*.

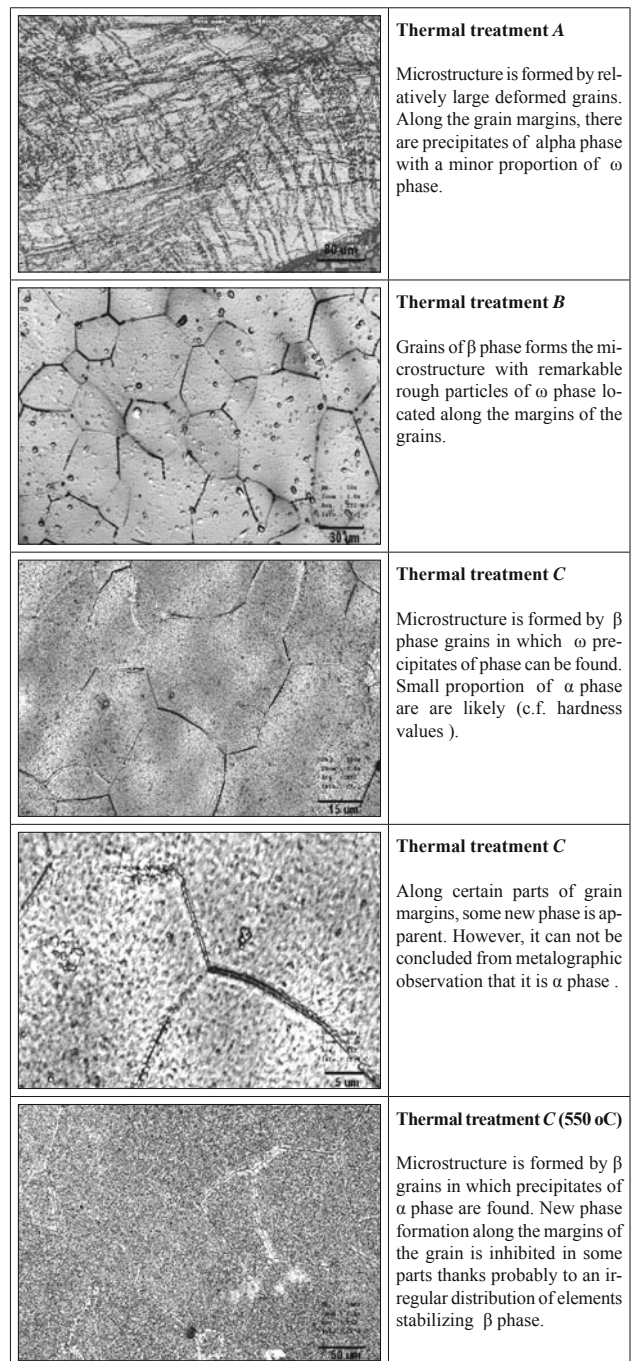


Fig. 1. The effect of ageing temperature on the microstructure of Ti-35.5Nb-5.7Ta alloy.

Mechanical properties

Titanium alloy was tested before (initial state) and after the *A*, *B*, and *C* thermal treatments. Hardness was measured by a micrometer LECO M 400 by Vicker's method using a load of 9,81 N. The measurement was done in a cross line through the alloy samples using a 0.5 mm distance between hits.

After thermal treatments, pressure and tensile tests were done using a ZwickRoel Z 100. Cylindrical samples of a height of 5.0 mm

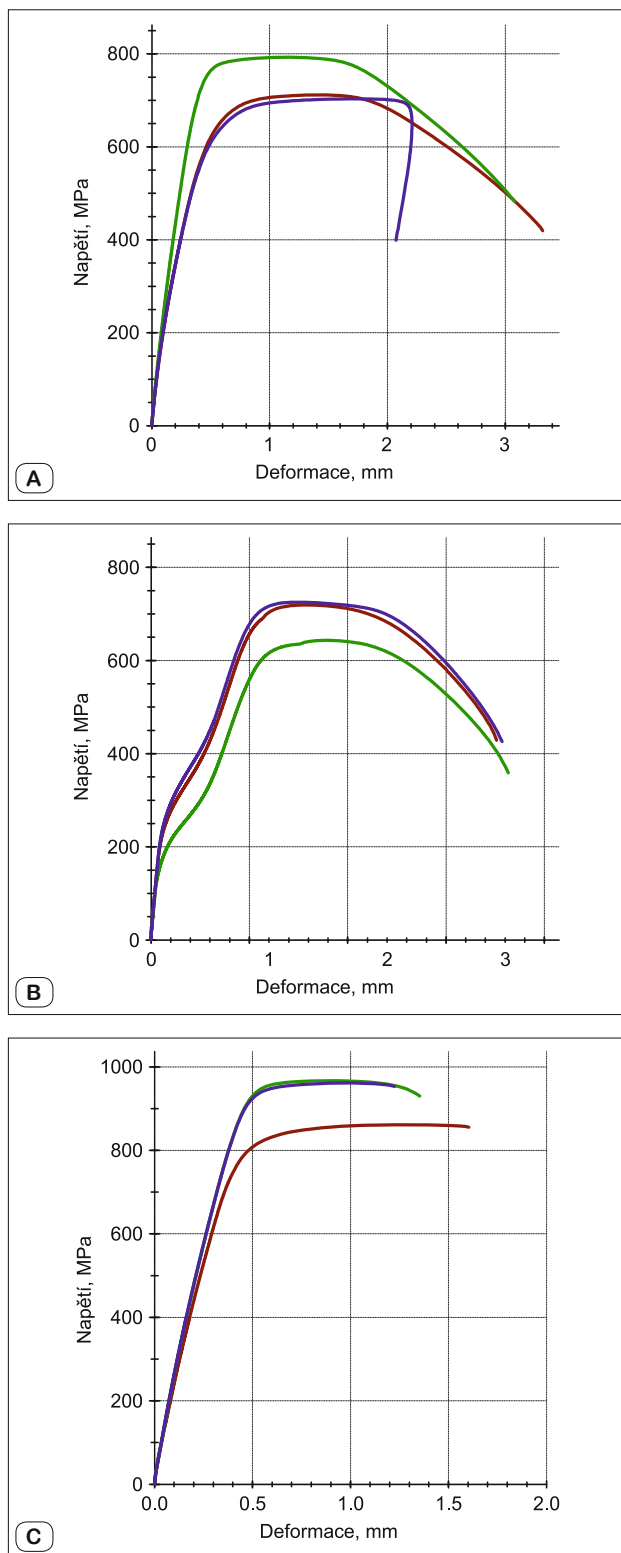


Fig. 2. Dependence of tension on deformation of tested titanium alloy as recorded during tensile tests for individual thermal treatment (ageing): A, B, C (for specification see Material and Methods). Three replicates (curves) are shown for an individual treatment.

and a width ranging from 4.0 to 6.8 mm were placed in between two supporting panels and subjected to a load until a plastic deformation was reached. Material response was recorded during a load and the following parameters determined from the curves: E – elasticity modulus in tensile test, $R_{p0.2}$ – sliding limit (*contractual yield*), R_m – breaking point, A_g – elongation (relative deformation) under the influence of the maximum power, A_{30} – Elongation at break rod (maximum relative deformation), Z – contraction (narrowing of the test bar at the quarry).

Microstructure study

Initial material as well as samples after different thermal treatment were subjected to microscopic metallographic study. Samples were etched by Kroll and then their microstructure documented by a confocal laser microscope LEXT OLS (Olympus).

For microstructure study of the samples subjected to the A, B, and C thermal treatments, a REM Tescan VEGA 5135 microscope supplemented by a *Digital Microscopy Imaging* software and X-Ray microanalyser Noran Six/300 (VLSTD detector) were used. For majority of images, surfaces, magnification of 500 was used so that differences in structure could be distinguished.

Results and discussion

Mean values of mechanical characteristics of the alloy treated by three different thermal treatments are shown in Table 1. General trend is that $R_{p0.2D}$ increased from A to C treatments both in pressure and tensile test. In tensile test, E and R_m values increased from A to C treatments showing maximum values of 69.6 GPa and 930 MPa. Contraction of experimental bar at break point (Z) showed decreasing values with A to C treatments.

The microstructure of Ti-35.5Nb-5.7Ta alloy treated by the A treatment consists of very long grains forming a dendritic structures. The grains of β phase exhibit deformed shape (Fig. 1). Precipitates of β and, to a minor extent, ω phase might be found mainly along the grain margins. Microstructure of the alloy is similar in B, and C thermal treatment, however, there are some differences due to duration of ageing temperature. While B treatment led to a formation of β phase grains with rough particles of ω phase and almost

Tab. 1. Comparison of selected mechanical characteristics for between pressure and tensile tests.

	Pressure test		Tensile test				
	$R_{p0.2D}$ [MPa]	E_D [GPa]	E [GPa]	$R_{p0.2}$ [MPa]	R_m [MPa]	A_{30} [%]	Z [%]
Thermal treatment A D79.5% + 500 °C/2h	610	7.2	47.0	626	736	9.4	63.4
Thermal treatment B D79.5% + 900°C/1h + 350 °C/2h	805	5.8	–	–	696	11.9	49.2
Thermal treatment C D79.5% + 900°C/1h + 450 °C/10h	970	4.4	69.6	802	930	4.65	7.03

ED – elasticity modulus in pressure test. E – elasticity modulus in tensile test. $R_{p0.2}$ – sliding limit (*contractual yield*). R_m – breaking point. A_g – elongation (relative deformation) under the influence of the maximum power. A_{30} – Elongation at break rod (maximum relative deformation). Z – contraction (narrowing of the test bar at the quarry).

Tab. 2. Tensile test.

Thermal treatment (ageing)	E [GPa]	$R_{p0.2}$ [MPa]	R_m [MPa]	A_g [%]	A_{30} [%]
A					
mean	47.03	626.17	736.03	4.73	9.41
s	13.25	64.03	49.36	1.06	2.20
v	28.17	10.23	6.71	22.36	23.41
B					
mean	–	–	695.92	5.52	11.91
s	–	–	45.72	0.47	0.20
v	–	–	6.57	8.55	1.65
C					
mean	69.58	801.63	929.91	3.57	4.65
s	4.48	47.93	59.36	0.61	0.64
v	6.43	5.98	6.38	17.17	13.82

E – Young modulus of elasticity, A_g – elongation (relative deformation) under the influence of maximum strength, A_{30} – elongation at break of bar (maximum relative deformation), Z – contraction (narrowing of a bar in breaking point).

no of a phase, C thermal treatment is typical by a proportion some particles probably of α phase. Microstructure of the alloy treated by B treatment showed substantial number of ω phase particles that were found mainly along the β phase grains, however, few of them were located inside the grains. If high ageing temperature (500 °C) is used in C thermal treatment, α phase is found in high proportion. In this treatment, formation of new phase was found inhibited thanks probably to irregular distribution of the elements that stabilize β phase.

From the analysis of microstructure it is clear that thermal treatment may affect precipitation of ω phase that, in general, decreases elongation of the resulting material. The thermal treatment used in this study, however did not change E too much (Tab. 1). Thus, the alloys, irrespective of thermal treatment, might be considered sufficiently good from clinical point of view.

Structure of fractured material

Tensile test resulted in a fracture of tested material. Dependence of material deformation on tension ranging in the interval of 0–800 MPa is shown in Figure 2. From the data presented for C treatment it results that the alloy treated by the C treatment exhibited best characteristics in tensile test before final fracture of the material. Images of microstructure of fractured area are shown in Figure 3 for individual thermal treatments. The microstructure was found treatment dependent. In A treatment, microholes are less developed and seen less frequently than in the B and C treatments. This might be attributed to a lower ductility of the material treated by A thermal processing. In this treatment, also a preferential fracture along the margins of grains forming the alloy microstructure. B treatment led to formation of numerous holes with rough structure on fracture area. In some particular zones, funnel-like structures were formed in between holes. These structures indicated the points at which fracture was initiated due to likely a higher proportion of precipitates. Cavitation started from these funnel-like structures. In spite of the above-described differences in microstructure on fracture area, ductility of the alloy treated by B thermal treatment did not differed too much from that treated by A treatment. In C treatment, microstructure resulted in large and rough subsurfaces of fracture area that resulted probably from a high proportion of precipitates.

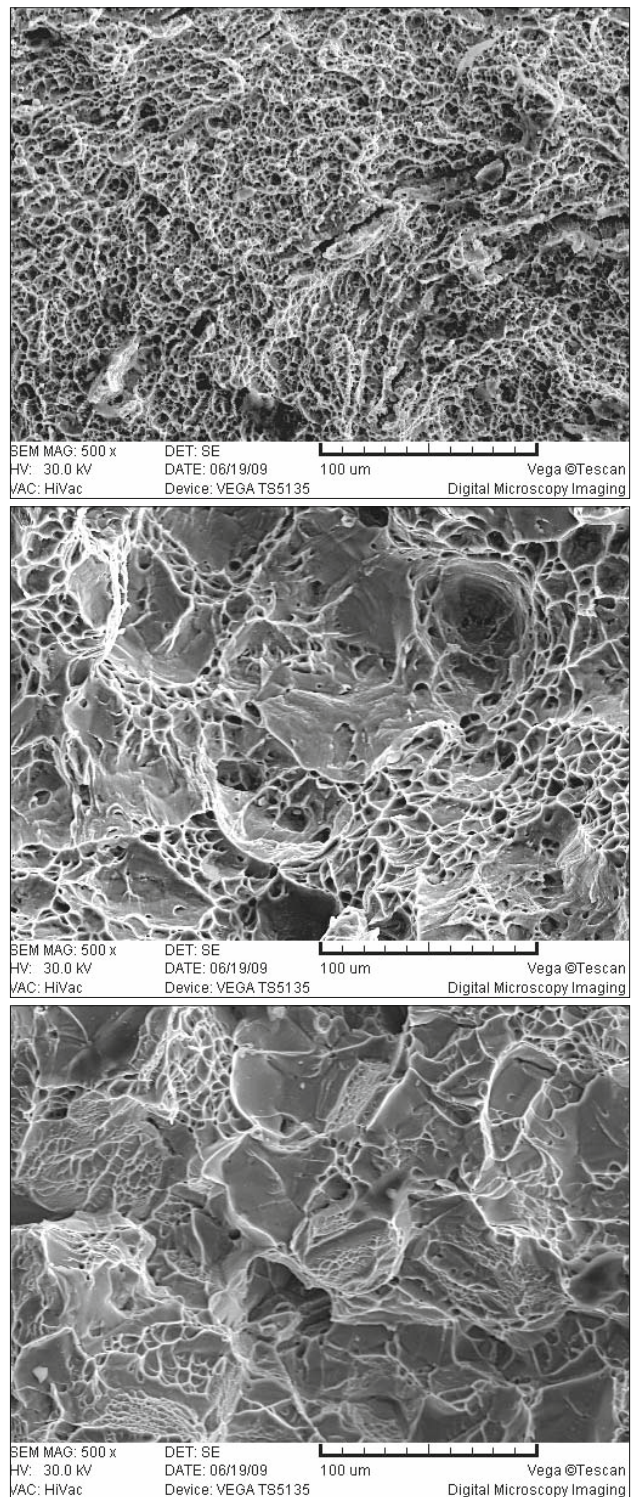


Fig. 3. Microstructure of fracture surfaces at breaking tension point for A, B and C thermal treatments (from the top to the bottom). Scale bar represents 100 micrometers.

Holes are seen to only very limited extent, contrastingly to the microstructure of A treatment. Reduced number of holes in C treated alloy resulted also in a 30 % decrease in ductility (A_{30}) (Tabs 1 and 2).

Conclusions

In our study, microstructure was analyzed in dependence of annealing temperature. It is clear that different proportions between β phase grains and fine α and ω precipitates as well as recrystallization and precipitation processes depended on annealing temperature. Apart from mechanical and microstructure properties, the alloys subjected to three thermal treatment were evaluated also from technological point of view. Machinability and surface roughness were classified (Martikán, data not shown). It was found that, among the three thermal treatment, only $C(500\text{ }^\circ\text{C})$ treatment produces material with suitable machinability and surface roughness. In conclusion, the following thermal treatment was found optimal for the Ti-35.5Nb-5.7Ta alloy: melting annealing at $800\text{ }^\circ\text{C}$ for 0.5 hour followed by a cold swaging with a 52–79% deformation, and finally, hardening at $500\text{ }^\circ\text{C}$ for 2 hours in water. Therefore, similarly to the conclusions of the study (14), the alloy could be recommended for further testing and clinical studies. Future studies will focus further improvement of mechanic properties of the alloy Ti-35.5Nb-5.7Ta that might be reached by addition of some elements. It was reported for Ti35Nb6Ta alloy that boron addition causes grain refinement and influences mechanical properties (22). The final effect on microstructure, however, depended on thermal treatment and boron amount in the alloy (more than 0.05%). It was also demonstrated by the same authors that boron addition influenced recrystallization processes. Moreover, the tensile strength increases with increasing boron addition to alloy. Some authors (e.g. 23), however, report that differences in the amount of added Ta that forms Ti-Nb-Ta alloys may promote mechanic properties and microstructure of the material and thus its applicability in dental implantology. That is the reason why β titanium alloys with tantalum and niobium are further investigated to reach materials with low Young's modulus of elasticity (24).

References

- Niinomi M. Dental Applications of β -type Ti-Nb-Ta-Zr Based Alloys. Proc. The 6th International Symposium on Titanium in Dentistry and 2nd International Meeting on Titanium in Dental Technology, in conjunction with The 20th Annual Meeting of the Society for Titanium Alloy in Dentistry, June 5–6, 2007, Kyoto International Conference Center, Kyoto, Japan, 2007: 26–27.
- Niinomi M. Biologically and Mechanically Biocompatible Titanium Alloys. Materials Transactions 2008;49(10):2170–2178.
- Bartáková S, Prachár P, Březina V, Kudrman J, Podhorná B, Vaněk J. Beta titanové slitiny v dentální implantologii. 31–68. In: IX. Brněnské implantologické a dentální dny. Brno, 2007.
- Bartáková S, Prachár P, Kudrman J, Březina V, Podhorná B, Černochová P, Vaněk J, Strecha J. New titanium beta-alloys for dental implantology and their laboratory-based assays of biocompatibility. Scripta Med 2009;82(2): 76–82.
- Bartáková S, Prachár P, Strecha J, Podhorná B, Kudrman J, Hnilica F, Březina V, Vaněk J. Titanové slitiny s příměsí železa: Analýza materiálových vlastností, biokompatibilita a vhodnosti pro aplikaci v dentální implantologii. Stomatolog 2009; 19:19–24.
- Mohammed MT, Khan, ZA, Siddiquee AN. Titanium and its Alloys, the Imperative Materials for Biomedical Applications. 91–95. In: Proceedings: International Conference on Recent Trends in Engineering & Technology (ICRTET2012) Meerut, India, 2012.
- Gasser B. Design and Engineering Criteria for Titanium Devices. 673–701. In: Brunette DM, Tengvall P, Textor M, Thomsen P (Eds). Titanium in Medicine, Berlin, Springer, 2001.
- Bhola R, Bhola SM, Mishra B, Olson DM. Corrosion in Titanium Dental Implants/Prostheses - A Review. Trends in Biomaterials and Artificial Organs 2011; 25(1): 34–46.
- Mu Y, Kobayashi T, Sumita M, Yamamoto A, Hanawa T. Metal ion release from titanium with active oxygen species generated by rat macrophages in vitro. J Biomed Material Res 2000; 49(2): 238–243.
- Solá C, Amorim A, Espias A, Capelo S, Fernandes J, Proença L, Sanchez L, Fonseca I. Galvanic Corrosion Behaviour of Ti and Ti6Al4V Coupled to Noble Dental Alloys. Int J Electrochem Sci 2013; 8(1): 406–420.
- Olmedo DG, Tasat DR, Duffó G, Guglielmotti MB, Cabrini RL. The issue of corrosion in dental implants. A review. Acta Odontol Latinoam 2009; 22(1): 3–9.
- Zhou YL, Niinomi M, Akahori T, Fukui H, Toda H. Corrosion resistance and biocompatibility of Ti-Ta alloys for biomedical applications. Materials Sci Engineering 2005; A 398: 28–36.
- Thair L, Kamachi Mudali U, Asokamani R, Raj B. Influence of microstructural changes on corrosion behaviour of thermally aged Ti-6Al-7Nb alloy. Materials Corrosion 2004; 55(5): 358.
- Málek J, Hnilica F, Veselý J, Smola B, Bartáková S, Vaněk J. The influence of chemical composition on thermo-mechanical treatment on Ti-Nb-Ta-Zr alloy. Materials Design 2012; 35(3): 731–740.
- Khalid M, Mujahid M, Khan AN, Rawat RS, Salam I, Mahmood K. Plasma Sprayed Alumina Coating on Ti6Al4V Alloy for Orthopaedic Implants: Microstructure and Phase Analysis. Key Engineering Materials 2012; 510–511: 547–553.
- Briggs EP, Walpole AR, Wilshaw PR. Formation of highly adherent nanoporous alumina on Ti-based substrates: a novel bone implant coating. J Materials Sci: Materials Med 2004; 15(9): 1021–1029.
- Okazaki Y, Ito, Y, Tateishi T, Ito A. Effect of heat treatment on microstructure and mechanical properties of new titanium alloys for surgical implantation. J 834 Jpn Inst Met 1995; 59: 108–115.
- Afonso CRM, Aleixo GT, Ramirez AJ, Caram R. Influence of cooling rate on microstructure of Ti-Nb alloy for orthopedic implants. Mater Sci Eng C 2007; 27(4): 908–913.
- Li Q, Niinomi M, Nakai M, Cui Z, Zhu S, Yang X. Improvements in the super-elasticity and change in deformation mode of b-type TiNb24Zr2 alloys caused by aging treatments. Metall Mater Trans A 2011; 42: 2843–2849.
- Al-Zain Y, Kim HY, Hosoda H, Nam TH, Miyazaki S. Shape memory properties of Ti-Nb-Mo biomedical alloys. Acta Mater 2010; 58(12): 4212–4223.
- Málek J, Hnilica F, Veselý J, Smola B. Heat treatment and mechanical properties of powder metallurgy processed Ti-35.5Nb-5.7Ta beta-titanium alloy. Materials Characterization 2013; 84:225–231.
- Málek J, Hnilica F, Veselý J. Beta titanium alloy Ti35Nb6Ta with boron addition. Proceedings. Metal 2012, Brno, 1–6.
- Souza SA, Manicardi RB, Ferrandini PL, Afonso CRM, Ramirez AJ, Caram R. Effect of the addition of Ta on microstructure and properties of Ti-Nb alloys. J Alloys Compounds 2010; 504(2): 330–340.
- Niinomi M, Nakai M, Hieda J. Development of new metallic alloys for biomedical applications. Acta Biomater 2012;8(11): 3 888–3903.

Received December 11, 2013.

Accepted February 25, 2014.

EXPERIMENTAL STUDY

Cytocompatibility of implants coated with titanium nitride and zirconium nitride

Prachar P¹, Bartakova S¹, Brezina V¹, Cvrcek L², Vanek J¹*Clinic of Stomatology, FM MU and St. Anne's University Hospital Brno, Czech Republic.*

patrik.prachar@fnusa.cz

Abstract: *Introduction:* The positive cell response to the implant material is reflected by the capacity of cells to divide, which leads to the tissue regeneration and osseointegration. Technically pure titanium and its alloys are mostly used for implant manufacturing. These alloys have the adequate mechanical, physical and biological properties; nevertheless, the superior biocompatibility of bioceramics has been proven. With the arrival of new coating techniques, surface modification of materials used for implants has become a widely investigated issue. *Methods:* The paper studied properties of titanium nitride (TiN) and zirconium nitride (ZrN) coatings deposited by PVD (Physical Vapour Deposition). Coatings were applied to substrates of pure titanium, Ti6Al4V, Ti35Nb6Ta titanium alloys and CoCrMo dental alloy. Different treatments of substrate surfaces were used: polishing, etching and grit blasting. Cytocompatibility tests assessed the cell colonization and their adherence to substrates. *Results and conclusion:* Results showed that TiN layers deposited by PVD are suitable for coating all substrates studied. The polished samples and those with TiN coating exhibited a higher cell colonization. This coating technique meets the requirements for the biocompatibility of the implanted materials; furthermore, their colour range solves the issue of red aesthetics in oral implantology as the colour of these coatings prevents titanium from showing through the gingiva. This is one of the most important criteria for the aesthetic success of implant therapy (Tab. 5, Ref. 18). Text in PDF www.elis.sk.

Key words: titanium nitride and zirconium nitride coatings, cytocompatibility, bioceramics.

Introduction

In implantology, physical and chemical properties of materials play an important role. The strength of the material in the given dimension with respect to the reduced diameter of an implant while keeping the mechanical and physical properties is very important. Biocompatibility and in this case namely cytological properties are extremely important. In addition, the interaction between cells and the surface of the tested material plays an important role together with the question whether the basic physiological functions, i.e. capacity of the cytoskeleton to regenerate after the inoculation and capacity of cells to divide, have not been damaged. The character of the cell-material interaction may be manifested variously, not only as described in the relevant testing standards (10). The material may be neither cytotoxic nor it exhibits any mutagenic behaviour (clastogenic effect or positive gene tests) and still it may be unsuitable due to the disrupted relationship between the cells and the tested material. It depends on how the cells accept the material or material surface, how the cytoskeleton cells respond in terms of the cytoskeleton regeneration, and if the cell response to the material is positive, and to what extent cell division is maintained or limited. These are the principle parameters roughly indicating the osseointegration capacity.

¹Clinic of Stomatology, FM MU and St. Anne's University Hospital Brno, Czech Republic, and ²HVM Plasma Ltd. Prague, Czech Republic

Address for correspondence: P. Prachar, MD, PhD, Clinic of Stomatology, St. Anne's University Hospital Brno, Pekarska 53, CZ-659 14 Brno, Czech Republic. Phone: +420.5.43183407

Acknowledgement: This study was based on the project SVC no. 1M0528

Further, we have a possibility to modify the surface of implant materials (2, 8, 11). In terms of biocompatibility, bioceramics has been confirmed to be a more suitable material than widely used technically pure titan or its alloys (1, 4, 6, 7). The material used previously was, for example, hydroxyapatite applied on metal implants. In a long-term perspective, the adhesion of the hydroxyapatite coating layer was not sufficient (3). The method for depositing coatings has been innovated. The PVD (Physical Vapour Deposition) method is one of possible techniques for coating biocompatible materials. This technique enables to form a nearly perfectly adhering layer of a material (adhesion 1), which does not disintegrate nor affects the surface topography (so important in implantology) (9, 12, 16). This methods allows to form a layer or layers in orders of microns, in case of hydroxyapatite, a degradable layer accelerating bone healing – osseointegration, can be formed. A number of materials based on hydroxyapatite, carbon, nitrides and other materials exist. This surface modification can change the core, i.e. the material forming the basis for the implant, to a biologically improved material achieving higher criteria of implant healing, i.e. upgrade osseointegration to biointegration. Titan and zirkon nitrides belong to the materials already tested for their mechanical and physical and biological properties. The issue to be solved currently is how to use these materials for different “cores“ of materials (13, 17, 18).

Methods

Methods for sample surface modification: Samples were prepared from several materials: technically pure titanium, titanium

alloy Grade V (Ti6Al4V), beta-titanium alloy (Ti35Nb6Ta) and chrome-cobalt alloy (CrCoMo) as cylinders with a diameter of 8 mm and height 3 mm. Surfaces of the experimental cylinders were then modified. Sample surface modifications are shown in the Table 1. Front areas of substrates were ground and then from all sides modified as required according to experimental variants: by polishing, etching, or grit blasting with aluminum oxide (Al₂O₃) grit 120 mesh. The individual variants were split into two groups: one coated with the layer of titanium nitride (TiN), the other with zirconium nitride (ZrN). TiN / ZrN coatings were deposited with the PVD (Physical Vapour Deposition) using the CAE method (Cathodic Arc Evaporation) (Tab. 1).

Cellular material: The cell line MG 63 (ECACC – European collection of cell cultures - cat. no. 86051601) from osteosarcoma is usually used for testing the implant materials. Its morphology is epithelial without more pronounced cell locomotion. It was cultivated in DMEM supplemented with foetal bovine serum (10%), antibiotics and antimycotics. Cultures were maintained at 37 °C in a 5% CO₂ air atmosphere.

The aim of the tests was to compare the capacity of the cell line to colonize the surface of the tested materials after 48 hours of cultivation. The cell population was planted directly on the tested material placed in wells of the cultivation plate (NUNC). The whole experiment was conducted in the same 24-well plate. Table

Tab. 1. Experimental groups of samples and their modification.

Sample no.	Substrate	Modification	Coating
1	Ti	P	TiN
2		E	TiN
3		B	TiN
4		P	ZrN
5		E	ZrN
6		B	ZrN
7	Ti6Al4V	P	TiN
8		E	TiN
9		B	TiN
10		P	ZrN
11		E	ZrN
12		B	ZrN
13	Ti35Nb6Ta	P	TiN
14		E	TiN
15		B	TiN
16		P	ZrN
17		E	ZrN
18		B	ZrN
19	CrCoMo	P	TiN
20		E	TiN
21		B	TiN
22		P	ZrN
23		E	ZrN
24		B	ZrN

P – polished substrate, E – etched substrate, B – grit-blasted substrate

Tab. 2. Scheme of the experimental cultivation.

Substrate	Coating					
	TiN	TiN	TiN	ZrN	ZrN	ZrN
Ti	P	E	B	P	E	B
Ti6Al4V	P	E	B	P	E	B
Ti35Nb6Ta	P	E	B	P	E	B
CrCoMo	P	E	B	P	E	B

P – polished substrate, E – etched substrate, B – grit-blasted substrate

Tab. 3. Cell colonization of the modified sample surface with a studied coating in percents.

Sample no.	Cell colonization %
1	56.72
2	55.84
3	48.13
4	46.58
5	47.37
6	38.14
7	58.03
8	56.28
9	49.43
10	45.23
11	43.12
12	39.44
13	54.31
14	56.18
15	49.15
16	48.83
17	46.28
18	40.62
19	53.64
20	51.22
21	47.97
22	46.97
23	45.12
24	37.65

2 shows the scheme of the plate arrangement. After cultivation, the cells were fixed with acetic acid-alcohol and stained to distinguish a border between the cell and material. Then the area occupied by cells in 32 fields of view in the incident light microscope was determined. Fields of view were chosen randomly by scanning. The evaluation was performed from photographic records (Tab. 2).

Results

Results are given in percentages for the individual alloys, TiN or ZrN surface coatings, and finally according to substrate modification before coating, i.e. polished, etched, or blasted substrate. The results are summarized in the Table 3 as a percentage of the area colonized by cells for the individual experimental variants. From tables it is evident that in the group with TiN coating, the lowest value (47.97 %) was recorded in the blasted surface of cobalt chromium (as anticipated) and the highest value (58.03 %) in the polished surface of titanium alloy Grade V. In the ZrN coating, the lowest value (37.65 %) was in the blasted surface of chromium cobalt alloy (again as anticipated), and the highest value (48.83%) was in the polished surface of beta-titanium alloy. The effect of coating of the modified substrate showed interesting results: the comparison of TiN (Tab. 4) and ZrN (Tab. 5) was in favour of the TiN coating.

Table 3 shows the summarized results of the areas colonized by cells in all samples according to sample numbers and surface modifications given in the Table 1. At first sight it is evident that the individual variants do not differ dramatically, the effect of the substrate modification is more pronounced. Therefore, the experimental variants were split both according to the substrates and their modification and according to the coating with the tested TiN or ZrN layers (Tabs 4 and 5). A more pronounced difference in the cell coloniza-

Tab. 4. Colonization of the sample area with cells in percents in titanium nitride coating.

Substrate	TiN coating		
	P	E	B
Ti	56.72	55.84	48.13
Ti6Al4V	58.03	56.28	49.43
Ti35Nb6Ta	54.31	56.18	49.15
CrCoMo	53.64	51.22	47.97

P – polished substrate, E – etched substrate, B – grit-blasted substrate

Tab. 5. Colonization of the sample area with cells in percents in zirconium nitride coating.

Substrate	ZrN coating		
	P	E	B
Ti	46.58	47.37	38.14
Ti6Al4V	45.23	43.12	39.44
Ti35Nb6Ta	48.83	46.28	40.62
CrCoMo	46.97	45.12	37.65

P – polished substrate, E – etched substrate, B – grit-blasted substrate

tion of the sample area was recorded in coating with the TiN, compared to ZrN. The tables also show the effect of substrate modification before coating. It is evident that the glossy surfaces are better accepted by cells than the rougher blasted ones (Tabs 3, 4 and 5).

Discussion

The materials used in implantology must meet the criteria for mechanical and physical resistance (1, 5, 15, 17). In addition, biological properties or biocompatibility are crucial (4, 5, 7, 9, 12, 16) for successful osseointegration (a fast connection between the material of an implant and bone) or biointegration ensuring a cell-material bond. Until recently, the situation was not fully optimal. The problem was not in a good choice of ceramics—hydroxyapatite—for coating but rather in the technique of adhesion of the material as the coating degraded after some years. Currently, there is an effort to achieve the adhesion of the material marked as 1 – i.e. the highest possible in scale of the assessment of the surface adhesion (9). The PVD method is one of possible techniques for depositing coatings while maintaining the supreme mechanical and physical properties of the surface layer. This method not only allows to achieve adhesion 1, it also ensures that surface modification before coating is not damaged (13, 14, 18) and the topography of the implant material is not altered by coating. The coating material exactly copies the surface and it can be deposited in only a few micrometers thick layers. These findings have also been proven within the grant project (Vaněk, Prachár, Bartáková) studying TiN and ZrN coatings on the chromium cobalt alloy.

Conclusion

We can conclude that the cellular adhesion is significantly affected by the type of the implant material and its surface modification. In the group of TiN coating, the best material was the titanium Grade V alloy in polished treatment and the worst was blasted chromium cobalt alloy. In the group of ZrN coating, beta-titanium alloy with polished modification was assessed as the best and chromium cobalt alloy in the blasted surface was the worst.

Further important finding was the difference in cell colonization in favour of the polished surface versus the blasted surface and a higher cell colonization in samples with the TiN coating compared to those with ZrN coating. All these findings confirm suitability of the use of TiN and ZrN coating materials in implantology.

References

1. Abraham JA, Grenón MS, Sánchez HJ, Pérez CA, Valentinuzzi MC. Titanium based implants, metal release study in the oral environment LNLs 2006 Activity Report.
2. Baril E, Lefebvre L.P, Yannig T, Florin I. Foam-coated MIM gives new edge to titanium implants. Metal Powder Report 2008; 63 (8): 46–50.
3. Dostálová T, Himmlová L. Osseointegration of loaded dental implant with KrF laser hydroxylapatite films on Ti6Al4V alloy by minipigs. J Biomed Opt 2001; 6: 236. DOI:10.1117/1.1357191.
4. Geurtsen W. Biocompatibility of dental alloys. Crit Rev Oral Biol Med 2002; 13 (1): 71–84.
5. Kudrman J, Chlubnová R, Veselý J, Hnilica F, Podhorná B. Properties of titanium beta alloys suitable for use in human medicine. Book of abstracts. Metal 2008, Hradec nad Moravicí.
6. Niespodziana K, Jurczyk K, and Jurczyk M. The synthesis of titanium alloys for biomedical applications. Rev Adv Mater Sci 2008; 18: 236–240.
7. Niinomi M. Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. Sci Technol Adv Mater 2003; 4 (5): s. 445–454.
8. Petruželka J, Dluhoš L, Hrušák D, Sochová J. Nanostructured titanium application in dental implants. In: Abstract Booklet of the International Conference NANO'06, Brno University of Technology, 1, 2006, s. 100.
9. Prachár P, Vaněk J, Cvrček L, Bartáková S. Characteristics of surface layer of chromium cobalt alloy coated with titanium nitride and zirconium nitride. Prakt Zub Lék 2005; 53 (4): 65–67.
10. Červinka M, Půža V. In vitro toxicity testing of implantation materials used in medicine: effects on cell morphology, cell proliferation and DNA synthesis. Toxicol Vitro 1990; 4 (4/5): 711–716.
11. Rimondini L, Fare S, Brambilla E, Felloni A, Consonni C, Brossa F, Carrasi A. The effect of surface roughness on early *in vivo* plaque colonization on titanium. J Periodontol 1997; 68: 555–556.
12. Silvennoinen R, Vetterl V, Hasoň S, Tuononen H, Silvennoinen M, Miller K, Cvrček L, Vaněk J, Prachár P. Sensing of human plasma fibrinogen on polished, chemically etched and carbon treated titanium surfaces by diffractive optical element based sensor. Optics Express 2008; 16 (14): 101–130.
13. Shimakura M. Efficient polishing method of titanium. J Soc Titanium Alloys in Dent 2007; 5: 32–33.
14. Tajima T, Hironaka M, Chen K, Nagamatsu Y, Kakigawa H, Kozono Y. Electropolishing of CP titanium and its alloys in an alcoholic solution-based electrolyte. Dent Mater J 2008; 27 (2): 258–265.
15. Takada Y, Nakajima H, Okuno O, Okabe T. Microstructure and corrosion behavior of binary titanium alloys with beta-stabilizing elements. Dent Mater J 2001; 20: 34–52.
16. Vaněk J, Prachár P, Bartáková S, Březina V, Freyburg L. Biological tests of chromium – cobalt alloy coated with titanium nitride and zirconium nitride. Čes Stom 2005; 105 (6): 149–153.
17. Yamamuro T. Patterns of osteogenesis in relation to various biomaterials. J Jpn Soc Biomater 1989; 7: 19–23.
18. Yoshinari M, Oda Y. Titanium surface modification with dry process for dental implants. 129–136. In: Niinomi M, Okabe T, Taleff EM, Lesuer DR, Lippard HF (Eds). Structural Biomaterials for the 21st Century, TMS, 2001.

Received November 11, 2013.

Accepted May 16, 2014.

The titanium PV I endosteal implant from beta-titanium alloy Ti 38Nb 6Ta

Patrik Prachar, Sonia Bartakova, Jiri Vanek

Aim. The aim of this study was to use the beta-titanium alloy Ti38Nb6Ta for production of a new construction line of implants, perform testing on animals and preclinical tests.

Materials and Methods. Within this study, a new PV I implant with five construction variants was developed. The implant includes three types of threads – microthreads and flat threads of two types with a different depth. Further, the PV I implant was tested on minipigs. Subsequently, preclinical tests of 150 implants were performed and assessed. The age interval of patients was from 18 to 74 years.

Results. Beta titanium alloy exhibited higher strength than titanium alloys. Anti-corrosion resistance was also higher. The implant from beta-alloy was inserted in the tibias of minipigs. Sections showed good osseointegration of the PV I implant. During the preclinical tests, 150 implants were inserted with the success rate of 99.33% after the two year assessment. The assessment also included handicapped patients who are not usually assessed in classical studies. Finally, the implantation protocol and documentation of a new implantation system PV I was designed. At the same time the industrial sample of this implant was formed and accepted.

Conclusion. A new anti-rotation PV I implant with microthreads and conical anchorage of the abutment into the fixture was formed. The beta-titanium alloy Ti38Nb6Ta used for the implant was biocompatible and had higher mechanical and physical properties than the existing titanium alloys. The PV I implant was recommended for clinical application.

Key words: beta-titanium alloy, anti-rotation feature, microthreads, handicapped patient

Received: November 19, 2013; Accepted with revision: February 20, 2014; Available online: March 10, 2014
<http://dx.doi.org/10.5507/bp.2014.011>

Clinic of Stomatology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno and St. Anne's University Hospital in Brno, Czech Republic
 Corresponding author: Patrik Prachar, e-mail: patrik.prachar@fnusa.cz

INTRODUCTION

Dental implantology has become a standard competence in treating dental defects. A number of dental implantation systems have been developed, namely endosteal using metal alloys and ceramics. Alloys of titanium Grade I-V with the addition of Al, V, Mo, Zr, Ta, Hf, Nb for the improvement of healing and functioning properties of these implants are preferred due to their biological and mechanical-physical properties¹. Their specific characters lie in their construction, shape, anchorage of the abutment, surface modification and inserting instrumentarium^{2,4}. The main objective of implantology is to achieve in a shortest possible time after insertion into the tissue the optimal permanent tissue integration in a wide range of clinical indications, also in handicapped and risky patients. A special attention has been paid to a shape of implants, shape modification of threads in relation to the bone, surface modification by coating or using some other treatment, e.g. electroerosion etc.^{3,4}. In the two stage implants, perfect initial stability of the implant and perfect anchorage of the abutment are essential to avoid the implant loosening and prevent penetration of secondary infection. In relation to the above mentioned, it has been demonstrated that titanium alloys with the additional components of Al, V are not biologically fully optimal⁵ while the addition of Nb, Ta, Zr, Mo, Hf have been confirmed as more suitable⁶. In addition, titanium

alloy with a modified admixture of metal components must allow processing for achieving a required shape of the implant while keeping optimal mechanical and physical characters after the insertion into the soft tissues and bone (e.g. module of flexibility). Our previous studies have demonstrated suitability of the beta - microstructure of the basic titanium alloy^{5,7,9}.

Within the activities of the SVC (Stomatological Research Center) in 2005 - 2011 aiming at achieving the above mentioned requirements, after continuous biophysical tests, beta-titanium alloy Ti38Nb6Ta was developed and filed for patent rights⁶. Subsequently, from this alloy five types of PV implants (PV I - PV V) with modified threads and perfect connection of the abutment into the fixture were newly designed. The tissue integration of these implants was checked experimentally in the scope of the international collaboration⁵. This study presents construction and first results from preclinical tests of PV I, which was the most type.

MATERIAL AND METHODS

The PV I implant was designed as a two-stage dental implant with anti-rotational and anti-peri-implantation features. It consists of a cylindrical fixture with a conical apical end (Fig. 1). The edge of the coronary part was beveled to allow a deeper insertion of the implant into the

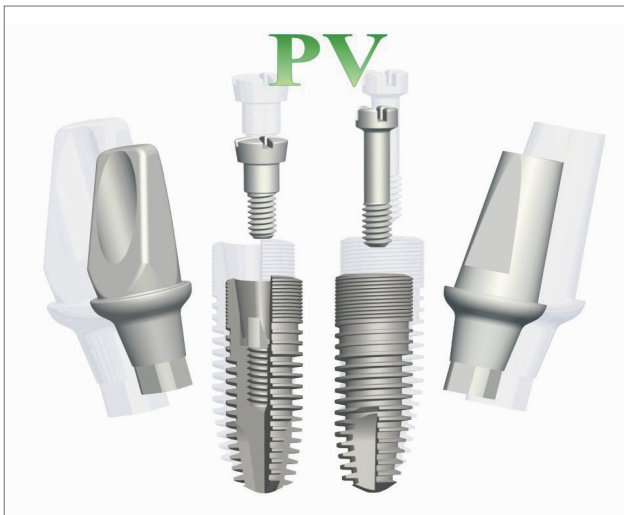


Fig. 1. Implantation system PV I.

bone and prevent a higher stress and associated resorption of the bone (cortical). The threads in the fixture were pre-drilled and consisted of three parts:

The first – coronary part contained microthreads.

The second – threads of the middle part with a pitch of 0.6 mm and depth of 0.25 mm

The third – apical part consisted of threads with a pitch of 0.6mm and depth from 0.3 to 0.5 mm.

The threads of the second and third parts of the implant had flat profiles, which classifies them as very good threads in terms of stress – bone ratio. Further, two trenches in the apical part allow condensation of the bone during the implant insertion. The coronary part of the implant was beveled to reduce the stress in the cortical bone and polished for a smooth contact with the soft tissue.

The inner part of the fixture contained a coil for screwing the abutment, square prism as an anti-rotation feature facilitating the insertion of the implant and stabilization of the abutment, and finally self-locking angel providing a firm implant-abutment connection and preventing the peri-implant disease development. The abutment consisted of a screw for fixation in the fixture, a square prism fitting into the fixture with conical broadening for a tight connection. The abutment itself in the gingival part allowed the least possible dead space to be formed in the transition area between the bone and gingiva.

Subsequently, testing on animals was conducted in collaboration between the Stomatological Research Centrum (SRC) and Tokyo Medical and Dental University. One-year old minipigs were used as laboratory animals as their bone tissue is similar to that of humans. The implants were introduced into the tibias of pigs and evaluated after a month on the sections. Testing of implants were at two minipigs. Now the variant with beta-alloy corresponded two implants. It was found that implant healing by osseointegration has been fully. This experiment was approved by the Ethical Committee of Japan. This study assessed only the beta alloy implant sections.

Preclinical tests performed within the SRC project and other application tests included insertion of 150 implants

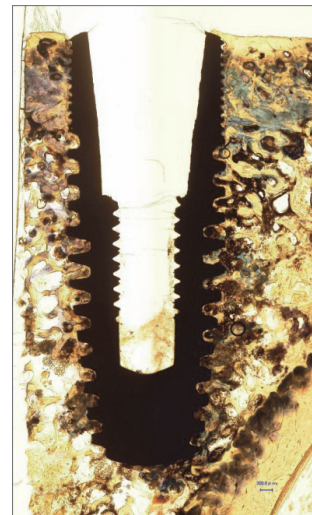


Fig. 2. Section of the tibia bone with the PV I. implant in a minipig.

of PV I type. Before implantation, each patient was informed about the preclinical testing and then enrolled into the protocol. The material for the pre-clinical tests was wholly bioinert.

The implants were used as solo pillars, in connection with teeth or without the tooth-implant connection and implants in the toothless jaw. Totally 83 implants in 37 females and 67 implants in 28 males were introduced. The age interval of patients was from 18 to 74 years.

RESULTS

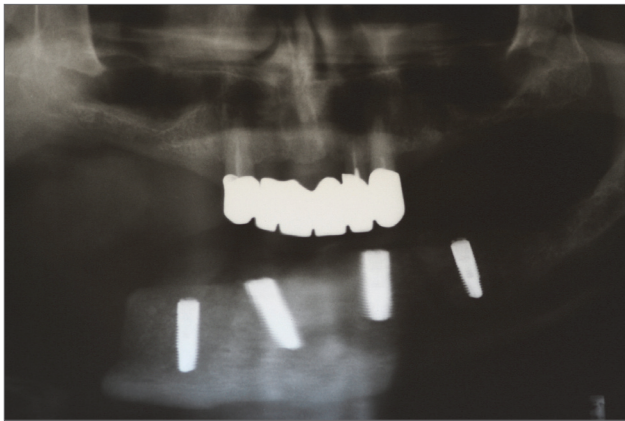
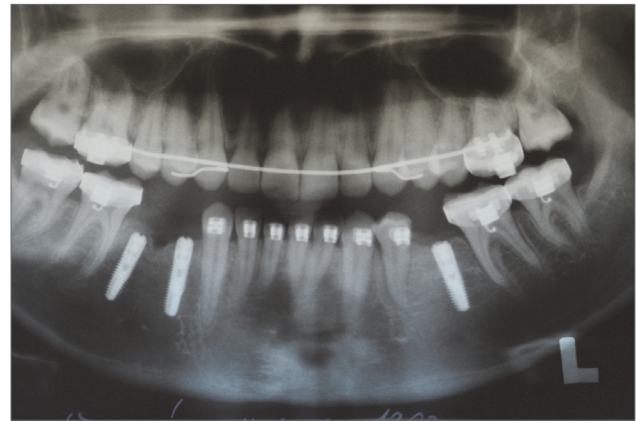
The beta titanium alloy exhibited excellent construction and mechanical and physical properties. Compared to titanium alloys, higher strength was achieved¹⁰. In addition, anti-corrosion resistance was higher than in the titanium alloys¹⁰⁻¹².

The insertion of the implant into the tibia of minipigs and evaluation of osseointegration were carried out in Japan. The implants were examined on the bone sections after one month (Fig. 2). In case of the implant from beta alloy, osseointegration did not exhibit any signs of resorption.

In the preclinical phase, the success rate of the placed implants was 99.33%. This corresponds to one explanted implant removed still during the healing period. In this one case single stage augmentation was performed. There was not any antiinflammation reaction but a stable connection was not a result of osseointegration but fibrointegration. This could have been caused by an error during the insertion, i.e. insufficient primary stability of the implant. In females, the success rate of implantation was 100% in all indications; in males, the success rate of implantations in the indication of the “in-gapped” pillar in connection with the teeth was 95.00%. The success rate of the other indications was 100%. The high success rate reflects a short interval (the assessment after two years) (Table 1). Samples of some implantations are shown in RTG images (Fig. 3-5).

Table 1. Number of implants according to the indications of insertion and the success rate of the implantation within two years.

	Total / Success Rate		Females / Success Rate		Males / Success Rate	
Solo pillar	22	100%	15	100%	7	100%
Shortened dental arch	42	100%	27	100%	15	100%
“In-gapped” pillar in connection with teeth	38	97.37%	18	100%	20	95%
Toothless jaw	48	100%	23	100%	25	100%
Total no. of implants	150	99.33%	83	100%	67	98.51%

**Fig. 3.** State after the insertion of PV I implants in a patient after resection of the mandibula.**Fig. 4.** State in a patient with hypodontia and a limit value of tolerance to titanium.

Finally, the implantation protocol and documentation of the new PV I implantation system were created (Fig. 6).

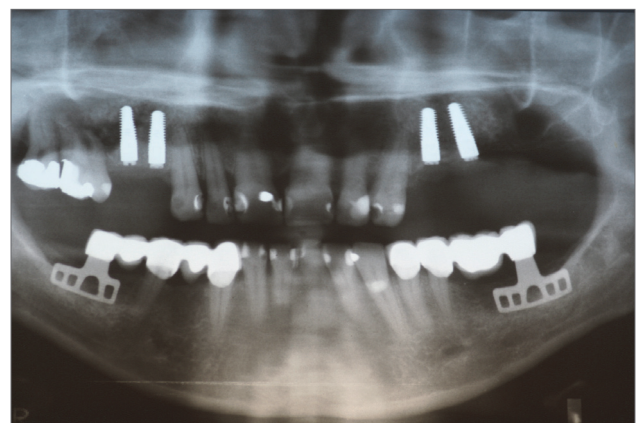
DISCUSSION

Biotests conducted in collaboration with Japan confirmed the optimal characters of the beta titanium alloy¹³ and excellent construction properties of the implants. The threads in the apical part were assessed as very good threads considering the stress-bone ratio¹⁴. Manipulation with the implants and their insertion was simple and accurate thus the PV I implants have a wide application not only in common indications but also in handicapped patients.

The construction in the cortical part - microthreads and beveled implant apix - ensured minimal resorption in the cortical part of the bone. This corresponds to similar threads used in the AstraTech system of the implants¹⁵⁻¹⁷.

The abutment, fully and accurately fitting the fixture is another positive feature of the implant construction. Its antirotation design ensures stability of the abutment and exact positioning by self-locking angel impedes penetration of bacteria¹⁸⁻²⁰.

One failure occurred in this study shows the importance of the primary fixation of the implant in the bone in the augmentation of the sinus highmori for achieving implant stability. This case showed that the insufficient

**Fig. 5.** State after the PV I implant insertion and bilateral augmentation of sinus highmori.

stability did not lead to required osseointegration thus the required result was not achieved.

Indications of the inserted implants also included risky subjects (24 implants in 7 patients), i.e. patients after resection of the mandibula, after radio- and chemotherapy and also patients with limit (1.8 - 2.0) allergy to titan. In all these cases, the implantation and healing were without resorption and complications.

Therefore the PV I system but also other types of PV implants from beta alloy are perspective in terms of long term use in oral implantology.

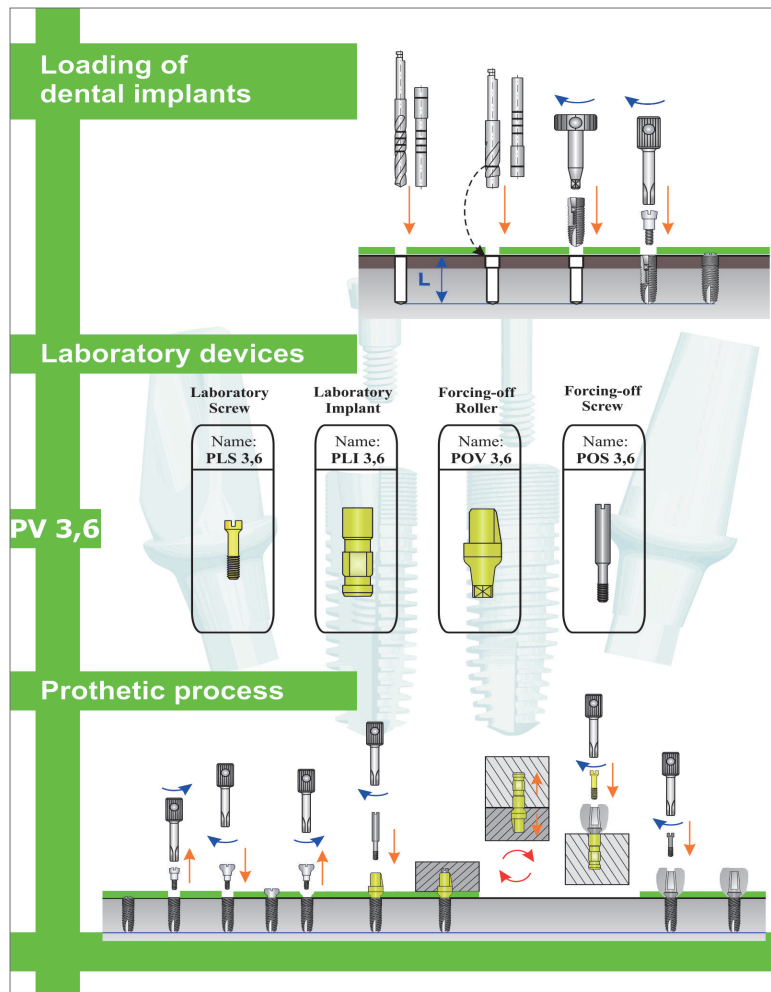


Fig. 6. Implantation protocol in the system PV I.

CONCLUSION

A new implant designated as PV I was developed. It is an anti-rotation implant of a partly conical shape with micro threads in the coronary part. It is anchored by locking angle for the minimal microbial invasion. Beta alloy used for implant manufacturing ensures biocompatibility and higher mechanical and physical properties compared to titanium alloy or pure titanium. Testing on minipigs did not prove any significant signs of resorption on the examined sections. Furthermore, pre-clinical assessment showed excellent results of the implant insertion. The results fully complied with our requirements for implants.

We can summarize that the implant system PV I made from beta alloy and its modification can be recommended for clinical application.

ACKNOWLEDGEMENT

This study was based on the project SVC 1M0528.

Author contributions: PP, SB, JV: literature search; PP, JV: manuscript writing; PP: study design; PP: data

collection; PP, SB: data analysis; PP: data interpretation; PP: statistical analysis; PP, SB: final approval.

Conflict of interest statement: The authors state that there are no conflicts of interest regarding the publication of this article.

REFERENCES

- Geurtsen W. Biocompatibility of dental alloys. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002;13(1):71-84.
- Hanawa T. Titanium and its oxide film: a substrate for formation of apatite, in *The Bone-Biomaterial Interface*, ed. J. E. Davies, University of Toronto Press, Toronto 1991 p. 49-61.
- Prachár P, Vaněk J, Cvrček L, Bartáková S. Characteristics of Surface Layer of Chromium Cobalt Alloy Coated with Titanium Nitride and Zirconium Nitride. *Prakt Zub Lék* 2005;53(4):65-7 (In Czech).
- Silvennoinen R, Vetterl V, Hasoň S, Tuononen H, Silvennoinen M, Miller K, Cvrček L, Vaněk J, Prachár P. Sensing of human plasma fibrinogen on polished, chemically etched and carbon treated titanium surfaces by diffractive optical element based sensor. *Optics Express* 2008;16(14):10130-40.
- Bartáková S, Prachár P, Střecha J, Podhorná B, Kudrman J, Hnilica F, Březina V, Vaněk J. Titanium alloys with iron admixtures: analysis of its material characteristics, biocompatibility and suitability for applications in dental implantology. *Stomatolog* 2009;2:19-24 (In Czech).

6. Matsunoa H, Yokoyamaa A, Watarib F, Uob M, Kawasakia T. Biocompatibility and osteogenesis of refractory metal implants, titanium, hafnium, niobium, tantalum and rhenium. *Biomaterials* 2001;22(11):1253-62.
7. Bartáková S, Prachár P, Kudrman J, Podhorná B, Březina V, Strecha J. Binary titan-columbium alloys and their biocompatibility. *Stomatolog* 2009;1:39-42 (In Czech).
8. Bartáková S, Prachár P, Kudrman J, Podhorná B, Březina V. Binary titan-tantalum alloys and their biocompatibility. *Prakt Zub Lék* 2009;57(3):37-40 (In Czech).
9. Eisenbarth E, Velten D, Muller M, Thull R, Breme J. Biocompatibility of β -stabilizing elements of titanium alloys. *Biomaterials* 2004;25(26):5705-13.
10. Tsutsumi Y, Bartáková S, Prachár P, Yalatu S, Migita S, Igita H Doi, Nomura N, Hanawa T. Long-Term Corrosion Behavior of Biocompatible Beta-Type Ti Alloy in Simulated Body Fluid. *Journal of the electrochemical society* 2012;159:435-440.
11. Joska L, Fojt J. Corrosion behaviour of titanium after short-term exposure to an acidic environment containing fluoride ions. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 2009;21(2):481-8.
12. Takada Y, Nakajima H, Okuno O, Okabe T. Microstructure and corrosion behavior of bojary titanium alloys with beta-stabilizing elements. *Dent Mater J* 2001;20:34-52.
13. Filipi V, Březina V. Biological tests of beta titanium alloys for implantology. In *International seminar SRC*. Brno: Masarykova universita, 2008.76-7, ISBN 978-80-210-4596-5.
14. Dzan L, Henyš P, Čapek L, Šimůnek A. Makrodesign of Implant – Types and Shapes of Threads Used and their Evaluation Using Finite Element Analysis. *Čes Stomat* 2013;113(4):88-94 (In Czech).
15. Hansson S, Werke M. The implant thread as a retention element in cortical bone: the effect of thread size and thread profile: a finite element study. *J Biomechanics* 2003;36:1247-58.
16. Lee DW, Choi YS, Park KH, Kim CS, Moon IS. Effect of microthread on the maintenance of marginal bone level: a 3-year prospective study. *Clin Oral Impl Res* 2007;18:465-70.
17. Norton M. An in vitro evaluation of the strength of an internal conical interface compared to a butt joint interface in implant design. *Clin Oral Impl Res* 1997;8:290-8.
18. Kocar M, Seme K, Hren NI. Characterization of the Normal Bacterial Flora in Peri-implant Sulci of Partially and Completely Edentulous Patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25(4):690-8.
19. Rabel A, Kohler SG. Microbiological study on the prognosis of immediate implant and periodontal disease. *Mund Kiefer Gesichtschir* 2006;10(1):7-13.
20. Romanos GE, Nentwig GH. Immediate functional loading in the maxilla using implants with platform switching: five-year results. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24(6):1106-12.



the society for solid-state
and electrochemical
science and technology

Journal of The Electrochemical Society

Long-Term Corrosion Behavior of Biocompatible β -Type Ti Alloy in Simulated Body Fluid

Y. Tsutsumi, S. Bartakova, P. Prachar, Suyalatu, S. Migita, H. Doi, N. Nomura and T. Hanawa

J. Electrochem. Soc. 2012, Volume 159, Issue 10, Pages C435-C440.
doi: 10.1149/2.045210jes

**Email alerting
service**

Receive free email alerts when new articles cite this article - sign up in the box at the top right corner of the article or [click here](#)

To subscribe to *Journal of The Electrochemical Society* go to:
<http://jes.ecsdl.org/subscriptions>

© 2012 The Electrochemical Society



Long-Term Corrosion Behavior of Biocompatible β -Type Ti Alloy in Simulated Body Fluid

Y. Tsutsumi,^{a,z} S. Bartakova,^b P. Prachar,^b Suyalatu,^a S. Migita,^a H. Doi,^a N. Nomura,^a and T. Hanawa^{a,c}

^aInstitute of Biomaterials and Bioengineering, Tokyo Medical and Dental University, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan

^bStomatological Clinic, Masaryk University, Brno 65691, Czech Republic

^cGraduate School of Engineering, The University of Tokyo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8656, Japan

The corrosion behavior of the Ti-33.5Nb-5.7Ta alloy (Ti-Nb-Ta) as a biocompatible β -type Ti alloy during long-term immersion in simulated body fluid was investigated. Like pure Ti, pitting corrosion did not occur on Ti-Nb-Ta during anodic polarization. Thus, alloying of Ti with Nb and Ta did not change the chloride-ion sensitivity. Metal ion release of Ti, Nb, and Ta was detected after 7-d immersion in the solution; however, the amounts of ions were much smaller than those from Type316L stainless steel. X-ray photoelectron spectroscopy revealed that the fractions of Nb and Ta in the passive layer increased during the immersion while that of Ti decreased. The corrosion rate of Ti-Nb-Ta determined by electrochemical impedance spectroscopy kept decreasing over a period of 15 d while the thickness of the passive layer did not change after 1 d. Thus, the reconstruction of the passive layer of the alloy was proven to be important for metal ion release during long-term implantation in a living body. Thus, Ti-Nb-Ta has sufficient corrosion resistance as a biocompatible β -type Ti alloy.

© 2012 The Electrochemical Society. [DOI: 10.1149/2.045210jes] All rights reserved.

Manuscript submitted May 18, 2012; revised manuscript received July 23, 2012. Published August 29, 2012.

Titanium (Ti) and Ti alloys are common metallic biomaterials used in the fields of medicine and dentistry. Commercially pure Ti (CP Ti), Ti-6Al-4V alloy, and the Ti-6Al-7Nb alloy are widely used as medical devices due to the excellent combination of mechanical properties, corrosion resistance, and biocompatibility.

Recently, β -type Ti alloys, which have body-centered cubic structures, have been attracting attention as novel metallic biomaterials. β -type Ti alloys show lower Young's modulus than CP Ti and other conventional Ti alloys. Reducing the Young's modulus of metallic biomaterials minimizes the stress-shielding effect in a bone fixator. In addition, the shock-absorbing property of dental implants might be achieved by decreasing the modulus. A Ti-13Nb-13Zr alloy (ASTM F1713), which has a near- β structure, was developed to replace the traditional Ti-6Al-4V alloy. The Ti-6Al-4V alloy is $\alpha+\beta$ type alloy and has a rather high Young's modulus.¹ Furthermore, Niinomi et al. developed Ti-29Nb-13Ta-4.6Zr alloy, which is a low Young's modulus β -type alloy composed of non-toxic and allergy-free elements.^{2,3} Thus, in recent years, many researchers have designed β -type Ti alloys with various compositions because of their prospects for medical use due to their lower Young's modulus.^{4,5} To stabilize the β -phase in Ti, a certain amount of alloying element as a β -former is necessary.

On the other hand, pitting corrosion rarely occurs on CP Ti because it has little sensitivity to halogen ions.⁶ However, the excellent localized corrosion resistance of Ti may be weakened by alloying. Thus, the corrosion resistance of the Ti alloy in a living body, which essentially contains chloride ions, strongly depends on its composition and crystal structure. Recently, the corrosion resistance of β -type Ti alloys has been reported. The alloying of Ti with Nb, Ta, and Mo did not affect the localized corrosion resistance.⁷⁻¹⁵ In other words, like pure Ti, the passive layers of these β -type Ti alloys are stable in a solution containing chloride ions. Thus, it is possible to design β -type Ti alloys for biomedical devices with both good mechanical properties and corrosion resistance. However, even though the passive state of the alloy is maintained, the amount of metal ions released into a living body should be minimized to avoid the associated difficulties, including allergic reactions, osteolysis, and implant failure.^{16,17} Accumulation of the metal ions might occur as a consequence of low corrosion rate of implant devices over long-term implantation. In this sense, the corrosion behavior for a long period under a biological environment is as important as the chloride-ion sensitivity to determine the biosafety of metallic biomaterials. However, there is little study on the long-term corrosion behavior of β -type Ti alloys in biological

environment.⁷ In particular, the effects of alloying elements to Ti on the formation of the passive layer, and metal ion release over a long test period are still unclear.

Therefore, in this study, several corrosion tests and surface analyzes were performed in a simulated body fluid to investigate the corrosion behavior of a β -type Ti alloy. We employed a Ti-33.5Nb-5.7Ta alloy (Ti-Nb-Ta), a typical and basic β -type Ti alloy developed by our group. In addition to traditional corrosion evaluation methods, an in-situ corrosion rate measurement by electrochemical impedance spectroscopy (EIS) was performed for a long period of 28 d. The passive layer was characterized using X-ray photoelectron spectroscopy (XPS). The changes in the corrosion behavior, metal ion release, and passive layer of the β -type Ti alloy were investigated. Finally, the performance of the alloy related to metallic biomaterials from the viewpoint of corrosion science is discussed.

Materials and Methods

Specimen preparation.— Specimens were prepared from a rotary-forged bar of Ti-Nb-Ta. The diameter of the Ti-Nb-Ta bar was reduced from 9.2 mm to 8.0 mm during the forging process. Ti-Nb-Ta disks with 8 mm diameter and 1.5 mm thickness were obtained by cutting the rod. CP Ti (Grade 2, Ti), Ti-50.8mol%Ni superelastic alloy (Ti-Ni), and type 316L stainless steel (316L) disks were also prepared as control specimens. The specimens for corrosion tests were mechanically ground to #800 grit SiC abrasive paper. The specimens for XPS were additionally polished and mirror-finished with 9 μm diamond paste and 0.04 μm colloidal silica. The specimens were then ultrasonically cleaned in acetone and ethanol.

Simulated body fluid.— In this study, the simulated body fluid as a corrosion test solution was prepared with ultrapure water ($>18 \text{ M}\Omega\text{-cm}$) and reagent-grade chemicals. The solution was a mixture of 5.85 gL^{-1} NaCl and 10.0 gL^{-1} lactic acid. The pH of the solution was checked in advance and was confirmed to be within the range of 2.30 ± 0.05 just after preparation. This solution was intended to be an accelerated body fluid for rapid testing of corrosion measurements of dental metallic materials prescribed by ISO 10271.¹⁸ It was reported that medical devices implanted in a living body are sometimes exposed to acid environment for various reasons.¹⁹⁻²¹ Although the pH value of 2.3 in this study is lower than that in such actual environments, it is appropriate for accelerating corrosion measurements. The aggressiveness of the solution in this study is the highest among the other simulated body fluids because of the presence of chloride ions

^zE-mail: tsutsumi.met@tmd.ac.jp

with low pH. All of the corrosion tests in this study were performed under open-air condition.

Anodic polarization measurement.— An anodic polarization measurement (linear sweep voltammetry) was performed with a potentiostat (HABF-501G, Hokuto Denko) and a function generator (HB-111, Hokuto Denko). A saturated calomel electrode (SCE) and a Pt-black electrode were used as a reference and a counter electrode, respectively. The specimen was fixed in a polytetrafluoroethylene (PTFE) holder. The exposed area contacting the electrolyte was 0.38 cm^2 (7.0 mm in diameter). Details of the working electrode are described elsewhere.⁶ After immersing the specimens into the test solution at 37°C , the open circuit potential (OCP) was measured for 10 min. Thereafter, the gradient anodic potential was applied at a constant sweep rate of 1 mVs^{-1} from OCP to $2 V_{\text{SCE}}$. The test was performed on three specimens in the same conditions ($N = 3$).

Dissolution test.— The dissolution test was performed to evaluate the corrosion rate and amounts of the released metal ions during the immersion in the test solution. The whole area of the specimen was ground and immersed in ultrapure water for 24 h at room temperature to stabilize the passive layer. The glass bottle used as the container for the dissolution test was washed by 3% by volume HNO_3 solution and rinsed well with ultrapure water. Twenty mL of the test solution was then put into the glass bottle, followed by the specimen. The bottle was completely sealed and kept for 7 d at 37°C . The concentrations of the metal ions were measured with an inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES, ICPS-7000 ver. 2, Shimadzu). The amounts of the released ions from the specimen were distinguished by subtracting the values of the blank measurement (the tested solution without a specimen). The test was performed on three bottles in the same conditions ($N = 3$).

XPS measurement.— The surface characterization of the Ti-Nb-Ta alloy before and after the immersion in the test solution was performed by XPS (JPS-9010MC, JEOL) with the Mg K α line (1253.6 eV). The spectrometer was calibrated against the Au 4f peak of pure gold, Ag 3d peak of pure silver, and the Cu 2p peak of pure copper. The binding energies were calibrated using the peak energy of C 1s of contaminant carbon, 285.0 eV. To estimate the integrated intensities of the photoelectron peaks, the background was subtracted from the measured spectrum according to Shirley's method.²² The composition of the surface oxide layer was calculated according to a method described in a previous study.²³ Empirical and theoretically calculated data of the relative photoionization cross sections were used for quantification.^{24–27} An angle-resolved technique for XPS was applied to evaluate the gradient of the compositions of the passive layer at photoelectron take-off angles of 17.5° , 40.5° , and 90.0° . The take-off angle is defined as the angle between the direction of the photoelectron path to the electron spectrometer and the specimen surface. The test was performed on a specimen in the same conditions ($N = 1$).

EIS measurement.— A two-electrode type EIS measurement was performed with an electrochemical measurement system (IviumStat, Ivium Technologies). Two Ti-Nb-Ta electrodes were prepared by embedding in cold mounting epoxy resin (SpeciFix-20, Struers). After grinding the surface, the electrodes were immediately immersed in the test solution and placed face-to-face at a constant distance of 10 cm. EIS measurement was started with an alternative potential of 10 mV in amplitude just 10 min after immersion. The frequency was swept from 10^4 to 10^{-2} Hz at intervals of 3 points/decade to minimize the measurement time. The measurement was continued for 28 d at 37°C in an isothermal chamber. The test was performed once on a couple of specimens ($N = 1$).

Results and Discussion

Polarization curve.— The OCPs of Ti-Nb-Ta, Ti, Ti-Ni, and 316L measured before the polarization were $-0.266 \pm 0.005 V_{\text{SCE}}$, -0.290

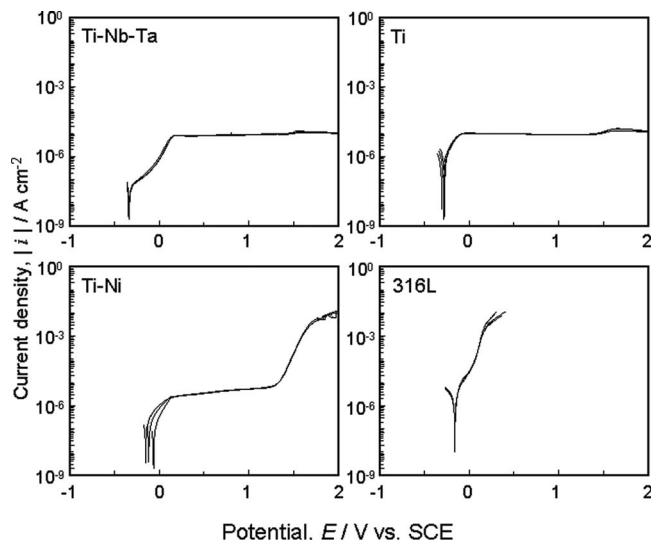


Figure 1. Polarization curves of the specimens in simulated body fluid (5.85 gL^{-1} NaCl and 10.0 gL^{-1} lactic acid, aerated) at 37°C ($N = 3$).

$\pm 0.014 V_{\text{SCE}}$, $-0.171 \pm 0.043 V_{\text{SCE}}$, and $-0.172 \pm 0.003 V_{\text{SCE}}$, respectively. They were almost stable during a measurement time of 10 min. Figure 1 shows the polarization curves as result of the anodic polarization tests. The passive regions clearly appeared at a higher applied potential region of Ti-Nb-Ta and Ti curves in the figure. The passive region remained without any metastable pitting until $2 V_{\text{SCE}}$ which was set as the final potential for the measurement. The polarization curve of Ti closely resembled that of Ti-Nb-Ta. On the other hand, Ti-Ni showed a transpassive state derived from the selective dissolution of Ni at a higher potential than $1.2 V_{\text{SCE}}$. The corrosion resistance of 316L was the lowest in the polarization test: The corrosion current density was the highest and the breakdown potential was close to the corrosion potential. Hence, the passive layer of 316L was unstable in the severe environment of the low-pH chloride solution. It is known that Ti does not have chloride-ion sensitivity and thus shows excellent resistance against localized corrosion even in a chloride-containing solution. For implant materials, exposure to chloride ions cannot be avoided because body fluids always contain a certain amount of chloride. In this sense, the chloride-ion sensitivity is one of the most important factors for metallic biomaterials. Ti-Nb-Ta showed the same result as Ti in the polarization test using acid- and chloride-containing solution. This means that Ti-Nb-Ta and Ti are appropriate materials for preventing a localized corrosion attack.

Metal ion release.— The results of the dissolution tests are summarized in Fig. 2. The metal ions derived from the corrosion reaction

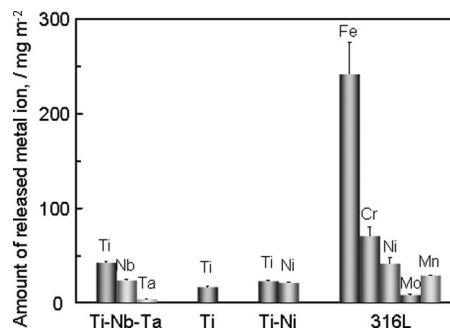


Figure 2. Result of the dissolution test of immersing the specimens in the simulated body fluid (5.85 gL^{-1} NaCl and 10.0 gL^{-1} lactic acid, aerated) at 37°C for 7 d ($N = 3$).

Table I. Composition, thickness, and cation fraction of the passive layer on Ti-Nb-Ta before and after immersion in the test solution calculated from XPS measurements with a detection angle of 90°.

Specimen	Concentration (mol%)				Thickness/nm
	Ti	Nb	Ta	O	
Untreated	19.4	7.8	0.3	72.5	4.9
Immersion 1 d	19.5	9.1	0.6	70.8	5.9
Immersion 7 d	18.4	9.8	0.8	71.0	5.8

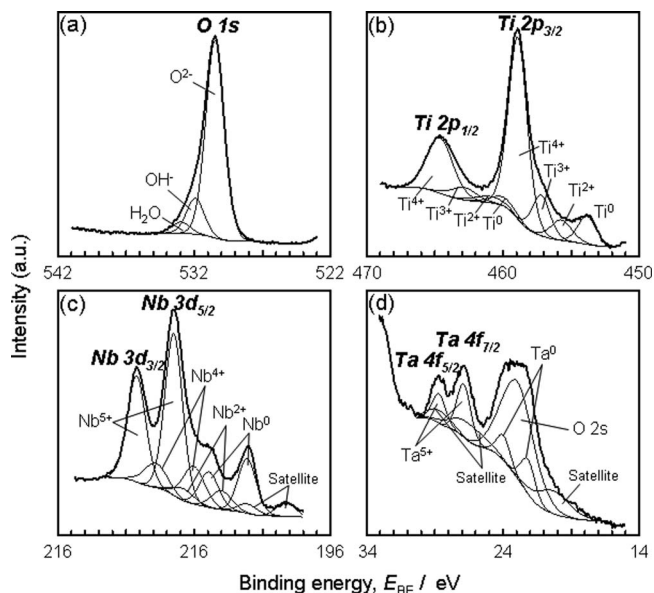
Specimen	Cation fraction (mol%)		
	Ti	Nb	Ta
Untreated	70.6	28.4	1.0
Immersion 1 d	66.8	31.0	2.2
Immersion 7 d	63.6	33.8	2.6
Bulk composition (Substrate)	74.8	23.3	1.9

during immersion in the test solution for 7 d were detected by ICP-AES. All of the components of the alloy were dissolved into the test solution during the test period. The amounts of the released ions from 316L were much higher than those of Ti and Ti alloys. On the other hand, Ti showed the least total amount of released ions. Despite the lower proportions of Ti in Ti-Nb-Ta and Ti-Ni than in Ti, the amounts of Ti ions released from Ti-Nb-Ta and Ti-Ni were higher than those of Ti. This indicates that the alloying of Ti may accelerate the dissolution of the alloy at the initial stage of immersion due to the differences in the standard potentials among each element. Ti-Ni released Ni ions, which are very hazardous for metal allergy.^{28,29} In contrast, Nb and Ta are known as non-allergenic and biosafe elements.³⁰ In this sense, the biosafety level of Ti-Nb-Ta is much higher than that of Ti-Ni and other Ti alloys containing allergenic elements even though certain amounts of Nb and Ta ions are released in the initial period of implantation.

Characterization of the passive layer.— XPS was performed on Ti-Nb-Ta specimen surfaces: before immersion into the test solution (untreated) and after immersion treatment for 1 and 7 d in the solution (1 d immersion and 7 d immersion, respectively). In addition to contaminant carbon, O, Ti, Nb, and Ta were detected from all specimens.

The XPS spectra of the untreated Ti-Nb-Ta around O 1s, Ti 2p, Nb 3d, and Ta 4f electron-binding energy regions with the photoelectron take-off angle of 90.0° are shown in Fig. 3. The deconvolution of peaks was conducted according to the published binding energy data with compatible full width of half maximum, (FWHM) values.^{31–36} As a result, the spectra of Ti, Nb, and Ta were identified as metal states (Ti⁰, Nb⁰, and Ta⁰) and oxidized states (Ti²⁺, Ti³⁺, Ti⁴⁺, Nb²⁺, Nb⁴⁺, Nb⁵⁺, and Ta⁵⁺). The spectrum of the O 1s electron was deconvoluted to three peaks that are originated from (1) oxide, (2) hydroxyl groups or hydroxide, and (3) hydrate or adsorbed water.^{33,37–39} From these results, it was found that the passive layer of Ti-Nb-Ta was mainly composed of a mixed oxides of Ti, Nb, and Ta. The passive layer includes small amounts of incompletely oxidized Ti (valence: 2 and 3) and Nb (valence: 2 and 4) in addition to the completely oxidized Ti (valence: 4), Nb (valence: 5), and Ta (valence: 5).

Table I shows the compositions and the thicknesses of the passive layers of Ti-Nb-Ta that were calculated by quantitative analyses of the XPS spectra. The cation fractions of the passive layers are also summarized in the table. The air-formed passive layer on the untreated Ti-Nb-Ta contained each oxide of the alloying elements, however, the fraction was different from that of the substrate. Although all Ti, Nb, and Ta are strong oxidizable elements, the degree of the oxidation of Nb from the bare-metal substrate just after the polishing was higher than those of Ti and Ta. Thus, a Nb-rich passive layer was formed on Ti-Nb-Ta just after polishing. After immersion in the test solution, Nb and Ta showed increased concentrations, while the concentration of Ti decreased. This means that Nb and Ta were more stable in the corrosive environment of the test solution than Ti. The thickness of the passive layer slightly increased from 4.9 nm to 5.9 nm during the first 1-d immersion in the test solution. However, it did not change during the following immersion period until 7 d. The increase in Nb and Ta accompanying the decrease in Ti without increase in the thickness of the passive layer indicates that the preferential oxidations of Nb and Ta and partial dissolution of Ti occurred. Table II shows the mass

**Figure 3.** XPS spectra of O 1s, Ti 2p, Nb 3d, and Ta 4f electron-binding energy regions obtained from untreated Ti-Nb-Ta.**Table II.** Mass balance of Ti, Nb, and Ta during immersion in the test solution for 7 d calculated from the results of dissolution test and XPS measurement.

Elements	Ti	Nb	Ta
Mass of the element used for oxide formation into the passive layer, w_{ox} / mgm^{-2}	0.28	2.08	0.77
Mass of the released element into the solution as ion, w_{ion} / mgm^{-2}	42.64	23.95	4.07
Total mass of the consumed element by corrosion reaction, $w_{ox} + w_{ion}$ / mgm^{-2}	42.92	26.03	4.84
Proportion of the oxide formation to the total corrosion reaction, $w_{ox}/(w_{ox} + w_{ion})$ (%)	0.7	8.0	15.9

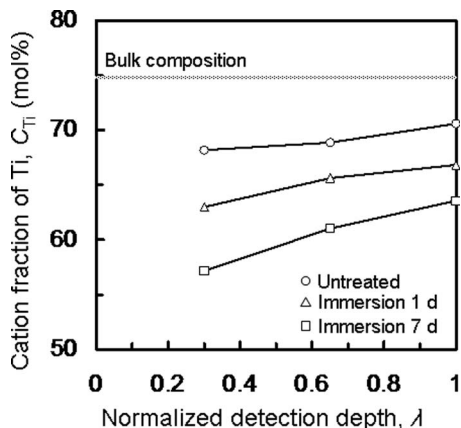


Figure 4. Cation fraction of Ti in the oxide layer of Ti-Nb-Ta calculated from angle-resolved XPS quantitative analysis.

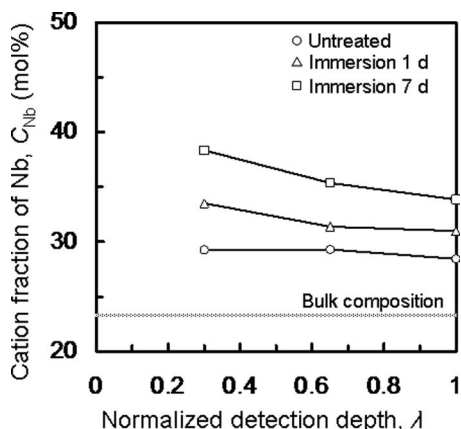


Figure 5. Cation fraction of Nb in the oxide layer of Ti-Nb-Ta calculated from angle-resolved XPS quantitative analysis.

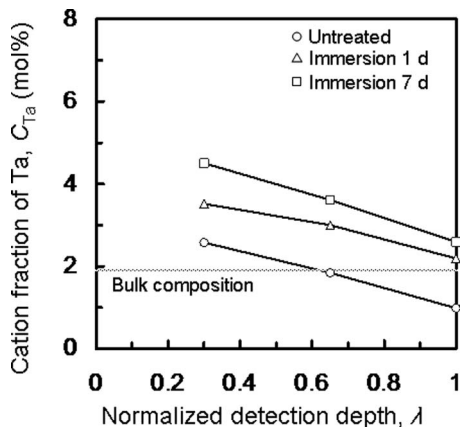


Figure 6. Cation fraction of Ta in the oxide layer of Ti-Nb-Ta calculated from angle-resolved XPS quantitative analysis.

balance of each element during the immersion in the test solution for 7 d calculated from the results of XPS and the dissolution test. It shows that a large part of the corroded elements were released into the solution as metal ions. On the other hand, remaining corroded elements were consumed to form oxides for the growth of the passive layer. The proportions of the oxide formation of Nb and Ta into the passive layer to the total corrosion reaction were much higher than that of Ti; the oxides of Nb and Ta were relatively concentrated in the passive layer during the immersion period while most of Ti was always dissolved into the solution. Thus, it was confirmed that the reconstruction of the passive layer formed on Ti-Nb-Ta occurred during the longer period of exposure in the corrosive environment.

Figures 4, 5, and 6 show the results of XPS measurements with an angle-resolved technique that allows limiting the detection depth of the photoelectrons. The smaller value of λ in the x-axis of the figures means that the data are originated from only the shallower area of the specimen. As seen in Fig. 4, the concentration of Ti decreased with a decrease in the detection depth; the concentration of Ti was relatively smaller at the outermost region of the passive layer. This tendency was more remarkable after immersion in the test solution, accompanying the total reduction of the Ti concentration. On the other hand, the result of Ta (Fig. 6) was the opposite to that of Ti. The concentration of Ta increased during the immersion in the test solution; the increase was especially noticeable at the outermost region of the passive layer. The reconstruction of the passive layer discussed above might first take place at the interface between the solution and the passive layer. The results of the angle-resolved XPS measurements supported the hypothesis of the reconstruction of the passive layer during the immersion period.

Corrosion rate over time.— Figure 7 shows the results of the EIS measurement as Bode plots. Curve fitting was performed using a conventional equivalent circuit model, as shown in Fig. 8 where R_p , R_s , and CPE are the polarization resistance, solution resistance, and constant phase element, respectively. The solid lines in Fig. 7 represent the fits with the optimized electric components of the circuit. Table III shows the list of the fitting results, where C_{dl} , p , and χ^2

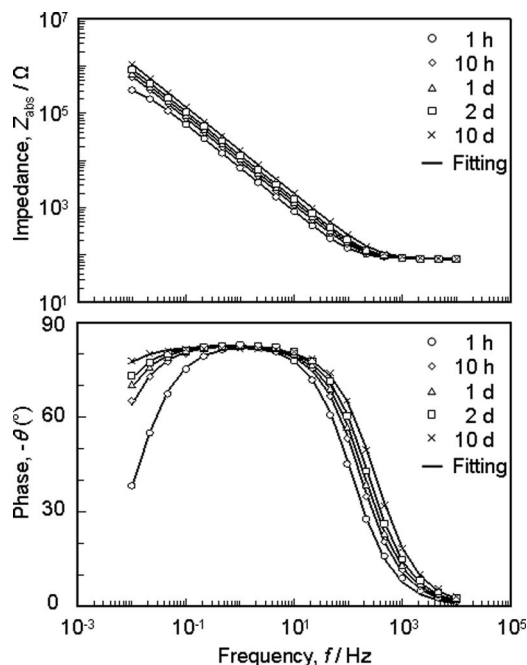


Figure 7. Bode plots of Ti-Nb-Ta in the simulated body fluid obtained by EIS measurement.

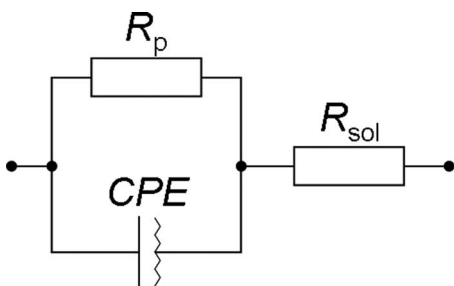


Figure 8. Equivalent circuit model used in this study for the curve fitting of EIS analysis.

represent double-layer capacitance, CPE index, and chi-square value of the fitting. There is almost no difference between the experimental and calculated data. Thus, the curve fitting by using the equivalent circuit with a single capacitive component (Fig. 8) can be considered as reasonable. The R_p in Table III increased with immersion time. Thus, the corrosion reaction was suppressed during the immersion period. Corrosion rate can be theoretically determined by a reciprocal of R_p , anodic- and cathodic- Tafel constants.⁴⁰ In this study, hypothetical corrosion rate was defined as a reciprocal of the R_p value, assuming the Tafel constants were not changed during the immersion period. The change in the corrosion rate of Ti-Nb-Ta during the immersion in the test solution is shown in Fig. 9. The corrosion rate decreased drastically immediately after immersion. The decline in the corrosion rate became gradual but continued until 15 d after immersion, at which point it was stable. The passive layer formed just after abrasion was thin and relatively unstable. The XPS measurement showed that the thickness of the passive layer increased until 1d after immersion, as shown in Table I. Thus, the rapid decrease in the corrosion rate in the initial period was mainly due to the growth of the passive layer. However, the corrosion rate kept decreasing after 1 d even though the thickness of the passive layer did not change further. As discussed in the result of the XPS measurement shown in Table I, the composition of the passive layer continued to change after a longer period of immersion. This reconstruction of the passive layer, which involved the selective accumulation of Nb and Ta, also contributed to enhance the protectiveness of the passive layer. For metallic biomaterials that are intended for implantation in a living body, such as dental implants and internal fixators, both the elements and the total amounts of the released metal ions are important for allergic sensitization. The Ti alloy containing Nb and Ta, which are non-allergenic elements, in this study showed high corrosion resistance due to the reconstruction of its passive layer. In this sense, the alloying with Nb and Ta is effective to not only stabilize β -phase, but also enhance long-term biological safety of Ti.

Table III. Equivalent circuit parameters calculated from the curve fitting of the EIS measurements.

Time	R_s / Ω	$R_p / \times 10^6 \Omega \text{cm}^2$	$C_{dl} / \times 10^{-6} \text{Fcm}^{-2}$	p	χ^2
10 min	86.2	0.03	50.3	0.902	0.0320
30 min	86.4	0.07	49.2	0.928	0.0054
1 h	84.9	0.10	46.3	0.928	0.0043
5 h	82.3	0.29	36.2	0.926	0.0040
10 h	82.5	0.46	31.6	0.924	0.0039
1 d	82.8	0.77	26.3	0.923	0.0039
5 d	83.2	2.37	18.5	0.923	0.0029
10 d	83.0	3.22	16.0	0.917	0.0031
28 d	86.3	2.69	13.2	0.907	0.0047

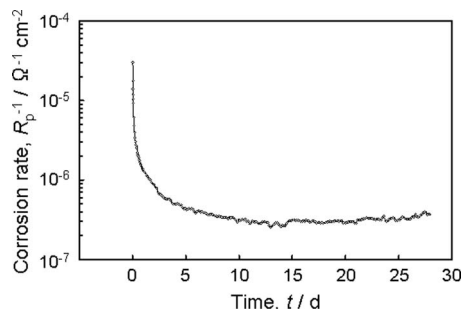


Figure 9. Change in the corrosion rate of Ti-Nb-Ta during immersion in the simulated body fluid (5.85 gL^{-1} NaCl and 10.0 gL^{-1} lactic acid, aerated) at 37°C.

Conclusions

The corrosion behavior of the Ti-33.5Nb-5.7Ta alloy (Ti-Nb-Ta) as a biocompatible β -type Ti alloy for long-term immersion in simulated body fluid was investigated. Like pure Ti, pitting corrosion did not occur on Ti-Nb-Ta during anodic polarization. Although the total amount of released ions from Ti-Nb-Ta was slightly higher than that from pure Ti, it was much lower than that from Type 316L stainless steel. The passive layer of Ti-Nb-Ta was composed of a mixed oxide of Ti, Nb, and Ta including small amounts of incompletely oxidized Ti and Nb. The proportions of Nb and Ta increased after immersion in the simulated body fluid. The EIS measurement showed the corrosion rate of Ti-Nb-Ta kept decreasing over a period of 15 d after immersion in the test solution. This was mainly due to the reconstruction of the passive layer: the oxides of Nb and Ta substituted those of Ti. Thus, a β -type Ti alloy containing Nb or Ta has advantages in long-time corrosion resistance for biocompatible metallic materials.

Acknowledgments

This study was supported by JSPS KAKENHI 24650275, grant-in-Aid for challenging Exploratory Research. The support is also provided by the 1M0528 project (Stomatological Research Center).

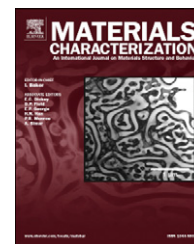
References

- ASTM F136-11, Standard specification for wrought titanium-6aluminum-4vanadium ELI (extra low interstitial) alloy for surgical implant applications, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, (2011).
- M. Niinomi, *Biomaterials*, **24**, 2673 (2003).
- M. Niinomi, T. Hattori, K. Morikawa, T. Kasuga, A. Suzuki, H. Fukui, and S. Niwa, *Mater. Trans.*, **43**, 2970 (2002).
- M. Geetha, A. K. Singh, R. Asokamani, and A. K. Gogia, *Prog. Mater. Sci.*, **54**, 397 (2009).
- M. Niinomi, D. Kuroda, K. Fukunaga, M. Morinaga, Y. Kato, T. Yashiro, and A. Suzuki, *Mater. Sci. Eng. A*, **263**, 193 (1999).
- M. G. Fontana, *Corrosion Engineering*, p. 245, McGraw-Hill, New York, (1985).
- N. T. C. Oliveira and A. C. Guastaldi, *Acta Biomater.*, **5**, 399 (2009).
- N. T. C. Oliveira and A. C. Guastaldi, *Corros. Sci.*, **50**, 938 (2008).
- E. Kobayashi, T. J. Wang, H. Doi, T. Yoneyama, and H. Hamanaka, *Mater. Sci. Mater. Med.*, **9**, 567 (1998).
- Y. L. Zhou, M. Niinomi, T. Akahori, H. Fukui, and H. Toda, *Mater. Sci. Eng. A*, **398**, 28 (2005).
- A. Khan, R. L. Williams, and D. L. Williams, *Biomaterials*, **20**, 631 (1999).
- S. Sakaguchi, K. Nakahara, and Y. Hayashi, *Met. Mater. Int.*, **2**, 193 (1999).
- H. Habazaki, M. Uozumi, H. Konno, S. Nagata, and K. Shimizu, *Surf. Coat. Technol.*, **169-170**, 151 (2003).
- M. V. Popa, E. Vasilescu, P. Drob, and C. Vasilescu, *Rev. Chim.*, **56**, 908 (2005).
- S. M. Bholra, R. Bholra, B. Mishra, and D. L. Olson, *J. Mater. Sci.*, **45**, 6179 (2010).
- J. J. Jacobs, A. K. Skipor, J. Black, R. M. Urban, and J. O. Galante, *J. Bone Joint Surg.*, **73A**, 1475 (1991).
- J. J. Jacobs, C. Silvertown, N. J. Hallab, A. K. Skipor, L. Patterson, J. Black, and J. O. Galante, *Clin. Orthop. Rel. Res.*, **358**, 173 (1999).
- ISO 10271, Dental metallic materials – Corrosion test methods, International Organization for Standardization, Geneva (2011).
- L. L. Hench and E. C. Ethridge, *Adv. Biomed. Eng.*, **5**, 35 (1975).
- R. M. Stephan and B. F. Miller, *J. Dent. Res.*, **22**, 45 (1943).
- R. M. Stephan and B. F. Miller, *J. Dent. Res.*, **22**, 53 (1943).
- D. A. Shirley, *Phys. Rev.*, **B5**, 4709 (1972).

23. Y. Tanaka, E. Kobayashi, S. Hiromoto, K. Asami, H. Imai, and T. Hanawa, *J. Mater. Sci. Mater. Med.*, **18**, 797 (2007).
24. K. Asami, K. Hashimoto, and S. Shimodaira, *Corros. Sci.*, **17**, 713 (1977).
25. J. H. Scofield, *J. Electron Spectrosc. Relat. Phenom.*, **8**, 129 (1976).
26. K. Asami, S. C. Chen, H. Habazaki, A. Kawashima, and K. Hashimoto, *Corros. Sci.*, **31**, 727 (1990).
27. K. Hashimoto, M. Kasaya, K. Asami, and T. Masumoto, *Corros. Eng.*, **26**, 445 (1977).
28. N. H. Nielsen and S. Carter, *Contact Dermatitis*, **44**, 160 (2001).
29. N. H. Nielsen and T. Menne, *Acta Dermato. Venereol.*, **72**, 456 (1992).
30. A. Yamamoto, R. Honma, and M. Sumita, *J. Biomed. Mater. Res.*, **39**, 331 (1998).
31. Y. Tanaka, M. Nakai, T. Akahori, M. Niinomi, Y. Tsutsumi, H. Doi, and T. Hanawa, *Corros. Sci.*, **50**, 2111 (2008).
32. R. Shimizu and K. Yoshihara, *Jitsuyo Auger Denshi Bunkoho*, Kyoritsu Shuppan, Tokyo, Japan, pp. 222 (1989).
33. K. Asami, S. C. Chen, H. Habazaki, and K. Hashimoto, *Corros. Sci.*, **35**, 43 (1993).
34. C.-O. A. Olsson and D. Landolt, *Corros. Sci.*, **46**, 213 (2004).
35. E. Atanassova, G. Tyuliev, A. Paskaleva, D. Spassov, and K. Kostov, *Appl. Surf. Sci.*, **225**, 86 (2004).
36. C. D. Wagner, in: D. Briggs and M. P. Seah (Eds.), *Practical Surface Analysis*, Second Ed., Wiley, New York, pp. 595–634 (1990).
37. G. Lu, S. L. Bernasek, and J. Schwartz, *Surf. Sci.*, **458**, 80 (2000).
38. T. Hanawa, S. Hiromoto, and K. Asami, *Appl. Surf. Sci.*, **183**, 68 (2001).
39. T. K. Sham and M. S. Lazarus, *Chem. Phys. Lett.*, **68**, 426 (1979).
40. D. A. Jones, *Principles and prevention of corrosion*, 2nd edition, pp. 146–165, Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ (1996).

Available online at www.sciencedirect.com

SciVerse ScienceDirect

www.elsevier.com/locate/matchar

Microstructure and mechanical properties of Ti-35Nb-6Ta alloy after thermomechanical treatment

J. Málek^{a,b,*}, F. Hnilica^a, J. Veselý^a, B. Smola^c, S. Bartáková^d, J. Vaněk^d

^aUJP PRAHA a.s., Nad Kaminkou 1345, 156 10 Praha-Zbraslav, Czech Republic

^bCTU in Prague, Faculty of Mechanical Engineering, Department of Materials Science and Engineering, Karlovo Namesti 13, 121 35 Praha 2, Czech Republic

^cCharles University in Prague, Faculty of Mathematics and Physics, Department of Physics of Materials, Ke Karlovu 5, 121 16 Praha 2, Czech Republic

^dSt. Anne's University Hospital Brno, Pekarska 53, 656 91 Brno, Czech Republic

ARTICLE DATA

Article history:

Received 20 April 2011

Received in revised form

7 February 2012

Accepted 10 February 2012

Keywords:

Titanium alloys

Mechanical properties

Aging

Light microscopy

Electron microscopy

ABSTRACT

The influence of thermo-mechanical treatment on microstructure and mechanical properties of Ti-35Nb-6Ta has been studied. The thermo-mechanical treatment was chosen to correspond to the production of wire with suitable mechanical properties for dental implants. After casting the alloy was hot forged (700–900 °C), solution treated (850 °C/30 min, water quenched) and cold swaged (reductions up to 91%). The annealing (700 °C/3 h/furnace) or aging (450 °C/8 h/furnace) was used as final heat treatment. The microstructure was studied by using light microscopy, scanning electron microscopy, transmission electron microscopy and XRD analysis. Cold swaging introduces microstructure consisting of highly deformed β -phase grains with dislocation tangles and twins, which ensures high tensile strength about 820 MPa, low Young's modulus (~50 GPa) and good ductility ~10%. Subsequent aging increases tensile strength (1000 MPa) as well as Young's modulus (75 GPa) without diminishing ductility. Annealing at 700 °C slightly decreases tensile strength (730 MPa) and increases the ductility and Young's modulus (17% and 62 GPa respectively). The mechanical properties attained recommend the thermo-mechanical treatment for production of wires for dental implants.

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Recently, titanium and its alloys are widely used in many applications. It is due to their good mechanical properties, corrosion resistance and relatively low density. Because of the increasing age of population and active life style, more people demand artificial joints and other types of implants [1]. The first dental implants were subperiosteal. They were created in 1940 by Dahl and made from Co-Cr alloys. In 1952, Brånemark prepared the first dental implant from titanium. Later, he and his co-workers described the relationship between bone and titanium implant [2]. Since that time, also titanium alloys

have been used for implants (Ti-Al6-V4). Although the titanium alloy was not developed especially for bio-applications, it is still used for producing implants due to its relatively low price. The problem of this alloy is that it contains vanadium (element with high cytotoxicity) and aluminum (it can cause neurological problems in human body after long-term use). Because the implants are very often used for young people, it is important to develop materials which can be used in human body for long time (more than 15 years) without being replaced, because reoperation means risk. It is also important, that these alloys should not contain elements, which are potentially harmful to human body during long term use. These materials should

* Corresponding author. Tel.: +420 227180380; fax: +420 227180390.

E-mail addresses: jardamalek@seznam.cz, malek@ujp.cz (J. Málek).

have Young's modulus similar to that of human bone (10–30 GPa). If the modulus is significantly higher the so called "stress shielding effect" can be observed [1–13].

In the last decade, the development of new materials designed for bio-applications started. From the biocompatibility point of view, beta-titanium alloys containing biocompatible elements (Nb,Ta,Zr...) seem to be the most promising group. Recently, many titanium alloys are tested for their mechanical properties, chemical stability, biotoxicity, and biocompatibility [1–16]. They contain only biocompatible elements [16] that act as beta-Ti (bcc) stabilizers. These alloys are often based on binary Ti-Nb system, where additional elements are added (for example Ta and Zr) [17]. Although the metallurgical processes of these alloys are connected with some problems (different melting points and densities of alloying elements), it is possible to obtain alloys with a wide variety of mechanical properties and low Young's modulus by suitable thermo-mechanical treatment applied.

This work is focused on the preparation of Ti35Nb6Ta beta-titanium alloy for dental implants with desirable mechanical properties (high tensile strength with sufficient ductility and low Young's modulus). The influence of thermo-mechanical treatment on microstructure and mechanical properties was studied by SEM, TEM, and tensile tests. Thermo-mechanical treatment was subjected to final product shape (wires).

2. Experimental

The alloy investigated in this work had a chemical composition: 57.9Ti-35.8Nb-6.3Ta-0.06O-0.02C-0.02N (all concentrations in this paper are in mass % unless stated differently) and is marked as Ti35Nb6Ta. The alloy was prepared in an electric arc melting furnace (Leybold Heraeus, type L 200 h) with a water-cooled copper crucible. The melting was carried out by using non-consumable tungsten electrode under helium protective atmosphere. Pure metals (Ti, Nb and Ta) were used for preparation. The alloy was remelted at least six times in order to ensure the chemical homogeneity. As cast (marked "AC") alloy was machined to remove surface defects and then hot forged at temperature 700–900 °C into a rod shape with a diameter of about 14 mm. Subsequently, specimens were solution treated at 850 °C for 30 min and water quenched (marked "ST"). After solution treatment the specimens were cold swaged in several steps to final diameters of 6; 5; 4.5; 4 and 3.5 mm with various total section reductions (63%, 73%, 82%, 87% and 91%). These specimens are marked SW63, SW73, SW82, SW87 and SW91. After that, final heat treatment was performed, namely specimens were aged under vacuum (about 1.10^{-3} Pa) at 450 °C for 8 h and cooled in a vacuum furnace (marked SW63-A, SW73-A, SW82-A, SW87-A and SW91-A). Some of the specimens SW87 and SW91 were annealed under vacuum (about 1.10^{-3} Pa) at 700 °C for 3 h and cooled in a vacuum furnace (marked SW87-R and SW91-R). Specimens for light microscope (LM) observations (Nikon EPIPHOT 300) were prepared by standard metallographic techniques. They were grinded with SiC papers up to #4000, polished with Struers OP-S emulsion with addition of 0.6 ml OP-S, 2 ml H₂O and 2 ml NH₃ and finally etched with 3 ml HF+8 ml HNO₃+100 ml H₂O etchant. The phase composition was examined by XRD measurements

(diffractometer X'Pert PRO MPD; Cu anode; strip detector X'Cellerator, 2 theta range 30°–130°). Also transmission electron microscopy (TEM) observations were made on JEOL JEM-2000EX microscope operated at 160 or 200 kV to obtain information about microstructure. The specimens for TEM observations were thinned by grinding to thickness of about 100 μm and then electropolished in 10% HClO₄+20% glycerol+70% methanol solution at –20 °C using Struers TENUPOL 2 machine.

Tensile tests were performed on standard round tensile specimens with round shoulders on INSTRON 1185 testing machine equipped with video-extensometer. The diameter of tested specimens was 3 mm. The tests were made along ISO 6892–1:2009 standard. At least three specimens were tested for each value. Vickers HV10 hardness was measured on ZWICK/Roell ZHU250top hardness tester with a load of 98.1 N (along ISO 6507 standard). The places of measurements were chosen randomly out of border parts of each specimen. Local chemical analysis was determined by energy dispersive X-ray method (EDX) on JEOL JSM5510 LV scanning electron microscope (SEM). Fractography analysis was also performed by SEM.

3. Results

3.1. Microstructure

The microstructure of as-cast alloy consists of coarse dendritic grains (size 1–3 mm). Higher content of heavier elements Nb (about 1%) and Ta (1.5%) was detected in dendrite centers by EDS. Very coarse-grained β-titanium matrix with fine particles on grain boundaries can be seen in light micrograph (Fig. 1). These particles with lower density are also present in the grain interiors. Only very low peaks of α'-phase were observed in XRD spectrum of the as cast alloy. The dominant phase was identified as β-phase.

Hot forging has caused the refinement of grains to about 40 μm due to dynamic recrystallization. The deformation bands are present in some grains. These were probably caused by additional deformation of recrystallized grains (see Fig. 2).

Typical microstructure of solution treated and swaged specimen (SW63) is shown in Fig. 3. Only the peaks belonging to β-phase were identified in XRD spectrum of SW63 specimen. Original equiaxed grains were elongated in forging

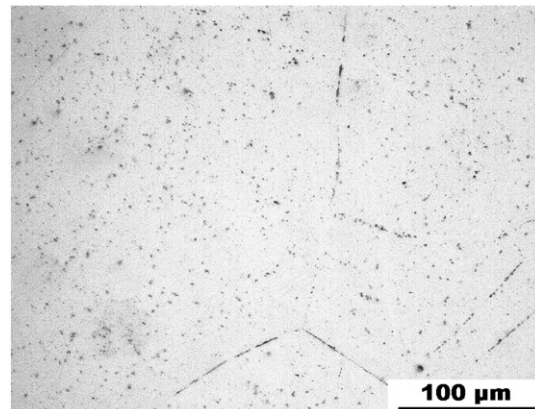


Fig. 1 – Structure of as-cast Ti35Nb6Ta alloy (LM).

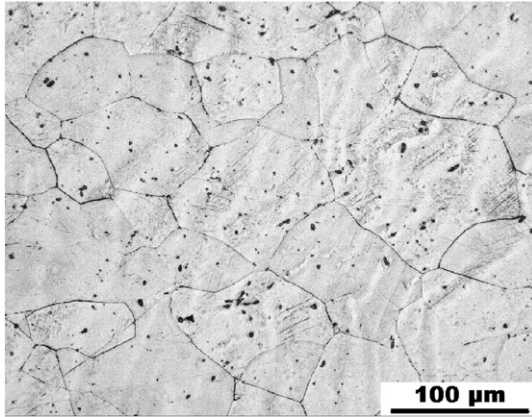


Fig. 2 – Structure of hot forged (HF) Ti35Nb6Ta alloy (LM).

direction (see Fig. 3) and in transverse direction they had wavelike morphology. Locally, fine needle-like objects were also observed in very low number density (Fig. 3). They are supposed to be of α'' -phase, but the reflection of this phase were not recognized in XRD spectra. Similar microstructure was also observed in specimens with higher section reductions.

Ageing of swaged specimens did not change the grain shape. Particles with size 70–200 nm precipitated in grain boundaries during ageing. They are dark in BSE compo micrograph (Fig. 4). Bright zone observed in the vicinity of these particles was rich on heavier elements (Nb and Ta), while the precipitates had lower content of these elements. The α -phase peaks in XRD spectrum of aged alloy are clearly recognized (Fig. 5).

The microstructure of SW91, SW91-A and SW91-R specimens was studied by transmission electron microscopy (TEM). The microstructure of cold swaged samples consisted of β -grains with dislocation tangles and twins (see Fig. 6). During ageing treatment (450 °C/8 h), coarse irregular-shaped particles precipitated at grain boundaries. Also needle-like particles in the grain interiors were observed (Fig. 7). Selected area diffraction pattern (SADP) clearly showed the β -matrix and α -phase spots (see inset in Fig. 7). Nevertheless, weak spots of ω -phase in other SADP were identified although the

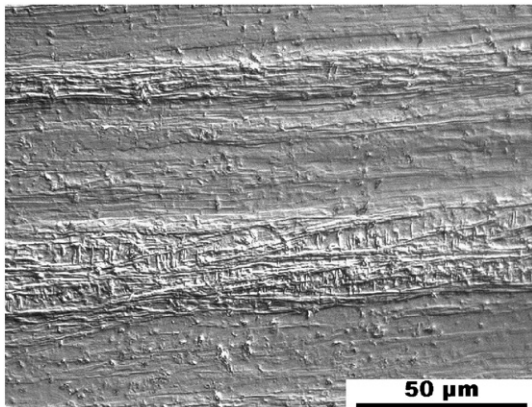


Fig. 3 – Structure of cold swaged Ti35Nb6Ta alloy in longitudinal direction (LM).

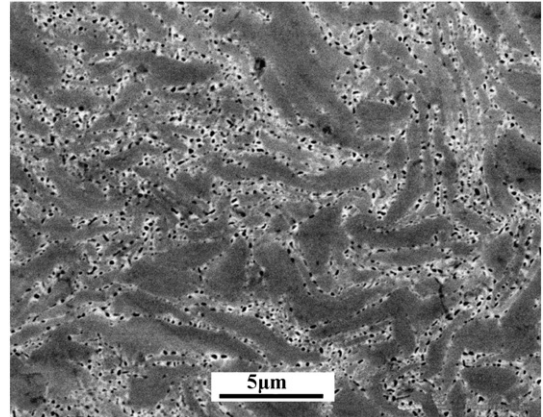


Fig. 4 – Typical microstructure of aged 450 °C/ 8 h/ furnace (SW91-A) specimen (SEM, BSE compo).

ω -phase particles were not observed in TEM images. Probably the size of these ω -particles was so small that they could not be recognized in the micrographs. No α -phase precipitates were observed in specimen SW91-R. Typical features in these specimens were the areas with very fine precipitates observed both in DF and BF (Fig. 8). These particles were identified as ω -phase with the following orientation relationships to the β -phase matrix: $(011)_{\beta} \parallel (1\bar{2}10)_{\omega}$; $(2\bar{1}\bar{1})_{\beta} \parallel (10\bar{1}0)_{\omega}$; $(11\bar{1})_{\beta} \parallel (0001)_{\omega}$.

3.2. Mechanical Properties and Fractography

The hardness values are shown in Fig. 9. It is evident, that the hardness of the alloy decreased after ST compared to hot forged (HF) alloy. The hardness increased by swaging (to more than 200 HV10), but additional hardness increase with increasing section reduction was insignificant. The influence of ageing time at 450 °C on the hardness of specimens swaged with low section reduction is shown in Fig. 10. The most significant increase in the hardness was apparent during the first 8 h of ageing. After this time the hardness increases only slightly. That was the reason, why this period was chosen for ageing the specimens in order to increase their hardness. The specimen SW91-A attains the hardness value 279 ± 3 HV10 after the ageing.

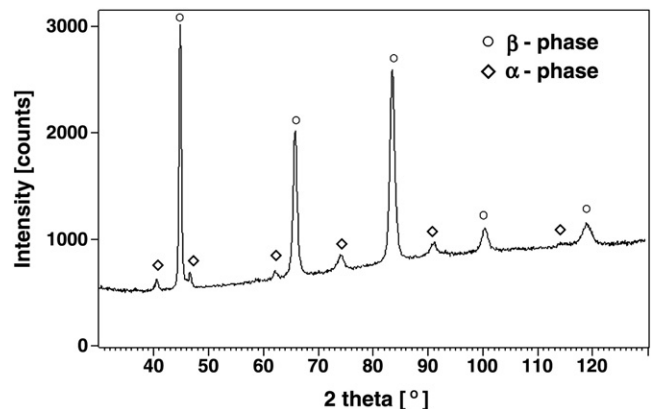


Fig. 5 – X-ray diffraction pattern of aged 450 °C/ 8 h/ furnace (SW91-A) specimen (Co K α anode).

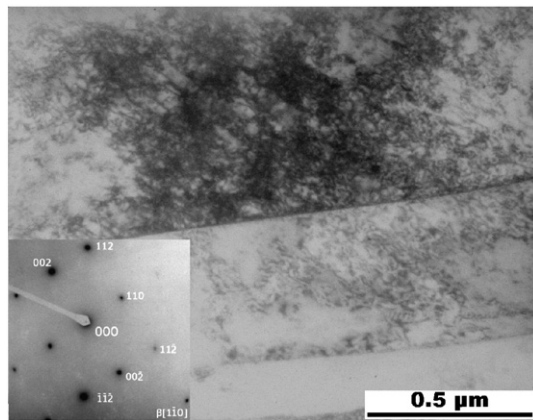


Fig. 6 – TEM micrograph (BF) of cold swaged SW91 specimen with SAD pattern.

Tensile tests were performed at swaged specimens: SW63, SW73, SW82, SW87 and SW91 and at aged specimens: SW63-A, SW73-A, SW82-A, SW87-A and SW91-A. Specimens SW87-R and SW91-R were also tested. The example of stress–strain curves for swaged (SW82), aged (SW91-A) and annealed (SW91-R) specimens are in Fig. 11. Fig. 12A–D, where the dependences of tensile parameters (R_m , $R_{p0.2}$, A and E) on section reduction are plotted, demonstrate that all these parameters are almost independent of reduction in the range from 61 to 80%. The specimens with higher section reduction had slightly increased values of tensile strength and yield strength with simultaneous decrease in ductility. The ageing treatment (450 °C/8 h) resulted in an increase of tensile strength and yield strength about 150 MPa in comparison with swaged samples. Ductility was reduced to about 10%. After annealing at 700 °C for 3 h (SW-R samples), the tensile strength and yield strength values decreased, but the ductility was higher. The Young's modulus was almost independent of section reduction for swaged specimens. Ageing resulted in significant modulus increase from approximately 50 GPa (SW specimens) to about 75 GPa in SW-A specimens. The vacuum annealing 700 °C/3 h (SW-R) introduced somewhat lower Young's modulus increase to about 62 GPa.

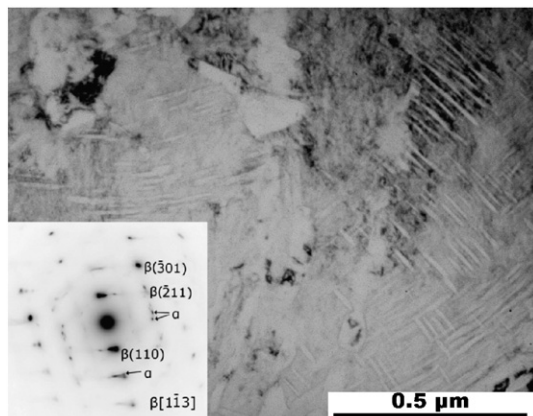


Fig. 7 – TEM micrograph (BF) of aged SW91-A specimen with SAD pattern.

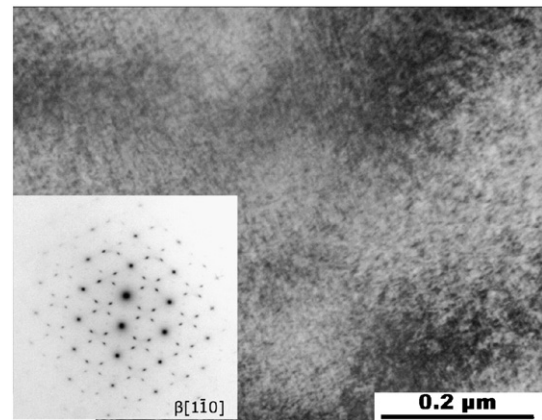


Fig. 8 – TEM micrograph (BF) of annealed 700 °C/3 h/furnace (SW91-R) specimen with SAD pattern.

The fracture mode of specimens during the tensile test was evaluated by using fractography analysis methods. Typical fracture surfaces of SW91 and SW91-A specimens are shown on Figs. 13 and 14 respectively. Both specimens ruptured after neck creation. The fracture surfaces consisted of central area surrounded by shear lips. The fracture proceeded predominantly by ductile intragranular fracture mode with dimple-like morphology. Fracture surfaces of aged specimens differed from the others mainly in the size of dimples. The diameter of dimples in SW91 specimen was about 7.5 μm, while in SW91-A specimen the diameter was only 1.6 μm. Also the morphology of dimples is different. In SW91-A the dimples seemed to be flatter than in SW91, which implies lower spread of plastic deformation. The SW91-R specimen exhibits similar fracture morphology as SW91.

4. Discussion

Only β -phase peaks and very low α'' -phase peaks were observed in XRD spectra of as-cast, hot forged, solution treated and swaged specimens. Fine particles on grain boundaries and in the grain interiors were observed in optical micrographs and SEM images. The presence of α -phase particles and very fine ω -phase particles was reported [20] in alloys with similar chemical composition when the cooling rate

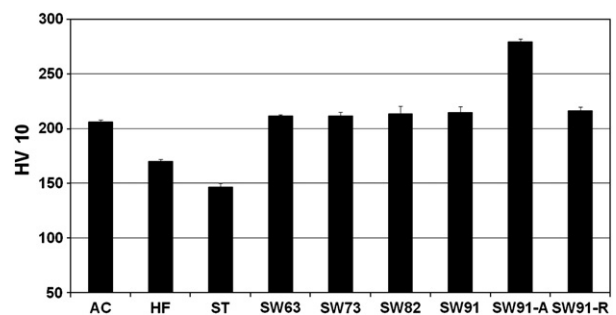


Fig. 9 – Hardness values of as-cast (AC), hot forged (HF), solution treated (ST), cold swaged (SW), aged (SW-A) and annealed (SW-R) specimens.

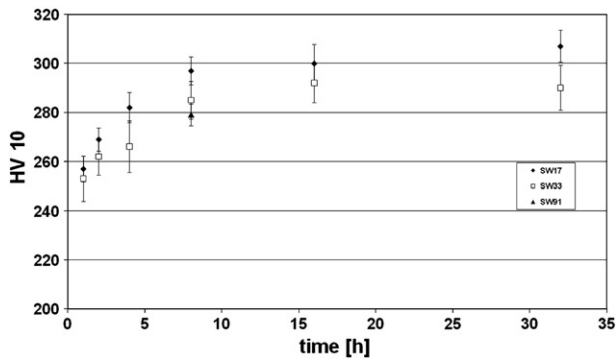


Fig. 10 – Dependence hardness on aging time (at 450 °C) for cold swaged samples with various section reductions (17% and 33%). The value of SW91-A (aged 450 °C/8 h) is also plotted.

after heat treatment was low (furnace cooled or air cooled). The α'' -phase particles in β -Ti matrix were observed when higher cooling rate was applied there. The presence of very fine ω -phase particles was proved only by TEM in samples cooled with lower cooling rate. Fernandini et al. [18] and Yang and Zhang [19] reported that only the β -phase was identified by XRD analysis in the Ti35Nb7Ta alloy after solution treatment (1000 °C/0.5 h/water quenched). Alloys of similar chemical composition with the addition of Zr were studied in [6,12,21]. The microstructure of the Ti-35Nb-5.1Ta-7.1Zr alloy after homogenization (1000 °C/2 h/water quenched) consists of β -matrix and ω -phase particles [6]. The presence of ω -phase particles is expected only on the base of continuous cooling transformation diagram. On the other hand, Quazi et al. [21] obtained XRD spectra with only β -phase peaks in solution treated (900 °C/1 h/water quenched) Ti-35Nb-5Ta-7Zr alloy. These authors have identified very fine ω -phase particles in the alloy with very low oxygen content (0.06 wt.%) by using TEM. No ω particles within β -matrix were observed when the oxygen content was higher (0.46, 0.68 wt.%). The same alloy studied by Banerjee et al. [12] exhibited the microstructure consisting of large β grains with numerous α -phase precipitates in the grain interiors and at grain boundaries after homogenization (1100 °C/7 days/furnace cooled). In the

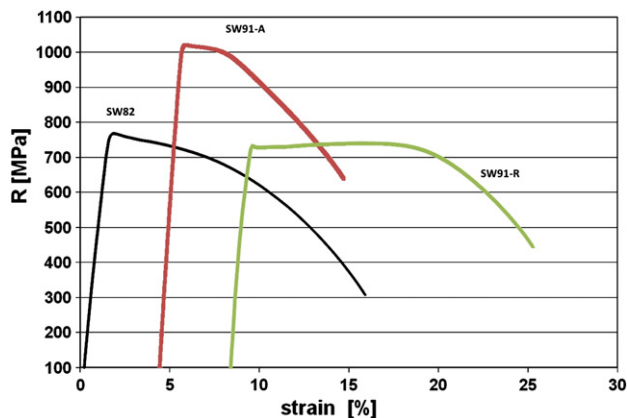


Fig. 11 – Stress–strain curves of swaged SW82 specimen, aged SW91-A specimen and annealed SW91-R specimen.

same study, the presence of α -phase precipitates with B2 chemical ordering was observed by TEM.

Considering the above-mentioned experimental results and reports of various authors, it can be concluded that the microstructure after hot forging of the Ti35Nb6Ta alloy studied consisted of the β -phase grains with coarse particles in grain interiors and on grain boundaries, which precipitated during slow cooling on air from about 900 °C. On the other hand, it was not possible to unambiguously determine the crystallographic structure of particles in specimens after solution treatment (high cooling rate from 850 °C). This could be done only on the base of results known from the literature. It could not be recognized in XRD spectra due to their low volume fraction. Other methods of crystallographic studies were not applied in this work for ST (or AC and HF) specimens.

Only very low peaks of α'' -phase were observed in XRD spectrum of swaged samples. In LM and SEM images only few needle-like particles can be seen in deformed grains. These particles were identified only in specimens swaged with lower section reductions. The TEM observation of SW87 and SW91 specimens revealed the β grains with numerous dislocations tangles and twins. This is consistent with the work of Wang [22], where microstructure and mechanical properties of cold-rolled Ti35Nb2Ta3Zr alloy were studied. Wang reported that stress induced martensitic α'' -phase and deformation twins appeared in specimens with section reduction of 20%. In more deformed specimens (over 20%), dislocation glide was the dominant deformation mechanism. It can be concluded that the deformation mechanism in β -titanium alloys is complex and the dominant deformation mechanisms are not determined only by the stability of β -phase, but also by deformation achieved, which is in agreement with Yang et al. [17].

As mentioned above, TEM images, both bright field (BF) and dark field (DF), of severely deformed SW87 and SW91 specimens did not reveal the presence of any fine particles. Also the SADP confirmed only presence of the β -phase.

The aging treatment after swaging (specimen SW91-A), which was carried out in order to increase the strength, leads to the formation of numerous needle-like α -phase precipitates. Also weak diffraction spots of ω -phase were found in SADP, however, particles of ω -phase were not observed in DF or BF images. After annealing (SW91-R), the microstructure consisted of fully recrystallized equiaxed β grains (size about 16 μ m) with very fine ω -precipitates that have orientation relationships mentioned above in accordance with [21,25]. It was reported in [18] that the ω -phase precipitates as first at aging temperatures up to 500 °C. The precipitates of α -phase were observed only after very long aging times. When higher aging temperatures (500–700 °C) were used, only the precipitates of α -phase were found. The following precipitation sequence was published in [26]: $\beta \rightarrow \beta + \beta' \rightarrow \beta + \omega \rightarrow \beta + \alpha$ (where β' is a bct-phase enriched in Ta and Zr with similar parameters and orientation as β -phase). The kinetics of the transformation was shown to accelerate with increasing temperature and also with the O and Zr content. Higher O or Zr content inhibits the precipitation of ω -phase and prefers the precipitation of α -phase [18,21]. As our Ti35Nb6Ta alloy does not contain Zr and also the oxygen content was very low, the precipitation of ω -phase occurred only in very low volume

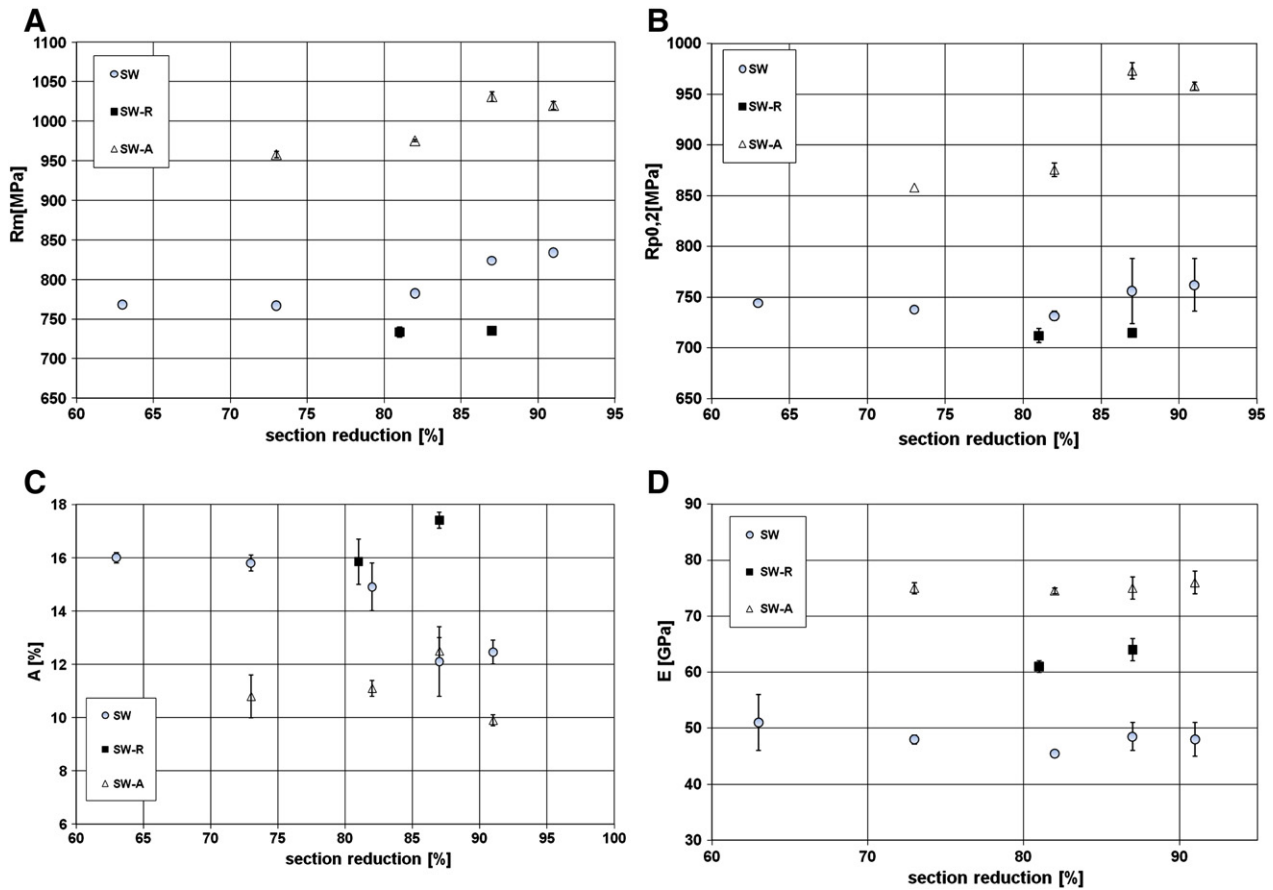


Fig. 12 – Tensile properties of swaged (SW), aged (SW-A) and annealed (SW-R) specimens—tensile strength (a), yield strength (b), ductility (c) and Young's modulus (e).

fraction. On the other hand, after annealing at 700 °C for 3 h and furnace cooling, high content of ω -phase was observed. So it can be concluded that the precipitation during aging and annealing (700 °C/3 h) was affected by highly deformed microstructure. High precipitation of α -phase (during aging) supports the idea that high dislocation density limits the mechanism of ω -phase formation derived from the alternate collapse of neighboring (111) planes of β -phase to intermediate position, as was

mentioned in [21,25]. The observed ω -phase grows probably as athermal phase during the slow furnace cooling after annealing (700 °C/3 h/furnace cooled). No dislocation tangles, that could hinder the ω -phase precipitation, were observed in the recrystallized grains. The recrystallized structure provides improved elongation.

Observed mechanical properties were strongly affected by the microstructural and submicrostructural changes during

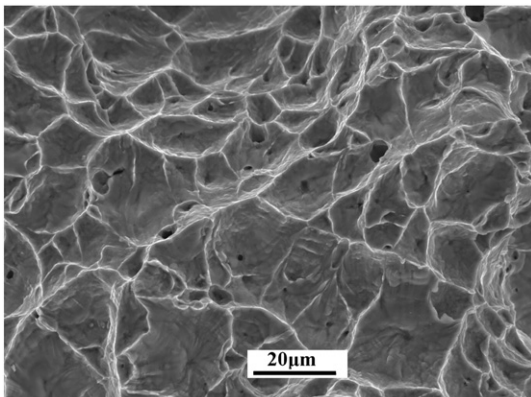


Fig. 13 – Detail of fracture surface of swaged-SW91 specimen, SEM.

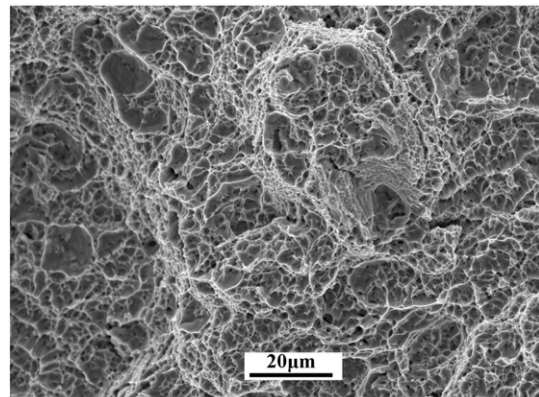


Fig. 14 – Detail of fracture surface of aged-SW91-A specimen, SEM.

thermo-mechanical treatment. The decrease in hardness of HF specimen in comparison with AC alloy and subsequent decrease after solution treatment was associated with microstructural changes that were not studied in details in this paper. The decrease can be explained by decomposition of B2 chemical ordering during hot forging as was reported by Banerjee and Nag [7,12] or residual stress relief. The most significant increase in hardness after swaging was observed after section reduction 63% (specimen SW63). Additional hardening in specimens with higher section reductions was not so pronounced. The microstructure consisted of elongated grains with high dislocation density. Mechanical properties of highly deformed specimens were strongly affected by subsequent heat treatment. The annealing (700 °C/3 h/furnace) led to fully recrystallized fine grained (16 μm) β matrix with very fine dispersion of ω-particles. This change has induced decrease in hardness and yield strength and simultaneous increased elongation in comparison with the swaged specimen. In general, titanium alloys containing ω-phase in the microstructure, exhibit minor elongation and greater tensile strength due to precipitation hardening [23]. This contradicts to our observations. In accordance with Sakaguchi et al. [10] this contradiction could be explained by stress induced martensitic transformation (SIM) mechanism taking place during tensile test. The SIM is deduced by the authors from the shape of stress-strain curves, where after yielding the curves show significant elongation and some hardening. Stress-strain curves of SW91-R specimen are similar to those obtained by Sakaguchi et al. [10]. Nevertheless, further detailed observations are necessary to confirm the SIM deformation mechanism. Also stress-strain curves of SW and SW-A specimens have similar shape as those reported in [10], where the authors expect dislocation slip as the deformation mechanism. The increase of tensile strength and yield strength and decreased elongation after aging can be ascribed to α-phase precipitation.

The observed values of Young's modulus can be explained on the base of phase composition. As reported by Guo et al. [15], the Young's modulus is mainly determined by the modulus and volume fractions of the constituent phases and is not sensitive to the grain size and morphology or microstructure. Majumdar et al. [24] showed that β-phase had the lowest Young's modulus of titanium phases, α"-phase had lower modulus than α-phase and the highest modulus has the ω-phase. This is in accordance with our observations; only the β-phase is present in swaged specimens and the Young's modulus is about 50 GPa, which is much lower than the value for stainless steel (210 GPa) or Ti-6Al-4V alloy (110 GPa). Low Young's modulus is very important for implant materials to avoid the so-called "stress shielding effect". During aging a relatively high content of needle-like particles of α-phase precipitate, this leads to the higher value of modulus of about 75 GPa. Finally in annealed specimens (SW91-R, SW87-R) the ω-phase was identified. Although this phase has the highest Young's modulus, the modulus of the specimen is between the two above mentioned values (about 62 GPa). This can be attributed to the lower volume fraction of ω-phase in the annealed specimens than is the volume fraction of α-phase in the aged ones.

Ductile fracture mechanism with dimple formation was identified in Ti35Nb6Ta alloy. The variance of dimple sizes is caused by their various initiations. The dimples are probably

initiated on needle-like precipitates in aged specimens. These dimples are numerous and have small size in contrast with specimens SW and SW-R that do not contain needle-like precipitates. Fine precipitates on grain boundaries and denuded zones along grain boundaries present in aged (SW-A) specimens can be areas of preferential dimple formation as it is suggested by SEM observations of the fracture surfaces.

5. Conclusions

On the base of the results on the microstructure and mechanical properties of Ti-35Nb-6Ta alloy and their dependence on thermo-mechanical treatment following conclusions can be drawn:

- a) High deformation by cold swaging (>90%) after hot forging and solution treatment introduces stable microstructure consisting of highly deformed β-grains with dislocation tangles and twins. Material produced by this thermo-mechanical treatment exhibits high tensile strengths (820 MPa), low Young's modulus (50 GPa) and relatively high ductility (10–12%) being high convenient for dental implants.
- b) The microstructure and mechanical properties can be modified by final heat treatment to meet the specific requirements.

Formation of needle-like α-phase precipitates in high number density and of only low ω-phase volume fraction during aging (450 °C/8 h) improves tensile strength (1020 MPa) and does not reduce ductility, but increases also Young's modulus to 75 GPa .

Fully recrystallized microstructure with the presence of very fine ω-phase precipitates developed during annealing (700 °C/3 h) with subsequent furnace cooling in the highly deformed specimens leads to a significant ductility improvement (17%). Tensile strength is only slightly reduced (780 MPa) and Young's modulus moderately increased (62 MPa).

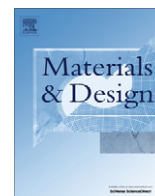
Acknowledgement

This work was supported by the Department of Commerce Czech Republic research program Trvala prosperita No. 2A-2TP1/073.

REFERENCES

- [1] Gheeta M, Singh AK, Asokamani R, Gogia AK. Ti based biomaterial, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review. *Prog Mater Sci* 2009;54:397–425.
- [2] Brånemark P-I, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallen O, et al. Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg* 1977;16:1–132 (Suppl).
- [3] Bartáková S, Prachár P, Kudrman J, Březina V, Podhorná B, Černochová P, et al. New titanium β-alloys for dental implantology and their laboratory based assays of biocompatibility. *Scr Med* 2009;82:76–82.
- [4] Raabe D, Sander B, Friak M, Ma D, Neugebauer J. Theory-guided bottom up design of beta-titanium alloys as biomaterials based

- on first principles calculations: theory and experiment. *Acta Mater* 2007;55:4475–87.
- [5] Afonso CRM, Alexio GT, Ramirez AJ, Caram R. Influence of cooling rate on microstructure of Ti-Nb alloy for orthopedic implants. *Mater Sci Eng C* 2007;27:908–13.
- [6] Elias LM, Schneider SG, Schneider S, Silva HM, Malvisi F. Microstructural and mechanical characterization of biomedical Ti-Nb-Zr(-Ta) alloys. *Mater Sci Eng A* 2006;432:108–12.
- [7] Nag S, Banerjee R, Fraser HL. Microstructural evolution and strengthening mechanisms in Ti-Nb-Zr-Ta, Ti-Mo-Zr-Fe and Ti-15Mo biocompatible alloys. *Mater Sci Eng C* 2005;25:357–62.
- [8] Niinomi M. Mechanical properties of biomedical Titanium alloys. *Mater Sci Eng C* 1998;A243:231–6.
- [9] Karayan AI, Park S, Lee K. Corrosion behavior of Ti-Ta-Nb alloys in simulated physiological media. *Mater Lett* 2008;62:1843–5.
- [10] Sakaguchi N, Niinomi M, Akahori T, Takeda J, Tada H. Effect of Ta content on mechanical properties of Ti-30Nb-XTa-5Zr. *Mater Sci Eng C* 2005;25:370–6.
- [11] Ho WF, Ju CP, Chern Lin JH. Structure and properties of cast binary Ti-Mo alloys. *Biomaterials* 1999;20:2115–22.
- [12] Banerjee R, Nag S, Stechschulte J, Fraser HL. Strengthening mechanisms in Ti-Nb-Zr-Ta and Ti-Mo-Zr-Fe orthopaedic alloys. *Biomaterials* 2004;25:3413–9.
- [13] Chang M, Luo C, Huang M, Ou K, Lin L, Cheng H. High temperature microstructural characteristics of a novel biomedical titanium alloy. *J Alloys Compd* 2010;499:171–5.
- [14] Abdel-Hady M, Fuwa H, Hinoshita K, Kimura H, Shinzato Y, Morinaga M. Phase stability change with Zr content in β -type Ti-Nb alloys. *Scr Mater* 2007;57:1000–3.
- [15] Guo Q, Zhan Y, Mo H, Zhang G. Aging response of the Ti-Nb system biomaterials with β -stabilizing elements. *Mater Des* 2010;31:4842–6.
- [16] Eisenbarth E, Velten D, Muller M, Thull R, Breme J. Biocompatibility of beta-stabilizing elements of titanium alloys. *Biomaterials* 2004;25:5705–13.
- [17] Yang Y, Wu SQ, Li GP, Li YL, Lu YF, Yang K, et al. Evolution of deformation mechanisms of Ti-22.4Nb-0.73Ta-2Zr-1.34O alloy during straining. *Acta Mater* 2010;58:2778–87.
- [18] Ferrandini PL, Cardoso FF, Souza SA, Afonso CR, Caram R. Aging response of the Ti-35Nb-7Zr-5Ta and Ti-35Nb-7Ta alloys. *J Alloys Compd* 2007;433:207–10.
- [19] Yang G, Zhang T. Phase transformation and mechanical properties of the $Ti_{50}Zr_{30}Nb_{10}Ta_{10}$ alloy with low modulus and biocompatible. *J Alloys Compd* 2005;392:291–4.
- [20] Souza SA, Macinardi RB, Ferrandini PL, Afonso CRM, Ramirez AJ, Caram R. Effect of the addition of Ta on microstructure and properties of Ti-Nb alloys. *J Alloys Compd* 2010;504:330–40.
- [21] Qazi JI, Marquardt B, Allard LF, Rack HJ. Phase transformations in Ti-35Nb-7Zr-5Ta-(0,06–0,68)O alloys. *Mater Sci Eng C* 2005; C25:389–97.
- [22] Wang L, Lu W, Qin J, Zhang F, Zhang D. Microstructure and mechanical properties of cold-rolled TiNbTaZr biomedical β titanium alloy. *Mater Sci Eng A* 2008;490:421–6.
- [23] Niinomi M. Fatigue performance and cyto-toxicity of low rigidity titanium alloy, Ti-29Nb-13Ta-4,6Zr. *Biomaterials* 2003;24:2673–83.
- [24] Majumdar P, Singh SB, Chakraborty M. Elastic modulus of biomedical titanium alloys by nano-indentation and ultrasonic techniques – a comparative study. *Mater Sci Eng A* 2008;489:419–25.
- [25] Prima F, Vermaut P, Texier G, Ansel D, Gloriant T. Evidence of α -nanophase heterogeneous nucleation from ω particles in a β -metastable Ti-based alloy by high-resolution electron microscopy. *Scr Mater* 2006;54:645–8.
- [26] Afonso CRM, Ferrandini PL, Ramirez AJ, Caram R. High resolution transmission electron microscopy study of the hardening mechanism through phase separation in a β -Ti-35Nb-7Zr-5Ta alloy for implant applications. *Acta Biomater* 2010;6:1625–9.



Technical Report

The influence of chemical composition and thermo-mechanical treatment on Ti–Nb–Ta–Zr alloys

Jaroslav Málek^{a,b,*}, František Hnilica^a, Jaroslav Veselý^a, Bohumil Smola^c, Sonia Bartáková^d, Jiří Vaněk^d

^a UJP PRAHA a.s., Nad Kamínkou 1345, 156 00 Praha 5 – Zbraslav, Czech Republic

^b Czech Technical University in Prague, Faculty of Mechanical Engineering, Karlovo náměstí 13, 121 35 Praha 2, Czech Republic

^c Charles University, Faculty of Mathematics and Physics, Ke Karlovu 5, CZ 121 16 Prague 2, Czech Republic

^d St. Anne's University Hospital Brno, Pekařská 53, 656 91 Brno, Czech Republic

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 June 2011

Accepted 18 October 2011

Available online 28 October 2011

ABSTRACT

Ti–Nb–Ta–Zr quaternary alloying system is very promising for biomedical alloys. It is due to good mechanical properties and corrosion resistance of titanium alloys. Moreover no potentially harmful elements are contained in this system.

Mechanical properties were influenced by changing the chemical composition and by various heat-treatment operations. The alloys were prepared by arc melting and then they were hot forged (900–1000 °C). After solution treatment 850 °C/0.5 h/water quenched, cold swaging was carried out with section reduction about 85%. As final heat treatment aging at 450 °C/8 h/furnace cooling was used.

Mechanical properties were measured from tensile tests results at cold swaged and aged specimens. The microstructure was observed by using light microscopy and transmission electron microscopy (TEM)-thin foils method. X-ray diffraction analysis reveals the phase composition. By using these techniques the changes in microstructure caused by precipitation during aging treatment were clarified. After aging, the presence of ω or α phases may occur. Influence of changing Zr and Ta contents on mechanical properties and also on precipitation of secondary phases during aging treatment was observed.

© 2011 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Titanium has hcp (α -phase) crystallographic structure at room temperature that undergoes an allotropic transformation to a bcc (β -phase) at about 883 °C. The temperature of this change can be increased by adding α -stabilizers (e.g. Al, O, N) or lowered by adding β -stabilizers (e.g. Mo, Nb, Ta, V). This temperature is called the β -transus temperature. Titanium and its alloys are nowadays very frequently used materials in various applications. This is due to their good properties (e.g. high strength, low density, good corrosion resistance). These properties predict them also as materials for bio-applications. Due to increasing average age the demand for biomaterials also increases.

The materials for bio-applications have to meet some specific requirements. Corrosion resistance, biocompatibility and sufficient tensile strength are essential. Currently used materials (Ti6Al4V, stainless steel, etc.) contain elements, which can be harmful to human body due to the possible release of toxic Al, V or Cr. Therefore only fully biocompatible elements should be used in these alloys. Ta, Nb, Zr, Hf and Pt are considered as safe elements for alloying in titanium [1–5]. Among alloying systems the ternary

Ti–Nb–Ta–Zr system is supposed to be suitable for bio-applications. These alloys contain only fully biocompatible elements and moreover Nb and Ta are β -stabilizers [6–8]. The β -phase has the lowest Young's modulus among all titanium phases. This is very important for the so called biomechanical compatibility in order to avoid the “stress shielding effect”. This is caused by insufficient loading of the bone, which can cause bone resorption and loosening of the implant [2,9,10]. The addition of Zr improves the strength of the alloy because of the solution strengthening effect [5,10,11]. This is very important for these alloys, because they generally have relatively low ultimate tensile strength in solution treated condition. Zr is also considered as fully biocompatible element and it influences precipitation processes in the alloy and mechanical properties. These effects are studied in this paper during thermo-mechanical treatment, which was simulating production of wires with desired combination of mechanical properties.

2. Methods

The investigated alloys were prepared by arc melting under helium atmosphere with non-consumable tungsten electrode. Ingots were remelted at least six times in order to ensure the chemical homogeneity. Alloys with various chemical composition were prepared: Ti–35Nb–(10– x) Ta– x Zr, where x was 0; 2.5; 5; 7.5 and 10 wt.% (all chemical compositions in this work are in wt.%). Cast

* Corresponding author at: UJP PRAHA a.s., Nad Kamínkou 1345, 156 00 Praha 5 – Zbraslav, Czech Republic. Tel.: +420 227180380; fax: +420 227180390.

E-mail address: malek@ujp.cz (J. Málek).

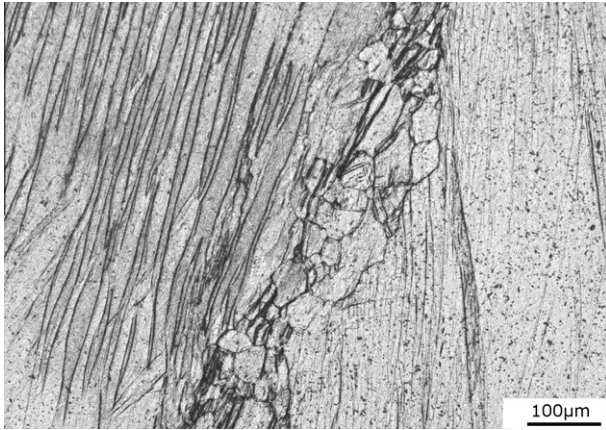


Fig. 1a. Microstructure of hot forged Ti35Nb10Zr alloy (LM – longitudinal direction).

ingots were machined and then hot forged (900–1000 °C) into a cylindrical shape with a diameter about 14 mm (deformation about 40%). These specimens were then solution treated (850 °C/0.5 h/water quenched). After solution treatment the rods were cold swaged in several steps. Total section reduction was about 85%. Aging (450 °C/8 h/furnace cooled) was used as a final heat treatment.

The microstructure of specimens was studied by using light microscopy (LM), scanning electron microscopy (SEM) with electron back scattered diffraction (EBSD) and transmission electron microscopy (TEM). For phase identification selected area diffraction (SAD) has been used. The samples for LM observations (on Nikon EPIPHOT 3000 microscope) were prepared by standard metallographic processes (grinding, polishing and etching). Crystallographic observations were carried out on JEOL JSM 7600F microscope equipped with Nordly's EBSD detector. The results were processed by HKL Channel 5 software equipment. TEM observations of microstructure and phase composition were performed

using JEOL JEM 2000EX transmission electron microscope. Thin foils for TEM observations were prepared by grinding to a thickness of about 100 μm and then electropolished in STRUERS TENU-POL 2 machine by using electrolyte of 10% HClO₄, 20% Glycerol and 70% methanol at –20 °C. Tensile tests of prepared specimens were carried out on Instron 1185 machine according to ISO 6892-1:2009 standard. Standard round tensile specimens (diameter 4 mm) with round shoulders were used for the test.

3. Results

3.1. Hot forging

The microstructure of as-cast alloys consists of very coarse dendrites (larger than 1 mm). It undergoes significant changes during hot forging. Some images of hot forged specimens microstructure obtained by LM and by EBSD are shown below (Figs. 1–4). The microstructure of hot forged Ti35Nb10Zr alloy consists of very

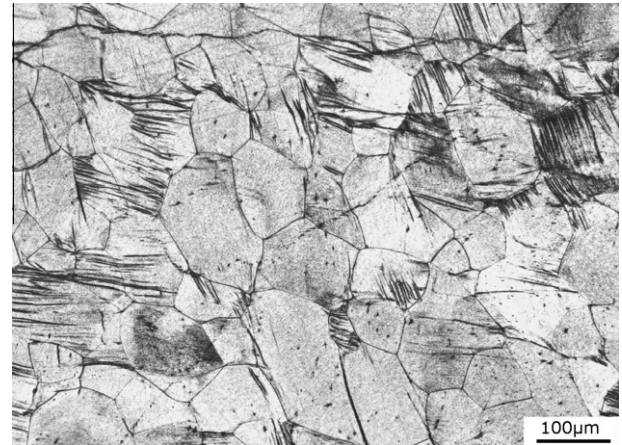


Fig. 2. Microstructure of hot forged Ti35Nb2.5Ta7.5Zr (LM – longitudinal direction).

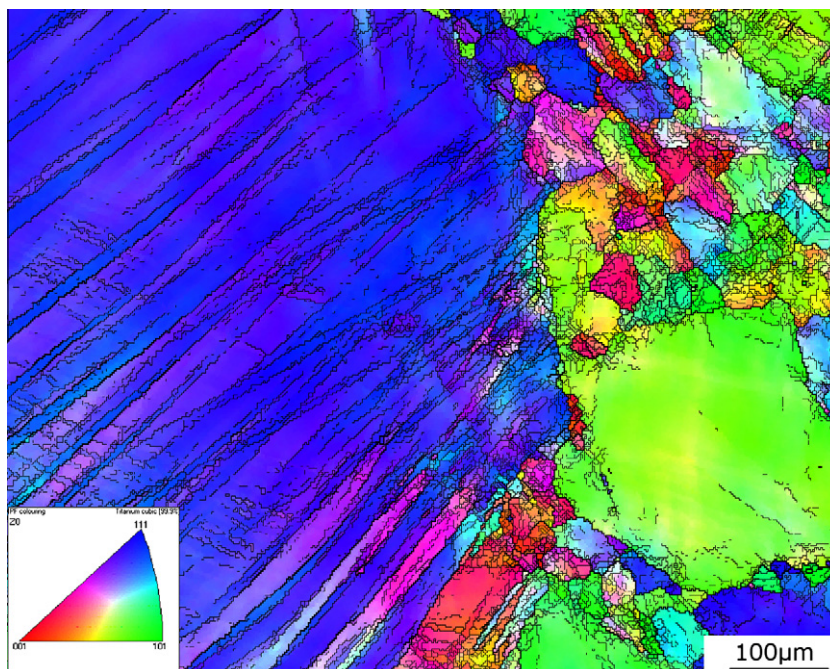


Fig. 1b. Microstructure of hot forged Ti35Nb10Zr alloy (EBSD – longitudinal direction).

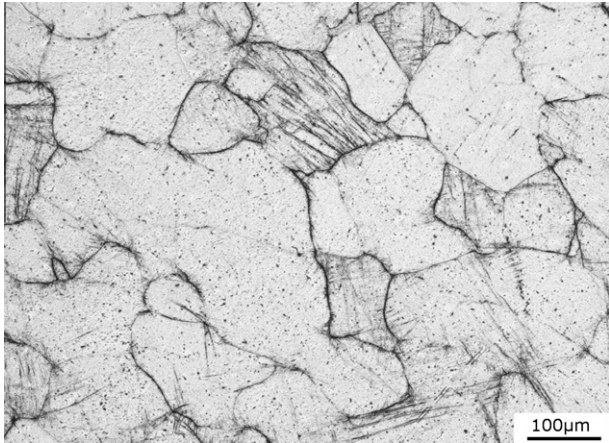


Fig. 3a. Microstructure of hot forged Ti35Nb5Ta5Zr alloy (LM – longitudinal direction).

large grains. Within these large grains deformation bands or twins can be seen. Fine grains having substructure of subgrains are observed on the boundaries of these grains (see Fig. 1b). The microstructure of the Ti35Nb2.5Ta7.5Zr specimen is different. It consists of relatively fine grains. In few of them deformation bands or twins are present (Fig. 2). The Ti35Nb5Ta5Zr specimen exhibits in general recrystallized grains with deformation bands and small angle boundaries (see Figs. 3a and 3b). The microstructure of the Ti35Nb7.5Ta2.5Zr is similar to that of Ti35Nb5Ta5Zr specimen. Large areas that have similar crystallographic orientation in the microstructure of the Ti35Nb10Ta specimen can be observed (Fig. 4b). Some low angle boundaries are inside these areas. No deformation bands typical for Ti35Nb10Zr were observed. Furthermore also fine grains can be found on grain boundaries of large grains (Fig. 4a). These grains seem to be deformed, but they also lack deformation bands. Only low angle boundaries were detected in their interior.

3.2. Solution treatment

The microstructure of the solution treated specimens consists of β -phase and is presented in Figs. 5–7. The microstructure of the Ti35Nb10Zr alloy after solution treatment consists of relatively fine equiaxed grains. Larger grains are present only locally (see Figs. 5a and 5b). No subgrains were observed in Ti35Nb10Zr alloy. Solution treatment has no significant effect on the microstructure of the Ti35Nb5Ta5Zr alloy (see Figs. 6a and 6b). Large grains slightly elongated in one direction can be found there, but a few small angle boundaries within the grains are observed (this microstructure is similar also for Ti35Nb7.5Ta2.5Zr specimen). Microstructure of the solution treated Ti35Nb10Ta alloy consists of equiaxed grains. These grains are coarser than those in solution treated Ti35Nb10Zr alloy. They are deformed and small angle boundaries can be seen there (see Fig. 7b).

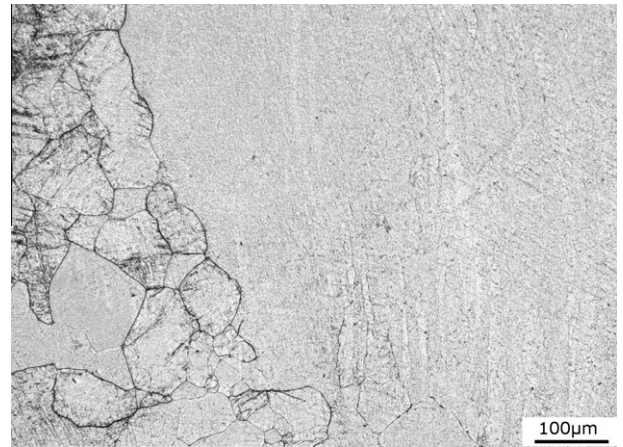


Fig. 4a. Microstructure of hot forged Ti35Nb10Ta alloy (LM – longitudinal direction).

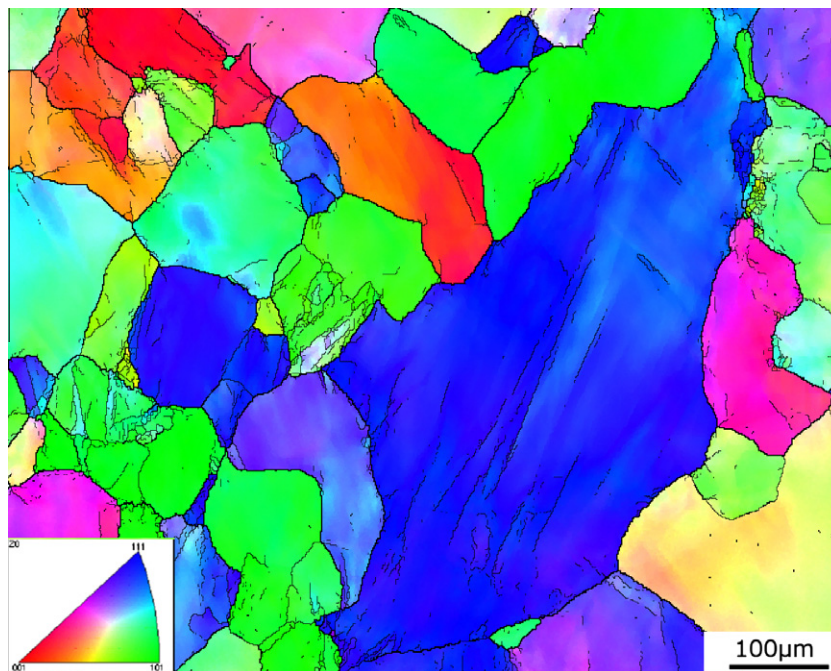


Fig. 3b. Microstructure of hot forged Ti35Nb5Ta5Zr alloy (EBSD – longitudinal direction).

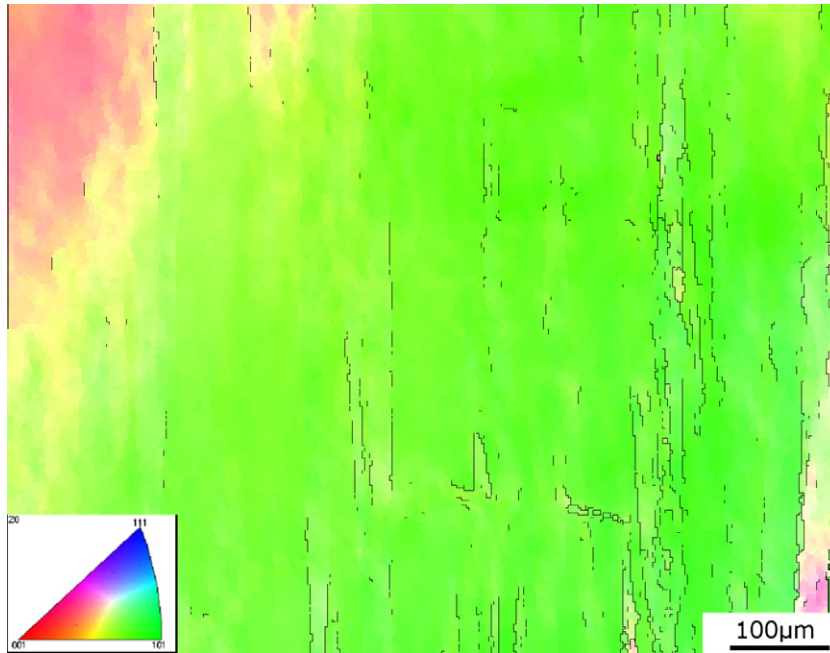


Fig. 4b. Microstructure of hot forged Ti35Nb10Ta alloy (EBSD – longitudinal direction).

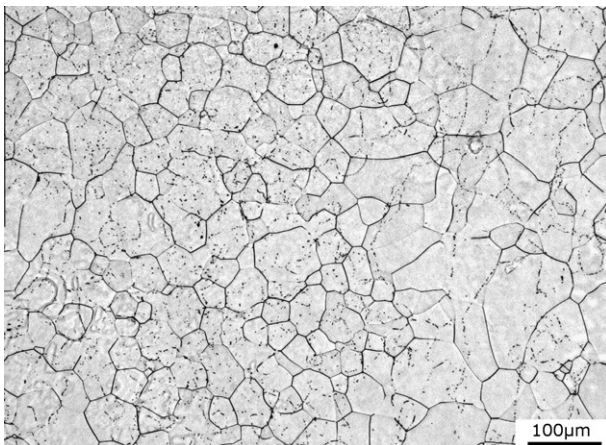


Fig. 5a. Microstructure of solution treated Ti35Nb10Zr alloy (LM – longitudinal direction).

3.3. Cold swaging

The specimens are highly deformed during cold swaging. Because of that the EBSD analysis was difficult and obtained results are not reliable (they are not presented here). The grains are elongated in one direction (Figs. 8 and 9). TEM observations revealed β -phase in all studied specimens. Moreover α' -phase was clearly identified in SAD of cold swaged alloys with high Zr content – Ti35Nb10Zr and Ti35Nb2.5Ta7.5Zr (see Fig. 10 – Ti35Nb2.5Ta7.5Zr). Only β -phase grains and dislocation tangles were recognized in the Ti35Nb5Ta5Zr (see Fig. 11) and also in Ti35Nb7.5Ta2.5Zr and in Ti35Nb10Ta.

3.4. Aging

High volume fraction of needle like particles precipitated in the Ti35Nb10Zr alloy during aging treatment (Fig. 12). They were identified as α -phase precipitates. Also ω -phase and α' -phase spots

were identified locally in SAD, however these spots were weak. So it can be concluded, that the volume fraction of α' and ω phases is relatively low. No precipitates were detected in the bright field image (BF) of aged Ti35Nb5Ta5Zr (Fig. 13), but reflections of ω -precipitates were identified in SAD. So the volume fraction of these precipitates is relatively low. The α -phase in Ti35Nb10Ta precipitated in the form of needle-like particles – bright needles in the dark field (DF) micrograph and was identified in SAD (Fig. 14). The volume fraction of α -phase needles in Ti35Nb10Ta was lower than that in Ti35Nb10Zr alloy. In some places also weak spots of ω -phase were observed.

3.5. Mechanical properties

Results of tensile tests are presented in Figs. 15a–15d. Tensile strength (R_m) of the cold swaged Ti35Nb10Zr specimen is the highest among all cold swaged alloys. It decreases with decreasing Zr content (and increasing Ta content). The tensile strength of the Ti35Nb2.5Ta7.5Zr, Ti35Nb5Ta5Zr and Ti35Nb7.5Ta2.5Zr specimens is similar and within experimental scatter does not depend on Zr or Ta content. The tensile strength of the Ti35Nb10Ta is higher than for above mentioned specimens but is not as high as that of the Ti35Nb10Zr alloy (see Fig. 15a). The values of the 0.2 proof strength ($R_{p0.2}$) follow the same trend (Fig. 15b). The elongation (A_5) values of cold swaged specimens are similar within experimental scatter (see Fig. 15c). The value of Young's modulus (E) reaches the maximum for Ti35Nb5Ta5Zr alloy and falls down towards the values for alloys with 10% Zr or 10% Ta. The lowest value (50 GPa) has the former one (Fig. 15d). With respect to experimental scatter all values of Young's modulus, except that of Ti35Nb10Zr are similar.

Increase in tensile strength values is evident for all observed alloys after aging treatment. It is most distinct in the Ti35Nb10Zr alloy. The increase for all other alloys is similar. The 0.2 proof strength values exhibit similar trend. Elongation decreases significantly for alloy with 10% Zr, but for other alloys has similar values as before aging treatment. The Young's modulus has increased in all studied alloys during aging treatment. This is most significant in Ti35Nb10Zr alloy which has the highest modulus after aging. Than the modulus values have decreasing trend with decreasing

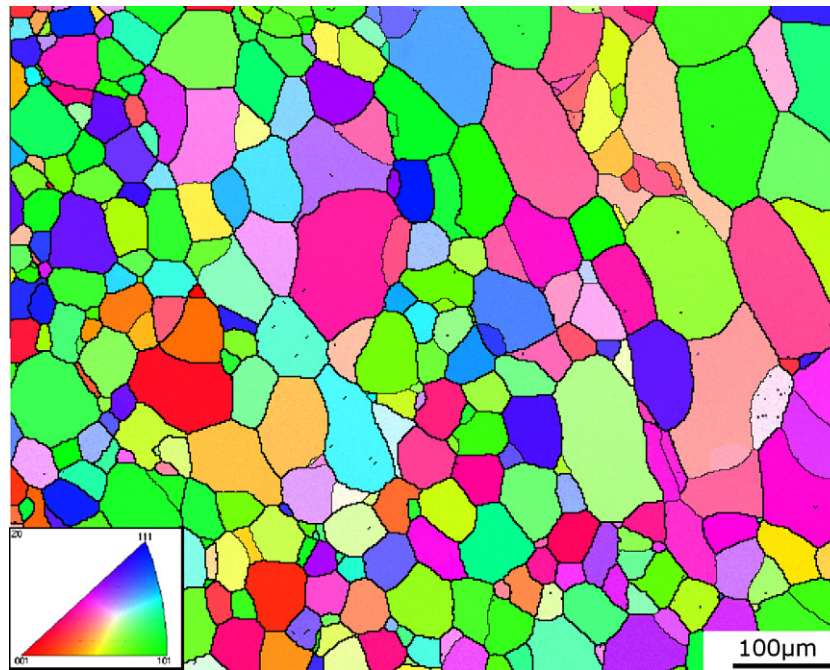


Fig. 5b. Microstructure of solution treated Ti35Nb10Zr alloy (EBSD – longitudinal direction).

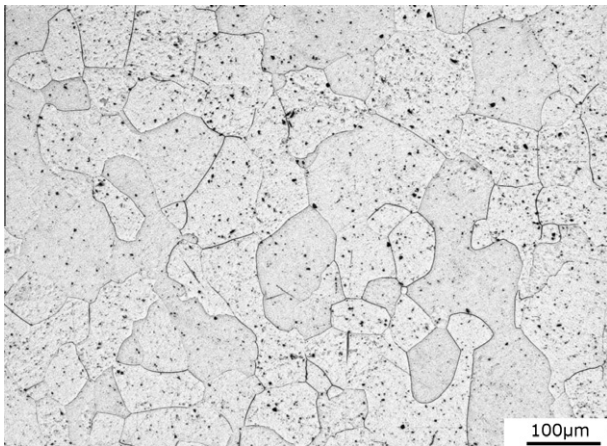


Fig. 6a. Microstructure of solution treated Ti35Nb5Ta5Zr alloy (LM – longitudinal direction).

Zr content in the alloy, but the differences are small (within experimental scatter).

4. Discussion

The β -transus temperature for studied alloys is about 600 °C (according to [12]). So the hot forging process (deformation is 40% for all the specimens) is carried out in β -phase field. During hot forging dynamical recovery and dynamical recrystallization take place. Deformed large grains with deformation bands are present in the Ti35Nb10Zr alloy (Fig. 1b). Recrystallized grains with subgrains are observed at boundaries of large grains. This observation is consistent with Weiss and Semiatin [12] and with Furuhashi et al. [13], who reported, that dynamical recrystallization may occur preferentially in areas with higher deformation (e.g. grain boundaries). High angle boundaries are developed due to coalescence of small angle boundaries during recrystallization pro-

cess [12]. This recrystallization process can be, most probably considered as the one that takes place in the Ti35Nb10Zr and Ti35Nb10Ta alloys during hot forging. Ti35Nb10Ta exhibits large grains containing small angle boundaries and locally fine recrystallized grains on boundaries of the large ones (Figs. 4a and 4b). On the other hand Ti35Nb5Ta5Zr is recrystallized after hot forging. Some grains are slightly deformed and rarely some subgrains occurred (Fig. 3b). More detailed explanation of the influence of chemical composition on recrystallization needs further study.

After solution treatment, the microstructure of the Ti35Nb10Zr consists of relatively fine equiaxed grains and locally also larger grains can be found. Fine grains are formed in areas, where large deformed grains were present before solution treatment. In these highly deformed areas enough deformation energy is stored for post-dynamic recrystallization process, which is in accordance with Weiss and Semiatin [12]. The Ti35Nb5Ta5Zr exhibits also recrystallized microstructure after solution treatment with grains elongated in one direction. The Ti35Nb5Ta5Zr alloy was recrystallized after hot forging and the grains were slightly deformed. No significant changes in microstructure were observed (only few subgrains disappeared), because of the lack of deformation energy for recrystallization during solution treatment and therefore only dynamic recovery takes place in this specimen. Ti35Nb10Ta is not fully recrystallized after solution treatment. Subgrains within relatively large equiaxed grains can be seen in the microstructure (EBSD image).

After cold swaging, no other phases than β -phase and α' -phase were observed by TEM. The α' -phase was observed in alloys with higher Zr content (10% and 7.5% – Fig. 10). This can be explained by stress induced martensitic transformation (SIM) during the cold swaging. The occurrence of SIM is due to lower β -phase stability in these alloys after solution treatment (Ti35Nb10Zr and Ti35Nb2.5Ta7.5Zr) [3,14,15]. Other alloys have probably higher β -phase stability and therefore no (or less) SIM takes place there. The stability of β -phase can be evaluated by considering the Mo_{eqv} [13]. The higher the Mo_{eqv} , the higher is the β -phase stability. For Ti35Nb10Zr the Mo_{eqv} is 9.8 and it increases with increasing Ta content to 11.8 for Ti35Nb10Ta alloy. It should be pointed out, that

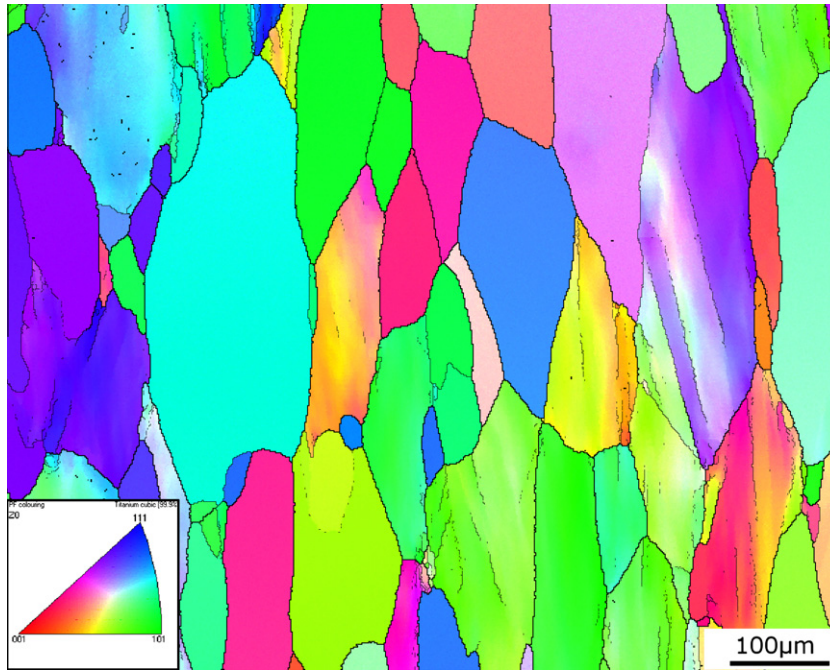


Fig. 6b. Microstructure of solution treated Ti35Nb5Ta5Zr alloy (EBSD – longitudinal direction).

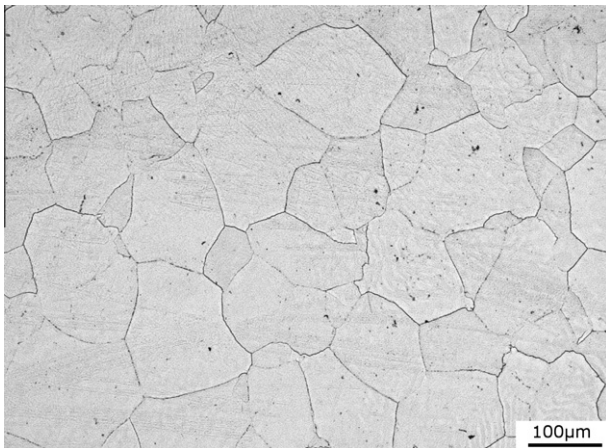


Fig. 7a. Microstructure of solution treated Ti35Nb10Ta alloy (LM – longitudinal direction).

the influence of Zr is not considered in $M_{o_{eqv}}$. Zr enhances the stabilizing effect of Nb and Ta, because it hinders the transformation $\alpha \leftrightarrow \beta$. It was reported by Ferrandini et al. [10] that the β -stabilizing effect of Zr in these alloys decreases with its increasing content.

The influence of Zr on β -phase stability is involved in DVX- α cluster method, where electronic parameters \bar{B}_o (bond order), \bar{M}_d (d -orbital energy level) and e/a (electron/atom ratio) are used [16–18]. These parameters are calculated for each alloy as $\bar{B}_o = \sum(X_i \cdot B_{oi})$ and $\bar{M}_d = \sum(X_i \cdot M_{Di})$ where X_i is the molar fraction of the i element ($i = \text{Ti, Nb, Ta, Zr}$) and B_{oi} and M_{Di} are values of B_o and M_D for this element [19]. \bar{B}_o and \bar{M}_d values give the $\bar{B}_o - \bar{M}_d$ map where α , α' , $\beta + \alpha$, $\beta + \omega$ and β -phase regions are defined for alloys in as-quenched state. \bar{B}_o and \bar{M}_d values for studied alloys were calculated and can be found in Table 1.

Ti35Nb10Ta and Ti35Nb7.5Ta2.5Zr are in single β -phase region according to their \bar{B}_o , \bar{M}_d values. On the other hand Ti35Nb2.5-Ta7.5Zr and Ti35Nb10Zr are in area where $\beta + \alpha$ or $\beta + \omega$ phases

coexist. So they have lower β -phase stability in as-quenched condition than Ti35Nb10Ta and Ti35Nb7.5Ta2.5Zr. Additional information about as-quenched microstructure can be obtained from e/a values. With increasing e/a ratio the β -phase stability is higher. According to [16] the as-quenched alloy has microstructure consisting of single β -phase for e/a values higher than 4.20. All studied alloys have higher e/a values, but Ti35Nb10Zr has the lowest value of e/a which means that in this alloy the β -phase stability is low and SIM can occur easily during deformation. Hwang et al. [17] have shown the relationship between plastic deformation behavior and \bar{B}_o and e/a values for Ti–Nb–Ta–Zr type alloys. SIM takes place in alloys with lower \bar{B}_o and e/a values. On the other hand dislocation slip occurs for higher \bar{B}_o and e/a values. Alloys having $\bar{B}_o \sim 2.87$ and $e/a \sim 4.24$ exhibit peculiar plastic deformation (plastic deformation without any dislocation activity) [17]. Our results confirmed SIM occurrence for lower \bar{B}_o and e/a values and dislocation slip for higher \bar{B}_o and e/a values, but no peculiar plastic deformation were observed in Ti35Nb10Zr alloy ($\bar{B}_o = 2.87$ and $e/a = 4.24$).

After aging treatment the α -phase was observed in Ti35Nb10Zr (Fig. 12) and in Ti35Nb10Ta (Fig. 14) alloys. Detailed study of aged specimens by TEM revealed the presence of certain fraction of α -phase and very low fraction of ω -phase in Ti35Nb10Ta. In Ti35Nb5Ta5Zr the spots on SAD resulting from ω -phase presence were clearly identified (Fig. 13). In Ti35Nb10Zr the α -phase was clearly identified and very weak spots of ω -phase were also found in SAD. Hao et al. [20] reported that during aging treatment ω -phase occurs at lower aging temperatures (300–400 °C). Longer aging times at medium temperatures (400–450 °C) favor α -phase precipitation instead of ω -phase, that precipitates at these temperatures after shorter aging periods. Similar results were obtained by various authors (e.g. [2,7,21–23]). At higher aging temperatures (450–550 °C) α -phase precipitated. The α -phase nucleates on previously precipitated ω -phase particles [24,25]. The more stable is the β -phase, the higher temperature or the longer aging time is needed for α -phase precipitation. The changes during aging were described in the following transformation sequence published in [23] by Afonso et al.

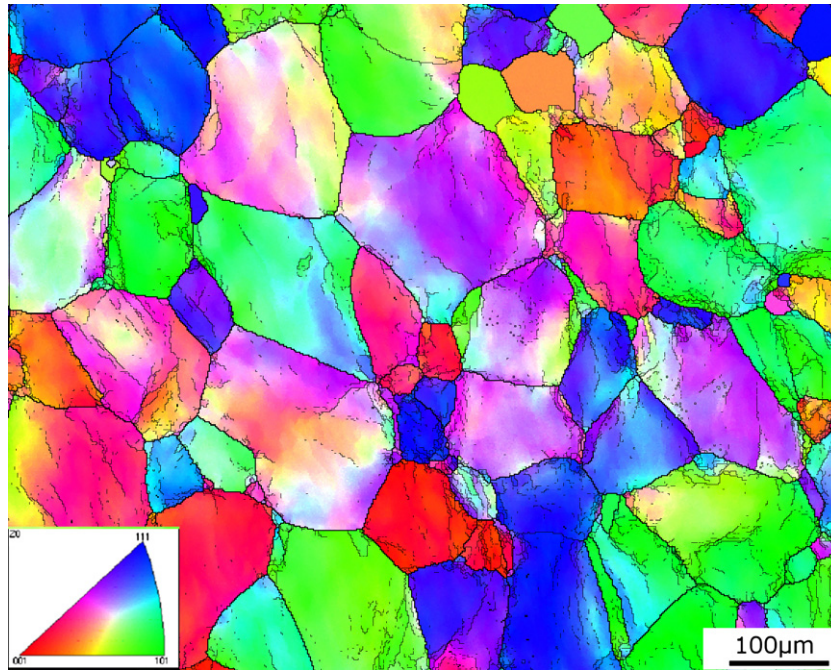


Fig. 7b. Microstructure of solution treated Ti35Nb10Ta alloy (EBSD – longitudinal direction).

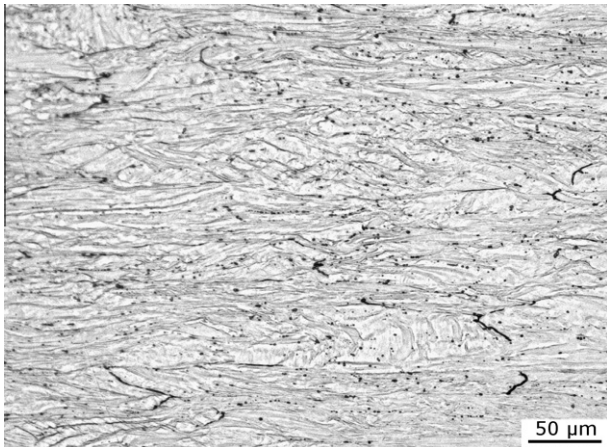


Fig. 8. Microstructure of cold swaged Ti35Nb10Ta alloy (LM – longitudinal direction).

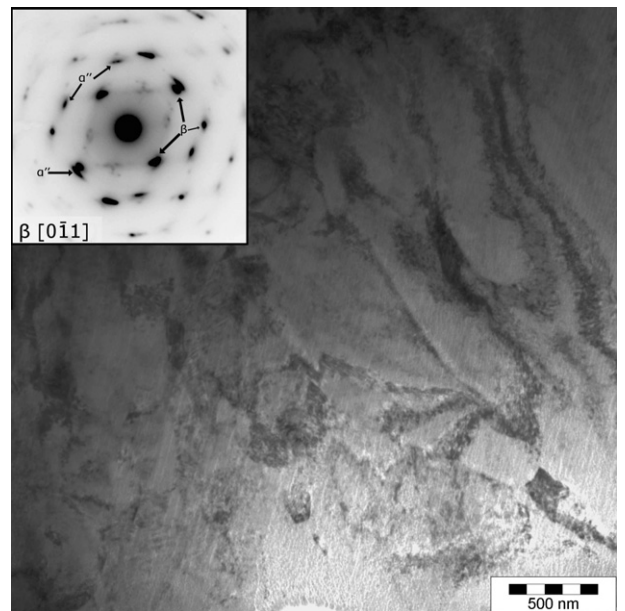


Fig. 10. Microstructure of cold swaged Ti35Nb2.5Ta7.5Zr alloy with SAD (TEM-BF).

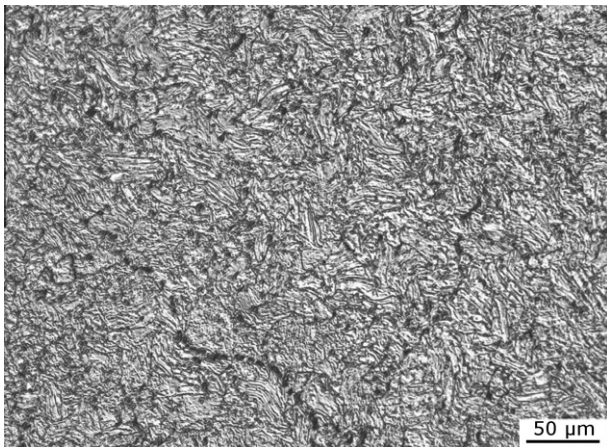
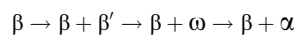


Fig. 9. Microstructure of cold swaged Ti35Nb10Zr alloy (LM – transverse direction).



where β' is tetragonal structure (bct) similar to β -phase.

The absence of Ta implies fast transformation (lower β -phase stability) in Ti35Nb10Zr alloy where only α -phase was proved. In Ti35Nb10Ta the stability of β -phase is higher than in Ti35Nb10Zr. The presence of ω -phase in this alloy was also observed but not as clearly as in Ti35Nb5Ta5Zr. The precipitation observed during aging is in agreement with the transformation sequence, but Ti35Nb10Zr alloy exhibits higher volume fraction of α -phase after aging than Ti35Nb10Ta. The transformation to α -phase was not completed in Ti35Nb5Ta5Zr and only ω -phase precipitated. So

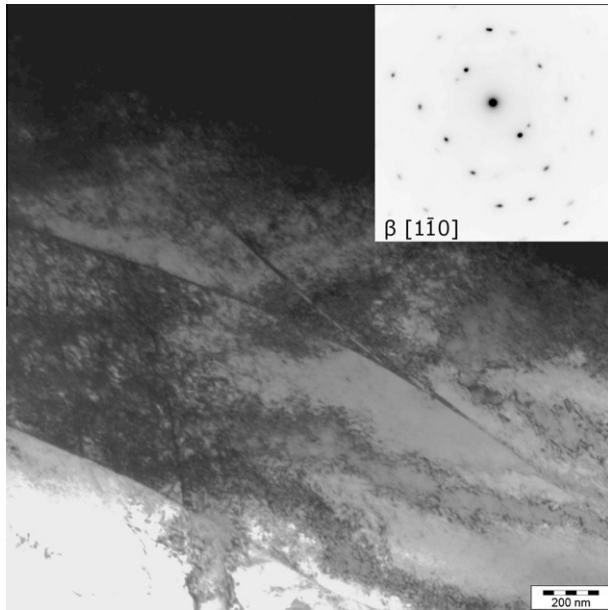


Fig. 11. Microstructure of cold swaged Ti35Nb5Ta5Zr alloy with SAD (TEM-BF).

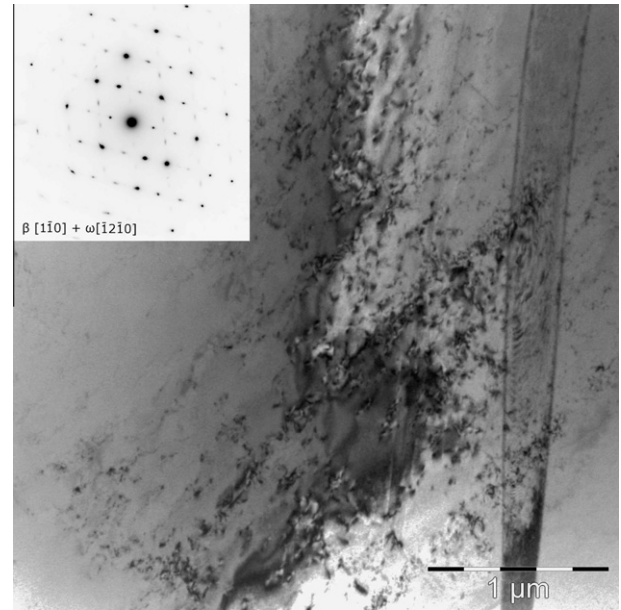


Fig. 13. Microstructure of aged Ti35Nb5Ta5Zr alloy with SAD (TEM-BF).

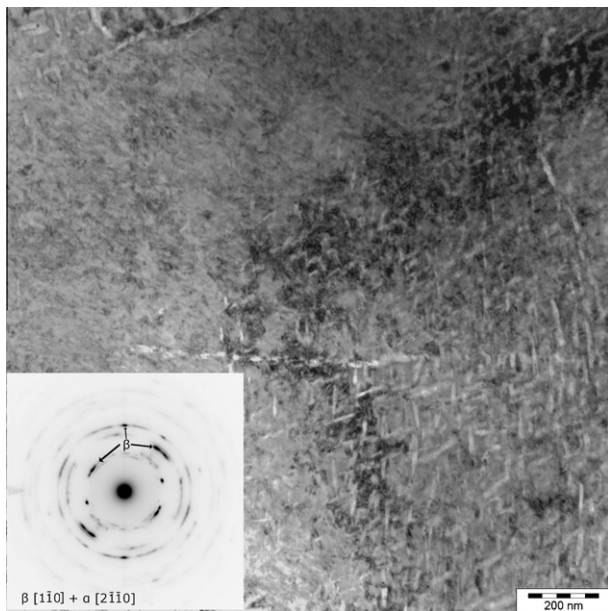


Fig. 12. Microstructure of aged Ti35Nb10Zr alloy with SAD – β matrix and α-phase precipitates (TEM-BF).

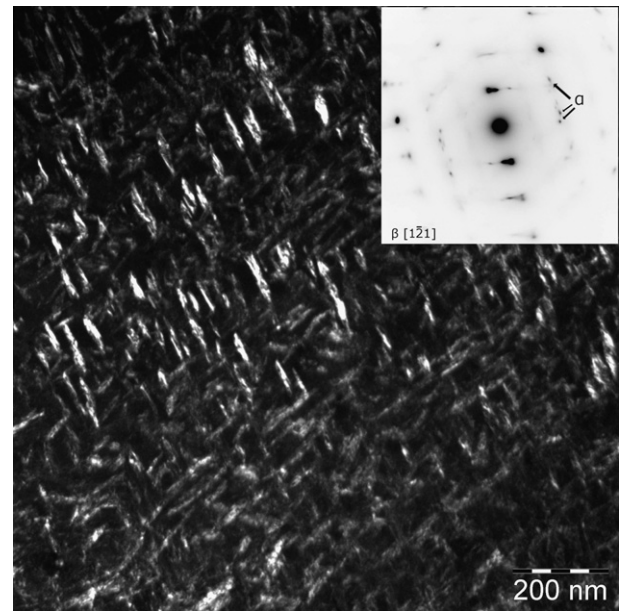


Fig. 14. Microstructure of aged Ti35Nb10Ta alloy with SAD – β matrix and α-phase precipitates (TEM-DF).

Ti35Nb5Ta5Zr is supposed to have the highest β-phase stability before aging among studied alloys according to the transformation sequence. On the other hand this is not consistent with the above discussed theories ($M_{o_{eqv}}$ and \bar{B}_o, \bar{M}_d). It should be mentioned that also deformation microstructure can affect precipitation processes.

Phase composition and stability of β-phase influence mechanical properties of the alloys. In cold swaged condition the Ti35Nb10Zr alloy exhibits the highest value of tensile strength among all studied cold swaged alloys. This can be ascribed to strong solid solution strengthening effect of Zr [5,10,26] and partially to strengthening effect of dispersed α' phase, but this effect is weak [27,28]. The tensile strength values of alloys with 2.5%, 5% and 7.5% Zr are similar (Fig. 15a). Slightly higher value of tensile

strength can be observed in Ti35Nb10Ta. This can be ascribed to strengthening effect of Ta [29]. This trend was proved in the 0.2 proof strength values.

After aging treatment the increase in tensile and yield strength is most significant in Ti35Nb10Zr alloy. It is connected with high volume fraction of α-phase precipitated during aging treatment. Also the SIM deformation mechanism is less probable after aging because of the stabilization of β-phase during aging treatment. The β-phase is stabilized during aging through transformation to ω or/and α-phases (these precipitates contain less β-stabilizers than β-phase). Therefore the solid solution strengthening effect of Zr can become more significant. Also in alloys with lower Zr content α and ω-phases caused increase in strength. Their strengthening effect depends on their dimensions, morphology, coherency,

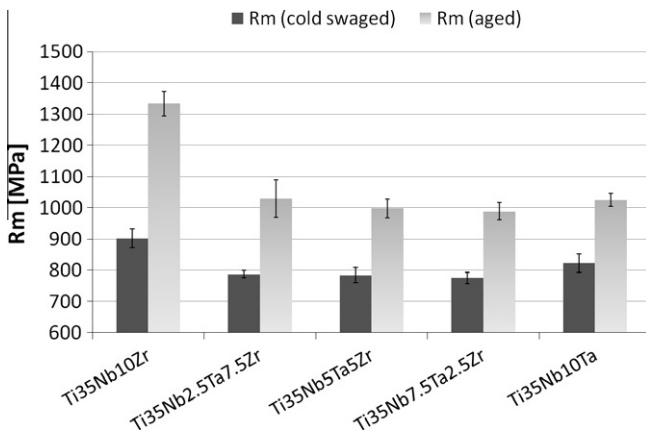


Fig. 15a. Tensile strength (R_m) of alloys in cold swaged and in aged condition.

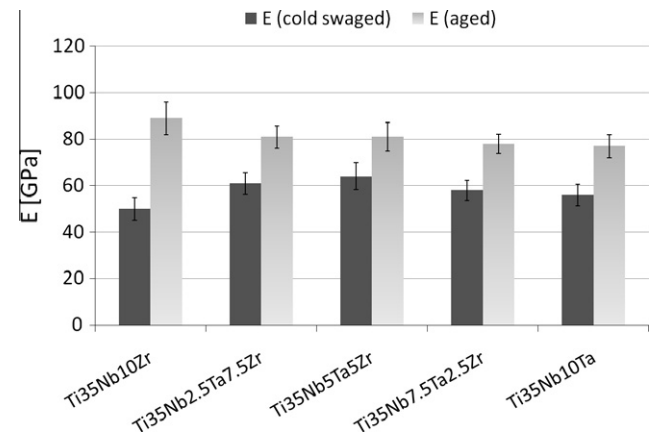


Fig. 15d. Young's modulus (E) of alloys in cold swaged and in aged condition.

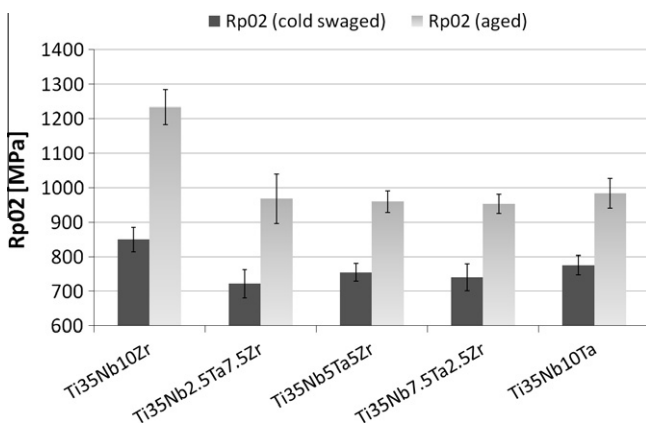


Fig. 15b. 0.2 Proof stress (R_{p02}) of alloys in cold swaged and in aged condition.

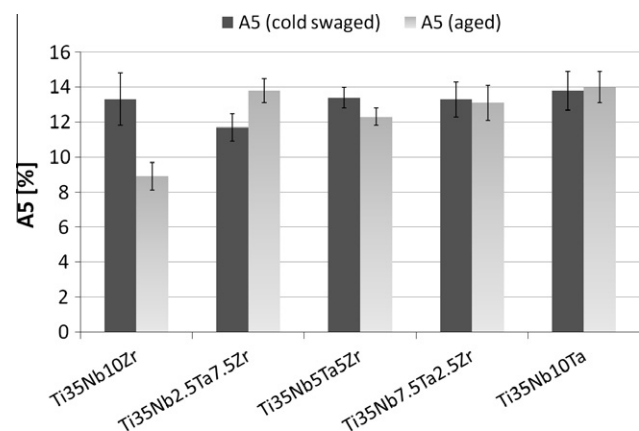


Fig. 15c. Elongation (A_5) of alloys in cold swaged and in aged condition.

and volume fraction. The 0.2 proof strength follows the same trend as that of the tensile strength. The elongation values are more or less consistent with these results. Ti35Nb10Zr has the lowest value of elongation in aged condition and other samples have similar values varying within 2%.

The Young's modulus after cold swaging reaches the maximum for Ti35Nb5Ta5Zr alloy and then decreases with increasing Zr content and exhibits minimum for Ti35Nb10Zr (50 GPa). This is probably caused due to higher Zr presence, which causes an increase in lattice parameters and therefore the distance between atoms are

Table 1

Calculated \bar{B}_0 , \bar{M}_d and e/a values for studied alloys.

	Ti35Nb10Zr	Ti35Nb2.5Ta7.5Zr	Ti35Nb5Ta5Zr	Ti35Nb7.5Ta2.5Zr	Ti35Nb10Ta
\bar{B}_0	2.870	2.869	2.868	2.866	2.865
\bar{M}_d	2.465	2.458	2.450	2.443	2.435
e/a	4.24	4.25	4.26	4.27	4.28

higher and that results in weaker bonding and lower Young's modulus [30]. The Ta addition can cause an increase in modulus due to higher modulus of pure Ta (in comparison with Ti) as was reported by Elias et al. [29]. The results in this case are not clear due to small differences between the values of modulus and relatively high experimental scatter. Hwang et al. [17] have shown that there is correlation between Young's modulus and \bar{B}_0 values for as-quenched Ti–Nb–Ta–Zr type alloys. On the other hand this correlation was not found for Ti–Nb–Ta–Zr alloys after deformation which is consistent with our results.

The aging treatment leads to an increase in modulus of all studied alloys. Young's modulus of aged alloys tends to decrease from the highest value of 90 GPa (Ti35Nb10Zr) to about 77 GPa (Ti35Nb10Ta) after aging treatment. This is caused by different phase composition and volume fraction of phases as was reported by Majumdar et al. [31]. Ti35Nb10Zr exhibits the highest Young's modulus among all aged alloys resulting from the highest volume fraction of α -phase with high Young's modulus in microstructure. High volume fraction of this phase also causes high increase in tensile strength and 0.2 proof strength values. Also the modulus increase during aging treatment was the highest in this alloy. Ti35Nb5Ta5Zr has low fraction of ω -phase. This phase has the highest modulus among all phases in titanium alloys [31], but the fraction of ω -phase is much lower in this alloy than that of α -phase in Ti35Nb10Zr. This causes the lower modulus in comparison with the Ti35Nb10Zr alloy. Also the tensile strength and 0.2 proof strength values increased less than in Ti35Nb10Zr alloy. Ti35Nb10Ta after aging treatment has lower volume fraction of α -phase than the Ti35Nb10Zr alloy. This results in lower increase in Young's modulus and strength characteristics in comparison with Ti35Nb10Zr alloy. It can be concluded that Young's modulus, tensile strength and 0.2 proof strength values are increased due to precipitation of α or ω -phases, which is consistent with [20,22]. The value of that increase depends on their volume fraction and density. These processes can be controlled through chemical composition (β -phase stability) and heat treatment.

5. Conclusions

The microstructure and mechanical properties of alloys with changing chemical composition were studied during thermo-mechanical processes. On the basis of obtained results can be concluded:

- The change of Ta and Zr content leads to different mechanisms of dynamical recovery and dynamical recrystallization during hot forging of as-cast alloys. The Ti35Nb5TaZr alloy was dynamically recrystallized, but Ti35Nb10Ta and Ti35Nb10Zr alloys were recrystallized only locally on grain boundaries of original grains.
- After solution treatment (850 °C/0.5 h), the microstructure of all alloys consist of recrystallized grains formed by post-dynamic recrystallization or dynamic recrystallization during previous hot forging (Ti35Nb5Ta5Zr).
- After cold swaging the specimens have deformed microstructure with grains elongated in rod axis direction. The alloys with higher Zr content (7.5% and 10%) exhibit α'' martensitic phase in the β -matrix.
- Needle like particles were observed in microstructure of Ti35Nb10Ta and Ti35Nb10Zr alloys after aging treatment (450 °C/8 h). In Ti35Nb5Ta5Zr alloy ω -precipitates are present.
- Ti35Nb10Zr posses the highest tensile strength and 0.2 proof strength in both cold swaged and aged states. The differences among other alloys are not so evident.
- Young's modulus of these alloys exhibits values from 50 to 65 GPa in cold swaged state and 75 to 90 GPa after aging treatment.

Acknowledgements

This work was supported by Department of Commerce of Czech Republic – research program “Trvala prosperita” No. 2A-2TP1/073.

References

- Wang L, Lu W, Qin J, Zhang F, Zhang D. Microstructure and mechanical properties of cold-rolled TiNbTaZr biomedical β titanium alloy. *Mater Sci Eng: A* 2008;490:421.
- Wang L, Lu W, Qin J, Zhang F, Zhang D. Effect of precipitation phase on microstructure and superelasticity of cold-rolled beta titanium alloy during heat treatment. *Mater Des* 2009;30:3873.
- Niinomi M, Akahori T, Nakai M. In situ X-ray analysis of mechanism of nonlinear super elastic behavior of Ti–Nb–Ta–Zr system beta-type titanium alloy for biomedical applications. *Mater Sci Eng: C* 2008;28:406.
- Souza SA, Manicardi RB, Ferrandini PL, Afonso CRM, Ramirez AJ, Caram R. Effect of the addition of Ta on microstructure and properties of Ti–Nb alloys. *J Alloys Compd* 2010;504:330.
- Ribeiro A, Junior R, Cardoso F, Filho R, Vaz L. Mechanical, physical, and chemical characterization of Ti–35Nb–5Zr and Ti–35Nb–10Zr casting alloys. *J Mater Sci Mater Med* 2009;20:1629–36.
- Hou FQ, Li SJ, Hao YL, Yang R. Nonlinear elastic deformation behaviour of Ti–30Nb–12Zr alloys. *Scr Mater* 2010;63:54.
- Ikeda M, Komatsu S, Sowa I, Niinomi M. Aging behavior of the Ti–29Nb–13Ta–4.6Zr new beta alloy for medical implants. *Metall Mater Trans A* 2002;33:487–93.
- Sander B, Raabe D. Texture inhomogeneity in a Ti–Nb-based β -titanium alloy after warm rolling and recrystallization. *Mater Sci Eng: A* 2008;479:236.
- Wang L, Lu W, Qin J, Zhang F, Zhang D. The characterization of shape memory effect for low elastic modulus biomedical [beta]-type titanium alloy. *Mater Charact* 2010;61:535.
- Ferrandini PL, Cardoso FF, Souza SA, Afonso CR, Caram R. Aging response of the Ti–35Nb–7Zr–5Ta and Ti–35Nb–7Ta alloys. *J Alloys Compd* 2007;433:207.
- Martins DQ, Osorio WR, Souza MEP, Caram R, Garcia A. Effects of Zr content on microstructure and corrosion resistance of Ti–30Nb–Zr casting alloys for biomedical applications. *Electrochim Acta* 2008;53:2809.
- Weiss I, Semiatin SL. Thermomechanical processing of beta titanium alloys – an overview. *Mater Sci Eng A* 1998;243:46.
- Furuhashi T, Poorganji B, Abe H, Maki T. Dynamic recovery and recrystallization in titanium alloys by hot deformation. *JOM J Miner, Met Mater Soc* 2007;59:64–7.
- Kuramoto S, Furuta T, Hwang J, Nishino K, Saito T. Elastic properties of gum metal. *Mater Sci Eng: A* 2006;442:454.
- Eckert J, Das J, Xu W, Theissmann R. Nanoscale mechanism and intrinsic structure related deformation of Ti-alloys. *Mater Sci Eng: A* 2008;493:71.
- Laheurte P, Prima F, Eberhardt A, Gloriant T, Wary M, Patoor E. Mechanical properties of low modulus β titanium alloys designed from the electronic approach. *J Mech Behav Biomed Mater* 2010;3:565.
- Hwang J, Kuramoto S, Furuta T, Nishino K, Saito T. Phase-stability dependence of plastic deformation behavior in Ti–Nb–Ta–Zr–O alloys. *J Mater Eng Perform* 2005;14:747–54.
- Kuroda D, Niinomi M, Morinaga M, Kato Y, Yashiro T. Design and mechanical properties of new β type titanium alloys for implant materials. *Mater Sci Eng A* 1998;243:244.
- Abdel-Hady M, Hinochita K, Morinaga M. General approach to phase stability and elastic properties of β -type Ti-alloys using electronic parameters. *Scr Mater* 2006;55:477.
- Hao Y, Yang R, Niinomi M, Kuroda D, Zhou Y, Fukunaga K, et al. Aging response of the young's modulus and mechanical properties of Ti–29Nb–13Ta–4.6Zr for biomedical applications. *Metall Mater Trans A* 2003;34:1007–12.
- Qazi JI, Marquardt B, Allard LF, Rack HJ. Phase transformations in Ti–35Nb–7Zr–5Ta–(0.06–0.68)O alloys. *Mater Sci Eng: C* 2005;25:389.
- Zhou YL, Niinomi M, Akahori T. Decomposition of martensite α'' during aging treatments and resulting mechanical properties of Ti–Ta alloys. *Mater Sci Eng A* 2004;384:92.
- Afonso CRM, Ferrandini PL, Ramirez AJ, Caram R. High resolution transmission electron microscopy study of the hardening mechanism through phase separation in a β -Ti–35Nb–7Zr–5Ta alloy for implant applications. *Acta Biomater* 2010;6:1625.
- Ohmori Y, Ogo T, Nakai K, Kobayashi S. Effects of ω -phase precipitation on $\beta \rightarrow \alpha, \alpha''$ transformations in a metastable β titanium alloy. *Mater Sci Eng A* 2001;312:182.
- Prima F, Vermaut P, Texier G, Ansel D, Gloriant T. Evidence of α -nanophase heterogeneous nucleation from ω particles in a β -metastable Ti-based alloy by high-resolution electron microscopy. *Scr Mater* 2006;54:645.
- Nakasuji K, Okada M. New high strength titanium alloy Ti10%Zr for spectacle frames. *Mater Sci Eng: A* 1996;213:162–5.
- Zhou Y, Niinomi M. Microstructures and mechanical properties of Ti–50 mass% Ta alloy for biomedical applications. *J Alloys Compd* 2008;466:535.
- Cui Y, Li Y, Luo K, Xu H. Microstructure and shape memory effect of Ti–20Zr–10Nb alloy. *Mater Sci Eng: A* 2010;527:652.
- Elias LM, Schneider SG, Schneider S, Silva HM, Malvisi F. Microstructural and mechanical characterization of biomedical Ti–Nb–Zr(–Ta) alloys. *Mater Sci Eng: A* 2006;432:108.
- Song Y, Xu DS, Yang R, Li D, Wu WT, Guo ZX. Theoretical study of the effects of alloying elements on the strength and modulus of β -type bio-titanium alloys. *Mater Sci Eng: A* 1999;260:269.
- Majumdar P, Singh SB, Chakraborty M. Elastic modulus of biomedical titanium alloys by nano-indentation and ultrasonic techniques – a comparative study. *Mater Sci Eng: A* 2008;489:419.

Enhanced osteoblast and osteoclast responses to a thin film sputtered hydroxyapatite coating

J. Hao · S. Kuroda · K. Ohya · S. Bartakova ·
H. Aoki · S. Kasugai

Received: 19 November 2010 / Accepted: 27 April 2011 / Published online: 13 May 2011
© Springer Science+Business Media, LLC 2011

Abstract A sputtering technique followed by a low temperature hydrothermal treatment has been demonstrated to produce a dense-and-bioactive hydroxyapatite thin film coating. The purpose of the present study was to investigate osteoblast and osteoclast responses to the hydroxyapatite coated plates and titanium plates with similar roughness. Rat bone marrow stromal cells were cultured on these plates to induce osteoblasts. The cells showed a significantly enhanced proliferation on the hydroxyapatite surface, accompanied by increase of osteoblastic phenotypes. The co-cultured osteoclasts exhibited the significantly different cell number and morphology between the hydroxyapatite and the titanium surfaces. A series of osteoclast marker genes were more stimulated on the hydroxyapatite and thirty two percent of the hydroxyapatite surface area could be resorbed by osteoclasts. The thin film sputtered

hydroxyapatite could provide a favorable surface for both osteoblast and osteoclast formation and their function, indicating its good osteoconductivity and biodegradability.

1 Introduction

Hydroxyapatite (HA), $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, is a well-known bioceramic material for medical application because of its close similarity to the chemical and mineral components of teeth and bones. It has been used to provide bioactive coatings for orthopedic and dental implants [1]. As early as 1960s, the concept of biological fixation of load-bearing implants using HA coatings was proposed as an alternative to cemented fixation. It has been reported that HA coating could provide an excellent long-term success rate in a minimum 10 years follow-up study [2]. Furthermore, the HA coating degradation caused by osteoclastic resorption is considered to be the result of the similar function taking part in the bone remodeling as seen in any other part of the skeleton [3].

A number of methods have been developed to deposit HA coating including plasma spraying, Sol–Gel, pulsed laser deposition, ion-beam method and sputtering. Currently plasma spraying is the major commercially available technique for HA coating due to the high reproducibility and economic efficiency of the process [4, 5]. However, problems cited with the plasma sprayed HA coating include variation in bond strength between the coatings and metallic substrate, non-uniformity in coating density, poor adhesion between the coating and substrates, microcracks on the coating surface and poor resistance to delamination due to the coating process [4, 6]. Thereafter, as an alternative to the plasma spray method, a radio frequency magnetron sputtering technique has been

J. Hao · S. Kuroda (✉) · S. Kasugai
Section of Oral Implantology and Regenerative Dental
Medicine, Tokyo Medical and Dental University,
1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8510, Japan
e-mail: skuroda.mfc@tmd.ac.jp

J. Hao · S. Kasugai
Global Center of Excellence (GCOE), Tokyo Medical
and Dental University, Tokyo, Japan

K. Ohya
Section of Pharmacology, Tokyo Medical and Dental University,
Tokyo, Japan

S. Bartakova
Department of Prosthodontics, Masaryk University,
Brno, Czech Republic

H. Aoki
International Apatite Institute Co, Tokyo, Japan

investigated [7]. The sputtering technique has advantages of depositing thin coatings (0.5–3 μm) with strong adhesion, compact microstructure and controlled elemental composition [8]. However, it has been reported that it is necessary to find an optimal heat treatment to inhibit the dissolution properties of the coating by crystallizing the film [9]. The conventional high temperature ($\geq 600^\circ\text{C}$) heat treatment may result in the appearance of cracks in the coating because of the difference in the thermal expansion coefficient of Ca–P and metal substrate [7]. For this reason, it is necessary to crystallize the HA film at low temperature. Ozeki et al. reported a hydrothermal technique at as low as 110°C to crystallize sputtered amorphous HA film, and the film-to-substrate adhesion strength increased by over twofold. In vivo pullout tests, a 1.6 times higher bone-bonding strength was achieved by the hydrothermal technique than by the plasma spray method [10]. After the hydrothermal treatment, a surface morphology of needle-like HA crystal was observed by scanning electron microscopy. In addition, the proliferation and alkaline phosphatase (ALP) activity of MC3T3-E1 can be greatly improved by the hydrothermal treatment [11].

Bone is a dynamic tissue, and the long-term maintenance of osseointegration of implant requires a continuous remodeling of the bone-implant interface. Osteoclasts may play an important role in the initial period after implant placement or prepare the implant surface for the bone-forming activity of the osteoblasts [12]. Several investigators have examined the ability of osteoclasts to resorb various forms of calcium phosphate. Gomi et al. reported that osteoclasts form and are capable of resorbing sintered HA and that the rugosity of the HA increases the formation and resorptive activity of the osteoclasts [13]. In contrast, rabbit osteoclasts were found to resorb bone and sintered carbonate apatite but not sintered hydroxyapatite [14]. Those contradictory results might be due to the different sources of the osteoclasts and preparation of calcium phosphates as to crystal structure, grain size and surface roughness [12]. So far, there is no report regarding the osteoclast response to sputtered HA surface.

In the present study, the rat bone marrow stromal cell culture system was used to induce osteoblasts and a co-culture system of primary mouse calvarial osteoblasts and bone marrow cells was performed to entice osteoclast differentiation. And then both osteoblast and osteoclast formation and their function on the surface of the sputtered HA coating were compared to those on rough titanium surface by examining cell proliferation, gene expression and cellular morphological organization. Furthermore, HA coating degradation was also evaluated. The main aim of the present study was to investigate whether the sputtered HA coating would behave in more favorable a manner than non-coated surface-modified titanium substrates.

2 Materials and methods

2.1 Preparation of sputtered HA film on titanium plates

Commercially available grade 2 pure titanium plates ($20 \times 20 \times 1 \text{ mm}^3$) were used as substrates. Titanium plates coated with or without sputtered HA were manufactured with similar surface roughness. Briefly, all the titanium plates were sandblasted by fluorapatite crystal and then subjected to an acid etching treatment. RF magnetron sputtering was carried out on half of these plates using an SPF-410H (ANELVA Corp.) chamber to produce a HA film with an average thickness of 1.1 μm . Subsequently, a hydrothermal treatment was performed at a temperature of 120°C in an electrolyte solution containing calcium and phosphate ions for 20 h. The composition of the solution was described in detail in the previous study [10]. All samples were sterilized in an autoclave at 121°C for 28 min and packed in polypropylene bags separately. Surface observation and elemental analysis were carried out using scanning electron microscopy (SEM) (JSM-5310LV, JOEL, Tokyo, Japan) and energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) (EMAX-7000, Horiba Ltd., Kyoto). The X-ray diffractometry pattern (XRD) was identified by RINT1400 (Rigaku Corp., Japan) using a $\text{CuK}\alpha$ radiation source operating at 50 kV and 100 mA excitation current. The surface roughness (R_a) was determined using a surface measurement tester (SURFCOM 130A).

2.2 Osteoblastic cell culture

Rat bone marrow cells were prepared according to the method of Maniopoulos et al. [15]. Briefly, rat bone marrow cells isolated from the femora of 5 week-old male Wistar rats were cultured on these plates placed in 6-well culture dishes at a cell density of 10^6 cells/cm^2 , maintained in α -MEM with 10% fetal bovine serum at 37°C in a humidified atmosphere consisting of 95% air and 5% CO_2 . After 24 h, the medium was removed and changed to fresh one supplemented with osteogenic reagents (50 $\mu\text{g/ml}$ ascorbic acid, 10 mM β -glycerophosphate, 10 nM dexamethasone). The culture medium was changed every 2 days.

2.3 Cell attachment and proliferation

After 24 and 72 h incubation, the culture medium was removed and the wells were washed three times with phosphate buffered saline (PBS) to eliminate unattached cells. The adherent bone marrow stromal cells were fixed and stained using fluorescent dyes, DAPI (molecular probes, Invitrogen, USA), and observed under a fluorescence microscope (Biozero BZ-8000, Keyence). In

addition, the proliferative activity of the cells was measured by BrdU incorporation during DNA synthesis. At day 2 of culture, BrdU reagent with the final concentration of 10 μ M (Roche Applied Science, Mannheim, Germany) was added to the culture wells and incubated for 10 h at 37°C. After the labeling process, the cells were fixed and incubated with anti-BrdU-peroxidase working solution for 90 min. After washing, substrate solution (tetramethylbenzidine) followed by stop solution was added until color development was sufficient for photometric detection. Absorbance at 450 nm was measured using Wallace 1420 ARVOsx multi-label counter.

2.4 Measurement of DNA amount and ALP activity

Cells were washed with PBS, scraped, lysed by 0.1% Triton X100 (Sigma, St. Louis, MO, USA), and sonicated to destroy cell membranes. After centrifugation at 15,000 rpm for 10 min at 4°C, 200 μ l of the supernatant was extracted from each sample and assayed for ALP activity and DNA content measurements. To determine DNA content, 100 μ l of the prepared supernatant of each sample was mixed with 100 μ l of 1 μ g/ml Hoechst 33342 dye in the wells of a 96-well plate and processed with a fluorescent DNA quantification kit (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA). The samples were then measured with the Wallace 1420 ARVOsx multi-label counter at excitation and emission wavelengths of 365 and 460 nm, respectively. Subsequently, to assess the quantitative and kinetic determination of ALP activity, 50 μ l of the supernatant of each sample was added to 100 μ l working solution (*p*-nitrophenyl phosphate solution) in the wells of another 96-well plate. The reaction was measured with the multi-label counter at a wavelength of 405 nm. ALP activity was normalized by total DNA amount of each sample.

2.5 Mineralization assay

The mineralization capability of cultured osteoblasts was examined at days 7 and 21. The cells were fixed with methanol and stained with Alizarin Red. The area of mineralized nodules of each sample was measured using a computer image analyzer (Image J, National Institute of Health, USA). To eliminate non-specific binding of Alizarin Red Stain, nodules bigger than 0.2 mm² were calculated. The result is represented as percentages of Alizarin Red positive area over total culture area.

2.6 Osteoclastic cell culture

Osteoclasts generated by a co-culture system [16] were also cultured on these titanium plates inserted in 6-well culture dishes. Briefly, osteoblast (3×10^5 cells/well)

obtained by sequential collagenase digestion of newborn mouse calvariae and bone marrow cells (3×10^6 cells/well) obtained from femora and tibiae of 6 week-old male ICR mice were co-cultured in the normal medium (α -MEM, 10% fetal bovine serum) supplemented with 10^{-8} M 1,25-(OH)₂-vitamin D₃ and 10^{-6} M prostaglandin E₂. For osteoclast morphology and function assays, the co-culture was also performed on ivory dentine slices and polystyrene culture wells as control.

2.7 Osteoclast number and morphology

After 4, 5 and 7 days co-culture, cells were fixed with 3.7% formaldehyde in PBS for 10 min and washed three times with PBS and permeabilized with 0.1% Triton X-100 in PBS for 5 min. The cells were rinsed three times with PBS and treated with 1% bovine serum albumin for 10 min. Cells were stained using fluorescent dyes, 5 units/ml Alexa 488 phalloidin (actin green color, Molecular Probes, Invitrogen, USA) and 300 nM DAPI (nuclei blue color, Molecular Probes, Invitrogen, USA). Subsequently, tartrate-resistant acid phosphatase (TRAP) staining was also performed. In brief, cells were rinsed with ethanol–acetone solution (50:50, v/v) for 1 min, and stained with TRAP solution for 10 min at room temperature. To prepare TRAP solution, 5 mg of naphthol AS-MX phosphate (Sigma, USA) was diluted in 0.5 ml of *N,N*-dimethylformamide (Wako, Japan) and this solution was combined with 30 mg of fast red violet LB salt (Sigma, USA) and 50 ml of 0.1 M sodium acetate buffer (pH 5.9) containing 50 mM sodium tartrate. TRAP positive cells with three or more nuclei were considered as osteoclasts. TRAP positive cells and cellular structures such as actin and multi-nuclei were visualized using a fluorescence microscope (Biozero BZ-8000, Keyence). The osteoclast number, area, perimeter and Feret's diameter were quantified by an image analyzer (Image J, National Institute of Health, USA).

2.8 HA coating degradation

At osteoclast culture day 7, the HA samples were soaked in 1 M ammonia, and the cells were removed by sonicating for 1 min. To analyze the HA coating degradation, element distribution of the HA coating was performed by energy dispersive X-ray mapping. The HA coated samples immersed in the same culture medium for 7 days were used as control. The coating degradation area was calculated by Image J.

2.9 RNA isolation and real-time quantitative RT-PCR

Cells in both culture systems were lysed in TRIzol Reagent (Invitrogen, USA) and total RNA was precipitated in

isopropanol. First-strand cDNA was reverse-transcribed from total RNA with SuperScript™ III First-Strand Synthesis System for RT-PCR (Invitrogen, USA). The expression levels of osteoblast or osteoclast related genes were determined using the real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). SYBR Green-based real-time PCR analysis was carried out with the ABI Prism 7,300 Sequence Detection System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). Expression levels were determined using the relative threshold cycle (C_T) method as described by the manufacturer of the detection system. Expression levels were stated in terms of fold increase or decrease relative to that of Ti group at the first time point. This was calculated for each gene by evaluating the expression $2^{-\Delta\Delta CT}$, where $\Delta\Delta CT$ is the result of subtracting [$C_{T \text{ gene}} - C_{T \text{ GAPDH}}$]_(Ti calibrator) from [$C_{T \text{ gene}} - C_{T \text{ GAPDH}}$]_(HA group). The primers used are shown in Table 1.

2.10 Statistical analysis

All experiments were performed in duplicate, and results were calculated as mean \pm SD. Statistical analysis was

performed by the statistic software 11.5 SPSS for Windows. ANOVA with Scheffe test was used for comparing the significance among groups at each time point. *t*-Test was used to determine the differences between the HA and Ti groups if data were available at only one time point. *P* values of less than 0.05 were considered to be statistically significant.

3 Results

3.1 The observations and characterizations of sputtered HA coating

Fig. 1a showed the XRD pattern of sputtered HA coating. The dotted lines and solid lines indicated the peaks of Ti and crystallized HA, respectively. EDS analysis confirmed the purity of the Ti (Fig. 1b) and the sputtered HA coating (Fig. 1c). The Ra values of the Ti and sputtered Ha coating were 1.25 ± 0.26 and 1.13 ± 0.39 μm , respectively. The Ca/P molar ratio was 1.70 ± 0.13 (Table 2).

Table 1 Real time RT-PCR primers

Gene	Sequence	Base pair	Sequence reference
Mouse GAPDH	(F) 5'-CTCCACTCTTCCACCTTCG-3' (R) 5'-TTGCTGTAGCCGTATTATT-3'	99	NM008084
Mouse TRAP	(F) 5'-TACCTGTGTGGACATGACC-3' (R) 5'-CAGATCCATAGTGAAACCGC-3'	151	BC029644
Mouse v-ATPase	(F) 5'-TCCAACACAGCCTCCTACTT-3' (R) 5'-ACAGCAAAGGCAGCAAAC-3'	161	AB022322
Mouse CTR	(F) 5'-TCAGGAACCACGGAATCCTC-3' (R) 5'-ACATTCAAGCGGATGCGTCT-3'	101	NM007588
Mouse CathepsinK	(F) 5'-TGTATAACGCCACGGCAAA-3' (R) 5'-GGTTCACATTATCACGGTCAACA-3'	195	X94444
Mouse MMP-9	(F) 5'-TCCAGTACCAAGACAAAG-3' (R) 5'-TTGCACTGCACGGTTGAA-3'	183	X72795
Mouse RANKL	(F) 5'-ACCAGCATCAAAATCCCAAG-3' (R) 5'-TTGAAAGCCCCAAAGTACGT-3'	203	AB008426
Rat GAPDH	(F) 5'-AACTCCCATTCTTCCACCTT-3' (R) 5'-TCTCGTTCTCTTCCGGGA-3'	200	M17701.1
Rat TGF- β 1	(F) 5'-CAACAATTCCTGGCGTTACC-3' (R) 5'-TTAGTTACCCTAGTCAGGGT-3'	200	NM_021578.2
Rat ALP	(F) 5'-GTCACAGCCAGTCCCTCAAC-3' (R) 5'-GCTGAGGGGACAAACCTTAT-3'	202	NM_013059.1
Rat Col1	(F) 5'-TTGACCCTAACCAAGGATGC-3' (R) 5'-TTATGTTGCGTCTTCCCCAC-3'	197	NM_053356.1
Rat Runx2	(F) 5'-GCCAGGTTCAACGATCTGAG-3' (R) 5'-CAAACAAGAGACTGGCGGAG-3'	201	NM_053470.1
Rat osteocalcin	(F) 5'-AGCTCAACCCCAATTGTGAC-3' (R) 5'-TTTCATACCTGCCGTGTCGA-3'	190	M11777

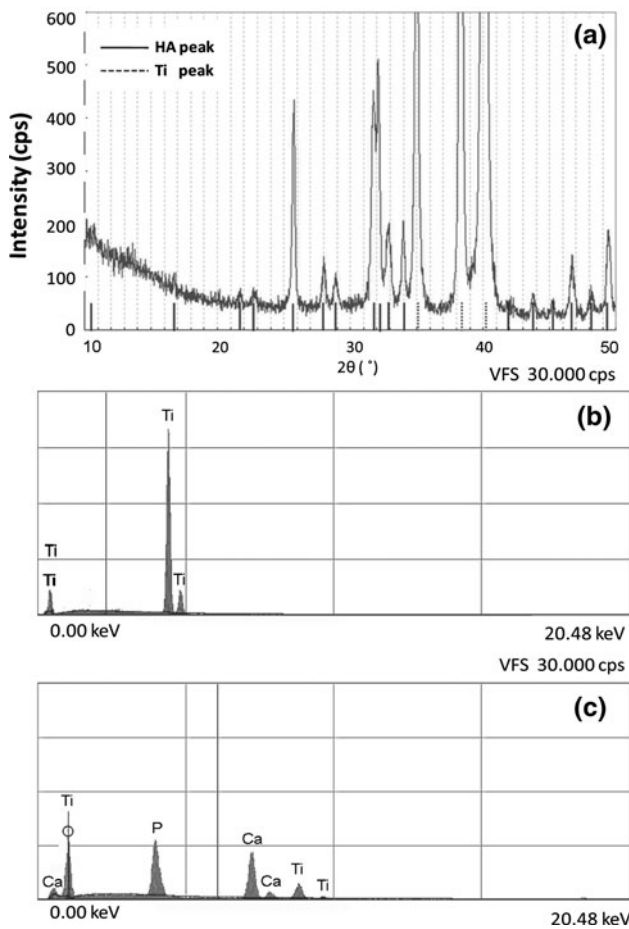


Fig. 1 X-ray diffractometry (XRD) pattern of the sputtered HA film (a). Energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) spectrum of the Ti plate (b) and the sputtered HA coated Ti plate (c)

3.2 Enhanced attachment and proliferation of bone marrow stromal cells on sputtered HA surface

Cell density was consistently greater on the sputtered HA surfaces (Fig. 2b, d) than that on Ti surfaces (Fig. 2a, c) at days 1 and 3. The proliferation determined by BrdU incorporation also showed a significantly higher level on the sputtered HA surface compared with Ti surfaces, confirming increased cell proliferation (Fig. 2e).

3.3 Enhanced osteoblastic phenotypes on sputtered HA surface

ALP activity was measured on days 3, 7 and 14. In both groups, ALP activity increased time dependently. In detail, ALP activity was showing the same level on both surfaces at day 3; however, cells on sputtered HA at days 7 and 14 accelerated ALP activity at a significant higher level compared with those of the Ti group (Fig. 3a).

In addition, the area of mineralized nodule detected by Alizarin Red stain was also greater on HA surface. At day

Table 2 Surface roughness and Ca/P ratio. (*n* = 3)

Sample	Ra (μm)	Ca/P
Ti	1.25 ± 0.26	
HA	1.13 ± 0.39	1.70 ± 0.13

7, the HA group showed a 4.3 fold increase in nodule formation compared to the Ti group (*P* < 0.01). Until day 21, the HA group still exhibited a higher level of nodule formation than the Ti group (*P* < 0.05) (Fig. 3b). Real-time PCR demonstrated mRNA expressions of osteoblastic marker genes of interest as fold changes to the control level. Rat mRNA expression levels of ALP and TGF-β were significantly increased on HA surface by day 7 (*P* < 0.05). However, the other genes including osteocalcin, collagen type I and runx2 showed significant increases only at day 14 (*P* < 0.05) (Fig. 3c–g).

3.4 Osteoclast formation and morphometry

TRAP positive cells were observed in all experimental groups as early as day 4 of the co-culture. The fluorescence microscopy images of actin structures of these multinucleated cells overlapped with the TRAP staining (Fig. 4a–h).

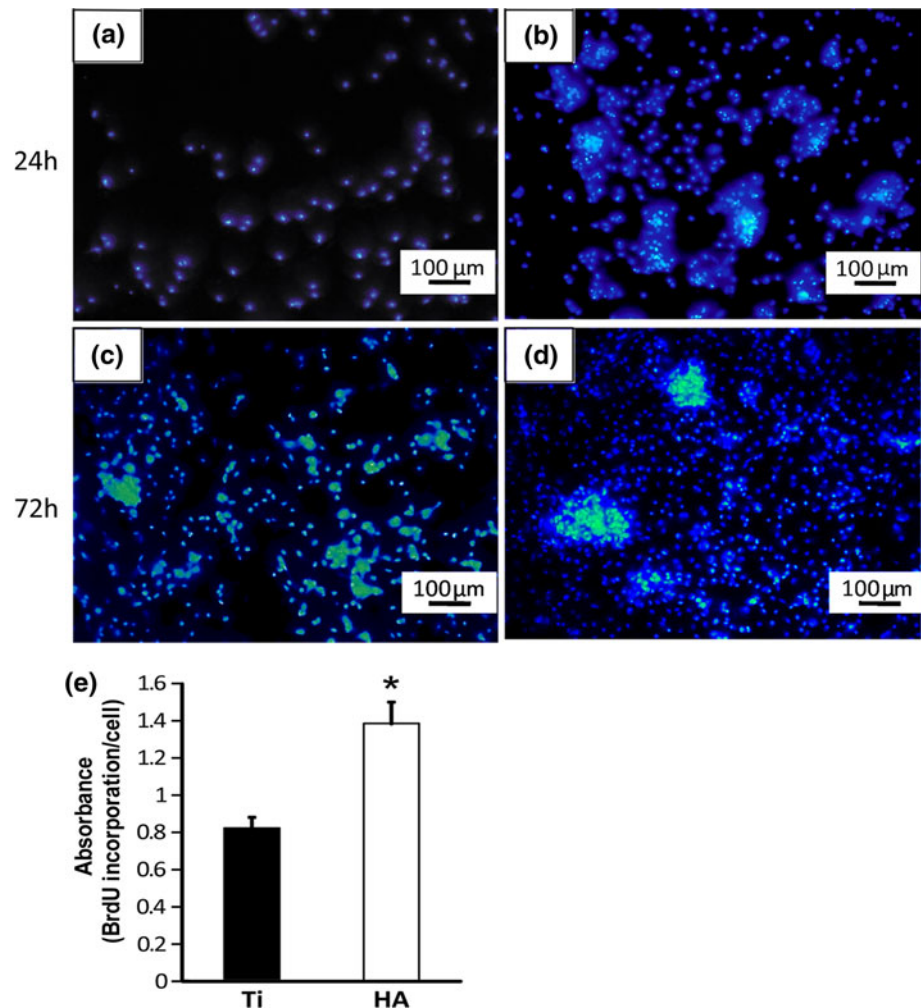
Osteoclasts could form on several substrates and then exhibit different actin structures. Phalloidin fluorescence staining showed that the actin ring sizes were increasing from day 4 to day 7. Moreover, the actin ring structure on the sputtered HA surface was consistently showing smaller size compared to that on the Ti surface and the polystyrene culture well, but almost the equal size to that on dentine slice (control > Ti > HA ≈ dentine) (Fig. 5a–c). Osteoclasts on Ti and polystyrene surface were exhibiting typical podosome belts with loose actin network by small actin dots, also called actin cloud (Fig. 4e, g). In contrast, the osteoclasts on both HA and dentine were able to acquire a sealing zone, represented by a dense band of actin (Fig. 4a, c).

As shown in Fig. 5d, the number of osteoclasts on the dentine or HA was larger than those on Ti and the control surfaces throughout the culture period (*P* < 0.01). Significant difference of TRAP positive cell number between the dentin and the HA groups was found only at day 4 (*P* < 0.01) but not at days 5 and 7.

3.5 Osteoclast function and HA coating degradation

To further confirm the functionality of the osteoclasts, the mRNA levels of a series of their growth and differentiation markers including receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL), osteoprotegerin (OPG), TRAP,

Fig. 2 Initial behavior of bone marrow stromal cells on the Ti and the HA surfaces. DAPI staining of bone marrow cells attached to the Ti (**a, c**) and the HA (**b, d**) after 24 h (**a, b**) and 72 h (**c, d**) incubation. The cell proliferation was determined by BrdU incorporation and the absorbance measurement at 450 nm (**e**). And each column represents values as the mean \pm SD ($n = 6$).
*Statistically different between HA and Ti groups ($P < 0.05$)



vacuolar-type H-ATPase (v-ATPase), calcitonin receptor (CTR), cathepsin K, and MMP-9 were analyzed by quantitative real-time RT-PCR. V-ATPase and the ratio of RANKL/OPG mRNA expression were significantly increased on HA than on Ti at day 5 and so were TRAP and CTR transcription at day 7. However, no differences could be observed in terms of Cathepsin K and MMP-9 expression (Fig. 6a–h).

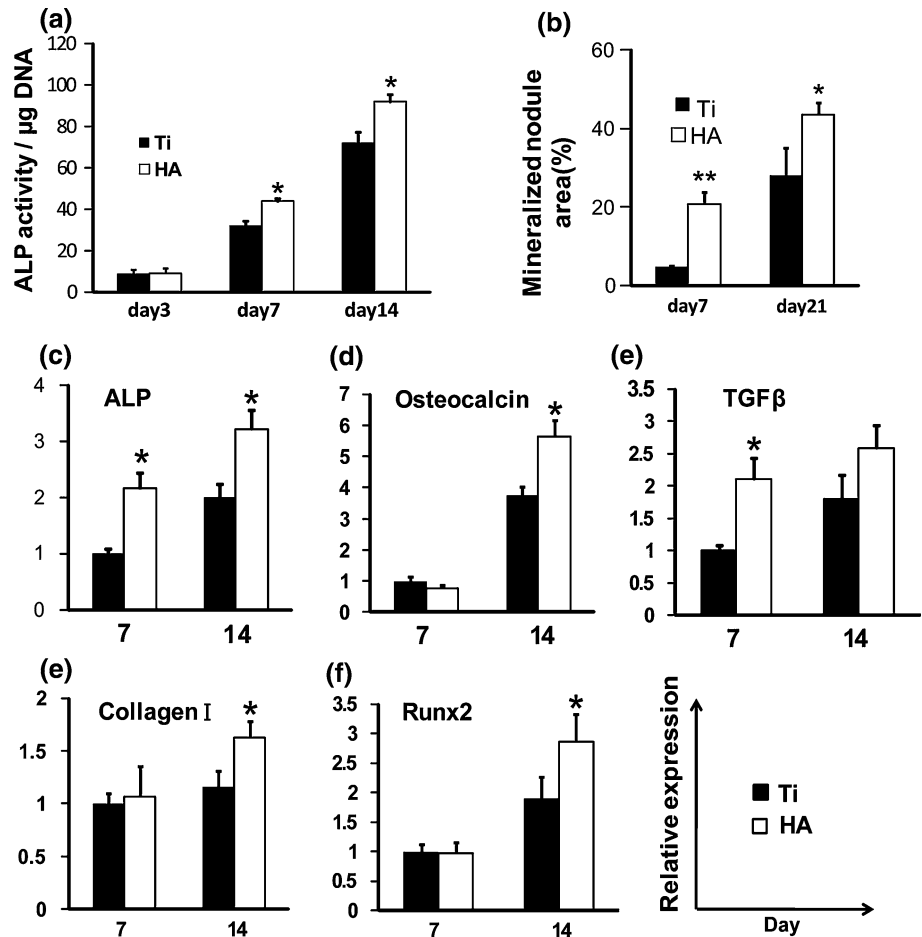
After 7 days of culture, cells were removed from the samples and the coating degradation was analyzed by energy dispersive X-ray mapping. The elemental distribution of calcium, phosphorus and titanium was shown in Fig. 7. The regions with HA degradation were indicated with arrows in Fig. 7a–d, where, Ca and P were completely absent. In addition, these regions were rich in Ti which indicated the degradation of the HA coating and the titanium substrate exposure. However, in the control group, no coating degradation was observed after soaking in the same culture medium for 7 days. Ca and P were homogeneously distributed throughout the HA coating, and Ti could be hardly detected (Fig. 7e–h). These results suggested that

the coating degradation were mediated by osteoclastic functional resorption but not HA chemical dissolution. The osteoclastic degradation occurred in $32.3 \pm 3.5\%$ of the sputtered HA coating.

4 Discussion

In this study, a rat bone marrow stromal cell culture was performed to evaluate the osteoblast response on the HA coated titanium. One advantage of cell culture systems is that it can focus on a part of the physiological condition, wherein interaction among the cells and signal molecules can be clarified. Since the implant materials directly contact bone marrow cells after implantation, it is advantageous to use a culture system to investigate implant materials as substrates for the cells [17]. The cell density was consistently greater on the sputtered HA surface than the Ti surface on days 1 and 3 of culture, wherein, by day 3, the cells had appeared to reach confluence on the HA surface but not on the Ti surface. Notably, this increment of

Fig. 3 Enhanced osteoblastic phenotypes on the sputtered HA surface. A quantitative analysis of ALP activity was performed by normalizing total ALP amount by total DNA content (a). The Alizarin red positive staining is represented as percentages of the total culture area (b). mRNA expression levels of osteoblast-related genes (c–g), where x-axis represent days of culture, and y-axis represent expression levels relative to Ti group of the first time point. Data are shown as the mean ± SD (*n* = 6). Statistically different between HA and Ti groups (**P* < 0.05, ***P* < 0.01)



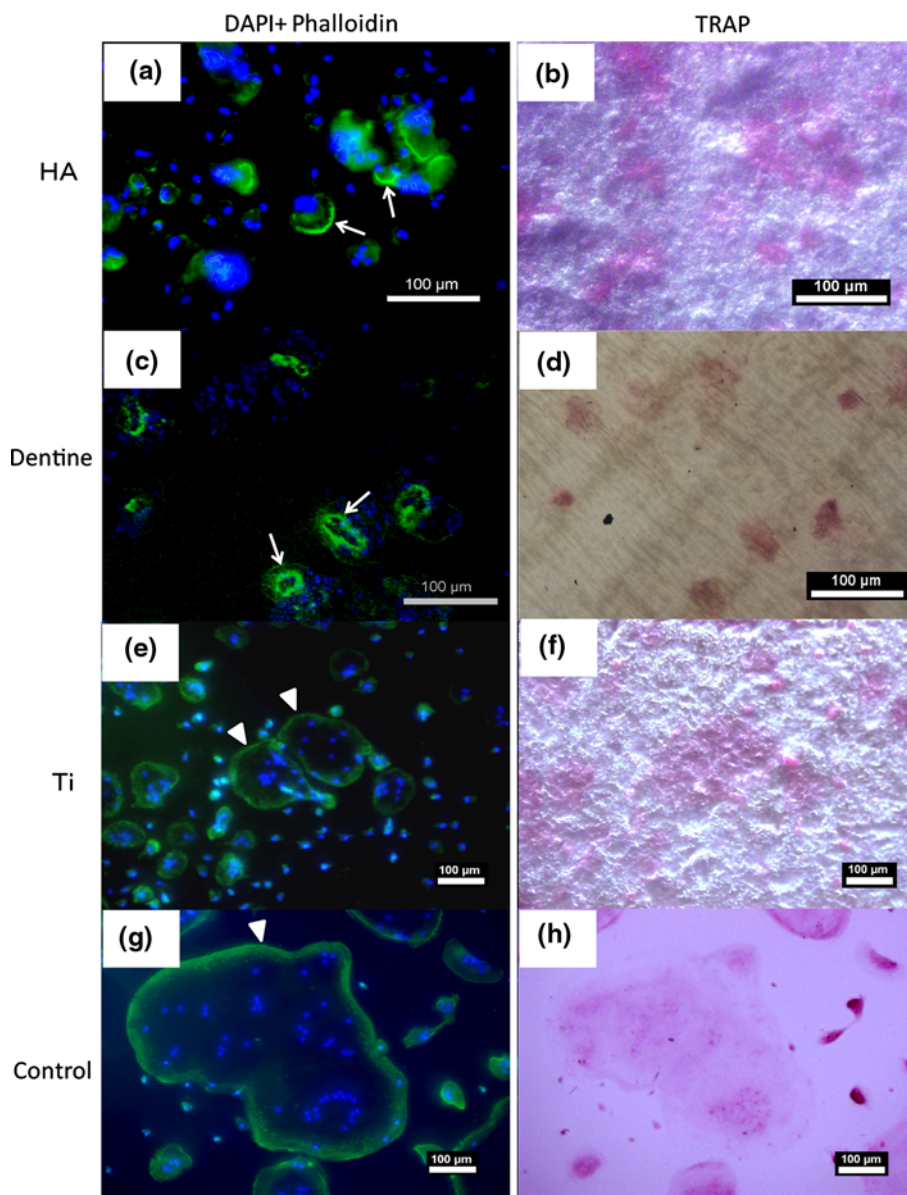
the cell number might be reflected by emphasized BrdU incorporation on the HA at day 2 (68% higher than on the Ti surface). These current results indicated that the sputtered HA surface could significantly enhance the bone marrow stromal cells compared with Ti surface. Since the surface of the sputtered HA and the titanium was manufactured with similar roughness, the enhanced proliferation on the HA may have been due to the difference in the chemical composition of the coating.

ALP expression is associated with osteoblastic differentiation and the level of ALP activity indicates the stage of osteoblastic differentiation. In the present study, the ALP activity was significantly elevated on the sputtered HA surface than on the Ti surface from day 7. This is in line with the previous study that hydrothermally treated sputtered HA film could promote the ALP activity of MC3T3-E1 osteoblast-like cells after 96 h culture [11]. The significantly increased gene expression levels of collagen I, runx2, osteocalcin and ALP on the sputtered HA surface further supported the results. Furthermore, the mineralized nodule deposition on HA was 1.8 times as extensive as that on Ti (*P* < 0.05), indicating that the sputtered HA surface provided a favorable surface for

bone marrow cell adhesion, proliferation and osteoblast differentiation.

Osteoclast is the principal cell responsible for the resorption of bone during bone remodeling. The organization of the actin cytoskeleton plays an important role in the resorption function of osteoclasts. Depending on the substratum upon which the osteoclasts spread, actin presents flat podosomes or sealing zone. It has been reported that when osteoclasts adhere on plastic or glass, podosomes are arranged at the osteoclast periphery as a characteristic belt. If adhering to a mineralized matrix, osteoclasts polarize and exhibit a typical sealing zone which delineates the ruffled border, a site of active membrane traffic and transport, where protons and proteases are secreted in order to dissolve minerals by acidification and degrade extracellular matrix proteins. A large surface area (>3,000 µm²) corresponded to spreading of non-resorbing osteoclasts without sealing zone. In contrast, cell surfaces between 1,700 and 2,000 µm² corresponded to actively resorbing osteoclasts exhibiting a sealing zone [18]. In the present study, the osteoclasts on the HA surface always showed smaller size compared with those on the Ti and the polystyrene culture wells, but close to that on the dentine. The

Fig. 4 Osteoclast formation and cytoskeletal arrangement. Micrographs show osteoclastic differentiation on HA (a, b), dentine (c, d), Ti (e, f) and control polystyrene culture wells (g, h) at co-culture day 5. Cells were stained with DAPI for nuclei (blue) and phalloidin for actin filaments (green) (a, c, e, g) and with TRAP (b, d, f, h). Sealing zones, represented by actin rings were indicated by arrows, and prodosome belts were indicated by arrow heads



typical podosome belt structure represented as actin dots was found at the periphery of the osteoclast on the Ti and the polystyrene culture wells. However, on both the HA coating and dentine surfaces, a much denser but smaller actin ring structure-sealing zone was shown. These results were also consistent with the previous finding that the size of each actin dot within the sealing zone on a mineralized matrix is four times larger than that on plastic or glass surface [18]. From these results it could be suggested that osteoclast formed on the sputtered HA surface could apico-basal polarize, and exhibit a typical sealing zone, inside of which the active resorption takes place. The osteoclasts formed on the sputtered HA surface could have a similar morphology and behavior to those on the dentine. And the element distribution of the HA coating was further analyzed by EDS mapping, confirming that $32.3 \pm 3.5\%$ of

the sputtered HA coating area degradation was mediated by osteoclastic resorption.

During the differentiation of the progenitor cells to osteoclasts, a series of osteoclast markers were analyzed. TRAP is highly expressed in osteoclasts, and the secretion of TRAP by osteoclasts represents the rate of resorptive activity [19]. CTR is regarded as the best late-stage differentiation marker for osteoclasts, which distinguishes them from macrophage polykaryons [20]. During osteoclastic resorption, hard tissues are demineralized by v -ATPase [21] and collagens are subsequently degraded by cathepsin K [22] and MMP-9 [23]. In the present study, TRAP and CTR were expressed at significantly higher levels on HA than on Ti at day 7. v -ATPase expression level was increased on HA at day 5. However, no differences could be observed in terms of Cathepsin K and

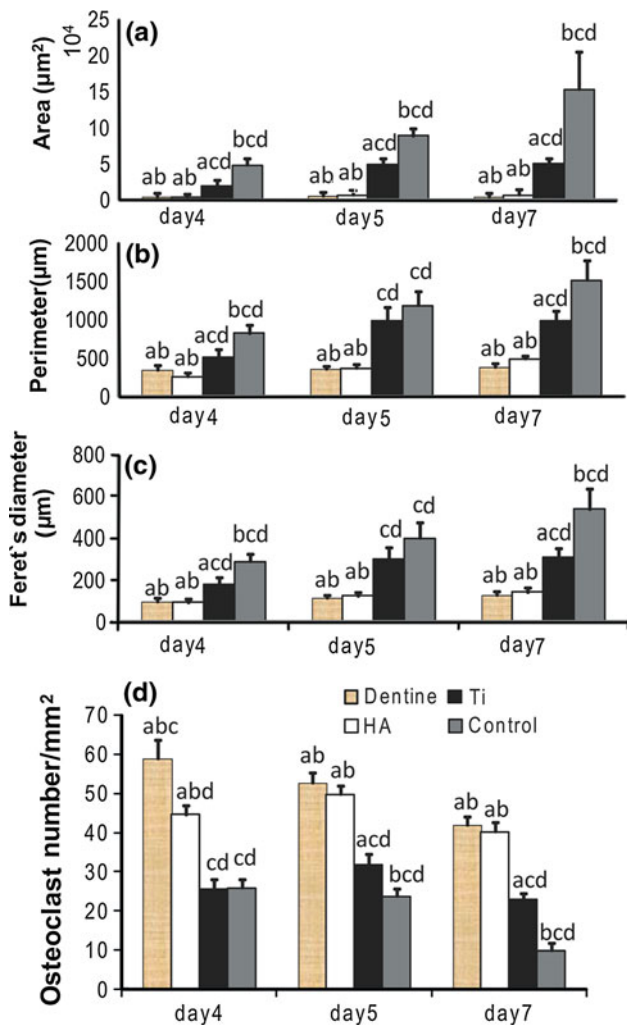


Fig. 5 Osteoclast morphometry. The area (a), perimeter (b) and Feret's diameter (c) (Feret's diameter is the longest distance between any two points along the osteoclast surface) were quantified using an image analyzer (Image J). TRAP positive cells with three or more nuclei were counted (d). Each value is represented as the mean ± SD (*n* = 6). Statistically different (*P* < 0.01): **a** compared with control, **b** compared with Ti, **c** compared with HA and **d** compared with dentine

MMP-9 mRNA expression. These results suggest that the sputtered HA surface stimulated osteoclast formation and function by controlling the mRNA transcription that regulates osteoclast.

We also examined the expressions of RANKL and its decoy receptor OPG. The RANKL/OPG ratio plays a crucial role in coordinating the sequence of osteoclast differentiation during the bone remodeling cycle [24]. In the present study, OPG mRNA level was slightly increased on HA than on Ti although the difference was not significant and the level of RANKL mRNA on HA was significantly elevated at day 5, which resulted in an apparent increase in RANKL/OPG ratio favorable for osteoclast

formation. A few studies have addressed the effect of implant microtopography on osteoclast formation and activity. Lossdörfer S et al. cultured MG63 cells on titanium disks with different surface roughness, and found that OPG mRNA levels increased on rougher surfaces while RANKL expression was independent of surface microtopography [25]. We observed a higher RANKL/OPG ratio on the sputtered HA than on Ti in the present study. It is probably due to the difference of chemical composition between HA and Ti. Our results for the first time suggested that the sputtered HA surface might stimulate osteoclast formation by up-regulation of RANKL expression from osteoblasts in the co-culture system.

Another explanation of our findings is that HA has the ability to adsorb and release proteins because it has multiple potential protein binding sites and a larger specific surface area compared to other calcium phosphates. The HA film has an adsorption site at the *a*-plane area (Ca^{2+}) and at the *c*-plane area (PO_4^- , OH^-), which can attract acidic proteins with negative sites (COO^-) and basic proteins with positive sites (NH_2^+), respectively [26]. The previous study has reported that the surface area of the sputtered HA film was increased by the hydrothermal treatment, owing to the growth of HA crystals in the *c*-axis direction [27]. The adsorption amount of proteins is proportionate to the surface area of HA, and the release rate of proteins depends on HA resorption [28]. Additionally, osteoclast adhesion and migration are regulated by $\alpha_v\beta_3$ integrin which binds to a variety of extracellular matrix proteins including vitronectin, osteopontin and bone sialoprotein [29], and osteoprogenitor cells and osteoblasts also express a wide panel of integrins, which regulate osteoblast function and mineralization [30, 31]. In the present study, the sputtered HA may promote the osteoblast and osteoclast formation and function through the integrin mediated signaling pathway as a result of recruitment of extracellular matrix proteins onto the coating. Further studies are needed to elucidate the mechanism in detail from this point of view.

Recently, several studies suggested that osteoclast, besides the resorptive activity, may have an anabolic effect on bone formation. Zhao et al. reported that the cell surface molecule ephrinB2 present on the osteoclasts mediated anabolic signals to the osteoblasts [32]. In further support of the role of osteoclast in bone formation, Karsdal et al. showed that osteoclasts secreted non-bone derived factors which induce preosteoblasts to form bone-like nodules [33]. Thereby, these findings indicate the importance of the presence of osteoclasts for induction of bone formation. Better understanding of how osteoclasts respond to different implant surfaces may help contribute to the development of implants that improve osseointegration.

Fig. 6 mRNA expression levels of osteoclast related genes. X-axes represent days of culture, and y-axes represent expression levels relative to Ti group of the first time point. Data are shown as the mean \pm SD ($n = 6$). *Statistically different between HA and Ti groups ($P < 0.05$)

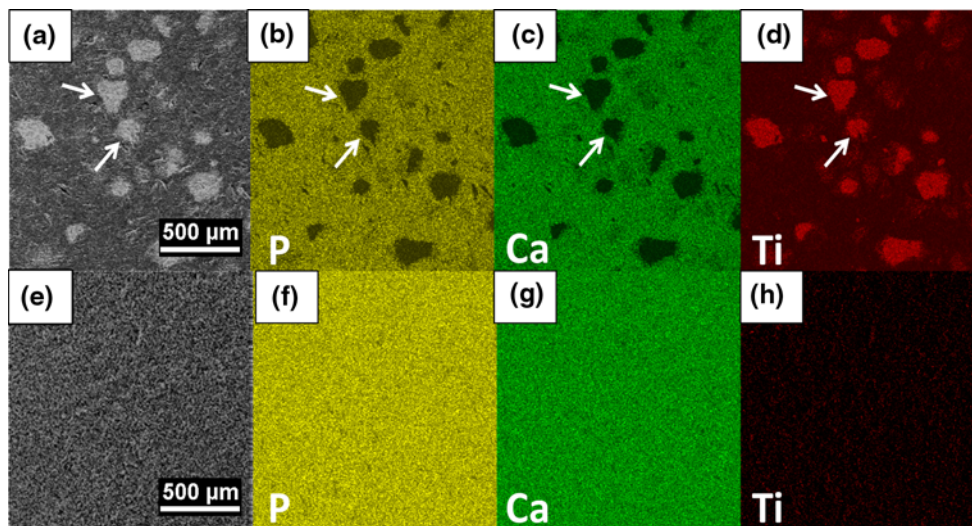
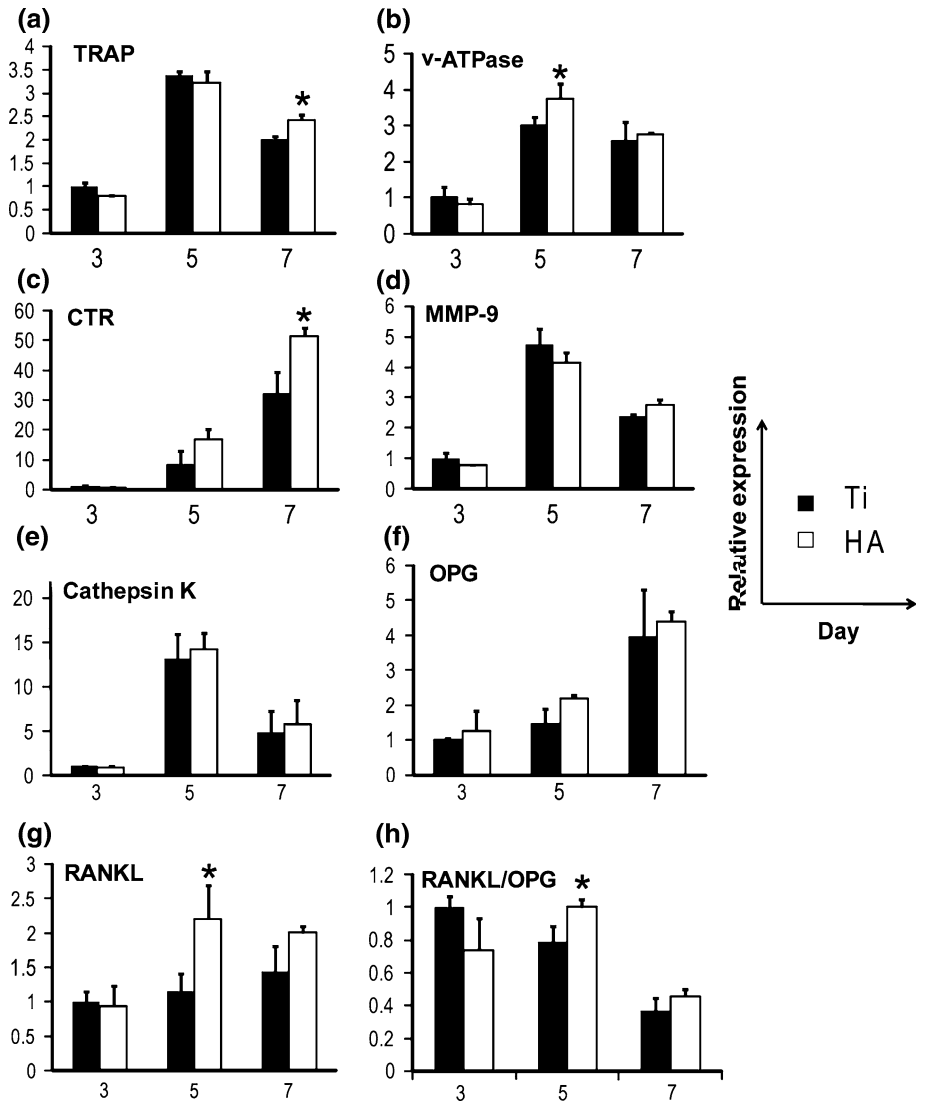


Fig. 7 SEM micrographs of HA coating (a, e) and corresponding X-ray elemental maps for P in yellow (b, f), Ca in green (c, g) and Ti in red (d, h). Osteoclast culture was performed on the HA coated Ti

plates for 7 days and the resorption areas were indicated by arrows (a–d). The HA coated Ti plates with no cells were soaked in the same culture medium for 7 days as control (e–h)

5 Conclusion

In conclusion, our study demonstrated that the thin film sputtered HA coating provides a more favorable surface for bone marrow stromal cell attachment, proliferation and osteoblastic differentiation and function than the surface-modified titanium. The sputtered HA coating also supported osteoclast formation and function which indicated its favorable biodegradability. Therefore, the sputtered HA coating may have an outstanding potential to be used as a drug delivery system in orthopedic and dental applications for more rapid and complete bone-implant integration.

Acknowledgments The authors thank Dr. H. Shimokawa, Dr. S. Ichinose and Mr. Y. Hashimoto for technical assistance and helpful advice. This study was supported by the Global Center of Excellence (GCOE) Program, International Research Center for Molecular Science in Tooth and Bone Disease's, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan.

References

- Lacefield WR. Hydroxyapatite coatings. *Ann N Y Acad Sci.* 1988;523:72–80.
- Bidar R, Kouyoumdjian P, Munini E, Asencio G. Long-term results of the ABG-1 hydroxyapatite coated total hip arthroplasty: analysis of 111 cases with a minimum follow-up of 10 years. *Rev Chir Orthop Traumatol.* 2009;95(8):579–87.
- Thomas KA. Hydroxyapatite coatings. *Orthopedics.* 1994;17(3):267–78.
- Narayanan R, Seshadri SK, Kwon TY, Kim KH. Calcium phosphate-based coatings on titanium and its alloys. *J Biomed Mater Res B.* 2008;85(1):279–99.
- Ong JL, Chan DC. Hydroxyapatite and their use as coatings in dental implants: a review. *Crit Rev Biomed Eng.* 2000;28(5–6):667–707.
- Zhu X, Son DW, Ong JL, Kim K. Characterization of hydrothermally treated anodic oxides containing Ca and P on titanium. *J Mater Sci Mater Med.* 2003;14(7):629–34.
- van Dijk K, Schaeken HG, Wolke JG, Jansen JA. Influence of annealing temperature on RF magnetron sputtered calcium phosphate coatings. *Biomaterials.* 1996;17(4):405–10.
- Massaro C, Baker MA, Cosentino F, Ramires PA, Klose S, Milella E. Surface and biological evaluation of hydroxyapatite-based coatings on titanium deposited by different techniques. *J Biomed Mater Res.* 2001;58(6):651–7.
- Yang Y, Kim KH, Ong JL. A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process—an alternative to plasma spraying. *Biomaterials.* 2005;26(3):327–37.
- Ozeki K, Mishima A, Yuhta T, Fukui Y, Aoki H. Bone bonding strength of sputtered hydroxyapatite films subjected to a low temperature hydrothermal treatment. *Biomed Mater Eng.* 2003;13(4):451–63.
- Ozeki K, Aoki H, Fukui Y. Dissolution behavior and in vitro evaluation of sputtered hydroxyapatite films subject to a low temperature hydrothermal treatment. *J Biomed Mater Res A.* 2006;76(3):605–13.
- Minkin C, Marinho VC. Role of the osteoclast at the bone-implant interface. *Adv Dent Res.* 1999;13:49–56.
- Gomi K, Lowenberg B, Shapiro G, Davies JE. Resorption of sintered synthetic hydroxyapatite by osteoclasts in vitro. *Biomaterials.* 1993;14(2):91–6.
- Doi Y, Shibutani T, Moriwaki Y, Kajimoto T, Iwayama Y. Sintered carbonate apatites as bioresorbable bone substitutes. *J Biomed Mater Res.* 1998;39(4):603–10.
- Maniatopoulos C, Sodek J, Melcher AH. Bone formation in vitro by stromal cells obtained from bone marrow of young adult rats. *Cell Tissue Res.* 1988;254(2):317–30.
- van't Hof RJ. Osteoclast formation in the mouse coculture assay. In: Helfrich MH, Ralston SH, editors. *Bone research protocols.* Totowa: Humana Press; 2003. p. 145–52.
- Ozawa S, Kasugai S. Evaluation of implant materials (hydroxyapatite, glass-ceramics, titanium) in rat bone marrow stromal cell culture. *Biomaterials.* 1996;17(1):23–9.
- Saltel F, Destaing O, Bard F, Eichert D, Jurdic P. Apatite-mediated actin dynamics in resorbing osteoclasts. *Mol Biol Cell.* 2004;15(12):5231–41.
- Kirstein B. Secretion of tartrate resistant acid phosphatase by osteoclasts correlates with resorptive behavior. *J Cell Biochem.* 2006;98(5):1085–94.
- Roodman GD. Advances in bone biology: the osteoclast. *Endocr Rev.* 1996;17(4):308–32.
- Sasaki T, Hong MH, Udagawa N, Moriyama Y. Expression of vacuolar H(+)-ATPase in osteoclasts and its role in resorption. *Cell Tissue Res.* 1994;278(2):265–71.
- Saftig P, Hunziker E, Wehmeyer O, Jones S, Boyde A, Rommerskirch W, et al. Impaired osteoclastic bone resorption leads to osteopetrosis in cathepsin-K-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95(23):13453–8.
- Tezuka K, Nemoto K, Tezuka Y, Sato T, Ikeda Y, Kobori M, et al. Identification of matrix metalloproteinase 9 in rabbit osteoclasts. *J Biol Chem.* 1994;269(21):15006–9.
- Gori F, Hofbauer LC, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S, Riggs BL. The expression of osteoprotegerin and RANK ligand and the support of osteoclast formation by stromal-osteoblast lineage cells is developmentally regulated. *Endocrinology.* 2000;141(12):4768–76.
- Lossdörfer S, Schwartz Z, Wang L, Lohmann CH, Turner JD, Wieland M, et al. Microrough implant surface topographies increase osteogenesis by reducing osteoclast formation and activity. *J Biomed Mater Res A.* 2004;70(3):361–9.
- Aoki H. *Medical applications of hydroxyapatite.* Tokyo, St. Louis: Ishiyaku EuroAmerica Inc.; 1994.
- Ozeki K, Aoki H, Fukui Y. Effect of pH on crystallization of sputtered hydroxyapatite film under hydrothermal conditions at low temperature. *J Mater Sci.* 2005;40(11):2837–42.
- Matsumoto T, Okazaki M, Inoue M, Yamaguchi S, Kusunose T, Toyonaga T, et al. Hydroxyapatite particles as a controlled release carrier of protein. *Biomaterials.* 2004;25(17):3807–12.
- Nakamura I, Duong IT, Rodan SB, Rodan GA. Involvement of alpha(v)beta3 integrins in osteoclast function. *J Bone Miner Metab.* 2007;25(6):337–44.
- Keselowsky BG, Collard DM, Garcia AJ. Integrin binding specificity regulates biomaterial surface chemistry effects on cell differentiation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(17):5953–7.
- Schneider GB, Zaharias R, Stanford C. Osteoblast integrin adhesion and signaling regulate mineralization. *J Dent Res.* 2001;80(6):1540–4.
- Zhao C, Irie N, Takada Y, Shimoda K, Miyamoto T, Nishiwaki T, et al. Bidirectional ephrinB2-EphB4 signaling controls bone homeostasis. *Cell Metab.* 2006;4(2):111–21.
- Karsdal MA, Neutzsky-Wulff AV, Dziegiel MH, Christiansen C, Henriksen K. Osteoclasts secrete non-bone derived signals that induce bone formation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;366(2):483–8.

Bilinear elastic property of the periodontal ligament for simulation using a finite element mandible model

Libor BORÁK¹, Zdenek FLORIAN¹, Sonia BARTÁKOVÁ², Patrik PRACHÁR², Natsuko MURAKAMI³, Masahiro ONA³, Yoshimasa IGARASHI³ and Noriyuki WAKABAYASHI³

¹Institute of Solid Mechanics, Mechatronics and Biomechanics, Brno University of Technology, Antonínská 548/1 CZ 601 90 Brno, Czech Republic

²Stomatological Clinic, Faculty of Medicine, Masaryk University, Žerotínovo nám. 617/9, Brno-město, Brno, Czech Republic

³Removable Partial Prosthodontics, Department of Masticatory Function Rehabilitation, Division of Oral Health Sciences, Graduate School, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8549, Japan

Corresponding author, Noriyuki WAKABAYASHI; E-mail: wakabayashi.rpro@tmd.ac.jp

This study aimed to introduce a procedure for determining the bilinear elastic moduli (E1 and E2) of the periodontal ligament for a mathematical tooth model to analyse stress in the mandible. The bone and tooth morphology were scanned from a dry skull and an extracted intact tooth, respectively, and reconstructed in a three-dimensional finite element model. The model showed good agreement with previously reported *in vivo* premolar movement when an E1 for the first phase tooth movement of 0.05 MPa and an E2 for the second phase of 8.0 MPa with ϵ_{12} of 0.075 were adopted. The mandible model analysis indicated that a remarkably high maximum compressive stress in the cervical cortical bone and the tensile stress in areas of masticatory muscle attachment were found. Future stress analyses using a jaw model may follow the process of determination of bilinear moduli to enhance accurate simulation with less calculation time.

Keywords: Finite element analysis, Elastic modulus, Mandibular bone

INTRODUCTION

The effect of masticatory forces on the supporting mandible is not sufficiently understood in terms of stress and strain. To determine the influence of masticatory forces on potential risks of damage in the oral tissues, the stress distributions created in the oral structures under function must be determined¹⁾. The three-dimensional finite element (FE) method has been used to estimate the stress distribution within soft and hard tissues²⁾. In such mathematical models, tooth movement is ideally represented as a nonlinear behaviour, because the relationship between applied force and tooth displacement is expressed by a non-linear curve rather than by a straight line. According to a classic paper from the 1950s³⁾, the incisor tooth was largely displaced during a small horizontal force up to 1 N, though the increment of the displacement was very small at a force above 100 N, resulting in the conclusion that this displacement was a 2-phase movement.

Application of the non-linear material properties of the periodontal ligament (PDL) to simulate tooth movement allowed accurate prediction of stress in periodontal tissues⁴⁻⁶⁾. However, because non-linear analysis requires a large number of load steps compared with linear structural analysis, the non-linear solutions in a tooth model usually result in a tremendous computer running time. To overcome the disadvantages of both linear and non-linear analyses, an alternative methodology using 2 moduli for approximation of the non-linear curve was advocated⁷⁾. Measurements of the

load-displacement relationship of teeth in rats⁴⁾ and pigs⁵⁾ were approximated by bilinear models. A decision process of the bilinear moduli should be conducted for each model, usually by the inverse problem approach so that each model accurately simulates the load-displacement relationship of a tooth. However, a method to determine the bilinear elastic moduli is not established.

In this study, a three-dimensional FE model was created to reproduce the load-displacement of the mandibular second premolar. The aim of the study was to introduce a procedure for determining bilinear elastic moduli, and to analyse the principal stress distribution in the supporting mandibular bone under the simulated occlusal bite force generated by the masticatory muscles.

MATERIALS AND METHODS

A finite element model

The model consisted of the mandibular right second premolar, the periodontal ligament (PDL), and the cancellous and cortical bone. The outline morphology of the bone and the tooth were scanned from a dry skull and an extracted intact tooth, respectively (Figs. 1a and b). For this purpose, optical scanner ATOS was used (ATOS Standard 3D; GOM mbH, Braunschweig, Germany). In this specific case, the device was calibrated for the camera and projector lenses focal length of 35 mm and 17 mm, respectively. The accuracy of the device is about 0.1 mm. The tooth had a crown length, from the occlusal cusp to the cement-enamel junction, of 8.1 mm and a root length, from the cement-enamel junction to the root apex, of 13.4 mm. The morphological data were reconstructed in a three-dimensional solid volume in the

Color figures can be viewed in the online issue, which is available at J-STAGE.

Received Oct 19, 2010; Accepted Mar 15, 2011

doi:10.4012/dmj.2010-170 JOI JST.JSTAGE/dmj/2010-170

CAD program (Rhinoceros version 3.0; Robert McNeel and Associates) and in the preprocessor of the FE program (ANSYS 11.0; ANSYS Inc., Canonsburg, PA, USA) in the following way: The data in STL-format created by the ATOS were exported into the Rhinoceros. The reconstruction of the individual parts was carried out and afterwards exported through IGES-format into the Ansys for the final arrangement of the model. The position of the tooth model in the mandible was determined based on the typical radiographic view seen in the Caucasian adults of healthy periodontal condition. A 0.25 mm-thick homogeneous layer of the PDL was attached to the root surface. The bone was modelled as a cancellous core surrounded by the cortical bone with an approximate thickness between 0.2 mm and 2.5 mm, depending on the location. The smallest value was used for the thin cortical bone layer around the tooth socket. The value of 2.5 mm was used for the rest of the model since it is a typical thickness in mandible⁹⁻¹⁰. The cortical bone of the whole mandible model was meshed by a 4-node triangular shell element (cortical bone in general; free mesh) and an 8-node quadrilateral shell element (lamina dura; mapped mesh). The cancellous bone was meshed by a 10-node tetrahedral solid element (free mesh). Enamel, dentin, and periodontium were meshed by a 20-node hexagonal solid element (mapped mesh). The decision to exclude the pulp chamber and the dentine structure from the model was based on the preliminary test in addition to the previous study⁹, in which the effects of these factors were found to be negligible upon the comparative evaluations of the stress distributions in the periodontal structures and the supporting bone. The model consisted of 151,578 elements. The element edge length on the surface boundaries for the tooth was 0.25-0.50 mm and was 2 mm for the bone.

To determine the bilinear moduli of the PDL, a segmented bone model was constructed by retrieving a block from the right premolar vicinity of the mandible model (Fig. 1c). The maximum bucco-lingual width, mesial-distal length, and vertical height of the segment model were 18 mm, 20 mm, and 25 mm, respectively. The model was meshed by structurally solid elements defined by 20 nodes having 3 degrees of freedom in tetrahedral bodies consisting of 61,266 elements. The mesh size and arrangement were determined by preliminary convergence tests for consistency of the maximum principal stress in the cortical bone¹¹.

Material Properties

The tooth and the bone structures were assumed as homogeneous, isotropic, and linear elastic materials. The modulus of elasticity (E) and Poisson's ratio (μ) of each tissue were referred from previous studies^{7,12-16} and are shown in Table 1. Nine combination groups of different bilinear elastic moduli of the PDL for each phase (E1 and E2) were assumed for comparison (M1-M9, Table 2). Values of E1 and E2 which were to be investigated were proposed on the basis of earlier papers^{7,8,12,13}. In these papers E1 and E2 ranged from 0.05 MPa to 0.15 MPa and from 0.18 MPa to 5.24 MPa,

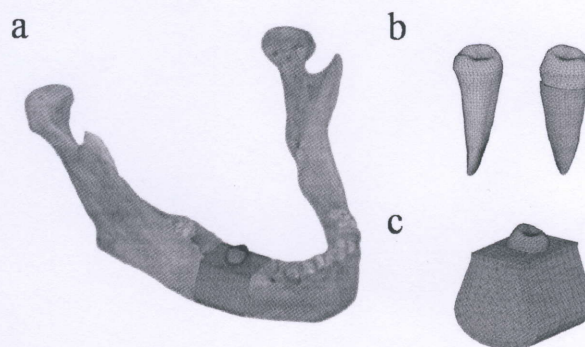


Fig. 1 Three-dimensional finite element models. a: The mandibular bone reconstructed from a dry skull. The segmented area is shown in red. b: Meshed second premolar tooth model without (left) and with (right) the periodontal ligament. c: Meshed segment model with the cortical (red) and cancellous bone (purple) structures.

Table 1 The modulus of elasticity (E) and Poisson's ratio (μ) of the tooth structures and the bone. Data were referred from previous studies^{7,10-14}.

	E (MPa)	μ
Cortical bone	16,000	0.3
Cancellous bone	690	0.3
Dentin	19,000	0.3
Enamel	84,000	0.3

Table 2 Nine combination groups of different elastic moduli of the PDL for the first and second phases (E1 and E2) with strain ranges below and over $\epsilon_{12}=0.075$, respectively.

	E ₁ (MPa)	E ₂ (MPa)
M1	0.05	0.1
M2	0.05	0.5
M3	0.05	0.9
M4	0.10	0.1
M5	0.10	0.5
M6	0.10	0.9
M7	0.05	2.5
M8	0.05	5.0
M9	0.05	10.0

respectively. The proposed values were intended to cover evenly already known values and also to investigate values which were not taken into account so far. The values of E1 and E2 were used in strain ranges below and over $\epsilon_{12}=0.075^{(7)}$, respectively^{17,18)}. For the finite element method, a bilinear material was modeled using "multilinear elastic model option" which was included in the Ansys material library. The bilinear properties were input into the program as the stress-strain relationship of the PDL represented by two moduli, or two lines in the X-Y coordinate. In detail, the program requires for the multilinear material curve "n" pairs of values (for the constant temperature): stress 1 - strain 1, stress 2 - strain 2, up to stress n - strain n. As for the bilinear material ($n=2$), these stress and strain values were calculated from the characteristics E1, E2 and ϵ_{12} . Therefore, the nonlinear relationship between the stress and strain for the PDL was simply composed of the two linear parts. For all the bilinear properties tested, the displacements at the top of the buccal cusp by using the segment model with these bilinear properties were plotted as a function of the output vertical forces (Fig. 2a) and were analysed by comparing with previously reported experimental data¹⁹⁾. As the boundary condition, zero displacement was prescribed for the nodes of the lower surface of the cortical bone in all directions. The bilinear material was modeled by using a pre-defined 'multilinear model' which is part of Ansys material library. E1 and E2 were investigated by running consecutive solutions governed by macros written in Ansys Parametric Design Language (APDL).

Loading and boundary conditions

The bilinear property obtained by the segment model was used in the calculations of the mandible model (Fig. 2b). The masticatory forces were assumed at the areas of the masticatory muscle attachments on the bone surface for *M. masseter* (F_{MR} and F_{ML} on the right and left sides, respectively, Fig. 2b), *M. temporalis*, (F_{TR} and F_{TL}) and *M. pterygoideus medialis* (F_{PR} and F_{PL}). The upper surfaces of the right and left condyles were fixed in all directions. A preliminary analysis was carried out to obtain optimal force magnitudes so that the resultant occlusal force in the second premolar constraint was 190 N¹⁸⁾, which was applied in the vertical direction to the tooth. The preliminary analysis was based on the model of the same shape and material properties. The only difference was that all active muscles were modelled using finite 'link' element (with the tension-only option). The stiffness of the active-muscle elements is supposed to be much higher than the other materials, e.g. Young's modulus of more than 100,000 MPa. 'Free' ends of the muscles were constrained in all directions. Nodes on the bilateral condyles were fixed in all direction as well. The inner force resultants in the muscles were determined on the basis of the principles of equilibrium: 54 N for the left *M. masseter*, 116 N for the right *M. masseter*, 4 N for the left *M. temporalis*, 85 N for the right *M. temporalis*, 78 N for the left *M. pterygoideus medialis*, and 115 N for the right *M. pterygoideus medialis*. Obtained values were

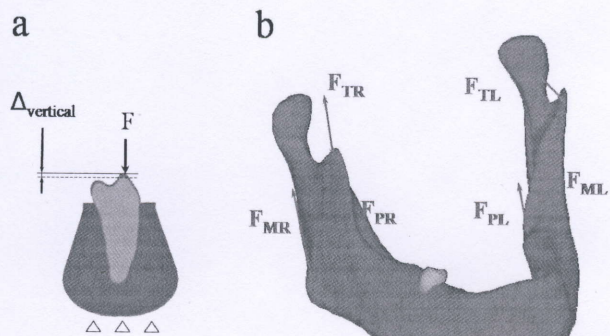


Fig. 2 Loading and boundary conditions. a: Buccolingual cross section view of the segment model. The vertical loading (F) and the resultant displacement (Δ) are indicated with the location of fixation (triangles). b: The mandible model. Red arrows indicate the location and direction of the load generated by each muscle (see text for detail).

similar in order of magnitude to those reported previously²¹⁾. Note that the right side of the mandible is the biting side and the left side is the balancing side. In the 'main' analysis, the determined masticatory forces were applied and the boundary condition was modified: The occlusal force of 190 N used in the preliminary analysis was removed and instead the zero displacement was prescribed for nodes on the occlusal surface of the tooth in the vertical direction. The principal stress distribution in the model was calculated under the loading condition.

Additional calculations were performed to evaluate the maximum principal strain of the mandibular bone, with decreased masticatory forces, which were determined by multiplying the original forces by scale factors of 0.1, 0.05, 0.01 and 0.005. For control, the maximum principal strain at the same node was obtained using a linear elastic modulus of 8.0 MPa. These were conducted to evaluate the influence of the bilinear property on the nonlinear characteristics of the maximum principal strain in the mandible model. All calculations were conducted on a hardware platform with Intel® Core™ i7 CPU 950/3.07GHz RAM 12.0 GB and the operation system Windows 7. The approximate calculation time for the segmented and the mandible models were 10 min and 20 min, respectively.

RESULTS

The vertical displacement of the tooth cusp of the segmented model as a function of the load up to 2 N is shown with experimental data from a previous report¹⁹⁾ in Fig. 3. A higher modulus of 0.1 MPa for E1 was entered into M4, M5, and M6 that was not suited for a rapid increment of the initial tooth movement. Figure 4 shows

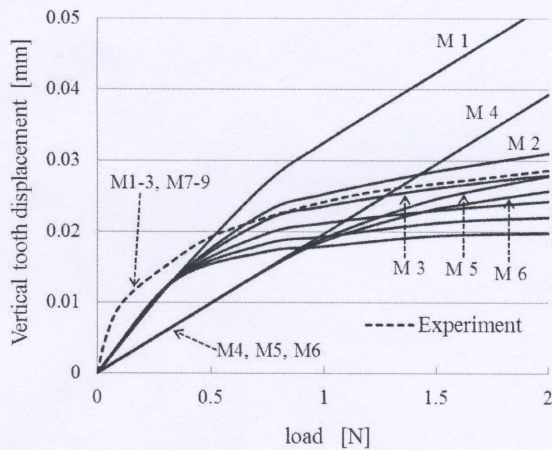


Fig. 3 The load-displacement relationship of the segment model for the small load range. The reported experimental data were shown by the dotted curve¹⁹⁾.

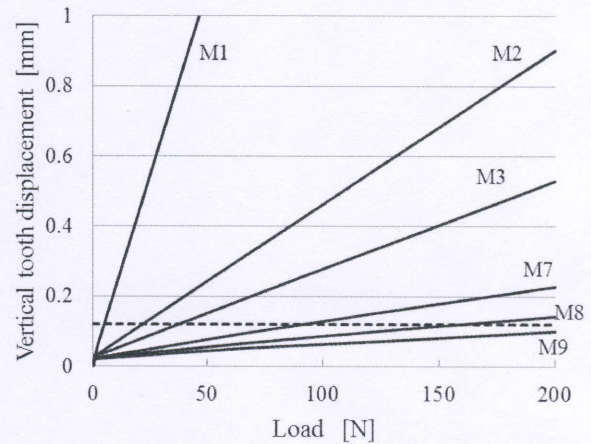


Fig. 4 The load-displacement relationship of the segment model for a load up to 200 N. The dotted horizontal line represents the reported vertical intrusion of 0.12 mm²²⁾.

the load-displacement relationship of the rest of the models (M1 to M2, and M7 to M9) under high load up to 200 N. The dotted horizontal line represents a presumed vertical intrusion of 0.12 mm for a typical healthy mandibular premolar tooth under the maximum clenching effort²²⁾. The M1 to M3 showed considerably higher displacement compared with the reference intrusion due to their lower E2 values, thus not considered for further selecting process. Plots of the vertical displacement as a function of E2 are shown in Fig. 5. The approximated relationship can be expressed by the curve $y=0.4994x^{-0.742}$, with a coefficient of correlation (R^2) of 0.9912, where x is E2 and y is vertical displacement. Accordingly, the reported displacement of 0.12 was obtained by an x value of approximately 8 MPa. The result showed that the movement of the segment model agreed with previously reported *in vivo* premolar movement when an E1 for the first phase tooth movement of 0.05 MPa and an E2 for the second phase of 8.0 MPa were adopted.

Distributions of the maximum first principal stress (tensile stress) in the cortical bone are shown in Fig. 6a. Concentration of the tensile stress up to 10.3 MPa was found in some regions of the masticatory muscle attachment and on the alveolar cancellous bone. Increased tensile stress was apparent in the oblique line of the mandible, mainly on the right side. A considerable increase in tensile stress was also found in the region near the bottom of the tooth socket. Figure 6b shows the distributions of the minimum third principal stress (maximum compressive stress) in the mandible. Remarkably high values were found in the neighbourhood of cervical areas, close to the contact with a model tooth and in the area towards the angle of the mandible. An increased pressure load was also apparent on the back side, close to the ramus of the mandible. Concentration of compressive stress was found in the cancellous bone

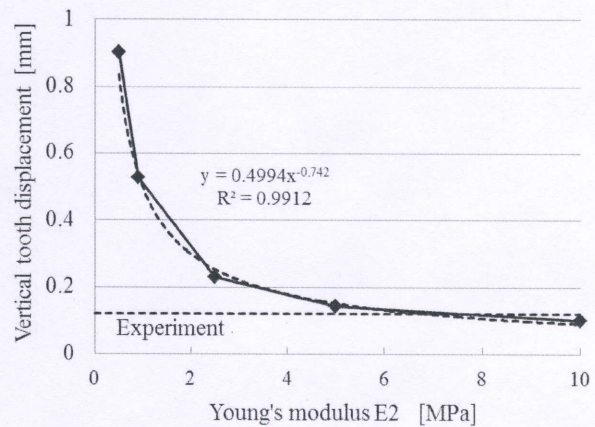


Fig. 5 Plotted vertical displacement under the load of 200 N as a function of the E2 (E1=0.05). The approximated relation was represented by the dotted curve $y=0.4994x^{-0.742}$ with a coefficient of correlation (R^2) of 0.9912. The horizontal line indicates the reported vertical displacement of 0.12 mm²²⁾.

near the apex of the tooth. A series of cross sections in mesiodistal planes are presented for the maximum compressive stress distributions of the cancellous bone (Fig. 7).

The maximum principal strain of the alveolar cancellous bone was shown at a site near the tooth socket. The maximum principal strain as a function of the load up to 20 N (Fig. 8) was graphed for both the bilinear and the linear properties. For the bilinear model, the maximum principal strain increased non-linearly with the increase of the load, while the strain-load relationship was linear proportional for the linear model.

a First Principal (tensile) stress

b Third Principal (compressive) stress

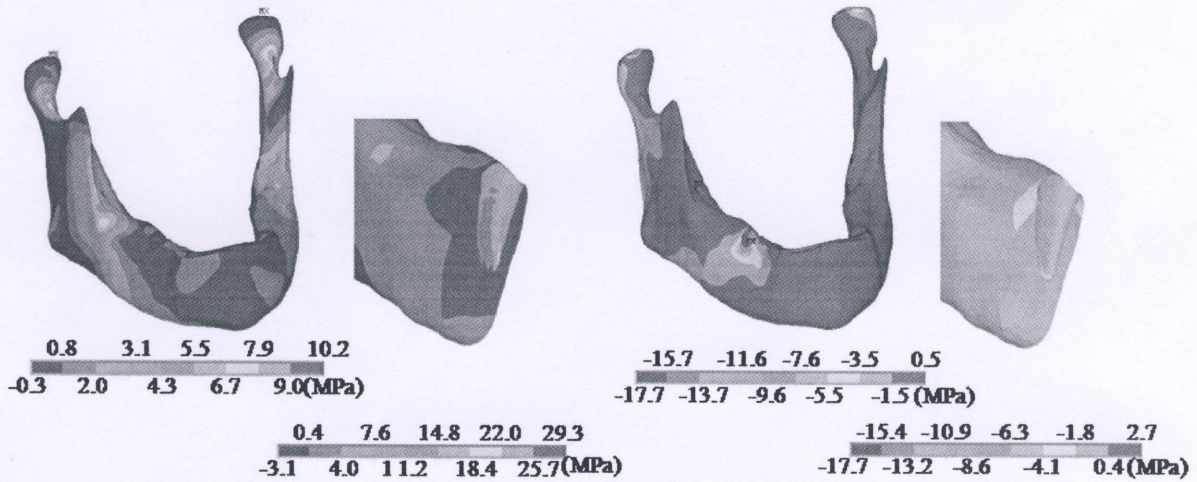


Fig. 6 Principal stress contour graphics of the mandible model. The first principal tensile stress (a) and the third principal compressive stress (b) distributions are shown by the whole mandible (left) and of the cross-sectioned distal half at the premolar (right).

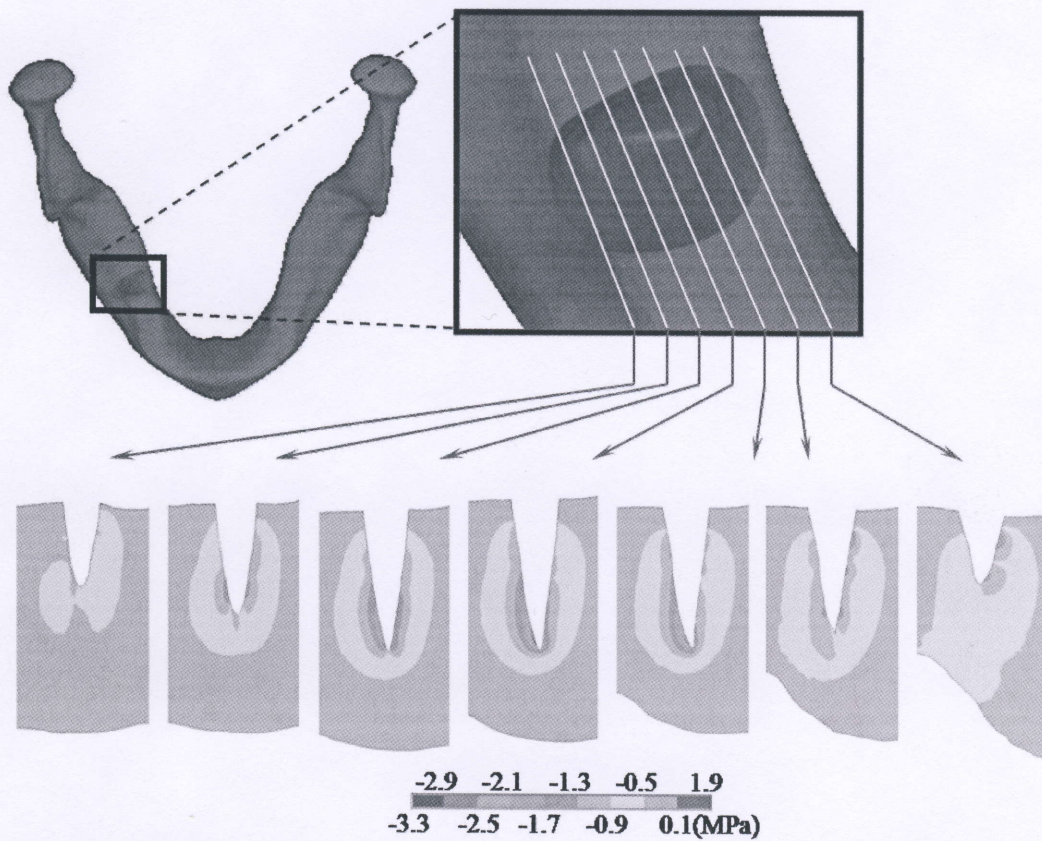


Fig. 7 The third principal (compressive) stress distributions of the cancellous bone on a series of cross sections by mesial-distal planes in the second premolar vicinity.

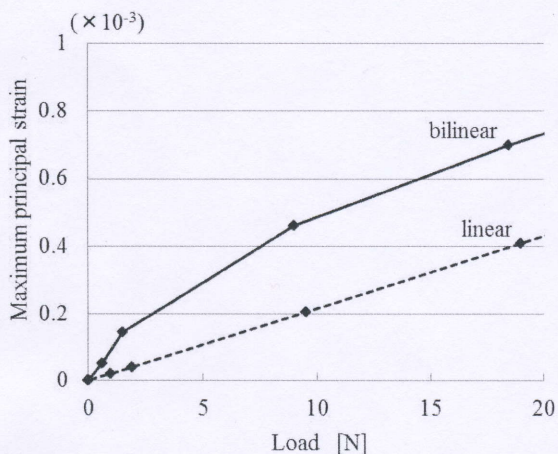


Fig. 8 The relationship of the load and the maximum principal strain of the cancellous bone near the root apex. Solid line indicates the calculated data by the bilinear property ($E_1=0.05$ MPa, $E_2=8$ MPa), while dotted line represents the result of the linear analysis ($E=8$ MPa).

As a result, the magnitude of the maximum strain of the mandible model incorporating the linear property was not consistent with that incorporating the bilinear model.

DISCUSSION

Tooth movement as a load-displacement relationship is typically represented by a 2-phase movement. The first phase corresponds to an elastic range of periodontal ligaments, and the second phase corresponds to deformation of alveolar bone with a stretch of the PDLs on the tensile side³. Therefore, the agreement of simulation-based tooth movement with *in vivo* data should be assessed in both the first and second phases of tooth movement. The initial process was conducted for a load less than 2 N. Most available experimental data of the stress-strain relationships of the human PDL were obtained in the range of relatively small tooth movements, presumably because of the limitations of high load applications on human subjects. The nonlinear exponential behaviour of tooth displacement in human subjects has therefore been indicated by cases of relatively low loads, and typically, moduli from 0.12 MPa to 0.96 MPa were obtained under loads between 0 N and 2.0 N²³.

The congruency between numerical force/deflection curves by various bilinear parameters and experimental curves were assessed and obtained from the rat mandibular first molars⁹ and from multi-rooted minipig teeth⁸, and an E_2 of 0.60 MPa and 0.18 MPa⁹, respectively, were derived from these studies. These considerably low values in comparison with those obtained in the current study ($E_2=8.0$ MPa) were

attributed to the fact that the applied loads in these studies were very low, from 0.15 N to 6 N. Models with lower E_2 are likely to create an unrealistically large tooth displacement under a simulated large bite force such as 200 N (see M1-M3 in Figs. 4 and 5). However, in studies using bovine molar teeth²⁴ and teeth from human cadavers²³, the modulus was calculated on the basis of stress-strain plots with more than 0.4% strain that should be created by a large bite force. The former study²³ reported that the elastic modulus of PDL ranged between 4 MPa and 8 MPa, which is in agreement with the result obtained in this study.

To assume the linear elasticity as a constant material property of the periodontal ligament may lead to an erroneous solution in the finite element method. This was clearly shown by the result that the maximum strain of the mandible was not precisely obtained in the linear property model throughout the large load range (Figs. 8). If an intermediate constant is used as the elastic modulus of PDL, the tooth displacement would be too small under a relatively low bite force, and too high under a high load. The use of the linear static model is suitable only for expression of deformation of a tooth under a specific range of applied load. To express this nonlinear behavior of PDL, an elastic property in the form of a stress-strain curve may be input into an FEM program. The load applied to a model is subdivided into a series of multiple load increments. In each step, the program performs a linear solution and checks for convergence. If the convergence criteria are not satisfied, the load vector is reevaluated, and a new solution is obtained. This iterative procedure continues until the problem converges. Thus, the nonlinear solutions on a three-dimensional tooth model often result in an unstable solution or calculation error on the computer.

A bilinear elastic property used in a model that was capable of predicting accurate movements often fails to predict accuracy in models with different morphology and dimensions. The use of bilinear moduli as a definitive property for a future mathematical model with a different morphology is therefore questionable. The methodology to determine the bilinear moduli of the PDL in this study was simple and reasonably applicable for models with similar objectives; therefore, we propose that future studies should follow this procedure to determine the property of each new model.

The stress analyses based on simulation in a jaw is a promising tool for risk assessment of damage and degradation of the bone and soft tissues. It is useful for the preclinical phase evaluation of implant placement and orthodontic treatment²⁵. Such a structural analysis allows determination of deformations, strains, and stresses that are caused by applied force, pressure, and thermal change. This method helps tremendously to indicate the distribution of stresses in biomaterials and human tissue that cannot be measured *in vivo*. On the basis of the stress contour graphics of sectioned tooth, it is clear that the maximum tensile stress is located close to the tooth apex, where stress value is affected by intrusion of the tooth and also by the limited thickness of

cortical bone. The maximum stress of the model of this study did not exceed 3 MPa, and this finding is consistent with the reported contact pressures or principal stresses in human joint areas such as the hip, knee, or elbow, which are usually similar to the maximum stress in the cancellous bone surrounding a tooth^{26,27}. Further studies are needed to enhance the methodological development of bone resorption and necrosis prediction by evaluating the maximum tensile/compression stresses calculated in mechanical simulation using the jaw models.

ACKNOWLEDGMENTS

This research was carried out within the framework of the Stomatological Research Center of the Masaryk University, Brno. The research was supported by the funding No. SVC 1M0528 MŠMT provided by the Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic. The work on the model was funded by the Research plan MSM 0021630518. Simulation modelling of mechatronics systems was provided by the Czech Ministry of Education, Youth and Sports. The research was also supported by grant specific research FSI-J-10-70.

REFERENCES

- 1) Kawarizadeh A, Bourauel C, Zhang D, Götz W, Jäger A. Correlation of stress and strain profiles and the distribution of osteoclastic cells induced by orthodontic loading in rat. *Eur J Oral Sci* 2004; 112: 140-147.
- 2) Song Y, Debski RE, Musahl V, Thomas M, Woo SL. A three-dimensional finite element model of the human anterior cruciate ligament: a computational analysis with experimental validation. *J Biomech* 2004; 37: 383-390.
- 3) Mühleemann HR. Periodontometry, a method for measuring tooth mobility. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1951; 4: 1220-1233.
- 4) Kawarizadeh A, Bourauel C, Jäger A. Experimental and numerical determination of initial tooth mobility and material properties of the periodontal ligament in rat molar specimens. *Eur J Orthod* 2003; 25: 569-578.
- 5) Ona M, Wakabayashi N. Influence of alveolar support on stress in periodontal structures. *J Dent Res* 2006; 85: 1087-1091.
- 6) Wakabayashi N, Ona M, Suzuki T, Igarashi Y. Nonlinear finite element analyses: advances and challenges in dental applications. *J Dent* 2008; 36: 463-471.
- 7) Poppe M, Bourauel C, Jäger A. Determination of the elasticity parameters of the human periodontal ligament and the location of the center of resistance of single-rooted teeth a study of autopsy specimens and their conversion into finite element models. *J Orofac Orthop* 2002; 63: 358-370.
- 8) Ziegler A, Keilig L, Kawarizadeh A, Jäger A, Bourauel C. Numerical simulation of the biomechanical behaviour of multi-rooted teeth. *Eur J Orthod* 2005; 27: 333-339.
- 9) Fukase H. Functional significance of bone distribution in the human mandibular symphysis. *Anthropol Sci*, 2007; 115: 55-62.
- 10) Schwartz-Dabney, C.L., Dechow, P.C., Variations in cortical material properties throughout the human dentate mandible, *Am J Phys Anthropol*, 2003; 120: 252-277.
- 11) Al-Sukhun J, Kelleway J. Biomechanics of the mandible: Part II. Development of a 3-dimensional finite element model to study mandibular functional deformation in subjects treated with dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2007; 22: 455-466.
- 12) Dorow C, Krstin N, Sander FG. Experiments to determine the material properties of the periodontal ligament. *J Orofac Orthop* 2002; 63: 94-104.
- 13) Dorow C, Krstin N, Sander FG. Determination of the mechanical properties of the periodontal ligament in a uniaxial tensional experiment. *J Orofac Orthop* 2003; 64: 100-107.
- 14) Dorow C, Schneider J, Sander FG. Finite element simulation of *in vivo* tooth mobility in comparison with experimental results. *J Mech Med Biol* 2003; 3: 79-94.
- 15) Gei M, Genna F, Bigoni D. An interface model for the periodontal ligament. *J Biomech Eng* 2002; 124: 538-546.
- 16) Tanne K, Yoshida S, Kawata T, Sasaki A, Knox J, Jones ML. An evaluation of the biomechanical response of the tooth and periodontium to orthodontic forces in adolescent and adult subjects. *Br J Orthod* 1998; 25: 109-115.
- 17) Natali A, Pavan P, Carniel E, Dorow C. Viscoelastic response of the periodontal ligament: an experimental-numerical analysis. *Connect Tissue Res* 2004; 45: 222-230.
- 18) Tanne K, Inoue Y, Sakuda M. Biomechanical behavior of the periodontium before and after orthodontic tooth movement. *Angle Orthod* 1995; 65: 123-128.
- 19) Parfitt GJ. Measurement of the physiological mobility of individual teeth in an axial direction. *J Dent Res* 1960; 39: 608-618.
- 20) Kawaguchi T, Kawata T, Kuriyagawa T, Sasaki K. *In vivo* 3-dimensional measurement of the force exerted on a tooth during clenching. *J Biomech* 2006; 40: 244-251.
- 21) Kober C, Stübinger S, Hellmich C, Sader R, Zeilhofer HF. Finite element simulation of the human mandible: the role of (natural) teeth. *Int J Comput Dent* 2008; 11: 169-174.
- 22) Kato K. The function of tooth supporting structures. Part II. The dynamics of molars in function and at rest. *J Jpn Prosthodont Soc* 1982; 26: 133-147.
- 23) Yoshida N, Koga Y, Mimaki N, Kobayashi K. *In vivo* determination of the centres of resistance of maxillary anterior teeth subjected to retraction forces. *Eur J Orthod* 2001; 23: 529-534.
- 24) Pini M, Wiskott HW, Scherrer SS, Botsis J, Belser UC. Mechanical characterization of bovine periodontal ligament. *J Periodontol Res* 2002; 37: 237-244.
- 25) Cattaneo PM, Dalstra M, Melsen B. The finite element method: a tool to study orthodontic tooth movement. *J Dent Res* 2005; 84: 428-433.
- 26) Takatori K, Hashizume H, Wake H, Inoue H, Nagayama N. Analysis of stress distribution in the humeroradial joint. *J Orthop Sci* 2002; 7: 650-657.
- 27) Vaverka M, Návrat TS, Vrbka M, Florian Z, Fuis V. Stress and strain analysis of the hip joint using FEM. *Technol Health Care* 2006; 14: 271-279.

Fixed Bicortical Screw and Blade Implants as a Non-Standard Solution to an Edentulous (Toothless) Mandible

Juraj Strecha^{1*}, Richard Jurkovic², Tomas Siebert³, Patrik Prachar⁴, Sonia Bartakova⁴

¹Eurodent Medima Ltd., Priehradka 20, 036 01 Martin, Slovak Republic

²Deimperio Ltd., Liscie Nivy 6, 821 08 Bratislava, Slovak Republic

³Dental Centre Ltd., Jeruzalemska 19, 91701 Trnava, Slovak Republic

⁴Clinic of Dentistry, Faculty of Medicine, Masaryk University and St. Anne's University Hospital, Pekarska 53, 65691 Brno, Czech Republic

Abstract

Aim This paper deals with the treatment of an atrophied toothless mandible with a fixing bridge carried by two non-standard implant systems.

Methodology Four bicortical screws were implanted into the frontal part of the mandible and one implant on each side was placed into the distal area of the mandible as a support for a fixing bridge.

Results During the years 2002 – 2007 the authors placed a total of 256 bicortical screw and 84 blade implants. During this

period only four bicortical screws and one blade implant failed. The primary and secondary surgical success rate was therefore above 98%, while the prosthetic success rate was 100%. (Bridges which had to be re-fabricated due to implant failure were not taken into account.)

Conclusion This approach is recommended as a highly successful and affordable option for a wide range of patients.

Keywords bicortical implant, blade implant, circular bridge, edentulous (toothless) mandible

Received Dec.17, 2009; Revision accepted Mar. 5, 2010

Introduction

A dental implant is a suitable substitution for one tooth or a group of teeth. After placing an implant into the alveolar bone of the mandible or the maxilla, the process of healing (osteointegration or osseointegration) begins. The length of healing varies, depending on anatomic conditions and the type of implant. Generally, in the first days after implantation, a phase of angiogenesis starts, followed by the formation of new osseous tissue in the bone around the implant. After two or three weeks, bone recovery accompanied by osteoclastic and osteoplastic phases takes place. An active osteointegration is said to begin approximately four weeks after implant placement. Good osteointegration requires choosing an appropriate atraumatic surgical procedure, sharp preservative tools,

and a stable position for the implant. Nowadays, implantologists attempt to accelerate the process of osteointegration by developing new implants with bioactive surfaces. Good primary stability of the implant is the most important requirement for osteointegration.

Good mandible bone is essential for successful application of various types of implants in different diagnoses. In spite of frequent and significant atrophy of the alveolar ridge of the mandible, the success rate of implantation is higher in the mandible than in the maxilla. A relatively wide interforaminal area offers sufficient osseous tissue for placement of enoseal implants. The most significant advantage of this procedure is that we can use the whole bone in the interforaminal area, especially the firm cortical layer of the mandible. The anatomy of this area provides an excellent

primary stability for implants and greatly encourages undisturbed and smooth osteointegration. Strain can be placed on the bicortical self-taping screws very soon or immediately after their placement. This area is also used for fixed as well as for removable partial dentures.

Materials and Methods

A bicortical implant is a one-phase self-taping screw which can be placed into both cortical layers of the mandible in the interforaminal area (Figure 1). The upper cortical layer can sometimes be a problem due to the destructive periodontal process and necessary correction of the alveolar ridge during implant placement. The bicortical implant is mainly applied to the lower cortical layer of the mandibular edge, where it is firmly fixed. The screwing part penetrates through the whole depth of the mandible, the polished part passing through a gingival layer and only an implant abutment protrudes into the oral cavity (Figure 2). Implant abutments can be of various shapes for bond or screw crowns. The number of bicortical implants that can be placed into the interforaminal area depends on the mass and quality of the bone. In our experience three implants are the minimum; four implants are ideal n. A very important requirement is to place bicortical implants as parallel as possible which is not a technical problem (Figure 2).



Figure 1 Bicortical implants

(Photo: Eurodent medima)

Lateral sections of an atrophied mandibular bone are often very problematic for placement of screw implants of an appropriate length. Lack of

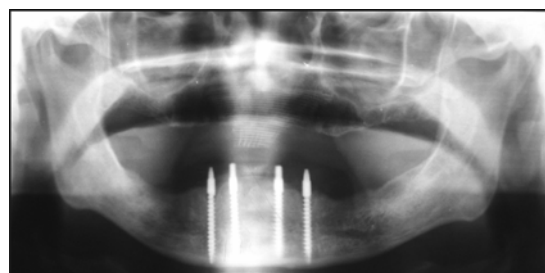


Figure 2 Bicortical implants in X-ray image

(Photo: Eurodent medima)

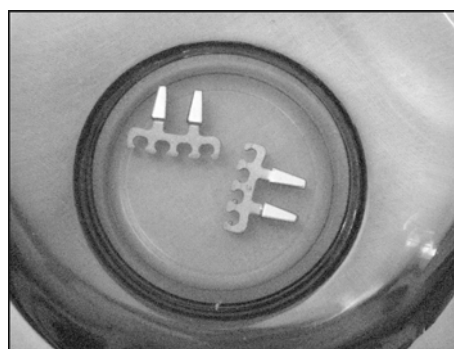


Figure 3 Blade implant

(Photo: Eurodent medima)

bone mass above the mandibular canal and a narrow and sharp edge disable even simple surgeries during screw implantation. Complicated surgical procedures in reconstruction of the alveolar ridge and subsequent placement of numerous screw implants have no place in common implantological practice. The anatomical shape of the mandible enables the surgeon to place blade implants by means of an atraumatic operative procedure (Figure 3). Application of blade implants requires surgical skills and adequate training.

Surgery

The surgical procedure begins with a crestal incision along the length of ten frontal teeth (from tooth 20 to tooth 29) and an auxiliary incision in the median plane towards the vestibule of the mouth. Subsequently a mucoperiost flap is made. This flap should be large enough to enable a good view into the operation field and provide enough space for modification of the alveolar ridge if necessary. In the area of the 22nd, 23rd, 26th and 27th tooth, holes are drilled into the lower edge of the mandible. When the drill reaches the corticalis

of the lower edge of the mandible, we continue drilling for about one more millimeter. The drilled holes have to be parallel to each other. Parallelism of drilling is controlled with metal probes placed into the drilled holes. The bone mash we obtain from drilling is stored for later use. The depth of the drilled holes is the same or slightly greater than the length of the thread of the chosen bicortical implants. We carefully place bicortical implants one by one into the holes (Figure 4). At this point it is necessary to emphasize that the implants have to be placed very slowly – by quarter-revolutions – because the cutting thread of an implant can produce significant friction during placement, overheating the surrounding bone and causing irreversible damage to it. When the implant reaches the bottom, it is tightened to 35 N·cm. Bicortical implants implanted in this fashion are very firm. We rinse the wound with a physiological solution and suture the mucoperiost with an atraumatic stitching material. We cut off the excessive margin of the mucoperiost flap, which remains from previous correction of the alveolar ridge, into a suitable width so that the suture remains without tension. The spaces between individual implants are sutured with vertical mattress stitches. In the neck area of the implants, we suture the mucoperiost from both sides with individual stitches very close to each implant.

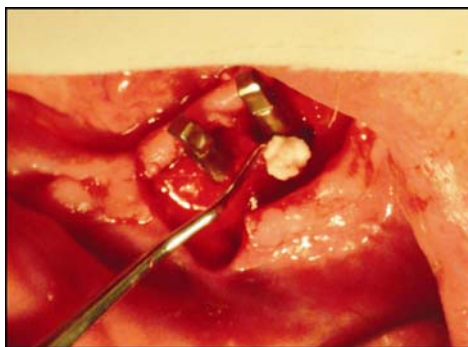


Figure 4 Bicortical implants with periimplant augmentation

(Photo: Eurodent medima)

In the second phase of the operation, we extend the original crestal incision distally up to section 8. Mucoperiost is lifted and the top of the alveolar ridge is cleared of scar tissues and slightly corrected. In section 6, we drill three holes with a fissure drill into the corticalis at a distance of 1–2 mm. We

interconnect these holes by means of the fissure drill to form a slot. Then we place a circular cutter (delivered by the producer of the blade implants) onto the slot and cut a groove into the corticalis the length of the body of the blade implant. Wherever necessary, we modify the required depth of the groove with the fissure drill. The entire procedure can also be done atraumatically using a more time-consuming surgical technique called piezosurgery (Sivolella *et al.*, 2007).

The blade implant is inserted into the prepared groove and softly knocked with an inserting tool and hammer to the bottom so that the implant body is placed approximately 1 mm below the alveolar ridge peak (Figure 5). A blade implant placed in this way is very stable. Then we fill the part of the groove over the implant body with the bone mash obtained in the first stage of operation. Finally, we suture the mucoperiost with mattress stitches in combination with individual stitches applied on both sides of the implant abutments (with slight bending it is possible to achieve parallel alignment of the abutments of blade implants on both sides). After the operation, the patient is given suitable analgesics and broad-spectrum antibiotics.



Figure 5 Preoperative image of bicortical implants and blade implant placed into the left lateral area of the mandible

(Photo: Eurodent medima)

Prosthetic Phase

Approximately ten days after operation, when the mucoperiost has healed, we remove the stitches and make a double imprint into a silicone imprint substance (Figure 6). With the first imprint we check the alignment of implants. Slight irregularities could be removed with a cutter before the

second imprint. The second imprint registers the occlusion of the opposite teeth. Then the prosthetic phase continues in a dental laboratory with a dental technician preparing a metal construction. Later we tested this construction by placing it onto the abutments (Figure 7). We checked its stability and the state of the individual abutments, connecting members and occlusion. It is advisable to check the bite occlusion once more with the silicone imprint and if necessary, the dental technician can re-plaster the models in an articulator, and finish the work by putting a ceramic layer on it. We test the prepared bridge by setting it on the abutments. When it was stable and causes no problems with articulation, we fix it with glass ionomer cement (Figure 8).



Figure 6 The state 10 days after placement of bicortical and blade implants
(Photo: Eurodent medima)



Figure 7 Test of a metal supra-structure
(Photo: Eurodent medima)

If the wound has not healed properly or there are complications, we postponed fabrication of a permanent bridge for three months, and the patient uses a temporary resin splint bridge.

As we have often used this procedure in elderly (toothless) patients, the shape of the fixing bridge



Figure 8 Fixed bridge
(Photo: Eurodent medima)

is modelled so that hygiene around the implants does not problems. This is easily achieved because, in the mandible, we focus more on function and hygiene than on “red-white” aesthetics. After completing the prosthetic phase, we instruct the patient on how to brush their “new teeth”. The first check-up is two weeks after the operation and depending on the result of the oral cavity examination; we then plan a further recall. Three months after implant load, we check the state of implants by X-ray, and then repeat this each successive year (Figure 9).

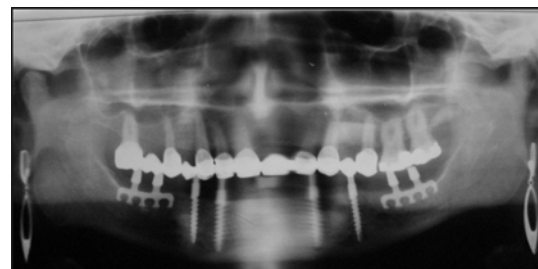


Figure 9 X-ray examination after 2 years
(Photo: Eurodent medima)

Results

From 2002 to 2007 we placed 256 bicortical implants into the mandible. We applied 84 blade implants into the lateral area of the mandible. We made 29 supported removable dentures and 32 fixed circular bridges. During this period only one blade implant broke. Four bicortical implants healed with fibrous integration and had to be removed. Out of these four, two bicortical implants were replaced with new implants into the neigh-

Table 1 Review of bicortical and blade implants use in the years 2002–2007

	Number of bicortical implants	Number of blade implants	Number of supported dentures	Number of circular bridges
Total number of implants	256	84	29	32
Failure of bicortical implants	4			
Failure of blade implants		1		
Success rate	98.4%	98.8%		
Men			8	15
Women			21	17
Mean age		58 years		

bouring area and the prosthesis was re-fabricated (Table 1).

In our experience, a successful implant placement depends on good primary healing of the mucoperiost above the implant body. This can be achieved with precise surgery of the mucoperiosteal lobe and application of atraumatic sutures. The success rate of bicortical implants is generally very high and can be further ensured by precise drilling into the tooth bed with a sharp drill and careful and slow insertion of the implants into the bone. The shape and exact length of bicortical implants (mainly the screw part) are ordered at a manufacturer according to data taken from the patient's orthopantomographic image or CT scan or an analysis of study models.

Discussion

The described method is a non-standard therapeutic treatment of an atrophied toothless mandible. Therapy by means of a Brånemark's bridge, which has up to now been modified by development of new implant surfaces, is still considered to be the "gold standard" in implantology (Brånemark *et al.*, 1987). This method is perfectly elaborated and described in many scientific studies; however, the costs are quite high for the patient. The procedure we have suggested in this paper is less expensive. This is a non-standard alternative to a fixed denture and the patients prefer it to a totally removable denture.

In screw implants, the heaviest strain is placed on the cervical area of the implant, on the site where the implant enters the crestal bone (Pierrisnard *et al.*, 2003). For implantologists – as well as

for us – this means that it is necessary to anchor the implants bicortically (if anatomy allows). This is the basis of this implant system (Payne *et al.*, 2001; Tawse-Smith *et al.*, 2001). The difference in this system is determining which cortical layer (besides corticalis of the crestal bone) is used for stabilization of the bicortically anchored implant. Joeng *et al.* tried a model anchored into the lingual cortical layer of bone, but their evaluations did not confirm the advantages of this option (Jeong *et al.*, 2003). We anchored implants into the inner part of the lower edge of the frontal body of the mandible because it provides better stability than the lingual cortical bone.

In modern dental implantology, the history of blade implants was started by Professor Linkow in the USA (Linkow, 1968). Blade implants are not considered a standard implant system. Despite this, they are successfully used in Slovakia as well as in other countries, although less often than other types of screw implants (Roberts, 2002). However, there are many papers describing the blade implants (Commissionat *et al.*, 1996; Roberts, 1996; Veron *et al.*, 1997; Roberts, 2002). In our practice, we have used two-abutment blade implants placed into the distal area of the alveolar ridge of the mandible for stabilization of fixing bridges in connection with bicortical screws inserted interforaminally. We consider this method a stable and suitable therapeutic method for a group of elderly patients who either have anatomical problems with their alveolar ridge or do not have enough money to pay for a standard fixed denture, Brånemark's bridge, or other type of circular bridge.

Other authors have reported on the use of transmandibular implants in the extremely atrophied mandible. These implants have excellent primary

stability but this treatment is much more traumatic than the use of bicortical screws (Stellingsma *et al.*, 2004).

Conclusion

Our five-year experience with this non-standard implant system confirms its functionality, stability and ease of home care. The method is appropriate for reconstruction of an atrophied toothless mandible in elderly patients and in patients who choose this alternative for financial reasons. It is important to emphasize that non-standard implant systems require an experienced and skilful surgeon. We stress that the success rate of healed blade implants depends very much on atraumatic work with bone and mucoperiost. Only then is it possible to guarantee good long-term results.

In the study we used bicortical and blade implants made by VNI fy. Frank-Kreisler from the Czech Republic (www.dentalniimplantaty.cz), and by fy. Martikan from the Slovak Republic (www.martikan.eu). Both implant systems are made of biocompatible material (titanium).

The materials have been tested and their production is approved by certificate no. 080092QS/NB, certificate 080093T/NB and EC certificate no. 44133/101/1/2007/CE valid in the European Union.

References

- Brånemark PB, Zarb, GA, Albrektson, T (1987). *Tissue-integrated protheses: osseointegration in clinical dentistry*. Special edition for Nobelpharma Chicago. Illinois: Quintessence Publishing, p350.
- Commissionat Y, Poulmaire F (1996). Blade implants: new ideas. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*, 97(5): 283–287.
- Jeong CM, Caputo AA, Wylie RS, Son SC, Jeon YC (2003). Bicortically stabilized implant load transfer. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 18(1): 59–65.
- Linkow LI (1968). The blade vent – a new dimension in endosseous implantology. *Dent Concepts*, 11(2): 3–12.
- Payne AG, Tawse-Smith A, Kumara R, Thomson WM (2001). One-year prospective evaluation of the early loading of unsplinted conical Brånemark fixtures with mandibular overdentures immediately following surgery. *Clin Implant Dent Relat Res*, 3(1): 9–19.
- Pierrisnard L, Renouard F, Renault P, Barquins M (2003). Influence of implant length and bicortical anchorage on implant stress distribution. *Clin Implant Dent Relat Res*, 5(4): 254–262.
- Roberts R (2002). Placement of plate-form implants using osteotomes. *J Oral Implantol*, 28(6): 283–289.
- Roberts RA (1996). Types, uses, and evaluation of the plate-form implant. *J Oral Implantol*, 22(2): 111–118.
- Sivolella S, Berengo M, Fiorot M, Mazzuchin M (2007). Retrieval of blade implants with piezosurgery: two clinical cases. *Minerva Stomatol*, 56(1/2): 53–61.
- Shen TC (1999). The use of different implant modalities in the atrophied ridge. *J Oral Implantol*, 25(2): 109–113.
- Stellingsma K, Raghoebar GM, Meijer HJ, Stegenga B (2004). The extremely resorbed mandible: a comparative prospective study of 2-year results with 3 treatment strategies. *Int J Oral Maxillofac Implants*, 19(4): 563–577.
- Tawse-Smith A, Perio C, Payne AG, Kumara R, Thomson WM (2001). One-stage operative procedure using two different implant systems: a prospective study on implant overdentures in the edentulous mandible. *Clin Implant Dent Relat Res*, 3(4): 185–193.
- Veron C, Chanavaz M (1997). Implant rehabilitation of distal mandibular atrophy using a blade implant. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*, 98(Suppl 1): 17–22.

*Corresponding author: Juraj Strecha

Address: Eurodent Medima s.r.o., Priehradka 20, 036 01 Martin, the Slovak Republic

E-mail: strecha@medima.sk

Diffraction-optics-based sensor as a tool for detection of biocompatibility of titanium and titanium-doped hydrocarbon samples

Raimo Silvennoinen,^{1,*} Stanislav Hasoň,² Vladimír Vetterl,² Niko Penttinen,¹ Martti Silvennoinen,¹ Kari Myller,³ Pavlína Černochová,⁴ Sonia Bartáková,⁴ Patrik Prachár,⁴ and Ladislav Cvrček⁵

¹Department of Physics and Mathematics, University of Eastern Finland, P.O. Box 111, FI-80101 Joensuu, Finland

²Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, v.v.i. Královopolská 135, CZ-612 65 Brno, Czech Republic

³MGM-Devices Ltd., FI-82210, Suhmura, Finland

⁴Centre for Dental and Craniofacial Research, Faculty of Medicine, Masaryk University, Komenského nám. 2, 662 43 Brno, Czech Republic

⁵HVM Plasma Ltd., Na Hutmance 2, 158 00 Prague 5, Czech Republic

*Corresponding author: raimo.silvennoinen@uef.fi

Received 2 April 2010; revised 4 August 2010; accepted 28 August 2010; posted 7 September 2010 (Doc. ID 126411); published 7 October 2010

Adsorption of the elongated human plasma fibrinogen (HPF) and globular human serum albumin molecules on a titanium-based surface is monitored by analyzing permittivity and optical roughness of protein-modified surfaces by using a diffractive optical element (DOE)-based sensor and variable angle spectro-ellipsometry (VASE). Both DOE and VASE confirmed that fibrinogen forms a thicker and more packed surface adlayer compared to a more porous and weakly adsorbed albumin adlayer. A linear relation of the permittivity (ϵ') and dielectric loss (ϵ'') was found for some of the dry titanium-doped hydrocarbon (TDHC) surfaces with excellent HPF adsorption ability. We discuss some aspects of TDHC's aging and its possible effects on fibrinogen adsorption. © 2010 Optical Society of America

OCIS codes: 050.1970, 240.2130, 240.5770, 170.3890, 170.1850.

1. Introduction

The most frequently used biomaterial in hard tissue replacement, such as dental and orthopedic implants, is titanium. Biomaterial devices made of titanium are satisfactory products from a human health point of view [1–7]. The effective surface tension, as well as the surface energy related to the topography of surface, which can be varied by different processing methods, is assumed to influence the final

interactions of the implant with the surrounding environment. It is also reported that rough surfaces promote better osseointegration than smooth surfaces [8–11]. After implantation, within a few seconds, the biomaterial surface becomes coated with a film of adsorbed proteins that mediate the interaction between the implant and the body environment. Since an implant is exposed to blood during implantation, the initial protein layer is mainly composed of plasma proteins. Human plasma fibrinogen (HPF) is the relevant protein that adsorbs on biomaterial surfaces. HPF partakes in blood coagulation, and facilitates adhesion and aggregation of platelets

[12,13]. The structure and composition of the adsorbed protein layer determine the type and extent of the subsequent biological reactions, such as activation of coagulation and immune response and osseointegration [14]. Thus, the initially adsorbed protein layer is a factor determining biocompatibility [15–23]. In recent years, interest has been focused on preparation of hydrocarbons doped with Ti and researchers have used different methods to analyze biocompatibility of important proteins [24,25].

However, the mechanisms and factors that are important for protein adsorption and desorption are still not well understood. Therefore, it is of interest to focus scientific research on finding out how different surfaces influence the formation of the protein layers and their properties.

In this paper, we chose two model plasma proteins with significant differences in their size and shape [HPF as a rodlike protein having a mass of 340 kDa, compared to a globular human serum albumin (HSA) with a mass of 66 kDa]. The aim is to distinguish their adsorption behavior on mechanically polished titanium surfaces (frequently used biomaterial in hard tissue replacement) with the aid of DOE (dynamical measurement of adsorption process of protein on surface in electrolyte solution—wet measurement) and VASE (measurement of thickness of adsorbed protein layer on material surface after removal the protein-modified surface from protein solution followed by half-hour drying in air-dry measurement). Secondly, quite recently we found a significant correlation between the complex dielectric constant of dry titanium-doped hydrocarbon surfaces and ability for HPF adsorption on these treated surfaces supposing a linear relation of the permittivity ϵ' and dielectric loss ϵ'' of studied surfaces [26,27]. Therefore we start to study how aging process of TDHC surfaces influenced the fibrinogen adsorption for possible use the TDHCs as an appropriate material for dental implants productions.

2. Materials and Methods

A. Treated Titanium Surfaces

The titanium-doped hydrocarbon (TDHC) surfaces ($\text{Ti}_x\text{C}_{1-x}$) and diamondlike carbon (DLC, $\text{Ti}_{0.00}\text{C}_{1.00}$) were prepared by the plasma-enhanced chemical vapor deposition (PECVD) method (see, e.g., [28,29]). We prepared three $\text{Ti}_x\text{C}_{1-x}$ differing in carbon proportion as follows: $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.18}$, $\text{Ti}_{0.38}\text{C}_{0.62}$, and $\text{Ti}_{0.09}\text{C}_{0.91}$. In the beginning the thickness of titanium oxide layer was measured with a polished titanium surface and its depth was about 220 nm. The thickness of $\text{Ti}_x\text{C}_{1-x}$ coatings produced by using PECVD ranged from 2.5 to 3.5 μm , which is thick enough in the optical sense to consider it as a solid bulk layer [28,29]. To investigate the biocompatibility of different TDHC surfaces, we measured the adsorption of HPF, an elongated protein molecule with dimensions of 45 nm \times 9 nm \times 6 nm [12] and mass of 340 kDa, on these TDHC surfaces either immediately after their

preparation or after two-year storage. The adsorption ability of different TDHC surfaces for HPF has been compared with the HPF adsorption on mechanically polished titanium surfaces (a frequently used biomaterial in hard tissue replacement), which serves in this study as a reference surface. With mechanically polished titanium, we also studied the adsorption behavior of HSA (a protein with an ellipsoid shape and dimensions of 14 nm \times 4 nm (the HSA molecule is frequently approximated with a sphere with a radius of about 6 nm [20] and mass of 66 kDa).

B. Chemicals

HPF (fraction I, type III) and HSA (97%–99%) were purchased from Sigma. In all experiments, both proteins were dissolved in a phosphate buffer solution of +0.136 M sodium citrate, which serves as a background electrolyte. Measurements were performed at room temperature.

C. Coherent and Noncoherent Response of DOE Sensor

The thicknesses of the adsorbed protein layers on differently treated titanium surfaces were sensed utilizing the coherence response of a DOE sensor, as shown in Fig. 1. The DOE sensor utilizes an expanded and focused laser beam ($\lambda = 632.8$ nm), which is realized by using the lens system L1–L2 to hit on the studied surface, which has a complex refractive index N_4 through a comparison liquid (water) in a cuvette via a beam splitter (BS) and a cuvette window having a complex refractive index N_1 . The BS directs a back-scattered laser beam on the DOE aperture (shown in the lower inset of Fig. 1), which detects if the wavefront is distorted either after chemical reactions of the ions of the background electrolyte with studied surface or adsorption of added proteins (denoted as complex refractive index N_3) on the examined surface, which is immersed in the solution of background electrolyte (denoted as N_2). A distorted 4×4 light spot DOE image is grabbed from two-dimensional photo array of the charge-coupled device (CCD) and is

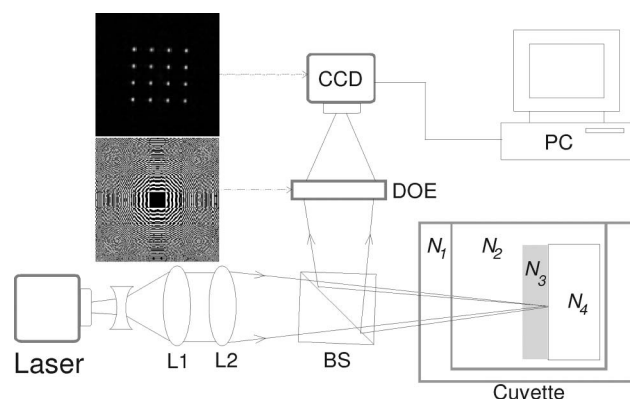


Fig. 1. Geometric setup of DOE sensor with sample cuvette compartment for R_{opt} measurements. The lower inset denotes the aperture of the DOE, whereas the upper inset denotes a reconstructed 4×4 spot matrix image of the DOE by using nondistorted wavefront.

analyzed using a computer (PC). The changes in R_{opt} , which relate to surface roughness R_a [30,31], are detected utilizing the coherent response of the DOE sensor. The layer thickness adsorbed on treated titanium surfaces is calculated from the captured DOE image data of the 4×4 light spot matrix, which is shown in the upper inset of Fig. 1. The irradiance of the peaks were calculated utilizing Eq. (1) as follows:

$$I_C = \frac{1}{n_{pk}m_{pk}} \sum_{i_{pk}=1, j_{pk}=1}^{n_{pk}, m_{pk}} I_{i_{pk}j_{pk}}, \quad (1)$$

where n_{pk} and m_{pk} are the pixel dimensions of each of the 16 peaks in the DOE image and $I_{i_{pk}j_{pk}}$ is the image irradiance observed by the (i_{pk}, j_{pk}) th element of the peak in the DOE image captured by the CCD camera. The 16 different diffractive lenses are integrated utilizing the superposition principle in the DOE aperture, obeying coherent response for each pixel with complex wavefront amplitude $A_{i,j}$ as follows $I_C = |\sum A_{i,j}|^2$, which satisfies the principle of compact and phase sensitive interferometer. The DOE element images the 4×4 light spot matrix in its focal plane. If the reconstructing wavefront does not satisfy the terms of hologram imaginary, the spot image matrix does not appear in the image plane. The same disappearance of spot images holds, for instance, in the case where the radiant exitance from the laser resonator in the TEM₀₀ mode starts to suffer from the appearance of sidemodes, and the DOE will spatially filter out those images from its original 4×4 light spot image. It is shown with tedious numerical simulations that the irradiance of the 4×4 spots will decrease as a function of optical path length (OPL) and will disappear when the OPL exceeds $\lambda/4$. This response is published and appears in Fig. 8.21(b) of Ref. [32]. It is also observable that this response resembles the response of the Beckmann–Spizzichino model [33]. To discover the thickness of the adsorbed layer N_3 , we first calculated the irradiance of the peaks utilizing Eq. (1) and, after that, the optical path difference Δr , which can be understood as an optical roughness (R_{opt}), is solved inversely by using this response. During our previous measurements, we have noted that the accuracy of 0.2 nm can be achieved by using this one-arm interferometric technique [34]. Similar accuracy limits are also reported for the coupling dynamics of lasers of self-mixing interferometers in vibrometer applications ranging from 0.1 nm to 100 μm [35], whereas the accuracy of conventional two-arm interferometers used in optical diagnostics of random phase objects [36], as well as in optical diagnostics of rough surfaces [37], is estimated to be $\sim 0.005 \mu\text{m}$.

To be sure that the irradiance of peaks (coherent response) do not contribute any uncertainties in the noncoherent response, we subtract the irradiance portion of peaks from the total irradiance of the DOE image:

$$I_{\text{NC}} = \frac{1}{n_{\text{SW}}m_{\text{SW}}} \sum_{i_{\text{SW}}=1, j_{\text{SW}}=1}^{n_{\text{SW}}, m_{\text{SW}}} I_{i_{\text{SW}}j_{\text{SW}}} - \frac{1}{n_{pk}m_{pk}} \sum_{i_{pk}=1, j_{pk}=1}^{n_{pk}, m_{pk}} I_{i_{pk}j_{pk}}. \quad (2)$$

The upper picture of the inset of Fig. 1 shows the total region of the signal window of the DOE sensor. Respecting the signal window (SW) the total numbers of sensor pixels in Eq. (2) are denoted by n_{SW} and m_{SW} in the perpendicular direction. Although the 16 different diffractive lenses are integrated by utilizing the superposition principle in the DOE aperture, the noncoherent response (pixel areas outside of the coherent peaks) for each pixel with complex wavefront amplitude $A_{i,j}$ now satisfies the relation $I_{\text{NC}} = \sum |A_{i,j}|^2$, which relates to the gloss of the surface. Typically the gloss is a function of (1) reflectance (related to complex refractive index or complex permittivity), (2) angle of light incidence in the specular case, and (3) surface texture. If the angle of light incidence and the texture of a surface are assumed to be constant, it is possible to sense the possible permittivity change when the surface is located in water or in an electrolyte solution. In the case of a DOE sensor, the gloss (G) and optical roughness (R_{opt}) are measured simultaneously from the same surface area by using the respective noncoherent and coherent response of DOE.

D. DOE Sensing of Proteins Adsorption on Treated Titanium Surfaces

First, DOE sensor images were made from surfaces immersed in triply distilled water for 100 s; the images serve as a reference signal for each of the studied materials. Second, the water was removed from the cuvette and either the background electrolyte or the protein solution was injected into the cuvette, followed by recording of the DOE images during a 600 s period. The diameter of the laser beam waist on the all surfaces was 1 mm. Thereafter, we compared the optical roughness R_{opt} values, which were measured by the DOE sensor as a function of time from the interface of the treated titanium surface and the electrolyte in the absence or presence of protein molecules. The threshold of optical roughness of the treated titanium surface was canceled out by measuring the baseline of R_{opt} in distilled water, whose refractive index ($n = 1.333$) was close to that of the background electrolyte ($n = 1.342$).

E. VASE Sensing of Protein Adsorption on Treated Titanium Surfaces

To compare a dynamic measurement (time dependent) of the adsorption process of model proteins on the studied material surfaces sensed by the DOE, VASE was used to corroborate the thicknesses of the adsorbed protein layers on the studied surfaces after the protein-modified surfaces were removed from the protein solution and air dried for a half-hour.

The complex refractive index values $N_{nk} = n + ik$ are functions of wavelength λ and they were utilized in the calculation of the effective dielectric constant $\epsilon = \epsilon' + i\epsilon'' = N_{nk}^2$, where $\epsilon' = n^2 - \kappa^2$ and $\epsilon'' = 2n\kappa$. The harmful effects caused by the possible appearance of surface roughness [38,39] were avoided by performing the ellipsometric measurements at an incidence angle of 75° for the probe beam with a Woollam variable angle spectro-ellipsometer (W-VASE). The W-VASE was operated in the wavelength range from 200 to 1700 nm. The complex permittivity values of all studied surfaces were calculated from the complex refractive index data, which were obtained by the spectro-ellipsometer.

3. Results and Discussion

A. Optical Sensing of Adsorbed Model Proteins on Treated Titanium Surfaces

We chose two model plasma proteins with significant differences in their size and shape (HPF is a rodlike protein having a mass of 340 kDa, compared to a globular HSA with a mass of 66 kDa). The aim is to distinguish their adsorption behavior on mechanically polished titanium surfaces with the aid of a DOE (dynamic measurement of the adsorption process of protein on surfaces in an electrolyte solution—wet measurement) and ellipsometry (measurement of the thickness of the adsorbed protein layer on a protein-modified surface after it is removed from a protein solution air dried for a half-hour).

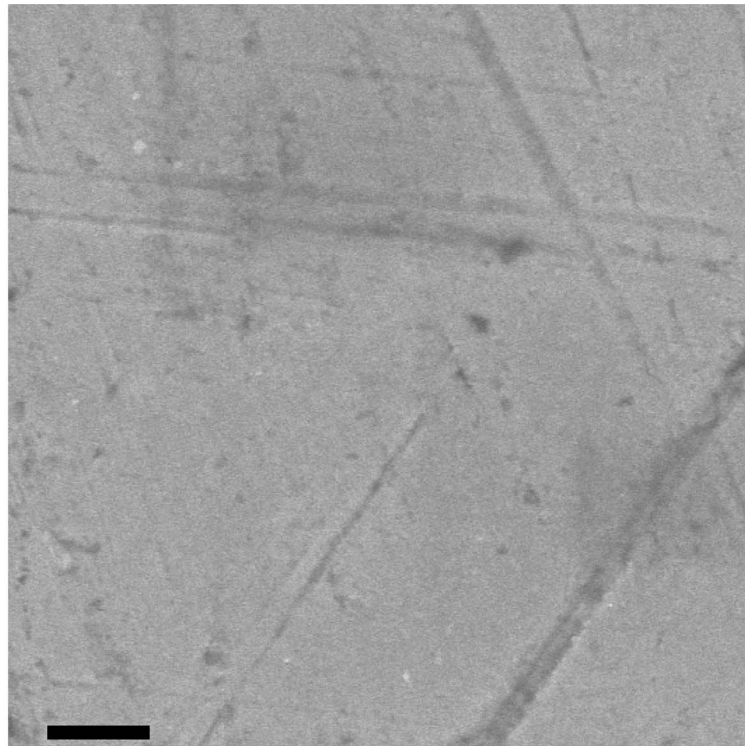
First, we measured the dynamics of the gloss (G) and optical roughness (R_{opt}) of the mechanically polished titanium surface [Fig. 2(a)] in the presence of either 500 nM HPF or 500 nM HSA solutions using the DOE sensor within a 10 min period [Figs. 2(b)–2(e)]. Before measurement of both the G and R_{opt} parameters of the mechanically polished Ti surface in the presence of proteins, the reference measurements of this surface in water and background electrolyte were made. From Fig. 2, it can be seen that the ions of the background electrolyte (we can assume chemical interaction between the ions of the background electrolyte and the polished Ti surface) affected the permittivity of the mechanically polished Ti surface (difference of the G parameter for polished Ti in electrolyte compared to water), but did not change the surface texture of the polished Ti (the R_{opt} of polished Ti is practically identical for both water and electrolyte). A similar dependence for G and R_{opt} parameters after replacing the water with the background electrolyte was also observed for the nanostructured $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ surface Fig. 3. After addition of both the HPF and HSA molecules (500 nM), we can recognize the increase of the optical roughness (R_{opt}) of the polished Ti surface, which indicates protein adsorption. The optical roughness of adsorbed fibrinogen adlayer was about 5.1 nm, which is about 4 times higher than that of the adsorbed adlayer of albumin, which was 1.3 nm thick [Figs. 2(c) and 2(e)]. The DOE results may indicate that fibrinogen at a

500 nM concentration initially adsorbs rapidly with its long axis parallel to the polished Ti surface. This orientation is usually energetically favorable because of the possibility that the protein will form additional bonds to the surface. From the DOE results, we can assume either that the albumin is weakly adsorbed on a polished Ti surface in comparison with fibrinogen, or that the albumin adlayer is less packaged (more porous) due to the spherical shapes of albumin molecules. The presence of both HPF and HSA molecules also caused higher changes in the permittivity (displayed by means of higher dynamics of the G parameter) of the polished Ti surface compared with those observed for polished Ti surface in contact with either the water or the background electrolyte, which also indicates protein adsorption [Figs. 2(b) and 2(d)]. The presence of lower (500 nM) and higher (4 μM) HPF solutions also caused changes of both the G and R_{opt} parameters of the nanostructured $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ surface [Figs. 3(b) and 3(c)]. Nevertheless, the average optical roughness of $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ surface is about 55 nm, which is much higher than the increase of roughness of the protein-modified $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ [Fig. 3(c)] and implies only weak HPF adsorption on $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$. Also, the relative changes in permittivity of the $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ surface after addition of protein molecules are very close to those observed in the presence of the background electrolyte [Fig. 3(b)]. This can suggest that chemical interaction between the ions of the electrolyte and the $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ surface have a much higher effect on the permittivity change of the $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ interface than the presence of 500 nM HPF molecules in the solution, which are only weakly adsorbed on the nanostructured $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.12}$ surface. Here we point out that the extension coefficients of the solutions (water, electrolyte without and with HPF molecules) are negligible even in the ultraviolet wavelength range, as shown in Fig. 4, being $\kappa = 1.55 \times 10^{-8}$, 4.87×10^{-8} , and 1.30×10^{-8} for water and for electrolyte without and with HPF molecules measured at a photon energy of 1.959 eV (632.8 nm) of the DOE probe laser beam.

Second, we analyzed with the aid of VASE measurement the effective thickness [the effective thickness was calculated from the spectral complex refractive index (N_{nk}) by utilizing the Beer–Lambert law [$I_E(n, \kappa) = I_{E0} \exp(-4\pi\kappa z/\lambda)$] of both the HPF and HSA adlayers adsorbed on a polished Ti surface that was removed from a protein solution and followed by a half-hour drying process (Fig. 5). The effective thickness of the HPF and HSA adlayers at the DOE probe wavelength of 632.8 nm were 1.1 and 0.4 nm, respectively. Both methods thus confirmed that fibrinogen forms a thicker and more packed surface adlayer compared to a more porous and weakly adsorbed albumin adlayer on a mechanically polished Ti surface.

B. Effect of Aging of TDHC Samples on Adsorption Behavior of Fibrinogen

On the basis of our recently published DOE and ellipsometry measurements, we found significant



(a)

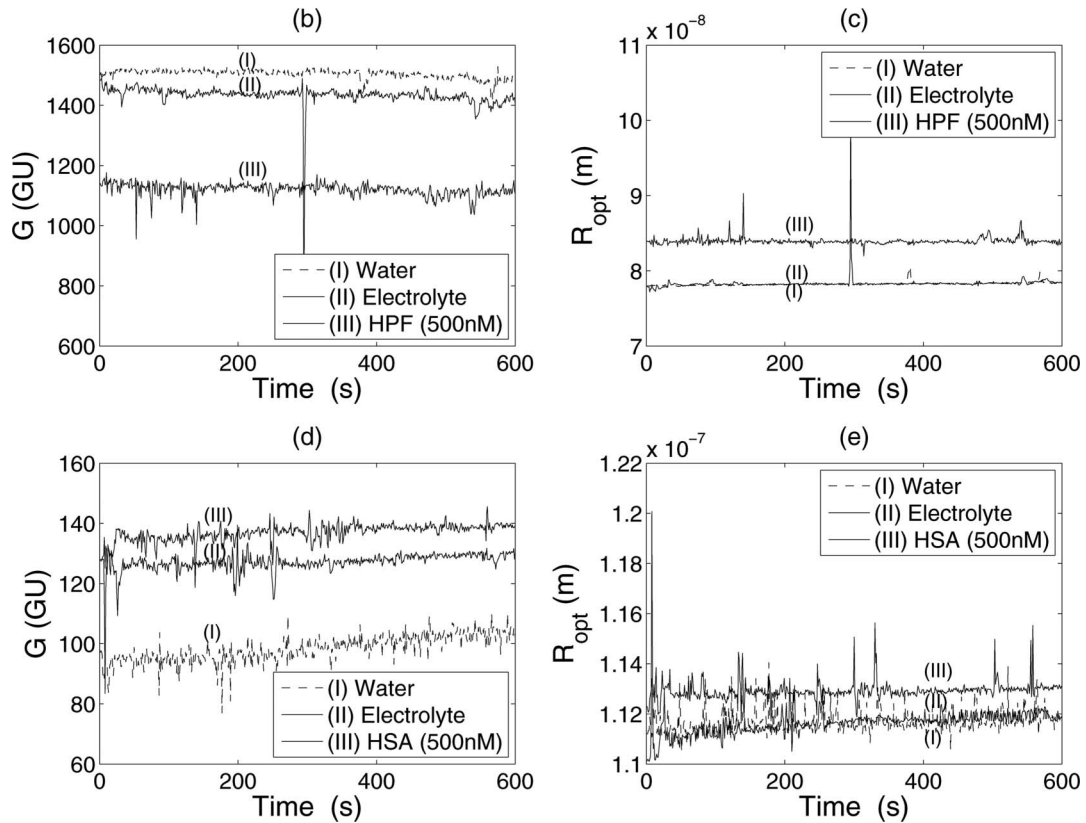


Fig. 2. (a) SEM image from a mechanically polished titanium surface. The length of the scale bar is $1 \mu\text{m}$. Temporal gloss (G) in GU and optical roughness (R_{opt}) in meters of a mechanically polished titanium surface, when the surface, immediately after polishing, is in water, in electrolyte, and in electrolyte with HPF or HSA molecules with concentration of 500 nM. Gloss of (b) HPF and (d) HSA, optical roughness of (c) HPF and (e) HSA.

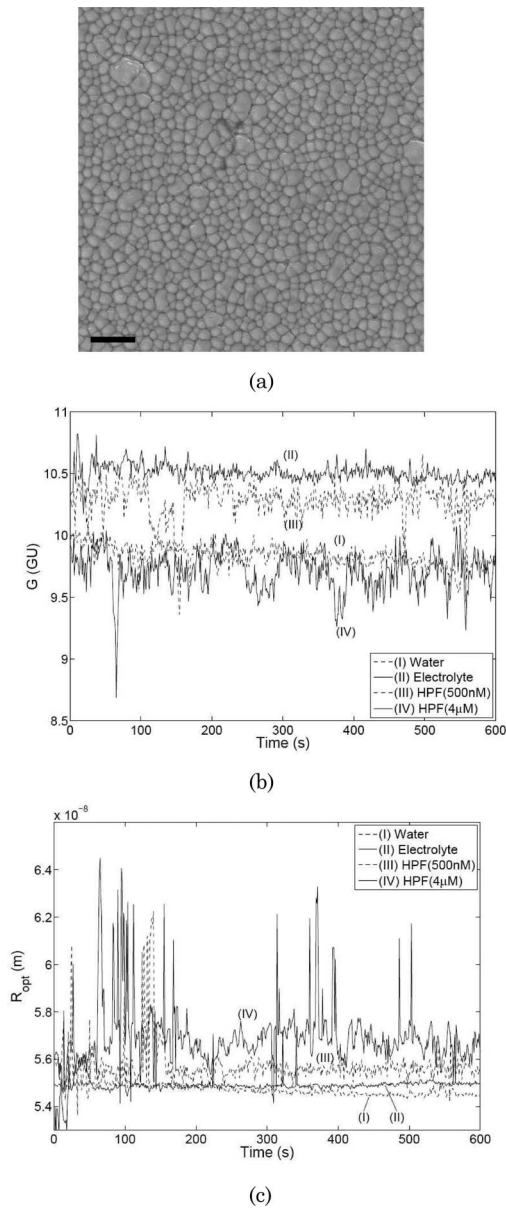


Fig. 3. (a) SEM image from a nanostructured $Ti_{0.82}C_{0.12}$ surface. The length of the scale bar is $1 \mu m$. (b) Temporal gloss (G) in GU from a carbon treated titanium surface ($Ti_{0.82}C_{0.12}$), when the surface is in water, in electrolyte, in electrolyte with HPF (500 nM) and in electrolyte with HPF ($4 \mu M$). (c) Temporal optical roughness (R_{opt}) in meters from the same $Ti_{0.82}C_{0.12}$ surface. Note that the average optical roughness of the nanostructured surface is 55 nm .

correlation between the complex dielectric constant of dry TDHC surfaces and the ability for HPF adsorption on these treated surfaces. The adsorption of fibrinogen molecules relates to a slope of dielectric loss and permittivity ($\partial \epsilon'' / \partial \epsilon'$) as follows: $\epsilon'' = a\epsilon' + b$, where $a = 1.634$ and $b = -5.877$ [26,27]. We observed that the very good adsorption of HPF can be achieved on TDHC samples having 34% and 9% Ti content (these surfaces have, in a $\epsilon' - \epsilon''$ plane, a small distance deviation from the line $\epsilon'' = 1.634\epsilon' - 5.877$, $\epsilon' = -5.877$, as shown in Fig. 6) in comparison with a poor HPF adsorption on surfaces either rich in

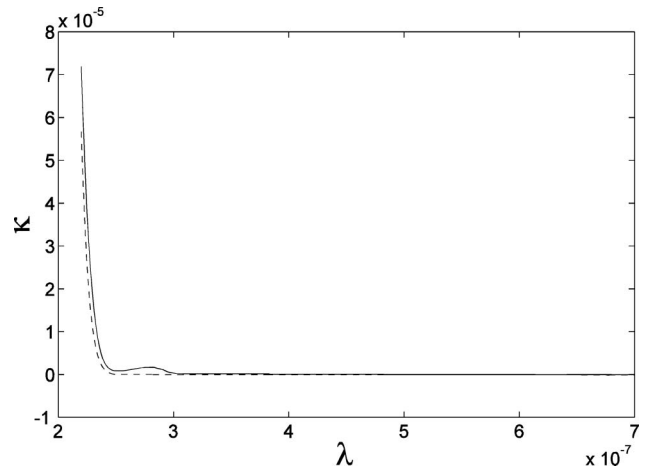


Fig. 4. Extinction coefficient of the electrolyte without (dashed curve) and with HPF molecules ($5 \mu M$) (solid curve), whereas the extinction coefficient of water meets the wavelength axis in the ultraviolet range. The numbers shown on the λ axis are in meters.

titanium (Ti content higher than 50%) or only on pure DLC coatings (the distances of these surfaces from the line in the $\epsilon' - \epsilon''$ plane are at the least 1 order higher, as shown in Fig. 6). From tribological testing it has been observed that nanostructured TDHC surfaces (Ti content is lower than 15%) have moderate hardness and minimal values of the friction coefficient and the wear rate [28,29]. Because of these mechanical parameters, it seems that these nanostructured TDHC materials could be, in the near future, used as an appropriate material for dental implant production. Therefore, we start to study how the aging process of TDHC surfaces influences the fibrinogen adsorption.

In Fig. 6 are shown the effective dielectric constants (dielectric permittivity) from five studied

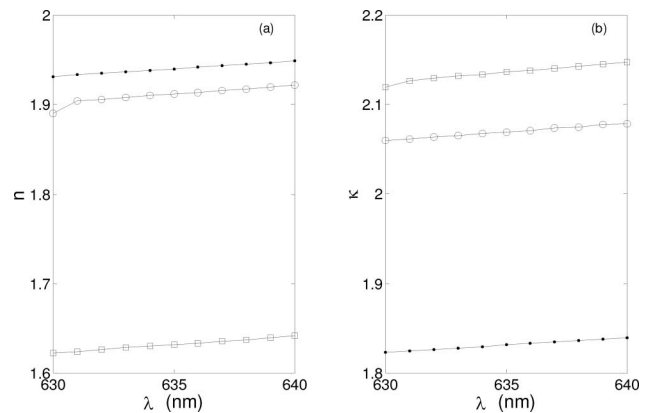


Fig. 5. Spectral complex refractive index (N_{nk}) of mechanically polished titanium surfaces modified by HPF (squares) and HSA (circles). Ellipsometric measurements were performed in air after a half-hour of drying to remove the protein-modified surface from the protein solution (500 nM concentration), where the spontaneous adsorptions during 15 min proceed. Dotted curves represents the response from the titanium surface in the presence of only background electrolyte. (a) Real part and (b) imaginary part of N_{nk} for the respective interface layers.

surfaces measured at photon energy $E\lambda = 1.959$ eV. The first value represents the averaged dielectric constant from the equal numbered sets of mechanically polished and polished + heat-treated ($170^\circ\text{C}/30$ min) Ti surfaces, which act as the comparison (Ti_{comp}) surface. The standard deviation of the averaged permittivity $\varepsilon = -1.83(\pm 0.65) - 9.16i(\pm 1.74i)$ is quite wide from sample to sample due to different mechanical polishing procedures (remains and defects of surface texture and roughness). The three TDHC samples and the DLC sample were produced by the PECVD method, controlling the severity of chemical vapor deposition in plasma enhancement to satisfy the carbon concentrations. The samples are denoted as follows: $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.18}$, $\text{Ti}_{0.38}\text{C}_{0.62}$, $\text{Ti}_{0.09}\text{C}_{0.91}$ and DLC ($\text{Ti}_{0.00}\text{C}_{1.00}$). For clarity, in the Fig. 6 we indicate the standard deviations in permittivity ε' and dielectric loss ε'' by the horizontal and vertical lines only for the case of Ti_{comp} reference measurements (the standard deviations in permittivity and dielectric loss for other surfaces are plotted in Table 1). Figure 6 and Table 1 show a consecutive increase in permittivity ε' and dielectric loss ε'' values, as well as in water contact angles for all long-term stored TDHC surfaces, except for the $\text{Ti}_{0.09}\text{C}_{0.91}$ surface. This behavior might arise from the consecutive adsorption of carbon oxides from air on the surface of long-term stored material. Similar results have been recently published for patterned metal surfaces that were stored about 51 days in air using the water contact angle measurement and x-ray photoelectron spectroscopy [40].

The R_{opt} values of freshly prepared, differently treated Ti surfaces in the presence of 500 nM HPF showed that a significant adsorption of fibrinogen was detected with Ti_{comp} , $\text{Ti}_{0.38}\text{C}_{0.62}$, and $\text{Ti}_{0.09}\text{C}_{0.91}$, in contrast to a weak adsorption detected on $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.18}$ and DLC (white bars in Fig. 7). From Fig. 7 it can be also seen that the $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.18}$ and DLC surfaces show negative R_{opt} values, which means that the surface has become smoother during contact with the background electrolyte in the absence and/or in the presence of HPF. Both the $\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.18}$ and DLC materials contained, on the top of their surfaces, different nanometer-scale carbide agglomerates, the growth of

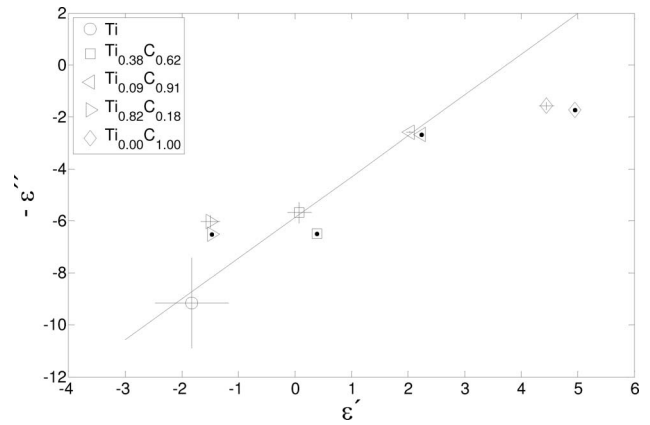


Fig. 6. Complex effective dielectric constants (dielectric permittivity) for the Ti_{comp} surface and four carbon treated titanium surfaces at $E\lambda = 1.959$ eV. The markers without (reference surfaces) and with dots denote the two-year time frame between the measurements. For clarity, the standard deviations in permittivity ε' and dielectric loss ε'' directions are indicated by horizontal and vertical lines on each dielectric constant marker without a dot. Parameters for the line are as follows: $\varepsilon'' = a\varepsilon' + b$, where $a = 1.634$ and $b = -5.877$.

which is probably surface-energy-driven [41]. We can speculate that (i) a chemical interaction between ions of the electrolyte and surface can change the distribution and dimension of these nanometer carbide agglomerates, which is reflected by lowering of R_{opt} values in comparison with those measured in water as a reference for each of the studied materials or (ii) a part of fibrinogen molecules can be repeatedly desorbed from weakly adsorbed, rather porous fibrinogen adlayers that formed on these surfaces. Preliminary results of Fig. 7 show also that adsorption of carbon oxides from air on long-term stored surfaces can affect the surface textures and values of R_{opt} of these surfaces during repetitive measurements in the presence of background electrolyte without or with added protein molecules.

When compared the R_{opt} data measured after long-term storage of the surfaces to the R_{opt} data measured from the freshly prepared (reference) surfaces, HPF is still adsorbed on both the $\text{Ti}_{0.38}\text{C}_{0.62}$ and $\text{Ti}_{0.09}\text{C}_{0.91}$ surfaces, but with smaller magnitude, as shown by the gray bars in Fig. 7. A water contact

Table 1. Complex Effective Dielectric Constants (Dielectric Permittivity) $\varepsilon = \varepsilon' + i\varepsilon''$ at $E\lambda = 1.959$ eV and Water Contact Angles (θ in Degrees) with Standard Deviations for the Five Studied Surfaces^a

Treatment of Samples	ε_{2007}	ε_{2009}	ε_{2007}	ε_{2009}
Ti_{comp}	—	—	—	—
PECVD	$-1.49 - 6.02i$	$-1.47 - 6.50i$	81.1 ± 2.6	86.7 ± 6.5
$\text{Ti}_{0.82}\text{C}_{0.18}$	$0.08 - 5.68i$	$0.39 - 6.49i$	77.9 ± 3.1	85.7 ± 2.7
$\text{Ti}_{0.38}\text{C}_{0.62}$	$2.03 - 2.58i$	$2.23 - 2.68i$	75.0 ± 0.4	78.9 ± 6.5
$\text{Ti}_{0.09}\text{C}_{0.91}$	$4.45 - 1.57i$	$4.95 - 1.72i$	70.7 ± 2.0	79.9 ± 2.9

^aThe subscripts 2007 and 2009 denote the two-year time frame between the measurements. The dielectric losses ε'' of samples (with magnitude of standard deviations shown in Fig. 6) are listed according to severity.

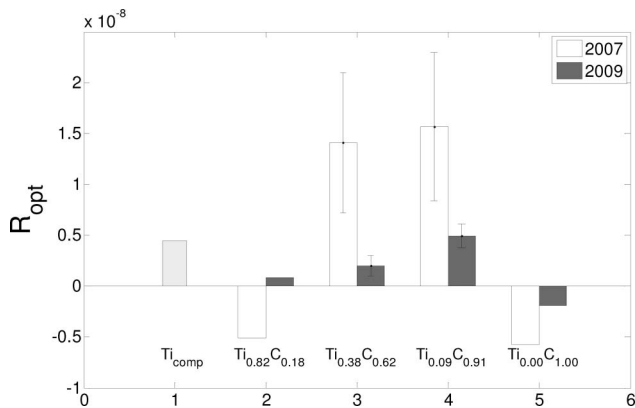


Fig. 7. Optical roughness (R_{opt}) in meters of the Ti_{comp} and four carbon treated titanium surfaces, when R_{opt} of the surface immersed in background electrolyte in the absence of HPF molecules is subtracted from R_{opt} of the same surface immersed in background electrolyte in the presence of HPF molecules. The bar legends 2007 and 2009 denote the two-year time frame between the measurements. The vertical lines denote standard deviations on the bars, where adsorption of HPF molecules on the surface is significant.

angle measurement revealed that aged TDHC surfaces are characterized by higher water contact angles (about 8%) than those of the freshly prepared TDHC surface, as shown in Table 1, which suggests that air aging of TDHC materials produces a slightly hydrophobic surface. It is well known that fibrinogen exhibits a less organized secondary structure upon adsorption onto a hydrophobic surface than onto a hydrophilic one. Computation of surface energy density (γ) from water contact angles showed that the TDHC surfaces have a smaller surface energy density than the surfaces of other carbon/graphite materials [42,43], which can be connected with the occurrence of nanometer carbide agglomerates that decrease the effective contact area of a water droplet with the TDHC surface and increase the effective area of the gas–water interface under the droplet. In addition, the increase of the hydrophobic character of aged TDHC surfaces may be contributed to by the appearance of gaseous nanobubbles [44].

The effective thickness of the HPF molecule layers on the $Ti_{0.82}C_{0.18}$, $Ti_{0.38}C_{0.62}$, $Ti_{0.09}C_{0.91}$, and DLC surfaces after the long-term storage were 0.47, 0.51, 1.59, and 0.13 nm, which were calculated from the N_{nk} data of the VASE measurements in air utilizing the Beer–Lambert law at the DOE probe wavelength of 632.8 nm. These effective thicknesses estimated for adsorbed HPF adlayers from the VASE measurements are in accordance with the respective R_{opt} values of the HPF layers sensed by the DOE sensor (see the gray bars in Fig. 7).

4. Conclusion

In this paper, it is shown that a DOE-based sensor and a VASE can serve as efficient tools for monitoring the adsorption processes of proteins that differ in size and shape on differently treated titanium surfaces. On the basis of a permittivity change and fluctuation of an optical roughness of differently treated titanium surfaces, we were able to distinguish between adsorption behavior of a rodlike protein represented by HPF and globular HSA. Both methods confirmed that fibrinogen forms a thicker and more packed surface adlayer compared to a more porous and weakly adsorbed albumin adlayer. In addition, we found a significant correlation between the complex dielectric constant of dry TDHC surfaces and the ability of fibrinogen adsorption on these surfaces, supposing a linear relation of the permittivity ϵ' and dielectric loss ϵ'' of the surfaces studied. The fibrinogen adsorbs well on the following surfaces: mechanically polished titanium and TDHC samples having 34% and 9% Ti content. Poor fibrinogen adsorption was observed either on hydrocarbons rich in Ti content (higher than 50%) or on pure DLC coatings. After two years of storage, favorable fibrinogen adsorption was still detected on a TDHC surface having 9% Ti. The hydrocarbons with low Ti content have moderate hardness and a minimal wear rate, which increases the focus of these materials for a new dental implant production.

This work was supported by the Ministry of Education and Sport of the Czech Republic (1M0528), the Academy of Sciences of the Czech Republic (KAN200040651), the Grant Agency of the Czech Republic (202/08/1688 and 205/10/2378), the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic (LC06035), institutional research plans (Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic AVOZ50040507, AVOZ50040702), and the Academy of Finland (131539/31.03.2009).

References

1. B. Walivaara, B. O. Aronsson, M. Rodahl, J. Lausmaa, and P. Tengvall, "Titanium with different oxides—in-vitro studies of protein adsorption and contact activation," *Biomaterials* **15**, 827–834 (1994).
2. V. Ball, A. Bentaleb, J. Hemmerle, J.-C. Voegel, and P. Schaaf, "Dynamic aspects of protein adsorption onto titanium surfaces: mechanism of desorption into buffer and release in the presence of proteins in the bulk," *Langmuir* **12**, 1614–1621 (1996).
3. M. I. Jones, I. R. McColl, D. M. Grant, K. G. Parker, and T. L. Parker, "Protein adsorption and platelet attachment and activation, on TiN, TiC, and DLC coatings on titanium for cardiovascular applications," *J. Biomed. Mater. Res.* **52**, 413–421 (2000).
4. Y. Yang, R. Cavin, and J. L. Ong, "Protein adsorption on titanium surfaces and their effect on osteoblast attachment," *J. Biomed. Mater. Res. A.* **67**, 344–349 (2003).
5. N. Juany, P. Yang, Y. X. Leng, J. Y. Chen, H. Sun, J. Wang, G. J. Wang, P. D. Ding, T. F. Xi, and Y. Leng, "Hemocompatibility of titanium oxide films," *Biomaterials* **24**, 2177–2187 (2003).
6. F. Hook, J. Voros, M. Rodahl, R. Kurrat, P. Boni, J. J. Ramsden, M. Textor, N. D. Spenser, P. Tengvall, J. Gold, and B. Kasemo, "A comparative study of protein adsorption on titanium oxide surfaces using in situ ellipsometry, optical waveguide light-mode spectroscopy, and quartz crystal microbalance/dissipation," *Colloids Surf. B* **24**, 155–170 (2002).

7. K. Imamura, M. Shimomura, S. Nagai, M. Akamatsu, and K. Nakanishi, "Adsorption characteristics of various proteins to a titanium surface," *J. Biosci. Bioeng.* **106**, 273–278 (2008).
8. D. L. Cochran, "A comparison of endosseous dental implant surfaces," *J. Periodontol. Periodontics* **70**, 1523–1539 (1999).
9. T. J. Webster, R. W. Siegel, and R. Bizios, "Osteoblast adhesion on nanophase ceramics," *Biomater.* **20**, 1221–1227 (1999).
10. P. M. Brett, J. Harle, V. Salih, R. Mihoc, I. Olsen, F. H. Jones, and M. Tonetti, "Roughness response genes in osteoblasts," *Bone* **35**, 124–133 (2004).
11. E. Jansson and P. Tengvall, "Adsorption of albumin and IgG to porous and smooth titanium," *Colloids Surf. B* **35**, 45–51 (2004).
12. P. Cacciafesta, A. D. L. Humphris, K. D. Jandt, and M. J. Miles, "Human plasma fibrinogen adsorption on ultraflat titanium oxide surfaces studied with atomic force microscopy," *Langmuir* **16**, 8167–8175 (2000).
13. P. Cacciafesta, K. R. Hallam, A. C. Watkinson, G. C. Allen, M. J. Miles, and K. D. Jandt, "Visualisation of human plasma fibrinogen adsorbed on titanium implant surfaces with different roughness," *Surf. Sci.* **491**, 405–420 (2001).
14. H. Nygren, P. Tengvall, and I. Lundstrom, "The initial reactions of TiO₂ with blood," *J. Biomed. Mater. Res.* **34**, 487–492 (1997).
15. S. Kidoaki and T. Matsuda, "Adhesion forces of the blood plasma proteins on self-assembled monolayer surfaces of alkanethiolates with different functional groups measured by an atomic force microscope," *Langmuir* **15**, 7639–7646 (1999).
16. A. G. Hemmersam, M. Foss, J. Chevallier, and F. Besenbacher, "Adsorption of fibrinogen on tantalum oxide, titanium oxide and gold studied by the QCM-D technique," *Colloids Surf. B* **43**, 208–215 (2005).
17. M. Rouahi, E. Champion, O. Gallet, A. Jada, and K. Anselme, "Physico-chemical characteristics and protein adsorption potential of hydroxyapatite particles: influence on in vitro biocompatibility of ceramics after sintering," *Colloids Surf. B* **47**, 10–19 (2006).
18. I. van derKeere, R. Willaert, A. Hubin, and J. Vereecken, "Interaction of human plasma fibrinogen with commercially pure titanium as studied with atomic force microscope and x-ray photoelectron spectroscopy," *Langmuir* **24**, 1844–1852 (2008).
19. J. M. Garguilio, B. A. Daves, M. Buddie, F. A. M. Köck, and R. J. Nemanich, "Fibrinogen adsorption onto microwave plasma chemical vapor deposited diamond films," *Diam. Relat. Mater.* **13**, 595–599 (2004).
20. X. Wang, L. Yu, C. Li, F. Zhang, Z. Zheng, and X. Liu, "Competitive adsorption behaviour of human serum albumin and fibrinogen on titanium oxide films coated on LTI-carbon by IBED," *Colloids Surf. B* **30**, 111–121 (2003).
21. C. Galli, M. C. Coen, R. Hauert, V. L. Katanaev, M. P. Wymann, P. Gröning, and L. Schlapbach, "Protein adsorption on topographically nanostructured titanium," *Surf. Sci. Lett.* **474**, L180–L184 (2001).
22. W. J. Ma, A. J. Ruys, R. S. Mason, P. J. Martin, A. Bendavid, Z. Liu, M. Ionescu, and H. Zreiqat, "DLC coatings: effect of physical and chemical properties on biological response," *Biomaterials* **28**, 1620–1628 (2007).
23. K. Cai, J. Bossert, and K. D. Jandt, "Does the nanometer scale topography of titanium influence protein adsorption and cell proliferation?" *Colloids Surf. B* **49**, 136–144 (2006).
24. A. Choukourova, A. Grinevicha, D. Slavinska, H. Biedermana, N. Saitob, and O. Takaib, "Scanning probe microscopy for the analysis of composite Ti/hydrocarbon plasma polymer thin films," *Surf. Sci.* **602**, 1011–1019 (2008).
25. A. Grinevich, L. Bacakova, A. Choukourov, H. Boldryeva, Y. Pihosh, D. Slavinska, L. Noskova, M. Skuciova, V. Lisa, and H. Biederman, "Nanocomposite Ti/hydrocarbon plasma polymer films from reactive magnetron sputtering as growth support for osteoblast-like and endothelial cells," *J. Biomed. Mater. Res. A.* **88**, 952–966 (2009).
26. R. Silvennoinen, V. Vetterl, S. Hasoň, M. Silvennoinen, K. Myller, J. Vanek, and L. Cvrček, "Sensing of parameters behind attachment of human plasma fibrinogens on carbon doped titanium surfaces: an optical study," *Proc. SPIE* **7388**, 73881A (2009).
27. R. Silvennoinen, V. Vetterl, S. Hasoň, M. Silvennoinen, K. Myller, J. Vanek, and L. Cvrček, "Optical sensing of attached fibrinogen on carbon doped titanium surfaces," *Adv. Opt. Technol.* **2010**, 942349, doi:10.1155/2010/942349.
28. T. Vitu, T. Polcar, L. Cvrcek, R. Novak, J. Macak, J. Vyskocil, and A. Cavaleiro, "Structure and tribology of biocompatible Ti–C:H coatings," *Surf. Coat. Technol.* **202**, 5790–5793 (2008).
29. T. Polcara, T. Vitu, L. Cvrcek, R. Novak, J. Vyskocild, and A. Cavaleirob, "Tribological behaviour of nanostructured Ti–C:H coatings for biomedical applications," *Solid State Sci.* **11**, 1757–1761 (2009).
30. J. Räsänen, M. Savolainen, R. Silvennoinen, and K. Peiponen, "Optical sensing of surface roughness and waviness by computer generated hologram," *Opt. Eng.* **34**, 2574–2580 (1995).
31. R. Silvennoinen, "Sensing of waviness of glossy and rough surface by DOE sensor," *Proc. SPIE* **7388**, 73880N (2009).
32. R. Silvennoinen, K-E. Peiponen, and K. Myller, *Specular Gloss* (Elsevier, 2008).
33. P. Beckmann and A. Spizzichino, *The Scattering of Electromagnetic Waves from Rough Surface* (Pergamon, 1963).
34. R. Silvennoinen, V. Vetterl, S. Hasoň, H. Tuononen, M. Silvennoinen, K. Myller, L. Cvrček, J. Vaněk, and P. Prachár, "Sensing of human plasma fibrinogen on polished, chemically etched and carbon treated titanium surfaces by diffractive optical element based sensor," *Opt. Express* **16**, 10130–10140 (2008).
35. S. Donati, "Coupling dynamics in lasers and applications in self-mixing interferometry," in *Summaries of the 2nd International Meeting on Optical Sensing and Artificial Vision* (Editorial Department of Saint Petersburg State University of Information Technologies, Mechanics and Optics, 2008), p. 67.
36. O. V. Angelsky, and P. P. Maksimyak, "Optical Diagnostics of random phase objects," *Appl. Opt.* **29**, 2894–2898 (1990).
37. O. V. Angelsky, A. P. Maksimyak, P. P. Maksimyak, and S. G. Hanson, "Optical correlation diagnostics of rough surfaces with large surface inhomogeneities," *Opt. Express* **14**, 7299–7311 (2006).
38. R. A. M. Azzam and N. M. Bashra, *Ellipsometry and Polarized Light* (North-Holland, 1977).
39. S-M. F. Nee and T-W. Nee, "Principal Mueller matrix of reflection and scattering measured for a one-dimensional rough surface," *Opt. Eng.* **41**, 994–1001 (2002).
40. A-M. Kietzig, S. G. Hatzikiriakos, and P. Englezos, "Patterned superhydrophobic metallic surfaces," *Langmuir* **25**, 4821–4827 (2009).
41. J.-M. Zhang, F. Ma, K.-W. Xu, and X.-T. Xin, "Anisotropy analysis of the surface energy of diamond cubic crystals," *Surf. Interface Anal.* **35**, 805–809 (2003).
42. S. Bar-Chaput and C. Carrot, "Interactions of active carbon with low- and high-molecular weight polyethylene glycol and polyethylene oxide," *J. Appl. Polym. Sci.* **100**, 3490–3497 (2006).
43. W. Brandl, G. Marginean, V. Chirila, and W. Warschewski, "Production and characterisation of vapour grown carbon fiber/polypropylene composites," *Carbon* **42**, 5–9 (2004).
44. X. H. Zhang, A. Quinn, and W. A. Ducker, "Nanobubbles at the interface between water and hydrophobic solid," *Langmuir* **24**, 4756–4764 (2008).

2.1 Evolving methods of assessment

Michael Manogue^{1*}, Mary Kelly^{2†}, Sonia Bartakova Masaryk^{3‡}, George Brown^{4‡},
Frank Catalanotto^{5‡}, Teo Choo-Soo^{6‡}, Elis Delap^{2‡}, Pavel Godoroja^{7‡}, Ikuko Morio^{8‡},
Jerome Rotgans^{9‡} and Mare Saag^{10‡}

¹University of Leeds, UK; ²University of Dublin, Ireland; ³University of Brno, Czech Republic; ⁴Nottingham University, UK; ⁵University of Gainesville, Florida, USA; ⁶University of Singapore, Singapore; ⁷University of Chisinau, Moldova; ⁸Tokyo Medical and Dental University, Japan; ⁹University of Aachen, Germany; ¹⁰Tartu University, Estonia

This Working Section is concerned with evolving methods of assessment in dental education. It focuses on newer methods of assessment that might have relevance for broader application. Although it cannot provide answers to all the questions it raises, it is hoped that the contribution it makes is of value in

the process of the development of a global network in dental education.

Key words: assessment, dental education, methods.

© Blackwell Munksgaard, 2002

Introduction

What is assessment?

ESSENTIALLY, assessment is a process of making a judgement or measurement of worth. It consists of taking a sample of behaviours, drawing inferences and making estimates of worth (1). To be effective, the sample needs to be representative of the behaviour skills or attributes being assessed: hence the importance of using several instances whenever possible, as well as using different methods and different observers. The methods of drawing inferences should be consistent across observers or instruments and based on clearly defined, transparent measures. The estimates of worth should be based on explicit values derived from methods of consensual validation. An effective assessment procedure should provide a valid, reliable and practicable assessment of knowledge and understanding, problem-solving performance or professional attributes. Defined skills should be assessed. Tasks should be related directly to course aims and objectives (or learning outcomes) and should be evaluated by explicit criterion referenced methods (2). Criteria should be agreed by staff and understood by students. In the development of more sophisticated criteria, it has been demonstrated that student learning can be enhanced if students are involved in the definition of

the criteria to be applied and that a change from 'How did I do?' to 'How can I get better?' may ensue (3). One can see the complexities of the challenge: while technical achievement might be quantified, the assessment of professional attributes, for example, is not simple. This subsection discusses some of the issues that face dental schools in evolving methods of assessment.

Even if an assessment has been designed for judgement, it should be possible to provide feedback to students on their performance, in terms of relative strengths and weaknesses so that they may learn from the experience. Staff should be informed of the outcome of the process, to provide an overview of the strengths and weaknesses of the course in relation to quality of teaching or appropriateness of assessment tasks, and to review how modifications might be made.

Assessment and learning

Assessment is central to the success of any educational programme and is linked very closely with student learning (4). It is well recognized that student learning is influenced and directed by methods of assessment (3, 5, 6). For example, it has been noted that in the assessment of medical students, a change from the award of pass/fail reports at the end of a clinical attachment to a structured, clinical, practical examination led to an increase in the amount of time students spent on the wards (7) as students realized they needed to be able to perform. This Working Section discussed issues in relation to how students learn. There is evidence to suggest that

*Chairperson.

†Rapporteur.

‡Group member.

students' orientation to 'deep' learning (that is, the search for meaning and understanding) declines in undergraduate courses (8). Dentistry has been implicated negatively in this respect (9). Therefore, evolving methods of assessment should be directed towards the encouragement of deeper learning strategies. It is fortunate that there are examples of curricula (for example, problem-based learning, PBL) and assessment practices, that can promote deep, elaborated learning and improved long-term recall (10–12). Critics of PBL, e.g. (13) have claimed that 'traditional' curricula and assessment might allow students to score more highly on knowledge of clinical content (the example given was in medicine), so the aim of educators should be to strike a balance between enhancing relevant knowledge, developing clinical skills and understanding and fostering self-directed learning (14, 15).

Course designers are becoming increasingly aware of the need to develop reflective, lifelong learners who can assess their own performance and behaviour accurately (3, 16, 17). The approach has been recommended as a means of preparation of dental students for continued professional development (18) and is listed in national undergraduate dental curriculum requirements (19).

There is an absence of literature in dentistry as to why particular methods of assessment are used. In essence, lecture-centred academic curricula emphasize the importance of reproductive (superficial) knowledge and assessment that 'fits' this form of curriculum must itself demand reproductive knowledge. Simply changing the method of assessment can cause tensions when traditional teaching methods are still used (20). This working group also discussed the relevance of the curriculum and learning environment on assessment practices.

Parameters within which the section decided to work

In view of the large volume of work already completed and recorded in the DentEd Final Report (21), it was decided that that document should be accepted as a comprehensive reference for extant assessment practices in dental schools. We refer to that report and the information contained therein. It may be necessary to revise this information when the final phase of school visits is completed.

Review of that document enables identification of a number of areas of assessment as follows.

Established methods

- a) Assessment of knowledge (e.g. written essays, short answer questions, some forms of multiple choice questions).

- b) Assessment of skills (e.g. competence testing, continuous clinical assessment and objective structured clinical examinations or other structured clinical tests). Clinical skills constitute such a vital component of dental practice it is essential that their assessment is as valid and reliable as possible.

While there is evidence to support the validity of competence testing, approaches used in continuous clinical assessment are less clearly defined and standardization of multiple observers is difficult (see 'Best practices and innovations' below).

Evolving methods of assessment based on changing philosophies – the focus for the working group

- a) Methods that are not yet fully developed or evaluated, e.g. the use of virtual reality, computer-based tests and other new information technologies (see 'Impact of information and communication technology' below).
- b) Assessment of professional aspects of competence (attitudes, patient management, communication and the identification of treatment outcomes). Current curricula in most dental schools are deficient in their attention to the behavioural sciences, as highlighted by Chapter 14 of the DentEd report (21). It is important, therefore, that assessment should only be developed in parallel with comprehensive curricular change (see 'Considerations not otherwise covered' below).
- c) Areas where assessment is indicated but has not yet been addressed (e.g. cognition, learning approaches and styles). As understanding of learning theory and its implications for curricular content and design grows and as the need for lifelong learning becomes more obvious, so the development of assessment methods which investigate student-learning processes become increasingly important (see 'Considerations not otherwise covered' below).

Best practices and innovations

In all assessment design, whether summative or formative, traditional or innovative, there are certain basic tenets which should be observed, including the following:

1. The purpose of the assessment should be clear to both assessor and assessed. This will usually embrace one or a combination of the following:
 - a) to motivate and direct learning;
 - b) to ensure standards for proceeding to the next stage of the curriculum and ultimately graduation;

- c) to provide feedback for students on their performance; and
 - d) to provide feedback on the curriculum and its mode of delivery.
2. The concept of alignment of curricular components is seminal. Assessment tasks must match the course objectives, which in turn must be reflected in the course content.
 3. The criteria should be kept simple and should be well understood by students. The criteria should form the basis for feedback and marking.
 4. There should be wide sampling using different methods. The closer a method is to recall of knowledge and/or well defined solutions the more reliable is the method, but this does not necessarily make it more valid. The conflicting requirements of validity, reliability, effectiveness and efficiency must always be recognized and reconciled as satisfactorily as possible in the individual circumstances (see later).
 5. Feedback to students should be as immediate and comprehensive as possible.
 6. Student evaluation of assessment criteria and practices should be elicited, receive serious consideration and, where appropriate, be acted upon.
 7. The quality of examiners, whether as sources or instruments of assessment or both, should not be taken for granted. Staff training workshops and peer review of assessment practices and, where appropriate, checklists and marking schemes are an essential part of a good assessment system.
 8. Where external examiners are used they often provide a useful, objective view of both the curriculum and the assessment procedures. They also enable inter-school comparisons and exchange of expertise. It is essential that external examiners understand the alignment of curricular design and outcomes, empathize with it and have an awareness of best international practice.
 9. Assessment is less a psychometric and more an educational design problem (i.e. how to use assessment strategically for its educational effects). There is a need for more research on educational effects of assessment and less exclusive focus on psychometric properties. This research must necessarily be contextually rich.
 10. Assessment schemes, overall, should cover the whole competence pyramid. There is a need to rely more on descriptive/qualitative data and to accept that some subjectivity is both inevitable and acceptable, provided multiple assessors are used. A considered combination of 'controlled' and 'independence' strategies is recommended.

Impact of information and communication technology

An increasing number of higher education institutions use computers to help solve some of the problems associated with the burden of increased student numbers. The application of computer-assisted learning (CAL) is well established and computer-assisted assessment (CAA) is becoming increasingly relevant. CAA includes a range of activities, e.g. the collation, analysis and transmission of examination grades across networks or the automatic marking of answers that have been completed by students at workstations. CAA is, in comparison with computer-aided learning, a relatively new development and is often pioneered by enthusiastic individual academics (22). The successful implementation of CAA is often hindered or abandoned due to time and funding restrictions, or reliance on that individual enthusiast.

Computer-assisted assessment of dental students
In comparison to other educational disciplines (e.g. technical disciplines and/or biological sciences (23), application of CAA in dental education is less advanced and far from widespread. Positive feedback has been reported from medical students (24, 25) showing that they consider this type of learning/self-assessment to be effective.

Forms of computer-assisted assessment

Computer-based tests (CBT) are the most common form and are, generally speaking, electronic equivalents of the more traditional paper-written test. The sort of questions posed in CBTs are almost identical to traditional tests. They consist mainly of:

- Self-assessment questions (SAQs).
- Parts of a computer-aided learning (CAL) package.
- Tests for formative assessment or summative (examinations).
- Diagnostic tests (i.e. 'What stage is the student at now?').
- Multiple choice tests (MCQs) for use with an optical mark reader (OMR).

The basic model has two essential components:

1. The 'no-book' test, which is given in a normal class and reflects topics that have been covered recently – it serves as a feedback mechanism for students and teachers.
2. The 'open-book' test, where information in relation to a test is accessible for several days or weeks in advance (which might be considered as a tool for the evaluation of improvement in knowledge).

Numerous software packages have become available both on commercial and free bases to produce CBT (e.g. QUESTIONMARK, CASTLE). Such packages are easily accessible and user-friendly.

Problem-orientated searching for information on the web

This approach evaluates the ability to find web-based information (text, graphics, video files) on specified topics. The topics may range from simple things, e.g. the location of a dental academic, their postal address, e-mail address, personal page, etc. through intermediate tasks, e.g. how to find relevant information on specific dental topics such as dental implants or guided bone regeneration, to more complex scenarios such as how to find a case study that is similar to one specified, and to gain alternative solutions to a dental problem.

Problem-orientated searching for information requires a certain 'outlook' from academic staff. They must be PC/web-orientated and they must be willing to prepare, electronically, for such a session. The approach is quite new.

Student assessment could follow along the following lines:

- Can the student find the required information within a time limit?
- Can they interpret the relevance of test results?
- Are they able to handle information (download, save, print out, book-marking, etc.)?

Rank ordering of performance seems not to be a good idea because of the possible skewing effects of unstable web resources, e.g. changes in amount, availability and accessibility of information. Further information on this approach is available at the following sites:

- The American Academy of Periodontology.
- ADA Online/the American Dental Association.
- DERweb/Dental Education Resources at the University of Sheffield.
- Dental X Change, GlobalDent, Dental Study Club/Swiss universities base.

Exploiting databases

This consists of searching web databases that provide information of bibliographic quality. It evaluates the ability to find dental monographs and papers on specified topics by using:

- International searchable databases, e.g. ISI, MEDLINE and NIH.
- Local and national-related library resources.
- Personal bibliographic databases.

A more advanced alternative is to ask a student to find dental publications that are not indexed in international databases, e.g. final reports, 'electronic-only'

dental medical/dental journals, etc. This requires an ability to browse through national institution websites, such as those belonging to governmental bodies, commissions, etc. For students from non-English speaking countries, a useful alternative of the approach is to find English equivalents for dental terminology. This has a double effect in that it improves the ability to work efficiently in 'English-speaking' web resources as well as improving general knowledge of English.

The future of CAA in dental education

Implementation of CAA appears to have been hindered by a lack of institutional commitment, strategic direction and easy-to-use and established methodologies. The potential of CAA is, however, high. When employed correctly, it can ensure that curricular modifications take place at a time when students can benefit (26). In terms of quality assurance, CAA could drive dental educational institutions to reconsider their existing student assessment methods. For academic staff, CAA can provide the stepping-stone to greater use of computers for teaching.

CAA will challenge the organizational structures of dental schools. Future promotion of CAA should result in a greater collaboration between technically orientated support and academic staff. This process may be challenging in the first instance, as disparate groups are forced to find ways of working together, but such collaboration is essential to the progress of CAA, as its future depends on both pedagogical and technological advances.

How to converge towards higher global standards

This is the focus for the subsection entitled 'Towards global convergence of education, training, quality and assessment' and, consequently, only a précis is given here. Our group was aware that there are two areas of concern in relation to the concept of convergence: the first is a fear that convergence may result in a reduction of standards towards a minimum universally achievable level; the second relates to academics who may be concerned that they will be required to achieve levels of performance which are impossible in their particular circumstances. Both these reservations are real and care must be taken to reassure both groups. A major factor in enabling continuous quality improvement in education is the availability of information on best practices and access to the evidence for their acceptability. A network such as DentEdEvolves is ideally placed to act as a source for this information. It will also be important to

facilitate its adoption by engaging in discussion with schools that wish to develop new practices but which are unsure how to progress.

Important regional and continental differences

The European Dimension (based on DentEd, Chapter 17)

From the 25 DentEd visits the following best practices and innovations were recorded.

Ten schools used formative assessment in addition to summative assessment. In most of those schools, formative assessment is an integral and ongoing activity of all courses. Self-assessment and peer-assessment, in particular, have been shown to increase the motivation to learn and change student attitude from one of 'how have I performed' to that of 'how can I get better?' (3). In a few schools, discussion and feedback takes place during oral assessment or after written examinations so that the examination comprises not only an assessment but also an opportunity to learn. As indicated by the schools themselves, most of the assessment concepts match the course objectives.

Assessment methods

In 23 schools a variety of assessment methods were used in order to assess different aspects of students' competence. These multiple-method combinations are important since no single assessment method can adequately measure clinical competence.

Fifteen schools used case presentations as a trigger for assessment of knowledge but there is no indication that this occurs early in the programme, to reflect authentic situations and the kinds of processes that are central to the profession.

Various skills are assessed by Objective Structured Clinical Examinations (OSCE) in nine schools.

Competence tests, which comprise preclinical and clinical tests of the student's ability to perform designated procedures have been implemented in 19 dental schools; it could not be concluded from the information available that these tests take place in the familiar clinical environment or in a non-threatening manner.

The organization of assessment

The use of external examiners from professional bodies, such as the Public Dental Health Service in Sweden, gives an independent view. For the same reason, in German schools every licensed dentist can take part in the first two State Examinations. Representatives of the

16 State Dental Councils can take part in the third, final State Examination. Members of staff attend conferences on medical and dental education and assessment in order to ensure continuing development of the curriculum and assessment methods, which drive and ensure quality in student learning.

Innovations

Included in new approaches to assessment or non-traditional assessment methods are:

- Trends towards formative assessment.
- Self- and peer-assessment.
- Use of portfolios or reflective log-books.
- Performance-based assessment.
- Practical competence tests.
- OSCEs or other structured clinical tests.
- Scientific meetings.
- Presentations of scientific projects.

The American dimension

There are three instances of external assessment of dental education in the United States.

- a) The Joint Commission on National Examinations, sponsored by the American Dental Association (ADA), the American Dental Education Association (ADEA) and the American Association of Dental Examiners (AADE). An organization of state licensing boards (see item (c) below) administers the National Board Examination at the end of the second year (part 1) and the middle of the fourth year (part 2) of the Dental curriculum. The 'part 1' examination assesses basic science knowledge using standard short answer questions. The 'part 2' examination assesses clinical knowledge using a case-based approach.
- b) United States dental schools are accredited by the Commission on Dental Accreditation, sponsored by the ADA, ADEA and AADE and authorized by the US Department of Education. This is a voluntary process but, without accreditation, dental students and schools cannot receive federal loans and grants and graduates cannot sit state licensing examinations. The Commission sets a number of standards relating to outcome measures, educational parameters, student support services and the research mission. Every 7 years, the dental schools perform a self-assessment/self-study and are site-visited for 3 days by a team of Commission consultants who verify the findings of the self-study, in a process similar to the recent DentEd visits. Deficiencies result in recommendations that must be corrected within 2 years under threat of loss of accreditation.

c) Individual states conduct practical and written examinations for dentists seeking to practise in that state, in order to assess their competence. The purported rationale is to protect the public but some would argue that the main objective is to restrict mobility.

There is no state which assesses continued competence in their practising dentists.

The Singapore dimension

The Faculty of Dentistry in Singapore believes in the new philosophies of learning and assessment and accordingly has introduced innovative assessment methodologies such as open-book examinations, which assess students at a deeper level of critical thinking and application. Clinical programmes are competence-based, with a strong emphasis on multidisciplinary and holistic management of the patient.

The Japanese dimension

In Japan there is a growing awareness among dental academics that assessment is an integral part of the curriculum and should be closely linked to the educational aims, objectives and methods. The assessment methods most frequently employed, however, are dominated by traditional written tests. The introduction of OSCEs is being considered in some dental schools. The Japanese National Board Dental Examination, consisting solely of MCQs, has a direct effect on student learning. Serious consideration must be given to developing a more effective combination of assessment methods, both formative and summative.

Considerations not otherwise covered

Under this heading, we discuss parts (b) and (c) of 'evolving methods of assessment', as defined above.

Assessing attitudes (part b)

An attitude is a mixture of beliefs, thoughts and feelings that predispose a person to respond, in a positive or negative way, to other people, objects or institutions. Clearly, attitudes are a directional force, so when considering attitudes one has to ask: attitudes towards what? Attitudes summarize past actions, they influence future actions and they may be used to predict future actions. However, just as past educational achievement is not necessarily a good predictor of future educational achievement, so too attitudes are not necessarily good predictors of future behaviour. One cannot measure attitudes directly, so one infers a person's attitudes from his/her actions and uses this to predict future

actions. There are, however, other predispositions to act. These are understanding, knowledge, skills, motivation and habits. Hence, inferring attitudes from actions or behaviours is complex and requires careful attention to the sample of behaviours and the methods of assessment and an examination of the underlying assumptions of the methods of assessment. Finally, attitudes can also be conceived as occupying the middle ground between personality traits and opinions or mood swings. They are more stable than opinions and less stable than personality traits. The closer the attitudes are to personality traits, the less amenable they are to change.

Can attitudes be changed? There is plenty of evidence that attitudes can and do change. The evidence is drawn from personal experience, naturalistic studies, experimental studies and laboratory studies. Attitudes may be changed through:

- personal experience (direct contact);
- reflection on personal experience;
- group interaction; group membership;
- professional identity;
- chance conditioning;
- media influences (persuasion); and
- cult influences (closed communities).

Attitudes may be resistant to change and a change in attitude does not necessarily lead to a change in behaviour. Other attitudes, predispositions, motives, emotions or habits may be more potent.

Changes in attitude can be brought about by changing knowledge, understanding, skills, actions and context. It is assumed that these changes can be brought about through lectures, small group work, practicals, clinics and projects. Probably, an equally potent force is the 'hidden curriculum'. The hidden curriculum might be described as the unintended consequences of the structure of the course, its methods of assessment and teaching and the attitudes of its teachers. Even the unintentional remarks of a tutor may reveal attitudes that have an effect upon a student's attitudes. This form of 'chance conditioning' is perhaps more common in laboratories and clinics than is realized.

Why assess attitudes?

Attitudes in Dental Education may be assessed in order to:

- ensure dental students and dentists are safe professionals;
- help dental students and dentists to develop;
- estimate change;
- improve interpersonal relationships;
- change contexts and organizations;
- satisfy demands of accountability and control.
- assessment of attitudes can itself change attitudes.

Each of these purposes requires a different emphasis in content and approach. The underlying assumption is that attitudes provide a measure of future behaviour, but as indicated above, this assumption is problematic.

How can one assess attitudes in dentistry?

One can assess attitudes through direct observation of actions or observations of video-recorded actions. The usual rules apply: trained observers, the use of usable explicit criteria and an adequate sample of behaviours. Alternative approaches are self-reports, portfolios, reflective practice assignments and audits of practice- or qualitative-based projects. These approaches are particularly useful for formative assessment. However to be effective, the methods do require trust between the student and tutor. Methods that are normally used for assessing knowledge and understanding may also be used to assess attitudes. Here the danger is that students provide 'socially acceptable' answers. Similar remarks apply to questionnaires and attitude inventories such as a dentist-patient attitude scales. It is suggested that such a scale should be developed and field-tested. Broadly speaking, the more remote the method of assessment is from actual behaviours, the less valid the method is likely to be. However the reliability, validity and practicality is determined by the specifics of the method used rather than the method per se. A good attitude inventory is better than a bad set of observations.

Is assessing attitudes worthwhile?

The answer is a cautious 'yes'. Attitudes are an important ingredient of professional expertise and behaviour. Attitudes in dentistry can be assessed – although their assessment is in its infancy. Just as all methods of assessment of student learning have strengths and weaknesses, so too do different methods of assessing attitudes. The important points are:

- Be clear why you are assessing attitudes.
- Use methods of drawing inferences that are fair, reliable and valid.
- Be aware of the limitations of the methods that you are using.
- Be aware of the assumption that you are making of attitudes as predictors of future behaviours.
- Monitor your methods of assessing attitudes.

Learning (emphasizing process rather than content) (part c)

This section includes discussion of the development of the assessment of critical thinking and decision-making, its relationship to curricular strategy and its relevance to professional practice.

A greater understanding of cognitive processing, particularly in relation to learning, coupled with the realization that lifelong learning skills are essential for continuing safe effective practice has highlighted the need for a new dimension in the assessment of health-care professionals. It is now agreed that it is important to measure not only what is learned, but also how it is learned. It is possible that this new concept will have implications for the selection of students for courses and for modification not only of curricular strategies but also of learning practices at both undergraduate and postgraduate levels.

A review of the understanding of learning theory shows that it can be considered as encompassing two parallel approaches. These are described by Biggs (27) as:

- a) The information processing theory deriving from cognitive psychology.
- b) Approaches to learning theory based on student personality, learning styles, individual learning context and motivation as reported by the student. Much of the work in both areas relates to medical education but is clearly relevant to all health-care professionals.

Background literature

Information processing theory

Researchers such as Schmidt, Norman, Holyoak, Patel, Schwartz and Barrows have performed extensive investigations into cognitive and metacognitive processing during problem analysis and decision making since the early 1980s. Norman (28) referred to the statement of the American Board of Internal Medicine (1979) that 'the ability to define and manage clinical problems is viewed as central to clinical competence in medicine'. Norman reflected further that none of the variety of evaluation methods then available demonstrated a high correlation between performance on one problem and on the next. He concluded that the low correlation suggested that something other than the general skills of data gathering, problem solving and clinical judgement, as they were then perceived, was having a significant effect on performance.

Patel et al. (29), again addressing the dilemma of the precise components of successful problem analysis and decision making, demonstrated that the process involved in the memory for clinical cases is complex and involves the ability to make inferences from a highly developed knowledge base. Further work by these same researchers and others in the 1990s has helped to clarify a number of these issues. Schmidt and Norman (30), reviewing the publications of the

previous two decades, proposed that medical expertise is not so much a matter of either superior reasoning skills or in-depth knowledge of pathophysiological states, but is based rather on cognitive structures that describe the features of prototypical or even actual patients. They suggested that these cognitive structures contain relatively little knowledge about pathophysiological causes of symptoms and complaints but contain a wealth of clinically relevant information about disease, its consequences and the context under which illness develops. In relation to assessment they suggested that clinical competence will be properly assessed only if tools are used which focus on both the knowledge base and 'on the qualitative transition from a conceptually rich and rational knowledge base to one comprised of largely experiential and nonanalytical instances'. They admitted that measurement is difficult but suggested a two-stage strategy where the first stage provides limited information in a limited time period and probably includes visual representation and the second stage supplies more data and allows for detailed information processing.

The studies of Whittlesea et al. (31, 32) also indicate that it is possible to identify many of the interactive factors involved in the accessing and application of knowledge to a prescribed problem/task/decision. They asserted that it is possible to assess these factors individually and demonstrated, in their 1994 paper, how this may be carried out. The methods which they used are complex and not immediately applicable to general assessment in undergraduate curricula but should become so if further refined and modified.

New developments in assessment of clinical reasoning suggest that, as knowledge and clinical reasoning are closely linked (33), we should not be afraid to examine for knowledge, provided the assessment, whatever the format, focuses on clinical decisions and uses multiple case scenarios.

Examples of stimulated recall techniques described by De Grave et al. (34) and, more recently, Barrows (14) seem to offer readily accessible assessment tools for clinical reasoning including both knowledge processing and conceptual change during problem analysis.

Approaches to learning theory

This alternative approach to the understanding of learning theory is based on the analysis of learning in the learning environment. It relies largely on the use of inventories and questionnaires completed by students involved in curricula. In the 1960s and 1970s researchers such as Biggs and Entwistle, investigating student-learning approaches, began to develop and continue currently to modify, questionnaires such as

the Study Process Questionnaire and the Approaches to Studying Inventory. Using these tools three basic approaches to learning, i.e. surface, deep and strategic, have been identified. Evidence shows that the deep approach to learning results in a much better understanding of the material and a better performance in immediate examinations and on later recall (5, 8).

Researchers generally agree that the student approach to learning is dependent to some extent on student learning styles but is also much affected by interaction with teaching, curricular strategy, context and learning environment. The Biggs model of relationships in education (3P model), i.e. Process, Presage and Product, provides a comprehensive exposition of all aspects of current learning theory. Because assessment is such a strong motivator of learning it is essential that it is designed to encourage a deep approach. There have been some disquieting results of studies that suggest that students entering third level education as deep learners may change to strategic or even superficial learners during the undergraduate years. McManus et al. (35), reported on a study of the relationship between medical students clinical experience and their final examination results and found that there was a lack of correlation between examination performance and clinical experience. This study did, however, find a correlation between study habits and learning approaches. Once again the work of this group of researchers highlights the need to expedite the development of new assessment practices to take account of methods of information processing and learning process profiles, both of which must be identified so that they can be modified by curricular strategies.

Implications and potential for emerging countries

Course objectives and assessment methods and rates of curricular development must reflect cultural, demographic, financial and environmental circumstances of each individual school and country. Personal interaction and outreach programmes designed for areas with limited accessibility must support networking of technological advances. See also the report of Theme 4, 'Web-based interactive learning programmes'.

Core values applicable to all

Miller, in his invited review (36), stated the following:

It is important to start with the forthright acknowledgment that no single assessment method can provide all the

data required for judgement of anything so complex as the delivery of professional services by a successful physician.

He suggested a framework on which to base assessment which is known as the Miller pyramid. The pyramid is designed with 'knowledge' as the basal section and moves apically through 'knows how' (competence) and 'shows how' (performance) to 'does' (action).

The main general characteristics of instruments in assessment are reliability, validity, educational impact, acceptability and cost (35).

In a selective assessment situation educational impact and validity are reduced in weight to the advantage of reliability, whereas in formative assessment the reverse may be the case. Reliability is related to sampling across content and testing time. Adequate reliability requires substantial sampling and multiple examiners, patients and resources.

Validity can be addressed by reference to Miller's pyramid as above. Miller (36) recommended that factual tests be applied to the 'knows' stage, clinical context-based tests to the 'knows how' stage, performance assessment *in vitro* to the 'shows how' stage and performance assessment *in vivo* to the 'does' stage.

Educational impact is related to the assumption that assessment drives learning. It undoubtedly does this, but there is a need for more research into ways in which it can be used to encourage desirable learning habits.

Range of assessment methods available

Cases and open problems

This approach has potential for measuring application of knowledge, analysis, problem-solving and evaluative skills. Short cases are relatively easy to design and mark. Design of more complex cases and their marking schemes is more challenging. Marking for grading and feedback is about as fast as essay marking.

Computer-based assessment

This is much discussed. (See section on 'Impact of information and communication technology'.) Reliability is high but validity (the match with outcomes) needs careful attention.

Direct observation

This is useful for immediate feedback, for developmental purposes and for estimating performance provided a simple, structured system is used. The presence of an observer can change performance, so the method should be handled sensitively. Impressionistic observation can be useful, if supported by constructive

feedback. This method can be used by a group of peers to provide feedback as well as assessment. Intensive, lengthy training is required for high reliability if detailed checklists are used. Reliability, validity and manageability are fairly high when structured observation is used.

Essays

These constitute a standard method. There are several types of essays that test different styles of writing and different types of thinking. Essays usually measure understanding, synthesis and evaluation provided that the right questions are asked. They are relatively easy to set. Marking for grading, based on impressionistic marking, is fast. Marking for feedback can be time-consuming. Overall, the advice is to keep the criteria simple. Variations between assessors can be high – variations are also demonstrable in repeat marking by individual assessors.

Learning logs/diaries

There is a wide variety of formats ranging from an unstructured account of each day to a structured form based on tasks. Some training in reflection is recommended. Inevitably, it is time-consuming for students and requires a high degree of trust between assessors and students. Measuring reliability is difficult. It may have high validity if the structure matches learning outcomes.

Mini-practicals

This is interpreted as a series of mini-practicals undertaken under timed conditions. There is potential for sampling a wide range of practical, analytical and interpretative skills. The initial design is time-consuming. Some, if not all of the marking can be done on the spot so it is fast. Feedback to students is fast. A reliable method, but training of assessors is necessary.

Modified essay questions (MEQs)/structured questions

This relates to a sequence of questions based on a case study. After answering one question, further information and new questions are given. The procedure continues, usually for about 1 hour. It is relatively easy to set up and may be used in teaching or assessment for developmental or judgemental purposes. It can be computer- or paper-based. It may encourage reflection and analysis and has the potential for high reliability, validity and manageability.

Multiple choice questions (MCQs)

This approach may be used to sample a wide range of knowledge quickly. It has the potential for measuring

understanding, analysis, problem solving skills and evaluative skills. There are a wide variety of formats from true/false to reason–assertion. More complex formats are not recommended as they confuse students unnecessarily and they are time-consuming to design. More demanding MCQs require more time to set. Better ones are based on case studies or research papers. They are easy to mark and results are analysed easily. They are also useful for self-assessment and screening and have potentially high reliability, validity and manageability. Feedback to students is fast. There is a danger of testing only trivial knowledge. To save time, look for banks of items on the Net or in US textbooks. A team of assessors, working to the same learning outcomes, can brainstorm and produce several questions in an afternoon.

Orals

These help to test communication, understanding, capacity to think quickly under pressure and knowledge of procedures. Feedback potential is good. Marking for grading can be fast but some standardization of interview procedure is needed to ensure reliability and validity.

Objective structured clinical examinations (OSCEs)

Initially these were used in medicine and only latterly gained interest in dentistry (20). They are particularly useful for assessing practical and communication skills quickly but are fairly hard to design and organize, although easy to score and provide feedback. They may be used in the induction phase to estimate key practical skills. Group OSCEs are useful for teaching, feedback and developmental purposes. OSCEs can be used towards the end of a course to provide feedback or to test performance against outcomes. Reliability, validity and manageability are potentially fairly high. They are probably less labour intensive than other forms of marking but several assessors are required at any one time. Initially, they are time-consuming to design – but worth the effort. It is essential that a large number of stations be used.

Portfolios

There is a wide variety of types ranging from a collection of assignments to reflection upon critical incidents. The latter are probably the most useful for developmental purposes. They may provide a basis for orals and have rich potential for developing reflective learning if students are first trained in these techniques. Effective use of the portfolio requires a high level of trust between assessors and students. Measuring reliability is difficult, although they may be high on

validity if the structure matches the objectives of training.

Poster sessions

These test the capacity to present findings and interpretations succinctly and attractively. There is a danger of focusing unduly on presentation methods but this can be avoided by the use of simple criteria. They offer good opportunities for feedback from tutor, self and peers. Marking for grading is fast and the use of criteria reduces variability.

Presentations

Presentations test various aspects of preparation, understanding, knowledge and capacity to structure information and oral communication skills. They also have feedback potential from tutor, self and peers. Marking for grading is based on simple criteria and is fast and potentially reliable. They measure their ability to respond to questions and also manage discussion.

Problems

The use of problems has a potential for measuring application, analysis and problem-solving strategies. Complex problems and their marking schemes can be difficult to design. Marking for grading of easy problems is fast. Marking of complex problems can be slow. Marking for feedback can also be slow. Variation between markers is fairly low when based on model answers or marking schemes. Allow for creative, valid solutions by bright students.

Projects

This includes group projects and dissertations. They have good all-round testing ability and the potential for sampling a wide range of practical, analytical and interpretative skills. They also provide a measure of project and time management. Group projects can provide a measure of teamwork skills and leadership, motivation and teamwork. Marking for grading can be time-consuming. Marking for feedback can be achieved through peer and self-assessment and presentations. Learning gains can be high particularly if reflective learning is part of the criteria. Projects test methods and processes as well as end results. There can be variations between markers. The use of criteria reduces variability but variations of challenge of project or dissertation can affect reliability.

Questionnaires and report forms

Structured questionnaires may elicit the information wanted but semi, or open-ended, questionnaires may

provide the information needed. A mixture of structured and open-ended questions is therefore recommended. Criterion reference grading is recommended for judgemental purposes. Broad criteria are more reliable and valid than highly detailed criteria. Detailed criteria tempt users to react negatively or disdainfully.

Reflective practice assignments

This measures student capacity to analyse and evaluate experience in the light of theories and research evidence. It is relatively easy to set. It provides feedback potential from peers, self and tutors. Marking for feedback can be slow. Marking time for grading is about the same as for essays. Use of criteria reduces variability.

Reports on practicals

This is a standard method. It has potential for measuring knowledge of experimental procedures and analysis and interpretation of results. It measures 'know-how' of practical skills but not skills themselves. Marking for grading using impressions or simple structured forms is relatively fast. Marking for feedback with simple structured forms is faster than without them. Variations between markers, without structured forms, can be high. The method is sometimes over-used. To reduce student workload and the assessment load, different foci of assessment for different experiments are recommended.

Self-assessed questions based on open learning (distance learning materials and computer-based approaches)

Strictly speaking, this is a method of learning, not of assessment, but it could be used more widely for assessment purposes. Self-assessed questions could form an integral part of open learning. These could be based on checklists, MCQs, short-answer questions, MEQs and other methods. Their primary purpose is to provide feedback and guidance to the users. They can be used to integrate open learning and practice-based learning if students visit general dental practices or community health clinics. Reliability and validity is probably moderately high and manageability is high in the long term, but initially it is low.

Short-answer questions

This standard method has potential for measuring analysis, application of knowledge, problem-solving and evaluative skills. Questions are easier to design than complex MCQs but still relatively slow. Marking to model answers is relatively fast compared with marking problems but not compared with MCQs. Marking for feedback can also be relatively fast.

Simulated interviews

These are useful for assessing oral communication skills and for developing ways of giving and receiving feedback on performance. Video-recorded sessions take more time but are more useful for feedback and assessment. Peer and self-assessment can be used. Sensitive oral feedback on performance is advisable. Assessment by simple rating schedule or checklist is potentially reliable if assessors, including students, are trained.

Single essay examination

This is usually structured on a 3-hour response on a prepared topic. It is relatively easy to set but attention to criteria is needed. This method tests a wider range of ability including capacity to draw on a wide range of knowledge, to synthesize and identify recurrent themes. Marking for feedback is relatively slow. Marking for grading is relatively fast providing the criteria are simple.

Work based assessment

This includes a variety of methods including learning logs, portfolios, projects and structured reports from supervisors or mentors. It is important to provide training for supervisors and mentors in the use of criteria. Work experiences can be variable so reliability can be low. Validity, as usual, is dependent upon clear learning outcomes.

Open book assessments

This format focuses on skills of information sourcing and ability to perform critical analysis, prioritization and summarization of information. It is increasingly relevant in an age where easy access to information sources reduce the need for memorization of large volumes of information.

Conclusions

- There is general agreement that the quality of the assessment is a major determinant of undergraduate learning.
- The range of assessment methods available for monitoring knowledge is wide and well documented. Educators who follow the basic guidelines summarized in this report and widely available in the literature should be relatively reassured about their assessment of knowledge.
- There is widespread and growing concern about the integrity of the assessment of many components of clinical performance in dental education. Even the

assessment of a student's physical skills, long recognized as the core of dental practice, is a source of concern. Consistency, objectivity, training and performance of assessors are among the topics that need to be addressed. Questions still need to be answered about what 'assessment of competence' really means, the (lack of) reliability of day-to-day continuous clinical assessment and the value of traditional, unstructured forms of assessment, such as the viva voce examination. Some essential components of clinical competence (e.g. professional behaviour, attitudes and communication skills), which are central to effective clinical practice, have always been regarded as difficult to measure. Many educators are now recognizing the need for a structured approach to the teaching and assessment of professional behaviour, communication skills and attitudes in the curriculum.

- New emphasis on the importance of the learning process and the need for active lifelong learning has inevitably led to the search for tools to measure this important aspect, although much work remains to be conducted.
- Careful organization and synchronization of the many disparate initiatives currently in progress within dental education and the health care professions in general should enable more rapid solutions to the many challenges which remain within the area of assessment.

Building and growing a thematic network

This was not discussed in any detail. Please refer to the reports of 'Towards global convergence of education, training, quality, outcome and assessment' and 'Web-based interactive learning programmes'.

Recommendations, realistic goals and a time frame

1. There is irrefutable evidence that assessment is central to the success of education programmes. Therefore, reference to 'Best practices and innovations' and 'Core values applicable to all' in this report (above), dealing with best practices and core values in assessment, is strongly recommended.
2. It is recommended that dental educators ensure that assessment practices, which are already established within their curriculum, are reviewed and modified as appropriate in the light of the best current evidence of efficacy.

3. It is further recommended that educators involved in the design and implementation of new curricular strategies explore the evidence for the need to introduce new forms of assessment that are in alignment with curricular initiatives.
4. We propose the development of a multidisciplinary (intradental and non-dental) resource group including those from the present group who have the time and interest to continue, but augmented by recruitment of the international education community.
5. It is recommended that an open access resource be put in place to facilitate the development of maximum achievable standards in assessment practices for all dental schools wishing to be involved at any level. In establishing such a resource, care should be taken to identify other national and international groups with similar objectives and liaise with them in order to reduce duplication of effort. Development of an effective resource will require that individual members of the group choose and concentrate on specialist areas (initially these may be based on the parameters chosen in this present report). Accumulated information on best assessment practices and literature relating to each specialist area will be accessed either on the web or through an electronic distribution list.
5. The group is conscious that workshops and personal communication play a vital role in development and dissemination of good practice. It is therefore recommended that the group plans assessment events to be held in association with, or as satellite workshops to, established educational meetings such as ADEE, ADEA and IADR in 2002 and with the second phase of the DentEd Evolves project in 2003. The proposed format would be a combination of keynote lectures by experts on assessment and workshops run by members of the working group.
7. Consideration should be given to a longer-term aim, to maintain and develop a more permanent group dedicated to the promotion of good practice of assessment in dental education. This should include the establishment of an annual or biennial assessment meeting either in isolation or by arrangement with an existing assessment meeting such as the Ottawa Conference.

Additional reading

- Ashworth P, Saxton J. Managing work experience. London: Routledge, 1992.
- Biggs J. Enhancing teaching through constructive alignment. Higher Educ 1997; 32: 347-364.

- Biggs J. Teaching for quality learning at university. Buckingham: Open University Press, 1999.
- Bloom BS. A taxonomy of educational objectives. Handbook I: Cognitive domain, 2nd edn. New York: McKay, 1965.
- Brennan J, Little B. A review of work based learning. London: Department for Education and Employment, 1996.
- Heywood J. Assessment in higher education: student learning, teaching, programmes and institutions. London: Jessica Kingsley Publishers, 2000.
- Murphy RJH. Removing the marks from examination scripts before remarking them. *Br J Educ Psychol* 1979; 49: 73–78.
- Newton PE. The reliability of marking of general certificate of secondary education scripts: mathematics and English. *Br Educ Res J* 1996; 22: 405–420.
- Partington J, Brown G, Gordon G. Handbook for external examiners in higher education. Sheffield: Committee of Vice Chancellors and Principals, UCoSDA, 1993.
- Partington J *et al.* Improving examiners meetings: a video-training package. Sheffield: Committee of Vice Chancellors and Principals, UCoSDA, 1995.
- Quality Assurance Agency (QAA). Code of practice for external examiners. Gloucester: Quality Assurance Agency for Higher Education, 1999 (available at <http://www.qaa.ac.uk>).
- Quality Assurance Agency (QAA). Handbook for academic review. Gloucester: Quality Assurance Agency for Higher Education, 2000 (available at <http://www.qaa.ac.uk>).
- Ramsden R, Entwistle NJ. Effects of academic departments on students' approaches to studying. *Br J Educ Psychol* 1981; 51: 368–383.
- Wisker G, ed. Making the most of the external examiner. Birmingham: SEDA, 2001.
11. Walton HJ, Matthews MB. Essentials of problem-based learning. *Med Educ* 1989; 23: 542–558.
12. Schmidt HG. Foundations of problem-based learning: some explanatory notes. *Med Educ* 1993; 27: 422–432.
13. Albanese MA, Mitchell S. Problem based learning. a review of literature on its outcome and implementation issues. *Acad Med* 1993; 68: 52–81.
14. Barrows HS. A taxonomy of problem-based learning methods. *Med Educ* 1986; 20: 481–486.
15. Chiodo GT, Bullock WW, Creamer HR, Rosenstein DI. An application of the patient-oriented problem-solving system. *J Dent Ed* 1991; 55: 327–331.
16. Schon DA. The reflective practitioner. London: Temple Smith, 1983.
17. Gordon MJ. Self-assessment programs and their implications for health professions training. *Acad Med* 1992; 67: 672–679.
18. Carrotte PV. The assessment of dental students – a University education? *Br Dent J* 1993; 175: 220–223.
19. General Dental Council. The first five years: the undergraduate dental curriculum. London: General Dental Council, 1997.
20. Manogue M, Brown GA, Nattress BR, Fox K. Improving student learning in root canal treatment using self-assessment. *Int Endod J* 1999; 32: 397–405.
21. Rohlin M, Roger-Leroi V, Miotti F *et al.* Assessment Methods. In: Shanley DB *et al.*, eds. Dental education in Europe, towards convergence. Budapest: Dental Press kft, 2001: 100–112.
22. Stephens D, Bull J, Wade W. Computer-assisted assessment: suggested guidelines for an institutional strategy. *Assess Eval Higher Educ* 1998; 23: 283–294.
23. Kingsley J, Leonard L, Sutcliffe R, McAteer E. Development and evaluation of computer based assessment for 1st year biology students. ALT-C97. Telford: University of Wolverhampton, 1997.
24. Gunn C, Maxwell L. CAL in human anatomy. *J Comp Assist Learning* 1996; 12: 205–215.
25. Sewell RDE, Stevens RG, Lewis DGA. Multimedia computer technology as a tool for teaching and assessment of biological science. *J Biol Educ* 1995; 29: 27–32.
26. Bull J. Computer-assisted assessment: impact on higher education institutions. *Educ Technol Soc* 1999; 3(2). Online journal available at: http://ifets.ieee.org/periodical/Vol_399/joannabull.html
27. Biggs J. What do inventories of students' learning processes really measure. *Br J Educ Psychol* 1993; 63: 3–19.
28. Norman GR, Tugwell P, Feightner JW, Muzzin LJ, Jacoby LL. Knowledge and clinical problem-solving. *Med Educ* 1985; 19: 344–356.
29. Patel VL, Groen GJ. Knowledge based solution strategies in medical reasoning. *Cogn Sci* 1986; 10: 91–116.
30. Schmidt HG, Norman GR, Boshuisen HPA. A cognitive perspective on medical expertise – theory and implications. *Acad Med* 1990; 65: 611–621.
31. Whittlesea BWA, Brooks LR, Westcott C. After the learning is over – factors controlling the selective application of general and particular knowledge. *J Exp Psychol Learn Mem Cogn* 1994; 20: 259–274.
32. Whittlesea BWA, Dorken M. Incidentally, things in general are particularly determined. an episodic processing account of implicit learning. *J Exp Psychol Gen* 1993; 122: 227–248.

References

1. Brown G, Bull J, Pendlebury M, eds. Assessing student learning in higher education. London: Routledge, 1997.
2. Godfrey J, Heylings D. Guide to assessment of students' progress and achievements. London: Queen Mary and Westfield College, 1997.
3. Boud D. Enhancing learning through self-assessment. London: Routledge, 1995.
4. Gibbs G. Improving the quality of student learning. Bristol: Technical and Educational Services, 1992.
5. Entwistle NJ. Styles of learning and teaching. London: Routledge, 1981.
6. Rowntree D. Assessing students – how shall we know them? London: Kogan Page Ltd, 1987.
7. Newble DI, Jaeger K. The effects of assessment and examinations on the learning of medical students. *Med Educ* 1983; 17: 25–31.
8. Biggs J. Student approaches to learning and studying. Melbourne: Australian Council for Educational Research, 1987.
9. Davis JEC, Sales GD. Dental and life science students: a comparison of approaches to study and course perceptions. *Med Educ* 1996; 30: 453–458.
10. Martenson D, Eriksson H, Ingelman-Sundberg M. Medical chemistry. evaluation of active and problem-oriented teaching methods. *Med Educ* 1985; 19: 34–42.

Manogue et al.

33. van der Vleuten C, Newble D. Guidelines for assessing clinical competence. *Teach Learn Med* 1994; 6: 213–220.
34. DeGrave WS, Boshuizen HPA, Schmidt HG. Problem based learning: cognitive and metacognitive processes during problem analysis. *Instruct Sci* 1996; 24: 321–341.
35. McManus IC, Richards P, Winder BC, Sproston KA. Clinical experience, performance in final examinations, learning style in medical students: a prospective study. *Br Med J* 1998; 316: 345–350.
36. Miller GE. The assessment of clinical skills/competence/performance. *Acad Med* 1990; 65(Suppl. 9): S63–S67.

Address:
Michael Manogue
School of Dentistry
University of Leeds
Clarendon Way
Leeds
LS2 9LU
UK

Původní práce Original Article

ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 113,
2013, 5,
s. 120–125

Dentální implantologie při léčbě následků parézy nervus facialis v dětském věku

(Původní práce – klinická studie)

Dental Implantology in the Treatment of the After-Effects of the Juvenile Paresis Nervus Facialis

(Original Article – Clinical Study)

Prachár P., Bartáková S., Černochová P., Vaněk J.

Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno

Věnováno prof. MUDr. Martině Kukletové, CSc., k životnímu jubileu

SOUHRN

Úvod a cíl: Práce se zabývá problematikou případu parézy n. facialis v dětském věku a následcích vzniklých na podkladě tohoto onemocnění. Autoři rozdělují hypodoncii na získané a dědičné. Z nich vyčleňují hypodoncii získané na podkladě agens, kam patří i paréza n. facialis. Dále popisují etiopatogenezi a charakteristiku parézy n. facialis. Ukazují souvislost mezi onemocněním a parézou n. facialis. Dále popisují souvislost vývoje stálé dentice a poškození zubních zárodků. Tato poškození odpovídají časovému rozložení ve vývoji dentice.

Metody: Autoři ukazují příklad onemocnění parézy n. facialis vzniklého v sedmi letech věku. Šlo o juvenilní jednostrannou parézu. Byly zde hypodoncii pravé a nepravé, které byly výsledkem poškození v daném věku. Mimo problematiku zubů zde byla problematika vývoje dolní čelisti a měkkých tkání obličeje. U pacienta byl stanoven celý léčebný plán s několika stomatologickými odbornostmi.

Výsledky: Jako první se přistoupilo k extrakcím nevyhovující dentice, která byla v důsledku nevyvinutí zubních zárodků neschopna dalšího protetického využití. Následovala augmentace alveolu, především v horizontálním rozměru, s částečným vertikálním zvýšením do výšky kostních sept zubů kryjících defekt. Dále byly inzerovány dentální implantáty do takto upravené dolní čelisti společně s implantací do oblasti pravé hypodoncii. Následovalo estetické doplnění měkkých tkání epitezou. Pacient byl dále hodnocen pomocí rtg zobrazení s odstupem po dobu deseti let od začátku terapie.

Závěr: Paréza n. facialis je onemocnění, kde z pohledu stomatologie dochází k velmi závažnému poškození zubních zárodků ve spojitosti s věkem. Časté jsou zde augmentační techniky pro doplnění defektního alveolu, především v horizontálním směru, s následným ošetřením pomocí dentálních implantátů. Následně defekt měkkých tkání obličeje postižené strany nás vede k doplnění měkkých tkání v ústech za pomoci epitezou. Autoři tak kladou důraz na komplexnost ošetření s ohledem na postižení nejen stálé dentice, ale také okolních struktur.

Klíčová slova: paréza n. facialis – hypodoncii – dentice – augmentace – implantace

SUMMARY

Introduction and objective: In this paper, the authors deal with the problems of juvenile paresis n. facialis and after-effects of this disease. The authors divide the hypodontia acquired and hereditary. Of these, allocating hypodontia obtained on the basis of agents, which include paresis n. facialis. Further describe the genesis and characteristics of paresis n. facialis. They show link between disease and paralysis of the facial nerve. It also describes the development in the permanent dentition and dental damage fetuses. This damage corresponding time distribution in developing dentition.



Dentální implantologie při léčbě následků parézy nervus facialis v dětském věku

Methods: The authors show examples of diseases resulting from facial nerve palsy in seven years of age. It was a juvenile unilateral paresis. There were hypodontia true and false, which were the result of damage at a given age. Outside the teeth issue here, the issue of mandible and soft tissues of the face. The patient was determined throughout the treatment plan with several dental skills.

Results: It was first approached to extractions poor dentition, which was due to undeveloped embryos incapable of further dental prosthetic use. This was followed by augmentation of alveolar mainly in the horizontal dimension with partial vertical increase in bone height sept teeth covering the defect. Furthermore, the advertised dental implants in the lower jaw so prepared, together with implantation in the right hypodontia. Followed by addition of aesthetic soft tissue prosthesis. The patient was further evaluated using X-ray view from a distance for 10 years from the start of therapy.

Conclusion: Paresis n. facialis is a disease where the terms of dentistry causes very serious damage to the dental germs, with the age. Frequently there are augmentation techniques to supplement defective alveolar mainly in the horizontal direction, followed by treatment with dental implants. Subsequently defect of soft tissues of the face affected parties leads us to supplement the soft tissues of the mouth using prostheses. The authors thus emphasize the complexity of the treatment with respect to disability not only permanent dentition, but also the surrounding structures.

Key words: *paresis n. facialis - hypodontia - dentition - augmentation - implantation*

ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 113,
2013, 5,
s. 120–125

Čes. Stomat., roč. 113, 2013, č. 5, s. 120–125

ÚVOD

Chybění dentice terminologicky členíme na aplazii, oligodoncii a anodoncii. Aplazie zubu je vrozené nevyvinutí zubu. Oligodoncie je neúplný počet zubů; chybění většího počtu zubů. Anodoncie je vrozené nevyvinutí zubů; chrup není vytvořen. Obecně přijímáme pojem hypodoncie jako pojem nadřazený.

Ve většině případů hovoříme o chybění zubů ve stálé dentici. Výjimečně hovoříme o hypodoncii v dočasné dentici. Zde však taková porucha má prognosticky horší numerický rozměr ve stálé dentici. Právě u celkových onemocnění, např. ektodermální dysplazie, jsou hypodoncie v dočasné dentici první známkou těžkých hypodoncií – oligodoncií, někdy anodoncií – ve stálé dentici [17, 18, 19].

Hypodoncie členíme na získané a dědičné.

Mezi získané hypodoncie patří

- vývojové (cyanotický symptom u onemocnění srdce, syndrom srostlého jazyka, syndrom chybění jazyka, mikrodoncie);
- podle známé příčiny (nádor, ozáření, paréza n. facialis, léky v těhotenství aj.) [10, 16, 18] nepravé hypodoncie (sekundární hypodoncie) – nejde o typické hypodoncie, ale o tak velké poškození zubního zárodku, že nelze hovořit o kvalitní dentici, která není schopna vlivem poškození plnit funkci jako jeden článek chrupu, a je nutné takové malformace extrahovat. Jde o dětský věk, kde poškození zárodku zubu odpovídá časové ose při vývoji zubu a z toho plyne i míra jeho postižení.

Mezi hypodoncie na podkladě dědičnosti patří

- skupina chybění zubů autozomálně dominantní, autozomálně recesivní, polygenetické, onemocnění X-chromozomu nebo neznámé etiologie (chybění postranních horních řezáků, chybění špičáků, chybění třetích molárů a další);
- další skupinou dědičných hypodoncií je skupina chybění zubů v souvislosti s celkovým onemocněním (patří sem asi 30 druhů onemocnění, z čehož každé má ještě velikou podskupinu podtypů – příkladem může být onemocnění ektodermální dysplazií a dalších 150 podtypů) [19, 21].

Právě k získaným hypodonciím patří paréza n. facialis. Obrna lícního nervu představuje mononeuropatii, která se zdá být zdánlivě nezávažnou. Bývá obvykle ztotožňována s Bellovou idiopatickou obrnou n. facialis. Je projevem jádrové léze nebo postižení nervus intermediofacialis. Mononeuropatie mají nejčastěji zánětlivě infekční původ. Je zde vztah přes 50% periferních obrn lícního nervu k viru herpes simplex 1, varicele, zosteru a bakteriálním agens, především borreliím a mykoplazmatům. K dalším agens patří EB virus, cytomegalovirus, kryptokoky, *Toxoplasma gondii* a HIV [3, 8, 10, 14, 15, 16, 20, 22].

K dalším etiologickým agens patří roztroušená skleróza mozkomíšní, kde má onemocnění sklon k recidivám [10, 16]. Další jsou nádorové či expanzivní procesy v mostomozečkovém koutu, kosti skalní nebo přímo postihující statoakustický či lícní nerv [10, 12, 16, 23]. Následují úrazy spodiny lební, kosti skalní, ojediněle i čelistní kosti [5, 10, 12, 16, 23]. Dále můžeme zmínit metabolické poruchy, endo-





Prachár P., Bartáková S., Černochová P., Vaněk J.

ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 113,
2013, 5,
s. 120–125

krinopatie, spolu s kardiovaskulárními chorobami, u kterých se může rozvinout jak periferní nebo nukleární, tak i centrální mimická obrna (diabetes mellitus v kombinaci s hypertenzní nemocí či ischemickou chorobou; Crohnova choroba; hypovitaminóza vitamínu A společně s cystickou fibrózou; Sjögrenův syndrom s hypovitaminózou B12; chronický alkoholismus) [1, 10, 16, 24]. K dalším vyvolavatelům obrny n. facialis patří poruchy nervově svalového přenosu a myopatie, především myasthenia gravis [10, 15, 16, 24]. K méně častým patří ještě Melkerssonův-Rosenthalův syndrom, Möbiův syndrom a další vzácné idiopatické syndromy [10, 24].

V obraze existuje buď nukleární jednostranná obrna lícního nervu, oboustranná nukleární obrna nebo jednostranná centrální obrna mimiky. V obraze centrálního postižení je jen lehce postižena kontralaterální inervace m. frontalis s různě vyjádřenou poruchou motoriky (centrální obrna n. facialis). Při postižení capsula interna a lézích subkortikálních provází kontralaterální centrální mimickou obrnu i centrální hemiparéza.

Při postižení pontinního jádra lícního nervu dochází k nukleární obrně lícního nervu, kde se projeví vedle postižení mimických svalů i postižení dalších mozkových nervů a léze kortikospinální dráhy. Při periferní obrně lícního nervu je postižena inervace mimických svalů zajišťovaná jeho horní a dolní větví. Kombinuje se v závislosti na výšce postižení s poruchou chuti, poruchou lakrimace a salivace, případně s hyperakuzií nebo s diplakuzií [15].

MATERIÁL A METODIKA

Léčebný postup je demonstrován na pacientce, která se na naše pracoviště dostavila k ošetření v 17 letech. Na základě anamnestických dat šlo o juvenilní jednostrannou parézu n. facialis, která vznikla v sedmém roce života. Při pohovoru a získávání anamnestických dat společně s rodičem nebyly zjištěny žádné alergie ani celková onemocnění. Pacientka souhlasila s poskytnutím dat a obrázků dutiny ústní a rtg snímků.

Na základě tak časného postižení došlo k několika pravým a několika nepravým hypodonciím a též zde byly hypodoncie dědičné.

K hypodonciím byly přidruženy další příznaky – neúplné vyvinutí poloviny dolního rtu a anomální jednostranný růst poloviny dolní čelisti. Terapie byla zahájena konzultací za účasti rodiče společně se sumárním rentgenovým snímkem za účasti parodontologa, pedostomatologa, ortodontisty, implantologa a protetiky. Pacientce bylo vysvětleno, že úprava rtu při jeho nedostatečném krytí je možná za pomoci

plastické chirurgie. Ale taková úprava, s ohledem na inervaci, není stoprocentní. Z pohledu pacientky to nebyl velký handicap. Mimoto plastická operace by zde mohla znamenat i možnost jizvy, která by byla větším handicapem vzhledem k věku.

Pacientce byl vysvětlen celý plán terapie který zahrnoval: 1. extrakce zubů, které vzhledem k nedostatečnému vývoji kořenů neplní svoji funkci, 2. augmentaci kosti před vlastní implantací k získání dostatečné kostní matrix pro možnou implantaci s nižším ziskem kosti ve vertikálním směru, 3. implantaci dentálních implantátů do míst nezaloženého druhého dolního premoláru nepostižené strany a do míst strany postižené, 4. protetické ošetření fixní prací z metalokeramiky s estetickým doplněním dásně. Dalším prvkem, v současnosti také důležitým, byla cenová rozvaha celé práce. Stanovisko pojišťovny bylo kladné, přistoupila k tomuto konkrétnímu případu jako k celkovému onemocnění a uhradila implantáty jako materiál. Výkon si pacientka hradila sama.

V léčebném postupu jsme jako první extrahovali z dlouhodobého hlediska nevyhovující pilíře. Jednalo se o extrakce zubů 31, 32, 33. K tomu zde ještě byl defekt způsobený dědičnou hypodoncií obou dolních druhých premolárů a získanou hypodoncií druhého a třetího dolního moláru. První molár levého postiženého kvadrantu byl prozatím pro nižší stupeň pohyblivosti (lepší biologický faktor) ponechán.

Následně jsme přistoupili po dostatečném slizničném krytí k augmentaci biomateriálem, především v horizontálním směru. Šlo o odloženou augmentaci. Vertikální rozměr s ohledem na onemocnění byl velmi těžce ovlivnitelný ve větším rozsahu. Takový biomateriál ve vertikálním směru by podléhal výrazné resorpci. Doba vhojení biomateriálu byla šest měsíců. Nepoužili jsme snímatelnou náhradu pro stabilitu augmentátu. Po této době následovala implantace tří dentálních implantátů v postiženém kvadrantu a zároveň implantace jednoho dentálního implantátu v oblasti dědičné hypodoncie druhého pravého dolního premoláru.

Po čtyřech měsících od inzerce implantátů byl zhotoven fixní můstek v postižené oblasti a solo korunka v oblasti nepostižené. Fixní práce v postižené oblasti byla provedena tak, abychom mohli vytvořit estetickou součást protetického ošetření – epitézu z měkké pryskyřice pro krytí defektu alveolu společně s chybějící dásní. Celá terapie od prvního kontaktu s pacientem trvala 13 měsíců.

VÝSLEDKY

Celou léčbu jsme zahájili sumárním rentgenovým snímkem – ortopantomogramem (obr. 1).





Dentální implantologie při léčbě následků parézy nervus facialis v dětském věku

Následovaly extrakce nevyužitelných přirozených pilířů a augmentace alveolu biomateriálem (obr. 2). Po vhojení augmentátu (šest měsíců) jsme vyhodnotili rtg snímek a stanovili plán inzerce dentálních implantátů. Po této době jsme inzerovali tři dentální implantáty v místě dědičné hypodoncie druhého pravého dolního premoláru (obr. 3). Po čtyřech měsících vhojení dentálních implantátů jsme zhotovili fixní práci v podobě můstku a solo korunky (obr. 4). Poté jsme zhotovili epitézu (obr. 5, 6).

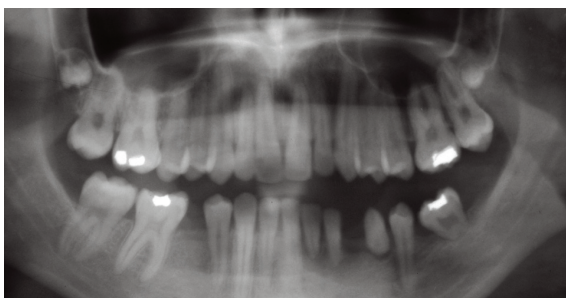
Další kontroly, které následovaly, byly po dvou, pěti a osmi letech, což je zachyceno na rtg sumárních snímcích (obr. 7, 8, 9).

Obrázek 10 ukazuje III. a IV. vývojové stádium stálého zubu, na obrázku 11 jsou vývojová stadia zubů v sedmém roku věku.

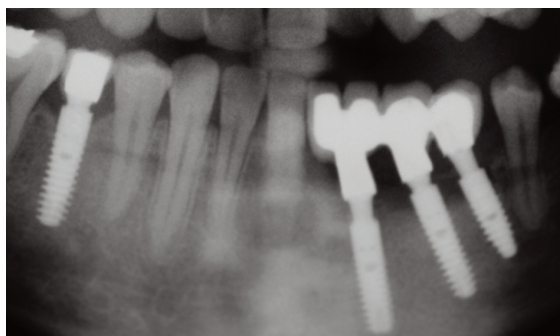
ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 113,
2013, 5,
s. 120–125

DISKUSE

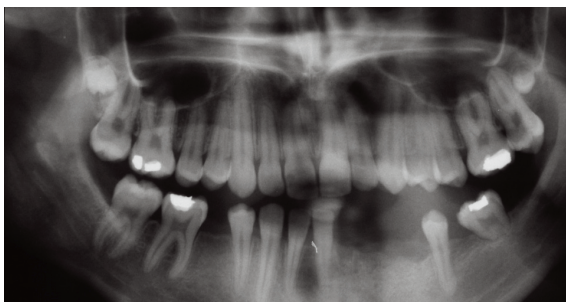
Onemocnění juvenilní parézou n. facialis postihuje nejen stálou dentici, ale také čelist a přilehlé měkké tkáně včetně rtu a tváře postižené strany. S ohledem na časovou osu vzniku onemocnění je možné předpokládat míru poškození stálých zubů od úplného nevyvinutí zubů – hypodoncii pravou až po částečné vyvinutí zubů – nepravou hypodoncii. U pravé hypodoncie jde o poškození zárodku ve smyslu nevyvinutí,



Obr. 1 Stav před započítím terapie s indikací k extrakcím



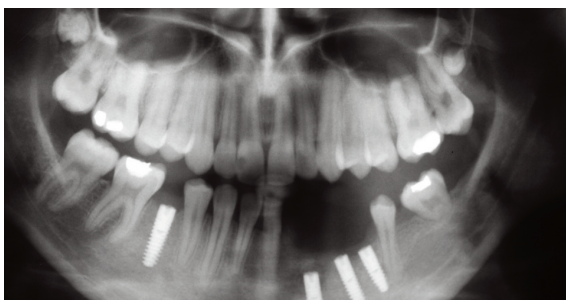
Obr. 4 Stav po nasazení fixní práce



Obr. 2 Stav po extrakcích a augmentaci



Obr. 5 Epitéza



Obr. 3 Stav po implantaci

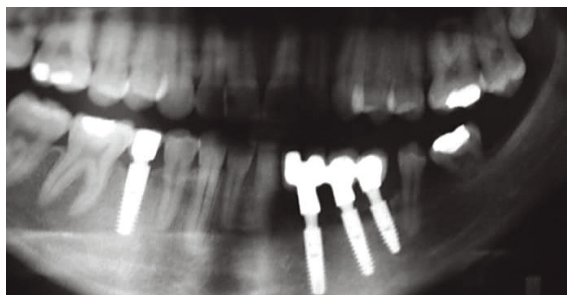


Obr. 6 Stav v dutině ústní s epitézou

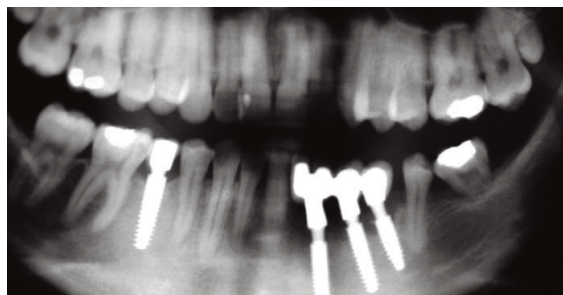




ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 113,
2013, 5,
s. 120–125



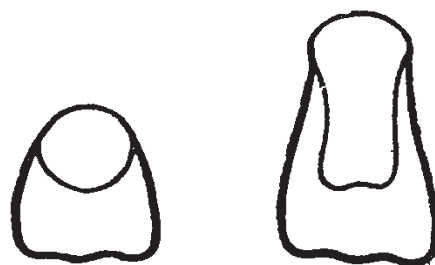
Obr. 7 Situace po dvou letech



Obr. 9 Situace po osmi letech



Obr. 8 Situace po pěti letech

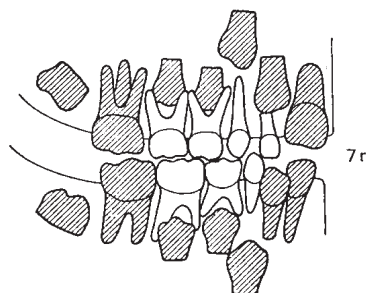


Obr. 10 III. a IV. vývojové stadium stálého zubu

a tedy zániku takového zárodku. U nepravé hypodoncie záleží na vyvinutí či nevyvinutí apexu zubu, a tím možnosti „ukotvení“ zubu v čelisti a dalšího využití takového pilíře. Často jde o vyvinutí pouze korunkové části zubu – odpovídá to vývojovému stadiu III-IV v sedmibodovém schématu vývoje stálého zubu [7]. Takový zub není bohužel schopen zátěže, tím neplní mastikační funkci a je často nutné jej extrahovat. Nicméně takový zub udržuje dostatečnou sílu alveolu pro další využití. Díky tomu jsme schopni do takto udrženího místa implantovat.

Dalším problémem je stanovení mezičelistních vztahů u jednostranně poškozené čelisti a zajistit dostatečnou artikulaci obou kvadrantů jedné strany s ohledem na laterální odchylky mezi dolní atypickou čelistí a horní normálně se vyvíjející čelistí. Tato problematika má velký význam i vzhledem k funkci obou temporomandibulárních kloubů.

Problémem bývá i dostatek materiálu pro možnou implantaci. Platí, že v dolní čelisti je nejvýhodnější doplnění vlastní kostí [11]. Velmi diskutabilní je však možnost doplnění kosti vertikálním směrem. Právě porucha inervace a nedostatečný vývoj dané oblasti vede k velmi malé možnosti ovlivnit výšku alveolu. Jiné je to v síle horizontálního rozměru alveolu. Zde je ovlivnění augmentací, ať kostí, nebo alomateriálem, reálné. K uvedeným možnostem je možné využít do-



Obr. 11 Vývojová stadia zubů v závislosti na věku – sedmý rok

norových míst, jako jsou bradový výběžek dolní čelisti nebo retromolární oblast, jako snad ještě vhodnější místo k odběru kosti. Platí zde pravidlo, že čím dále je donorové místo od místa augmentace, tím je vyšší procento možné resorpce kosti z dlouhodobého hlediska (např. žebra, kyčel aj.) [6, 11, 21].

Jistou výhodou u parézy n. facialis, (nepravé hypodoncie) je zkrácení časového úseku inzerce implantátů. V takových případech nevyvinutí apexu zubu umožňuje implantovat ihned po extrakcích zubů. Je zde obdoba resorbovaných dočasných zubů, kdy je možnost implantace také ihned při extrakcích bez většího rizika. Pokud není nutné upravovat alveol v horizontálním rozměru, je možné implantovat ihned [2, 9, 17]. V případě, že je nutné zvětšit objem





Dentální implantologie při léčbě následků parézy nervus facialis v dětském věku

kosti augmentací pro možnou inzerci implantátů, je lépe vyčkat na zhojení dásně. Díky tomu se poextrakční rány překryjí, a zajišťují tak dostatek měkkých tkání na překrytí augmentátu.

Posledním léčebným zákrokem je definitivní protetiká sanace, která často vyžaduje úpravu estetické zóny. Oblastí, která je diskutabilní, je část defektního alveolu, kde pilíře budoucí protetiké práce jsou delší než přirozené pilíře. Toto je možné doplnit např. tzv. růžovou keramikou, která nahrazuje dásně, anebo tzv. umělou dásň - epitézou, která plní estetickou funkci. V těchto případech je důležité vědět, co je preferující, zda hygiena a ošetření implantátů, nebo pevná estetika s horší hygienou. Z prognostického hlediska je samozřejmě hygienická varianta výhodnější.

ZÁVĚR

Onemocnění - paréza n. facialis, pokud vznikne v dětském věku, postihuje nejenom stálou dentici, ale také čelist postižené strany a oblast rtu. Vlastní postižení zubů odpovídá hypodontii jak primární, tak především sekundární. Zde vzhledem k nevyvinutí apexů zubů je často nutné takto postižené pilíře extrahovat. Kost při paréze bývá často defektní, a proto se musí augmentovat s omezením v úrovni vertikální osy. Horizontální augmentace je možná. Společně s kostí vlastní defekt kopírují také měkké tkáně. Zde je nutné v mnoha případech doplnit defekt pomocí epitézy, která je velmi dobrou možností z hlediska hygieny a přístupu k možným implantátům. Dalším problémem je zvládnutí artikulace dolní čelisti vůči horní čelisti v postižené části, kde došlo k anomálnímu růstu dané poloviny dolní čelisti. I přes počáteční náročnost a složitost situace lze stav funkčně a esteticky velmi dobře zvládnout.

LITERATURA

1. Adour, K., Wingerd, J., Doty, H. E.: Prevalence of concurrent diabetes mellitus and idiopathic facial paralysis (Bell's palsy). *Diabetes*, roč. 24, 1975, s. 449-451.
2. Albrektsson, T., Zarb, G., Worthington, P., Ericsson, A. R.: The long-term efficacy of currently used dental implants; A review and proposed criteria of success. *Intern J Oral Maxillofac Implants*, roč. 1, 1986, č. 1, s. 11-25.
3. Allen, D., Dumm, L.: Aciclovir or valaciclovir for Bell's palsy (idiopathic facial paralysis). *Cochrane Database Syst. Rev.* 2004; 4: CD001942.
4. Bilder, J.: Obecná a forenzní rizika v orální implantologii. *Prakt. zub. Léč.*, roč. 42, 1994, č. 4, s. 131-132.
5. Darrouzet, V., Duclos, JY., Liguoro, D., Truilhe, Y., De Bonfils, C., Bebear, JP.: Management of facial paralysis resulting from temporal bone fractures: Our experience in 115 cases. *Otolaryngol Head Neck Surg*, roč. 125, 2001, s. 77-84.
6. Fassmann, A., a kol.: Řízená tkáňová a kostní regenerace ve stomatologii. Praha, Grada Publishing, 2002, ISBN 80-247-0316-5.
7. Grahnen, H.: Hypodontia in the permanent dentition. *Odont. Revy (Lund)*, roč. 7, 1956, č. 1.
8. Jäämaa, S., Salonen, M., Seppälä, I., Piiparinen M., Sarnam S., Koskiniemi, M.: Varicella zoster and *Borrelia burgdorferi* are the main agents associated with facial paresis, especially in children. *J Clin Virol*, roč. 27, 2003, s. 146-151.
9. Kaňovská, K., Vaněk, J.: Dentální implantologie u dětí a mladistvých. *Čes. Stomat.*, roč. 98, 1998, š. 3, s. 76-80.
10. Keller, O., Jedlička, P., et al.: Speciální neurologie. Praha, Galén & Karolinum, 2005.
11. Khoury, F., Antoun, H., Mosaika, P.: Bone augmentation in oral implantology, 1. vyd. Quintessence Publishing Co, 2007, ISBN - 13: 978-1-85097-159-7.
12. Koerbel, A., Gharabaghi, A., Safavi-Abbas, S., Tatagiba, M., Samii, M.: Evolution of vestibular schwannoma surgery: long journey to current success. *Neurosurg. Focus*, roč. 18, 2005, s. 10.
13. Komínek, J., Toman, J., Rozkvcová, E.: Dětská stomatologie, 4. vyd. Praha, Avicenum, 1980, 544 s.
14. Lotric-Furlan, S., Cimperman, J., Maraspin, V., Ruzic-Sabljić, E., Logar, M., Jurca, T., et al.: Lyme borreliosis and peripheral facial palsy. *Wien Klin. Wochenschr*, roč. 111, 1999, s. 970-975.
15. Mumenthaler, M.: Neurologic differential diagnosis. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 1992.
16. Nevšimalová, S., Růžička, E., Tichý, J.: Neurologie. Praha, Galén, 2002.
17. Prachár, P., Vaněk, J.: Tooth defects treated by dental implants in adolescents. *Scripta Medica*, roč. 76, 2003, č. 1, s. 5-8.
18. Prachár, P., Bartáková, S., Kuklová, J., Špička, M., Vaněk, J., Strecha, J.: Získané hypodontie - nádor a ozáření ve spojitosti s implantologií. Biomedicinské postupy. Zborník referátov, Slovensko, Košice, 2008, s. 123-130, ISBN 978-80-89361-28-1.
19. Prachár, P., Bartáková, S., Černochová, P., Kuklová, J., Vaněk, J.: Ektodermální dysplazie - souvislosti a implantace. *Čes. Stomat.*, roč. 109, 2009, č. 6, s. 106-111.
20. Schmutzhard, E.: Viral infections of the CNS with special emphasis on herpes simplex infections. *J. Neurol.*, roč. 248, 2001, s. 469-477.
21. Simon, M., Jovanović, S. A., Trisi, P., Scarano, A., Piattelli, A.: Vertical ridge augmentation around dental implants using a membrane technique and autogenous bone or allografts in humans. *Int. J. Periodontics Restorative Dent.*, roč. 18, 1998, s. 8-23.
22. Skogman, BH., Croner, S., Odkvist, L.: Acute facial palsy in children -a2-year follow-up study with focus on Lyme neuroborreliosis. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.*, roč. 67, 2003, s. 597-602.
23. Škeřík, P.: Náhlé a neodkladné stavy v otorinolaryngologii. Praha, Avicenum, 1985.
24. Verzijl, HT., Van der Zwaag, B., Lammens, M., ten Dokelaar, HJ., Padberg, G. W. The neuropathology of hereditary congenital facial palsy vs Möbius syndrome. *Neurology*, roč. 64, 2005, s. 649-653.

ČESKÁ
STOMATOLOGIE
ročník 113,
2013, 5,
s. 120-125

MUDr. Patrik Prachár, Ph.D.

Stomatologická klinika LF MU a FNUSA
Pekařská 83
659 14 Brno
e-mail:patrik.prachar@fnusa.cz



Biomechanical study of the bone tissue with dental implants interaction

P. Marcián^{a,*}, L. Borák^a, Z. Florian^a, S. Bartáková^b, O. Konečný^c, P. Navrátil^a

^a*Institute of Solid Mechanics, Mechatronics and Biomechanics, Faculty of Mechanical Engineering, Brno University of Technology, Technická 2896/2, 616 69 Brno, Czech Republic*

^b*Stomatological Clinic, Faculty of Medicine, Masaryk University, Komenského náměstí 2, 662 43 Brno, Czech Republic*

^c*Faculty of Electrical Engineering and Communication, Brno University of Technology, Technická 3058/10, 616 00 Brno, Czech Republic*

Received 26 November 2010; received in revised form 9 September 2011

Abstract

The article deals with the stress-strain analysis of human mandible in the physiological state and after the dental implant application. The evaluation is focused on assessing of the cancellous bone tissue modeling-level. Three cancellous bone model-types are assessed: Non-trabecular model with homogenous isotropic material, non-trabecular model with inhomogeneous material obtained from computer tomography data using CT Data Analysis software, and trabecular model built from mandible section image. Computational modeling was chosen as the most suitable solution method and the solution on two-dimensional level was carried out. The results show that strain is more preferable value than stress in case of evaluation of mechanical response in cancellous bone. The non-trabecular model with CT-obtained material model is not acceptable for stress-strain analysis of the cancellous bone for singularities occurring on interfaces of regions with different values of modulus of elasticity.

© 2011 University of West Bohemia. All rights reserved.

Keywords: dental implant, trabecular bone, finite elements method, stress and strain analysis, modeling level

1. Introduction

Since 1960's when Brånemark and Linkow defined the direction of modern dental implantology, this medical field developed into a large extent and today it provides very effective solution to many dental problems: Starting with restoring the natural function of masticatory system and ending with dental aesthetic improvements. In 2003, there were more than 220 different types of implants manufactured by about 80 producers [12]. New materials such as technically clean titanium, nanostructural titanium or titanium alloys etc. as well as deepening understanding of the implant-living tissue interaction are emphasized nowadays. Despite the reliability of dental implants which is nowadays around 95 % [18, 27], it would be mistake to underestimate influences of other factors on successful treatment. Therefore, it is necessary to continue in efforts to improve quality of dental implants.

Application of a dental implant which is essentially a technical object is not only a medical procedure but an interdisciplinary process. It is therefore necessary to solve the dental implantology problems together with technical specialists, i.a. biomechanicians whose task is to assess the mechanical interaction of the system components, including living tissues as well as technical materials. In this respect, a very effective tool is computational modeling. Implant failures depend on many various factors as, for instance, mechanical ones. These factors are

*Corresponding author. Tel.: +420 541 142 871, e-mail: ymarci00@stud.fme.vutbr.cz.

expressed by mechanical quantities stress and strain. In biomechanics computational models basically consists of models of geometry, material, loading and boundary conditions.

2. Material and methods

The paper deals with the interaction of a tooth or a dental implant with bone tissue regarding various modeling levels of the bone model. As the most suitable solution method was chosen the finite element method (FEM) which is used very often in such biomechanical problems like this. Thanks to latest technologies it is possible to build models on a quite high modeling-level. An example of building of such model is given in this article as well. In our case ANSYS 11.0 (Ansys Inc., Canonsburg, PA, USA) was used.

Prior to calculations, suitable geometry model is needed. The model of trabecular model of cancellous bone is obtained from the image of the mandible section. Therefore, 2-D geometry level is used throughout this study. This approach is sufficient enough for the comparison of the three proposed material models of mandibular bone. 3-D level of the same case is also possible but the model of trabecular structure would require data obtained directly from micro-CT [21].

In this study, the solution is divided into three parts:

- 1) An assessment of modeling level of bone tissue material.
- 2) Stress-strain analysis of mandible in the physiological state.
- 3) Stress-strain analysis of mandible with an applied screw implant.

2.1. An assessment of modeling level of bone tissue material

There are two types of bone tissue: Hard outer cortical bone and inner trabecular structure, so-called cancellous bone. All bones are inhomogeneous anisotropic biomaterials. Both these types should be incorporated into the model.

In our study, three general modeling-levels of cancellous bone material are assessed: Non-trabecular model (the lowest level), trabecular model (considering the trabecular architecture of the real bone) and CT-obtained model (non-trabecular but inhomogeneous material). Furthermore, these general models are divided into “sub-levels” according to the bone quality as will be explained below. Cortical bone is modeled in all cases as homogenous material with no special architecture.

The shape of bone was obtained based on the image of mandibular cross section [15] and also by using the computer tomography. Using CAD software SolidWorks and Rhinoceros, 2-D geometry model was created, specifically the outer shape corresponding to the 1st premolar region as well as the trabecular architecture of cancellous bone (see Fig. 1).

Linear isotropic material model is used for all parts of the system, i.e. two material characteristics are needed, specifically Young’s modulus E [MPa] and Poisson’s Ratio μ [–].

At the lowest level, bone is modeled as non-trabecular homogenous material with apparent material characteristics of cancellous bone (no cortical bone is incorporated, see Fig. 1a). Sensitivity study is performed to obtain proper value of the Young’s modulus which is changed ranging from 150 to 750 MPa. The changing value refer to varying bone quality, specifically the lower Young’s modulus value means lower bone quality and therefore lower bone density (e.g. in osteoporotic bones [29]). As for the interaction of an implant with bone, the main disadvantage of bone with lower density is lower bone support of applied implant.

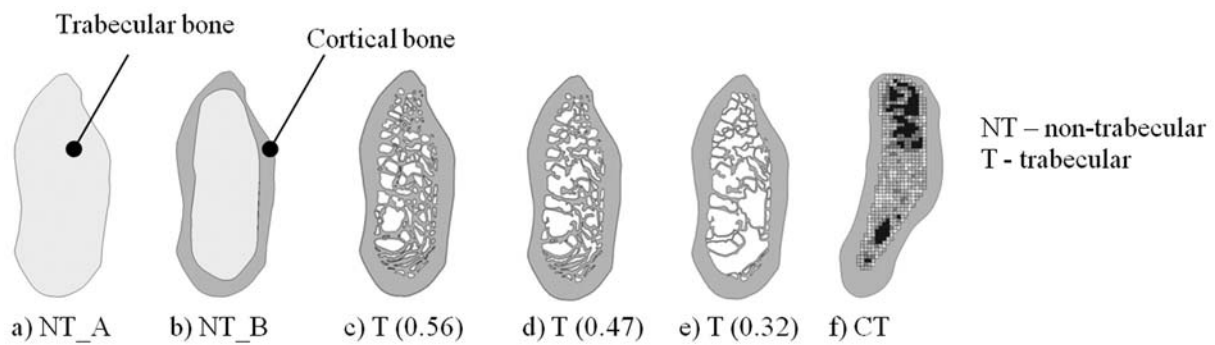


Fig. 1. Model of geometry and analyzed material modeling levels overview: a) non-trabecular model (only cancellous bone) – NT_A; b) non-trabecular model (cancellous as well as cortical bone) – NT_B; c) trabecular bone of good quality (BA/TA – 0.56); d) trabecular bone of normal quality (BA/TA – 0.47); e) trabecular bone of low quality (BA/TA – 0.32); f) CT-obtained model

Next modeling-level used in the study and which is very often used by other researchers ([4, 7, 19]) is non-trabecular homogenous model with incorporated cortical layer (see Fig. 1b). In this case, Young’s modulus of cortical bone is of 13 700 MPa [10, 31] and similar sensitivity study as in previous modeling-level is performed in case of cancellous bone, i.e. Young’s modulus ranged from 150 to 750 MPa.

Contrary to the previous models, model shown in Fig. 1c includes trabecular structure of real cancellous bone. At the micro-level trabeculae has the same material properties as cortical bone [25, 32] and therefore the Young’s modulus of such cancellous bone model is of 13 700 MPa. In such model, lower bone quality can be modeled by using less dense structure and with thinner trabeculae (see Fig. 1d,e). The bone quality is here identified by a special characteristics often used in these cases, i.e. by so-called bone area fraction BA/TA which is defined as the area of bone tissue per total area (in 2-D analysis) [33].

The last modeling-level used in the study is non-trabecular inhomogeneous model. This model takes into account the distribution of bone density which is in the model characterized by varying value of the Young’s modulus. This material property values can be obtained directly from CT images in the following way.

Prior to dental implant application, densitometry investigation is often performed by using CT [28, 34]. From CT images, CT numbers (which signify pixel intensity of the image) can be read. CT numbers can be converted to Hounsfield units (HU) [34] by which individual tissues are identified. There are observed correlation between HU and bone density or Young’s modulus of that (mainly cancellous bone) tissue [16, 23, 24]. This correlation is the basement for material model. For purpose of its creation, new software CT Data Analysis [35] was developed at Institute of Solid Mechanics, Mechatronics and Biomechanics, Brno University of Technology. This software allows the user to load CT images and after defining a desired region to export CT numbers (HU units) matrix. This matrix is then converted into the Young’s moduli matrix which can be exported into Ansys program as CT-obtained material model. It should be noted that two correlations can be used:

1) Linear correlation: The reference value is the CT number of cortical bone which has known Young’s modulus of 13 700 MPa. According to the known formulas, Young’s moduli of other tissues (cancellous bone in various positions within the region) can be calculated (see Fig. 2a)

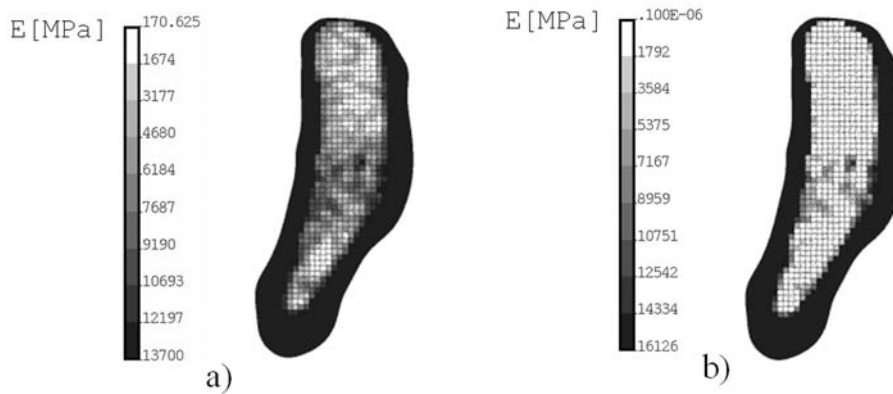


Fig. 2. CT-obtained material model: a) linear correlation used – CTlin, b) nonlinear correlation used – CTnonlin

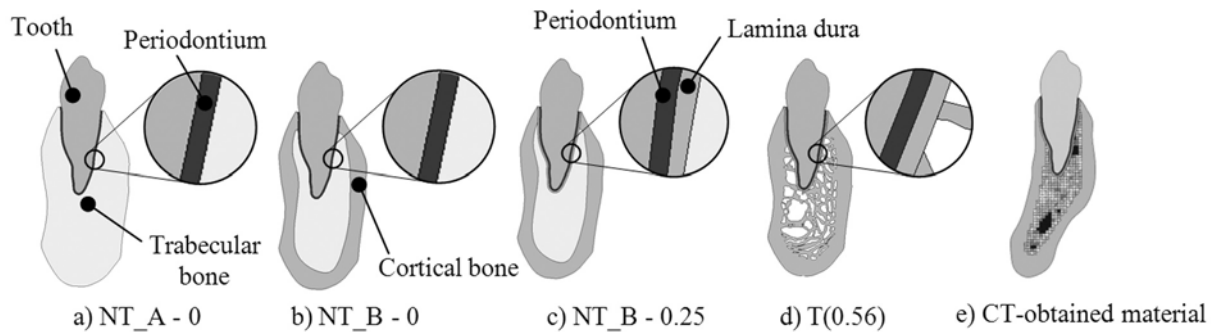


Fig. 3. Model of geometry: a) case 1A, b) case 1B, c) case 1B, d) case 1B, e) case 1B

2) Nonlinear correlation: Relation between bone density and Young’s modulus is given by formulae (1) [23,24] (See Fig. 2b and note that the bone shape is different to that in Fig. 1 since it is obtained from different mandible)

$$\rho = 1.205 \cdot HU + 139, \quad E = 2.349 \cdot \rho^{2.15}. \quad (1)$$

Material characteristics used for all models with the exception of non-trabecular inhomogeneous model of cancellous bone are presented in Table 1.

Table 1. Material characteristics: Young’s modulus and Poisson’s ratio

	E [MPa]	μ [-]	Reference
Cortical bone	13 700	0.3	[10, 31]
Cancellous bone	150–750	0.3	[8, 9]
Dentin	17 600	0.25	[17]
PDL	10	0.45	[14, 30]
Titanium	110 000	0.33	[36]

2.2. Stress-strain analysis of mandible in the physiological state

For the analysis of the physiological state geometry model is modified in alveolar region so as 2-D tooth model (1st premolar) including periodontal layer could be embodied. The layer is of 0.25 mm in thickness. In case of NT_A model (see Fig. 1a) the tooth with periodontium (PDL) is embodied directly into cancellous bone (see Fig. 3a). In case of NT_B model (see Fig. 1b)

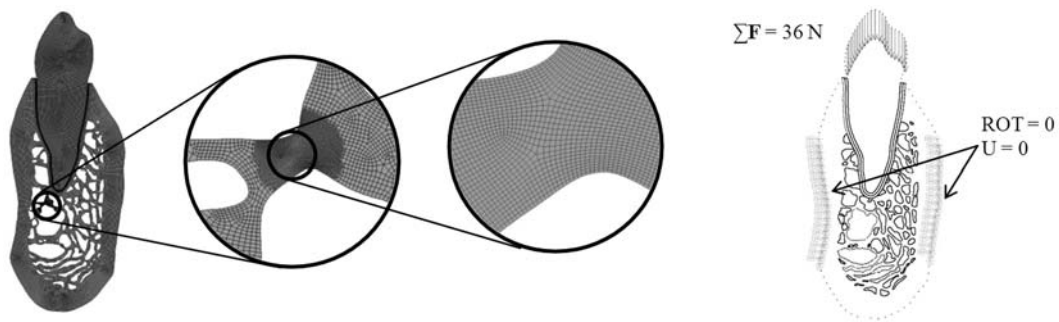


Fig. 4. FE mesh and the boundary condition

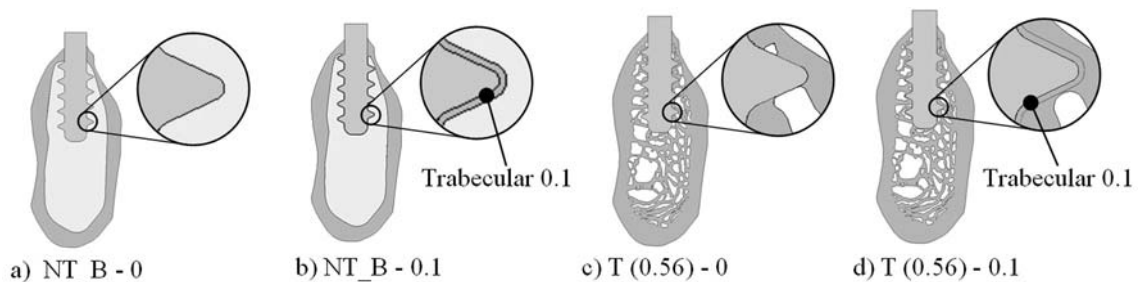


Fig. 5. Implant-Bone interface: Cases overview

two other variants are modeled: Model without Lamina dura layer (see Fig. 3b) and model with Lamina dura layer of 0.25 mm in thickness (see Fig. 3c). In case of all trabecular cancellous bone models ($T(0.56)$, $T(0.47)$ and $T(0.32)$) – see Fig. 3d) as well as in case of non-trabecular inhomogeneous model (see Fig. 3e) Lamina dura of the same thickness is included as well.

All models are discretized with 8-node quadratic element PLANE 182 with global size of 0.02 mm. Since periodontium, which is largely deformable soft tissue, is part of the model, the finite strain theory was selected for the analysis, i.e. the finite strain tensor is enlarged by higher order derivatives which are negligible in infinitesimal strain theory.

In order to carry out the FEM solution, it is inevitable to have boundary conditions. In our case, the model is in all cases constrained in the middle of buccal as well as lingual cortical bone boundary (see Fig. 4). The model is loaded by the force applied in coronal direction on the tooth crown; specifically the force of 36 N is applied. This value is equivalent to the loading force of 200 N applied in similar 3-D model [11].

2.3. Stress-strain analysis of mandible with an applied screw implant

The same cases as in the previous section are modified so as the screw implant could be inserted into the presented models. Two specific cases are furthermore analyzed. Either there is no occurrence of special bony structure similar to lamina dura (see Fig. 5a,c) or there is. If the structure occurs, the layer of this special bone is of 0.1 mm in thickness [1, 13, 22]. In case of $T(0.47)$, $T(0.32)$ and CTmat only cases with the special bony structure are analyzed.

Implants are osseointegrated [1, 5]. Three stages of the osseointegration are analyzed:

- A) implant is osseointegrated by its whole surface (see Fig. 6a),
- B) implant neck region is not osseointegrated with cortical bone (see Fig. 6b),
- C) implant is not osseointegrated at all (unacceptable situation, see Fig. 6c).

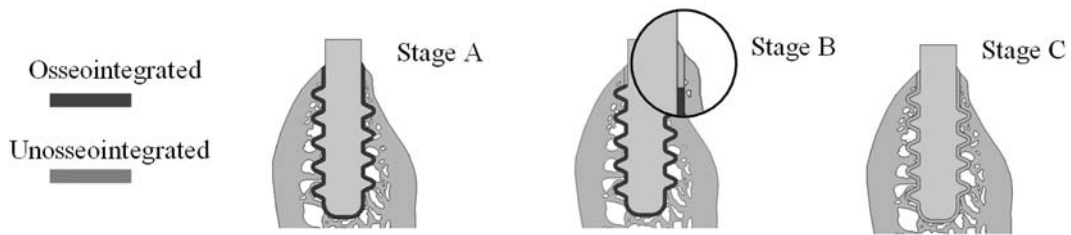


Fig. 6. Stages of osseointegration

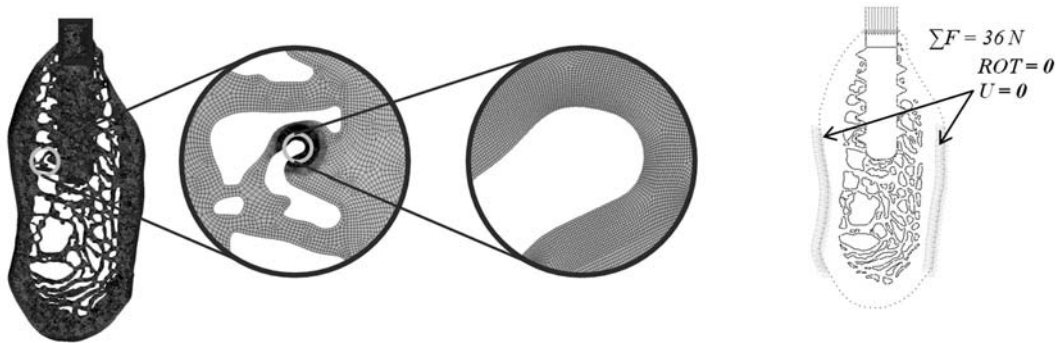


Fig. 7. FE mesh and the boundary conditions (model with the implant)

The osseointegration is modeled in ANSYS by rigid connection of osseointegrated parts, i.e. implant and bone have common FE nodes. In the un-osseointegrated regions (stages B and C), the implant bone connection is modeled by using contact elements CONTA172 and TARGE169 (pure penalty algorithm, standard contact, friction coefficient $f = 0$, normal contact stiffness $FKN = 1$).

Model discretisation is similar as in the previous section. The same are also the boundary condition as well as the loading (see Fig. 7). Implant is made of technically pure titanium and it is modeled using linear isotropic model (see Table 1).

A total number of 35 computational models are created. Intel Core 4 Duo inside 2GHz 8GB RAM processor, PCG iterative solver and Full Newton-Raphson procedure was used. Unless specified otherwise all solver options were left default.

3. Results

3.1. Stress-strain analysis of mandible in the physiological state

Strain intensity and stress intensity are analyzed specifically their maximum values which occur in various locations of the system. Besides, maximum 1st and 3rd principal stresses (S1, S3) are analyzed as well. Representative strain intensity distribution for NT_B-0.25 and T(0.56) cases is shown in Fig. 8. Results of all cases are shown in bar graphs in Fig. 9 and 10. These graphs show significant difference in stress and strain results.

By comparing the maximum stresses in cancellous bone, it is obvious that non-trabecular model gives significantly lower values that trabecular model. In case of non-trabecular model, the significant effect of lamina dura layer is also observed (NT_B-0.25). This layer is a part of load-bearing structure consisting mainly of cortical bone. Thus, this makes the cancellous bone less stressed than in case without the layer (NT_B-0). The highest stresses are found in trabecular cancellous bone models, especially with the trabeculae of low quality (T(0.32)).

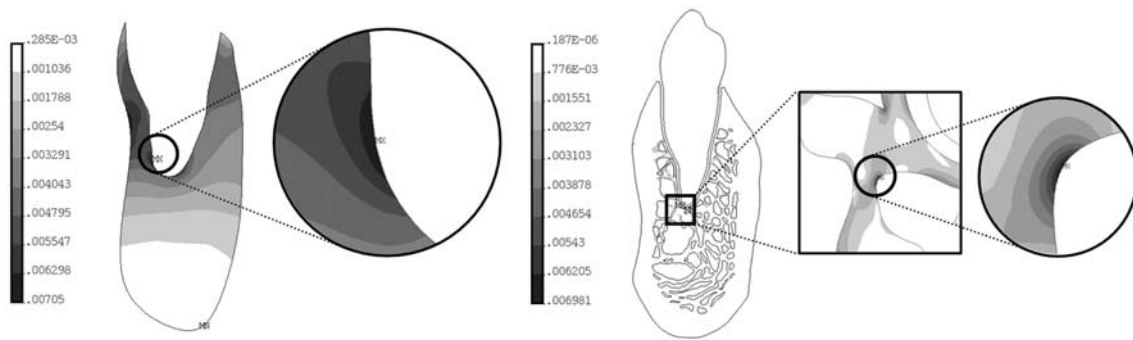


Fig. 8. Strain intensity in cancellous bone with the tooth. Comparison of cases NT_B-0.25, $T(0.56)$

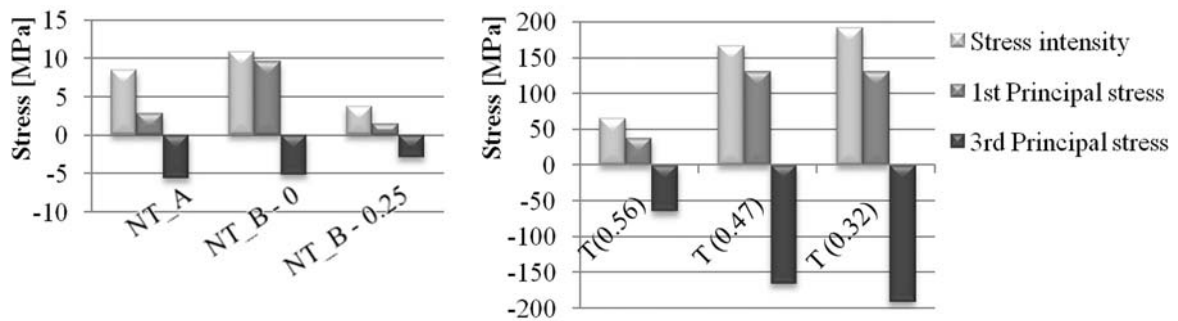


Fig. 9. Maximum stresses

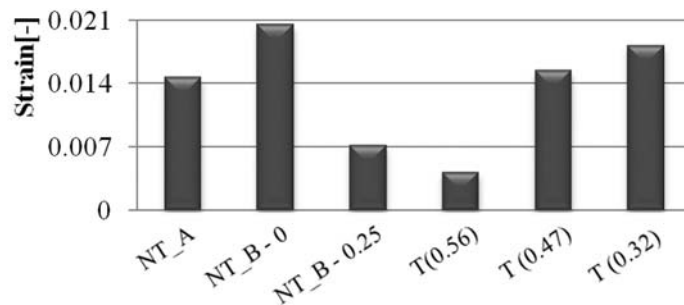


Fig. 10. Maximum strain intensities

On the other hand, by comparing the maximum strains in cancellous bone, the highest values are found in non-trabecular cancellous bone models without lamina dura (NT_A and NT_B-0) and, on the contrary, the lowest values are in trabecular cancellous bone models with trabeculae of low quality ($T(0.32)$) (see Fig. 10). From a quantitative point of view, the best accordance can be observed between the non-trabecular model including lamina dura (NT_B-25) and the trabecular model $T(0.56)$. Even the maximum values position is similar in these two cases (see Fig. 8). Therefore, it is obvious from the presented graphs that there is significant difference between stress and strain assessment. Stresses can be of tens to hundreds MPa in trabecular cancellous bone models, increasing with lowering the quality of trabeculae, whereas in non-trabecular cancellous bone stresses are much more lower, decreasing with lowering quality of bone (lowering its Young's modulus).

Neither stresses nor strains can be analyzed in models with CT-obtained material properties because of singularities occurring at interfaces of too many regions of different Young's modulus.

3.2. Stress-strain analysis of mandible with an applied screw implant

Results of the three analyzed stages of osseointegration are shown in Fig. 11 through Fig. 13. The maximum values of stress and strain intensities occurred always in different locations. It is found that not-surprisingly the best case is the fully osseointegrated implant. Two representative modeling-levels are presented. Firstly, model without the special bone layer around the implant ($T(0.56) - 0$), and secondly, model with the special bone layer ($T(0.56) - 0.1$). It is found that the layer reduces stresses and strains in cancellous bone and it also changes their distribution. Fig. 13 shows 1st principal stress distribution in models with lower quality of trabeculae ($T(0.45) - 0.1$ and $T(0.32) - 0.1$).

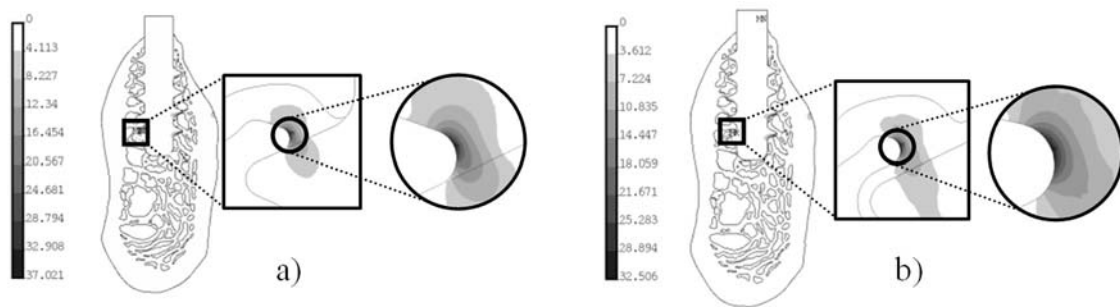


Fig. 11. 1st Principal stress. Stage A: a) $T(0.56) - 0$, b) $T(0.56) - 0.1$

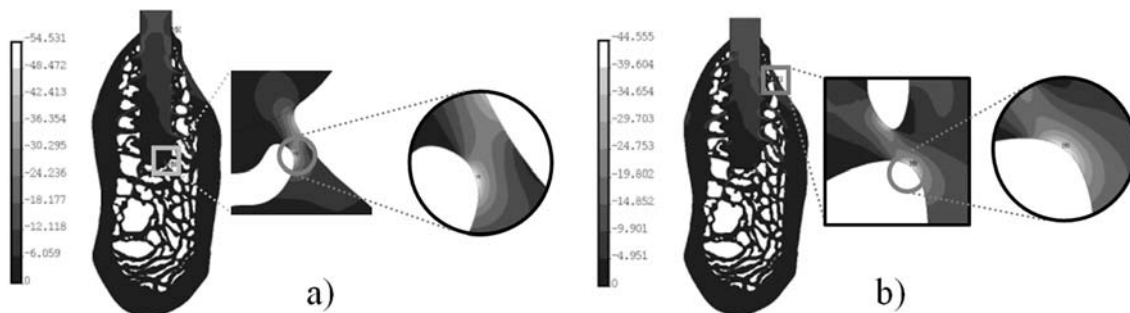


Fig. 12. 1st Principal stress. Stage B: a) $T(0.56) - 0$, b) $T(0.56) - 0.1$

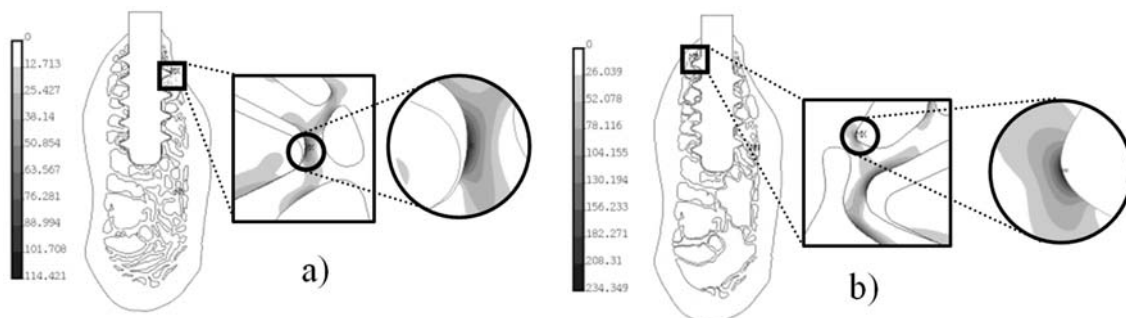


Fig. 13. 1st Principal stress. Stage C: a) $T(0.47) - 0.1$, b) $T(0.32) - 0.1$

As in physiological state analysis, results are presented in bar graphs again (see Fig. 14 and Fig. 15). The series of three bars (each for one stage of osseointegration) are presented for each material used in the model. Only stress and strain intensities are presented. From the graphs, significant difference between stress and strain results is obvious in all analyzed cases. The

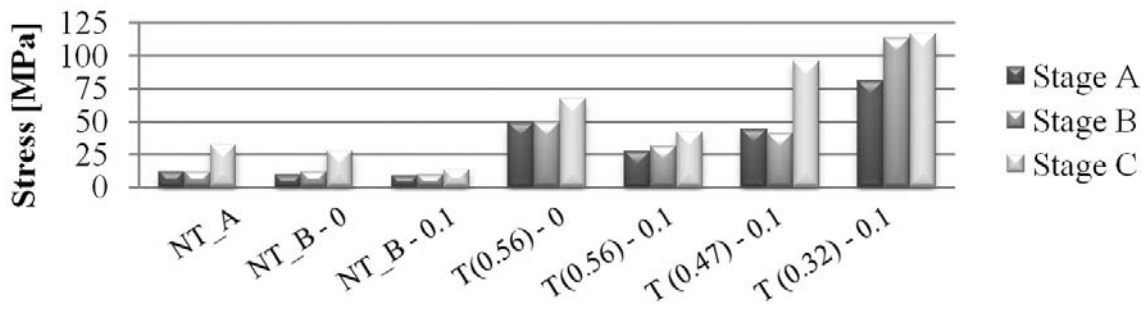


Fig. 14. Maximum stress intensities in cancellous bone

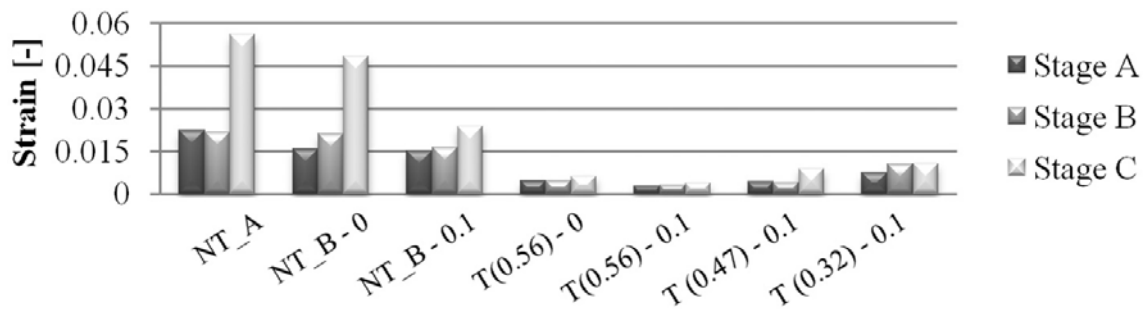


Fig. 15. Maximum strain intensities in cancellous bone

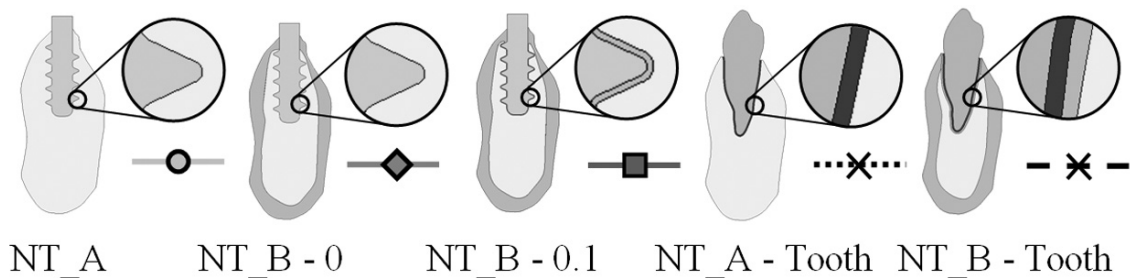


Fig. 16. Non-trabecular material models: Analyzed cases overview

stress intensity is of the highest value in non-trabecular cancellous bone model ($T(0.32) - 0.1$), whereas the strain values are, on the contrary, of the highest value in NT_A model (see Fig. 15). As stated in the previous section, neither stress nor strain analysis are applicable in model with CT-obtained material properties.

3.3. Stress-strain analysis of non-trabecular cancellous bone model

Results presented in the previous section are related to the trabecular model whose lower density (quality) is modeled by assuming thinner trabeculae. However, in most publications considering osteoporotic bone tissue non-trabecular cancellous bone model is prevailing and lower bone quality is modeled with decreasing apparent Young's modulus (see Table 1). Results obtained from such model are presented in this section.

Maximum values of stress intensity and strain intensity were analyzed again. Two states were compared: The physiological state on the one hand, and after implantation on the other (see Fig. 16). The maximum values of stresses change their position as Young's modulus of cancellous bone changes. On the contrary, the position of maximum strain values does not

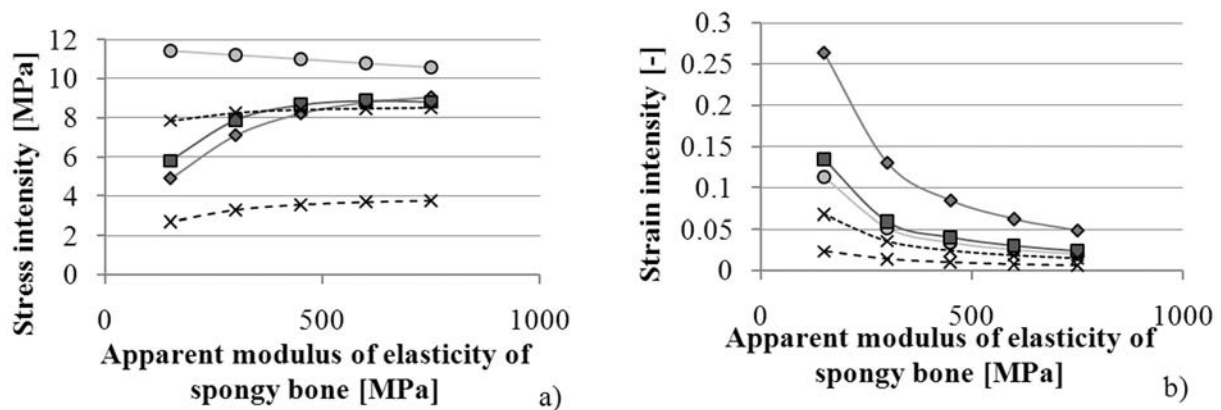


Fig. 17. Maximum stress and strain intensities. Non-trabecular models comparison (for graph legend see Fig. 16)

change (no strain redistribution occurs). As in the previous section, three osseointegration stages are analyzed. Fig. 17 shows results of fully osseointegrated stage. Each graph shows also the comparison with physiological state in two variants (dashed line).

4. Discussion

The loading of real cancellous bone of lower density (i.e. with lower BA/TA value) causes increasing stresses and strains in this tissue. It depends on the trabeculae distribution within the bone, their number and thickness. The lower number and thickness, the higher stresses occur (it is similar to loading of a beam in mechanical engineering). By comparing stresses in Fig. 9 and strains in Fig. 10 it is clear that a significant difference occurs in various material models of cancellous bone. This comparison is not possible in case of CT-obtained material model since no acceptable stresses and strains are calculated due to above mentioned singularities.

As for the models with the implant, a significant difference in maximum stresses and strains occurs in case of various material models. Much higher stresses occur in trabecular model of cancellous bone than in non-trabecular one. Quite the opposite result gives the strain evaluation; the highest values are obtained from non-trabecular model of cancellous bone while the lowest are obtained from trabecular one. Therefore, one should be aware of these differences between both cases (trabecular/non-trabecular). It should be seriously considered which of the two models is suitable for the analysis that one would like to perform. Our study shows that non-trabecular model is no longer suitable for analysis of interaction bone-tooth/implant. Model at higher modeling-level (i.e. trabecular model) should be used instead. To these days, cancellous bone is usually modeled as non-trabecular mass with no complicated structure of trabeculae [3, 6, 26]. An apparent Young's modulus obtained from experiment or from CT is prescribed to this structure. Stresses obtained from such models are inconsistent with reality because with decreasing bone quality stresses should increase, not decrease as shown by non-trabecular model results presented in this study. This inconsistency does not appear in strain evaluation. With decreasing bone quality strains increase (see Fig. 17a). The reason why maximum stresses in cancellous bone decrease as strains increase can be explained by the presence of cortical bone which plays significant role of the load bearing structure. This is obvious from Fig. 17a which shows that stresses in the model without the cortical bone (NT_A) are almost independent on Young's modulus change while stresses in the model with cortical bone (NT_B)

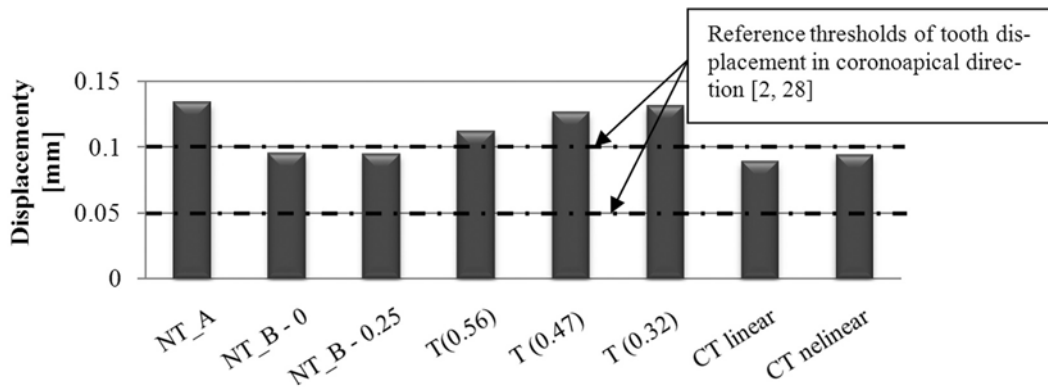


Fig. 18. Coronoapical tooth displacements

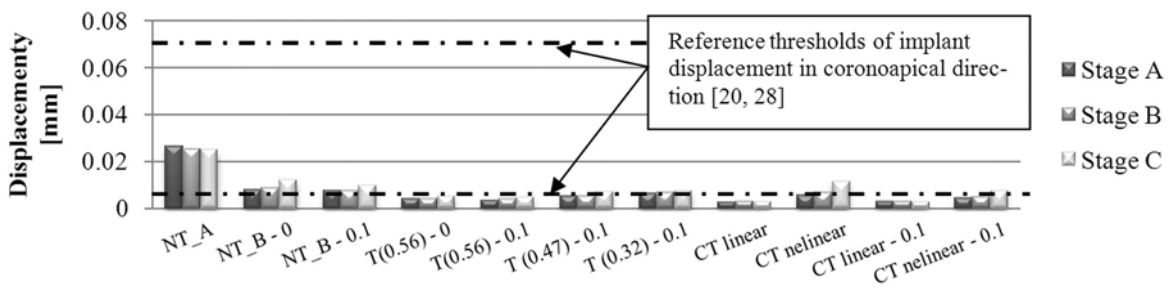


Fig. 19. Coronoapical implant displacements

decrease with the changing Young's modulus. This is because the load is carried via the cortical bone and the cancellous bone load is reduced. The study shows that strains are more appropriate mechanical quantity for the evaluation of mechanical interaction.

Verification of model quality, and thus quality of calculation results, is quite difficult in biomechanics. In case of dental biomechanics there is a possibility to utilize known values of tooth movement and implant movement. Specifically, we can compare calculated tooth and implant displacements in the coronoapical direction (i.e. in direction of the applied force) with that of obtained from literature. The displacement, in case of a tooth embedded in a bone of normal quality (see model $T(0.56)$) and loaded by force of 200 N, is of 0.0922 mm. This value falls within the interval 0.05–0.1 mm which is valid for the same loading [2, 28]. Displacement results for all models are shown in Fig. 18. Maximum calculated value of implant displacement ranges from 0.004 to 0.027 mm (see Fig. 19). These results are also in agreement with values obtained from literature (0.005–0.073 mm; [20, 28]).

5. Conclusion

This biomechanical study is focused on assessment of the modeling-level of cancellous bone and its interaction with tooth or dental implant. 39 computational models are created and analyzed. Maximum values of stress and strains are evaluated and for better clarity shown in several graphs. Following conclusion can be stated:

1. It is more suitable to evaluate strains than stresses in an assessment of mechanical response of cancellous bone on its loading.

2. CT-obtained material model of cancellous bone is not acceptable for stress-strain analysis because of singularities occurring at interfaces of too many regions with different Young's modulus. However, this model can be used for stress evaluation in implants.
3. Trabecular model of cancellous bone is more suitable for analysis of interaction of bone with the embodied tooth/implant. Further improvement of modeling-level should be researched. One possible direction of this research could be using micro CT, which can be helpful for creating 3-D trabecular model of cancellous bone.

Acknowledgements

This work was supported by grant specific research FSI-J-11-3/942 and FSI-S-11-12/1225.

References

- [1] Albrektsson, T., Brånemark, P. I., Hansson, H. A., Lindström, J., Osseointegrated titanium implants. Requirements for ensuring a long-lasting direct bone anchorage in man, *Acta Orthopaedica Scandinavica*, 52 (1981) 155–170.
- [2] Amarsaikhan, B., Miura, H., Okada, D., Masuda, T., Ishihara, H., Shinki, T., Kanno, T., Influence of environmental factors on tooth displacement, *Journal of Medical and Dental Sciences*, 49 (2002) 19–26.
- [3] Bonnet, A. S., Postaire, M., Lipinski, P., Biomechanical study of mandible bone supporting a four-implant retained bridge: finite element analysis of the influence of bone anisotropy and foodstuff position, *Medical Engineering & Physics*, 31 (2009) 806–815.
- [4] Borák, L., Marcián, P., Florian, Z., Bartáková, S., Biomechanical study of disk implants, *Engineering Mechanics*, 17 (1) (2010) 1–12.
- [5] Brånemark, P. I., Hansson, B. O., Adell, R., Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period, *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery and hand surgery*, 16 (1977) 1–132.
- [6] Daniel, L., Qing, L., Wei, L., Michael, S., Dental implant induced bone remodelling and associated algorithms, *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Material*, 2 (5) (2009) 410–432.
- [7] Cattaneo, P. M., Dalstra, M., Melsen, B., The finite element method: a tool to study orthodontic tooth movement, *Journal of Dental Research*, 84 (5) (2005) 428–433.
- [8] Clason, Ch., Hinz, A. M., Schieferstein, H., A method for material parameter determinative for the human mandible based on simulation and experiment, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering*, 7 (5) (2004) 265–276.
- [9] Futterling, S., Klein, R., Strasser, W., Weber, H., Automated finite element modelling of human mandible with dental implants, 6-th International Conference in Central Europe on Computer Graphics and Visualization, 1998.
- [10] Gei, M., Genna, F., Bigoni, D., An interface model for the periodontal ligament, *Journal of Biomechanical Engineering*, 124 (5) (2002) 536–546.
- [11] Hajian, M. R., In-vivo-Bite Force: Comparison between conventional and implant-supported dentures, University of Würzburg, Ph.D. thesis, 2004 (in German).
- [12] Jokstad, A., Braegger, U., Brunski, J. B., Carr, A. B., Naert, I., Wennerberg, A., Quality of dental implants, *International Dental Journal*, 53 (2003) 409–443.

- [13] Jokstad, A., *Osseointegration and dental implants*, John Wiley & Sons, Inc., 2008. ISBN 978-0-813-81341-7.
- [14] Kawarizadeh, A., Bourauel, C., Jager, A., Experimental and numeric determinative of initial tooth mobility and material properties of the periodontal ligament in rat molar specimen, *European Journal of Orthodontics*, 25 (2003) 569–578.
- [15] Kingsmill, V. J., Post-extraction remodelling of the adult mandible, *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 10 (3) (1999) 384–404.
- [16] Kohles, S., Bowers, J., Vailas, A., Ultrasonic wave velocity measurement in small polymeric and cortical bone specimens, *Journal of Biomechanical Engineering*, 119 (3) (1997) 232–238.
- [17] Koriouth, T. W. P., Hannam, A. G., Deformation of the human mandible during simulated tooth clenching, *Journal of Dental Research*, 73 (1) (1994) 56–66.
- [18] Levin, L., Dealing with dental implant failures, *Journal of Applied Oral Science*, 16 (3) (2008) 171–175.
- [19] Marcián, P., Florian, Z., Borák, L., Krpalek, D., Valášek, J., Biomechanical Study of Disk Implants, Part II. *Engineering Mechanics*, 17 (2) (2010) 111–121.
- [20] Mish, C., *Contemporary Implant Dentistry*, Mosby Elsevier, Indiana University, 2008. ISBN 0323043739.
- [21] Moon, H. S., Won, Y. Y., Kim, K. D., Ruprecht, A., Kim, H. J., Kook, H. K., Chung, M. K., The three-dimensional microstructure of the trabecular bone in the mandible, *Surgical and Radiologic Anatomy*, 26 (2004) 466–473.
- [22] Natali, A. N., *Dental biomechanics*, Taylor & Francis Books, London, 2003. ISBN 0-415-30666-3.
- [23] O’Mahony, A. M., Williams, J. L., Spencer, P., Anisotropic elasticity of cortical and cancellous bone in the posterior mandible increases peri-implant stress and strain under oblique loading, *Clinical Oral Implants Research*, 12 (6) (2001) 648–657.
- [24] Rho, J. Y., Hobatho, M. C., Ashman, B. R., Relations of mechanical properties to density and CT numbers in human bone, *Medical Engineering & Physics*, 17 (5) (1995) 347–355.
- [25] Rho, J. Y., Tsui, T. Y., Pharr, G. M., Elastic properties of osteon and trabecular bone measured by nanoindentation, *Journal of Biomechanics*, 31 (1) (1998) 21–21.
- [26] Samira, F., Sinan, M., Load transfer along the bone-dental implant interface, *Journal of Biomechanics*, 43 (2010) 1 761–1 770.
- [27] Simsek, B., Simsek, S., Evaluation of success rates of immediate and delayed implants after tooth extraction, *Chinese Medical Journal*, 116 (8) (2003) 1 216–1 219.
- [28] Šímůnek, A., *Dental Implantology*, Nucleus, 2008 (in Czech). ISBN 978-80-87009-30-7.
- [29] Stephan, G., *Radiology of Osteoporosis*, 2nd Revised Edition, 2008 Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN 978-3-540-25888-9.
- [30] Takahashi, N., Kitagami, T., Komori, T., Behaviour of teeth under various loading condition with finite element method, *Journal of Oral Rehabilitation*, 7 (1980) 453–461.
- [31] Tanaka, E., Tanne, K., Sakuda, M., A free-dimensional finite element model of the mandible including TMJ and its application to stress analysis in the TMJ during clenching, *Medical Engineering & Physics*, 16 (1994) 316–322.
- [32] Turner, Ch. H., The elastic properties of trabecular and cortical bone tissues are simile: Results from two microscopic measurement techniques, *Journal of Biomechanics*, 32 (4) (1999) 437–441.
- [33] Ulm, C., Tepper, G., Blahout, R., Rausch, F. X., Hienz, S., Matejka, M., Characteristic features of trabecular bone in edentulous mandibles, *Clinical Oral Implants*, 20 (2009) 594–600.

- [34] Valášek, J., Marcián, P., Krpalek, D., Borák, L., Florian, Z., Konečný, O., Material properties of bone tissue obtained from CT for biomechanics purposes, In MENDEL 2010. Mendel Journal series. (2010) 483–490.
- [35] CT Data Analysis — Software. URL <www.biomechanika.fme.vutbr.cz>.
- [36] MatWeb — Database of material properties. URL <<http://www.matweb.com>>.

Možnosti ošetření u ektodermální dysplazie

Possibilities of ectodermal dysplasia treatment

Prachár, P., Bartáková, S., Kuklová, J., Strecha, J., Vaněk, J.

MUDr. Patrik Prachár, Ph.D, MUDr. Soňa Bartáková, PhD, J. Kuklová, prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc. Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Pekařská 53, 659 14, Brno. Přednosta prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc. Česká republika MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent medima, Martin, Slovenská republika

Abstrakt

Ektodermální dysplazie patří mezi onemocnění, která mají vysokou dědičnou zátěž. Onemocnění má více jak 150 podtypů s různě vyjádřenými příznaky. Mezi nejdůležitější z pohledu stomatologie patří diagnostika onemocnění v souvislosti s hypodontiemi. Chybějící dentici je možné sledovat již v dočasné dentici. Hypodontie ve stálé dentici jsou výrazně vyjádřeny až k oligodontiím event. anodontiím.

Další známkou onemocnění je nedostatečná kostní hmota čelistí. Jako primární u tohoto onemocnění je diagnostický pedostomatologický rozbor. Dále se uplatňuje interdisciplinární spolupráce stomatologických odborností. V konečné fázi jsou zde možnosti dentální implantologie v terapii až po finální protetickou stomatologii.

Autoři se snaží přiblížit hendikepující onemocnění, přístup k terapii a možnosti posunu ošetření – implantace k mladistvým.

Klíčová slova: ektodermální dysplazie, dědičná zátěž, podtyp, hypodontie, oligodontie, anodontie, interdisciplinární spolupráce.

Abstract

Ectodermal dysplasia is one of those diseases with a high genetic load. The disease has more than 150 subtypes with different symptoms. From the stomatological view, the diagnosis of this disease is very important due to its association with hypodontia. Incomplete permanent teeth dentition can be observed during deciduous dentition. Hypodontia in permanent dentition is dramatically expressed in oligodontia or anodontia. Another sign of this disease is insufficient bone mass of the jaws. A diagnostic pedostomatological analysis is a primary one in the treatment of this disease. Then interdisciplinary cooperation should be applied. At the end, the possibilities of dental implantology and prosthodontics should also be considered.

The authors aim to familiarize us with this handicapping disease, individual access to therapy and the possibility of shifting the treatment (implantation) to adolescents.

Key words: ectodermal dysplasia, genetic load, subtype, hypodontia, oligodontia, anodontia, interdisciplinary cooperation.

Úvod

Jako definice jsou uváděny: dysplasia ectodermalis hereditaria, syndrom Christův – Siemensův – Tourainův, anhidrosis hypotrichotica, syndroma Jaquet.

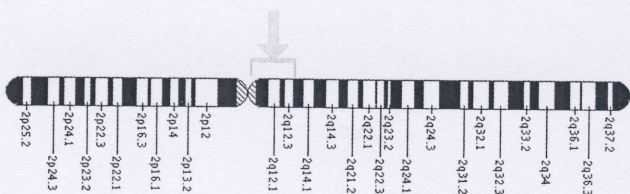
Ektodermální dysplazie je geneticky podmíněné onemocnění. Vyskytuje se společně s mnoha dalšími příznaky či přidruženými onemocněními. Existuje přibližně 150 podtypů, u kterých jsou různě vyjádřené příznaky. Uváděný poměr postižených lidí ke zdravým je 1 ku 17 000. Geny, které jsou odpovědné za onemocnění, jsou EDA (ectodysplasin A)

– EDAR (ectodysplasin receptor) – EDARADD (asociovaná doména smrti) [1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12].



Obr. 1. Umístění genu EDA na X chromozomu

Fig. 1. EDA gene location on the X chromosome



Obr. 2. Umístění genu EDAR na 2. chromozomu
Fig. 2. EDAR gene location on the 2nd chromosome



Obr. 3. Umístění genu EDARADD na 1. chromozomu
Fig. 3. EDARADD gene location on the 1st chromosome

Většina případů ektodermální dysplazie je způsobená mutací v genu EDA, který se dědí v X-vázané recesivní formě. U žen musí být přítomny mutace v obou kopiích genu, aby způsobily poruchu. Muži jsou ovlivněni X-vázaným recesivním onemocněním mnohem častěji než ženy. Platí, že asi v 95 % se jedná o onemocnění vázané na X-chromozom. Zbytek odpovídá EDAR a EDARADD mutacím.

K příznakům onemocnění patří: anhidróza, hypotrichóza, hypodoncie, oligodoncie, anodoncie, pseudoprogerie. Další příznaky jsou sedlovitý nos, vystouplé čelo, tlusté rty, málo vyvinuté řasy a obočí; anomálie pigmentace: periferní bledost obličeje, tmavě zbarvená kůže kolem očí; hypoplazie tukových žláz; ekzém; i výtok z nosu – ozéna; hypoplazie potních žláz, která vede ke špatné snášenlivosti vyšší okolní teploty. Jiné příznaky jsou také poškození nebo ztráta sluchu a zraku; časté infekce způsobené imunitním systémem; nepřítomnost nebo malformace některých prstů na rukou nebo nohou; bývá přítomen i rozštěp rtu nebo patra. K onemocnění patří i citlivost na světlo, dýchací obtíže a nedostatečný vývoj prsů. Vývoj fyzický i psychický bývá normální a je zde vyjádřený výrazný androtropismus.

Z pohledu stomatologického bývá onemocnění vyjádřeno v dočasné dentici chyběním zubů. Zjištění chybění zubů už v dočasné dentici by mělo vést k důkladnější analýze, předpokladu a diagnostice hypodoncií především ve stálé dentici. Ve stálé dentici totiž dochází k výrazným numerickým poruchám. Dále některé zuby, které jsou založené, jsou impaktované. Často jde o retence společně s anomálním uložením s velmi diskutabilní prognózou možné patofakce takových pilířů. Statisticky se uvádí, že až v 63,5 % případů bývá numericky větší hypodoncie v dolní čelisti, to odpovídá velmi malému množství zubů k protetické sanaci. Co se týká horní čelisti, bývá numericky větší hypodoncie pouze v 5,4 % uvedených případů; stejný počet chybějících zubů v horní

i dolní čelisti bývá statisticky v 8,1 %. Bohužel to nejdůležitější, kdy nejsou vůbec založené stálé zuby – anodoncie, se vyskytuje v 23,1 % (tab. 1 a graf 1).

Genetická zátěž u ektodermální dysplazie je v celém genealogickém kmeni výrazně vyjádřena (obr. 4). Z rodokmenu je patrné, že je velmi těžké, aby geneticky toto onemocnění bylo z linie odstraněno.

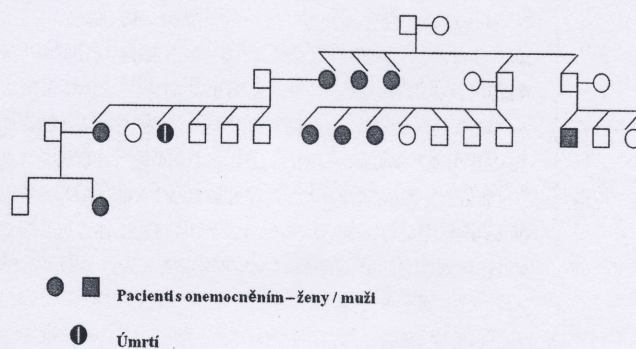
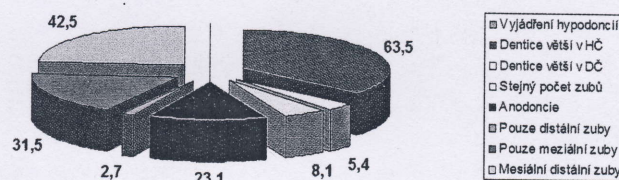
Tab. 1. Procentuelní zastoupení hypodoncie dle jednotlivých parametrů

Tab. 1. Percentage of hypodontia according to individual parameters

Vyjádření hypodoncií	Dentice větší v HČ	Dentice větší v DČ	Stejný počet zubů	Anodoncie	Pouze distální zuby	Pouze meziální zuby	Mesiální distální zuby
	63,5	5,4	8,1	23,1	2,7	31,5	42,5

Graf 1. Hypodoncie procentuelně zastoupená u ektodermální dysplazie

Graph 1. Percentage of hypodontia in ectodermal dysplasia



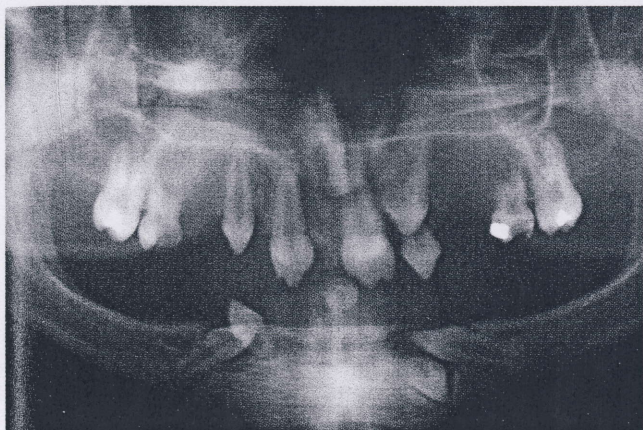
Obr. 4. Ukázka genealogie jedné rodiny ve třech generacích

Fig. 4. Genealogic picture of one family over three generations

Diagnostika onemocnění

Jako u mnoha onemocnění, které je možné zachytit již v dočasné dentici, je nejdůležitější primární záchyt. To znamená, že pacient by měl být diagnostikován již na poli pedostomatologie. Platí zde pravidlo, že jakéhokoliv hypodoncie vyjádřené v dočasné dentici musí být zkontrolováno společně s již vytvořenými zárodky stálých zubů. Je to důležité hlavně proto, že numericky jsou hypodoncie vyjádřené výrazněji u stálé dentice. Odpovídá to sumárnímu snímku ortopantomogramu a jeho kvalifikovanému vyhodnocení. Lepší diagnostikou

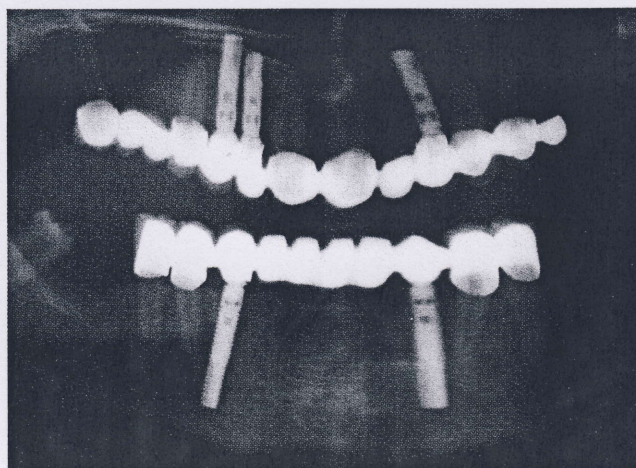
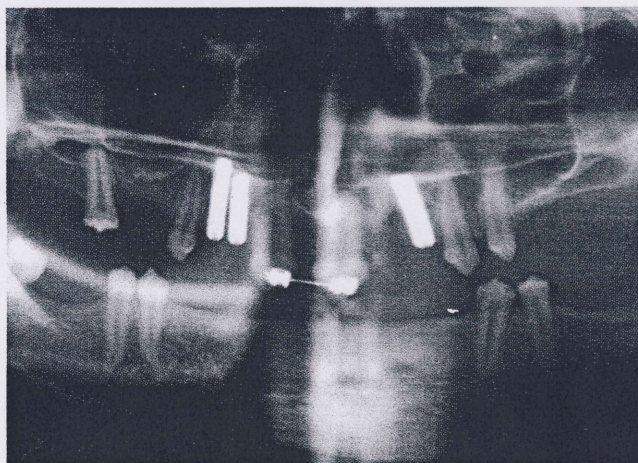
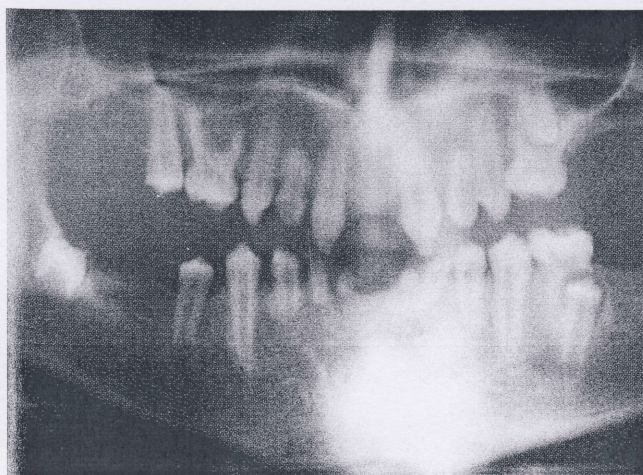
je trojrozměrné zobrazení, jako je např. CT diagnostika [2, 3]. Ve stálé dentici je u ektodermální dysplazie často vyjádřena ektopie zubů, proto je často nevyhnutelné 3D zobrazení uložení zubů také ve spojitosti a v návaznosti ortodontické terapie. Zde je velmi podstatné, jak jsou jednotlivé stálé zuby uloženy, zda zde jsou plnohodnotné zuby a také konfigurace apexu společně s dostatečnou délkou (obr. 5). Na tomto obrázku je množství impaktovaných zubů, ze kterých je nutné vybrat ty, které budou upotřebitelné pro definitivní ošetření. V dolní čelisti se jedná o oba špičáky a v horní čelisti o levostranný špičák.



Obr. 5. 14-ti letý pacient s impaktovanými zuby
Fig. 5. A 14-year old patient with implanted teeth

Možnosti terapie a přístupu

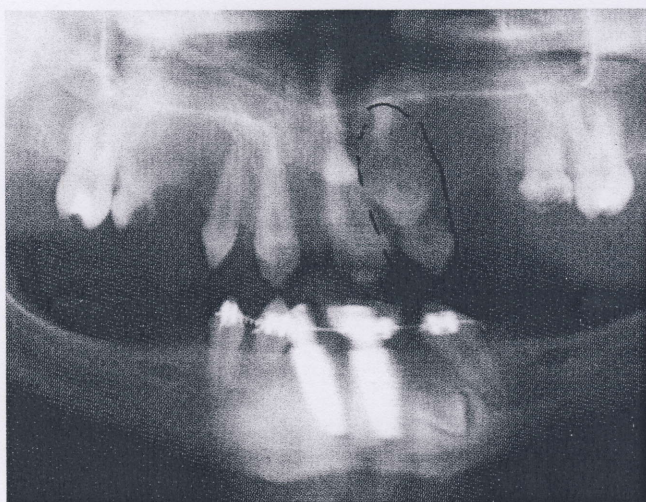
Jedním z prvních přístupů a ošetření je včasná ortodontická korekce postavení zbytkového chrupu včetně posunu – mezializaci a distalizaci zubů. Tímto korektivním posunem se nejen zuby postaví do předem požadovaného protetického postavení, ale především se umožní vytvoření kosti v podobné šíři zubu posouvaného – tzv. pseudoaugmentace. Do takto připraveného místa se implantuje co možná nejdříve pro zamezení ztráty kosti v takto vytvořeném místě (obr. 6, 7, 8). Zde díky ortodontické korekci došlo k posunu pilířů a možností implantace do takto vytvořených míst. Jedná se o případ dostatečného množství přirozených pilířů.



Obr. 6, 7, 8. Případ ektodermální dysplazie s více založenými zuby, po ortodontické korekci a ošetření horní čelisti a následně dolní čelisti

Fig. 6, 7, and 8. Ectodermal dysplasia case with several inserted teeth, after orthodontic correction and treatment of the maxilla followed by treatment of the mandible

K dalšímu přístupu patří korekce impaktovaných zubů do požadované pozice. Postup bývá užíván v případech, kdy není využitelná veškerá dentice. Některé zuby jsou resorbovány a tím jsou z pohledu ortodontie i protetiky nevyužitelné. Právě v případech mnohočetných semiretinovaných, retinovaných zubů je nutné mít možnost ukotvení pilířů, které budou sloužit jako kotvící prvky pro posun zubů. Mezi takové pilíře patří jak dentální i nedentální implantáty. K nedentálním implantátům patří např. kotevní implantáty, které mohou pomoci posunu zubů v daném směru. Dentální implantáty bývají užity jak pro kotvení a posun pilířů, ale také po ortodontické korekci využity k definitivnímu protetickému ošetření (obr. 9, 10, 11, 12). V tomto případě byly implantáty užity k patefakci stálých pilířů a následně kotvení fixní můstek na přirozených pilířích a implantátech, které byly prvně užity k patefakci. K tomu byla vytvořena potenciálně snímatelná náhrada II. třídy s nesponovými kotevními prvky.



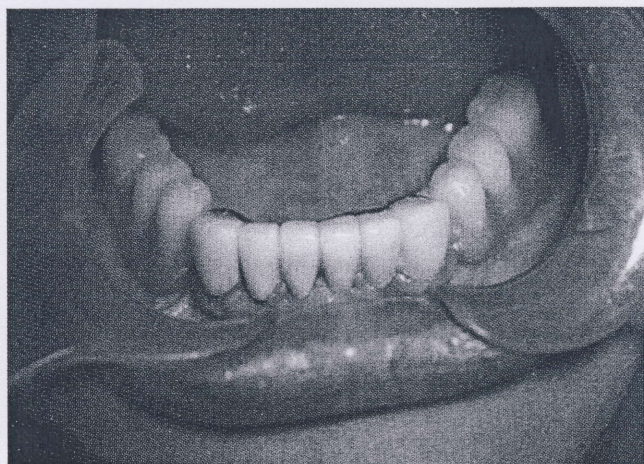
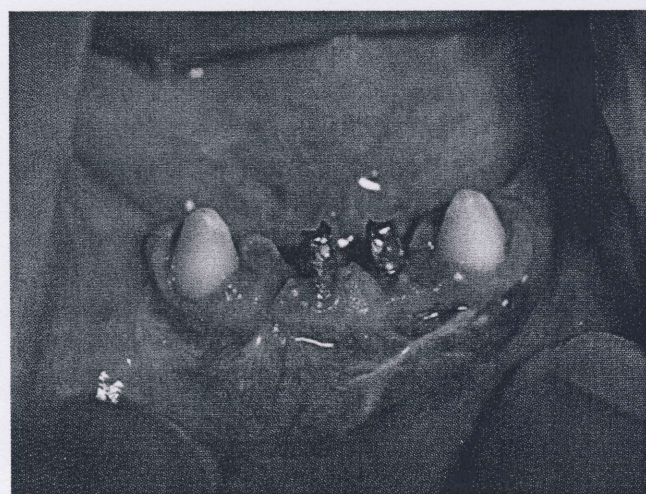
Obr. 9. Možnosti ortodontické korekce za pomoci kotevních prvků ve formě dentálních implantátů využitelných i k definitivnímu ošetření

Fig. 9. Possibilities of orthodontic correction by means of an anchoring element in the form of dental implants applied also in the final treatment



Obr. 10. Pacient z obr. 9 po extrakcích a implantaci v horní čelisti hned při extrakcích

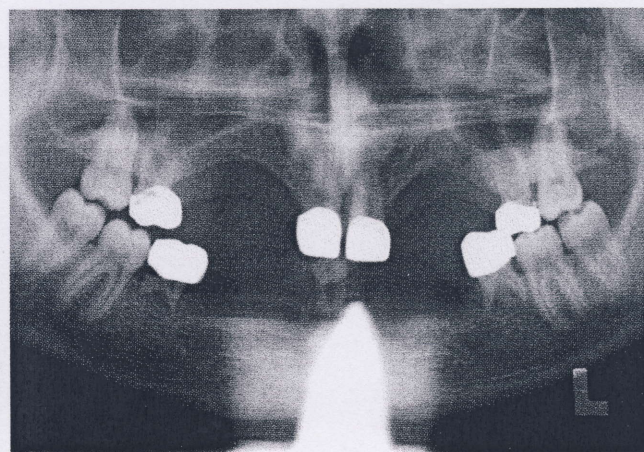
Fig. 10. The same patient with extractions and implantation in the maxilla immediately after extractions



Obr. 11, 12. Stav po ošetření dolní čelisti – po preparaci – s můstkem a potenciálně snímatelnou náhradou

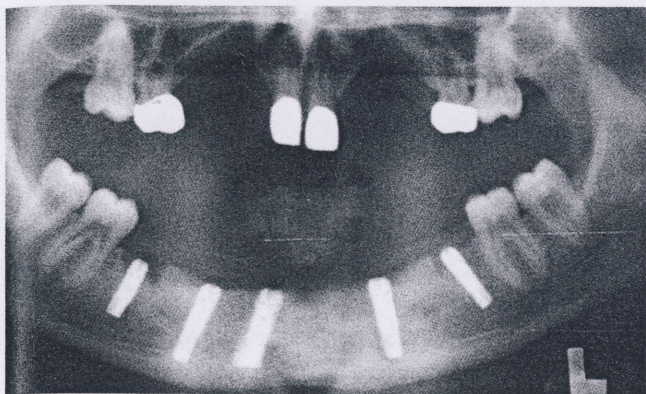
Fig. 11, 12. Post-operation treatment of the mandible with bridge and potential detachable substitution

Další možností je využití včasné diagnostiky a udržení stálých zubů v místech fyziologicky daných. Velmi důležité je však udržení, a to co možná nejdelší, perzistujících dočasných zubů. Taková perzistující dočasná dentice umožňuje svým setrváním dostatečnou sílu alveolu. To je jednou z podmínek zavedení dentálních implantátů, které v mnoha případech nemají dostatečnou kostní hmotu pro inzerci (obr. 13, 14, 15). V takových případech se implantuje ihned po extrakci, je zde totiž dostatek kosti mezi apexy dočasných zubů a tím je implantát plně inzerován v kosti. Poextrakční rány pak jsou velmi dobře doplněny kostí fyziologickým procesem hojení bez nutnosti doplnění biomateriálu. U ektodermální dysplazie jsou možnosti augmentace minimální. Nicméně je zde využitelnost biomateriálů např. ve vestibulu horní čelisti – to bylo užito (obr. 15).



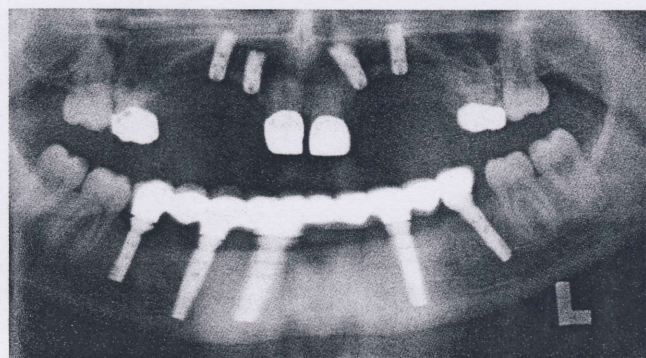
Obr. 13. 15ti letý pacient s perzistencí dočasných zubů

Fig. 13. A 15-year old patient with persisting deciduous dentition



Obr. 14. Stav po implantaci v dolní čelisti – pacient z obr. 9

Fig. 14. Post-implantation state in the mandible, the same patient (see fig. 9)



Obr. 15. Stav z obr. 9 po ošetření fixní prací v dolní čelisti a implantaci v horní čelisti

Fig. 15. Patient from fig. 9 State after fixations in the mandible and implantations in the maxilla

Velmi důležitá je otázka věkového rozmezí vhodnosti implantace. U ektodermální dysplazie je snaha o co nejdříve zavedení dentálních implantátů. Oproti klasickému schématu zavedení dentálních implantátů se věková hranice výrazně snižuje. Neplatí zde klasické schéma růstu a modelace čelistí s ohledem na výraznou atrofii alveolů.

Další z možností je užití stávajících pilířů, velmi často ortodonticky upravených, do protetické náhrady. Možnosti ošetření jsou závislé na počtu a postavení pilířů [11]. Ošetření může být od fixních prací až po snímatelné náhrady. V takovém případě se jedná o ošetření, kdy vzhledem k pozdnímu řešení je výrazně atrofický alveol. Tehdy je možné pouze protetické konzervativní ošetření.

Závěr

Ektodermální dysplazie je dědičné onemocnění, které má významnou rodinnou zátěž. Ošetření takového defektního chrupu jsou dána počtem zbylých pilířů. Pro správné ošetření je velmi důležité, aby byla včasná diagnostika onemocnění. Jedná se zde o možný výskyt hypodoncii v dočasné dentici a především následně

o hypodoncii numericky významnější ve stálé dentici. Často zde bývají perzistující dočasné zuby a je nutné takovou dentici především v distálních úsecích zachovat co možná nejdéle, protože umožňuje udržet dostatečný alveol a tím možnost příští implantace dentálních implantátů s možností kvalitnějšího protetického ošetření. Proto se věková hranice posouvá k mladistvým pro udržení síly alveolu za pomoci perzistence dočasných zubů. Další důležitou charakteristikou je ovlivnění pomocí ortodontické korekce, která má zásadní význam u tohoto onemocnění. Umožňuje nejen zařazení zubů do zubní řady, ale i posun mesialním či distálním směrem včetně pseudoaugmentace. U každého pacienta je vždy upřednostněn individuální přístup s interdisciplinárním zaměřením celé terapie.

Literatura

1. ANDLAW, R., J., ROCK, W., P.: A manual of paedodontics. Churchill Livingstone 1993.
2. ČERNOCHOVÁ, P., KAŇOVSKÁ, K., KRUPA, P.: Aplikace výpočetní tomografie (CT) a multiplanární rekonstrukce (MPR) v případech retinovaných zubů. Čes. Stomat., 2002, roč. 102, č. 3, s. 99 – 106.
3. ČERNOCHOVÁ, P.: Diagnostika retinovaných zubů. GRADA Publishing, a.s., 1. vydání, Praha 2006, ISBN 80-247-1269-5, počet stran 192.
4. FINN SYDNEY, B.: Clinical pedodontics. Philadelphia, London and Toronto 1973.
5. KOMÍNEK, J., ROZKOVCOVÁ, E., SEMJÁN, M.: Dětská stomatologie. Praha, Avicenum 1988.
6. PRACHÁR, P., VANĚK, J.: Tooth defects treated by dental implants in adolescents. Scripta Medica – 76 (1); 5 – 8, January 2003.
7. PRACHÁR, P.: Hypodoncii řešená dentálními implantáty Ankylos. StomaTeam, 2003, č. 4, 25, 3. ročník.
8. PRACHÁR, P., BARTÁKOVÁ, S., ČERNOCHOVÁ, P., VANĚK, J.: Ektodermální dysplazie a dentální implantologie. Biomedicínské postupy, Zborník referátů, Slovensko, Košice, 2008, s. 221 – 227, ISBN 978-80-89361-28-1.
9. PRACHÁR, P., BARTÁKOVÁ, S., ČERNOCHOVÁ, P., KUKLOVÁ, J., VANĚK, J.: Ektodermální dysplazie - souvislosti a implantace. Čes. Stomat., 2009, roč. 109, č. 6, s. 106 – 111.
10. SCULLY, C., VELBURY, R.: Color atlas of oral diseases in children and adolescents. London, olfe Publishing 1994.
11. STRECHA, J., JURKOVIČ, R., SIEBERT, T., PRACHÁR, P., BARTÁKOVÁ, S., FOJTÍKOVÁ, E.: Individuální titanokeramická nadstavba. Čes. Stomat., 2009, roč. 109, č. 5, s. 92 – 97.
12. WELBURY, R., R.: Paediatric dentistry. Oxford university press 1997.

MUDr. Patrik Prachár, Ph.D
Stomatologická klinika LF MU
a FN u sv. Anny, Pekařská 53
659 14, Brno

Povlakování HA u modifikace implantátu PV I.

Hydroxyapatite (HA) plaque in photovoltaic ion (PVI) implant modification

Prachár, P., Bartáková, S., Kassugai, S., Martikáň, A., Martikáň, J., Vaněk, J.

MUDr. Patrik Prachár, PhD., MUDr. Sonia Bartáková, PhD., prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc., Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno.

Kassugai, S., Tokyo Medical and Dental University, Japonsko

Martikáň, A., Martikáň, J., fi. Martikan, Dolná Mariková, Slovensko

Abstrakt

Implantační systémy ve stomatologii se v poslední době snaží vytvořit takový prvek, který by zabraňoval možné resorpci kosti a zároveň podpořil rychlé biologicky výborné vhojení implantátu. V současnosti existuje velká řada implantačních systémů. Jednotlivé systémy se liší povrchovou úpravou, materiálem a designem. V popředí naší snahy stál design implantátu. Z toho vyplývalo vytvoření implantačního systému, který bude mít antirotací prvek pro ukotvení nástavby. Další prioritou bylo definování, zkoušení a vytvoření formy závitů, která bude co možná nejšetrnější ke kortikální vrstvě kosti a stanovili jsme standardní materiál pro výrobu implantátu a standardní povrchovou úpravu. Objektivizovali jsme možnost působení sil pomocí 3D modelací tohoto typu implantátu. Také jsme hodnotili implantát v preklinických zkouškách na prasatech s povrchovou úpravou hydroxyapatitu.

Klíčová slova: implantační systémy, kostní resorbce, vhojování implantátu.

Abstract

Recently, implant systems in stomatology have been trying to create such an element which would prevent possible bone resorption and at the same time biologically promote quick in-healing of an implant. Nowadays there are many implant systems. These differ in surface finish, material and design. At the center of our efforts has been design of an implant, and thus an implant system which would have an anti-rotary unit for anchoring the abutment. Another priority is to define, test and construct threads which would be safe and harmless towards the cortical layer of the bone. A standard material for implants and a standard surface finish were both determined. By means of 3D models of this implant type, the possible action of forces was objectivized. We then evaluated an implant in pre-clinical trials on pigs with an hydroxyapatite surface finish.

Key words: implant systems, bone resorption, implant in-healing.

Úvod

Ve světě existuje obrovské množství implantačních systémů, řádově přes 100. Implantáty lze dělit dle kritéria zavedení je na jednodobé (jednofázové) a dvoudobé (dvoufázové).

Jednofázový implantát se zavádí do kosti v celku bez možnosti šroubování či připevňování jiných částí a je následně po několika týdnech zatěžován. Takový implantát není finančně náročný, ale je pro něj podstatné ukotvení za pomoci dlahování, např. se zuby.

Dvoufázové implantáty jsou složeny z nitrokostní části (tzv. fixtury) a z části orální (suprastruktury).

U takového implantátu se jako první zavádí fixtura a pak se čeká 3 – 5 měsíců na její vhojení. Doba vhojení se může lišit od typu čelisti (hustoty), typu implantátu a jeho povrchové úpravy. Jednofázový implantát je brán především jako čepelkový (žiletkový). Což je implantát velmi tenký, ale dlouhý, nevyužitelný pro solo pilíře, ale vždy v kombinaci se zubem nebo s implantátem dvoufázovým [22, 19]. Nyní jsou jednofázové implantáty i implantáty válcové – závitové ve vybraných indikacích jako včasné implantáty co do zatížení [12]. Jako dvoufázový je brán implantát většinou závitový, válcový, kónický nebo kaskádovitě formy co do tvaru

implantátu. Je to implantát, který je šroubovatelný z minimálně dvou částí.

Jednotlivé implantační systémy se mezi sebou minimálně liší. Ale jistá specifika rozdílnosti můžeme najít:

1. ve tvaru vlastního implantátu (fixtury)
 - zde jde většinou o tvar podobný zubu s kónickým zúžením jako je typické pro jednokořenový zub.
2. v typech a stoupáních závitů
 - zde se jedná o možnosti výšky – stoupání jednotlivých závitů, o hloubku závitů a jejich profil.
3. v úpravě povrchu
 - v současnosti nejvíce zkoumaná oblast. Zde se jedná o možnosti nanášení materiálů, úpravy členitosti povrchu a jejich hodnocení nejprve na buněčné úrovni.
4. v možnostech připojení suprastruktur do fixtury
 - zda je možné eliminovat nasedání a kolonizaci mikrobů a tím předcházet periimplantitidě.
5. v samotných suprastrukturách
 - zde se jedná o nepohyblivost a tím dokonalou stabilitu a znemožnění fraktur.
6. v problematice materiálu
 - snaha je vytvořit nové materiály.

Ad 1. tvar fixtur: jedná se zde o enoseální část implantátu. Jsou členěny na implantáty čistě válcového tvaru bez větších retencí. Od tohoto typu se v současnosti ustupuje pro nižší primární retenci a vyšší riziko resorpce kosti.

Další formou jsou implantáty kónické, které se svým tvarem podobají jednokořenovému zubu. Tento tvar je v současnosti nejvíce využíván pro snadnou aplikaci do kosti. Pak existuje tvar s vybíhajícím konusem směrem k měkkým tkáním. Tento tvar zohledňuje gingivální část bez větší iritace; to znamená, že v krčkové části není tak v pravém slova smyslu dvoufázovým, protože není plně ukotven pod gingivou. Určitým problémem zde zůstává rozšiřující se konus, který u gracilních zubů je proteticko-estetickým problémem.

Další formou je forma kaskádovitá, to znamená, že jednotlivé části fixtury mají různý průměr od nejmenšího v apikální oblasti k největšímu v koronární části. Tento typ implantátu je možné s výhodou využívat u tzv. včasných implantací nebo odložených implantací, kdy je lépe fixován do poextrakční rány. V současnosti se však od implantací ihned do poextrakční rány ustupuje [12, 13].

Jako poslední tvar je tvar částečně se zužující v koronární části. Zde se předpokládá zanoření implantátu s nárůstem kosti a menší napětí v oblasti kortikální kosti.

Ad 2. závitů a formy závitů: závitů obecně dělíme na samořezné a s předvrtáním. To znamená, že

u samořezných implantátů se při zavádění neužívá mimo vrtáků k předvrtání implantačního lůžka, tzv. závitníků, nástrojů, které nám vytvoří částečný závit. Další členění závitů je podle hloubky závitů a výšky stoupání závitů. Vlastní hloubka závitů se pohybuje mezi 0,15 – 0,5 mm. Samozřejmě je málo výjimek, kde najdeme závitů hlubší. U takových implantátů je jejich využití omezené, protože se tím stává implantát mohutnější co do průměru a tím se snižují možnosti indikace v závislosti na horizontálním rozměru kosti.

Výška stoupání závitů se pohybuje mezi 0,6 – 1,2 mm. V současnosti je navíc tzv. mikrozávit pro oblast kortikální kosti, který snižuje napětí v této pro implantaci nejdůležitější oblasti. Jeho užití u implantačních systémů se nyní stále více rozšiřuje. Vlastní hloubka u mikrozávitů se pohybuje do 0,1 mm a výška stoupání kolem 0,2 – 0,3 mm.

Ad 3. povrchová úprava: tato oblast je v současnosti nejvíce diskutovanou a zkoumanou. Jedná se nejen o strukturu povrchu v návaznosti na buněčnou odezvu, ale i o možnosti ovlivnění povrchu pomocí jiného materiálu či sloučeniny. Zde se jedná o možnosti povlakování povrchové vrstvy biologicky kvalitnějšími materiály a tím zvýšení kvality oseointegrace [1, 14, 15, 21]. Materiály užití k povrchové úpravě vykazují minimálně stejnou biokompatibilitu jako technicky čistý titan [7, 8]. Nebo lépe vyšší biologické vlastnosti než u titanu. A právě zde je snaha posunout oseointegraci ještě výše až na úroveň biointegrace, tedy aktivního spojení implantovaného materiálu v kosti. Mezi materiály patří nitridy, oxidy, patří sem biofilmy, což je ve fázi experimentů, a patří sem nanomolekuly, také ve fázi experimentů. Další možností je nanostrukturální titan, který se chová v biologickém prostředí jinak než klasický titan. Existuje velká řada technik pro možnost ovlivnění povrchové vrstvy implantátu. Známe techniky pískování přes leptání po elektroerozi. V současnosti i techniky měnící strukturu a uspořádání titanu na povrchu. U pískování se jedná o proud částic, které jsou tryskány na povrch implantátu. Tím se vytváří různě členěný povrch, který odpovídá velikosti částic užitých při tomto procesu. Další otázkou zde je, jaký materiál bývá užit pro pískování. Příkladem může být Al₂O₃ nebo fluoroapatit. Souvisí s tím také technologie úpravy taktó opracovaného implantátu, aby na povrchu nezůstávaly ionty, které v této vrstvě by mohly být pro buňky nepřijatelné [10, 18].

Podobným procesem je leptání, kde se užívá nejčastěji kyselin HNO₃, HF nebo HCl pro úpravu povrchu implantátu. Zde také platí postupy pro odstranění zbytků kyselin vytvořených meziproductů, aby byl implantát opět biokompatibilní. Další možností úpravy implantátu, jeho povrchu, je elektroeroze.

Je to takový postup, kdy za pomoci výbojů elektrického proudu dochází k postupnému odtavování mikročásteček materiálu. Tím dochází k zdrsnutí povrchu.

Proto tato oblast povrchu implantátu je nejvíce členitou a probíranou v současnosti [16, 17, 23].

Ad. 4. ukotvení suprastruktur: jedna z důležitých otázek z dlouhodobého hlediska životnosti implantátu. Oblast přechodu kosti, periostu a gingivy je nyní velmi diskutovanou otázkou pro možnost zabránění periimplantitidy a pro co nejnižší kolonizaci mikroby. Zde platí, že nástavba by neměla být pouze šroubována bez dotykové oblasti, event. implantát má svou enoseální částí sahat nad gingivu. To znamená, že nástavba má mít část, která se co nejpřesněji dotýká vnitřní části fixtury a tím nevytváří slepý prostor i při eventuálním pohybu pro bakterie.

Jako další jsou antirotační prvky pro ukotvení suprastruktur. Jsou to prvky, které znemožňují pohyb – rotaci nástavby a s ní protetické práce. To byla v dřívější době také jedna z příčin neúspěchu implantací. Antirotačních prvků je celá řada. Užívají se trojhran až po mnohohran, užívají se přídatné kotevní zářezy uvnitř implantátu. Všechny však společně vedou k imobilizaci nástaveb.

Jistou otázkou je zda neimplantovat jednofázově, což je velmi těžké při negativní denzitě kosti, kdy eliminujeme slepý prostor.

Ad 5. suprastruktury: existují různé možnosti suprastruktur. Jsou vícečleněné z několika částí – to je nejméně vhodný způsob „složitě“ suprastruktury. Zde platí, že čím více komponent a ne jedna část, tím více problémů z dlouhodobého hlediska užití implantačního systému. V současnosti je nejvíce užívaná suprastruktura se samosvorným úhlem a výstupem z implantátu ne větším co do průměru než vlastní fixtura. Také tvar vystupující z implantátu by měl ctít co nejmenší „mrtvý prostor“ mezi suprastrukturou a koronárním koncem implantátu. Vše by mělo být samozřejmě plně vyleštěné bez drážek a záhybů [20].

Ad 6. materiál: nyní je nejčastěji užíván titan a jeho slitiny, ať v čisté formě nebo s úpravou povrchu [6, 9]. Jako další z materiálů jsou keramické implantáty, které jsou však velmi křehké s určitou diskutabilní otázkou zirkonia. Proto se spíše než k takovým implantátům přikláníme k povrchové úpravě. Další materiál, který je ve vývoji, je tzv. beta slitina [2, 3, 4, 5, 11]. Tato slitina je složena z titanu, niobu a tantalu. Má lepší mechanické vlastnosti jako technicky čistý titan a je biokompatibilní.

Nejčastěji je užíván Grade 4 pro výrobu fixtur pro svou vyšší mechanickou odolnost oproti Grade 2, který je také užíván. Další bývá užíván i Grade 5, především na suprastruktury.

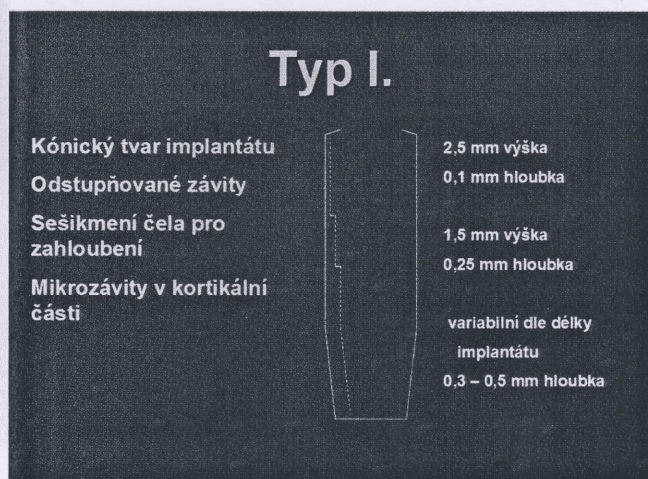
Materiálová problematika je oblastí, která je také otevřená k dalším možnostem rozšíření implantačního materiálu. Platí, že biokompatibilní prvky jsou Ti titan, Zr zirkonium, Ta tantal, Nb niob a Hf hofranium. A právě z těchto prvků by měla být vytvořena tzv. beta slitina. Velká spousta beta slitin je již vytvořena [2, 3, 4, 5, 11]. Další, nejperspektivnější pro orální implantologii jsou ve fázi experimentů. To co vede k takovému kroku je nejen otázka již známých případů intolerance na technicky čistý titan, ale především zvýšení biologických vlastností implantátu a možnost ovlivnění kolonizace mikroby.

Materiál a metodika

Byly zadány podmínky pro zhotovení implantátu:

- implantát bude vycházet z válcového systému se závitů, tyto budou členěny dle určitých kritérií,
- implantát bude z tvaru válcového v apikální části konstrukce přecházet ve formu kónickou,
- implantát bude mít závitů, které budou mít tvar zkosení z obou stran bez ostrého hrotu; proto bude nutné v dané denzitě kosti předvrtání,
- implantát bude mít 3 odlišné typy závitů,
- jedním ze závitů budou mikrozávitů, jejichž stoupání bude trojnásobkem závitů navazujících na mikrozávitů,
- další závitů budou ve stoupání 0,6 mm s odlišnou hloubkou, menší bude koronárně a větší bude apikálně,
- implantát bude mít povrchovou úpravu dle standardního opískování s biologicky nejlepší odezvou,
- implantát bude obsahovat antirotační prvek, který bude specifický pro zavádění implantátů; pro ukotvení solo pilířů a také pro možnost eventuální explantace,
- implantát bude mít pevné plošné spojení nástavby a fixtury, což odpovídá samosvornému úhlu, který bude zabraňovat mimo jiné kolonizaci bakterií,
- vlastnímu zhotovení bude předcházet 3D modelace,
- jedním z kritérií vlastního vytváření bude především finanční stránka zhotovování, která bude ponížena oproti jiným konstrukcím.

Jako další přistoupilo preklinické testování na zvířatech. Zde bylo dosaženo spolupráce SVC (Stomatologické Výzkumné Centrum) a TMDU (Tokyo Medical and Dental University). Jako laboratorní zvířata byla navržena prasata pro významnou shodu kostní tkáně s člověkem. Byly zavedeny do tibií prasat a hodnoceny ve spolupráci. K otestování byly dány implantáty vyrobené z technicky čistého titanu Grade 4, Grade 5. A další variantou bylo nanesení pomocí metody magnetronového naprašování povlaku hydroxyapatitu rádoově v mikrometrové síle.



Obr. 1. Nákres I. typu modifikace implantátu PV.
Fig. 1. Drawing of PV implant modification, Type I

Tab. 1. Podobnost složení a struktury kosti mezi vybranými zvířaty a člověkem

Tab. 1. Similarity of bone composition and structure between chosen animals and a man

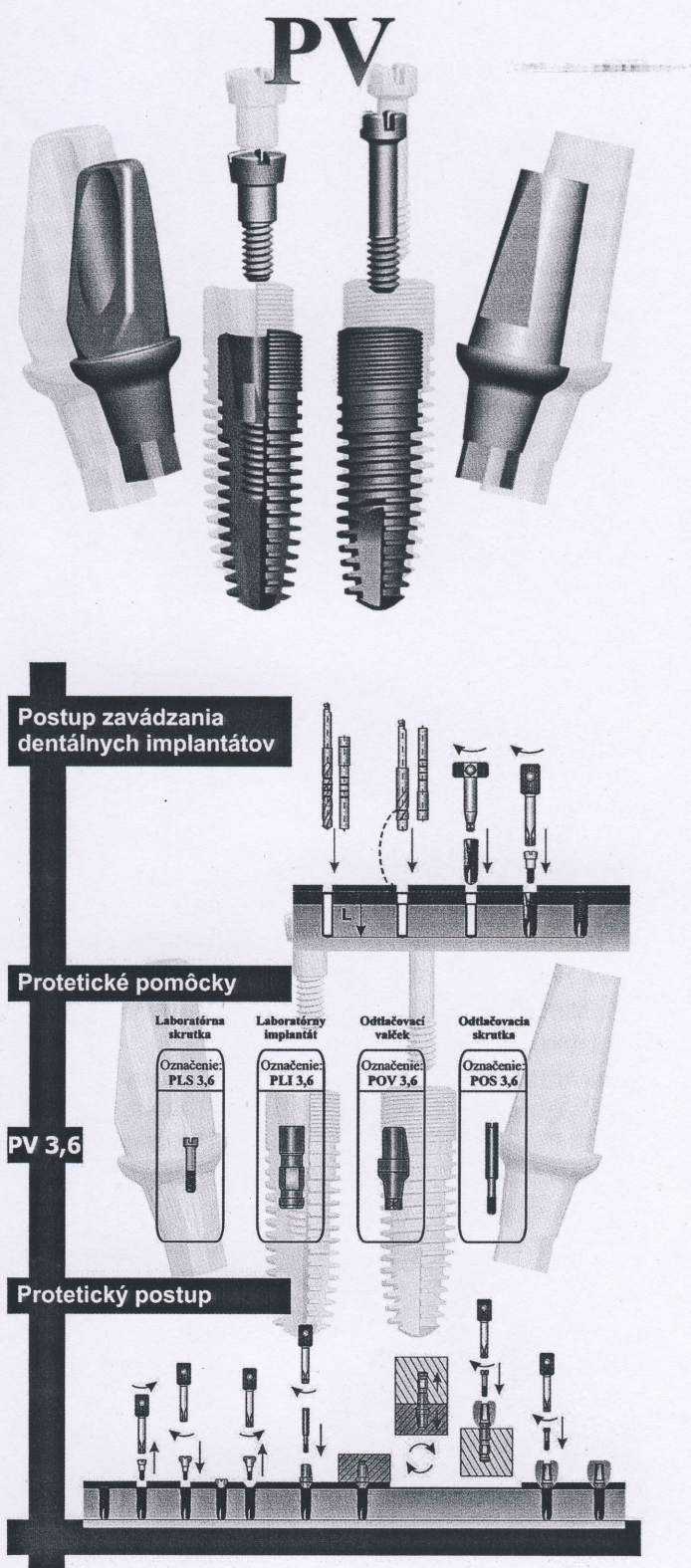
Zvíře	Pes	Ovce/ koza	Prase	Králík
Makrostruktura	++	+++	++	+
Mikrostruktura	++	+	++	+
Složení kosti	+++	++	+++	++
Přestavba kosti	++	++	+++	+

Výsledky

Vlastní implantát je vytvořen jako dvoufázový dentální implantát s antirotacími a antiperiimplantačními prvky. Sestává z fixtury, která byla válcového tvaru s apikálním kónickým zúžením (obr. 2, 3). Koronární část je sešikmená pro možnost hlouběji implantát inzerovat do kosti. Závitě na fixtuře jsou s předvrtáním a sestávají ze 3 částí: První – koronární část obsahuje mikrozávitě, Druhá – prostřední část je ze závitů se stoupáním 0,6 mm a byly do hloubky 0,25 mm, Třetí – apikální část je ze závitů se stoupáním 0,6 mm a hloubkou závitů od 0,3 do 0,5 mm. Dále v apikální části jsou 2 zářezy umožňující kondenzaci kosti při inzerci implantátu.

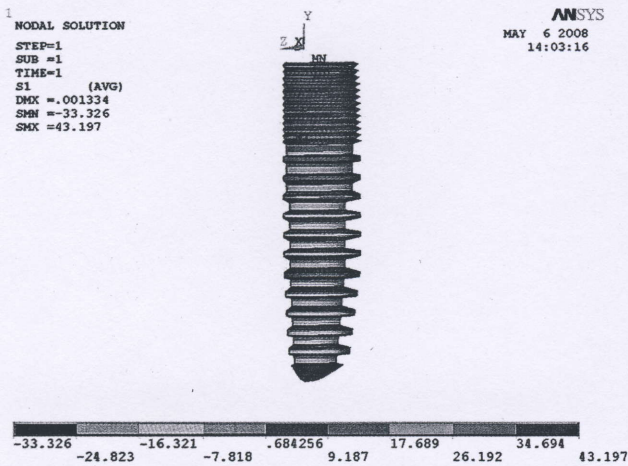
Vnitřní část fixtury obsahuje závit pro našroubování nástavby, pak čtyřhran jako antirotací prvek a prvek, který umožňuje snadné zavádění implantátu, a nakonec samosvorný úhel, který je výborný pro fixaci nástavby bez možnosti kývavého pohybu a předcházení periimplantitidy těsným spojením nástavby a fixtury.

Nástavba je tvořena šroubkem volným pro fixaci ve fixtuře, dále čtyřhranem zapadajícím do fixtury a kónickým rozšířením pro těsné spojení. Vlastní nástavba v gingivální části umožňovala vytvoření co nejmenšího mrtvého prostoru v oblasti přechodu kosti a gingivy.



Obr. 2 a 3. Prospekt a protokol implantátu PV I.
Fig. 2 and 3. PVI implant prospect and protocol

Následovaly modelace 3D pro zhodnocení vhodnosti využití implantátu. Výsledkem bylo doporučení takového implantačního systému pro jeho minimální zátěž v oblasti kortikální kosti. Tento fakt je podstatný pro co nejmenší resorpci a následně zachování implantátu.

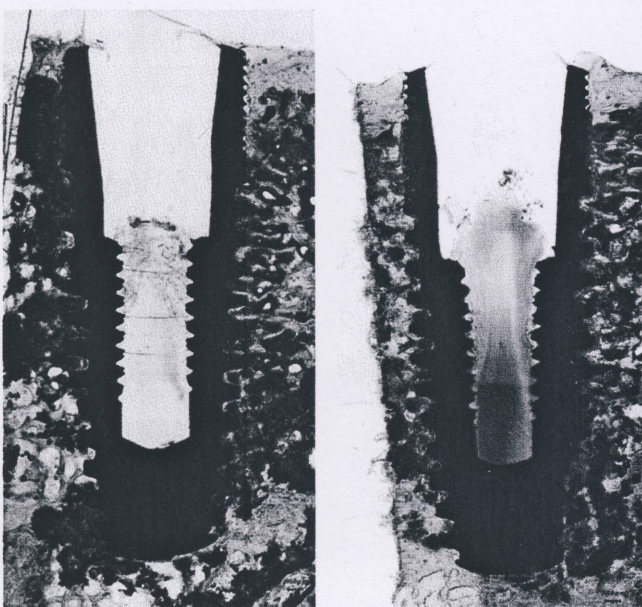


Obr. 4. Vybraná 3D modelace u implantátu PVI.
Fig. 4. Chosen 3D model in a PVI implant

Další bylo zhodnocení na řezech užití implantátů v preklinickém testování na prasatech. Prasata byla 2 jednorocní miniprasata. Toto vše probíhalo za spolupráce s japonskou TMDU, zde byly také hodnoceny řezy kostí a implantátem a hodnocena osseointegrace s odstupem jednoho měsíce.

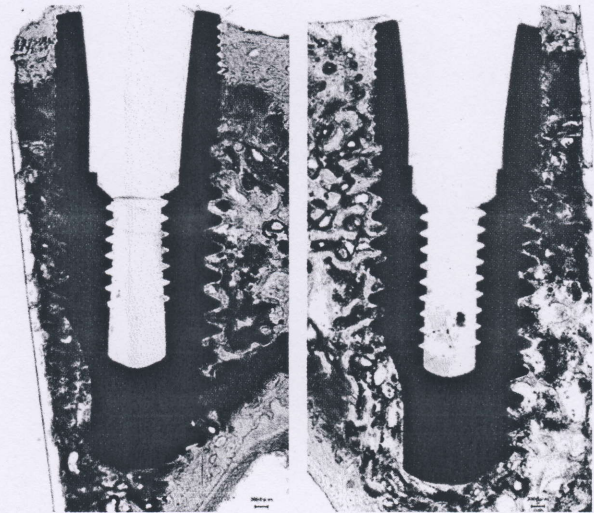
Vzorky byly:

- implantáty bez užití povrchové úpravy, pouze strojově upravené, typ Grade 4.
- implantáty s užitím povrchové úpravy metodou pískování 120, materiál Grade 5.
- implantáty s užitím povrchové úpravy Grade 5. s povlakem HA
- implantáty bez užití povrchové úpravy Grade 4. s povlakem HA



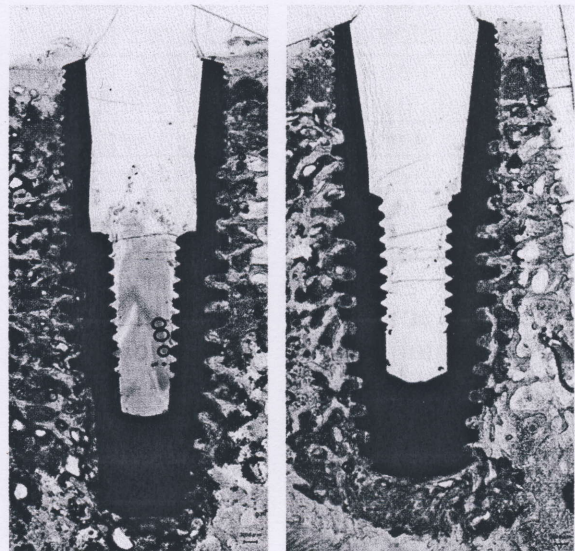
Obr. 5 a 6. Řezy kostí miniprasete u implantátu z Grade 4.

Fig. 5 and 6. Bone sections in mini-pigs in an implant, Grade 4



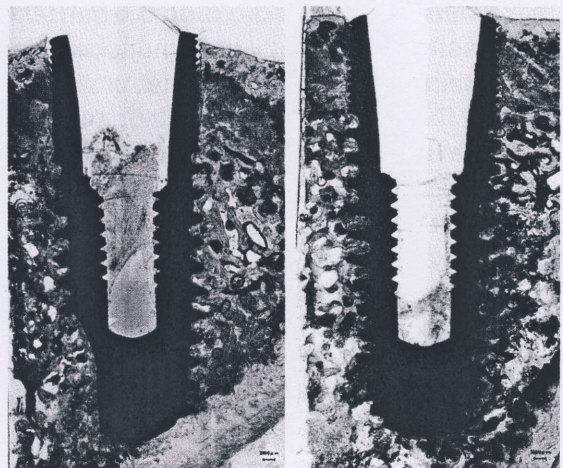
Obr. 7 a 8. Řezy kostí u miniprasete u implantátu z Grade 5.

Fig. 7 and 8. Bone section in a mini-pig in an implant, Grade 5



Obr. 9 a 10. Řezy kostí u miniprasete u implantátu z Grade 4. s povlakem HA

Fig. 9 and 10. Bone section in a mini-pig in an implant, Grade 4, with HA plaque



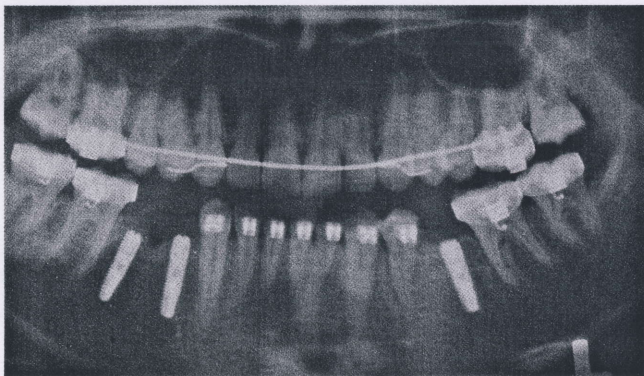
Obr. 11 a 12. Řezy kostí u miniprasete u implantátu z Grade 5. s povlakem HA

Fig. 11 and 12. Bone section in a mini-pig in implant, Grade 5, with HA plaque

Z řezů vyplývala úspěšnost vhojení u povlaků hydroxyapatitem téměř 100% bez ohledu na základní úpravu nebo materiál, ze kterého byl implantát vytvořen (obr. 9, 10, 11, 12).

U implantátu z Grade 4. byl výsledek velmi podobný výsledku s povlakem HA. A u implantátu z Grade 5. byl výsledek také výborný, ale s již malým naznačením resorpce v kortikální části kosti.

Dalším krokem byla inzerce takových implantátů do čelistí člověka. Každý pacient byl seznámen s preklinickým testováním a byl zařazen do protokolu a hodnocen. Implantáty byly vytvořeny z Grade IV. titanu. Ukázky některých implantací jsou na RTG snímku.



Obr. 13. Implantace u hypodontií po zhojení kosti
Fig. 13. Implantation in hypodontia after bone healing

Diskuse

V současné implantologii je velké zaměření se na povrchovou úpravu a povrchové vlastnosti implantačních systémů. Jsou užívány materiály, které mohou ovlivňovat biologické vlastnosti implantátů. K jedním z materiálů patří povlakování metodou magnetronového naprašování. Sem patří povlaky nitridem zirkonia a nitridem titanu, dále uhlíkem a hydroxyapatitem. Všechny tyto povrchy mají vést k přechodu od osseointegrace k biointegraci. Nyní je osseointegrace plně dostačující a vyžadovaná od všech orálních implantátů. Biointegrace by svojí předpokládanou vazbou mohla být vyšší úrovní spojení kosti s implantátem. Tyto aplikace jsou výsledkem výzkumu právě SVC Brno.

Dalšími možnostmi jsou nanopovrchy implantačních systémů. Ty jsou i přes úspěch nanášení prozatím ve fázi výzkumu a prekliniky. Zde se také hovoří o nosičích různých forem organických sloučenin. Avšak z pohledu implantologie je důležitá mechanicko-fyzikální odolnost takové vrstvy, protože při inzerce implantátu dochází

k silné abrazi povrchové vrstvy. Ta potom musí zůstat na povrchu a ne v první úrovni dotyku implantátu s kostí.

Dalšími variantami ovlivnění biologické úrovně implantačních systémů jsou nové materiály. Zde v současnosti se objevuje beta slitina, která v sobě zahrnuje prvky tantalu, niobu a titanu. Tato slitina je podle předběžných studií a buněčných testů biokompatibilní a především vysoce mechanicky odolná. Také je to jedna z možností, kdy je mimo technicky čistého titanu vytvořen materiál, který nemá stejné vlastnosti i z pohledu zvýšené reaktivity na kovy s další možností alergie.

V neposlední řadě je zde návrat k formám hydroxyapatitu. Ale ne ve formě silné vrstvy, která byla degradabilní, ale ve formě ultratenké mikrovrstvy. Takovou formou jsme schopni vytvořit výrazně vyšší biologické vlastnosti implantátu.

Vlastní design není nyní tak rozšířenou oblastí zkoumání. Přece jenom existuje více než 100 typů implantačních systémů. Ale i tak se objevuje u mnoha systémů, že nejdůležitější částí implantátu je kortikální část společně s ukotvením suprastruktury. Zde se totiž jedná o co nejmenší namáhání kortikalis – příkladem mohou být mikrozávity. A dále ukotvení suprastruktury bez jakékoliv mezivrstvy, která by měla negativní dopad v podobě periimplantitidy a tedy nižší úspěšnosti implantace.

Závěr

Vytvořili jsme modifikaci implantačního systému pod označením PV I. Tvar odpovídal jednokořennému zubu. Jeho vnitřní charakteristika byla s antirotčním prvkem, který umožňoval dobrou inzerce implantátu a následně ukotvení suprastruktury bez rotace. Ve své části koronární byl implantát opatřen mikrozávity pro svou lepší funkci a menší zátěž na kortikální vrstvu kosti. Vytvořili jsme také ukotvení suprastruktury plochou pro co minimální invazi mikrobiální. Tento implantát je vyráběn z Grade 4. s eventualitou Grade 5. Jeho testování pomocí 3D modelace bylo úspěšné a ukázalo možnost užití v praxi. Také preklinické hodnocení ukázalo výborné výsledky na prasatech. Zvláštní pozornost byla zaměřena na povlak hydroxyapatitem, u kterého byly výsledky vynikající. Také v preklinickém hodnocení u pacientů byly výsledky odpovídající našim požadavkům na implantáty.

Závěrem můžeme říct, že implantační systém PV I. lze doporučit ve stomatologické praxi.

Tato práce vychází z projektu SVC č. 1M0520.

Literatúra

1. BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., CVRČEK, L., BŘEZINA, V., VANĚK, J.: Vyhodnocení chemické stability povlakované vrstvy nitridu zirkonia na základní konstrukci z chromkobaltové slitiny. *Prakt. zub. Lék., Roč. 55, 2007, č. 4, s. 63 – 66.*
2. BARTÁKOVÁ, S.* A PRACHÁR, P.*, KUDRMAN, J., PODHORNÁ, B., BŘEZINA, V., STRECHA, J.: Binární titan-niobové slitiny a jejich biokompatibilita. *Stomatolog 1/2009, ročník XIX, s. 39-42, ISSN 1335-0005.*
3. BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., KUDRMAN, J.†, PODHORNÁ, B., BŘEZINA, V.: Binární titan-tantalové slitiny a jejich biokompatibilita. *Prakt. Zub. Lék., roč. 57, 2009, č. 3, s. 37 – 40. ISSN 1213-0613.*
4. BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., HASOŇ, S., SILVENNOINEN, R., CVRČEK, L., STRAŠÁK, L., FOJT, L., AVRANAS, A., VETTERL, V.: Biofyzikální mechanismy určující biokompatibilitu dentálních implantátů a podmiňující jejich oseointegraci. *Čes. Stomat., roč. 109, 2009, č. 3, s. 48 – 53, ISSN 1213-0613.*
5. BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., KUDRMAN, J., BŘEZINA, V., PODHORNÁ, B., ČERNOCHOVÁ, P., VANĚK, J., STRECHA, J.: New titanium β – alloys for dental implantology and their laboratory-based assays of biocompatibility. *Scripta Medica, Volume 82, No. 2, 2009, s. 76 – 82. ISSN 1211-3395*
6. BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., STRECHA, J., PODHORNÁ, B., KUDRMAN, J., HNILICA, F., BŘEZINA, V., VANĚK, J.: Titanové slitiny s příměsí železa: Analýza materiálových vlastností, biokompatibility a vhodnosti pro aplikaci v dentální implantologii. *Stomatolog 2/2009, ročník XIX., s. 19 – 24. ISSN 1335-0005.*
7. DOSTÁLOVÁ, T., HIMMLOVÁ, L., JELÍNEK, M., DVOŘÁK, V., BARTOVÁ, J.: Spojení titanových implantátů a biokeramiky na bázi hydroxyapatitu – hodnocení in vitro, *Čes. Stomat., 3, 89 – 96, 1995.*
8. DOSTÁLOVÁ, T., HIMMLOVÁ, L.: Osseointegration of loaded dental implant with KrF laser hydroxylapatite films on Ti6Al4V alloy by minipigs. *J. Biomed. Opt., Vol. 6, 239 (2001); DOI:10.1117/1.1357191.*
9. GEURTSSEN, W.: Biocompatibility of dental alloys. *Crit Rev Oral Biol Med 13(1): 71 – 84 (2002).*
10. HANAWA, T.: Titanium and its oxide film: a substrate for formation of apatite, in *The Bone-Biomaterial Interface*, ed. J. E. Davies, (University of Toronto Press, Toronto, 1991) pp: 49 – 61.
11. JOSKA, L.: Ti grade 2 and Ti15Ta alloy - comparison of corrosion behaviour in fluoride containing physiological solution. *Proceedings of the 1st International Conference Corrosion and Material Protection, Praha.*
12. JURKOVIC, R., HOLLY, D., SIEBERT, T., STRECHA, J.: Therapy for missing lower media incisor by means of reduced diameter implants. *J.Oral Implantol. 2010, Jul 21. PMID: 20662669.*
13. KOPECKÁ, D., ŠIMŮNEK, A.: Současné názory na povlakování hydroxyapatitem. (Souborný referát), *Čes. Stomat., 1, 29 – 35, 2000.*
14. PRACHÁR, P., VANĚK, J., BARTÁKOVÁ, S., BŘEZINA, V.: Růst buněk stabilizované buněčné linie HeLa ve výluhu chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Prakt. Zub. Lék., roč. 53, 2005, č. 1, s. 12 – 14. ISSN 1213-0613.*
15. PRACHÁR, P., VANĚK, J., CVRČEK, L., BARTÁKOVÁ, S.: Vlastnosti povrchové vrstvy chromkobaltové slitiny povlakované nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Prakt. Zub. Lék., roč. 53, 2005, č. 4, s. 65 – 67. ISSN 1213-0613.*
16. PRACHÁR, P., BARTÁKOVÁ, S., STRECHA, J., BŘEZINA, V., KUDRMAN, J.: Struktura povrchu implantátů ovlivňuje růst buněk. *Stomatolog 2/2009, ročník XIX., s.16 – 18. ISSN 1335-0005.*
17. SILVENNOINEN, R., HASOŇ, S., VETTERL, V., PENTTINEN, N., SILVENNOINEN, N., MYLLER, K., ČERNOCHOVÁ, P., BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P. AND CVRČEK, L.: Diffractive optics based sensor as a tool for detection of biocompatibility of titanium and titanium doped hydrocarbon samples. *Applied Optics, 9/2010.*
18. SILVENNOINEN, R., VETTERL, V., HASOŇ, S., TUONONEN, H., SILVENNOINEN, M., MILLER, K., CVRČEK, L., VANĚK, J., PRACHÁR, P.: Sensing of human plasma fibrinogen on polished, chemically etched and karbon treated titanium surfaces by diffractive optical element based sensor. *Optics Express, 16, 2008, č. 14/10130.*
19. STRECHA, J., JURKOVIC, R., SIEBERT, T., PRACHAR, P., BARTAKOVA, S.: Fixed bicortical screw and blade implants as a non-standard solution to an edentulous (toothless) mandibule. *Int.J.Oral Sci. 2010 Jun, 2(2), 105 – 110, PMID: 20737937.*
20. STRECHA, J., JURKOVIC, R., SIEBERT, T., PRACHAR, P., BARTAKOVA, S., FOJTIKOVA, E.: Individuální titanokeramická nadstavba. *Čes. Stomat. 5, 2009, 109, s. 92 – 97.*
21. VANĚK, J., PRACHÁR, P., BARTÁKOVÁ, S., BŘEZINA, V., FREYBURG, L.: Biologické testy chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Čes. Stomat., roč. 105, 2005, č. 6, s. 149 – 153. ISSN 1213-0613.*
22. YAMAMURO, T.: Patterns of osteogenesis in relation to various biomaterials, *J. Jpn Soc. Biomater. 7 (1989), 19 – 23.*
23. YOSHINARI, M., ODA, Y.: Titanium surface modification with dry process for dental implants. in: M. Niinomi, T. Okabe, E. M. Taleff, D. R. Lesuer, H. F. Lippard (Eds.), *Structural Biomaterials for the 21st Century, TMS, 2001, pp. 129 – 136.*

**MUDr. Patrik Prachár, Ph.D.,
Stomatologická klinika LF MU
a FN u sv. Anny v Brně**

Dolná snímateľná totálna zubná náhrada podopretá bikortikálnymi skrutkovými implantátmi

Lower detachable prosthesis supported with bicortical screw implants

Strecha, J., Bartáková, S., Prachár, P.

MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent Medima, s. r. o., Priehradka 20, 036 01 Martin

MUDr. Soňa Bartáková, PhD., Stomatologická klinika Masarykovej univerzity Brno, Pekařská 53, Brno

MUDr. Patrik Prachár, PhD., Stomatologická klinika Masarykovej univerzity Brno, Pekařská 53, Brno

Abstrakt

Cieľ: Je v záujme pacientov aj ošetrojúcich lekárov robiť definitívne, kvalitné a rýchle ošetrenia. Finančná náročnosť implantologického ošetrenia, ktorú zvyšujú aj nepriaznivé anatomické podmienky, často odsúva tieto indikácie do úzadia.

Metodika: Použitie štyroch bikortikálnych skrutkových implantátov v interforaminálnej oblasti mandibuly vyžaduje nenáročný chirurgický výkon. Tento typ implantátov možno okamžite zaťažovať, čo umožňuje okamžitú prácu na výrobe suprakonstrukcie vo forme strmeňa a totálnej náhrady so zásuvným spojom.

Výsledok: Použitie jednoduchej totálnej náhrady fixovanej horizontálnym zásuvným spojom k pevnej strmeňovej suprakonstrukcii nasadenej na implantáty predstavuje vhodné, finančne nenáročné a dobre hygienicky udržiavateľné riešenie hlavne pre starších pacientov.

Kľúčové slová: bikortikálny skrutkový implantát, strmeňová suprakonstrukcia, totálna náhrada, zásuvný spoj.

Abstract

Aim: The dentists as well as the patients are interested in definite, and quick treatment of the highest quality. Financially expensive implantological therapy and unfavourable anatomical conditions often overshadow such indication.

Methods: Use of four bicortical screw implants in the interforaminal region of the mandible requires a simple surgery. Implants of this type enable immediate loading and an early start with fabrication of the suprastructure and a total replacement with a precise attachment.

Result: A simple total replacement fixed with a horizontal precise attachment to a firm suprastructure placed on the implants represents a suitable, financially acceptable, and hygiene easily maintainable solution determined mainly for elder patients.

Key words: bicortical screw implant, suprastructure, total replacement, precise attachment.

Úvod

Funkciou dentálneho implantátu je nahradiť koreň jednotlivého zuba alebo skupín zubov. Po zavedení implantátu do alveolárnej kosti mandibuly alebo maxily nastáva etapa hojenia – osteointegrácie. Je rôzne dlhá a závisí od anatomických podmienok a typu implantátu. Vo všeobecnosti na základe

pozorovaní prebieha prvé dni po aplikácii v tesnom okolí implantátu fáza angiogenézy a tvorby pletivevej kosti a po dvoch až troch týždňoch remodelácia s osteoklastickou a následne osteoblastickou aktivitou [2]. Možno povedať, že proces aktívnej osteointegrácie začína približne 4 týždne po zavedení implantátu do kosti. Podmienkou je vhodný

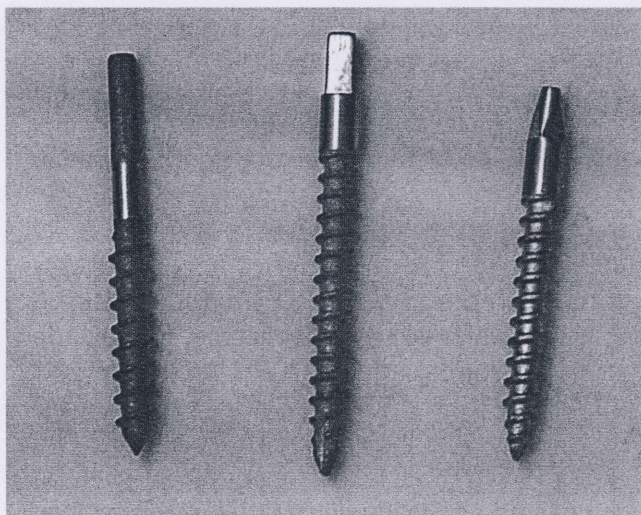
atraumatický operačný postup s ostrými preparačnými nástrojmi a dobrá primárna stabilita implantátu. Urýchlením osteointegrácie sa implantológovia v súčasnosti pomerne úspešne zaoberajú vývojom implantátov s bioaktívnym povrchom.

Dobrá primárna stabilita implantátu je najdôležitejšou podmienkou úspešnej osteointegrácie. Preto aj vývoj implantátov a operačných techník je plne podriadený tejto požiadavke.

Kvalita kosti mandibuly dáva vynikajúce predpoklady na úspešné použitie rôznych typov implantátov v rôznych indikáciách. Aj napriek častej a výraznej atrofii alveolárneho hrebeňa mandibuly je úspešnosť implantologickej liečby dobrá a s väčšími indikačnými možnosťami ako v maxile. Pomerne široká interforaminálna oblasť poskytuje implantológovi dostatok kvalitnej kostnej hmoty na aplikáciu enoseálnych implantátov. Najväčšou výhodou je možnosť využitia celej výšky kosti v interforaminálnej oblasti a hlavne pevnej kortikálnej vrstvy – jej vnútornej časti dolnej hrany tela mandibuly. Táto anatomická danosť zaisťuje implantátom vynikajúcu primárnu stabilitu, čo výrazne podporuje nerušenú osteointegráciu. V spojitosti so skrutkovými samoreznými bikortikálnymi implantátmi umožňuje využiť včasné až okamžité zaťaženie. Táto oblasť sa s úspechmi využíva na vyhotovovanie fixných, podmienené snímateľných aj podopretých snímateľných náhrad. Podopreté snímateľné náhrady, ktoré sú témou nášho článku, sú úspešne a s dobrou prognózou využívané hlavne u starších pacientov.

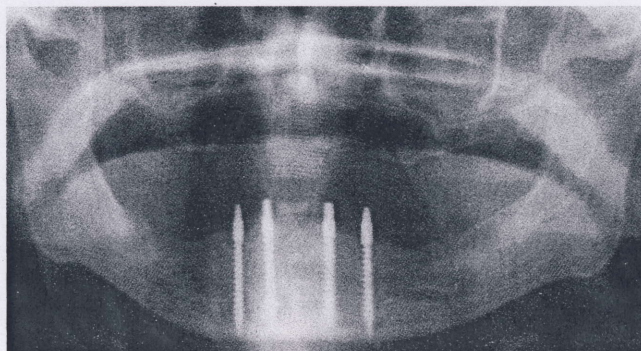
Materiál a metodika

Bikortikálny skrutkový implantát je jednofázová samorezná skrutka využívajúca na fixáciu obe kortikálne vrstvy tela mandibuly v interforaminálnej oblasti (obr. 1). Horná kortikálna vrstva v danej oblasti je veľmi sporná, hlavne po predchádzajúcej deštrukcii paradontitickými procesmi a po egalizácii vrcholu alveolárneho hrebeňa v rámci zavádzania implantátov. Bikortikálny implantát však využíva hlavne vnútornú kortikálnu vrstvu hrany mandibuly, do ktorej sa pevne fixuje (obr. 2). Skrutková časť prebieha v celej výške kosti mandibuly. Leštená, krčková časť prechádza gingiválnou vrstvou a do ústnej dutiny vyčnieva pilier implantátu. Modifikácie pilierovej časti môžu mať rôzny tvar pre lepenú alebo skrutkovanú suprakonstruktúru. Minimálny počet zavedených bikortikálnych implantátov v interforaminálnej oblasti závisí od výšky a kvality kosti. Podľa našich skúseností sú to 4 implantáty. Dôležitou podmienkou je čo najviac paralelné zavedenie bikortikálnych implantátov, čo však v tejto oblasti nie je technickým problémom.



Obr. 1. Bikortikálne implantáty Martikan (Slovenská republika) a VNI (Česká republika)

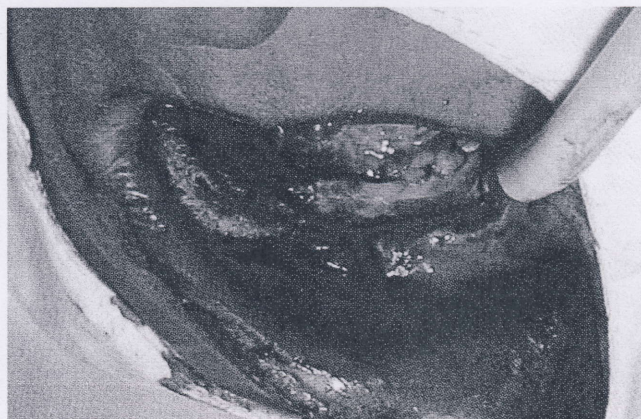
Fig. 1. Bicortical Martikan (Slovak Republic) and VNI (Czech Republic) implants (photo: Eurodent medima)



Obr. 2. Opg snímka so zavedenými bikortikálnymi implantátmi

Fig. 2. OPG image of inserted bicortical implants (photo: Eurodent medima)

Operačný výkon začíname hrebeňovým rezom v rozsahu od 5 po 5. Podľa anatomických podmienok na sprehľadnenie operačného poľa môžeme použiť aj pomocné, vertikálne rezy kolmo do vestibula v distálnych častiach a v strednej čiare (obr. 3).



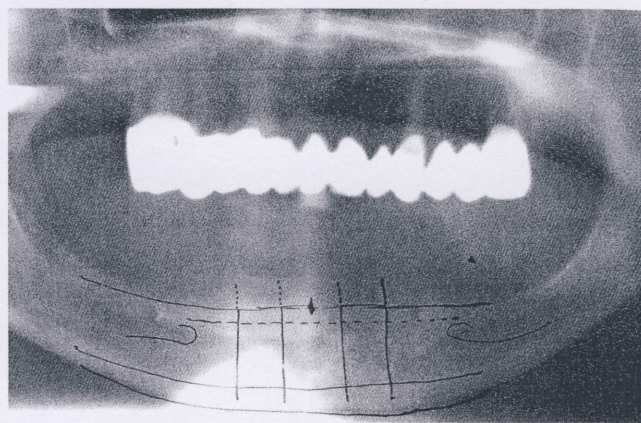
Obr. 3. Odklopený mukoperiostálny lalok

Fig. 3. Uncovered mucoperiosteal lobe (photo: Eurodent medima)

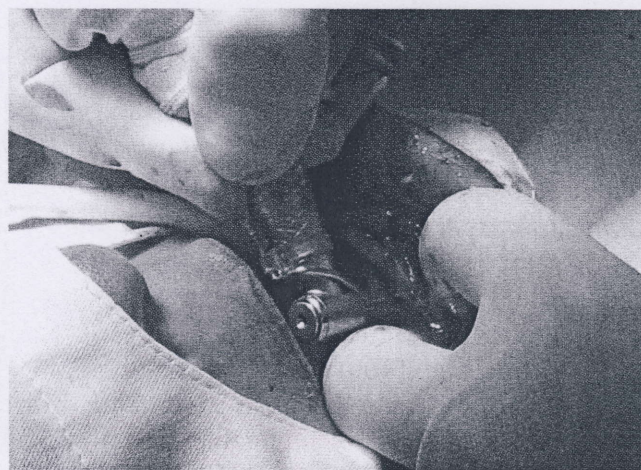
Postupne odklápame mukoperiost vestibulárne a lingválne v rozsahu, aký je potrebný pre dobrý prehľad operačného poľa hlavne pri potrebe úpravy vrcholu alveolárneho hrebeňa egalizáciou. Vrchol alveolárneho hrebeňa egalizujeme guľovou alebo hruškovitou frézou v rozsahu potrebnom na vyrovnanie hrebeňa a vytvorenie dostatočnej šírky na umiestnenie implantátov (obr. 4). Kostné defekty po prípadných predchádzajúcich parodontitických deštrukciách dokonale exkochleujeme. Na základe už predchádzajúcej analýzy OPG určíme miesta aplikácie implantátov. Vzhľadom na to, že supraštruktúra na implantátoch je strmeňová, nie je až taká dôležitá presná lokalizácia implantátov. Snažíme sa ich umiestniť približne do oblasti bývalých zubov 44-43-33-34 alebo 43-42-32-33 (obr. 5). Dôraz kladieme na navigáciu implantátu v antero-posteriórnom smere. Apikálna časť implantátu musí byť zavedená do oblasti vnútornej steny dolnej hrany tela mandibuly. Pretože spodná hrana tela mandibuly viac prominuje anteriórne ako vrchol alveolárneho hrebeňa, sú bikortikálne implantáty často sklonené lingválnym smerom. Jednoduchou praktickou pomôckou pri vŕtaní alveolu pre implantát je fixovanie dolnej hrany mandibuly v mentálnej oblasti palcom operátora a nasmerovanie pilotného vrtáka proti palcu (obr. 6). Zároveň sledujeme vzájomnú paralelitu implantátov. Bikortikálne implantáty potom aplikujeme pomocou zavádzacej račne (obr. 7). Pohyb implantátu v kosti musí byť pomalý. Samorezný závit a pomerne dlhá dráha v kosti môžu pri neopatrnom, rýchlom zavádzaní vytvárať trením pomerne vysoké teploty. Pri spoľahlivej analýze OPG snímky je po zavedení koronárna závitová časť implantátu mierne zanorená pod úroveň kresťálnej kosti a apikálna časť sa opiera do vnútornej časti kortikalis dolnej hrany mandibuly, alebo je do nej zanorená. Takto zavedené bikortikálne implantáty sú schopné okamžitého zaťaženia.



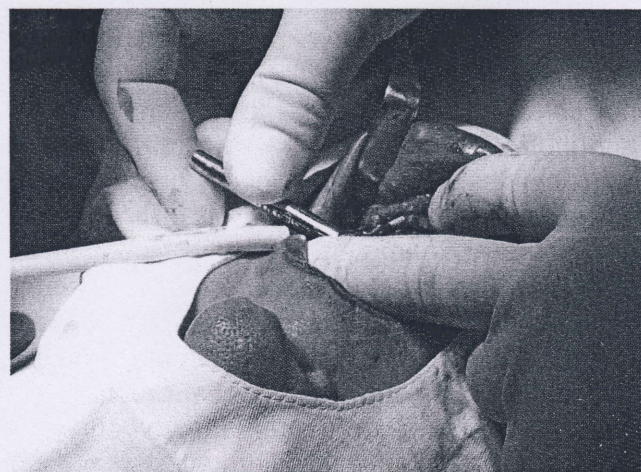
Obr. 4. Egalizácia vrcholu alveolárneho hrebeňa
Fig. 4. Egalization of the alveolar ridge (photo: Eurodent medima)



Obr. 5. Analýza OPG snímky
Fig. 5. Analysis of OPG image (photo: Eurodent medima)



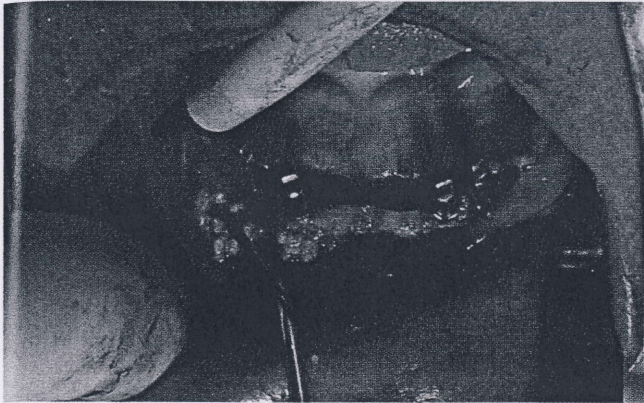
Obr. 6. Vŕtanie alveolu na zavedenie bikortikálnej skrutky
Fig. 6. Alveolar hole drilling for bicortical screw insertion (photo: Eurodent medima)



Obr. 7. Zavádzanie bikortikálnej skrutky pomocou račne
Fig. 7. Insertion of bicortical screw by means of special forceps (photo: Eurodent medima)

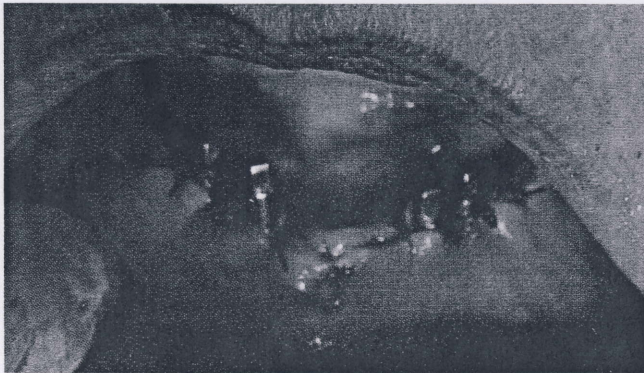
Po aplikácii implantátov augmentujeme prípadné vertikálne kostné defekty kolagénhydroxyapatitom (Biovan K) (obr. 8). Sutúru mukoperiostu robíme

atraumatickým materiálom (Vicryl 4/0) jednotlivými stehmi (obr. 9).



Obr. 8. Augmentácia vestibulárnej strany alveolárneho hrebeňa zmesou kolagénhydroxyapatitu a plazmy bohatej na trombocyty

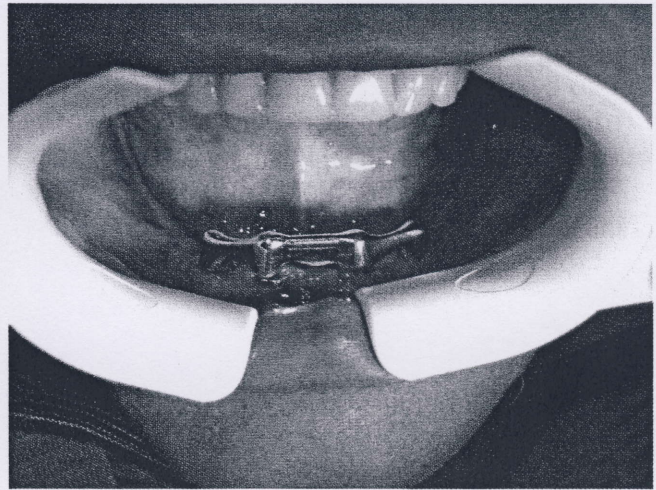
Fig. 8. Alveolar ridge augmentation from vestibular side with collagen-hydroxyapatite mixture and thrombocyte rich plasma (photo: Eurodent medima)



Obr. 9. Sutúra mukoperiostu Vicrylom 4/0

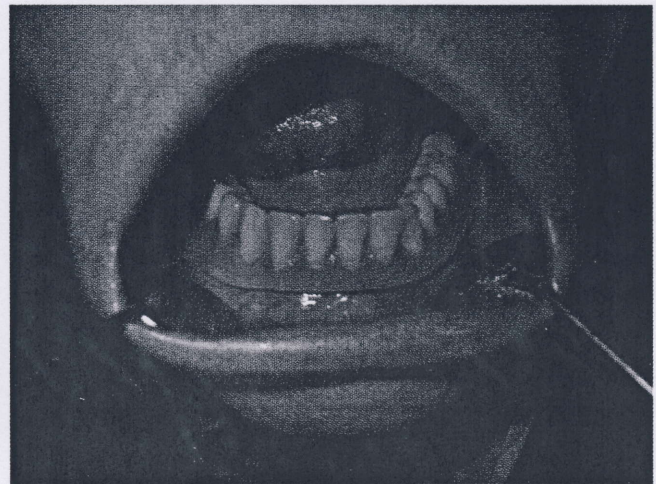
Fig. 9. Vicryl 4/0 mucoperiost suture (photo: Eurodent medima)

Odtlačky na výrobu strmeňovej suprakonstrukcie robíme podľa stavu mäkkých tkanív buď ihneď po operácii, alebo až po ústupe edému a zhojení mäkkých tkanív (10 – 14 dní). Pooperačný priebeh kryjeme antibiotikami (amoxicillin-klavulán, klindamycin, doxycyklin). Po vyhotovení a odskúšaní strmeňa tento nasadíme na piliere implantátov (obr. 10). Vyhotovíme odtlačky alveolárneho hrebeňa mandibuly, ktoré odosielame spolu so strmeňom do zubnej techniky. Dolná totálna náhrada je fixovaná k strmeňu jedným horizontálnym zásuvným spojom umiestneným v strednej čiare (obr. 11). Tento spoj zabezpečuje fixáciu náhrady k pevnému strmeňu (fixovaný skloionomérnymi cementmi), ale zároveň neznemožňuje využívať prirodzenú rezilienciu sliznice laterálnych úsekov mandibuly. Týmto spôsobom zabezpečíme dostatočnú distalizáciu náhrady a minimalizujeme jej preťažovanie s následným zlomením.



Obr. 10. Nasadená strmeňová konštrukcia na implantáty

Fig. 10. Suprastructure placed on the implants (photo: Eurodent medima)



Obr. 11. Dolná totálna náhrada s horizontálnym zásuvným spojom

Fig. 11. Lower total prosthesis with horizontal precise attachment (photo: Eurodent medima)

Diskusia

Opísaná metodika nie je štandardným riešením atrofickej bezzubej mandibuly. Riešenie Bránemarkovým mostíkom, ktoré bolo doteraz modifikované vývojom povrchov implantátov, je stále považované za zlatý štandard v implantológii [1]. Je dôsledne prepracované a podložené dlhodobými vedeckými štúdiami. Vzhľadom na tieto fakty je aj odôvodnene finančne nákladné pre pacienta. Nami predložená metodika ponúka pre pacienta finančne menej náročnú, ale neštandardnú alternatívu riešenia, ktorú pacienti uprednostňujú pred vyhotovením málo funkčných totálnych náhrad.

Skrutkové implantáty sú najviac namáhané v krčkovej oblasti implantátu, v mieste, kde vstupuje implantát do kresťálnej kosti [7, 8, 13, 15, 16]. Tento fakt vedie implantológov, ako aj nás, v prípade

anatomických možností kotviť implantáty bikortikálne, čo je základnou myšlienkou tohto implantačného systému [4, 5, 6, 14, 25, 26, 27].

Je rozdiel, ktorú druhú kortikálnu vrstvu, okrem kortikalis krestálnej kosti použijeme na stabilizáciu bikortikálne ukotveného implantátu. Jeong a kol. skúšali model s ukotvením do linguálnej kortikálnej vrstvy kosti, ale ich hodnotenia nepotvrdili výhodu tejto modalítity [9]. Naše implantáty kotvíme do vnútornej časti dolného kortikálneho okraja frontálneho tela sánky, ktorá poskytuje neporovnateľne lepšie vlastnosti ako linguálna kortikalis.

Tento koncept považujeme za stabilný a vhodný terapeutický model v špecifikovanej skupine pacientov. U týchto bola kombinácia nie najvhodnejšej anatómie alveolárneho výbežku a neschopnosť zaplatiť štandardné fixné ošetrenie, či už Bränemarkovým mostíkom, alebo plným kruhovým mostíkom.

Iní autori používajú na extrémne atrofovanú sánku aj transmandibulárne implantáty, ktoré z podstaty veci majú plnú primárnu stabilitu. Tento spôsob ošetrenia je nepomerne traumatickejší na rozdiel od bikortikálnych skrutiiek [12, 24].

Nami opisovaná metodika ošetrenia sa používa vo veľkej miere u starších pacientov, ktorí sú často aj kardiologickými pacientmi.

Pri akomkoľvek chirurgickom výkone v ústnej dutine nesmieme podceňiť dôkladné odobratie anamnézy, predovšetkým na odhalenie rizikových pacientov. Pacienti na antitrombotickej terapii vyžadujú individuálny prístup. Je preto potrebné na základe anamnézy, pomocných vyšetrení, laboratórnych testov a prípadných konzultácií so špecialistami zhodnotiť celkový stav [17]. Pri stomatologickom ošetrení u pacientov na antikoagulačnej terapii musíme zohľadniť aj možné liekové a neliekové interakcie warfarínu [18].

Ponechanie antiagregancií (acidum acetylsalicylicum – Anopyrin a iné) nepredstavuje podľa súčasných poznatkov riziko vykonania stomatochirurgického výkonu. Rana, resp. ošetrenie krvácania je za bežných okolností dobre zvládnutelné a stačí ho ošetriť prostriedkami lokálnej hemostázy [3, 19].

Jednými z hlavných etiopatogenetických príčin periimplantitíd sú rovnako ako pri paradontitíde špecifické patogény, ktoré závažným spôsobom ovplyvňujú tak lokálny nález, deštrukciu paradontu, resp. kosti v okolí implantátu, ako aj celkový makroorganizmus.

Pri zachovaní zásady cieleného použitia antibiotík pri komplexnej liečbe je mimoriadne dôležité identifikovať maximálny možný známy počet patogénov a hodnotiť ich v ich kombinácii. Toto nám umožňujú v súčasnosti komerčné testy, tzv. DNA sond, ktoré

dokážu pomocou genetického vyšetrenia veľmi prediktabilne identifikovať a určiť najvhodnejšie antibiotikum, resp. kombináciu antibiotík. Len takto možno maximalizovať pozitívnu odpoveď terapie [20, 22].

Mikroorganizmy spolupôsobia s organizmom, a je známe, že každý reaguje na základe svojich geneticky podmienených imunologických odpovedí rôznym spôsobom intenzity zápalu. Pri periimplantitíde, tak ako aj pri paradontitíde nám môže pomôcť hodnotenie IL-1 genpolymorfizmu, ktorého pozitivita je asociovaná s možným intenzívnejším priebehom zápalu, ako aj následnej deštrukcie podporných štruktúr. Jeho vyšetrenie má pomocný význam pri stanovovaní intervalu recall systému u postihnutých pacientov [21, 23].

Používanie augmentačných materiálov v implantológii nie je „všeriešiaci“ odpoveď na nedostatok vlastnej kosti pacienta. Avšak v dobre použitej indikácii dokáže zásadným spôsobom pozitívne ovplyvniť dlhodobé výsledky ošetrenia dentálnymi implantátmi [10, 11].

V našej práci sa nám dlhodobo veľmi osvedčuje materiál na báze hydroxyapatitu spojený do kompozitnej hmoty spolu s purínnym kolagénom (Biovan K). Samozrejme, v tejto indikácii sa dajú a aj používajú rôzne augmentačné materiály, z ktorých každý má svoje výhody i nevýhody a treba ich v jednotlivých indikáciách používať veľmi uvážlivo.

Záver

Od roku 1999 sme v interforaminálnej oblasti použili 365 bikortikálnych implantátov, z toho 304 pre podopreté náhrady. Vyhotovili sme 76 podopretých snímateľných náhrad. Používame implantačné systémy Martikan (Slovenská republika) a VNI (Česká republika) a ich jednofázové bikortikálne implantáty. Dĺžku závitovej časti implantátu nám pripravuje výrobca na mieru na základe analýzy a merania panoramatickej snímky. Indikačná skupina podopretých náhrad vyžaduje aplikáciu 4 bikortikálnych implantátov plošne spojených strmeňom. V ojedinelých prípadoch, keď máme k dispozícii výšku kosti nad 20 mm, možno použiť tri implantáty. Lineárne spojenie dvoch implantátov (v literatúre často nazývaných ako „sociálne riešenie“), aj keď dostatočne stabilných, považujeme z prognostického hľadiska za problematické.

Literatúra

1. BRÄNEMARK, P., B., ZARB, G., A, ALBREKTSSN, T.: Tissue - Integrated Protheses: Osseointegration in Clinical Dentistry. Special Edition for Nobelpharma Chicago, Illinois: Quintessence Publishing, 1987, 350 str., ISBN 0-86715-129-3.

2. BILDER, J.: Oseointegrace. In: Šimůnek a kol.: Dentální implantologie. Nucleus, Hradec Králové, 1. vyd., 200, s. 42 – 44.
3. ERDELSKÝ, I., JURKOVIČ, R., SIEBERT, T.: Malé repetitórium zubného lekára. 1. vyd., Bratislava: Vydavateľstvo zdravotníckej literatúry HERBA, 2008, 192 s., ISBN 978-80-89171-53-8.
4. GARBACCIO, D.: The Garbaccio bicortical self-threading screw. Riv Odontostomatol Implantoprotesi. 1983 Jan-Feb; (1): 53 – 56.
5. GARBACCIO, D.: La vite autofilettante bi-corticale: principio biomeccanico, tecnica chirurgica e risultati. Dental Cadmos - n. 6/1981.
6. GARBACCIO, D.: Vite autofiletante biocorticale. Rivista Europea di Implantologia. 1984, 2, 99. 29 – 34.
7. GRAFELMANN, H., L., PASQUALINI, U., GARBACCIO, D.: Das selbstschneidende bicortical abgestutzte Schraubimplantat Biomechanisches Prinzip, chirurgische Technik und Klinische Resultate. Sonderdruck Orale Implantologie Deutschen Gesellschaft für Zahnärztliche Implantologie, Orale Implantologie 9/1981.
8. JAHN, M.: Histopathology of an Osseointegrated Bicortical Screw Implant. ZMK 1995; 1: 2 – 3.
9. JEONG, C., M., CAPUTO, A., A., WYLIE, R., S., SON, S., C., JEON, Y., C.: Bicortically stabilized implant load transfer. Int J Oral Maxillofac Implants. 2003 Jan-Feb; 18 (1): 59 – 65.
10. JURKOVIČ, R.: Augmentačné materiály používané v zubnom lekárstve – súčasný stav. Česká stomatológia, roč. 105, 2005, č. 5, s. 135 – 138.
11. JURKOVIČ, R., STANKO, P.: Zachovanie alveolárneho hrebeňa po predimplantačnej extrakcii zuba. Čes. Stomat., roč. 106, 2006, č. 5, s. 149 – 153.
12. LINKOW, L., I., MANGINI, F.: Color Atlas of Implant Techniques and Implant Prostheses (Implant Dentistry Today). Piccin Nuova Libreria (September 1998) ISBN-10: 8829914355, ISBN-13: 978-8829914357.
13. PASQUALINI, U., PASQUALINI, M., E.: The Garbaccio bicortical screws. In: Treatise of implant dentistry. The Italian Tribute to modern implantology. Azienda Pubblica di Servizi alla Persona "Suor Agnese" Castello Tesino (Trento) – Italy, 2009, ISBN 9788890382116, p. 158 – 165.
14. PAYNE, A., G., TAWSE-SMITH, A., KUMARA, R., THOMSON, W., M.: One-year prospective evaluation of the early loading of unsplinted conical Brånemark fixtures with mandibular overdentures immediately following surgery. Clin Implant Dent Relat Res. 2001; 3 (1): 9 – 19.
15. PIERRISNARD, L., RENOARD, F., RENAULT, P., BARQUINS, M.: Influence of implant length and bicortical anchorage on implant stress distribution. Clin Implant Dent Relat Res. 2003; 5 (4): 254 – 262.
16. SARNACHIARO, O., BONAL, O., GRATO BUR, E., VAAMONDE, A.: Histologische Untersuchung des selbstschneidende Garbaccio Titan Schraubeimplantats (Bicortical Schraube) im Tiversuch - Orale Implantologie 12/1986.
17. SIEBERT, T., STANKO, P., JURKOVIČ, R.: Problematika antitrombotickej terapie u stomatologického pacienta (praktická časť), Stomatológ 2/2007, s. 12 – 14.
18. SIEBERT, T., STANKO, P., JURKOVIČ, R.: Stomatologický pacient a antikoagulačná liečba. Stomatológ 3/2007, s. 18 – 21.
19. SIEBERT, T., STANKO, P., JURKOVIČ, R.: Antiagregačná liečba a stomatologický pacient. Stomatológ 3/2007, s. 25 – 26.
20. SIEBERT, T., JURKOVIČ, R.: Neobvyklý výsledok špecifickej detekcie parodontálnych patogénov v terapii pacienta s generalizovanou chronickou parodontitídou. Quintessenz - Parodontologie, roč. 9, 2008, č. 1, s. 45 – 49.
21. SIEBERT, T., JURKOVIČ, R.: Význam periodontal susceptibility test v terapii pacienta s generalizovanou chronickou parodontitídou. Quintessenz – Parodontologie, roč. 9, 2009, č. II, str. 39 – 43.
22. SIEBERT, T., JURKOVIČ, R.: Význam špecifickej detekcie parodontálnych patogénov v terapii pacienta s generalizovanou chronickou parodontitídou. Stomatológ, roč. XIX, 2009, č. 2, str. 3 – 8.
23. SIEBERT, T., JURKOVIČ, R.: Recall systém v terapii pacienta s generalizovanou chronickou parodontitídou. Stomatológ, roč. XIX, 2009, č. 3, str. 10 – 13.
24. STELLINGSMA, K., RAGHOEBAR, G., M., MEIJER, H., J., STEGENGA, B.: The extremely resorbed mandible: a comparative prospective study of 2-year results with 3 treatment strategies. Int J Oral Maxillofac Implants. 2004 Jul-Aug; 19 (4): 563 – 577.
25. TAWSE-SMITH, A., PERIO, C., PAYNE, A., G., KUMARA, R., THOMSON, W., M.: One-stage operative procedure using two different implant systems: a prospective study on implant overdentures in the edentulous mandible. Clin Implant Dent Relat Res. 2001; 3 (4): 185 – 193.
26. TRAMONTE, S.: Implantologie Endo-osseuse, Information dentaire, 1966, p.798 – 801.
27. TRAMONTE, S.: La vite autofiletante, The self tapping screw, la vis autofiletée. Milano, Editore Tramonte, p. 55.

**MUDr. Juraj Strecha, PhD.,
Eurodent Medima, s. r. o.,
Priehradka 20,
036 01 Martin**

BIOMECHANICAL STUDY OF DISK IMPLANTS Part I

Libor Borák*, Petr Marcián*, Zdeněk Florian*, Sonia Bartáková**

The presented work is focused on the biomechanical study of the dental disk implant. The first part of the study deals with the strain analysis of the affected bone tissue and the dental implant loaded in the coronal direction by force 190 N. The study includes three types of implant anchorage, four degrees (stages) of osseointegration and nine degrees describing the quality of the cancellous bone. Two types of the disk implant were researched: single-disk and double-disk implant. Biomechanical study of the implant was focused on a stress-strain analysis of the affected bone tissue. The biggest influence on the stresses in the bone tissue was primarily an implant anchorage. By the application of correlation relationships between Young modulus and the apparent density of the bone tissue – which is measurable in patients – we achieved the variable presented in this study.

Keywords: dental implant, osseointegration, FEM, bone, density

1. Introduction

No one today can do without dental care. Not only for young children but for most adults as well, the white coat represents an increased level of adrenaline and stress. This affects the atmosphere in the waiting rooms of dental offices. By simple analysis of the described phenomenon we can find out that at least two factors play important roles: Fear of a painful medical treatment and consequences of the disease itself. The second factor can (depending on seriousness of the disease) significantly prevail over the first one. Though the teeth diseases are not fatal, the fear of losing a tooth or a part of teeth is great with both young and elderly people and the growing probability that this situation can occur is also stressful. This is mainly caused by the fact that there are not many possibilities of how to replace a lost tooth, a part of the dentition or the whole dentition. The best, most comfortable, most considerate to one's own dentition but also the most expensive solution is to use a dental implant.

Dental implantology is a very broad field; one of the significant factors affecting this field is the age of patients. Currently, the dental implantation is carried out for patients ranging in age from infancy through adults to seniors. At every age, the dental implantation has, despite the fundamental objectives, i.e. the replacement of lost tooth, varying importance and its own specific problems. Age is a significant parameter in terms of reasons for and the frequency of tooth loss and the frequency of dental implantations. The age of man, on the one hand, increases a likelihood of tooth loss; on the other hand it leads to a deterioration of

* Ing. L. Borák, Ing. P. Marcián, Ing. Z. Florian, CSc., Institute of Solid Mechanics, Mechatronics and Biomechanics, FME VUT Brno, Technická 2, 616 69, Brno, Czech Republic

** MUDr. S. Bartáková, Ph.D., Stomatological Clinic, Faculty of Medicine, Masaryk University, Komenického náměstí 2, 662 43, Brno, Czech Republic

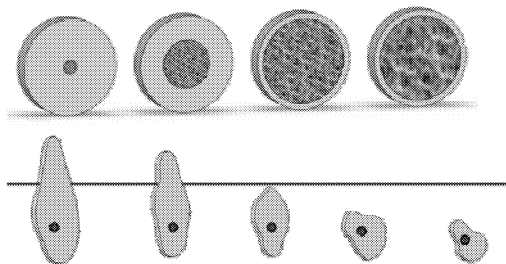


Fig.1: Assessment of the bone tissue quality (Misch) [1] and mandibular alveolar ridge resorption (Lekholm a Zarb) [1]

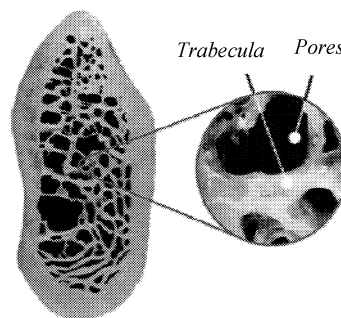


Fig. 2 Mandible – cross section

the quality of the bone tissue and thereby worsen conditions for the successful implantation. Especially in the case of elderly people who often suffer from the loss of part or the whole dentition, alveolar ridge resorption can be encountered (Fig. 1) and also the pathological decrease of the bone tissue [1], where mild form is known as osteopenia and the severe form as osteoporosis [2] (Fig. 2). As far as successful implantation in these cases is concerned, proper attention to the implant selection should be paid. Some doctors recommend the so-called disk implants which are specially developed for such cases. The principle of the disk implants is that a mechanical interaction occurs between the implant and both the cancellous and cortical bone tissue (Fig. 3).

2. Material and methods

The presented work describes a biomechanical study of the mechanical interaction between the implant and the bone tissue in terms of the quality of bone tissue, the osseointegration level, and the character of the implant anchorage. The quality of the bone tissue will taken into account and described in detail in the section dealing with the creation of material model. Basic types, in terms of implementation, are the single-disk and multiple-disk implants. This study includes two implants: single-disk and double-disk (Fig. 5).

Two states are considered in terms of the connection between the implant and the bone. The first state describes the situation in which the connection has not occurred yet and the mechanical interaction has therefore not arisen. The second state describes the situation of the complete implant-bone osseointegration*. The state with a transitional connective-tissue is inadmissible from the medical point of view; therefore it is not taken into account in the study. In this work, the osseointegrational progression in all parts of the implant was modeled gradually in four degrees (see Fig. 3). The parts of the implant, where the osseointegration was not present, are denoted in grey color as opposed to the parts, where the osseointegration occurred and which are denoted in black.

The study also includes three biomechanically possible variants of the anchorage labeled A, B and C (see Fig. 4).

*The basic study of the interaction between implants and the bone tissue made by Branemark in 1952 by using a microscope with rabbits [3]. The most important finding of this study was that the successful implantation occurs where a rigid connection of the bone tissue and the implant arises with no transitional (connective) tissue. Although there are currently other views on this issue, most dental implantologists and workplaces, where the dental implantology is performed, agree with the conclusions of Branemark's study.

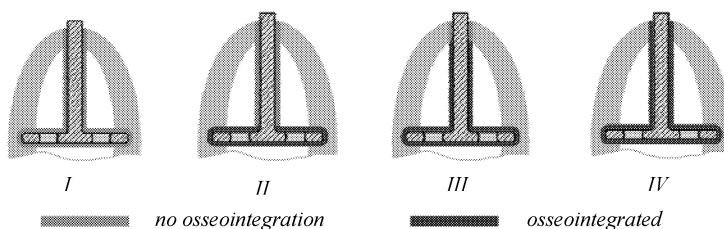


Fig.3: Osseointegration degrees

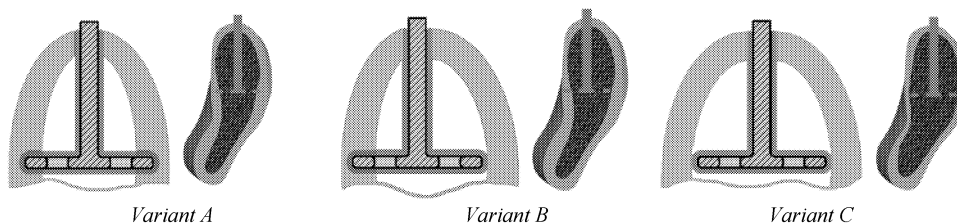


Fig.4: Variants of implant's anchorage

Variant A represents a mechanical interaction between the implant disk and both the inner and outer cortical bone. In the case of variant B, the interaction is only with the outer cortical bone while in the case of variant C the implant disk is smaller than the space between the outer and inner cortical bone. This last variant represents interaction with the cancellous bone only.

3. Solution method

Based on the analysis of shape, material properties of the system components and the character of the system constraints, the finite element method (i.e. numerical calculation method) has been chosen as the effective method for the solution of quantities describing the mechanical interaction between the implant and the bone tissue. For the solution of the given problem by means of FEM, it is necessary to create a computational model which consists of four relatively independent parts: model of geometry, materials, loads, and constraints.

4. Model of geometry and constraints

The problem solved in this work is the mechanical interaction between the disk implant and mandibular bone tissue. The implants affect strain and stress fields only in their close vicinity. The geometry model of the bone is created as a 20 mm-long section of the mandible and, to be more precise, this section represents the first molar region. Mandibular geometry was obtained from the real mandible with the optical scanner ATOS Standard. The cortical bone thickness was modeled on the basis of CT images [4]. Dimensions and shape of the implant are based on the catalogues of companies Ihde [5], AirPerio [6] and Victory [7] – see Fig. 5.

5. Material models

The parts forming the real system are from different materials; the material of the implants is the titanium alloy Ti6Al4V. In terms of the level of the solved problem, the appro-

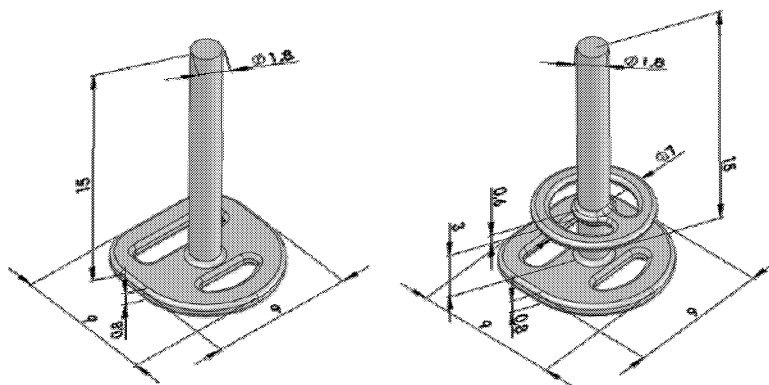


Fig.5: Geometry model of disk implants

appropriate and validated model of mechanical properties is a homogenous, isotropic and linearly elastic model, which is explicitly described by two material characteristics: Young's modulus (E) and Poisson's ratio (μ). The bone – i.e. the part of the mandible – is composed of the cortical and cancellous tissue; a description of mechanical properties of the cortical and mainly the cancellous bone tissue is much more complex. The influence of the level of the cortical and particularly the cancellous bone model on the strain and stress in biomechanical systems is still a very difficult problem. The cortical as well as the cancellous bone tissue are therefore modeled by the homogenous, isotropic, and linearly elastic model. This fact is fully respected in the analysis of results. Material characteristics used for the described material models, applied in computational solution, are listed in the following table.

The deterioration of bone tissue quality (see Fig. 1a) is reflected in the value of the Young's modulus of the cancellous bone. Calculations were carried out within the value of the Young's modulus in the range of 20–100 MPa with the increment of 10 MPa.

Material	E [MPa]	μ [-]
Cancellous bone	20–100	0.3
Cortical bone [8]	13 700	0.3
Titanium alloy [8]	116 000	0.34

Tab.1: Mechanical properties

6. Model of loads and constraints

During mastication, the tooth is loaded in a general direction. After a decomposition of the general loading to the coronal, buccolingual and mesiodistal directions, the largest component is in the coronal direction. Considering the scope of the study, only the greatest component, i.e. in the coronal direction, was taken into account. Its value of 190 N was taken from literature [9], [10] and it was applied as a statically equivalent pressure on the upper surface of the implant body.

The model of the bone is constrained in its cross section on the distal side (closer to the temporomandibular joint) by restricting of all displacements of all its points. The implant is bounded with the bone according to the degree of osseointegration (see Fig. 6). In case of complete osseointegration, the constraint between the implant and the bone is rigid. If no osseointegration occurred, the connection between the implant and the bone is realized by the contact-type constraint. The variants of the degrees of osseointegration are shown in Fig. 3.

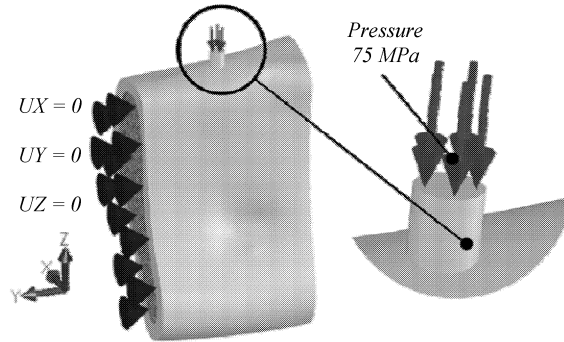


Fig.6: Boundary conditions

7. Computational – finite element model

To create a computational model for a computational solution by means of the finite element method it is necessary to carry out a discretisation with respect to a computing system, whereby the solution is implemented. In our case, it is the system Ansys 11. The discretisation was carried out by using elements SOLID187 and SOLID186 and for implementing the contact-type constraint CONTA174 and TARGE170. Maximal attention was paid to the discretisation (see Fig. 7). The number of elements and nodes was different in the individual variants. In case of elements the number ranged between 100 and 260 thousand, in case of nodes the number ranged between 400 and 600 thousand. Contact surfaces were bounded with 10 to 30 thousand contact element pairs.

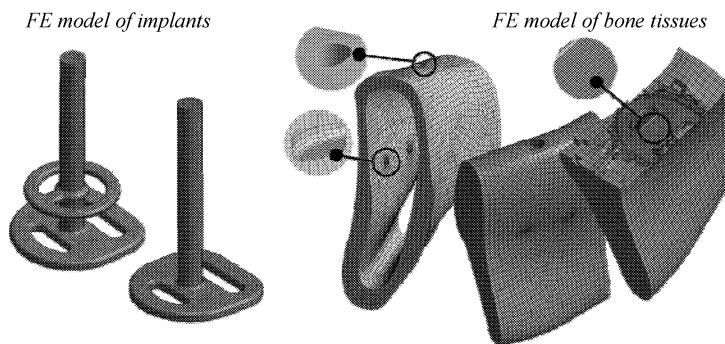


Fig.7: Discretisation

8. Solution

To assess the mechanical interaction of the implant with the bone, 24 computational models were created. These computational models were created for two different types of the implants; for both types three variants of the anchorage and four degrees of the osseointegration were modeled.

Nine calculations taking into account the bone quality by changing of the Young's modulus in the range 20–100 MPa were realized for each computational model.

The solution was implemented on PC with Intel Core 2 Duo 2 GHz processor with 2 GB of RAM memory and 300 GB hard drive.

Since the contact problem is solved and the materials with very different material characteristics (in particular the Young's modulus) are used, it is necessary to choose an appropriate solver. Therefore, the iterative PCG solver and full Newton-Raphson method were used. The accuracy of the PCG solver was set to 1.0×10^{-5} . Due to the character of the problem and the computational model, the solver was set to the large deflection mode. Other parameters were left at the default setting. The duration of the solution varied depending on the extent of nonlinearities from 30 minutes to 14 hours.

9. Presentation and analysis of results

Disk implants are designed especially for mandibles with low quality of the bone tissue which occurs mainly in elderly people. Besides age, other factors can also affect the quality of the bone tissue.

Unlike an implant, which is the technical work created by a man, and whose mechanical properties can be affected by e.g. design, material and appropriate application, we have substantially fewer means to improve the mechanical properties of the bone tissue. When considering availability as well as effects on the organism and cost, it can be stated that there are hardly any. Therefore, the analysis of mechanical quantities describing the state of the bone tissues of the loaded segment is important. In respect to the scope of the study (216 calculations) the results analysis of the first part of the study is devoted only to the bone tissue. Analyzed quantities are the coronapical displacement of the implant u_z and the strain intensity in the cancellous bone:

- 1) The implant displacement u_z because it is a measurable quantity. Since this is a very difficult experiment, the number of references in the literature is very limited. [11] describes the measurement of the tooth displacement u_z . The tooth movements ranged due to the soft periodontium from 0.05 to 0.1 mm. The results of a similar study for the mandible with an applied screw implant (diameter 4.1 mm, length 11 mm) are presented in [12]. In this case the value u_z ranged from 0.005 to 0.06 mm.
- 2) The strain intensity* in the cancellous bone because there are references in the literature which (based on the strain intensity in bone tissue) define the state of the physiological remodeling, the mild overload state and the pathologic overload state [13], [14], [15].

Firstly, the implant displacement u_z depending on the Young's modulus of the cancellous bone and the degree of the osseointegration will be analyzed. Displacements, depending on the mentioned quantities, are depicted in the following graph in Fig. 8.

The graph shows that the displacement depends significantly on the degree of the osseointegration. For all degrees except the complete osseointegration, with decreasing Young's modulus of the cancellous bone the displacement u_z progressively increases. In case of the complete osseointegration, the displacement u_z is almost independent of the bone quality. The influence of the second disk on the displacement u_z depends significantly on the degree of the osseointegration as well. In case of the complete osseointegration as well as no osseointegration of the upper part of the implant post with the cortical bone, the displacement u_z is almost the same for both the single-disk and the double-disk implant. For other degrees of the osseointegration, with the decreasing osseointegrated area the progressive in-

*The quantity labeled in Ansys as 'strain intensity' is in this computational system defined by formula $\varepsilon_{\text{int}} = \varepsilon_1 - \varepsilon_3$, where ε_1 and ε_3 are the 1st and 3rd principal strains [16].

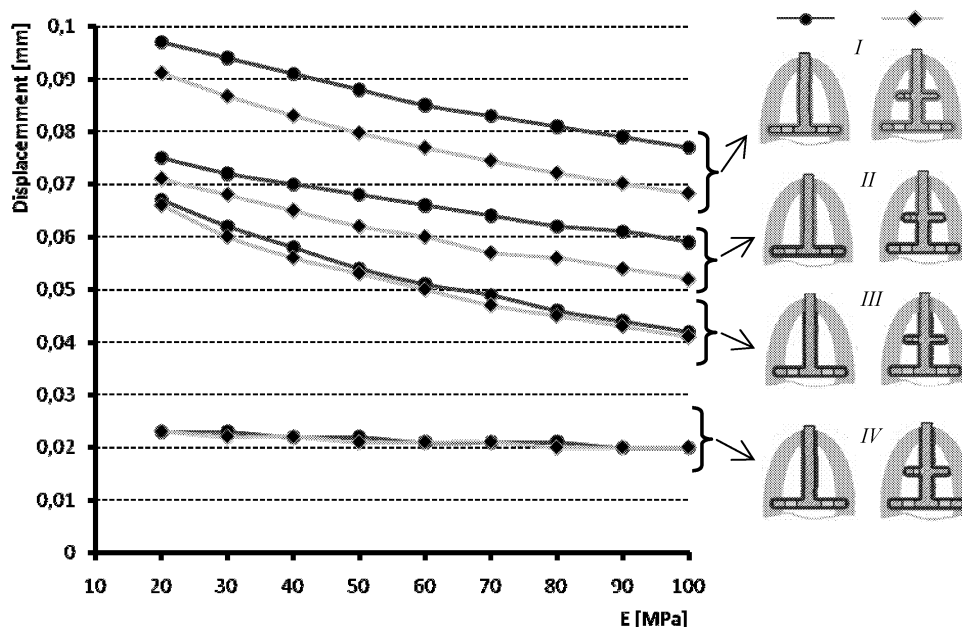


Fig.8: Influence of the post-displacement on the Young's modulus and degree of osseointegration – variant A

crease of displacement occurs in the case of the single-disk implant more than in the case of the double-disk implant. Presented graphs and conclusions are made for the anchorage variant A.

The influence of the anchorage character on the displacement u_z and the strain intensity in dependence on the change of Young's modulus of the cancellous bone can be analyzed on the basis of the following graph in Fig. 9.

For variant C where the implant is placed only in the cancellous bone, it is clear that with the deterioration of the bone quality, the displacement u_z intensively rises. [11] shows the coronapical tooth displacement in the range 0.05–0.1 mm for the value of loading force 200 N; similarly, [12] presents the implant displacement in the range 0.005–0.06 mm.

In our study, the model was loaded by force of 190 N and for the Young's modulus of the cancellous bone 100–20 MPa, the implant displacement ranged from 0.087 to 0.226 mm. Hence, it is clear that the variant C is according to our biomechanical study not acceptable.

In the case of variant A, displacement for the mentioned loading as well as the material properties ranges from 0.059 to 0.075 mm. Therefore, it can be concluded that this range is in accordance with the experimentally obtained values 0.005–0.1 mm. By comparison of the calculated displacements for the variant B (0.063–0.1 mm) with the experimentally obtained ones (0.005–0.1 mm), it was found out that maximal values of both ranges are almost in agreement. Displacements, however, do not tell anything about the behavior of solid bodies. This can be assessed on the basis of strain or strain intensity.

Fig. 9 shows that in the variants B and C, a rapid increase of strain intensity occurs within the decreasing value of Young's modulus. The value of the strain intensity in the case of variant A is almost independent of the change of Young's modulus of the cancellous bone. The foregoing analysis shows that the strain intensity is significantly affected by the

cancellous bone quality as well as by the implant anchorage, and the significant influence of the implant configuration can be expected. In the following graphs in Fig. 10, quantities are plotted which will enable us to analyze these influences and dependencies.

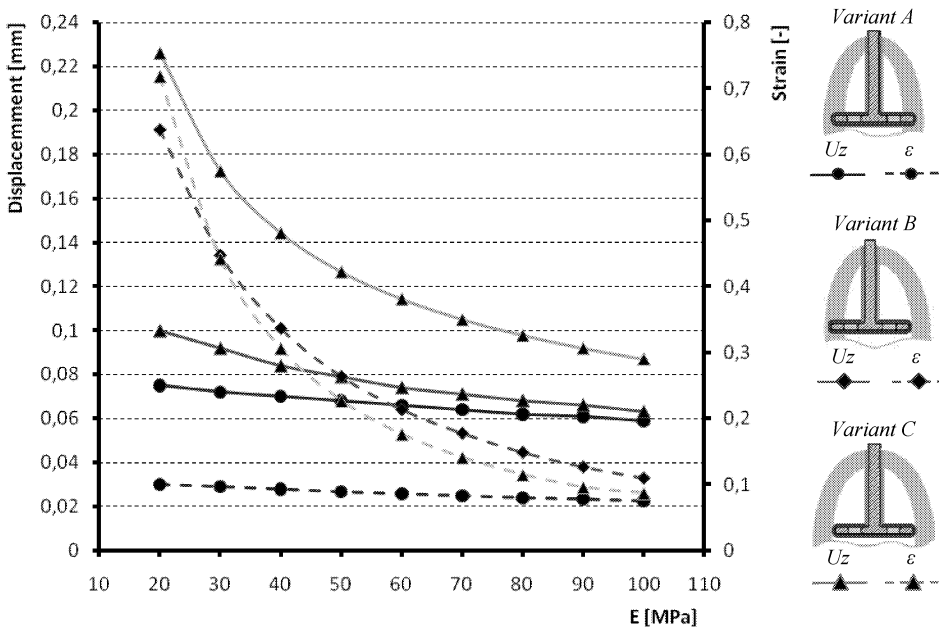


Fig.9: Influence of the post-displacement and strain intensity on the Young's modulus for the variants A, B, C

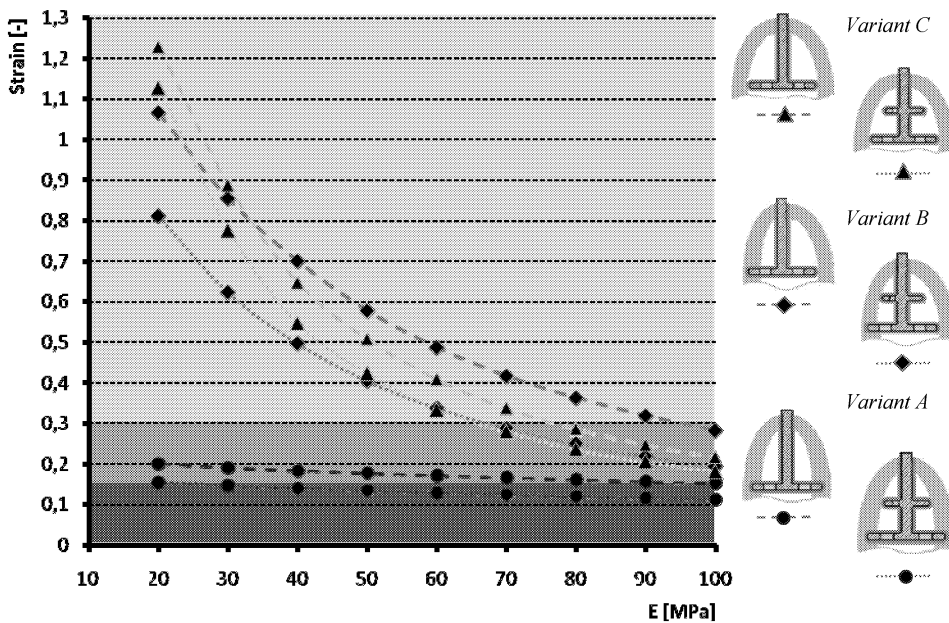


Fig.10: Influence of strain intensity on Young's modulus for variants A, B, C – single-disk and double-disk implant within the first degree of osseointegration

The following graph shows that the dependence of the strain intensity on the Young’s modulus of the cancellous bone has the same character for both single-disk and double-disk implants. The only difference is that the double-disk implant gives smaller values of the strain intensity than the single-disk implant. In the graph, three important regions depending on the values of the strain intensity are highlighted in accordance to Frost*.

The first region with the strain intensity ranging from 0.005 to 0.15 is the region of physiological strains with physiological remodeling of the bone tissue. The second region ranged from 0.15 to 0.30 is the region of mild overloading. The last one is the region of pathological overloading related to the values of the strain intensity higher than 0.3 [13].

From the following graph, it is clear that after the implant is applied and subsequently no osseointegration occurs, the only case of physiological strains is the case of double-disk implant, where the lower disk is implanted on both sides in the cortical bone.

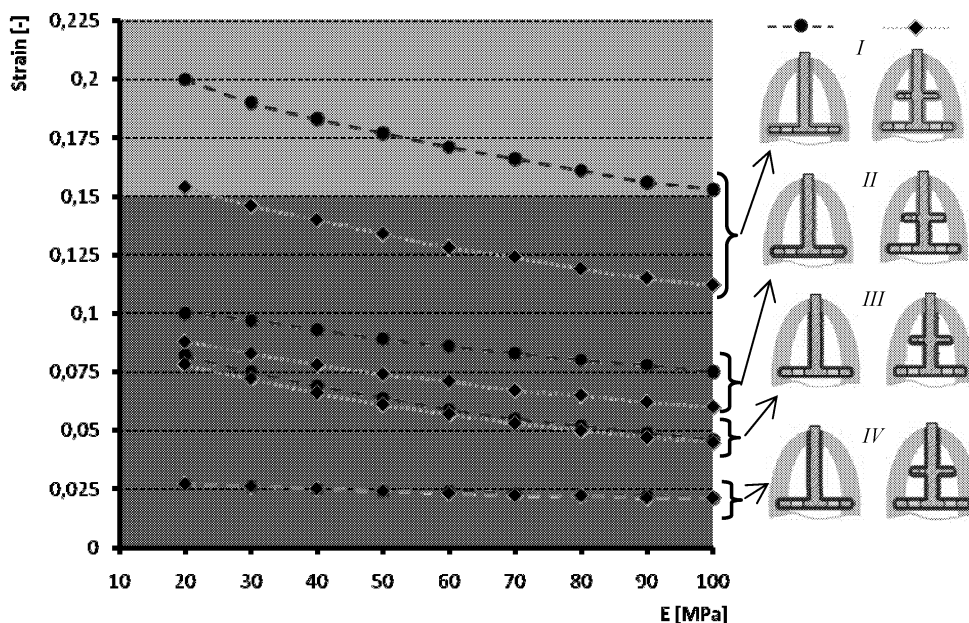


Fig.11: Influence of strain intensity on Young’s modulus of cancellous bone for individual degrees of osseointegration, variant A

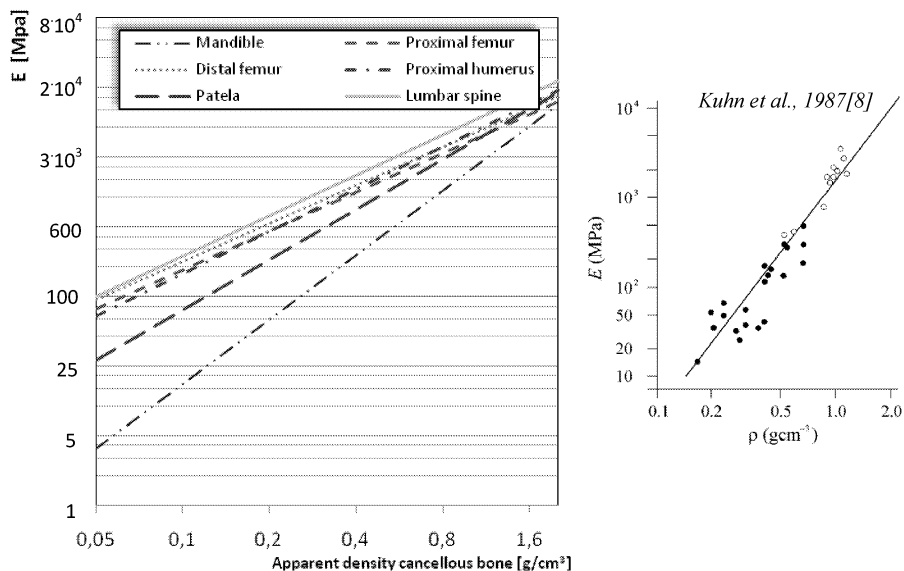
In the last analysis, attention is paid to the dependence between the degree of osseointegration and the strain intensity both in the single-disk and double-disk implant and for the varying quality of bone tissue expressed by the Young’s modulus in the range 20–100 MPa. In graphs in the following Fig. 11, quantities are plotted which enable us to carry out this analysis. Furthermore, regions are highlighted denoting the state of the bone tissue according to Frost.

*Initial works of Dr. Frost which probably describe the essence of this method (no longer noted in later papers) are unavailable to the authors. The authors are aware of this deficiency but yet they used the Frost’s assessment for two reasons. The first reason is the fact that there are many papers which refer to Dr. Frost and the second reason is that there is not another work in literature which determines the state of the bone tissue based on the strain intensity.

From the presented dependences it is evident that in the case of variant A with all degrees of the osseointegration and for the Young's modulus of the cancellous bone from 20 to 100 MPa, results lie for both implant types in the region of physiological strains. The only exception is the single-disk implant with the first degree of osseointegration.

10. Discussion

A correlation between the Young's modulus of the cancellous bone and its apparent density has been proved and described in literature [8]. Approximate formulas expressing the correlation mentioned in [17], [18] are part of Fig. 12. Their graphical demonstration for the values relating to the solved problem and for the different parts of the human body is illustrated in Fig. 12 on the left. It is better to use logarithmic coordinates for the Young's modulus in for low values of cancellous bone density, i.e. in our case.



$$\begin{aligned}
 \text{Mandible [18]: } E &= 2.349 \rho^{2.15} \\
 \text{Proximal femur [17]: } E &= 0.58 \rho^{1.3} \\
 \text{Distal femur [17]: } E &= 0.82 \rho^{1.27} \\
 \text{Proximal humerus [17]: } E &= 0.32 \rho^{1.41} \\
 \text{Patela [17]: } E &= 0.04 \rho^{1.68} \\
 \text{Lumbar spine [17]: } E &= 0.63 \rho^{1.35}
 \end{aligned}$$

Fig.12: Influence of Young's modulus on the apparent density of cancellous bone for different parts of human body by various authors [8], [17], [18]

Bone density is mostly measured by means of absorption photometry, which uses the energy of two rays (DXA), or by peripheral densitometry. By applying the correlation formulas between the Young's modulus and the apparent density of the bone tissue, the results presented in this study can be expressed as a dependence on this quantity which is measurable with the individual patients (see Fig. 13).

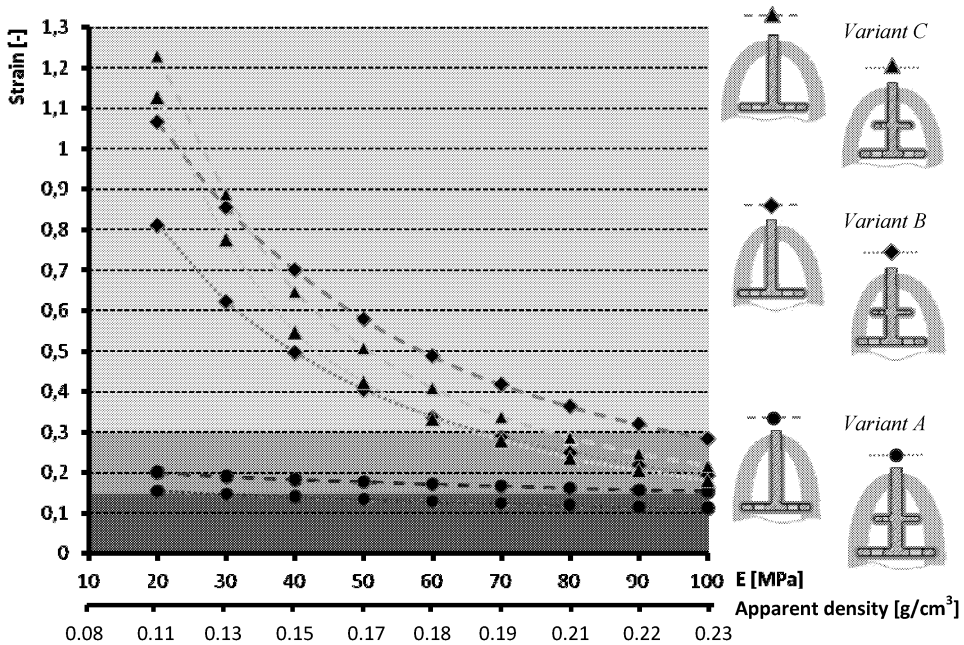


Fig.13: Influence of strain intensity on the apparent density of cancellous bone for variants A, B, C

11. Conclusion

This biomechanical study of the dental disk implant was focused on the stress-strain analysis of the implant and the affected part of the bone tissue. The presented article comprises the first part of the study which is focused on the analysis of bone tissue. The stress-strain analysis of the implant will be presented in the second part of the study.

The conclusion of the first part, using Frost's theory, can be expressed in four points:

1. For achieving the physiological strain of the bone tissue, the implant anchorage has the greatest influence. Only variant A and the double-disk implant guarantees the possibility of immediate loading of the implant after the application regardless of the quality of the bone tissue (see Fig. 10).
2. If a deviation to the anchorage A occurs, it is necessary to create conditions for osseointegration (see Fig. 11).
3. The displacement u_z is an important deformation quantity which is measurable, but it is always necessary to also add the strain analysis. Despite the negligible difference in displacements in the case of the variants A and B, the difference in the strain intensity is significant (see Fig. 9, red and green curves – continuous and dashed).
4. By application of the correlation formulas between the Young's modulus and the apparent density of the bone tissue (the latter is measurable), the results presented in this study can be expressed as a dependence on this quantity.

These conclusions were based on the biomechanical study. The problem of the interaction of the implant with the bone is a complex problem, which has other significant aspects – clinical, biological and biochemical, etc. For complex assessment, all related factors must be considered.

Acknowledgment

The research reported in this paper was carried out within the framework of the Stomatological Research Center of the Masaryk University, Brno. Research was supported by the funding No. SVC 1M0528 MŠMT provided by the Ministry of Education, Youth and Sport of the Czech Republic. The work on the model reported in this paper was funded by the Research plan MSM 0021630518 Simulation modelling of mechatronics systems provided by the Czech Ministry of Education, Youth and Sports. This work was supported by grant project FRVS No. 1403/2010.

References

- [1] Misch C. E.: Dental Implant Prosthetics ISBN 0323019552
- [2] Grampp S.: Radiology of Osteoporosis Springer, 2008, ISBN 354025884
- [3] Branemarak P. I.: Tissue-integrated prostheses: osseointegration in clinical dentistry, Quintessence, 1985
- [4] Gahleitner A., Watterm G., Imhof H.: Dental CT: imaging technique, anatomy, and pathologic conditions of the jaws
- [5] Katalog: www.implant.com
- [6] www.airperio.com
- [7] www.victoryimplants.fr
- [8] Natali A. N.: Dental biomechanics, CRC Press, 2003, ISBN 0415306663
- [9] Petrtyl M, Máca I.: Silové účinky mezi zuby při skusu, Sborník konference, Skelte2000
- [10] Mericske-Stern R., Piotti M., Sirtes G.: 3-D in vivo force force measurements on mandibular implants supporting overdentures, Clin Oral Impl Res 1996; 7:387–396
- [11] Amarsaikhan B., Miura H., Okada D., Masuda T., Ishihara H., Shinki T., Kanno T.: Influence of environmental factors on tooth displacement, Journal of Medical and Dental Sciences, Vol. 49 (2002):19–26
- [12] Gaggli A., Schultes G.: Biomechanical properties in titanium implants with integrated maintenance free shock absorbing elements: Biomaterials, Vol. 22 (2001):3061–66
- [13] Frost H.M.: From Wolff's law to the Utah paradigm: Insights about bone physiology and its clinical applications, The Anatomical Record, Vol. 262 (2001), 398–419
- [14] Martin R.B.: Toward a Unifying Theory of Bone Remodeling, Bone: Volume 26, Issue 1, 1 January 2000, Pages 1–6
- [15] Mcnamara M.L., Prendergast J.P.: Perforation of cancellous bone trabeculae by damage-stimulated remodelling at resorption pits: A computational analysis European Journal of Morphology, February/April 2005; 42(1/2): 99–109
- [16] ANSYS, Inc., Licensing Guide
- [17] Rho J.Y., Hobatho M.C., Ashman B.R.: Relations of mechanical properties to density and CT numbers in human bone, Medical Engineering & Physics, Volume 17, Issue 5, Pages 347–355
- [18] O'Mahony A.M., Williams J.L., Spencer P.: Anisotropic elasticity of cortical and cancellous bone in the posterior mandible increases peri-implant stress and strain under oblique loading, Clin Oral Implants Res. 2001 Dec;12(6):648–57

Received in editor's office: January 30, 2010

Approved for publishing: April 13, 2010

Individuálna titanokeramická nadstavba

Strecha J.¹, Jurkovič R.², Siebert T.³, Prachár P.⁴, Bartáková S.⁴, Fojtíková E.¹

¹Eurodent medima, s.r.o., Marin

²Deimperio, s.r.o., Bratislava

³Dentálne centrum, s.r.o., Trnava

⁴Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno

SÚHRN

Dôležitou kapitolou v implantologickej praxi je protetická rekonštrukcia na implantát. Stabilitu a funkciu protetickej náhrady zabezpečuje spoľahlivý antirotačný systém nadstavbovej časti implantátu, ktorý protetickú prácu fixuje a prenáša žuvacie tlaky cez implantáty na okolitú kosť. Vyhovujúcu funkciu a estetiku protetickej práce určuje tvar nadstavbovej časti implantátu.

Vývojom tvaru nadstavbovej časti systému Martikan sme postupne dospeli k názoru, že ideálny tvar gingiválnej časti nadstavby hlavne vo viditeľnej časti chrupu je možné dosiahnuť len jej individuálnym zhotovením. V spolupráci s výrobcom a zubnou technikou sme postupne vyvinuli technológiu výroby individuálne vyrábanej titanokeramickej nadstavby. Aj napriek zložitejšej a časovo náročnejšej technológii je možné týmto spôsobom dosiahnuť nepomerne lepšie výsledky v estetike aj funkcii protetickej práce.

Kľúčové slová: dentálny implantát - individuálna nadstavba - keramická nadstavba

SUMMARY

Strecha J., Jurkovič R., Siebert T., Prachár P., Bartáková S., Fojtíková E.:
Individual Titan-ceramic Extension

Prosthetic reconstruction on the implant represents an important chapter in the practice of implantology. The stability of function of the prosthetic substitution provides a reliable anti-rotation system of the extension part of the implant, which fixes the prosthetic work and transfers the mastication pressures through the implant to the surrounding bone. The shape of the extension part determines satisfying function and esthetics of the prosthetic work.

In the process of developing the shape of the Martikan system were gradually came to the conclusion that the ideal shape of the gingival part of the extension, especially in the visible part of the set of teeth can be reached only when it is made individually. In collaboration with the producer and dental technique the authors gradually developed technology of individually made titan-ceramic extension. In spite of the complex and time-consuming technology it has become possible to reach markedly better results in the esthetics and function of the prosthetic work.

Key words: dental implant - individual extension - ceramic extension

Čes. Stomat., roč. 109, č. 5, s. 92–97.

ÚVOD

Tvar nadstavbovej časti implantátu a jej fixácia je dôležitým článkom k výrobe funkčnej a estetickej náhrady. Hlavne vo frontálnom úseku je táto požiadavka na nadstavbu implantátu veľmi dôležitá. Každý výrobca implantátov rieši túto ťažkú úlohu vlastným antirotačným systémom a postupným vývojom tvarov nadstavbovej časti. Stabilita nadstavby na implantáte závisí od čo najväčšej styčnej plochy nadstavby s implantátom. Toto je zabezpečované systémom kónusov, šesťhranov – osmihranov zapustených v tele implantátu a fixovaných samostatnou skrutkou. Asi najlepšie

systém je v kuželovitom zapustení nadstavby v tele implantátu, čím sa vytvára pomerne veľká trecia plocha, a tým aj dostatočná stabilita a fixácia nadstavby v tele implantátu. Ďalšou, pomerne zložitou úlohou je vytvoriť nadstavbu, ktorá umožní ideálnu modeláciu krčkovej oblasti korunky. Táto úloha je pre výrobcov implantačných systémov z dôvodu nevyčísľiteľného množstva anatomických variácií tvarov alveolárneho hrebeňa a gingívy veľmi zložitá.

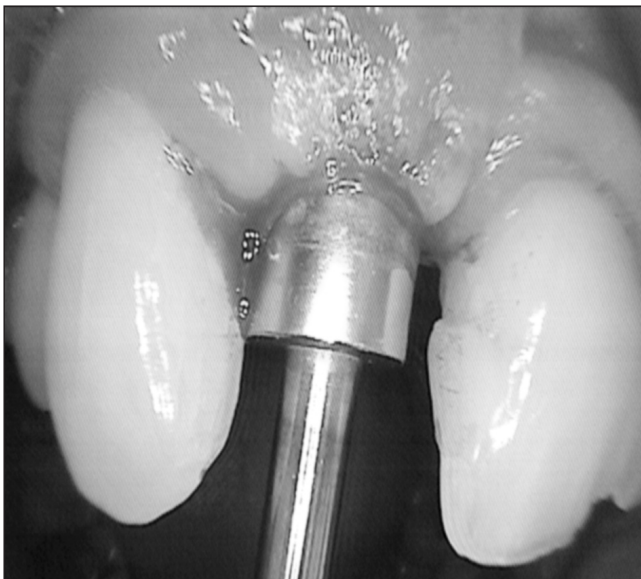
V roku 2003 sme spolu s výrobcom neštandardného implantačného systému Martikan vyvinuli antirotačný systém založený na princípe centrálne zošíkmeného ozubeného spoja a doplnili ho

možnosťou výroby individuálnej titanokeramickej nadstavby.

MATERIÁL A METODIKA

Ambulantná časť

V prvom kroku je použitý konvexný vhojovací valček. Vyrába sa z titanu v rôznych šírkach, podľa veľkosti interdentalnej medzery. Vhojovací valček po kruhovej excízii gingívy nad implantátom sa nasadí na implantát a fixuje centrálnou skrut-

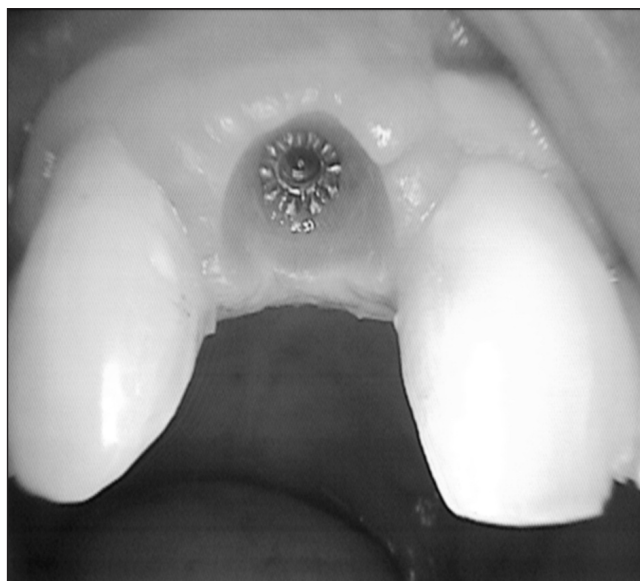


Obr. 1. Obnaženie oseointegrovaného implantátu cirkulárnym vykrajovačom. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.).

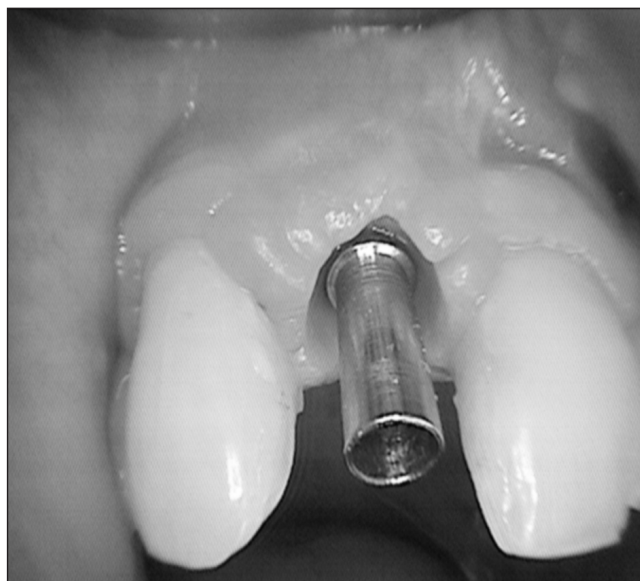


Obr. 2. Aplikovaný vhojovací valček. Horný priemer vhojovacieho valčeka by mal zodpovedať šírke interdentalného priestoru v najužšom mieste, aby bola zabezpečená modelácia interdentalných papíl. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.).

kou (obr. 1). Šírku valčeka určuje rozmer interdentalného priestoru tak, aby bolo zabezpečené vyformovanie anatomicky prijateľných interdentalných papíl (obr. 2). Jeho konvexný tvar vyformuje marginálnu gingívu a interdentalne papily do požadovaného tvaru (obr. 3). Po 10 až 14 dňoch sa vhojovací valček vymení za jednoduchý titanový pilier, ktorý výrobca vyrába v jednej hrúbke aj dĺžke (obr. 4). Pilier sa zaregistruje vhodným otláčkovým materiálom metódou dvojitého otlaku (obr. 5). Upevní sa centrálnou skrutkou na laboratórnu repliku implantátu a vkladá sa do otlaku (obr. 6). Implantát je počas výroby individuálnej nadstavby krytý opäť pôvodným vhojovacím valčekom. Pilier slúži ako základná kostra, na ktorú zubný technik vyrobí keramickú nadstavbu (obr. 7).



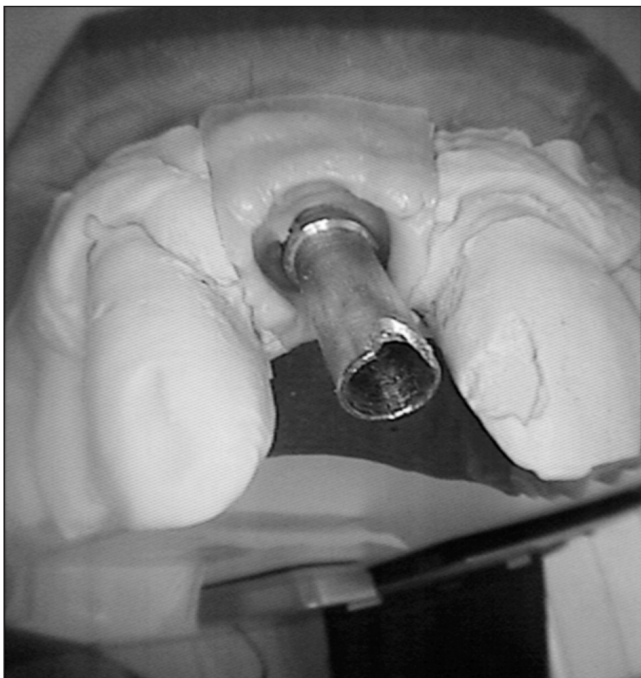
Obr. 3. Po 10–14 dňoch je pomocou vhojovacieho valčeka vymodelovaná marginálna gingíva a papily. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.).



Obr. 4. Na implantát nasadená jednoduchá valcová titanová nadstavba. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.).



Obr. 5. Otlačok zubného oblúka so vsadenou titanovou nadstavbou a laboratórnou replikou implantátu. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 6. Vyliaty model a gingiválna maska. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 7. Titanokeramická nadstavba. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Nadstavba má tri dôležité časti:

- 1–pilierová časť
- 2–schodík
- 3–gingiválna časť

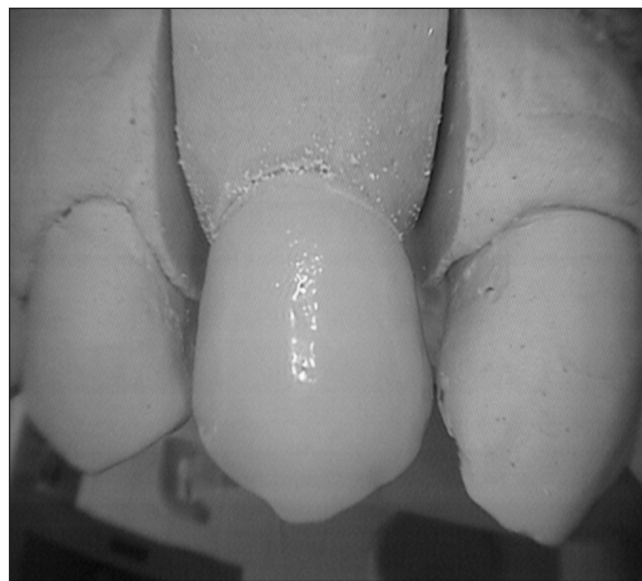
Pilierová časť nadstavby je modelovaná podľa potreby pre dobrú stabilitu a fixáciu korunkovej časti z metalokeramiky alebo bezkovovej keramiky.

Schodík nadstavby je modelovaný podľa okraja gingívy alebo v ideálnych prípadoch mierne subgingiválne, v šírke potrebnej pre dostatočnú pevnosť okraja keramickej korunky.

Gingiválna časť keramickej nadstavby končí tesne pri ozubenej časti titanového piliera a je povlečená glazúrou.



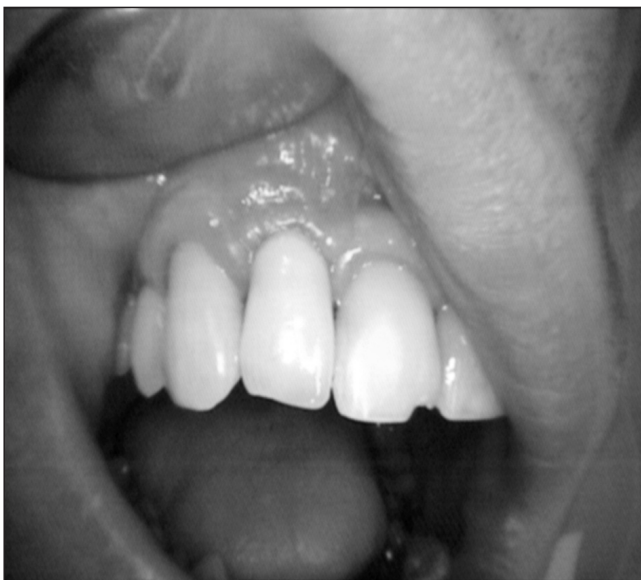
Obr. 8. Titanokeramická nadstavba fixovaná centrálnou skrutkou na implantáte. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 9. Keramická korunka. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Keramický pilier sa nasadí na implantát po odstránení vhojovacieho valčeka. Je fixovaný centrálnou skrutkou (obr. 8). Je potrebná kontrola stability nadstavby a jej konfigurácie vzhľadom k okraju gingívy.

Nasadená nadstavba je potom zaregistrovaná vhodnou otláčkovou metódou na výrobu metalokeramickej alebo bezkovovej keramickej korunky. Nadstavba je ponechaná in situ. Po vyhotovení korunkovej časti sa táto odskúša a cementuje na keramický pilier (obr. 9, obr. 10).



Obr. 10. Nasadená keramická korunka. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Laboratórna časť

Prvým technologickým krokom po prijatí otláčku do zubnej techniky je výroba gingiválnej masky okolo piliera (obr. 6). Po stuhnutí odtlačok technik preleje sádrou IV. triedy a model zaartikuluje. Upraví titanový pilier podľa medzičelustných vzťahov a opieskuje ho 250 μ m pieskom. Na takto upravený a pripravený titanový pilier začne postupne po vrstvách nanášať titanovú keramiku VITA TITANKERAMIK. Farbu keramickej nadstavby volí podľa farby budúcej keramickej korunky. Schodík keramickej nadstavby vytvára technik presne podľa priebehu gingívy (obr. 7). Miesta pod schodíkom dokonale vyleští gumičkou a na gingiválnu časť nadstavby nakoniec naniesie glazúru a vypáli.

DISKUSIA

Problematika protetickej časti rehabilitácie pomocou dentálnych implantátov je multifaktoriálna. Samostatne riešeným a diskutovaným problémom je estetika suprakonštrukcie pri náhrade jedného zuba v estetickom oblasti chrupu. Tu sa

okrem dokonale zvládnutého plánovania a prevedenia chirurgickej časti implantácie, s cieľom vytvoriť podmienky pre čo najdôslednejšiu červeno-bielu estetiku, rieši problém estetiky korunkovej konštrukcie, ktorá sa vo väčšine prípadov skladá z nadstavby (abutmentu) a samotnej korunky. Až harmonizácia správne prevedenej chirurgickej časti, vhodne individuálne vybraného abutmentu a následne vhodnej korunky dokáže dosiahnuť čo možno najvyššiu možnú estetiku v exponovanom úseku chrupu pri náhrade jedného zuba. Okrem tohoto pohľadu má táto problematika aj inú rovinnu. Inde o dlhodobú stabilitu výsledku. Či už vzhľadom k pozitívnemu ovplyvneniu stability periimplantačnej kresťálnej kosti, kde spojenie abutment - implantát zohráva kruciálnu úlohu, alebo stabilitu laboratórneho prevedenia vo funkcii. Ošetrujúci lekár má vždy na výber viac možností výberu nadstavby. Rozhoduje sa medzi komerčne vyrábanými, plne individuálne vyrobenými, alebo kombináciou oboch spomenutých. V našej práci popisujeme práve kombináciu komerčne vyrobenej nadstavby individuálne dopracovanej v laboratóriu.

Individuálne zhotovená celokeramická nadstavba je v dnešnej dobe dôkladne zvládnutá modalita. Vďaka faktu, že je z bielej keramiky, nie je tu riziko presvitania kovovej časti cez marginálnu gingívu [3, 7, 16, 19]. Ešte pred viac ako 10 rokmi boli preferované titanové nadstavby [15]. Magne a kol. vo svojej práci popisuje individuálne zhotovenú kovokeramicnú nadstavbu. Autor ju použil pri náhrade laterálneho rezáku so zmenšeným medzizubným priestorom s výborným estetickým a funkčným výsledkom [14]. Jeho výsledok je porovnateľný aj s našimi skúsenosťami. Canullo sa vo svojej štúdiu zaoberal pozorovaním titanových ako aj zirkónových nadstavieb pod elektrónovým mikroskopom, použitých následne na rekonštrukciu straty jednotlivých zubov. Sledoval ich presnosť dosadu na implantát, následne ich funkčnosť a stabilitu v ústnej dutine. Nezaznamenal žiadny významný rozdiel [4]. Myšlienka použiť keramický materiál pri nadstavbách vyplýva z výborných skúseností s keramickými materiálmi, ktoré sa používajú na výrobu koruniek [6,18]. Zhotovovanie individuálnych kovových nadstavieb rôznymi metodikami sa stáva alternatívou pred sériovo vyrábanými. Veľa autorov považuje tento spôsob za veľmi vhodný [11]. Kovokeramické riešenie straty jednotlivého zuba je možné využiť aj v indikácii Marylandského mostíku, ktorý niektorí autori radi požívajú [8]. My sa tomuto riešenu vyhýbame, lebo ho považujeme za nepomerne menej prediktabilnejšie v porovnaní so suprakonštrukciou nesenou dentálnym implantátom, prípadne klasickým mostíkom. Tan nevidí rozdiel v konečnej estetike, pri inak výborných anatomických podmienkach, medzi kovovou nadstavbou

s kovokeramickou korunkou a zirkonovou nadstavbou s korunkou z Procery [20]. Tento fakt je veľmi ťažko objektivizovať, lebo je to okrem iného na individuálne videnej estetike jednotlivcom, či už zubným lekárom, alebo pacientom.

Andersson a kol. publikovali v roku 2003 prospektívnu, randomizovanú, kontrolovanú štúdiu, v ktorej sledovali v 5-ročnom období 32 pacientov, ktorí mali spolu zainzerovaných 103 Brånemarkových implantátov, kde 19 fixných zubných náhrad bolo fixovaných iba na keramických CerAdapt nadstavbách a 17 iba na titanových nadstavbách. Na konci sledovaného obdobia konštatovali, že zlyhala iba jedna keramická a žiadna titanová nadstavba [1]. Dá sa konštatovať, že oba druhy nadstavieb mali v tejto práci výborný dlhodobý výsledok. Andersson sledoval taktiež občasné zlyhanie keramických nadstavieb CerAdapt (93% úspešnosť) v práci z roku 2001, v porovnaní s titanovými nadstavbami, ktoré mali 100% úspešnosť [2].

Henriksson vo svojej práci sledoval individuálne nadstavby vyrobené z Procery, na ktoré v jednej skupine priamo aplikoval keramiku na dobudovanie celej korunkovej časti a v druhej nacementoval korunku. Konštatoval, že z krátkodobého hľadiska 1 roku sú funkčne a esteticky porovnateľné oboma metodikami vytvorené definitívne suprakonstruktie [9]. Jeho práca dokazuje, že existuje viac porovnateľných metodík, ktoré sa môžu, vo vhodných indikáciách, použiť. Záleží to iba od skúseností a možností ošetrojúceho lekára, resp. laboratória. Cranham vo svojej práci zdôrazňuje dôležitosť použitia individuálne zhotoveného vhojovacieho valčeka pre následnú prediktabilnú červeno bielu estetiku [5]. S týmto jeho názorom sme v plnej názorovej zhode. Ešte lepšie ako zhotovenie individuálnej nadstavby považujeme, pri dodržaní postimplantačnej primárnej stability implantátu (min. 35 N/cm), použitie okamžitej rekonštrukcie korunky bez funkčného zaťaženia, ktorá najideálnejšie dokáže zachovať marginálnu gingívu a papily pri poextrakčnej implantácii, alebo vytvarovať, pri klasickej implantácii, budúcu periimplantačnú mukózu spolu s papilami.

Tak ako pri vlastných zuboch, tak aj v implantológii, sa v okolí suprakonstruktí nachádzajú miesta, ktoré je veľmi vhodné, pokiaľ nie nutné, pravidelne zbavovať biofilmu. Tento je zodpovedný za väčšinu zlyhaní, či už estetických, alebo priamo funkčných [17].

Individuálne keramické nadstavby sú vyrábané z viacerých materiálov, medzi ktoré patrí aj aluminium oxid [10].

Sú autori, ktorí preferujú fabricky vyrobené nadstavby, ale konštatujú, že ich treba aj tak individuálne v laboratóriu dopracovať, a teda je vždy na zváženie vhodné individuálne posúdenie, ktorá

nadstavba bude použitá [13]. Kerstein používa počítačom vytvorenú individuálnu vhojovaciu nadstavbu [12].

ZÁVER

Pilier na implantáte vyrobený uvedenou technikou má tri nezastupiteľné výhody.

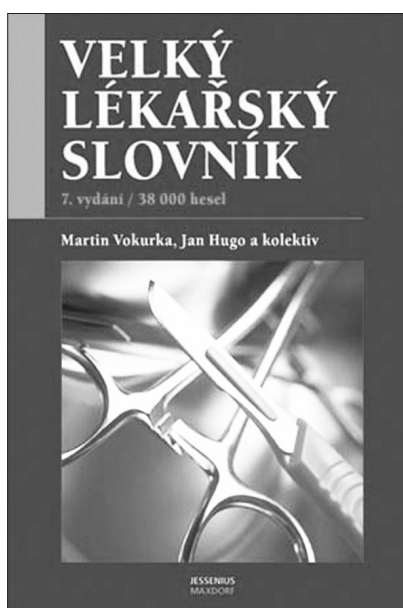
1. Tvar a sklon piliera si zubný technik určuje sám podľa anatomických podmienok.
2. Marginálna gingíva okolo implantátu nenalieha na kov, ale na hladkú keramickú časť piliera. Má to veľkú výhodu z hľadiska hygieny a tiež estetiky, pretože zabránime možnej metallickej pigmentácii v budúcnosti.
3. Schodík nadstavby presne kopíruje okraj gingívy a v ideálnych prípadoch je celý umiestnený mierne subgingiválne. V prípadoch, že vo vestibulárnej oblasti je gingívy veľmi málo, schodík je umiestnený supragingiválne a vestibulárna časť piliera pod schodíkom je farebne zladená s farbou korunky.
4. Vlastná keramická korunka sa cementuje na pilier po dôkladnej artikulácii a opätovnom dotiahnutí centrálnej skrutky nadstavby momentovým kľúčom, skloionomérmymi alebo duálnymi cementami.

LITERATÚRA

1. **Anderson, B., Glauber, R., Maglione, M., Taylor A.:** Ceramic implant abutments for short-span FPDs: a prospective 5-year multicenter study. *Int. J. Prosthodont.*, 16, 2003, 6, s. 640-646.
2. **Anderson, B., Taylor, A., Lang, B. R., Schiller, H., Schärer, P., Sorensen, J. A., Tarnow, D.:** Alumina ceramic implant abutments used for single-tooth replacement: a prospective 1- to 3-year multicenter study. *Int. J. Prosthodont.*, 14, 2001, 5, s. 432-438.
3. **Bombard, P., Hermans, M., Adriaenssens, P., Daelemans, P., Malevez, C.:** Anterior esthetic rehabilitation on teeth and dental implants optimized with Procera technology: a case report. *J. Esthet Restor Dent.*, 13, 2001, 3, s. 163-171.
4. **Canullo, L.:** Clinical outcome study of customized zirconia abutments for single-implant restorations. *Int. J. Prosthodont.*, 20, 2007, 5, s. 489-493.
5. **Cranham, J. C., Konikoff, A. B.:** Maxillary anterior implant treatment: a protocol for aesthetic success. *Dent. Today*, 20, 2001, 3, s. 68-71.
6. **Galindo, M. L., Haggmann, E., Marinello, C. P., Zitzmann, N. U.:** Long-term clinical results with Procera AllCeram full-ceramic crowns. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.*, 116, 2006, 8, s. 804-809.
7. **Glauber, R., Sailer, I., Wohlwend, A., Studer, S., Schibli, M., Schärer, P.:** Experimental zirconia abutments for implant-supported single-tooth restorations in esthetically demanding regions: 4-year results of a prospective clinical study. *Int. J. Prosthodont.*, 17, 2004, 3, s. 285-290.
8. **Hagiwara, Y., Matsumura, H., Tahala, S., Woelfel, J. B.:** Single tooth replacement using a modified metal-cera-

- mic resin-bonded fixed partial denture: a clinical report. *J. Prosthet Dent.*, 91, 2004, 5, s. 414-417.
9. **Henriksson, K., Jemt, T.:** Evaluation of custom-made procera ceramic abutments for single-implant tooth replacement: a prospective 1-year follow-up study. *Int. J. Prosthodont.*, 16, 2003, 6, s. 626-630.
 10. **Heydecke, G., Sierraalta, M., Razzoog, M. E.:** Evolution and use of aluminum oxide single-tooth implant abutments: a short review and presentation of two cases. *Int. J. Prosthodont.*, 15, 2002, 5, s. 488-493.
 11. **Iglesia-Puig, M. A.:** Custom-made laser-welded titanium implant prosthetic abutment. *J. Prosthet Dent.*, 94, 2005, 4, s. 401-403.
 12. **Kerstein, R. B., Castellucci, F., Osočil, J.:** Ideal gingival form with computer-generated permanent healing abutments. *Compend Contin Educ. Dent.*, 21, 2000, 10, s. 793-797.
 13. **Kourtis, S. G.:** Selection and modification of prefabricated implant abutments according to the desired restoration contour: a case report. *Quintessence Int.*, 33, 2002, 5, s. 383-388.
 14. **Magne, P., Magne, M., Jovanovic, S. A.:** An esthetic solution for single-implant restorations - type III porcelain veneer bonded to a screw-retained custom abutment: a clinical report. *J. Prosthet Dent.*, 99, 2008, 1, s. 2-7.
 15. **Marchack, C. B., Yamashita, T.:** A procedure for a modified cylindrical titanium abutment. *J. Prosthet Dent.*, 77, 1997, 5, s. 546-549.
 16. **Ormianer, Z., Schioli, G.:** Maxillary single-tooth replacement utilizing a novel ceramic restorative system: results to 30 months. *J. Oral Implantol.*, 32, 2006, 4, s. 190-199.
 17. **Rimondini, L., Cerroni, L., Carrassi, A., Torricelli, P.:** Bacterial colonization of zirconia ceramic surfaces: an in vitro and in vivo study. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 17, 2002, 6, s. 793-798.
 18. **Schioli, G.:** Single-tooth implant restorations in the esthetic zone with PureForm ceramic crowns: 3 case reports. *J. Oral Implantol.*, 30, 2004, 6, s. 358-363.
 19. **Schneider, R.:** Implant replacement of the maxillary central incisor utilizing a modified ceramic abutment (Thommen SPI ART) and ceramic restoration. *J. Esthet Restor Dent.*, 20, 2008, 1, s. 21-27.
 20. **Tan, P. L., Dunne, J. T. Jr.:** An esthetic comparison of a metal ceramic crown and cast metal abutment with an all-ceramic crown and zirconia abutment: a clinical report. *J. Prosthet Dent.*, 91, 2004, 3, s. 215-218.

MUDr. Juraj Strecha, Ph.D.
Eurodent medima, s.r.o.
Priehradka 20
036 01 Martin
Slovenská republika
e-mail: strecha@medima.sk



VELKÝ LÉKAŘSKÝ SLOVNÍK

7. vydání

Martin Vokurka, Jan Hugo a kolektiv

Sedmé, rozšířené a aktualizované vydání lékařského výkladového slovníku obsahuje 38 000 hesel ze všech oborů a oblastí medicíny. Slovník je svou odbornou úrovní vhodný pro lékaře, zdravotníky a studenty medicíny, svou srozumitelností však vychází vstříc tradičnímu zájmu české veřejnosti o medicínu. Ostatně u předchozích šesti vydání zakoupili laici přes polovinu z dosud prodaných 21 000 výtisků.

Lékařům slovník umožňuje držet krok se závratným tempem vědeckého pokroku, který přináší ročně cca 30 až 60 nových pojmů. Současná medicína zná např. celou skupinu mitochondriálních nemocí, přesné pochopení podstaty mnoha „tradičních“ nemocí vyžaduje mj. znalost selektinů, kadherinů či interginů. Řada

moderních léků funguje na principu zásahu do funkcí cytoskeletu. Podobných pojmů z posledních 15 let slovník obsahuje přibližně 3000.

Sedmé vydání je doplněno rozsáhlou přílohou normálních laboratorních hodnot.

Vydalo nakladatelství Maxdorf v roce 2007, 1096 str., formát: B5, váz., cena: 1495 Kč, ISBN: 978-80-7345-130-1

Objednávky můžete posílat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i jméno časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.

Biofyzikální mechanismy určující biokompatibilitu dentálních implantátů a podmiňující jejich oseointegraci

Bartáková S.¹, Prachár P.¹, Hasoň S.^{1,2}, Silvennoinen R.³, Cvrček L.⁴, Strašák L.^{1,2}, Fojt L.^{1,2}, Avranas A.⁵, Vetterl V.^{1,2}

¹Stomatologické výzkumné centrum LF MU, Brno

²Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i., Brno

³University of Joensuu, Department of Physics and Mathematics, Joensuu, Finsko

⁴HVM Plasma, spol. s r.o., Praha

⁵Laboratory of Physical Chemistry, Department of Chemistry, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Řecko

Věnováno k významnému životnímu jubileu prof. MUDr. Jiřího Vaňka, CSc., přednosta Stomatologické kliniky FN u sv. Anny v Brně a ředitele Stomatologického výzkumného centra LF MU

SOUHRN

Adsorpce biopolymerů na povrch titanu a titanem dopovaných uhlovodíkových povlaků se zvyšuje optická drsnost, tloušťka a index lomu povrchové vrstvy. Fibrinogen se lépe adsorbuje na povrchu titanu, který je upraven leštěním a leptáním, nežli na povrchu pouze leštěném. Nejlépe se adsorbuje na povrch uhlovodíkových povlaků dopovaným titanem, které byly deponované reaktivním magnetronovým naprašováním v optimálním poměru $Ti_{0,38} - C_{0,62}$ a $Ti_{0,09} - C_{0,91}$. Takto upravené povrchy dentálních implantátů by měly urychlit jejich oseointegraci a vhojení. Na povrch titanu se lépe adsorbují jednořetězové pyrimidinové oligodeoxynukleotidy $(TTC)_{12}$, nežli purinové $(AAG)_{12}$. Dvojšroubovicový duplex $(TTC)_{12}$. $(AAG)_{12}$ neovlivňuje optické vlastnosti povrchu titanu a patrně se na povrch neadsorbuje.

Klíčová slova: titanové implantáty - adsorpce fibrinogenu - adsorpce oligodeoxynukleotidů - difrakční optický element - elipsometrie

SUMMARY

Bartáková S., Prachár P., Hasoň S., Silvennoinen R., Cvrček L., Strašák L., Fojt L., Avranas A., Vetterl V.: Biophysical Mechanism Determining Dental Implants Biocompatibility and Conditioning their Osseointegration

Adsorption of biopolymers at the titanium and titanium carbide surface increases the optical roughness as well as the thickness and refractive index of the surface layer. Fibrinogen is better adsorbed at the titanium surface which is treated by polishing and etching than at the surface treated only by polishing. The best adsorption of fibrinogen was observed at the titanium carbide surface prepared by plasma-enhanced chemical vapour deposition, the optimal ratio was $Ti_{0,38} - C_{0,62}$ a $Ti_{0,09} - C_{0,91}$. The surface of dental implants treated by this way should speed up their osseointegration and healing. The single stranded pyrimidine oligodeoxynucleotides $(TTC)_{12}$ are better adsorbed at the titanium surface than the purine oligodeoxynucleotides $(AAG)_{12}$. The double-helical duplex $(TTC)_{12}$. $(AAG)_{12}$ has no effect on the optical properties of the titanium surface and probably is not adsorbed there.

Key words: titanium implants - fibrinogen adsorption - oligodeoxynucleotide adsorption - diffractive optical element - ellipsometry

Čes. Stomat., roč. 109, 2009, č. 3, s. 48–53.

Úvod

U implantačních materiálů je vedle mechanicko-fyzikálních a chemických vlastností důležitý účinek biologický, tj. reakce organismu od molekulární po makroskopickou úroveň. V mnohém tento biologický účinek s mechanicko-fyzikálními a chemickými vlastnostmi materiálu souvisí, v mnohém je specifický pro určitou tkáň a její funkční začlenění v organismu. Vzájemnou reakci mezi alogenním materiálem a vitální biologickou tkání nazýváme biokompatibilita. Má celou škálu projevů znamenajících pozitiva nebo negativa pro výsledek implantace. Negativní účinky mohou být toxické, mutagenní, karcinogenní, hemolytické, případně vyvolají senzibilizaci a imunologické procesy. Jindy jde o dráždivý efekt z mechanicko-fyzikálních nebo chemických příčin. Reakce jsou lokální nebo vzdálené i systémové.

Titan je často používán jako „biomateriál“ k náhradě různých tvrdých tkání, například ve stomatologii a ortopedii. Vysokou biokompatibilitu titanových těles zaručuje vrstva oxidů běžně přítomných na jakémkoliv titanovém povrchu. Morfologie povrchu implantátu, která může být modifikována různými postupy, ovlivňuje značnou měrou interakce implantátu s okolním prostředím [1, 4, 11].

Brzy po implantaci je během několika sekund povrch implantátu pokryt filmem adsorbovaných proteinů, které zprostředkují vzájemné interakce mezi implantátem a vnitřním prostředím organismu. Později migrují k implantátu různé buňky, ty snadněji interagují s proteinovým filmem než s holým kovovým povrchem. Protože většina implantátů přijde během zavádění do styku s krví, je prvotní film tvořen převážně proteiny krevní plazmy. Adsorbovaná proteinová vrstva, pokrývající povrch implantátu, hraje pravděpodobně důležitou roli v pozitivní reakci organismu na titanový implantát. Základní mechanismus vynikající biokompatibility titanu není ještě zcela znám.

Lidský plazmatický fibrinogen (LPF) je jeden z nejvýznamnějších proteinů, které jsou adsorbovány na povrch „biomateriálu“. LPF je součástí hemokoagulační kaskády, zvyšuje adhezi a agregaci trombocytů, je důležitým článkem nejen v hemostáze, ale i v rozvoji trombotických stavů [2, 3].

Struktura a složení proteinového filmu ovlivňuje typ a rozsah následujících biologických reakcí jako aktivaci hemokoagulace a imunitní odpovědi stejně jako oseointegraci [16]. Prvotní adsorbovaná proteinová vrstva ovlivňuje biokompatibilitu [8, 17], podporuje žádaný růst kosti na povrchu implantátu. Mechanismus a faktory důležité k adsorpci a desorpci proteinů jsou stále předmětem výzkumu a zůstávají zatím z větší části nepochopeny [12, 13]. Proto je důležité zjistit, jak různé titanové povrchy ovlivňují tvorbu a vlastnosti adsorbované proteinové vrstvy.

Interakce mezi povrchem titanu a molekulami LPF je způsobena kombinací elektrostatických a van der Waalsových sil. Elektrický náboj na povrchu titanu a LPF lze experimentálně měnit. Elektrický náboj LPF závisí na pH, izoelektrický bod LPF je 5,1 až 6,3 [23]. Povrch titanu je hydrofilní a polární, proto přitahuje molekuly vody a ve vodě rozpustné molekuly. LPF je amfifilní s hydrofilními částmi soustředěnými v C konci alfa řetězce, který také nese kladný náboj [3]. Jestliže jsou jak povrch titanu tak i LPF molekula negativně nabitá, vzájemně se odpuzují. Tloušťka difuzních vrstev sousedících molekul je ovlivňována iontovou silou okolního prostředí. Vysoká iontová síla zmenšuje tloušťku difuzní vrstvy. V prostředí o vysoké iontové síle nejsou proto záporně nabitá molekuly LPF od povrchu titanu tak silně odpuzovány jako v prostředí o nízké iontové síle a mohou se dostat do jeho blízkosti.

Optické metody a moderní zobrazovací metody, jako je mikroskop atomárních sil (AFM - Atomic Force Microscope), mohou přinést nový a podrobnější pohled na adsorpci biopolymerů [9, 14, 19]. Mnoho významných studií tenkých organických filmů bylo provedeno pomocí elipsometrie [9, 14]. Elipsometrické techniky zaznamenaly během posledních dvaceti let značný rozvoj. Rozšíření této techniky do infračervené oblasti bylo možné ve spojení s Fourier-transformačním infračerveným spektrofotometrem. Tato kombinace přinesla značný pokrok při studiu struktury složitých tenkých organických filmů (vysokoteplotní supravodivost nebo anizotropie materiálu) [9]. Při studiu adsorpci DNA elipsometrii použili poprvé Humphreys a Parsons [10].

V tomto sdělení se věnujeme vlivu úpravy fyzikálních vlastností povrchu titanu mechanickým broušením a leptáním v kyselinách a dopováním uhlovodíkových povlaků titanem na adsorpci LPF. Adsorpci LPF jsme sledovali pomocí laserového difrakčního senzoru (diffractive optical element - DOE) a elipsometrie [5, 6, 19-21]. Předpokládáme, že nalezení optimálních podmínek povrchové úpravy a cílené adsorpci proteinového biomateriálu na registrované či nově vyvíjené dentální implantáty pomůže zlepšit průběh oseointegrace a vhojení aplikovaného implantátu. Ukazujeme, jak lze těmito optickými metodami studovat také adsorpci jednořetězových a dvoušroubovicových oligodeoxynukleotidů (DDN) na povrch titanu a jak ovlivňuje adsorpci jejich konformace.

Materiál a metoda

Vzorky titanu a chemikálie

Adsorpci oligonukleotidů a fibrinogenu byla sledována na vzorcích z technicky čistého titanu (12 válcových a 12 plochých vzorků po 30 kusech),

titanové slitiny Ti6Al4V (12 válcových a 12 plochých vzorků po 30 kusech), Timetal 550 (12 válcových vzorků po 25 kusech) a Timetal 21SR (12 válcových vzorků po 25 kusech), jejichž povrch je buď leštěný nebo pískovaný brusivem o zrnitosti 22, 60 a 120. Všechny 4 typy povrchů byly pak ještě upraveny leptáním bez povrchové ztráty materiálu a s povrchovou ztrátou materiálu 0,03 mm. Dále jsme sledovali adsorpci fibrinogenu na vzorcích uhlovodíkových povlaků dopovaných titanem pomocí plazmového napařování (plasma - enhanced chemical vapour deposition) [15, 20, 22]. Ukázány jsou výsledky optických měření na vzorcích z technicky čistého titanu, jejichž povrch byl upraven leštěním (vzorek II/1) a následným leptáním s povrchovou ztrátou 0,03 mm (vzorek II/3) a na uhlovodíkových povlacích dopovaných titanem. Drsnost povrchu byla měřena pomocí AFM mikroskopu Explorer III (Veeco, Santa Barbara, Kalifornie, USA) v Českém metrologickém ústavu v Brně (Dr. Petr Klapetek).

Lidský plazmatický fibrinogen, frakce I, typ III, byl zakoupen od firmy Sigma a rozpuštěn ve fosfátovém pufru s 0,136 M citrátem sodným, výsledná koncentrace LPF byla 500 nM.

Oligodeoxynukleotidy–homopurinový (AAG)₁₂ a homopyridinový (TTC)₁₂ (36 mery, ve kterých se 12krát opakuje sekvence AAG, případně TTC), byly získány od firmy Thermo Electron (Ulm, Německo) a rozpuštěny v 0,3 M NaCl + 50mM Na₂HPO₄ (pH 8,3). Koncentrace oligodeoxynukleotidů byla 5 μM. K přípravě dvoušroubovicového duplexu (AAG)₁₂.(TTC)₁₂ byla směs obou jednořetězových 36 merů o koncentraci 5 μM zahřáta ve vodní lázni na 95 °C a po 1 minutě byla ponechána zvolna chladnout až na pokojovou teplotu.

Optická měření

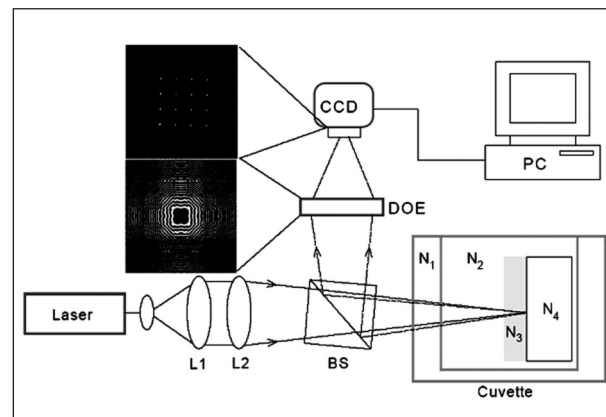
Princip měření pomocí DOE je znázorněn na obrázku 1. Paprsek z laseru o vlnové délce $\lambda = 632,8$ nm je čočkami L1 a L2 zaostřen na kyvetu se studovaným roztokem (základní elektrolyt, roztok fibrinogenu nebo roztok ODN), do kterého je ponořen vzorek titanu. Jako N_i jsou označeny komplexní indexy lomu $N = n + i\kappa$ jednotlivých prostředí kyvety (n – reálný index lomu, κ – index absorpce, extinkční koeficient). N_1 – okénko kyvety, N_2 – studovaný roztok, N_3 – povrchová adsorbovaná vrstva, N_4 – titan. Paprsek odražený zpět z povrchu dopadá na hranol BS (beam splitter), interferuje s dopadajícím paprskem a je veden na holografickou mřížku DOE. Po průchodu mřížkou vzniká interferenční obrazec snímáný CCD kamerou a analyzovaný počítačem PC. Je-li povrch vzorku zcela hladký a nedochází na něm k absorpci nebo rozptylu laserového paprsku, je interferenčním obrazcem 16 (= 4x4) jasných ostrých bodů, jak je znázorněno na obrázku 1. Čím jsou tyto body méně intenzivní a méně ostré, tím

je povrch vzorku drsnější a více absorbuje dopadající paprsek. Analýzou interferenčního obrazce (koherentní výstup DOE) počítač vypočte tzv. optickou drsnost povrchu R_{opt} , [18-21]. Nekoherentní výstup DOE se zobrazí vně interferenčního obrazce a závisí na komplexní permitivitě povrchové vrstvy $\epsilon = \epsilon' + i\epsilon'' = (n + i\kappa)^2$. Mezi permitivitou, indexem lomu a indexem absorpce platí vztahy $\epsilon' = n^2 - \kappa^2$, $\epsilon'' = 2n\kappa$.

Elipsometrická měření byla uskutečněna na spektroelipsometru Woollam v suchém stavu po vytažení vzorku z roztoku. Z těchto měření byl stanoven komplexní index lomu N povrchu titanového vzorku a odrazivost (reflektance) $R = |(1-N)/(1+N)|^2$. Tloušťku adsorbované vrstvy h lze vypočítat z naměřeného extinkčního koeficientu pomocí Lambert-Beerova zákona:

$$h = -\log(I/I_0)\lambda/4\pi\kappa.$$

V tomto vztahu I a I_0 jsou intenzity paprsku odraženého z povrchu titanu pokrytého adsorbovanou vrstvou fibrinogenu a z čistého povrchu titanu. Optická měření byla uskutečněna v Ústavu fyziky univerzity v Joensuu ve Finsku.



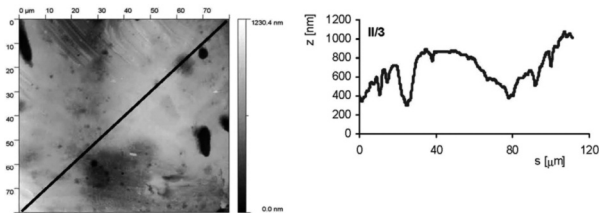
Obr. 1. Princip měření pomocí DOE.

L1, L2–čočky zaostřující paprsek z laseru na kyvetu se studovaným roztokem; kyveta, komplexní indexy lomu: N_1 –okénko kyvety, N_2 –studovaný roztok, N_3 –povrchová adsorbovaná vrstva, N_4 –titan, BS–beam splitter, DOE–difrakční optický element, holografická mřížka, CCD–snímací kamera

Výsledky a diskuse

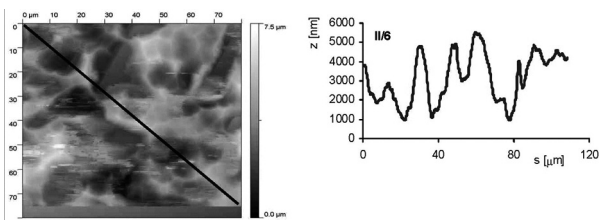
Měření drsnosti povrchu pomocí AFM

Jak povrchová úprava vzorku ovlivňuje drsnost povrchu, je ukázáno na obrázku 2 a obrázku 3. Jedná se o vzorky II/3 (povrch byl upraven leštěním a následným leptáním s povrchovou ztrátou 0,03 mm) a II/6 (povrch byl pískovaný zrnitostí 120 a leptaný s povrchovou ztrátou materiálu 0,03 mm). Byl stanoven profil povrchu ve směru úhlopříčky vyznačené na AFM snímku. Rozptyl nerovností u vzorku II/3 je přibližně 600 nm (osa z na



Obr. 2. AFM vzorku II/3 (leštěný a leptaný s povrchovou ztrátou 0,03 mm).

Snímek povrchu a jeho profil ve směru úhlopříčky, naznačené ve snímku, byl měřen pomocí AFM mikroskopu Explorer III (Veeco, Santa Barbara, Kalifornie, USA).



Obr. 3. AFM vzorku II/6 (pískovaný zrnitostí 120 a leptaný s povrchovou ztrátou materiálu 0,03 mm).

Snímek povrchu a jeho profil ve směru úhlopříčky, naznačené ve snímku, byl měřen pomocí AFM mikroskopu Explorer III (Veeco, Santa Barbara, Kalifornie, USA).

obrázcích profilu), zatímco u vzorku II/6 je to téměř desetkrát více, přibližně 5000 nm.

Adsorpce fibrinogenu na povrch titanu a titanem dopovaných uhlovodíkových povlaků

V tabulce 1 jsou ukázány výsledky měření adsorpce fibrinogenu lidské krevní plazmy na vzorek z technicky čistého titanu, jehož povrch byl upraven leštěním (vzorek II/1). V prvním sloupci (Buffer-interface) jsou výsledky měření difrakčním optickým elementem DOE a elipsometrem se vzorkem ponořeným jen v pufru. Druhý sloupec (HPF-interface) ukazuje, jak se hodnoty změnily po přidání LPF do pufru. Nekoherentní signál DOE, odpovídající změně komplexní permitivity, případně komplexního indexu lomu povrchové vrstvy, se zvýšil, optická drsnost R_{opt} se prakticky nezměnila (pozorovaná změna je v mezích experimentálních chyb). Tloušťka vrstvy se zvětšila asi o 1 nm (poslední řádek v tabulce). V tabulce 2 je totéž ukázáno pro vzorek II/3, jehož povrch byl upraven leštěním a následným leptáním. Je vidět, že po adsorpci fibrinogenu dochází zde k mnohem větším změnám optických parametrů. Optická drsnost R_{opt} se zvýšila asi o 17 nm, tloušťka vrstvy h vzrostla na 15–25 nm. Z toho lze usoudit, že fibrinogen se lépe adsorbuje na povrchu leptaném a leštěném nežli na povrchu pouze leštěném. Proto lze také předpokládat, že leptaný povrch bude z hlediska oseointegrace

Tab. 1. Měření difrakčním optickým elementem DOE a elipsometrem se vzorkem II/1 (leštěný povrch).

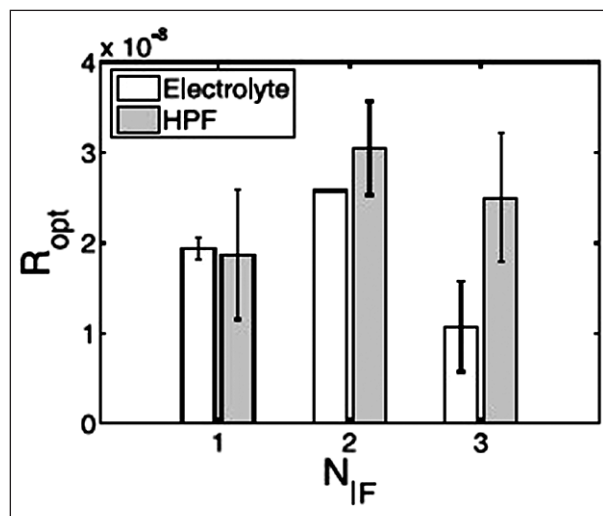
(nm)	Buffer Ti _{GR} interface	HPF - Ti _{GR} interface
DOE _{non-coherent} (wet)	21,5	25,0
DOE _{coherent} R_{opt} (wet)	19,4	18,7
Ellipsometer (dry) Beer-Lambert $h = -\log(I/I) \lambda / 4\pi\kappa$	0,1	1,5

DOE non-coherent podává informace o komplexním indexu lomu povrchu vzorku, DOE coherent je optická drsnost povrchu. Ellipsometer (dry): tloušťka povrchové vrstvy vypočtená z Lambert-Beerova zákona. Číselné hodnoty všech veličin jsou uváděny v nm.

Tab. 2. Měření difrakčním optickým elementem DOE a elipsometrem se vzorkem II/3 (leštěný a leptaný povrch).

(nm)	Buffer Ti _{ET} interface	HPF - Ti _{ET} interface
DOE _{non-coherent} (wet)	29,8	36,4
DOE _{coherent} R_{opt} (wet)	20,5	37,9
Ellipsometer (dry) Beer-Lambert $h = -\log(I/I) \lambda / 4\pi\kappa$	0,1	15,7
		–
		25,4

DOE non-coherent podává informace o komplexním indexu lomu povrchu vzorku, DOE coherent je optická drsnost povrchu. Ellipsometer (dry): tloušťka povrchové vrstvy, vypočtená z Lambert-Beerova zákona. Číselné hodnoty všech veličin jsou uváděny v nm.



Graf 1. Změny optické drsnosti různě upravených povrchů titanu a uhlovodíkového povlaku dopovaného titanem po adsorpci fibrinogenu.

$N_{IF}=1$ leštěný povrch

$N_{IF}=2$ leštěný a leptaný povrch

$N_{IF}=3$ uhlovodíkový povlak dopovaný titanem v poměru Ti_{0,09}-C_{0,91}. Hodnoty optické drsnosti na svislé ose jsou uváděny v desítkách nanometrů ($1=10$ nm).

titanových implantátů vhodnější nežli povrch pouze leštěný.

Dále byly studovány 4 vzorky uhlovodíkových povlaků bez dopování a dopované titanem (Ti-C:H) v různém poměru Ti_x-C_{1-x} , které byly připraveny na pracovišti HVM Plasma, spol. s r. o., metodou reaktivního magnetronového naprašování, kde reaktivním plynem byl acetylén. K největším změnám optických parametrů po adsorpci fibrinogenu docházelo na vzorcích dopovaných v poměru $Ti_{0,09}-C_{0,91}$ a $Ti_{0,38}-C_{0,62}$. Takto upravené povrchy by měly být nejvhodnější z hlediska oseointegrace povrchu implantátů. Na vzorcích bez dopování $Ti_{0,00}-C_{1,00}$ (povrch odpovídá struktuře diamantu) a s velkým obsahem titanu $Ti_{0,82}-C_{0,18}$ byly optické změny po adsorpci fibrinogenu velmi malé. Na grafu 1 jsou porovnány výsledky měření změn optické drsnosti po adsorpci LPF různě upravených povrchů. Nejlepších výsledků bylo dosaženo na uhlovodíkovém povlaku dopovaném titanem (vzorek $N_{IF}=3$).

Růst osteoblastů na titanovém povrchu

Sledovali jsme růst lidských osteoblastů na titanových destičkách, vzorek II/1 a II/3. Buněčné linie lidských osteoblastů hFOB 1.19, použité v experimentu, byly získány z kolekce American Type Culture Collection (ATCC). Zkoumané titanové destičky byly vysterilizovány a umístěny do živného média s buňkami osteoblastů. Kultivace probíhala 6 dnů při 37 °C a 5% CO_2 . Zjistili jsme, že osteoblasty rostly lépe na povrchu II/3, který byl upraven leštěním a leptáním, nežli na povrchu pouze leštěném II/1. Poměr buněk (leštěný/leštěný a leptaný)=66,8 ± 3,6. Tyto výsledky podpořily náš předpoklad, že úprava povrchu zvýhodňující adsorpci fibrinogenu bude také zvýhodňovat růst osteoblastů a urychlí oseointegraci implantátu.

Adsorpce deoxyoligonukleotidů na povrchu titanu

a) Optická drsnost a tloušťka adsorbované vrstvy

Pomocí optického difrakčního senzoru (DOE) a elipsometrie jsme sledovali vliv morfologie a drsnosti povrchů titanových vzorků na adsorpci purinového (AAG)₁₂ a pyrimidinového (TTC)₁₂ oligodeoxynukleotidu. Měření koherentního výstupu DOE bylo zjištěno, že k největšímu zvýšení optické drsnosti R_{opt} (na hodnotu přibližně 35 nm) došlo po adsorpci jednořetězového pyrimidinového oligodeoxynukleotidu (TTC)₁₂. Elipsometrická měření v suchém stavu ukázala zvýšení tloušťky povrchové vrstvy h na přibližně 44 nm. Po adsorpci jednořetězového purinového deoxynukleotidu (AAG)₁₂ došlo k mnohem menšímu zvýšení optické drsnosti (na hodnotu asi 27 nm), z elipsometrie vyplynula tloušťka povrchové vrstvy h asi 25 nm. Adsorpce dvoušroubovicového oligodeoxynukleoti-

du (AAG.TTC)₁₂ nevyvolala téměř žádné změny optické drsnosti a tloušťka vrstvy se blížila hodnotám naměřeným v pufru ($R_{opt}=23$ nm, $h=18-20$ nm). Z těchto výsledků plyne, že na povrchu titanu se nejlépe adsorbují jednořetězové pyrimidinové ODN. Dvořetězové ODN se pravděpodobně na titanovém povrchu za daných experimentálních podmínek buď vůbec neadsorbují, anebo jen v malé míře, která neovlivní optické vlastnosti povrchu.

Zvýšení drsnosti povrchu Ti po adsorpci jednořetězových oligonukleotidů lze připsat tomu, že tyto poměrně flexibilní oligonukleotidy (o šířce přibližně 1 nm a délce $36 \times 0,34 = 12,24$ nm), adsorbované na Ti, kopírují nerovnosti povrchu a mohou tam vytvářet chaoticky neuspořádané „roští“ zvyšující drsnost povrchu. Bez aplikace elektrického pole se jednořetězové oligonukleotidy váží na hydrofobní povrch Ti přednostně hydrofobními bazemi. Z našich měření adsorpce oligodeoxynukleotidů (ODN) na Hg plyne, že pyrimidinové ODN se adsorbují více nežli purinové ODN [7]. Podobně lze očekávat, že i na hydrofobní povrch Ti se budou pyrimidinové ODN adsorbovat více nežli purinové ODN, což bylo experimentálně potvrzeno.

Aplikace elektrického pole způsobí, že se jednořetězové ODN adsorbují na povrch Ti také elektrostaticky negativními náboji na fosfátových skupinách. Elektrostatická adsorpce je silnější nežli adsorpce van der Waalsovými interakcemi uplatňujícími se bez pole. Proto jsme pozorovali zvýšení optické drsnosti po vložení potenciálu + 0,3 V na titanový vzorek.

Malé snížení drsnosti pozorované po adsorpci dvoušroubovicových oligonukleotidů (AAG.TTC)₁₂, představujících rigidní tyčky (o průměru přibližně 2 nm a délce 12 nm), lze vysvětlit tím, že tyto „klády“ překlenou nerovnosti v povrchu a vyhladí jej.

b) Změny indexu lomu

Z výsledků analýzy nekoherentního výstupu DOE bylo zjištěno, že po adsorpci jednořetězových purinových nebo pyrimidinových ODN se zvýšil index lomu n .

Zvýšení n bylo větší u purinového oligonukleotidu (AAG)₁₂ nežli u pyrimidinového (TTC)₁₂.

Zvýšení n bylo větší po aplikaci elektrického potenciálu + 0,3 V. Po adsorpci dvoušroubovicového oligonukleotidu (AAG.TTC)₁₂ se index lomu n nezměnil, po aplikaci elektrického potenciálu + 0,3 V se index lomu zvýšil. Index lomu, případně permitivita povrchové vrstvy, jsou dány polarizovatelností adsorbovaných molekul. Ta je u oligonukleotidů vyšší nežli u vody. Puriny mají vyšší polarizovatelnost než pyrimidiny (molekuly purinů jsou větší), proto při adsorpci purinových ODN se index lomu zvýší více nežli při adsorpci pyrimidinových ODN. Elektrické pole zvýší adsorpci

ODN, jak bylo uvedeno v předchozím odstavci, a pozorované změny indexu lomu jsou proto po aplikaci elektrického potenciálu na měřený vzorek větší.

Závěr

Adsorpci biomakromolekul na povrchy titanových implantátů a uhlovodíkových povlaků, dopovaných titanem, lze citlivě detekovat měřením optických vlastností povrchu pomocí difrakčního optického elementu a elipsometrie. Úprava fyzikálních vlastností povrchu může zvýšit adsorpci fibrinogenu na implantát, a tím urychlit jeho oseointegraci. Popsanými optickými metodami lze stanovit také vliv konformace oligodeoxynukleotidů na jejich adsorpci na povrch titanu. Hodnota optické drsnosti vrstvy R_{opt} , stanovená difrakčním optickým elementem, je přímo úměrná tloušťce vrstvy h stanovené elipsometricky.

Literatura

- Brett, P. M., Harle, J., Salih, V., Mihoc, R., Olsen, I., Jones, F. H., Tonetti, M.:** Roughness response genes in osteoblasts, *Bone*, 35, 2004, s. 124-133.
- Cacciafesta, P., Hallam, K. R., Watkinson, A. C., Allen, G. C., Miles, M. J., Jandt, K. D.:** Visualisation of human plasma fibrinogen adsorbed on titanium implant surfaces with different roughness. *Surf. Sci.*, 491, 2001, s. 405-420.
- Cacciafesta, P., Humphris, A. D. L., Jandt, K. D., Miles, M. J.:** Human plasma fibrinogen adsorption on ultra-thin titanium oxide surfaces studied with atomic force microscopy. *Langmuir*, 16, 2000, s. 8167-8175.
- Cochran, D. L.:** A comparison of endosseous dental implant surfaces. *J. Periodontol.*, 70, 2000, s. 1523-1539.
- Hasoň, S., Simonaho, S. P., Silvennoinen, R., Vetterl, V.:** On the adsorption and kinetics of phase transients of adenosine at the different carbon electrodes modified with a mercury layer. *Electrochimica Acta*, 48, 2003, s. 651-668.
- Hasoň, S., Simonaho, S. P., Silvennoinen, R., Vetterl, V.:** Detection of phase transients in two-dimensional adlayers of adenosine at the solid amalgam electrode surfaces. *J. Electroanal. Chem.*, 568, 2004, s. 65-77.
- Hasoň, S., Vetterl, V., Fojta, M.:** Two-dimensional condensation of pyrimidine oligonucleotides during their self-assemblies at mercury based surfaces. *Electrochimica Acta*, 53, 2008, s. 2818-2824.
- Hemmersam, A. G., Foss, M., Chevallier, J., Besenbacher, F.:** Adsorption of fibrinogen on tantalum oxide, titanium oxide and gold studied by the QCM-D technique. *Colloid Surf. B*, 43, 2005, s. 208-215.
- Humlíček, J. C., Bernard, C.:** Diffraction effects in infrared ellipsometry of conducting samples. *Thin Solid Films*, 455-456, 2004, s. 177-182.
- Humphreys, M. W., Parsons, R.:** Ellipsometry of DNA adsorbed at mercury electrodes: A preliminary study. *J. Electroanal. Chem.*, 75, 1977, s. 427-436.
- Jansson, E., Tengvall, P.:** Adsorption of albumin and IgG to porous and smooth titanium. *Colloid Surf. B*, 35, 2004, s. 45-51.
- Jones, M. I., McColl, I. R., Grant, D. M., Parker, K. G., Parker, T. L.:** Protein adsorption and platelet attachment and activation on TiN, TiC, and DLC coatings on titanium for cardiovascular applications. *J. Biomed. Mater. Res.*, 52, 2000, s. 413-421.
- Juany, N., Yang, P., Leng, Y. X., Chen, J. Y., Sun, H., Wang, G. J., Ding, P. D., Xi, T. F., Leng, Y.:** Hemocompatibility of titanium oxide films. *Biomaterials*, 24, 2003, s. 2177-2187.
- Karagkiozaki, V., Logothetidis, S., Kalfagiannis, N., Lousinian, S., Giannoglou, G.:** Atomic force microscopy probing platelet activation behavior on titanium nitride nanocoatings for biomedical applications. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 5, 2009, s. 64-72.
- Kulikovskiy, V., Kuzmichev, A., Bohaca, P., Hubicka, Z., Jurek, K., Jastrabik, L.:** Composition of Ti-C:H films obtained by pulsed and continuous magnetron sputtering. *Surf. Coat. Technol.*, 200, 2005, s. 620-624.
- Nygren, H., Tengvall, H. P., Lundstrom, I.:** The initial reactions of TiO₂ with blood. *J. Biomater. Res.*, 34, 1997, s. 487-492.
- Rouahi, M., Champion, E., Gallet, O., Jada, A., Anselme, K.:** Physico-chemical characteristics and protein adsorption potential of hydroxyapatite particles: Influence on in vitro biocompatibility of ceramics after sintering. *Colloid Surf. B*, 47, 2006, s. 10-19.
- Silvennoinen, R., Hasoň, S., Vetterl, V.:** Organization of nano-scale synthetic oligonucleotides on immersed electrode surface: an optical study. In Peiponen, K.-E., Hernberg, R., Yatagai, T. (editors): Technical digest of the Seventh Finnish-Japanese joint symposium on optics in engineering, (8-10 August, Tampere, Finland, 2007), s. 101-102.
- Silvennoinen, R., Peiponen, K. E., Myller, K.:** *Specular gloss*. Amsterdam, Elsevier, Amsterdam, 2007.
- Silvennoinen, R., Vetterl, V., Hasoň, S., Tuononen, H., Silvennoinen, M., Myller, K., Cvrček, L., Vaněk, J., Prachár, P.:** Sensing of human plasma fibrinogen on polished, chemically etched and carbon treated titanium surfaces by diffractive optical element based sensor. *Optics Express*, 16, 2008, č. 14/10130.
- Vetterl, V., Hasoň, S., Tuononen, H., Silvennoinen, M., Myller, K., Vaněk, J., Silvennoinen, R.:** Diffractive optical element spectroscopy of biomaterial surface. *Proc. of SPIE*, 7022, 2008, 702203. (Advanced Laser Technologies 2007, edited by Ivan A. Shcherbakov.)
- Vítu, T., Polcar, T., Cvrček, L., Novák, R., Macák, J., Vyskočil, J., Cavaleiro, A.:** Structure and tribology of biocompatible Ti-C:H Coatings. *Surf. Coat. Technol.*, 202, 2008, s. 5790-5793. (Sixth Asian-European International Conference on Plasma Surface Engineering.)
- http://www.haemtech.com/Platelet_Proteins/Fibrinogen.htm.

Poděkování

Článek vznikl za podpory grantového projektu MŠMT číslo 1M0528 Stomatologické výzkumné centrum, GAČR 202/08/1688 a GA AV ČR KAN 200040651. Za technickou pomoc při přípravě rukopisu autoři děkují paní Ludmile Markové a RNDr. Libuši Gandelové.

Prof. RNDr. Vladimír Vetterl, DrSc.
 Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i.
 Královopolská 135
 612 65 Brno
 e-mail: vetterl@ibp.cz

Implantologická liečba po parodontitickej deštrukcii alveolárnej kosti

Implantological treatment after parodontic destruction of alveolar bone

Strecha, J., Jurkovič, R., Bartáková, S., Siebert, T., Prachár, P.

MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent medima s.r.o., Priehradka 20, 036 01 Martin, Slovenská republika

MUDr. Richard Jurkovič, PhD., DEIMPERIO, spol. s r. o., Líščie Nivy 6, 821 08 Bratislava, Slovenská republika

MUDr. Tomáš Siebert, PhD., DENTÁLNE CENTRUM, spol. s r. o., Jeruzalemská 19, 917 01 Trnava, Slovenská republika

MUDr. Patrik Prachár, PhD., Stomatologická klinika lekárskej fakulty Masarykovej univerzity a FN u sv. Anny v Brne, Pekařská 53, 656 91 Brno, Česká republika

MUDr. Sonia Bartáková, PhD., Stomatologická klinika lekárskej fakulty Masarykovej univerzity a FN u sv. Anny v Brne, Pekařská 53, 656 91 Brno, Česká republika

Abstrakt

Autori vo svojej práci popisujú dvojfázovú liečbu kostného defektu po strate zuba 32 v dôsledku neliečenej agresívnej parodontitídy. V prvej fáze bola vykonaná augmentácia kostného defektu syntetickým kolagénhydroxyapatitom (Biovan K) s bariérovou membránou (Biovan). V druhej fáze náhradou strateného zuba 32 skrutkovým bikortikálnym implantátom s plastikou marginálnej gingívy a papíl.

Kľúčové slová: parodontitis, alveolárny kostný defekt, augmentácia alveolárnej kosti, dentálny implantát.

Abstract

The authors in their work describe a two-phase treatment of bone defect after loss of the 32nd tooth due to untreated aggressive parodontitis. In the first phase, alveolar ridge augmentation by means of synthetic collagen-hydroxy-apatit (Biovan K) with a barrier membrane (Biovan) was done. In the second phase, the lost 32nd tooth was replaced with a bicortical screw implant after plastic correction of marginal gingiva and papillae.

Key words: parodontitis, alveolar bone defect, augmentation of alveolar bone, dental implant.

Úvod

Liečba parodontitídy jednotlivého zuba zachytená vo včasnem štádiu má svoj význam. Keď sa však pacient dostaví v pokročilom štádiu postihnutia parodontu, je jedinou alternatívou extrakcia postihnutého zuba. Dôsledkom parodontického procesu býva často pomerne veľká strata kostného tkaniva, obnaženie koreňov susedných zubov so stratou gingiválnych papíl a strata opory pre mäkké tkanivá. Riešenie takéhoto defektu v zubnom oblúku nebýva jednoduché. Aj klasické fixné riešenie mostíkom je v dôsledku straty kostného podkladu veľmi problematické. Použitie augmentačných techník je v týchto prípadoch opodstatnené a odporúčané.

Materiál a metodika

Pacientka, vo veku 34 rokov, prišla do zdravotníckeho zariadenia Eurodent medima, s.r.o., v októbri 2007

s požiadavkou riešenia defektu chrupu po strate zuba 32. Po základnom vyšetrení bol zistený nasledujúci stav:

- defekt v dolnom zboradí po extrakcii 32 cca pred 4 týždňami,
- gingíva po extrakcii zhojená,
- prítomný vertikálny a antero-posteriórny (vestibulárny) defekt alveolárneho hrebeňa,
- stesnanie zubov dolného frontálneho úseku,
- prítomnosť malého množstva zubného kameňa v lingválnej oblasti dolných frontálnych zubov,
- chrup sanovaný.

OPG vyšetrenie (obr. 1):

- stav po extrakciách zubov 26, 16 a 36 v minulosti so sklonom zubov 17, 27 a 37,
- parodontitis 35,
- rozsiahly defekt alveolárneho hrebeňa po parodontitíde 32.

Iontraorálny rtg oblasti 32 (obr. 2):

- rozsiahly defekt alveoly po predchádzajúcom parodontitickom procese,
- zachované alveoly zubov 31 a 33,
- zachovaná časť lingválnej steny alveoly 32.



Obr. 1. Rtg snímka po extrakcii zuba 32 pre rozsiahly parodontitický proces (Foto: Eurodent medima)

Fig. 1. X-ray picture of the 32nd tooth extracted due to widespread periodontal process. (Photo: Eurodent medima)



Obr. 2. Rtg snímka po 2,5 mesiaca od 1. operácie – augmentácia kostného defektu (Foto: Eurodent medima)

Fig. 2. X-ray picture: 2.5 months after 1st operation – augmentation of the defective bone. (Photo: Eurodent medima)

Pacientke bola vysvetlená problematika protetického alebo implantologického ošetrenia. Vzhľadom na rozsiahly kostný defekt po zápalovom procese vyžadoval stav v prvej etape chirurgickú rekonštrukciu alveolárneho hrebeňa augmentačnou technikou. V druhej etape, po osteogenéze, bude možné pristúpiť k rekonštrukcii defektu v zubnom oblúku implantologickým riešením. Časový rozsah medzi jednotlivými etapami ošetrenia sa predpokladal na 6 – 12 mesiacov. Obdobie medzi jednotlivými operačnými zákrokmi sa bude riešiť výrobou estetického lepeného medzerníka. Pacientka s navrhovanou liečbou súhlasila.

Pred chirurgickým výkonom bola pacientke urobená dentálna hygiena a subgingiválne ošetrenie zuba číslo 35 postihnutého parodontitídou.

1. operačný výkon

V novembri 2007 bol vykonaný operačný výkon I. etapy – rekonštrukcia alveolárneho hrebeňa v lokálnej infiltračnej anestézii Supracain. Slizničný rez sa vedie nad vrcholom lingválnej steny zníženého alveolárneho hrebeňa. Sliznica sa lingválnym smerom preparuje od periostu a na lingválnej stene rezom uvoľňuje periostálny lalok. Dva pomocné vestibulárne rezy od zubov 31 a 33 kolmo do vestibula umožnia odklopenie laloka. Vestibulárny lalok spolu s lingválnym periostálnym lalokom sa postupne na ostro preparuje od granulácií po predchádzajúcom zápalovom procese. Prítomnosť periostu vestibulárneho laloka umožňuje sutúru mäkkých tkanív po augmentácii kostného defektu bez napätia. Kostný defekt sa dokonale exkochleuje a vyplachuje fyziologickým roztokom. Takto ošetrený sa augmentuje pripravenou hmotou kolagénhydroxyapatitu (Biovan K) a plazmy bohatej na trombocyty – PRP (platelet rich plasma). Pretože periost vestibulárneho laloka bol výrazne poškodený predchádzajúcim zápalovým procesom, je augmentačný materiál prekrytý kolagénovou bariérovou membránou tak, aby okraje membrány dosadali na zdravé kostné tkanivo okolo defektu. Vestibulárny lalok sa preklápa cez alveolu späť a postupne sutúruje atraumatickým šicím materiálom Vicryl 4/0. Vrchol alveolárneho hrebeňa kryje periostálny lingválny lalok, ktorý sa sutúruje matracovými vertikálnymi stehmi.

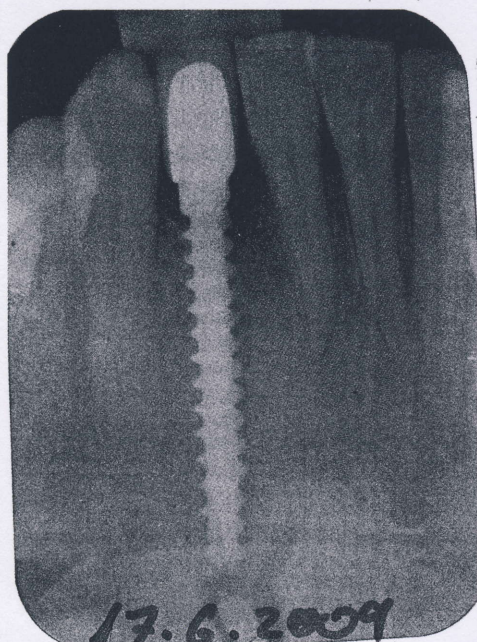
Pooperačne je pacientke nasadený lepený medzerník a priebeh hojenia je krytý ATB (amoxicilin/klavulanát 1 g á 12 hodín p. o.).

Dva a pol mesiaca po operácii vyhotovená kontrolná rtg snímka (obr. 3) ukazuje augmentačný materiál s náznakmi osteogenézy z okrajových častí kostného defektu. Ďalšia rtg kontrola po 8. mesiacoch od 1. operácie ukázala tvorbu kostného tkaniva v rozmeroch pôvodného kostného defektu (obr. 4). II. fáza liečby – aplikácia skrutkového bikortikálneho

implantátu – bola naplánovaná na február 2009, t. j. 14 mesiacov od 1. operácie.



Obr. 3. Rtg snímka 7,5 mesiaca od 1. operácie. Genéza kostného tkaniva (Foto: Eurodent medima)
Fig. 3. X-ray picture: 7.5 months after 1st operation. Development of osseous tissue. (Photo: Eurodent medima)



Obr. 4. Rtg snímka po 2 mesiacoch od aplikácie bikortikálneho implantátu s kovokeramicou proteticou náhradou (Foto: Eurodent medima)
Fig. 4. X-ray picture: 2 months after application of bicortical implant with metal-ceramic prosthetic replacement. (Photo: Eurodent medima)

2. operačný výkon

V lokálnej anestézii sa sprístupňuje vrchol a časť vestibulárnej steny alveolárneho hrebeňa vrcholovým

rezom medzi 33 a 31. Vrchol alveoly je tvorený trám-covitým kostným tkanivom so zvyškami hydroxyapatitu a je široký cca 3 mm. Inštrumentárium určeným na zavádzanie bikortikálnych implantátov sa opatrne zavádza bikortikálny implantát s dĺžkou závitovej časti 20 mm. Chýbajúce kostné tkanivo okolo závitov implantátu z vestibulárnej strany je doplnené kolagénhydroxyapatitom s plazmou bohatou na trombocyty – PRP plazma. Implantát je primárne dobre fixovaný silou, vyjadrenou krúťivým momentom nad 35 N/cm. Sliznica je sutúrovaná vertikálnymi matracovými stehmi v oblasti papíl atraumatickým materiálom veľkosti 5/0. Pooperačný priebeh je krytý ATB (Amoxicilin/klavulanát 1g á 12 hodín). Ihneď po operácii je pacientke v ambulancii vyhotovená provízorná korunka z kompozitného materiálu, s leštenou krčkovou časťou, ktorá tvorí podklad pre modeláciu marginálnej gingívy a papíl. Po mesiaci od implantácie je vyrobená definitívna kovokeramicá korunka (obr. 5, 6).



Obr. 5. Stav gingiválnych tkanív 3 mesiace od nasadenia protetickej náhrady (Foto: Eurodent medima)
Fig. 5. State of gingival tissues three months after implantation of the prosthetic implant. (Photo: Eurodent medima)



Obr. 6. Anatómia alveolárneho hrebeňa z vestibulárnej strany (Foto: Eurodent medima)
Fig. 6. Anatomy of alveolar ridge, view from vestibular side. (Photo: Eurodent medima)

Diskusia

Parodontitída je zápalový deštruujúci proces, ktorý ničí závesný aparát vrátane kosti. Nezriedka je diagnostikovaná práve až v štádiu, keď už nie je možná liečba a záchrana zuba. V rámci tohto procesu vzniká výrazná deštrukcia okolitej kosti. Takéto stavy sú vždy výzvou pre lekára, predovšetkým v situáciách, keď ide o ohraničený proces v prevažne ozubených alveolárnych výbežkoch. Jedným z veľmi oprávnených snažení je snaha rekonštruovať defekt a následne ho rehabilitovať náhradou nesenou na zubnom implantáte. Cieľom, okrem samotného ošetrenia defektu, je zabrániť ďalšiemu úbytku kosti ex inaktivitatem, ako aj nepoškodenie okolitých zubných štruktúr, ktoré sú potrebné pri náhrade strateného zuba klasickou fixnou protetikou.

Prepracovaných a používaných augmentačných metodík v tejto indikácii je viac. Jednou z možností je expanzia kosti (bone expansion technique) [10]. Táto technika má viac modifikácií. Dôležitým faktom je, že musí byť zachovaný vertikálny rozmer alveoly, zároveň aj časť jej šírky, aby bolo čo expandovať. Na túto metodiku sa používajú rôzne druhy nástrojov – kostných expandérov, ktoré majú buď tvar valca, skrutiek, alebo podobne. Cieľom je postupne a šetrne mierne rozšíriť kosť daného úseku a zároveň ju zahustiť (bone condensing), čo má pozitívny vplyv na následnú primárnu stabilitu zavedeného skrutkového implantátu. Táto metodika je vhodnejšia v redších kostiach čeluste, ale nie je jej využitie vylúčené aj v sánke.

Lee vo svojej práci popisuje sendvičovú techniku (sandwich bone augmentation), pomocou ktorej horizontálne navyšuje kosť alveolárneho výbežku [4]. Na preparáciu kosti sa dá veľmi efektívne využiť piezochirurgická technika [8]. Táto metodika je zaujímavá, no podľa našej mienky pre pacienta dosť zaťažujúca, čo sa týka chirurgie. V našom prípade sme potrebovali navyšiť omnoho menší defekt, ktorý nebol na takúto metodiku vhodný.

Najčastejšie používané metodiky, ktorými sa navyšuje objem deficientnej kosti patria do oblasti riadenej kostnej regenerácie, pri ktorej sa využívajú ako lešenie na vytvorenie objemu augmentovanej oblasti rôzne druhy kostných náhrad. Na zamedzenie vrastaniu iných ako kostných buniek, v prípade porušeného periostu, ktorý funguje tak isto ako dokonalá a navyše prirodzená bariérová membrána, sa využívajú rôzne druhy nevstrebateľných, ako aj vstrebateľných membrán. Na podporenie osteoindukcie sa môžu pridávať rôzne pomocné rastové faktory. V našej praxi používame s úspechom plazmu bohatú na trombocyty (PRP). Táto sama osebe nemá zväštné, kosť podporujúce účinky, ale na druhej strane veľmi pozitívne ovplyvňuje

a urýchľuje pooperačné hojenie mäkkých tkanív. Zároveň minimalizuje pooperačný opuch. Tento fakt má vplyv na pooperačný komfort pacientov a minimalizuje možnosť dehisencie operačnej rany [2]. Okrem rôznych druhov náhrad kosti sa pri riadenej kostnej regenerácii používajú aj špecifické rastové faktory, ako napríklad rhPDGF-BB (rekombinantný ľudský z trombocytov odvodený rastový faktor BB – recombinant human platelet-derived growth factor BB), ktoré majú zlepšovať a urýchľovať novotvorbu kosti [9].

Urban a kol. využívali vo svojom klinickom pozorovaní titanom spevnenú polytetrafluoroethylénovú (e-PTFE) nevstrebateľnú membránu. Indikovali ju pri vertikálnej augmentácii v kombinácii s malými časticami vlastnej kosti. Táto terapeutická modalita sa im veľmi osvedčila. Implantáty zavedené do takto vytvorenej kosti vykazovali len o málo horšie výsledky ako implantáty zavádzané do vlastnej kosti [14]. V našom prípade sme volili použitie vstrebateľnej membrány, ktorú v našej praxi preferujeme. Jednoduchšie sa s ňou pooperačne manipuluje. Jeden z účelných spôsobov, akým sa dá doplniť chýbajúca kosť, je použitie tzv. J-šepu (J-graft). Ide väčšinou o kortikokancelózny štep tvaru písmena J. Možno ho odobrať a vytvarovať z autogénnej, alebo aj alogénnej kosti. Jeho výhodou je, že sa s ním dá relatívne prediktabilne navyšovať kosť v troch dimenziách, teda pri defekte alveolárneho výbežku, ktorý je v troch rozmeroch [7].

Veľmi efektívne riešenie, akým sa dá najjednoduchšie zamedziť poextrakčnej resorpcii, je okamžitá, alebo 1 – 4 týždne odložená poextrakčná implantácia [3]. Samozrejme, tu je podmienkou, že poextrakčne nesmie byť veľmi deštruovaná alveola. Túto podmienku náš prípad nespĺňal. V istých prípadoch sa javí ako veľmi účelné, pokiaľ nie je možná poextrakčná implantácia, okamžite po extrakcii použiť augmentačný materiál na zachovanie objemu alveolárneho výbežku po extrakcii (socket preservation procedure), a tým zabrániť atrofii ex inaktivitatem [13, 1].

Louis a kolektív popisali použitie titanovej (Ti) mriežky spolu s partikulovaným kostným štepom. Vyzdvihujú použitie Ti mriežky pri rekonštrukciách väčších defektov a tvrdia, že tomuto typu mriežky nevádi odhalenie [5].

Von Arx a kolektív sa zaoberali porovnávaním rôznych materiálov a techník pri predimplantačnom navyšovaní kosti u psov v rámci experimentálnej štúdie. Vo svojej práci porovnávali použitie autogénneho kortikokancelózneho štepu, kortikonacelózneho štepu spolu s e-PTFE membránou, tricalcium fosfátových granúl v kombinácii s e-PTFE membránou a demineralizovaný lyofilizovaný partikulovaný alograft, ktorý prekryli s e-PTFE membránou

Po zhodnotení výsledkov konštatovali, že nezistili žiadny významný rozdiel pri použití týchto štyroch terapeutických modalít [15]. Dlhé obdobie sa autogénna kosť považovala za zlatý štandard pri augmentáciách. Čím ďalej, tým viac autorov tento fakt, na základe svojich pozorovaní a skúseností, spochybňuje [6].

V našej praxi používame majoritne vstrebateľné kolagénové membrány v prípadoch, keď nie sme schopní inou chirurgickou metódou, s použitím vlastného periostu, zabezpečiť nerušené hojenie kosti [12]. Výhoda ich použitia je predovšetkým pri výkonoch, kde neplánujeme druhú operačnú fázu, ktorá je potrebná pri použití nevstrebateľných membrán na ich odstránenie po fáze hojenia. Tento postoj zaujímajú aj iní autori venujúci sa tejto problematike [11].

Záver

Škody na kostnom tkanive spôsobené zápalovým, parodontitickým procesom sú deštruktívne. V rámci protetického riešenia takto vzniknutých defektov v zubnom oblúku, je potrebné myslieť na rekonštrukciu anatomického tvaru alveolárneho hrebeňa z funkčného aj estetického hľadiska. Existuje množstvo augmentačných metód popísaných v odbornej literatúre. Ich výber závisí od daných anatomických podmienok, klinického a psychického stavu pacienta a erudovanosti operátora. Spoločným znakom všetkých augmentačných metód je dodržiavanie zásad fyziologického operovania, zabezpečenie dobrej výživy tkanív, hojenia per primam a dôkladnej pooperačnej hygieny. V neposlednom rade sa na pozitívnom výsledku podpisuje aj trpezlivosť pacienta a operátora.

Literatúra

1. ALLEGRI, S. Jr, KOENING, B. Jr, ALLEGRI, M., R., YOSHIMOTO, M., GEDRANGE, T., FANGHAENEL, J., LIPSKI, M.: Alveolar ridge sockets preservation with bone grafting-review. *Ann Acad Med Stetin*. 2008; 54 (1):70 – 81.
2. HOLLY, D., MRACNA, J.: The use of plated rich plasma with guided tissue regeneration in defects caused by periodontal diseases. *Bratisl Lek Listy* 2009, 110 (10), str. 669 – 671.
3. KAHNBERG, K., E.: Immediate implant placement in fresh extraction sockets: a clinical report. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009 Mar-Apr; 24 (2): 282 – 288.
4. LEE, A., BROWN, D., WANG, H., L.: Sandwich bone augmentation for predictable horizontal bone augmentation. *Implant Dent*. 2009 Aug;18 (4): 282 – 290.
5. LOUIS, P., J., GUTTA, R., SAID-AL-NAIEF, N., BARTOLUCCI, A. A.: Reconstruction of the maxilla and mandible with particulate bone graft and titanium mesh for implant placement. *J Oral Maxillofac Surg*. 2008 Feb;66 (2): 235 – 245.
6. LUPOVICI, J.: Revisiting the hopeless ridge: part I-challenging the gold standard. *Compend Contin Educ Dent*. 2009 Apr; 30 (3):130 – 132, 134 – 139; quiz 140, 154.

7. MOGHADAM, H., G.: Vertical and horizontal bone augmentation with the intraoral autogenous J-graft. *Implant Dent*. 2009, Jun 18 (3): 230 – 238.
8. MOON, J., W., CHOI, B., J., LEE, W., H., AN, K., M., SOHN, D., S.: Reconstruction of atrophic anterior mandible using piezoelectric sandwich osteotomy: a case report. *Implant Dent*. 2009 Jun; 18 (3): 195 – 202.
9. NEVINS, M., L., CAMELO, M., NEVINS, M., SCHUPBACH, P., FRIEDLAND, B., CAMELO, J., M., KIM, D., M.: Minimally invasive alveolar ridge augmentation procedure (tunneling technique) using rhPDGF-BB in combination with three matrices: a case series. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2009 Aug; 29 (4): 371 – 383.
10. PICCININI, M.: Mandibular bone expansion technique in conjunction with root form implants: a case report. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009 Sep; 67 (9): 1931 – 1936.
11. PROUSSAEFS, P., LOZADA, J.: The use of resorbable collagen membrane in conjunction with autogenous bone graft and inorganic bovine mineral for buccal/labial alveolar ridge augmentation: a pilot study. *J Prosthet Dent*. 2003 Dec; 90 (6): 530 – 538.
12. STRECHA, J., JURKOVIČ, R., SIEBERT, T., BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P.: Poextrakčné augmentácie alveolárneho hrebeňa maxily. *Stomatolog*, XIX, 2009, 2, s. 45 – 51.
13. STRECHA, J., JURKOVIČ, R., SIEBERT, T., PRACHÁR, P., BARTÁKOVÁ, S.: Plastika vestibulárnej steny alveolárneho výbežku maxily periostálnym lalokom. *Stomatológ*, roč. XIX, č. 1, 2009, s. 26 – 30.
14. URBAN, I., A., JOVANOVIĆ, S., A., LOZADA, J., L.: Vertical ridge augmentation using guided bone regeneration (GBR) in three clinical scenarios prior to implant placement: a retrospective study of 35 patients 12 to 72 months after loading. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2009 May-Jun; 24 (3): 502 – 510.
15. von ARX, T., COCHRAN, D., L., HERMANN, J., S., SCHENK, R., K., HIGGINBOTTOM, F., L., BUSER, D.: Lateral ridge augmentation and implant placement: an experimental study evaluating implant osseointegration in different augmentation materials in the canine mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2001 May-Jun; 16 (3): 343 – 354.

MUDr. Juraj Strecha, PhD.
Eurodent medima, s.r.o.
Priehradka 20
036 01 Martin
strecha@medima.sk

Struktura povrchu implantátů ovlivňuje růst buněk

The structure of the implant surface influences cell growth

Prachár, P.* a Bartáková, S.*, Strecha, J., Březina, V., Kudrman, J.†

MUDr. Patrik Prachár, PhD., MUDr. Sonia Bartáková PhD., Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno. Prednosta: prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc.
MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent medima, s.r.o., Martin
Ing. Vítězslav Březina, CSc., B.P. Medical spol. s r.o., Příkop 843/4, 60200 Brno
Ing. Jiří Kudrman, DrSc., UJP Praha a.s., Nad kamínkou 1345, 156 10 Praha - Zbraslav
*stejným dílem jako první autoři

Věnováno k významnému životnímu jubileu přednosta Stomatologické kliniky Brno prof. MUDr. Jiřího Vaňka, CSc.

Abstrakt

Povrch implantátu do značné míry ovlivňuje chování buněk, které jsou na něj vyseté. Rozdíly buněčných reakcí na různě opracovaném povrchu byly studovány na vzorcích titanových slitin užívaných jako implantáty. Tento fenomén vyjádřitelný morfologií povrchu buněk byl hodnocen pomocí rastrovacího elektronového mikroskopu. Bylo tak prokázáno, že interakce materiál-buňka, stejně jako buňka-buňka závisí na struktuře povrchu. Leštěný povrch materiálu vykazuje menší schopnost růstu buněk. Pro materiál zrnitější je pro adhesi a rozprostření buněk příznivější naleptání povrchu směsí HCl a HNO₃.

Klíčová slova: struktura povrchu, růst buněk, adheze, leštěný povrch, naleptání.

Abstract

Implant surface influences to some extent the behaviour of cells which colonise it. Differences of cell reactions to variously processed surfaces were studied in titanium alloys that were used as implants. This phenomenon expressed with surface cell morphology was evaluated by means of electron microscope and proved that interaction between material and cells, as well as among cells, depends on surface structure. Polished materials disable the ability of cells to grow. Granular material is more suitable for adhesion and spreading of cells as well as for cauterisation by mixtures of HCl and HNO₃.

Key words: surface structure, cell growth, adhesion, polished surface, cauterisation.

Úvod

Titanové implantáty z technicky čistého titanu nebo jeho slitin jsou široce užívané v dentální implantologii [1, 6]. Stále se však hledá materiál, nebo vhodná struktura jeho povrchu, která by umožňovala optimální oseointegraci [3, 13]. Jde jednak o struktury porézní [2], popřípadě v novější době ty, které vykazují nanostrukturu [8]. Titanové beta slitiny jsou rovněž materiály, které mají velmi dobré biokompatibilní vlastnosti [5]. Nejenom kvalita slitiny, ale i úpravy povrchu mají význam pro buněčnou kolonizaci in vitro. Jedná se o povrchy zrcadlově lesklé i drsné [9, 10, 11]. Vývoj

nových materiálů pro konstrukci implantátů je kontinuální. Z toho plyne i neustálé testování jejich biokompatibilitu, které je nezbytné [4, 7]. Je třeba sledovat i korozivitu, či biokorozivitu a úpravy povrchu [12, 14]. Jakákoli byť jednodušší úprava struktury povrchu, například jeho zrnění, anebo úprava povlakováním může mít vliv na adherenci buněk a také na další proliferaci, následně pak i na oseointegraci. Důvodem k obecnější studii interakce mezi buňkami a strukturou materiálu je fakt, že primární informace o morfologii kontaktu buňka-materiál, buňka-buňka na konkrétním povrchu chybějí, v lepším případě nejsou prováděny

systematicky. Takové informace jsou významné při testování cytocompatibility nově vyvíjených materiálů, kdy informace o toxicitě nevystihují přesně jejich možné využití pro další škálu aplikací, například v řídké kosti, nebo u pacientů se zdravotním handicapem.

Materiál a metodika

K pokusům, které mají ověřit chování buněk na povrchu materiálu, byly zvoleny buňky obecně mezinárodně přijímané jako buňky testovací, v případech, že jde o studium bazálních buněčných reakcí, jako jsou interakce buňka-materiál a zkoušky cytotoxicity. Studie byly prováděny na buňkách L 929 a HeLa. Buňky byly získány ze sbírek, prostřednictvím služeb firmy Biotech (PAA). Ze stejného zdroje jsou získána kultivační média, séra a doplňky médií. Vzorci materiálů byly získány od firmy UJP Praha, která se zabývá vývojem nových titanových slitin.

Zdrsnění materiálu bylo děláno dvěma zásadními způsoby. První způsob byl leptáním směsí kyseliny chlorovodíkové a dusičné. Druhý způsob pískováním různou frakcí pískovacího prostředku (Al_2O_3) od struktury 120 po strukturu 22. Dále byly oba způsoby, to je pískování a leptání, kombinovány. Tak byly získány povrchy s různou strukturou. Po mechanické úpravě povrchu byly vzorky očištěny a sterilizovány autoklávováním. Na takto ošetřené povrchy byly inokulovány buňky. Kultivace buněk se konala v atmosféře CO_2 (5% směs ve vzduchu), při $37\text{ }^\circ C$, v kultivačních plastových nádobách. Inokulum buněk v množstvích od 7,5 do 30 tisíc buněk na 1 ml kultivačního média bylo navrstveno na zkoumaný materiál a na něm kultivovalo po dobu 48 nebo 72 hodin. Buňky adherují na povrch materiálu a rozprostřou se typickým způsobem.

Po kultivační době je testovaný materiál s rozprostřenými buňkami vyjmut z kultivačního média, a po opláchnutí pufrům je buněčná vrstva fixována glutaraldehydem. Následně jsou vzorky s buňkami odvodněny pro techniku „critical point drying“, která umožňuje práci s biologickými objekty, a pokoveny. Poté byly vzorky prohlíženy a hodnoceny v elektronovém mikroskopu TESCAN. Mikroskopová analýza narostlých ploch, tedy hodnota buněčné kolonizace zkoumaných povrchů byla také hodnocena na optickém mikroskopu PADIM Intraco-Micro. Hodnocení obrazových záznamů z mikroskopů bylo uskutečněno pomocí softwaru NIS Elements NIKON a určena tak průměrná hodnota kolonizace plochy jednotlivých variant.

Výsledky

Výsledkem analýzy povrchů buněk a interakci s povrchem materiálu je posouzení morfologie buněčné vrstvy na různě zdrsněném materiálu. Buňky se na povrchu materiálu rozprostíraly obvyklým způsobem, povaha materiálu je pochopitelně určující, pokusy byly dělány na materiálech biokompatibilních, na vzorcích

z titanových slitin. Jako kontrolní sloužily plochy na skle. Tabulka ukazuje, jak se buňky rozprostírají a rostou na upravených površích v závislosti na inokulum. Je jasně patrné, že struktura, tedy zrnitost povrchu ovlivňuje rozprostírání a růst buněk zvláště v nižším inokulu, kdy jsou rozdíly mezi procentem kolonizace na leštěném povrchu a v hrubších površích velké. Tato závislost mizí se zvyšujícím se inokulem. Závislost mezi úpravou povrchu leptaném a neleptaném je mnohem menší než závislost na vlastní struktuře povrchu vzorku a ukazuje se zase spíše v nižších buněčných hustotách. Také tento rozdíl je vyjádřen v grafu.

Vlivem struktur povrchu není zasažen povrch buněk, jejich fyziologické funkce nejsou tímto ovlivněny, buňky se dělí a udržují vzájemné kontakty. Hrubší struktury povrchu buněčná vrstva kopíruje.

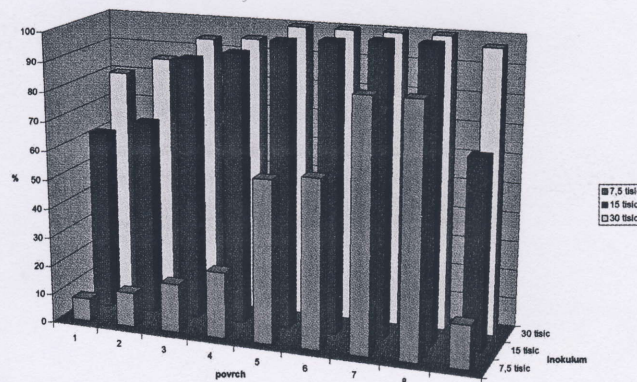
Tab. 1. Procento plochy kolonizace buňkami

Tab. 1. Percentage of the surface colonised by cells

povrch	INOKULUM		
	7,5 tisíc	15 tisíc	30 tisíc
leštěný	8	62	80
leštěný a leptaný	10	67	86
zrnitost 120	17	90	94
zrnitost 120 a leptaný	23	93	95
zrnitost 60	56	98	100
zrnitost 60 a leptaný	58	99	100
zrnitost 22	86	100	100
zrnitost 22 a leptaný	86	100	100
kontrola sklo	15	65	97

Graf 1. Procento plochy kolonizace buňkami graficky

Graph 1. Graphic expression of the percentage of the surface colonised by cells



Diskuse a závěr

Povrch kostních implantátů má vliv na rozprostírání buněk a sekundárně na jejich růst, vyjádřený kolonizací povrchu zkoumaného vzorku. Zajímavá je závislost úpravy povrchu a buněčné kolonizace v nízkých populačních denzitách. Při vyšších počtech naočkovaných buněk se tato závislost stírá. To je patrné i v rastrovacím elektronovém mikroskopu. Zde je navíc možno

vyhodnotit způsob interakce buněk s povrchem vzorku, kde je vidět jak široké buněčné membrány kloužou po povrchu vzorku. Dělicí se buňka zachovává kontakt se vzorkem pomocí úzkých cytoplasmatických výběžků. Podobné kontakty udržuje i se sousedními buňkami, kde je naočkováno více buněk. Buňky kopírují velmi přesně zrnění materiálu a pokud je povrch navíc ošetřen leptáním, jsou ostřejší hrany pískovaného povrchu zmírněny. Takové ošetření však nemá podstatnější vliv na kolonizaci povrchu v hrubějších povrchových strukturách [3, 4, 5, 6, 7]. Zjištění vlivu struktury povrchu na buněčnou proliferaci se stává zajímavým pro aplikaci nanostruktur ať již ve formě vrstvy, anebo nanostrukturovaného substrátového materiálu [8, 9, 12, 13, 14]. Metody, které jsme využili dávají možnost standardizace zkoušek, které budou jistě pro objektivní posuzování nutné.

Závěrem platí, že struktura povrchu je významná pro cytokompatibilitu materiálů a ovlivňuje růstové vlastnosti buněk na konkrétním povrchu.

Práce vznikla za podpory projektu SVC 1M0528.

Literatura

1. ABRAHAM, J., A., GRENÓN, M., S., SÁNCHEZ, H., J., PÉREZ, C., A., VALENTINUZZI, M., C.: Titanium based implants, metal release study in the oral environment LNLS, 2006, Activity Report.
2. BARIL, E., LEFEBVRE, L., P., YANNIG, T., FLORIN, I.: Foam-coated MIM gives new edge to titanium implants Metal Powder Report, Volume 63, Issue 8, p. 46 – 50, 52, 54 – 55, 2008.
3. DOSTÁLOVÁ, T., HIMMLOVÁ, L.: Osseointegration of loaded dental implant with KrF laser hydroxylapatite films on Ti6Al4V alloy by minipigs. J. Biomed. Opt., Vol. 6, 239 (2001); DOI:10.1117/1.1357191.
4. GEURTSSEN, W.: Biocompatibility of dental alloys. Crit Rev Oral Biol Med 13(1): 71 – 84 (2002).
5. KUDRMAN, J., CHLUBNOVÁ, R., VESELÝ, J., HNILICA, F., Podhorná, B.: Vlastnosti titanových beta slitin vhodných pro použití v humánní medicíně. Sborník konference Metal, 2008, Hradec nad Moravicí.
6. NIESPODZIANA, K., JURCZYK, K., and M. JURCZYK, M.: The synthesis of titanium alloys for biomedical applications. Rev. Adv. Mater. Sci. 18 (2008) 236 – 240.
7. NIINOMI, M.: Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. Science and Technology of Advanced Materials 4 (2003) 445 – 454.
8. PETRUŽELKA, J., DLUHOŠ, L., HRUŠÁK, D., SOCHOVÁ, J.: Nanostructured titanium Application in dental implants, In: Abstract Booklet of the International Conference NANO'06, Brno University of Technology, 1, 2006, s. 100, ISBN 80-214-3308-6.
9. RIMONDINI, L., FARE, S., BRAMBILLA, E., FELLONI, A., CONSONNI, C., BROSSA, F., CARRASSI, A.: The effect of surface roughness on early in vivo plaque colonization on titanium. J Periodontol, 1997; 68: 556 – 565.
10. SHIMAKURA M.: Efficient polishing method of titanium. J Soc Titanium Alloys in Dentistry, 2007;5: 32 – 33.
11. TAJIMA, T., HIRONAKA, M., CHEN, K., NAGAMATSU, Y., KAKIGAVA, H., KOZONO, Y.: Electropolishing of CP titanium and its alloys in an alcoholic solution-based electrolyte. Dental Materials Journal 27(2): 258 – 265, 2008.
12. TAKADA, Y., NAKAJIMA, H., OKUNO, O., OKABE, T.: Microstructure and corrosion behavior of boary titanium alloys with beta-stabilizing elements. Dent Mater J 2001; 20: 34 – 52.
13. YAMAMURO, T.: Patterns of osteogenesis in relation to various biomaterials, J. Jpn Soc. Biomater. 7 (1989) 19 – 23.
14. YOSHINARI, M., ODA, Y.: Titanium surface modification with dry process for dental implants. in: M. Niinomi, T. Okabe, E., M. Taleff, D., R..Lesuer, H., F. Lippard (Eds.), Structural Biomaterials for the 21st Century, TMS, 2001, p. 129 – 136.

MUDr. Patrik Prachár,
Stomatologická klinika LF MU
a FN u sv. Anny,
Pekařská 53
Brno

Poextrakčné augmentácie alveolárneho hrebeňa maxily

Post-extraction augmentations of the alveolar ridge of the maxilla

Strecha, J., Jurkovič, R., Siebert, T., Bartáková, S., Prachár, P.

MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent Medima s.r.o., Priehradka 20, 036 01 Martin
MUDr. Richard Jurkovič, PhD., DEIMPERIO, spol. s r. o., Líščie Nivy 6, 821 08 Bratislava
MUDr. Tomáš Siebert, PhD., DENTÁLNE CENTRUM, spol. s r. o., Jeruzalemská 19, 917 01 Trnava
MUDr. Sonia Bartáková, PhD., MUDr. Patrik Prachár, PhD., Stomatologická klinika Masarykovej univerzity Brno, Pekařská 53, Brno

Abstrakt

Strata kostného tkaniva dôsledkom parodontitídy má v neskoršom období protetické dôsledky. Nedostatok kostného podkladu spôsobuje nemalé problémy pri protetickom ošetrovaní hlavne v maxile. Vzhľadom na tento fakt je po indikácii radikálnej extrakčnej terapie parodontitídy dôležitá stratégia chirurgickej časti liečby s cieľom záchrany zvyšku alveolárneho hrebeňa maxily. Tento postup autori nazývajú „stabilizácia kostného podkladu“. Používajú metódu atraumatických extrakcií všetkých zvyškových zubov maxily s augmentáciou alveol. Ako augmentačný materiál používajú kolagénhydroxyapatit zmiešaný s PRP plazmou (PRP – plazma bohatá na krvné doštičky) získanou centrifugáciou z venózneho krvi pacienta pred výkonom. Augmentačný materiál do veľkej miery zabráni ďalšiemu kolapsu zvyškových alveol v rámci hojajúcich procesov. Pomerne rýchle hojenie takto ošetrovaného alveolárneho hrebeňa maxily dáva predpoklad k ďalšiemu protetickému ošetrovaniu totálnou náhradou alebo implantologickou liečbou.

Kľúčové slová: Augmentácia alveolárneho hrebeňa, kolagénhydroxyapatit, totálna náhrada.

Abstract

Osseous tissue loss due to periodontitis has prosthetic consequences in older age. Lack of bone basis causes serious problems in prosthetic treatment especially of the maxilla. With regard to this fact, a strategically important surgical procedure is to be used to save the remaining alveolar ridge of the maxilla, when radical extraction therapy of periodontitis has been indicated. The authors call this process “stabilisation of bone basis”. They apply the method of non-traumatic extractions of the remaining maxillary teeth with augmentation of the alveoli. As an augmentation material they use collagen-hydroxy-apatite mixed with PRP plasma (PRP-plasma rich in thrombocytes) obtained centrifugally from venous blood of the patient before treatment. The augmentation material prevents to a certain degree further collapse of the remaining alveoli during the healing process. A relatively quick healing of the alveolar ridge of the maxilla treated in this way is a prerequisite to further prosthetic procedures such as a total replacement or implantological treatment.

Key words: alveolar ridge augmentation, collagen-hydroxy-apatite, complete prosthesis.

Úvod

Ťažká progresívna parodontitída má za následok deštrukciu kostného tkaniva alveolárneho hrebeňa. Funkčne aj esteticky vyhovujúca protetická sanácia vyžaduje anatomicky dostatočný kostný podklad.

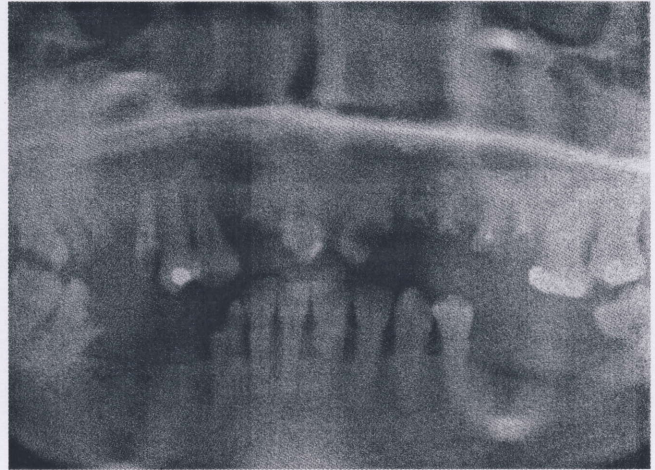
Významným faktorom v tejto problematike je skúsenosť a erudovanosť ošetrojúceho lekára. Včasné ukončenie liečby a indikovanie radikálnej extrakčnej terapie parodontitídy je základným predpokladom na úspešnú následnú protetickú rehabilitáciu pacienta.

Postupné extrakcie zvyškových paradontitických zubov, ako sa to v praxi často vykonáva, má za následok pomalé hojenie kostných defektov a následne zhoršenie anatomických podmienok. Dôsledkom takéhoto postupu je zvýraznenie straty kostného tkaniva a skomplikovanie protetickej sanácie.

Metódy

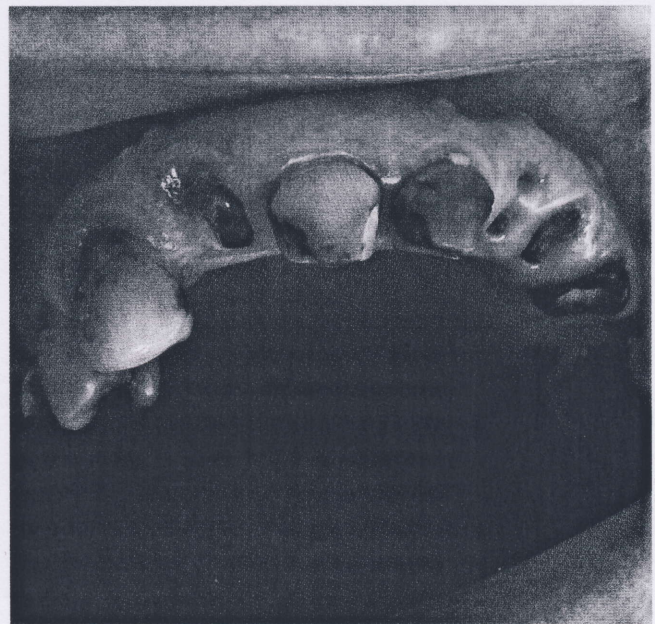
K operačnému výkonu sa pristupuje po dentálnej hygiene a pod clonou antibiotík (najčastejšie - Amoxicilín/klavulanát 2g/denne p.o). V lokálnej zvodovej anestézii sa postupne opatrne extrahujú všetky zuby čeľuste. Extrakcie sa vykonávajú tak, aby sa nepoškodila vestibulárna stena alveolárneho hrebeňa. V tomto procese môže významne pomôcť piezochirurgická technika. Po extrakciách sa mechanicky ostrou exkochleačnou lyžičkou ošetrí marginálna gingíva a okraje alveolárnej kosti. Excidujú sa vrcholy interdentalných papíl tak, aby ostali ponechané časti papíl z vestibulárnej aj palatinálnej strany (obr. 6). Následne sa pomocou raspatória odklápa maximálne 2 mm gingívy od marginálnej kosti. Guľovou frézou za výdatného chladenia sa upravujú interdentalné septá a ostré okraje alveolárnej kosti z oboch strán. Nasleduje dokonalá exkochleácia všetkých alveol. Do takto pripravených zvyškov alveol sa aplikuje augmentačný materiál rôzneho typu (obr. 6). Na našom pracovisku (Eurodent medima, Martin) sa úspešne už viac rokov používa kompozitný syntetický materiál atelokolegénhydroxyapatit (BIOVAN K). Pripravuje sa zmiešaním s PRP plazmou (PRP – plazma bohatá na krvné doštičky) získanou z venózne krvi pacienta centrifugáciou pred výkonom (obr. 3, 4, 5). Takto pripravený augmentačný materiál má formu dobre tvarovateľnej gélovitej hmoty. Následne sa vyplnia všetky zvyškové alveoly a prípadné kostné defekty (obr. 6, 13, 14). Materiál sa nekomprimuje a defekty sa vyplnia na 70 % ich obsahu. Menovaný materiál po nasýtení zväčšuje svoj objem až o 20 – 30 %. S týmto faktom treba počítať, inak sa riskuje tlak na okolité mäkké tkanivá, vylúčenie časti augmentátu a sekundárne hojenie. Použitím PRP plazmy z vlastnej krvi pacienta sa zaisťujú aj dobrá stabilita augmentátu koaguláciou. Takto aplikovaný augmentačný materiál sa nemusí pokrývať membránou, ak periost nie je porušený. V prípade, že periost je deštruovaný predchádzajúcimi zápalovými procesmi, pokrývame augmentát kolagénovou membránou (obr. 14). Gingíva sa následne suturuje jednotlivými skríženými matracovými stehmi nad alveolami vstrebateľným atraumatickým materiálom veľkosti 4/0 (obr. 7, 15). V prípade prípravy pacienta na neskoršie implantologické ošetrenie sa suturujú jednotlivé papily

vertikálnym matracovým atraumatickým stehom veľkosti 5/0 – 6/0. Pooperačný priebeh je zvyčajne nekomplikovaný (obr. 8, 9, 10, 16, 17). Pacient sa informuje o domácej hygiene operačnej rany, stravovaní a analgetickej liečbe. Predoperačne nasadená ATB liečba pokračuje 5 – 7 dní. Pacient sa kontroluje v týždňových intervaloch.



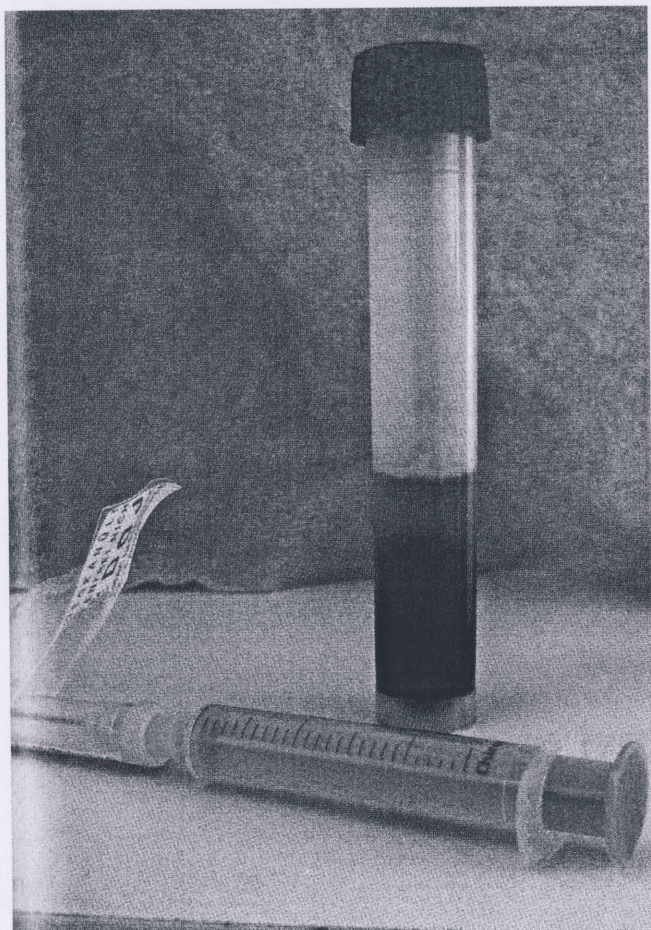
Obr. 1. OPG pacienta s ťažkou deštrukciou chrupu – indikácia extrakcií zubov maxily s augmentáciou alveol (Foto: Eurodent medima)

Fig. 1. OPG patient with heavy denture destruction – indicated extraction of the maxillary teeth with augmented alveoli (Photo: Eurodent medima)

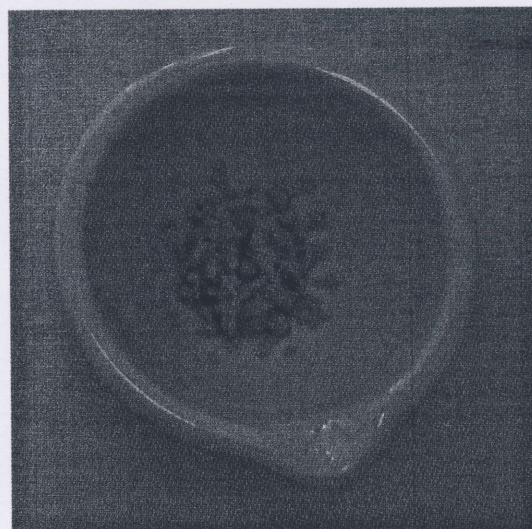


Obr. 2. Stav v ústnej dutine (Foto: Eurodent medima)

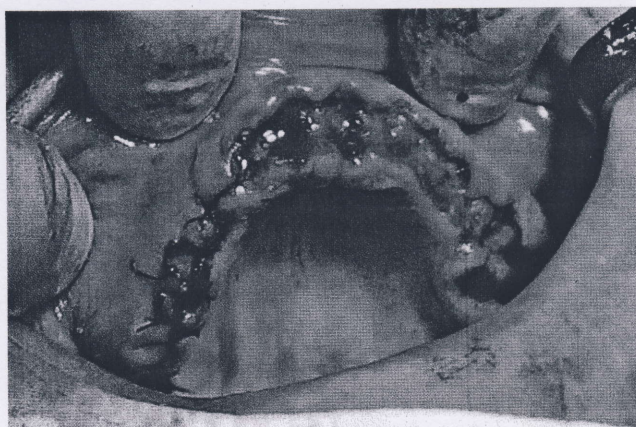
Fig. 2. State of the oral cavity (Photo: Eurodent medima)



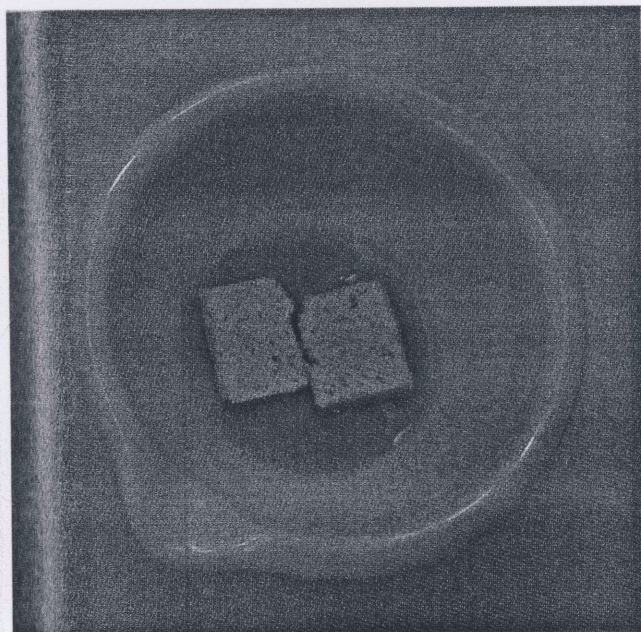
Obr. 3. Odstredená krv pacienta. V strede je plazma bohatá na trombocyty (Foto: Eurodent medima)
Fig. 3. Centrifugally separated patient's blood. In center visible plasma rich in thrombocytes (Photo: Eurodent medima)



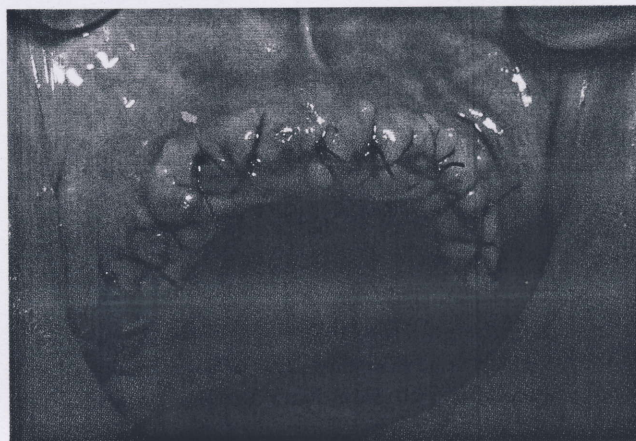
Obr. 5. Rozmiešaný Biovan K s PRP plazmou (Foto: Eurodent medima)
Fig. 5. Biovan K mixed with PRP plasma (Photo: Eurodent medima)



Obr. 6. Peroperačná fotografia s augmentovanými alveolami a časťou sutury (Foto: Eurodent medima)
Fig. 6. Picture of augmented alveoli and sutured part, before operation (Photo: Eurodent medima)



Obr. 4. Plazma s kolagénhydroxyapatitom v trecej miske (Foto: Eurodent medima)
Fig. 4. Plasma with collagen-hydroxy-apatite in mortar (Photo: Eurodent medima)



Obr. 7. Kompletne suturovaný alveolárny hrebeň maxily po výkone (Foto: Eurodent medima)
Fig. 7. An alveolar ridge of the maxilla which has been completely sutured after treatment (Photo: Eurodent medima)



Obr. 8. Stav hojenia po 10 dňoch od operácie (Foto: Eurodent medima)

Fig. 8. State of the healing process, 10 days after operation (Photo: Eurodent medima)



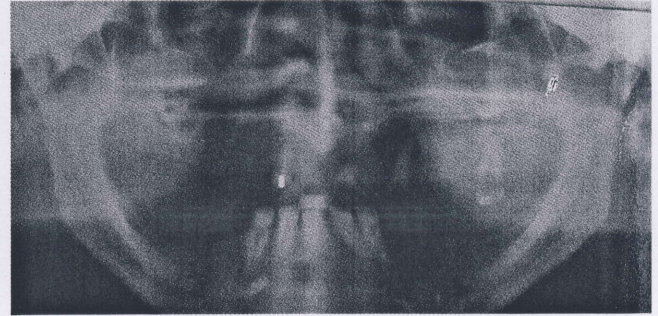
Obr. 9. Po odstránení stehov na 10. deň po operácii (Foto: Eurodent medima)

Fig. 9. State after suture removal, 10 days after operation (Photo: Eurodent medima)



Obr. 10. Stav alveolárneho hrebeňa maxily po 20 dňoch od operácie (Foto: Eurodent medima)

Fig. 10. Alveolar ridge of the maxilla, 20 days after operation (Photo: Eurodent medima)



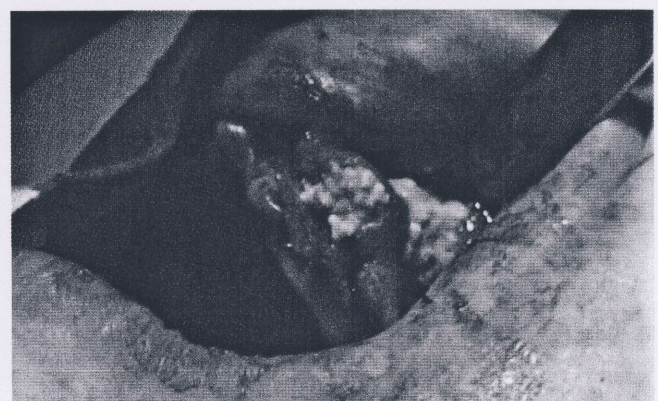
Obr. 11. OPG pacienta s indikáciou extrakcií zvyškových zubov maxily, cystectómiou a augmentáciou alevoly a kostného defektu (Foto: Eurodent medima)

Fig. 11. OPT patient with indication for extraction of the remaining maxillary teeth, cystectomy, alveolar augmentation and bone defect (Photo: Eurodent medima)



Obr. 12. Stav po extrakcii zuba 23 a cystektómii (Foto: Eurodent medima)

Fig. 12. State after extraction of the 23rd tooth and cystectomy (Photo: Eurodent medima)



Obr. 13. Augmentovaná alevola a kostný defekt kolagénhydroxyapatitom s PRP plazmou (Foto: Eurodent medima)

Fig. 13. Augmented alveolus and removed bone defect with collagen-hydroxy-apatite with PRP plasma (Photo: Eurodent medima)



Obr. 14. Augmentačný materiál na vestibulárnej a palatínálnej strane je prekrytý kolegénovou membránou (Foto: Eurodent medima)

Fig. 14. Augmentation material in vestibular and palatal site overlapped with a collagen membrane (Photo: Eurodent medima)



Obr. 15. Sutura operačnej rany (Foto: Eurodent medima)

Fig. 15. Suture of an operation wound (Photo: Eurodent medima)



Obr. 16. Stav alveolárneho hrebeňa maxily po 10 dňoch od operácie (Foto: Eurodent medima)

Fig. 16. State of the alveolar ridge of the maxilla, 10 days after operation (Photo: Eurodent medima)



Obr. 17. Stav alveolárneho hrebeňa maxily po 20 dňoch od operácie (Foto: Eurodent medima)

Fig. 17. State of the alveolar ridge of the maxilla, 20 days after operation (Photo: Eurodent medima)

Diskusia

Najfatálnejším dôsledkom neliečenej parodontitídy by sa na prvý pohľad mohla zdať strata postihnutých zubov so svojim jasne viditeľným dôsledkom. Považujeme tento fakt za veľmi dôležitý, ale myslíme si, že deštrukcia kostnej časti parodontu je oveľa vážnejším dôsledkom, ako samotná strata zuba. Po strate zuba/zubov dokáže stomatologická protetika nahradiť zuby protetikými náhradami. Na to, aby boli funkčné a estetické, je dôležité mať čo možno najlepšie zachovaný alveolárny bezzubý výbežok čelusti, resp. sánky. Táto podmienka je naliehavšia u pacientov, kde sa plánuje náhrada defektov chrupu pomocou dentálnych implantátov a prostredníctvom nich nesených špeciálnych implatologicko-protetických prác. Navyše, po extrakcii zuba nastáva ďalší úbytok kosti, či už následkom nešetrnej extrakčnej techniky, alebo tzv. atrofie ex inaktivitatem. V maximálnej miere postihuje vestibulárnu stenu prázdneho alveolárneho lôžka. U jednotlivých jedincov je odlišná, ale vyskytuje sa u každého. Z týchto faktov jasne vyplývajú pre každého ošetrojúceho lekára nasledujúce úlohy: 1. dôkladne diagnostikovať a liečiť parodontitídu a jej iniciálne formy. 2. V prípade rekurentnej, resp. už pokročilej parodontitídy sa v správny čas rozhodnúť pre extrakciu postihnutých zubov so zreteľom na zabránenie ďalšej straty kostnej časti parodontu, atraumaticky extrahovať zuby a v neposlednom rade poextrakčne ošetriť prázdne alveoly spôsobom, ktorý seriózne a prediktabilne zamedzí ďalšej poextrakčnej

strate reziduálneho alveolárneho výbežku. Toto vieme v súčasnosti docieľiť dvoma základnými spôsobmi. Ako prvé možno prázdne poextrakčné alveolárne lôžko ošetriť vhodným augmentačným materiálom, alebo v správnej indikácii previesť okamžité poextrakčné implantácie vhodných dentálnych implantátov. Dentálny implantát, najviac svojím spôsobom prenosu síl na kosť pripomína vlastný zub vo funkcii, a tým je vlastne jediným naozaj prediktabilným spôsobom, ako efektívne z dlhodobého hľadiska zabezpečiť stabilitu kosti alveolárneho hrebeňa.

V našej práci sme sa zaoberali naším vlastným operačným postupom, akým zabezpečujeme čo možno najefektívnejšie poextrakčné stabilné výsledky. Popísali sme spôsob, keď z rôznych dôvodov nebolo možné uvažovať o poextrakčnej okamžitej implantácii.

Na rozdiel od sinusliftingu, ktorý je jednoznačne najprediktabilnejšia augmentačná metodika v orálnej oblasti, výsledky augmentácie alveolárnych výbežkov nedosahujú jeho výsledky. Techniky používané pri augmentácii alveolárnych výbežkov nie sú vo vedeckej literatúre tak dobre zdokumentované, ako je to pri augmentáciách maxilárnych sínusov. Operačné techniky sú závislé viac od skúseností chirurga prevádzajúceho zákrok a senzitivného zaobchádzania s tkanivami [1]. Plazma bohatá na trombocyty (PRP), ktoré sú hlavným nositeľom rastových faktorov, sa v súčasnosti používa v orálnej chirurgii s veľkou obľubou. Nie je to iba pre jej potenciál pozitívne ovplyvňovať pooperačný opuch, menšie množstvo zápalových komplikácií, výrazne lepšie hojenie mäkkých tkanív, ako aj čiastočné zlepšenie hojenia kostných štruktúr. Je to aj pre jej praktickú vlastnosť, keď po zmiešaní s augmentačným materiálom vytvára pre chirurga hmotu, s ktorou sa veľmi dobre peroperačne manipuluje [2]. Rôzni autori sa vo svojich vedeckých publikáciách a štúdiách venujú problematike, ktorú popisujeme v našej práci [10]. Baron používa pri ochrane alveolárneho výbežku pred jeho kolapsom postextrakčne xenotransplantát v kombinácii s kolagénou membránou, kde tento postup zabezpečuje významne pozitívnejšie výsledky v porovnaní s alveolami, ktoré poextrakčne augmentované neboli. Histologická analýza ukázala významne vyššie percentuálne zastúpenie trabekulárnej kosti a mineralizovaného tkaniva oproti neaugmentovaným alveolám [3]. V našej práci používame originálny slovenský výrobok hydroxyapatit spojený s atelokolagénom (BIOVAN K), ktorými sa dajú dosiahnuť výborné výsledky. Na rozdiel oproti iným augmentačným materiálom je s ním výborná manipulácia, ktorú si upravujeme ešte primiešaním plazmy bohatej na trombocyty (PRP). Táto kombinácia vytvorí

gélovitú mäkkú kompaktnú hmotu, s ktorou sa v dutine ústnej pracuje veľmi komfortne. Podobný gél vyrobený z autogénneho PRP a hydroxyapatitu, ale xenogénneho pôvodu, používa Belli pri peroperčnom vyplňaní cystických lézií čeluste [4]. Autor považuje tento spôsob ošetrovania za veľmi úspešný. Brugami používa na augmentáciu poextrakčných prázdnych alveolárnych výbežkov partikulovaný demineralizovaný lyofilizovaný alotransplantát (DLAT) v kombinácii so vstrebateľnou bariérovou membránou. Poukazuje na dobré osteokonduktívne vlastnosti augmentátu, ktorý dokáže vytvárať apozíciu novú kosť, čo je cieľom jeho použitia [5, 12]. Takýto typ transplantátu nie je dostupný bežne na našom trhu. Je najčastejšie používaný v USA, kde je nepomerne väčšia tradícia tkanivových bánk, ktoré tento typ transplantátov produkujú. DLAT má potenciál obsahovať aj isté, ale neprediktabilné množstvo rastových faktorov, ktoré majú potenciál mať osteoinduktívne vlastnosti. Považujeme našu terapeutickú modalitu s použitým augmentátom za prediktabilnejšiu vzhľadom na čerstvé autológne rastové faktory obsiahnuté v PRP.

Cardarpoli vo svojej štúdií používal na objektivizáciu dosiahnutej šírky alveolárneho výbežku po poextrakčnej augmentácii chirurgický kaliper. Meraniami zistil, že sa podarilo vďaka liečbe udržať až 85 % šírky preextrakčnej šírky alveoly [6]. V našej práci sme k precíznej objektivizácii preventívnej augmentácií nepristúpili, lebo sme ich u svojich pacientov nepovažovali za nutné a nebol to ani cieľ sledovania. Fickl a spol. sledovali v laboratórnych podmienkach na psoch vplyv chirurgického postupu na poextrakčné zachovanie alveoly. Z ich výsledkov je zrejmé, že najprediktabilnejší sa javí operačný postup, keď sa okrem augmentácie BioOss Collagenom, zároveň neodklápal mukoperiostálny lalok [7]. Tento výsledok jasne koreluje s naším terapeutickým postupom, keď sme odklápali lalok maximálne 2 mm, práve s cieľom nezvyšovať pooperačnú resorpciu kosti. lasella a spol. používali na poextrakčnú augmentáciu lyofilizovaný alotransplantát spolu s kolagénou membránou. Ich výsledky preukázali, že augmentované alveoly vykazujú lepší výsledok, ako nevyplnené [8]. Tento typ augmentačného materiálu nie je na Slovensku veľmi rozšírený. A nie je ani dôkaz, že by vykazoval lepšie výsledky pri jeho používaní v porovnaní s materiálmi rôzneho pôvodu dostupnými na Slovensku. Landberg popisuje vo svojej práci zaujímavú operačnú techniku, ktorú nazýva „socket seal surgery“ [9]. Okrem iného v nej popisuje, akým spôsobom dekortikuje kosť alveoly s cieľom zabezpečiť lepšie prekrvenie následne aplikovaného augmentátu. Nepovažujeme dekortikáciu v nami

popisovanej indikácii za nutnú. Zaujímavá je práca Sammartina a spol., ktorí používajú samostatné PRP po chirurgickej extrakcii impaktovaného zuba múdrosti v sánke s cieľom zamedziť vytvorenie pooperačného parodontálneho defektu distálne za druhým molárom operovanej strany. Ich výsledky naznačujú, že aj v tejto indikácii má PRP svoj jednoznačne pozitívny potenciál [11].

Záver

Dlhodobá dobrá prognóza protetickej náhrady je závislá od dostatočnej ponuky tvrdých a mäkkých tkanív a vhodného anatomického tvaru alveolárneho výbežku. Popísaná operačná technika je s dobrými výsledkami používaná v predprotetickej príprave alveolárneho hrebeňa maxily po predchádzajúcej parodontitickej deštrukcii. Zabezpečuje dostatočnú anatomickú stabilizáciu kostného podkladu, čo je hlavný predpoklad k funkčnej a estetickej protetickej rehabilitácii pacienta so snímateľnou náhradou, alebo implantologického ošetrenia v neskoršom období.

Literatúra

- AGHALOO, T., L., MOY, P., K.: Which hard tissue augmentation techniques are the most successful in furnishing bony support for implant placement? *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2007;22 Suppl:49-70. Erratum in: *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2008 Jan- Feb;23(1): 56.
- ANITUA, E.: Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 Jul-Aug; 14(4): 529 – 535.
- BARONE, A., ALDINI, N., FINI, M., GARDINO, R., CALVO GUIRADO, J., L., COVANI, U.: Xenograft versus extraction alone for ridge preservation after tooth removal: a clinical and histomorphometric study. *J Periodontol*. 2008 Aug;79(8): 1370 – 1377.
- BELLI, E., LONGO, B., PALESTRA, F., M.: Autogenous platelet-rich plasma in combination with bovine-derived hydroxyapatite xenograft for treatment of a cystic lesion of the jaw. *J Craniofac Surg*. 2005 Nov;16(6): 978 – 980.
- BRUGNAMI, F., THEN, P., R., MOROI, H., KABANI, S., LEONE, C., W.: GBR in human extraction sockets and ridge defects prior to implant placement: clinical results and histologic evidence of osteoblastic and osteoclastic activities in DFDBA. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 1999 Jun;19(3):259 – 267.
- CARDAROPOLI, D., CARDAROPOLI, G.: Preservation of the postextraction alveolar ridge: a clinical and histologic study. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2008 Oct;28(5): 469 – 477.
- FICKL, S., ZUHR, O., WACHTEL, H., BOLZ, W., HUERZELER, M.: Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. *J Clin Periodontol*. 2008 Apr;35(4): 356 – 363.
- IASELLA, J., M., GREENWELL, H., MILLER, R., L., HILL, M., DRISKO, C., BOHRA, A., A., SCHEETZ, J., P.: Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *J Periodontol*. 2003 Jul;74(7): 990 – 999.
- LANDSBERG, C., J.: Implementing socket seal surgery as a socket preservation technique for pontic site development: surgical steps revisited--a report of two cases. *J Periodontol*. 2008 May; 79(5): 945 – 954.
- OLTRAMARI, P., V., NAVARRO, R. E. L., HENRIQUES, J., F., TAGA, R., CESTARI, T., M., JANSON, G., GRANJEIRO, J., M.: Evaluation of bone height and bone density after tooth extraction: an experimental study in minipigs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2007 Nov;104(5): 9 – 16.
- SAMMARTINO, G., TIA, M., MARENZI, G., DI LAURO, A., E., D'AGOSTINO, E., CLAUDIO P., P.: Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in periodontal defect treatment after extraction of impacted mandibular third molars. *J Oral Maxillofac Surg*. 2005 Jun;63(6): 766 – 770.
- SMUKLER, H., LANDI, L., SETAYESH, R.: Histomorphometric evaluation of extraction sockets and deficient alveolar ridges treated with allograft and barrier membrane: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1999 May-Jun;14(3): 407 – 416.

MUDr. Juraj Strecha, Ph.D.,
Eurodent medima, s. r. o.,
Priehradka 20,
03601 Martin,
strecha@medima.sk



Binární titan-niobové slitiny a jejich biokompatibilita

Binary titan-columbium alloys and their biocompatibility

Bartáková S. * a Prachár P.*, Kudrman J.†, Podhorná B., Březina V., Strecha J.

MUDr. Sonia Bartáková PhD., Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno.

Přednosta: prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc.

MUDr. Patrik Prachár, PhD., Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno.

Přednosta: prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc.

Ing. Jiří Kudrman, DrSc., UJP Praha a.s., Nad kamínkou 1345, 156 10 Praha - Zbraslav

Ing. Božena Podhorná, UJP Praha a.s., Nad kamínkou 1345, 156 10 Praha - Zbraslav

Ing. Vítězslav Březina, CSc., B.P. Medical spol. s r.o., Příkop 843/4, 60200 Brno

MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent medima, s.r.o., Martin

*stejným dílem jako první autoři

Věnováno k významnému životnímu jubileu přednosta Stomatologické kliniky Brno prof. MUDr. Jiřího Vaňka, CSc.

Abstrakt

Práce se zabývá sledováním biologických vlastností binárních slitin titanu s niobem v závislosti na poměru hmotnostního podílu niobu ve slitině. Byly provedeny zkoušky cytokompatibility a genotoxicity. Mezi zkoušky cytokompatibility patřily testy růstu buněk, adherence buněk, dynamický dilatační test, test tolerance v monovrstvě a v suspenzi. Mezi zkoušky genotoxicity patřily test indukce atypických mitóz, test indukce chromozomálních aberací buněčné linie a v periferních lymfocytech člověka. Na základě hodnocení těchto biologických testů byla stanovena vhodnost užití takových slitin v orální implantologii. Takto vytvořené beta slitiny je možné pro výrobu implantátů doporučit.

Klíčové slová: titan – niob – binární beta slitiny – cytokompatibilita – genotoxicita.

Abstract

The paper deals with the study of the biological qualities of binary alloys, of titanium with columbium in dependence of the quantitative portion of columbium in the alloy. Tests on cytocompatibility and genotoxicity were performed. Among tests of cytocompatibility belonged tests of cell growth, cell adherence, dynamic dilatation test and tolerance test in monolayer and in suspension. Among test of genotoxicity belonged tests of induction of atypical mycoses, induction of chromosomal aberrations of cell line and in peripheral lymphocytes in man. On basis of evaluation of these biological tests there was established suitability of usage of such alloys in oral implantology. Beta alloys created in this way can be recommended for the production of implants.

Key words: titan – columbium – binary beta alloys – cytocompatibility - genotoxicity.

Úvod

Orální implantologie je nyní plně rozvinutou stomatologickou odborností. Její rozsah je natolik členitý, že se stává vyčleněnou částí stomatologické nebo orální chirurgie. Orální implantáty bývají většinou vyráběny z technicky čistého titanu, event. ze slitiny titanu. Mezi materiály, které lze považovat za biologicky vhodné pro přípravu či výrobu implantátů, patří vedle titanu, zirkon, tantal a niob. Jednou z variant jsou tzv. binární slitiny s titanem. Hovoříme o tzv. beta slitinách. Cílem všech implantačních systémů je co nejdoko-

nalejší oseointegrace zajišťující dlouhodobý léčebný efekt. Existují tři oblasti, ve kterých je možnost ovlivnit dentální implantát. Patří sem materiálová problematika jako první oblast. Druhou oblastí v současnosti nejvíce zkoumanou je povrch implantátu. Jedná se o ovlivnitelnost povrchu ve struktuře, povlakování a především adhezí nanášených materiálů [1, 2, 5]. Třetí oblastí je vytváření nových implantátů. Právě problematika materiálů je jedním z nosných cílů Stomatologického výzkumného centra pod vedením profesora MUDr. Jiřího Vaňka, CSc. Právě zde je

rozpracována problematika povlakování novými keramickými materiály (nitrid zirkonia, nitrid titanu) [6, 7, 8, 12], dále možnosti vytváření nových implantačních slitin (beta slitiny). Zkoumání materiálů nejdříve na biologické - buněčné dimenzi je důležitým krokem k vytvoření slitin, které by mohly být novými implantačními materiály na vyšší biologické úrovni s minimální či žádnou alergickou odezvou. Další problematikou je zde i snížené formování plaku na takových materiálech [12].

Oblastí, která se znovu vrací, je keramika užitá na povrchu implantátů. Zde jde o nanovrstvu hydroxyapatitu a její dokonalejší adhezi než bylo v minulosti.

Jedním z témat bylo vytvořit binární beta slitinu na podkladě titanu a niobu.

Materiál a metodika

Byly sledovány biologické vlastnosti na vzorcích ve tvaru válečků 8 x 3 mm. Byly sledovány stavy po odlití a po tepelném zpracování při teplotě 650°C po dobu 15 minut s ochlazením na vzduchu nebo při teplotě 950°C po dobu 10 minut s velmi pomalým ochlazením v peci. Následovaly testy biokompatibility a genotoxicity.

Testy biokompatibility :

1. Test růstu buněčné suspenze ve výluhu testovaného materiálu
 - A – buněčný materiál: heteroploidní buněčná linie
 - B – uspořádání: 6 variant včetně pozitivní a negativní kontroly; ředění výluhu
 - C – časový interval: buňky jsou počítány každých 24 hodin, pokus trvá 5 dní
 - D – výstup: počet buněk v 1 ml výluhu, zjištění závislosti růstové rychlosti na ředění výluhu
 - E – účelem testu je zjistit toxicitu výluhu testovaného materiálu
2. Test adherence buněk k testovanému materiálu
 - A – buněčný materiál: heteroploidní buněčná linie
 - B – uspořádání: buněčná suspenze je navrstvena přímo na testovaný materiál
 - C – časový interval: 48 hodin
 - D – výstup: buňky jsou fixovány a po preparační metodě je hodnocena morfologie adheze buněk na materiálu pomocí SEM
 - E – vysazuje se 5000 buněk a v procentech je vyjádřen poměr počtu buněk na kov k počtu buněk na skle
3. Dynamický dilatační test
 - A – buněčný materiál: heteroploidní buněčná linie
 - B – uspořádání: buněčná suspenze je smíchána s testovaným výluhem, kultivační láhev umístěna do kultivačního mikroskopu a buňka dokumentována v určených časových intervalech
 - C – časový interval: 6 hodin
 - D – výstup: obrazová dokumentace umožňuje stanovit počet dilatovaných a nedilatovaných buněk. Je stanoveno procento buněk, které se přichytí a rozprostřou své membrány

- E – účelem testu je zjistit, zda a do jaké míry jsou buňky výluhem z testovaného materiálu ovlivněny ve své schopnosti adherovat; test vypovídá o míře schopnosti buněk tolerovat výluh testovaného materiálu
4. Test tolerance buněk v monovrstvě k testovanému materiálu
 - A – buněčný materiál: heteroploidní buněčná linie
 - B – uspořádání: k narostlé buněčné monovrstvě se přiloží testovaný materiál
 - C – časový interval: 48 hodin
 - D – výstup: je hodnocena velikost zóny odumřelých buněk kolem testovaného materiálu v mikrometrech
 - E – účelem testu je zjistit, zda se v narostlé buněčné kultuře, do níž je přidán pevný vzorek materiálu, tvoří zóna odumírajících buněk a jak je tato zóna velká; test vypovídá o toleranci rostoucích buněk k pevnému testovanému materiálu
5. Test tolerance buněk v suspenzi k testovanému materiálu
 - A – buněčný materiál: heteroploidní buněčná linie
 - B – uspořádání: ke vzorku materiálu v kultivační nádobě je přidána buněčná suspenze
 - C – časový interval: 48 hodin
 - D – výstup: je hodnocena velikost zóny kolem materiálu v mikrometrech, kde buňky neadherují
 - E – účelem testu je zjistit, zda se při adhezenci buněk vytvoří kolem testovaného materiálu inhibiční zóna; test vypovídá o míře tolerování testovaného materiálu v kritických buněčných fázích
6. Test indukce atypických mitóz
 - A – buněčný materiál: heteroploidní buněčná linie
 - B – uspořádání: buněčná suspenze je inokulována na krycí skla nebo jiný vhodný materiál; je inokulováno 6 variant včetně pozitivní a negativní kontroly; 4 varianty představují ředění výluhu
 - C – časový interval: 72 hodin
 - D – výstup: je selektivně hodnocen počet metafází, počet vícejaderných buněk, eventuelní mikrojadra, počet vícepolárních dělení a stanoven mitotický index; za mutagenní je považován materiál, který inokuluje více jak 5 mitóz ze 100 měření nebo 5 % mitóz z celkového počtu měření
 - E – účelem je zjistit, zda výluh testovaného materiálu inokuluje změny na chromozomech v dlouhodobé kultivaci; test vypovídá o schopnosti materiálu indukovat chromozomové aberace a tedy o jeho mutagenních vlastnostech
7. Test indukce chromozomálních aberací v buněčné linii (blastogenní efekt)
 - A – buněčný materiál: heteroploidní buněčná linie
 - B – uspořádání: k buněčné monovrstvě kultivo-

vané ve výluhu materiálu je přidán kolcemid a preparovány metafázové chromozomy; je zde pozitivní a negativní kontrola

- C – časový interval: 72 hodin
 D – výstup: počítají se strukturální i numerické aberace, srovnávané s pozitivní a negativní kontrolou; za nevhodný je považován materiál, který indukuje více jak 5 chromozomálních aberací ze 100 měření nebo 5% chromozomálních aberací z celkového počtu měření
 E – účelem testu je zjistit míru strukturálních a numerických aberací v závislosti na zkoumaném materiálu; test vypovídá o klastogenním efektu materiálu
8. Test indukce chromozomálních aberací v periferních lymfocytech člověka
 A – buněčný materiál: periferní lidské lymfocyty
 B – uspořádání: plná heparinizovaná krev je kultivována v přítomnosti PHA
 C – časový interval: 72 hodin
 D – výstup: jsou počítány numerické i strukturální aberace, srovnání s pozitivní a negativní kontrolou, ebeny. s národním standardem; za nevhodný je považován materiál, který indukuje více jak 3 chromozomální aberace ze 100 měření nebo 3% chromozomálních aberací z celkového počtu měření
 E – je hodnocen počet metafází, počet vícejaderných buněk, eventuelní mikrojádra, počet vícejáderných buněk a stanoven mitotický index

Výsledky

Hodnocení slitin bylo zařazeno do pěti tříd podle stupně cytotoxicity, respektive toxicity. V tabulce pro přehlednost bylo dáno i barevné označení. Bylo navrženo následující rozdělení do tříd:

- A: bez výhrad; naměřené hodnoty byly na úrovni pozitivní kontroly nebo s minimální odchylkou
 B: tolerantní; vykazuje malou negativní odchylku od pozitivní kontroly nebo hodnoty na úrovni pozitivní kontroly, ale buňky vykazují některé specifikované atypické morfologické změny
 C: přijatelné; existuje větší odchylka od pozitivní kontroly, nebo buňky vykazují některé specifikované atypické morfologické změny
 D: přijatelné s výhradami; existuje velká odchylka od pozitivní kontroly, nebo existují na povrchu materiálu toxické oblasti v důsledku výrazných lokálních rozdílů chemického složení
 E: netolerantní; hodnoty blízké hodnotám negativní kontroly nebo příliš vzdálené hodnotám stanoveným pro cytotoxicitu

Pozorované morfologické změny pak byly charakterizovány přiřazením čísel k písemnému označení třídy:

1: abnormalita skeletu

2: buňky vytvářejí vláknitou strukturu

Tab. 1. Výsledky testů cytotoxicity a genotoxicity u slitin s přísadou niobu

Tab. 1. Results of cytotoxicity and genotoxicity in alloys with columbium admixture.

Ta %hm	Tepelné zpracování	Typ testu cytotoxicity								Celkové Hodnocení	Kompatibilita
		1	2	3	4	5	6	7	8		
2,42	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650°C	A	B1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	B1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
4,84	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650°C	A	B1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	B1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
7,16	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650°C	A	B1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	B1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
8,36	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650°C	A	B1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	B1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
10,45	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650°C	A	B1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	B1	B	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
31,81	Litý stav	A	A	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	650°C	A	B1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní
	950°C	A	B1	A	A	A	A	B	B	A	biokompatibilní

Legenda: Typ testu cytotoxicity: 1 – Test růstu buněčné suspenze ve výluhu testovaného materiálu, 2 – Test adherence buněk k testovanému materiálu, 3 – Dynamický dilatační test, 4 – Test tolerance buněk v monovrstvě k testovanému materiálu, 5 – Test tolerance buněk v suspenzi k testovanému materiálu, 6 – Test indukce atypických mitóz, 7 – Test indukce chromozomálních aberací v buněčné linii (blastogenní efekt), 8 – Test indukce chromozomálních aberací v periferních lymfocytech člověka.

A – bez výhrad; naměřené hodnoty byly na úrovni pozitivní kontroly nebo s minimální odchylkou

B – tolerantní; vykazuje malou negativní odchylku od pozitivní kontroly nebo hodnoty na úrovni pozitivní kontroly, ale buňky vykazují některé specifikované atypické morfologické změny

B1 – tolerantní; vykazuje malou negativní odchylku od pozitivní kontroly nebo hodnoty na úrovni pozitivní kontroly, ale buňky vykazují některé specifikované atypické morfologické změny – abnormalita skeletu

Legend: Type of cytotoxicity test: 1 – Cell suspension growth test in tincture of tested material, 2 – Adherence test of cells and tested material, 3 – Dynamic dilatation test, 4 – Tolerance test of cells in monolayer with tested material, 5 – Cell tolerance test in suspension to tested material, 6 – Induction test of atypical mitoses, 7 – Induction test of chromosomal aberrations in cell line (blastogenic effect), 8 – Induction test of chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes in man.

A – Without any reservation; the measured values were in level of positive control or with minimal deviation

B – Tolerant; shows only a slight deviation from positive control or value in level of positive control, but the cells show some specified atypical morphological changes

B1 – Tolerant; shows small negative deviation from positive control or values in level of positive control, but the cells show some specified atypical morphological changes – abnormality



Slitiny s přísadou niobu ukazují, že jsou pro výrobu implantátů velmi výhodné. Vykazují ve všech sledovaných stavech požadovanou biokompatibilitu a to i při obsahu niobu 31 % hm. To znamená, že binární systém TiNb umožňuje připravit biokompatibilní beta slitiny, které jsou za studena tvářitelné. Je možné tyto slitiny pro výrobu implantátů doporučit.

Diskuze

Na Stomatologické klinice dříve II. Stomatologické klinice je materiálová problematika zkoumána po několik desetiletí. Biologické testy zde byly dotvářeny do podoby dle platných norem. Byly stanoveny testy cytotoxicity a genotoxicity nutné pro zkoušení nových materiálů [3, 4, 9, 10, 11]. Zároveň byly vytvořeny i testy alternativní. V současné době jsou právě materiály velmi sledovanou oblastí vedle povrchu implantátů. Materiály vhodné k implantologickým účelům jsou titan, tantal, niob a zirkon. Další možností jsou slitiny vytvářené právě z kombinace těchto prvků. Hovoříme o binárních slitinách na bázi spojení titanu s ostatními prvky. Jedná se o tzv. beta slitiny. Další možností jsou slitiny na bázi spojení titanu, tantalu a niobu, které se jeví pro implantologii perspektivní.

Existují již užívané materiály pro povlakování na bázi nitridu titanu a nitridu zirkonia. A právě u druhého jmenovaného materiálu jde o snížení uvolnění iontů z materiálu, který je povlakován. Další pozitivní skutečností je snížená afinita k plaku (grantový projekt IGA MZ ČR ND/7356-3) [7, 8, 12]. Výsledky nových slitin na bázi spojení titanu a niobu ukazují perspektivu pro další užití v oblasti orální implantologie.

Závěr

Testované materiály binárního charakteru na bázi titanu a niobu prokázaly biokompatibilitu. Nebyla zjištěna korelace na hmotnostním podílu niobu ve slitině TiNb a biokompatibilitě materiálu. Tato beta slitina se jeví perspektivní pro další implantologické využití.

Celá studie je součástí projektu MŠMT č. 1M0528

Poděkování

Článkem bychom rádi popřáli a zároveň poděkovali člověku, který je hlavním iniciátorem a pokračovatelem myšlenky materiálové problematiky v orální implantologii, profesorovi MUDr. Jiřímu Vaňkovi, CSc.

Literatura

1. DOSTÁLOVÁ, T., HIMMLOVÁ, L., JELÍNEK, M., DVOŘÁK, V., BÁRTOVÁ, J.: Spojení titanových implantátů a bio-

- keramiky na bázi hydroxyapatitu – hodnocení in vitro. Čes. Stomat., 3, 1995, s. 89 – 96.
2. DOSTÁLOVÁ, T., HIMMLOVÁ, L., JELÍNEK, M., GRIMAS, C.: Osseointegration of loaded dental implant with KrF laser hydroxyapatite films on Ti6Al4V alloy by minipigs. Journal of biomedical optics, 6, 2001, 2, p. 239 – 243.
3. FRANZ, A., KÖNIG, F., SKOLKA, A., SPEER, W., BAUER, P., LUCAS, T., WATTS, D., SCHENDLE, A.: Cytotoxicity of resin composites as a function of interface area. Dental Material 23, 2007, p. 1438 – 1446.
4. International Standard Organization. Biological evaluation of medical devices. Part 3 Test for cytotoxicity: In vitro methods, Part 5. Tests for Genotoxicity, Carcinogenicity, and Reproductive Toxicity. Geneva 1999.
5. KOPECKÁ, D., ŠIMŮNEK, A.: Současné názory na povlakování hydroxyapatitem. (Souborný referát), Čes. Stomat., 1, 2000, s. 29 – 35.
6. KUDRMAN, J., PODHORNÁ, B., HRBÁČEK, K., SKLENIČKA, V.: Vlastnosti NiCrW slitin během dlouhodobého žíhání. Metal 2001 - Proceedings of the 10th International Metallurgical and Materials Conference - Ostrava, TANGER 2001. s. 10 – 17, ISBN: 80-85988-56-9.
7. PRACHÁR, P., VANĚK, J., BARTÁKOVÁ, S., BŘEZINA, V. Růst buněk stabilizované buněčné linie HeLa ve vylučku chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. Prakt. Zub. Lék., 53, 2005, 1, s. 12 – 14. ISSN 1213-0613.
8. PRACHÁR, P., VANĚK, J., CVRČEK, L., BARTÁKOVÁ, S.: Vlastnosti povrchové vrstvy chromkobaltové slitiny povlakované nitridem titanu a nitridem zirkonia. Prakt. Zub. Lék., 53, 2005, 4, s. 65 – 67. ISSN 1213-0613.
9. PŮŽA, V.: Citlivá metodika pro zjišťování poškozených buněk pěstovaných in vitro. Suppl. věd. prací, LF Hradec Králové, 18, 1975, s. 149 – 153.
10. PŮŽA, V.: Mikrokinematografické sledování adheze a dilatace buněk pěstovaných in vitro. Suppl. věd. prací LF Hradec Králové, 19, 1976, s. 737 – 744.
11. RÖSSNER, P. et al.: Standardní operační postupy pro biologické monitorování genotoxických účinků faktorů prostředí. Acta Hyg. Epidemiol. Microbiol. 3, 2003, 191pp, Standard NHI Praha.
12. VANĚK, J. a kol.: Biokompatibilita a mechanicko-fyzikální stabilita povrchové úpravy dentálních implantátů na bázi nitridu titanu a nitridu zirkonia. Závěrečná zpráva grantového projektu IGA MZ ČR č. ND 7356-3, Brno, 2005.

MUDr. Patrik Prachár, PhD,
Stomatologická klinika LF MU
a FN u sv. Anny Brno,
Pekařská 53,
656 91 Brno,
patrik.prachar@fnusa.cz

Titanové slitiny s příměsí železa: Analýza materiálových vlastností, biokompatibility a vhodnosti pro aplikaci v dentální implantologii

Titanium alloys with iron admixtures: analysis
of its material characteristics, biocompatibility and
suitability for applications in dental implantology

Bartáková, S., Prachár, P., B., Strecha, J., Podhorná, B.,
Kudrman, J. †, Hnilica, F., Březina, V., Vaněk, J.

MUDr. Sonia Bartáková PhD., MUDr. Patrik Prachár, PhD., Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno. Prednosta: prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc.
MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent medima, s.r.o., Martin
Ing. Božena Podhorná, Ing. Jiří Kudrman, DrSc., Ing. F. Hnilica, UJP Praha a.s., Nad kamínkou 1345, 156 10 Praha - Zbraslav
Ing. Vítězslav Březina, CSc., B.P. Medical spol. s r.o., Příkop 843/4, 60200 Brno
prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc., Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno.

Abstrakt

U titanových beta slitin složených z titanu, hliníku a železa byly studovány jejich mechanicko fyzikální vlastnosti a mikrostruktura. Byly testovány různé způsoby lití TiAlFe slitin, jejich změny během tváření, žíhání a vytvrzení za různých teplot. Bylo zjištěno, že deformací za studena, vytvrzováním nebo kombinací obou těchto postupů lze měnit mechanické vlastnosti TiAlFe slitin v širokém rozmezí. Dále byly slitiny podrobeny sérii biologických testů pro posouzení jejich biokompatibility a genotoxicity. Výsledky těchto biotestů, zejména testu adherence buněk, potvrdily velmi nízkou biokompatibilitu TiAlFe slitin a jejich nevhodnost pro výrobu implantátů a dalších chirurgických pomůcek.

Klíčová slova: titan, slitiny, biologické testy, kompatibilita, dentální implantáty.

Abstract

Microstructure, mechanical and physical properties were studied in alloys composed of titanium, aluminium and iron (TiAlFe). Different casting technologies of TiAlFe alloys were tested, and changes occurring during their formation, annealing and hardening were studied. It was found out, that mechanical properties of TiAlFe alloys can be changed during processes such as cold deformation, hardening or combination of these two techniques. TiAlFe alloys were subjected to a series of biological tests in order to evaluate their biocompatibility and genotoxicity. Results of these bio-tests, the test of cell adherence in particular, showed that TiAlFe alloys had a very low biocompatibility. Therefore, TiAlFe alloys were determined as unsuitable for application in dental implants and surgical tool production.

Key words: titanium, alloys, biological tests, compatibility, dental implants.

Úvod

V klinické dentální praxi se titan a slitiny titanu využívají nejčastěji pro výrobu protetických náhrad, dentálních implantátů, korunek a litých konstrukcí částečných snímatelných náhrad (McCracken 1999)

[6]. Pokročilé technologie a intenzivní výzkum v oblasti perspektivních kovových materiálů vedou v současné době k vývoji nových titanových slitin (Roach 2007) [9]. Od těchto slitin se očekávají dobré materiálové a mechanické vlastnosti, stejně jako

jejich vysoká biokompatibilita. V posledních letech jsou předmětem výzkumu různé fyzikální, chemické a biologické interakce titanových slitin, jako například náchylnost ke korozi (Chatuvedi 2009) [4], buněčná toxicita a celková biokompatibilita (Yu et al. 2004) [11]. V současné době se testováním titanových slitin zabývají především vysoce specializovaná pracoviště kombinující výzkum materiálových vlastností a klinické studie. Poslední práce ukazují, že mezi vhodné přísady do titanových slitin, které jsou vysoce biokompatibilní, patří především niob, tantal a zirkonium (Niinomi et al. 2005, Bartáková et al. 2009) [2, 7]. Tyto přísady označujeme jako legující prvky. Jejich váhová procenta se pak používají pro označení slitiny a tvoří její identifikační kód, například Ti36Nb6Ta pro příměsi niobu a tantalu (Kuderman et al. 2008) [5].

Podle modifikace krystalové mřížky slitiny rozlišujeme tři kategorie titanových slitin: α slitiny, β slitiny a slitiny $\alpha - \beta$. Mezi α slitiny, které jsou charakteristické šesterečnou krystalovou mřížkou, se počítají slitiny TiAl, ve kterých působí Al jako stabilizátor α fáze. Slitiny TiAl dosahují velmi dobrých pevnostních vlastností. V beta slitinách jsou atomy uspořádány do kubické krystalové mřížky. Přítomnost malého množství železa (Fe) ve slitině stabilizuje její β fázi. Na stomatologické klinice Masarykovy univerzity v Brně se dlouhodobě zabýváme problematikou vývoje moderních titanových slitin pro dentální medicínu a hodnocením jejich biokompatibility. V posledních desíti letech jsme testovali desítky titanových β slitin s různými podíly legujících prvků: niob (Nb), molybden (Mo), tantal (Ta), vanad (Va), železo (Fe) – přehledně viz např. (Bartáková et al. 2007) [1]. Zatímco dosud získané výsledky potvrzují vhodnost slitin TiTa a TiAlNb pro dentální implantologii, slitiny obsahující Fe se jeví jako méně vhodné. Tato studie přináší přehled problematiky užití Fe jako legujícího prvku v titanových slitinách a detailní rozbor výsledků materiálových testů a biotestů, které potvrzují nízkou biokompatibilitu TiAlFe slitin.

Materiál a metody

Složení testovaných slitin

Byly odlity a studovány dvě základní skupiny, jednak α slitiny legované hliníkem, jednak moderní β slitiny s příměsí Fe a dalších legujících prvků. V tomto článku se zaměřujeme pouze na β slitiny TiAlFe. Bylo připraveno celkem 5 slitin s odstupňovanými obsahy železa. Z materiálového hlediska je množství a forma Fe přítomného ve slitině závislé na technologii lití, zejména použité teplotě. Při teplotě 595 °C dochází k eutektoidní transformaci, při níž se tvoří eutektoid α Ti s intermetalickou fází TiFe (detailněji viz Výsledky a diskuse). Maximální

rozpuštěnost železa v tuhém roztoku je 0,047 % hm. S hliníkem tvoří železo intermetalickou fázi FeAl_3 , vznikající eutekticky při 655 °C. V ternárním systému je pravděpodobný výskyt binární fáze FeTi a nelze vyloučit i přítomnost fáze $\text{Fe}(\text{Ti}, \text{Al})_3$, kde titan může být částečně substituován hliníkem. Proto byly testovány celkem tři technologické postupy přípravy TiAlFe slitin: lití, žhánání při 650 a 950 °C. Rovněž byly použity dva různé způsoby ochlazování TiAlFe slitiny.

Mikrostruktura litých slitin

Pomocí optické mikroskopie byla sledována mikrostruktura slitin ve stavu po odlití a ve stavu po žhánání 650 °C/15 min., 850 °C/10 min., a 950 °C/10min. s ochlazením v peci. Cílem žhánání při 650 °C bylo především odstranění pnutí po odlití a rychlém ochlazení. Od žhánání při 850 a 950 °C jsme očekávali vytvoření více rovnovážné struktury v důsledku pomalého přechodu přes transformační pásmo $\beta \rightarrow \alpha$. Při hodnocení mikrostruktur byla využita kvantitativní strukturní analýza. Dále byly vybrány vzorky sledovány pomocí řádkovací elektronové mikroskopie s možností mikroanalýz strukturních objektů. Pro strukturní stavy slitiny byl měřen objemový podíl jednotlivých, metalograficky odlišitelných fází. Pomocí bodové analýzy s využitím automatické analýzy obrazu byl měřen objemový podíl martenzitu (fáze α'), fáze beta a intermetalické fáze na bázi železa.

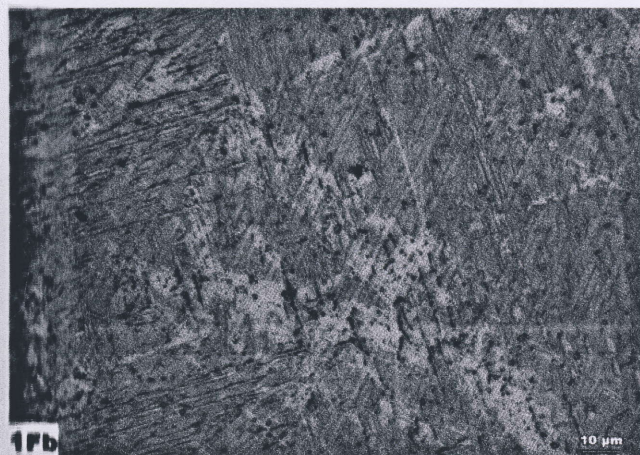
Testy biokompatibility

Podle standardních metodik (detailní popis viz Bartáková et al. 2009) [2] byly provedeny testy biokompatibility slitin TiAlFe. Z celkového počtu 9 biotestů zde uvádíme pouze 4 hlavní, které mají význam z hlediska kvantifikace celkové biokompatibility testovaného materiálu (ukazují na nedostatečnou biokompatibilitu TiAlFe slitin). Základem provedených zkoušek byl test růstu buněčné suspenze ve výluhu testovaného materiálu slitiny TiAlFe. Tento vstupní test je méně citlivý a umožňuje v podstatě pouze vyloučit toxické materiály. U méně biokompatibilních slitin je však rychlost růstu buněčné suspenze nižší a test dává i určitou možnost diferencovat vlastnosti hodnocených materiálů. Dalším použitým testem byl test adherence buněk (heteroploidní buněčná linie) k testovanému materiálu TiAlFe slitiny. Na válečky o rozměrech 8 x 3 mm bylo vysazeno 5000 buněk a po 48 hodinové expozici byl pomocí SEM porovnán konečný počet přichycených buněk oproti počtu buněk na kontrolním skleněném standardu. Dalším testem byl dynamický dilatační test, který určuje do jaké míry jsou buňky ovlivněny výluhem z testovaného TiAlFe materiálu ve své schopnosti přichytit se na skleněný substrát a rozšířit své

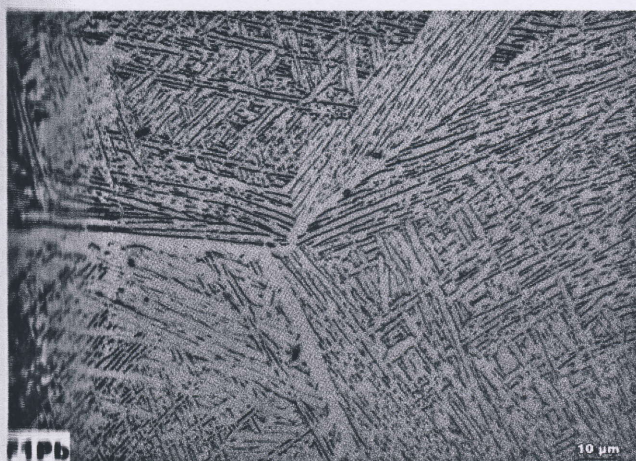
membrány. Posledním použitým testem byl test výskytu atypických mitóz, který byl prováděn na krátkodobě kultivovaných lidských lymfocytech. Bylo hodnoceno 100 měření, hodnocen počet metafází, počet vícejaderných buněk a byl stanoven mitotický index. Test vypovídá o mutagenních vlastnostech testovaného materiálu. Při překročení hodnoty 5 % aberantních mitóz je testovaný materiál považován za mutagenní.

Výsledky a diskuse

Testované slitiny TiAlFe měly silnou tendenci k vytvrzování intermetalickou fází. Při nejnižší koncentraci Fe je struktura tvořena martenzitem (fáze α') a jemnými částicemi vyloučené intermetalické fáze (obr. 1). Vliv žíhání při 650 °C se neprojevil. Teplota 850 a 950 °C s ochlazením v peci nepotlačila martenzitickou transformaci, ale měla za následek precipitaci intermetalické fáze na rozhraní martenzitických desek (obr. 2).



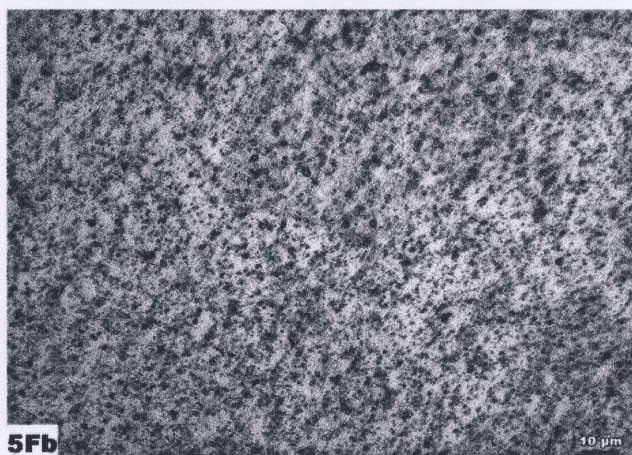
Obr. 1. Slitina Ti 5Al 1Fe, litý stav
Fig. 1. Ti 5Al 1Fe alloy, cast state



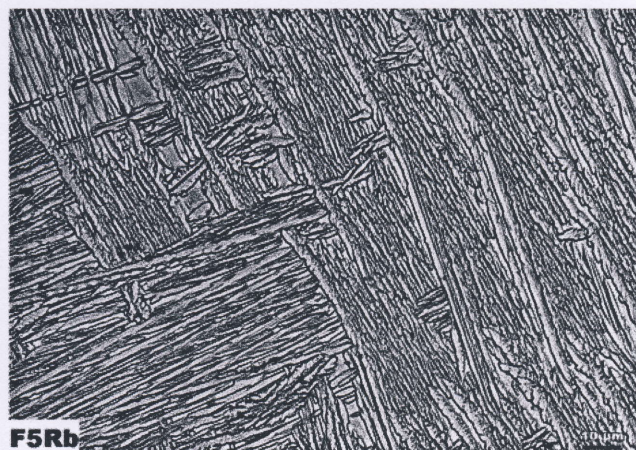
Obr. 2. Slitina Ti 5Al 1Fe, 950 °C/10 min.
Fig. 2. Ti 5Al 1Fe alloy, 950 °C/10 min

s rostoucím obsahem železa ve slitině se mírně snižoval podíl martenzitu. Rovněž se s rostoucím podílem železa ve slitině objevovaly ohraničené ostrůvky fáze α'

a zvýšil se podíl částic intermetalické fáze. Tyto částice jsou u rychle ochlazených vzorků jemné, globulární a u pomalu ochlazených vzorků se vylučují na rozhraních martenzitu ve formě destiček. Vliv žíhání výrazně neprojevuje, jestliže podíl Fe nepřesáhne 6 % hm Fe. Při vyšším obsahu železa byly mezi stavem po odlití a po žíhání projevují výrazné morfologické rozdíly vyloučené intermetalické fáze. V litém stavu je precipitát TiFe velmi jemný (obr. 3). Morfologie struktury po žíhání 850 a 950 °C s ochlazením v peci je odlišná. Tento režim vedl ke vzniku dvoufázové struktury vytvrzené destičkami intermetalické fáze (obr. 4)

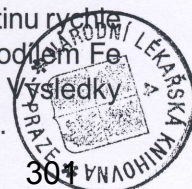


Obr. 3. Slitina Ti 5Al 10Fe, litý stav
Fig. 3. Ti 5Al 1Fe alloy, cast state



Obr. 4. Slitina Ti 5Al 10Fe, 850 °C/10 min.
Fig. 4. Ti 5Al 1Fe alloy, 850 °C/10 min

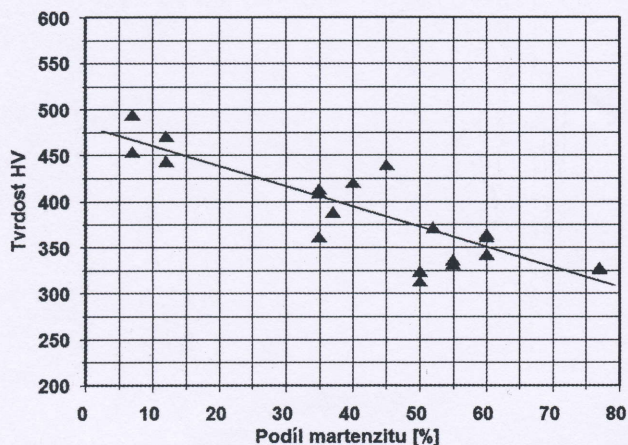
Zjištěné objemové podíly martenzitu (fáze α'), fáze beta a intermetalické fáze na bázi železa byly závislé na obsahu Fe ve slitině a na teplotě žíhání. Obecně lze konstatovat, že podíl martenzitu ve slitině klesá se zvyšujícím se obsahem Fe v TiAlFe slitině. Pokles množství martenzitu je rychlejší, jestliže slitinu rychle ochlazujeme. Naopak, se zvyšujícím se podílem Fe roste podíl beta fáze ve výsledné slitině. Výsledky jsou souborně prezentovány v tabulce č. 1.



Tab. 1. Výsledky kvantitativní strukturní analýzy u vzorků slitin TiAlFe

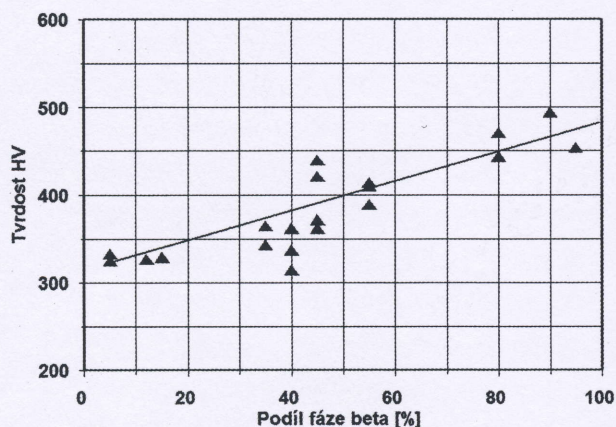
Tab. 1. Results of quantitative structure analysis of TiAlFe alloy samples

Obsah železa [%hm]	Objem. podíl precipitátu [%]		Objemový podíl martenzitu [%]				Objemový podíl fáze beta [%]			
	Litý stav	Žihání 950 °C	Litý stav	Teplota žihání [°C]			Litý stav	Teplota žihání [°C]		
				650	850	950		650	850	950
1.1	1,2	3,6	77	77	55	50	15	12	5	5
2.69	-	8,1	52	60	55	50	45	40	40	40
4.22	4,8	10,9	45	40	60	60	45	45	35	35
7.38	7,9	13,7	12	12	37	35	80	80	55	45
10.18	10,3	24,1	7	7	35	35	95	90	55	55



Obr. 5. Závislost tvrdosti na objemovém podílu martenzitu

Fig. 5. Hardness dependent on martensite portion



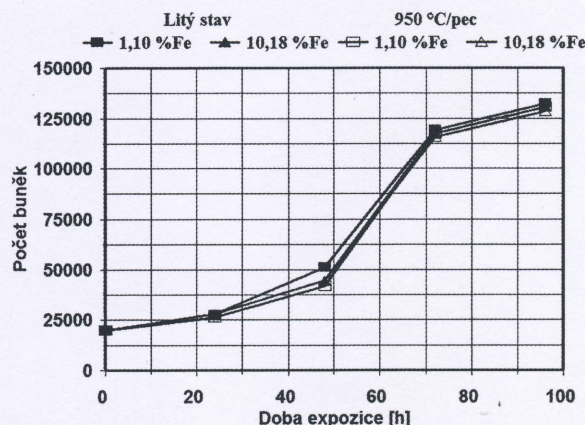
Obr. 6. Závislost tvrdosti na objemovém podílu fáze beta

Fig. 6. Hardness dependent on beta phase volume

Získané výsledky ukázaly závislost tvrdosti TiAlFe slitiny na objemových podílech vyloučených fází: martenzitická fáze α' (obr. 5) a podíl fáze β (obr. 6). Tvrdost je vyšší při vyšších podílech fáze β a s rostoucím podílem martenzitu klesá. Při interpretaci těchto závislostí je však nutno si brát v úvahu, že zahrnují i faktor různých režimů tepelného zpracování. Například u rychle ochlazených

vzorků precipitují intermetalické fáze ve formě jemných globulárních částic, a tím i vytvrzovací efekt je vyšší. Současně je u těchto stavů vyšší podíl fáze beta, což zdánlivě ukazuje na vyšší tvrdost této fáze.

Výsledky testu růstu buněčné suspenze ve výluhu z TiAlFe slitin jsou uvedeny na obr. 7. Průběhy zjištěných závislostí ukazují kinetiku růstu buněčné suspenze pro slitiny s různou koncentrací železa pro litý stav, stav po žihání při 950 °C a ochlazení v peci. Průběhy kinetik jsou shodné a rozdílné tepelné zpracování TiAlFe slitiny se neprojevilo. Lze tedy konstatovat, že slitiny legované železem hodnocené tímto testem nevykazují výrazné toxické vlastnosti.

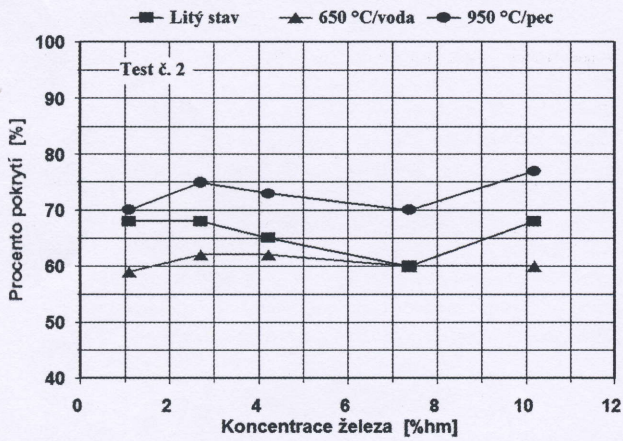


Obr. 7. Porovnání kinetiky růstu buněčné suspenze po různém tepelném zpracování u slitin TiAlFe

Fig. 7. Comparison of kinetic growth of cell suspension after thermal procedure in TiAlFe alloys

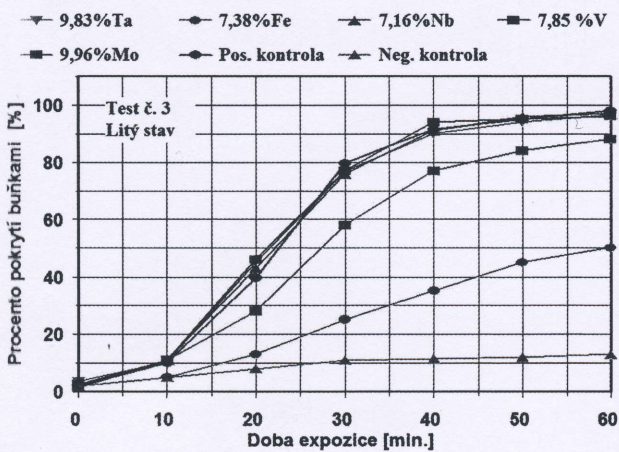
Test adherence buněk k TiAlFe slitině ukázal příznivější výsledky u vzorků žihaných při 950 °C a ochlazených v peci. Nicméně, ve všech případech byl podíl adheovaných buněk malý a dosahoval hodnot 60 – 75%, což je hodnoceno jako nevyhovující (obr. 8). Rovněž v porovnání s ostatními legujícími kovy jsou tyto naměřené hodnoty adherence buněk u slitin obsahujících Fe velmi nízké. Doplnkový test sledující procento pokrytí povrchu kovu buňkami po 60 min. expozice u slitin Ti obsahujících jednotlivě přísady (Ta, Ni, V, Mo) v rozmezí 7 – 10 %hm prokázal dílčí nevhodnost vanadu a nevhodnost Fe (obr. 9).

Důležitá zjištění ukázal dynamický dilatační test (obr. 10). Procento dilatovaných buněk je v porovnání s pozitivním standardem nízké. Horší výsledky přinesly testy u vzorků pomalu ochlazených. Srovnání vlivu Fe na dilataci buněk bylo uskutečněno doplnkovým testem na slitinách titanu s koncentrací legujících přísad 7 – 10 %hm pro litý stav a pro stav po žihání při 950 °C s ochlazením v peci. V obou porovnávaných stavech měly dobrou kompatibilitu slitiny legované Mo, Ni a Ta. Slitiny s V měly hodnoty, které neumožňují označit je jako biokompatibilní, ale jen jako biotolerantní. Slitiny s přísadou železa byly již na hranici toxicity.



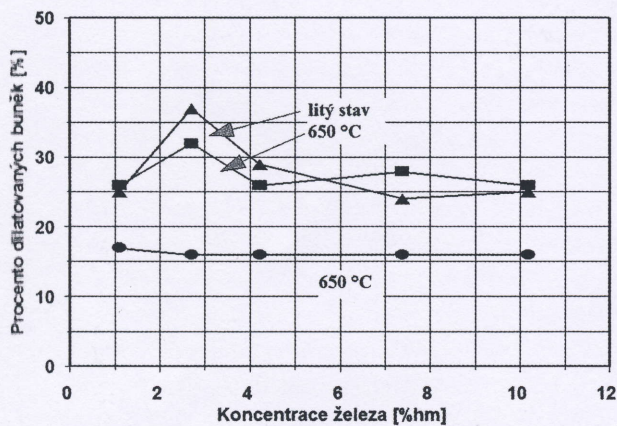
Obr. 8. Vliv koncentrace Fe a tepelného zpracování na adhezenci buněk

Fig. 8. Influence of Fe concentration and thermal procedure on cell adherence



Obr. 9. Vliv Fe a ostatních legujících prvků na adhezenci buněk

Fig. 9. Influence of Fe and other alloying elements on cell adherence

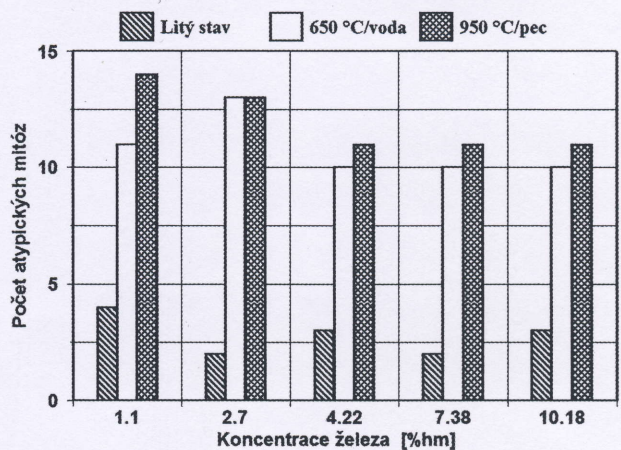


Obr. 10. Výsledky dynamického dilatačního testu u slitin TiAlFe

Fig. 10. Results of dynamic dilatation test in TiAlFe alloys

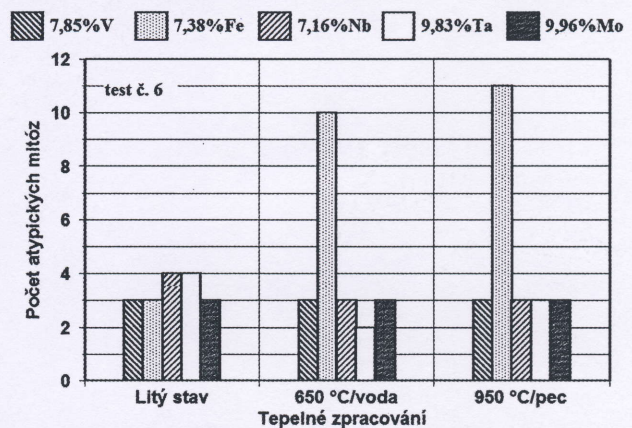
Výsledky testu indukce atypických mitóz rovněž ukázaly na nevhodnost Fe z hlediska biokompatibility. Vyšší podíl intermetalické fáze ve slitině TiAlFe při tepelném zpracování za 650/950 °C nepříznivě ovlivňuje počty atypických mitóz (obr. 11). Tento test prokazuje, že železo působí nežádoucí změny buněk a nelze vyloučit ani jeho karcinogenní efekt.

U tohoto testu bylo u slitin s přísadou železa u 100 hodnocených buněk u stavů po žíhání při 650 a 950 °C zjištěno 10 a 11 atypických mitóz, což je nepříjemné. Slitiny s ostatními legujícími přísadami (V, Nb, Ta, Mo) a slitiny železa v litém stavu byly v oblasti normálních hodnot (obr. 12).



Obr. 11. Vliv tepelného zpracování na výskyt atypických mitóz

Fig. 11. Influence of thermal procedure on appearance of atypical mitoses



Obr. 12. Porovnání výsledku testu indukce atypických mitóz

Fig. 12. Comparison of test results of atypical mitoses induction

Velmi špatnou biokompatibilitu slitin legovaných železem ukazuje tabulka 2, kde jsou přehledně shrnuty a vyhodnoceny hodnocené testy biokompatibility. Slitiny TiAlFe byly celkově hodnoceny převážně

jako biologicky netolerantní. Mírně lepší výsledky byly zjištěny pouze po velmi pomalém ochlazení v peci. Získané poznatky je možno shrnout, že železo jako přísada do titanových slitin není přijatelné a tyto slitiny se na výrobu implantátů nehodí.

Tab. 2. Výsledky vybraných testů cytotoxicity u slitin s přísadou železa. Hodnocení biokompatibilitu: A = bez výhrad, B = tolerantní, C = přijatelné, D = netolerantní, D3 = buňky adherují jako ostrůvky, E = toxické

Tab. 2. Results of selected tests of cytotoxicity in alloys with iron admixture. Evaluation of biocompatibility: A – without any reservation, B – tolerated, C – acceptable, D – intolerable, D3 – cells adhering in island form, E – toxic

Koncentrace Fe (% hm)	Tepelné zpracování	růst suspenze	test adherence	test dilatace	atypické mitózy	Cellkové hodnocení
1,1	litý stav	A	D3	C	A	netolerantní
	650 °C/voda	A	D3	C	D	netolerantní
	950 °C/pec	A	D	E	E	netolerantní
2,69	litý stav	A	D3	C	A	netolerantní
	650 °C/voda	A	D3	D	E	netolerantní
	950 °C/pec	A	D	E	E	netolerantní
4,22	litý stav	A	D3	D	A	netolerantní
	650 °C/voda	A	D3	D	D	netolerantní
	950 °C/pec	A	D	E	D	netolerantní
7,38	litý stav	A	D3	D	A	netolerantní
	650 °C/voda	A	D3	D	D	netolerantní
	950 °C/pec	A	D	E	D	netolerantní
10,18	litý stav	A	D3	D	A	netolerantní
	650 °C/voda	A	D3	D	D	netolerantní
	950 °C/pec	A	D	E	D	netolerantní

Závěr

Uskutečněné materiálové testy a testy biokompatibilitu prokázaly, že titanové slitiny obsahující Fe nejsou vhodnými materiály pro aplikaci v dentální medicíně. Příčinou nevhodnosti je vylučování částic intermetalické fáze TiFe a uvolňování iontů železa z této fáze. Proto nelze doporučit vývoj dentálních implantátů na bázi TiAlFe slitin. Mnohem perspektivnější jsou pro tyto účely slitiny s přísadou Zr a V, jak o tom svědčí naše další současné studie (Bartáková et al., in press) [3] i poznatky zahraničních pracovišť (Niinomi 2008) [7]. Rovněž slitiny titanu s přísadou niobu (např. Srimaneepong et al. 2008) [10] a platiny (Yamazoe et al. 2007) [12] se jeví jako velmi perspektivní.

Tato práce vychází z projektu MŠMT č. 1M0528 – Stomatologické výzkumné centrum a z projektu MPO ČR POKROK č. 1H-PK/14.

Literatura

1. BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., BŘEZINA, V., KUDRMAN, J., PODHORNÁ, B., VANĚK, J. (2007): Beta titanové slitiny v dentální implantologii. In IX. Brněnské implantologické a dentální dny. Vyškov : Tisk MoraviaTisk s.r.o., 2007., s. 31 – 68. 29.11.2007, Brno.

- BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., KUDRMAN, J., PODHORNÁ, B., BŘEZINA, V., STRECHA, J. (2009): Binární titan-niobové slitiny a jejich biokompatibilita. Stomatológ, No.1, 2009, 39 – 42.
- BARTÁKOVÁ, S., PRACHÁR, P., KUDRMAN, J., BŘEZINA, V., PODHORNÁ, B., ČERNOCHOVÁ, P., VANĚK, J., STRECHA, J. (2009 in press): New titanium β alloys for dental implantology and their laboratory-based assays of biocompatibility. Scripta medica, in press.
- CHATUVEDI, T., D. (2009): An overview of the corrosion aspect of dental implants (titanium and its alloys). Indian Journal of Dental Research, 20: 91 – 98.
- KUDRMAN, J., CHLUBNOVÁ, R., VESELÝ, J., HNILICA, F., PODHORNÁ, B. (2008): Vlastnosti titanových beta slitin vhodných pro použití v humánní medicíně. Sborník konference Metal 2008, Hradec nad Moravicí.
- McCRACKEN, M. (1999): Dental implant materials: Commercially pure titanium and titanium alloys. Journal of Prosthodontics. 8: 40 – 43.
- NIINOMI, M. (2008): Metallic biomaterials. Journal of Artificial Organs, 11: 105 – 110.
- NIINOMI, M., HANAWA, T., NARUSHIMA, T. (2005): Japanese Research and Development on Metallic Biomedical, Dental, and Healthcare Materials. JOM, 18 – 24.
- ROACH, M. (2007): Base metal alloys used for dental restoration and implants. Dental clinics of North America, 51: 603 – 627.
- SRIMANEEPONG, V., YONEYAMA, T., KOBAYASHI, E., DOI, H., HANAWA, T. (2008): Comparative study on torsional strength, ductility and fracture characteristics of laser-welded alpha plus beta Ti-6Al-7Nb alloy, CP Titanium and Co-Cr alloy dental castings. Dental Materials, 24: 836 – 845.
- YU, S., R., ZHANG, X., P., HE, Z., M., LIU, Y., H., LIU, Z., H (2004): Effects of Ce on the short-term biocompatibility of Ti-Fe-Mo-Mn-Nb-Zr alloy for dental material. Journal of Materials Science. Materials in Medicine, 15: 687 – 691.
- YAMAZOE, J., NAKAGAWA, M., MATONO, Y., TAKEUCHI, A., ISHIKAWA, K. (2007): The development of Ti alloys for dental implant with high corrosion resistance and mechanical strength. Dental Materials Journal, 26: 260 – 267.

MUDr. Sonia Bartáková, PhD.
Stomatologická klinika lékařské fakulty
Masarykovy univerzity a FN u sv. Anny v Brně,
Česká republika
sonia.bartakova@fnusa.cz

Plastika vestibulárnej steny alveolárneho výbežku maxily periostálnym lalokom

Reconstruction of the vestibular wall of alveolar processes of the maxilla by means of a periosteal graft

Strecha, J., Jurkovič, R., Siebert, T., Prachár, P., Bartáková, S.

MUDr. Juraj Strecha, PhD., Eurodent Medima, s.r.o., Martin, Slovenská republika

MUDr. Richard Jurkovič, DEIMPERIO, spol. s r. o., Bratislava, Slovenská republika

MUDr. Tomáš Siebert, PhD., DENTÁLNE CENTRUM, spol. s.r.o., Trnava, Slovenská republika

MUDr. Patrik Prachár, PhD., Stomatologická klinika lekárskej fakulty Masarykovej Univerzity a FN u sv. Anny v Brne, Česká republika, prednosta prof. MUDr. Jiří Vaněk, Csc.

MUDr. Sonia Bartáková, PhD., Stomatologická klinika lekárskej fakulty Masarykovej Univerzity a FN u sv. Anny v Brne, Česká republika, prednosta prof. MUDr. Jiří Vaněk, Csc.

Abstrakt

Autori sa zaoberajú rekonštrukciou úzkeho alveolárneho výbežku maxily pred implantologickým ošetrením alebo v rámci daného ošetrenia. Úzky alveolárny hrebeň je spôsobený spontánnym hojením alveolu po strate zuba rôznej etiológie. Defekt spôsobuje funkčné aj estetické ťažkosti v implantologickom a následne protetickom riešení straty zuba. Autori popisujú augmentačnú operačnú techniku rekonštrukcie alveolárneho hrebeňa pomocou palatinálneho periostálneho laloka. **Kľúčové slová:** augmentácia, periostálny lalok, kostný defekt, dentálny implantát.

Abstract

The authors deals with reconstruction of a narrow alveolar process of the maxilla before or during implantological treatment. Development of a narrow alveolar ridge is caused by spontaneous healing of alveolae after tooth loss of any ethiology. The defect causes functional and esthetic difficulties during implantological treatment as well as in the subsequent prothetic solution of tooth replacement. The authors describe augmenting operational procedures of reconstructing the alveolar ridge by means of palatine periosteal graft.

Key words: augmentation, periosteal graft, bone defect, dental implant.

Úvod

Strata frontálneho zuba maxily môže spôsobovať pacientovi funkčné a estetické ťažkosti. Dôsledkom luxácie, sublúxie zuba alebo fraktúry radixu zuba je často poškodenie vestibulárnej steny alveolu. Výsledkom hojenia takto poškodeného alveolu je anteroposteriórne zúženie alveolárneho hrebeňa v mieste straty zuba (obr. 1, 11). Chýbajúci objem tkanív z vestibulárnej strany spôsobuje nemalé ťažkosti pri zhotovovaní funkčne aj esteticky vyhovujúcej protetickej náhrady. Aj v prípade dostatočnej ponuky kostného tkaniva pre aplikáciu implantátu je potrebné rekonštruovať defekt prednej steny alveolárneho hrebeňa z dôvodu zabezpečenia dostatku mäkkých tkanív pre formovanie marginálnej gingívy okolo budúcej protetickej náhrady (obr. 14, 15).

Materiál a metodika

Predprotetická rekonštrukcia vestibulárnej steny alveo-

lárneho výbežku po strate horného frontálneho zuba je potrebná z dôvodu zaistenia dostatku mäkkých gingiválnych tkanív pre modeláciu krčkovej oblasti protetickej náhrady v implantológii (červeno-biela estetika). Na rekonštrukciu vestibulárneho kostného defektu alveolárneho výbežku maxily sa používajú tri základné techniky:

- náhrada kostného tkaniva autológym kostným štepom,
- náhrada kostného tkaniva rôznymi syntetickými augmentačnými materiálmi,
- rekonštrukcia vestibulárneho defektu palatinálnym periostálnym lalokom.

Posledne menovaná operačná technika sa používa:

- a) V prípade, že strata kostného tkaniva nie je výrazná a umožňuje aplikáciu implantátu. Ponuka mäkkých tkanív je však nedostatočná pre vyhotovenie funkčnej červeno-bielej estetiky.

- b) Po osteointegrácii implantátu s augmentáciou vestibulárnej steny alveolárneho hrebeňa kostným alebo syntetickým materiálom, avšak s nedostatkom mäkkých tkanív pre vyhotovenie dobrej červeno-bielej estetiky.
- c) Po zhojenej rekonštrukcii defektného alveolárneho hrebeňa kostným alebo syntetickým materiálom.

Operačná technika využíva podloženie vestibulárnych mäkkých tkanív nad defektom vlastným periostálnym lalokom získaným z oblasti zadnej, palatinálnej steny alveolárneho hrebeňa maxily. Výsledkom je rekonštrukcia anatomického tvaru prednej steny alveolárneho hrebeňa. Týmto procesom je zabezpečená dostatočná ponuka mäkkých gingiválnych tkanív pre funkčnú a estetickú modeláciu krčkovej oblasti protetickej náhrady.

Slizničný rez sa vedie na vrchole alveolárneho hrebeňa a stredom interdentálnych papíl. Pokračuje okrajovým rezom približne do úrovne stredov susedných zubov, vestibulárne aj palatinálne. Vrcholová sliznica sa postupne naostro preparuje od periostu palatinálnym smerom (obr. 2, 3). Hĺbka preparácie je cca 8 – 10 mm. Šírka preparácie kopíruje šírku alveolárneho hrebeňa medzi susednými zubami. V hĺbke 8 – 10 mm pod odpreparovanou sliznicou na podnebí sa robí rez periostom. Periostálny lalok sa opatrne oddeľuje od kosti podnebia a spolu s vestibulárnym mukoperiostom sa oddeľuje od vestibulárnej steny alveolárneho hrebeňa (obr. 4). Týmto procesom je odhalený kostný alveolárny hrebeň s vestibulárnym kostným defektom. Vyplnenie kostného vestibulárneho defektu je docielené vlastným periostálnym lalokom z podnebia - jeho preklopením a zrolovaním pod vestibulárny mukoperiost (obr. 8, 9, 12). Následne sa suturuje vestibulárna a palatinálna sliznica „side to side“. V prípade aplikácie implantátu (obr. 5, 6), ktorý je dostatočne fixovaný v kostnom tkanive (min. 35 Ncm), v tomto operačnom zákroku upravujeme marginálnu sliznicu okolo vhojovacieho valčeka alebo nadstavby (obr. 7, 10, 13).



Obr. 1. Zúženie alveolárneho hrebeňa po strate zuba 24 (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 1. Narrowing of the alveolar ridge after loss of 24th tooth. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



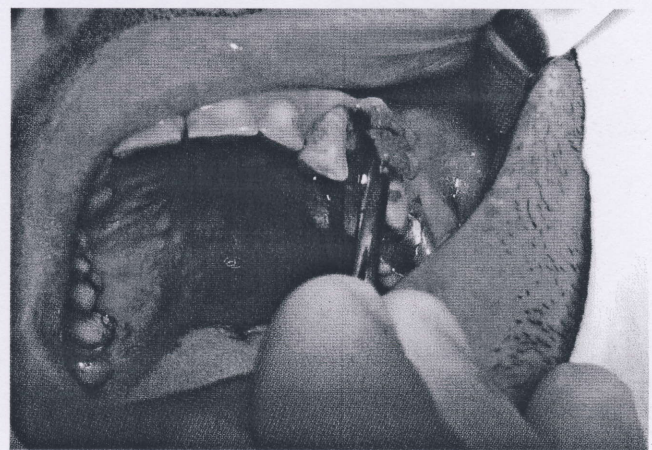
Obr. 2. Preparácia sliznice podnebia (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 2. Preservation of the palatal mucosa membrane. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 3. Preparácia periostálneho laloka od podnebia (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 3. Preservation of the palatal periosteum. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 4. Preklopenie periostálneho a mukoperiostálneho laloka a obnaženie kostného alveolárneho hrebeňa (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 4. Overturn of periosteal and mucoperiosteal membranes and exposure of the bony alveolar ridge. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



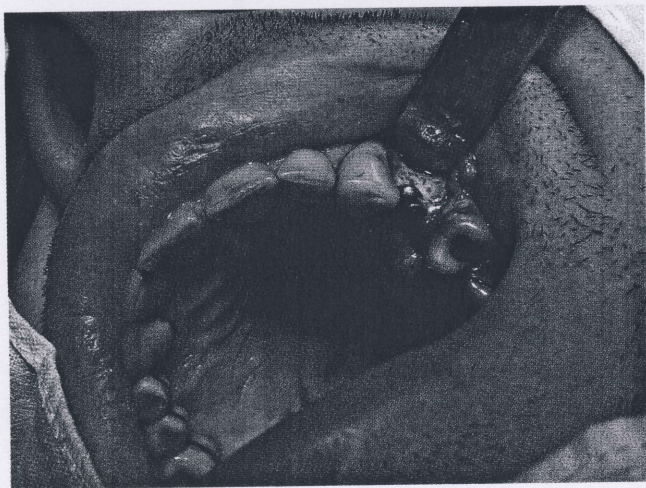
Obr. 5. Aplikácia enoseálneho implantátu
(Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 5. Application of implant. (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)



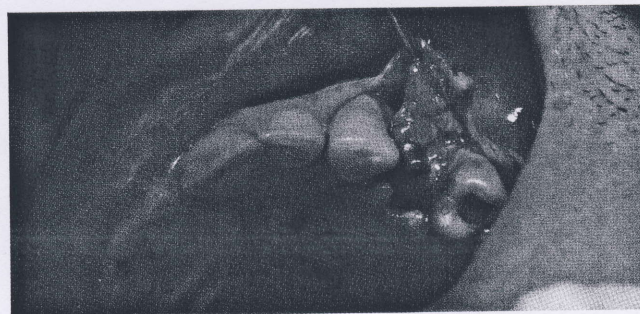
Obr. 6. Inzerovaný dentálny implantát
(Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 6. Advertised dental implant.
(Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 7. Aplikovaná nadstavba na implantáte
(Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 7. Applied implant abutment.
(Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 8. Nadvihnutý mukoperiostálny lalok s periostálnym lalokom (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 8. Lifted mucoperisosteal and periosteal membranes. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 9. Vsunutie periostálneho laloka pod vestibulárny mukoperiost (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 9. Periosteal membrane inserted under the vestibular mucoperiosteum. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



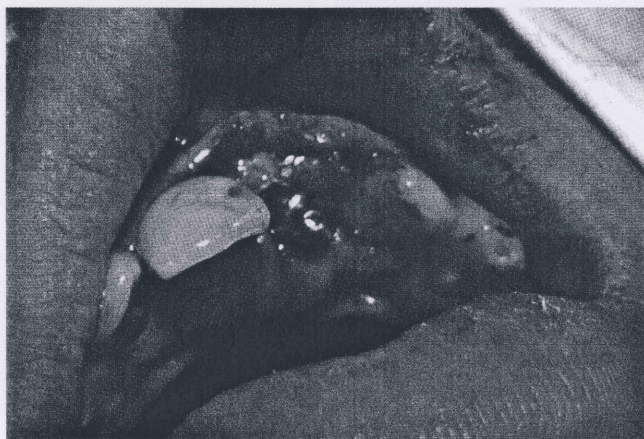
Obr. 10. Sutura „side to side“ na vrchole alveolárneho hrebeňa po úprave okolo nadstavby implantátu (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 10. „Side to side“ suture on the top of alveolar ridge after modification of implant crown surrounding. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 11. Zúžený alveolárny hrebeň po strate zuba 21 (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 11. Narrowed alveolar ridge after loss of the 21st tooth. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



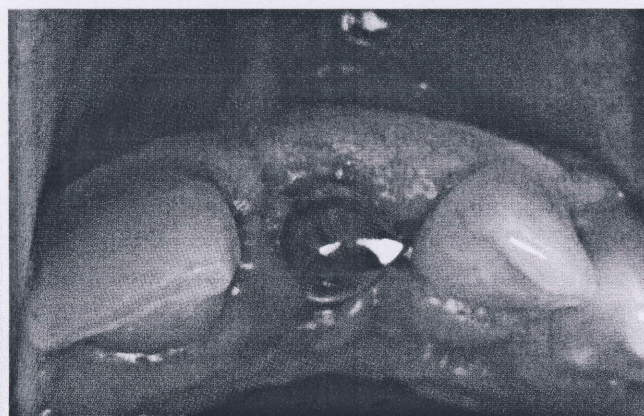
Obr. 12. Vsunutý periostálny lalok pod mukoperiost vestibulárnej strany alveolárneho hrebeňa s inzerovaným dentálnym implantátom a aplikovaným vhojovacím valčekom (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 12. Periosteal membrane inserted under the mucoperiost of vestibular wall of alveolar ridge with advertised dental implant and applied healing cylinder. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 13. Sutura sliznice na vrchole alveolárneho hrebeňa okolo vhojovacieho valčeka (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 13. Mucosa membrane sutura on the top of alveolar ridge around healing cylinder. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 14. Aplikovaná nadstavba na implantát po 14 dňoch od operácie (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 14. Abutment applied on implant, 14 days after operation. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)



Obr. 15. Pohľad na anatomický tvar alveolárneho hrebeňa po chirurgicko-protetickej rekonštrukcii (Foto: Eurodent medima, s.r.o.)

Fig. 15. View of anatomical shape of alveolar ridge after surgical and prosthetic reconstruction. (Photo: Eurodent medima, s.r.o.)

Výsledky

Popísaná chirurgická metóda je pre pacientov nenáročná. V dobre aplikovanej lokálnej anestézii s vazokonstričnou prísadou predstavuje pre pacienta veľmi malú operačnú záťaž. Aj pooperačný priebeh je dobre kontrolovateľný vhodnou analgetickou liečbou. Pooperačný edém je mierny a do troch dní sa úplne stráca. Náročnosť uvedených výkonov spočíva v zabezpečení vysokej atraumatickosti práce s mäkkými tkanivami. Predpokladom je dostatočná erudovanosť operátora a úzkostlivé dodržiavanie princípov fyziologického operovania. Pri zabezpečení atraumatickosti, aseptickosti a rýchlosti operácie nie je potrebné antibiotické krytie. Pacient je podrobne informovaný o domacom vykonávaní pooperačnej hygieny v oblasti operačného poľa.

Diskusia

Problematika rekonštrukcie alveolárneho hrebeňa bola a stále je veľmi dôležitou časťou rekonštrukčnej ústnej chirurgie. Defekty sú spôsobované rôznymi mechanizmami. Najčastejšie vznikajú po extrakciách zubov z dôvodu atrofie kosti ex inactivitatem. Oveľa väčšie defekty vznikajú v dôsledku ťažkých foriem parodontitíd, traumatickým mechanizmom, ale aj iatrogenizáciou pri nešetrnej extrakcii zuba. Spomínané prevažne kombinované defekty alveolárneho výbežku robia najväčšie problémy v estetickom úseku čeluste pri stratách jednotlivých zubov. V posledných rokoch sa čoraz viac upriamuje pozornosť na dokonalú prirodzenú červeno-bielu estetiku, čo vyžaduje v niektorých prípadoch veľmi zložitú terapeutickú chirurgickú metodiku, využívajúce riadenú kostnú regeneráciu

a plastickú chirurgiu parodontu, resp. periimplantačných tkanív.

Rôzne druhy palatinálnych lalokov sa využívajú pri riešení nedostatku mäkkých tkanív v rámci rekonštrukcie zubov prostredníctvom dentálnych implantátov.

Spomínané operačné techniky sa používajú perimplantačne pri jednodobej implantačnej technike, resp. pri odkrývaní implantátu pri dvojdoobej operačnej technike. Hlavným dôvodom je zabezpečenie potrebného množstva kvalitnej periimplantačnej gingívy, ktorá zabezpečí dostatočnú biologickú šírku tkaniva s cieľom stabilného funkčného a estetického prechodu korunky na implantát [4, 3]. Špeciálna operačná technika, ktorá sa používa pri poextrakčnej implantácii, kedy sa pre defekt časti vestibulárnej kompakty zároveň periimplantačne augmentuje aj kosť, je rotovaný rozštiepený palatinálny lalok, ktorým sa kryje takto zaimplantovaný implantát. Výsledkom je okrem dobudovania kosti aj dostatočné prekrytie dobre prekrveným transponovaným lalokom do požadovanej pozície nad zaimplantovaný implantát [5]. Táto metodika používa obe nami popísané operačné techniky v jednej dobe, kedy je v prísne indikovaných prípadoch možné dosiahnuť veľmi dobré klinické výsledky.

Tal a kol. vo svojej práci popisujú použitie rotovaného palatinálneho laloku pri defekte alveolárneho výbežku, ktorý by bol esteticky nevhodný pri jeho protetickej rehabilitácii [7]. Náš pohľad na možnosť rekonštrukcie je totožný s názorom uvedených autorov.

Peñarrocha a kol. informujú o rekonštrukcii s použitím palatinálneho laloku s perioperačnou augmentáciou autológnej kosti po extrakcii malého rezáka v čelusti po opakovaných chirurgických periapikálnych intervenciách, ktorých výsledkom bol vážny poextrakčný defekt. Po takto prevedenej rekonštrukčnej operácii bol po zahojení implantovaný dentálny implantát a následne nasadená aj korunka [6]. V tejto indikácii, pokiaľ je možné pri okamžitej poextrakčnej implantácii dosiahnuť dostatočnú primárnu stabilitu implantátu, preferujeme implantáciu ihneď po odstránení zuba a augmentácie odporúčame prevádzať periimplantačne.

Podľa nášho názoru by mal operatér používať metodiky, ktoré najlepšie technicky zvláda a má s nimi dlhoročné skúsenosti. Vtedy dosiahne nezávisle od použitej metodiky najlepšie interindividuálne výsledky. K podobným záverom dospel aj McAllister [2]. Operatér musí vždy ešte pred zákrokom vedieť presne, čo sleduje a tomuto cieľu prispôsobiť operačnú techniku [1].

Záver

Dlhodobá dobrá prognóza protetickej náhrady strateného zuba je závislá od dostatočnej ponuky tvrdých a mäkkých tkanív a vhodného anatomického tvaru alveolárneho výbežku. Popísaná operačná technika je s dobrými výsledkami používaná hlavne v implantológii pri rekonštrukcii mäkkých tkanív. Jej použitie je samozrejme možné a výhodné aj v prípravnej fáze klasického protetického ošetrenia fixnými mostníkmi.

Literatúra

1. JOVANOVIĆ, S., A.: Bone rehabilitation to achieve optimal aesthetics. *Pract Proced Aesthet Dent.*, 19, 2007, p. 569 – 576.
2. McALLISTER, B., S., HAGHIGHAT, K.: Bone augmentation techniques. *J Periodontol.*, 78, 2007, p. 377 – 396.
3. NEMCOVSKY, C., E., MOSES, O.: Rotated palatal flap. A surgical approach to increase keratinized tissue width in maxillary implant uncovering: technique and clinical evaluation. *Int J Periodontics Restorative Dent.*, 22, 2002, p. 607 – 612.
4. NEMCOVSKY, C., E., ARTZI, Z.: Split palatal flap. II. A surgical approach for maxillary implant uncovering in cases with reduced keratinized tissue: technique and clinical results. *Int J Periodontics Restorative Dent.*, 19, 1999, p. 385 – 393.
5. NEMCOVSKY, C., E., ARTZI, Z., MOSES, O.: Rotated split palatal flap for soft tissue primary coverage over extraction sites with immediate implant placement. Description of the surgical procedure and clinical results. *J Periodontol.*, 70, 1999, p. 926 – 934.
6. PEÑARROCHA, M., GARCIA-MIRA, B., MARTINEZ, O.: Localized vertical maxillary ridge preservation using bone cores and a rotated palatal flap. *Int J Oral Maxillofac Implants.*, 20, 2005, p. 131 – 134.
7. TAL, H., BICHACHO, N., IMBER, S., KORNOWSKI, Y., NEMCOVSKY, C., E.: Rotated palatal flaps: A functional and aesthetic solution in edentulous sites. *Pract Proced Aesthet Dent.*, 16, 2004, p. 599 – 606.

**MUDr. Juraj Strecha, PhD.,
Eurodent medima,
Priehradka 20, 03601 Martin,
Slovenská republika,
strecha@medima.sk**

NEW TITANIUM β -ALLOYS FOR DENTAL IMPLANTOLOGY AND THEIR LABORATORY-BASED ASSAYS OF BIOCOMPATIBILITY

Bartáková S.¹, Prachár P.¹, Kudrman J.², Březina V.³, Podhorná B.², Černochová P.¹, Vaněk J.¹, Strecha J.⁴

¹ Department of Stomatology, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno, Czech Republic

² UJP Praha, Czech Republic

³ B.P. Medical Ltd., Nové Hradky, Czech Republic

⁴ Eurodent Medima Ltd., Martin, Slovak Republic

Received after revision April 2009



KEY WORDS

β -alloys
Biological tests
Niobium
Vanadium
Tantalum
Iron



CORRESPONDING AUTHOR

Bartáková S.
Department of Stomatology
Faculty of Medicine
Masaryk University and St. Anne's Faculty Hospital
Pekařská 53
656 91 Brno
Czech Republic

ABSTRACT

In this study, we focused on biological aspects of the applicability of modern titanium alloys in dental medicine. Overall, 34 new titanium β -alloys with different amounts of niobium (Nb), molybdenum (Mo), tantalum (Ta), vanadium (Va), and iron (Fe) were tested. Their suitability for possible use in dental implants was evaluated with special regard to potential toxicity. To evaluate biocompatibility of β -alloys, we applied numerous biological tests focused on cell growth, cell adherence, cell dilatation, evaluation of toxicity, tests of chromosomal aberrance, and other parameters of biocompatibility. The results revealed that, due to elution of particles of intermetallic TiFe phase and consequent release of Fe ions, TiAlFe alloys were not suitable for dental implants. TiAlNb and TiTa alloys exhibited the required biocompatibility parameters. The TiAlV alloys were ranked as biotolerant. It might be concluded that TiMo alloys were acceptable for the production of dental implants but less suitable than TiAlNb and TiTa alloys.

INTRODUCTION

There is a relatively large time gap between the invention and the development of a new dental material and its application in clinical practice. Within this time, numerous material-related and laboratory-based tests, as well as preclinical and clinical trials, are done. The length of the period, however, might be shortened if effective multidisciplinary research is applied. Such research requires close collaboration among specialists from the fields of material engineering, dental implantation surgery, and stomatology. In our study aimed at the period of such tests in newly-developed alloys, we created a network of professional institutions comprising a stomatological clinic, a stomatological research centre, and several commercial companies in the field of biotests,

implantation surgery, and orthopaedics. In our study, we focused on the newly-developed titanium β -alloys, Ti38Nb and Ti35Nb6Ta, as well as on those with niobium (Nb), molybdenum (Mo), tantalum (Ta), vanadium (Va), and iron (Fe) tested for future use in dental implants. Due to the low value of Young modulus and relatively easy forming, even cold processing, the β -alloys have good characteristics for prospective application in dental implantology. Therefore, future dental implants would be prepared using routine foundry technologies. Undoubtedly, many new applications of β -alloys will appear in future dentistry [1]. It is, therefore, necessary to define requirements for mechanical characteristics in such materials and implants. First of all, mechanical and physical properties of the new cast material must be determined and compared to those of formed materials. Then, their possible application must reflect their performance in dental implants exposed to different load in a jaw. Especially the fatigue load might be a critical issue in some applications of dental implants. In this respect, it is highly desirable to compare the fatigue load in formed and cast alloys. Specifically for β -alloys, it is necessary to keep their properties constant, in spite of the fact that they may vary according to their complex microstructure, number and amount of alloy ingredients. The alloys may be deformed mainly by sliding or twinning and/or combination of the two. Additionally, the alloys may have unsuitable martensitic structure. The fatigue properties of the alloys, especially the probability of microcrack initiation and their further development, depend strongly on alloy microstructure, composition, and temperature of processing. They may affect substantially the final properties of the alloy and the dental implant.

In our study, we focused on biological aspects of the applicability of modern titanium alloys in human medicine, dental implantology in particular. Within the last decades, numerous titanium alloys have been developed. These alloys possess suitable mechanical properties and a higher biocompatibility than traditional titanium-based materials [2]. In the Czech Republic, the majority of titanium dental alloys are of a high degree of purity abbreviated as Grade 2. For such purity, the maximum Fe content allowed is 0.25 % of weight. It is 0.20 %, and 0.08 % for carbon. The rigidity of such grade is within the range of 390–540 MPa. Formed materials obviously show rigidity at the upper limit. New materials could therefore show higher rigidity. They could also fit the high requirements for optimum biomechanical and biological interactions. The new materials should minimise fatigue and corrosion [3], which are the main reasons for implant rupture. Local load caused by chewing forces and the activity of oral cavity liquids may induce damage. It might be demonstrated as fretting damage, corrosion, and surface tension of implants. Generally, low pH and the resulting electrochemical changes

in the oral cavity [4] may cause damage to dental implants, too. Normal values (pH about 7.0) may be decreased mainly in the close neighbourhood of haematomas. Interstitial liquids, especially chlorides, are the most aggressive agents to implants. They may induce pitting, corrosion along margins, crack corrosion, etc. Therefore, studies of the response of dental implant materials to a variety of mechanical, biochemical, and biological factors are highly desirable.

In our study, we focused on the behaviour of titanium alloys in biological environment and evaluation of corrosion and the toxic effect of eluted metal ions. Another aim was to analyse the likely reasons for biological rejection of titanium alloys. The aim of our study was to perform a series of tests of biocompatibility of β -alloys with special regard to those of Ti38Nb and Ti35Nb6Ta grade. A further aim was to point out several alloys with the best properties and thus most suitable for clinical dental applications. Our working hypothesis was that a change in the relative proportion of Ni, Mo, Ta, Va, and Fe in dental implants of β -alloys may cause substantial differences in their properties and suitability for application in human medicine. For this purpose, we selected several biological tests that are used in the evaluation of biocompatibility of materials. The biological tests were focused on the following fields: cell suspension growth in an elution from tested alloys, adherence, dilatation (spreading), and toleration tests. Last but not least, a test of atypical mitosis and a test of chromosomal aberrance were applied.

MATERIALS AND METHODS

Laboratory-based preparation of titanium alloys Titanium alloys were prepared in an electric arc furnace Leybold-Heraeus L2004 supplemented with a pump A2DS150 and an exhaustor Roots RP1800. The alloys were smelted in water-cooled crystallisers in vacuum (10^{-2} to 10^{-3} mbar) or under low pressure atmosphere of an inert gas (He or Ar, 300–400 mbar). The smelting was performed either by a melting electrode in vacuum or a non-melting tungsten electrode under He/Ar atmosphere. The power source of the whole system was capable of a maximum current of 2 500 A. For the typical melting process, 1200 A was typically used.

Several titanium alloys with different contents of admixtures were prepared. The relative shares of the admixtures were analysed by a certified laboratory (Chemopetrol, Litvínov, CZ) using standard chemical analyses for trace element determination. Table 1 summarises the alloys prepared and tested in our study.

Sample preparation for biological testing

From the laboratory-prepared alloys, small pieces were cut and subjected to a metallographic analysis and rigidity measurements. The samples were analysed in the initial

Table 1

Titanium alloys and their chemical composition. For trace elements, only the alloyed ones are listed. Other elements important for the alloy properties are listed as well. Key to abbreviations: Abbr. – abbreviation, Al – aluminium, V – vanadium, Ta – tantalum, Nb – niobium, Fe – iron, Mo – molybdenum, Zr – zirconium, O – oxygen, N – nitrogen

Alloy	Abbr.	Concentration [% weight]								
		Al	V	Ta	Nb	Fe	Mo	Zr	O	N
Ti6Al2V	V1	6.56	1.75	-	-	-	-	-	0.119	0.028
Ti6Al4V	V2	6.70	3.71	-	-	-	-	-	0.145	0.022
Ti3Al2,5V	V5	3.26	2.21	-	-	-	-	-	0.091	0.009
Ti6Al6V	V3	6.59	5.63	-	-	-	-	-	0.140	0.037
Ti6Al8V	V4	6.85	7.85	-	-	-	-	-	0.133	0.036
Ti6Al2Nb	N1	6.11	-	-	2.42	-	-	-	0.141	0.041
Ti6Al4Nb	N2	5.91	-	-	4.84	-	-	-	0.095	0.012
Ti6Al6Nb	N3	5.85	-	-	7.16	-	-	-	0.145	0.031
Ti6Al7Nb	N4	5.93	-	-	8.36	-	-	-	0.149	0.033
Ti6Al1Nb	N5	5.90	-	-	10.45	-	-	-	0.083	0.014
Ti5Al1Fe	F1	5.15	-	-	-	1.10	-	-	0.150	0.037
Ti5Al2,5Fe	F2	5.30	-	-	-	2.69	-	-	0.121	0.031
Ti5Al4Fe	F3	5.38	-	-	-	4.22	-	-	0.131	0.036
Ti5Al6Fe	F4	5.11	-	-	-	7.38	-	-	0.149	0.032
Ti5Al8Fe	F5	5.00	-	-	-	10.18	-	-	0.137	0.030
Ti5Ta	M1	-	-	5.39	-	-	-	-	0.178	0.043
Ti10Ta	M2	-	-	9.83	-	-	-	-	0.185	0.035
Ti15Ta	M3	-	-	14.80	-	-	-	-	0.192	0.031
Ti20Ta	M4	-	-	19.70	-	-	-	-	0.154	0.024
Ti25Ta	M5	-	-	24.39	-	-	-	-	0.198	0.020
Ti15TaZr	MZ3	-	-	14.70	-	-	-	5.61	0.076	0.0058
Ti30Ta	M6			28.95					0.089	0.0075
Ti35Ta	M7			33.81					0.120	0.023
Ti30Nb	N6				31.81				0.071	0.015
Ti5Mo	P1						5.16		0.170	0.055
Ti10Mo	P2						9.96		0.167	0.039
Ti15Mo	P3						15.12		0.183	0.044
Ti20Mo	P4						19.78		0.185	0.055
Ti25Mo	P5						24.90		0.155	0.038
Ti30Mo	P6						29.41		0.148	0.032
Ti35Mo	P7						34.49		0.164	0.034
Ti15Mo5Zr	PZ3						14.79	5.24	0.150	0.032
Ti25Mo5Zr	PZ2						24.48	5.26	0.0077	0.0060
Ti15Nb8Zr	ZN1				15.51			8.64	0.113	0.0098

state after melting and at different states after annealing at 650 °C (15 min, air, abbreviated as Z in the following text), 850 °C (10 min, furnace, abbreviated as R), and 950 °C (10 min, furnace, abbreviated as P), respectively. For each sample and annealing type, microstructure of the alloy was evaluated. Microstructure was evaluated on a Lucia (NIKON) analysis system. The rigidity of the alloys was measured with a Vickers HV10 rigidometer. For selected samples, chemical analyses of phases were done using the microanalyser of a JOEL scanning electron microscope. For biological tests, cylinders of \varnothing 8x3 mm in diameter were prepared from the alloys.

Biological assays

To assess the interactions between the alloys and the biological material, several biological tests were applied. First, we used a test of cell growth in the elution of tested alloys for the evaluation of potential toxicity. Heteroploid cell lines were exposed to 4 treatments (concentrations), and positive and negative controls, respectively. The number of cells was counted in 1 ml of the elution every 24 h for 5 d. In the test of cell adherence, a cell suspension of the same lines was spread over the tested alloys and exposed for 24 h. Then, the cells were fixed in glutaraldehyde and prepared for analysis by a critical-point drying. The morphology of the adhered cells was evaluated

using a SEM (Vega Tescan microscope). The values obtained were compared to a standard surface (cover glass) and the relative number of adhered cells (an alloy/glass standard) was calculated. A dynamic dilatation (spreading) test of the cells was applied to evaluate the number of dilated cells adhered to a substrate with a membrane spread over the substrate after 6 h of exposition to the elution [5]. The other test was the tolerance test of a cell monolayer. A piece of the tested alloy was put into a cell culture monolayer in a cultivation flask. After 48 h exposition, the size of the death cell area was evaluated. A similar test was the test of cell tolerance in suspension to the tested material. The material of the tested alloy was put into a cultivation flask and then a cell suspension was added. The size of the area on the surface of the tested material on which adherence was inhibited was evaluated.

Induction of atypical mitosis was tested in a cell suspension inoculated to a cover glass and exposed for 72 h. Similarly to the cell growth test, 4 different concentrations of elution, and positive and negative controls were used. After the exposition, the number of metaphases, the number of cells possessing more than one nucleus, the number of multipolar divisions, and the mitotic index were evaluated. If there was more than 10 % of mitoses, the tested material was considered mutagenic. A clastogenic test, i.e. a test of induction of structural chromosomal aberrance, was applied to human leucocytes. After 72 h exposition, structural and numeric chromosome aberrances were counted and compared to positive and negative controls, respectively. To stop metaphase, colcemide was added to the cell monolayer 3 hours before harvesting. For details of the method see e.g. [6]. The last test that we applied was the test of chromosomal aberrance in human

peripheral lymphocytes. In the test, fully heparinised blood is cultivated in the presence of PHA. Metaphased chromosomes were prepared. After 72 h exposition, chromosomal breaks were evaluated in 200 mitoses observed. In this case (e.g. the test on human leukocytes) more than 5 % of aberrant mitoses was assumed as a mutagenic effect.

RESULTS AND DISCUSSION

The screening test and two basic tests of cytocompatibility of selected pure metals showed that only four of the metals tested exhibited high biocompatibility (Table 2). Apart from Ti, also Ta, Nb, and Zr were highly biocompatible and thus potentially prospective for biocompatible alloys. Ti and Zr have similar properties. They are, therefore, substitutable. Ni and Ta also have similar properties. They can, therefore, be used in alloys with Zr and Ti, in which they enlarge the β phase. If their proportion was more than 30 %, then the resulting β alloy hardened by globular particles of the α phase. TiNb, TiTa alloys or their ternary combination are suitable for cold welding. This represents a great technological advantage in comparison to the traditionally used Ti6Al4V alloys. Moreover, TiNb and TiTa alloys do not form intermetallic phases, the properties of which differ from pure metals. On the other hand, there are some disadvantages. Tantalum has a high melting temperature, which is complicating for metallurgical processing. Therefore, alloys with Ni are preferred. In alloys with Nb, a proper share of Nb and processing is required to reach the β phase. When low Nb concentrations are used, then an undesirable martensite structure is reached (see Figure 1 left), characteristic of numerous intermartensite



Figure 1
Microstructure of Ti6Al7Nb alloy after casting (left) and Ti6Al10Nb cooled 10 min at 850 °C/10 (right).

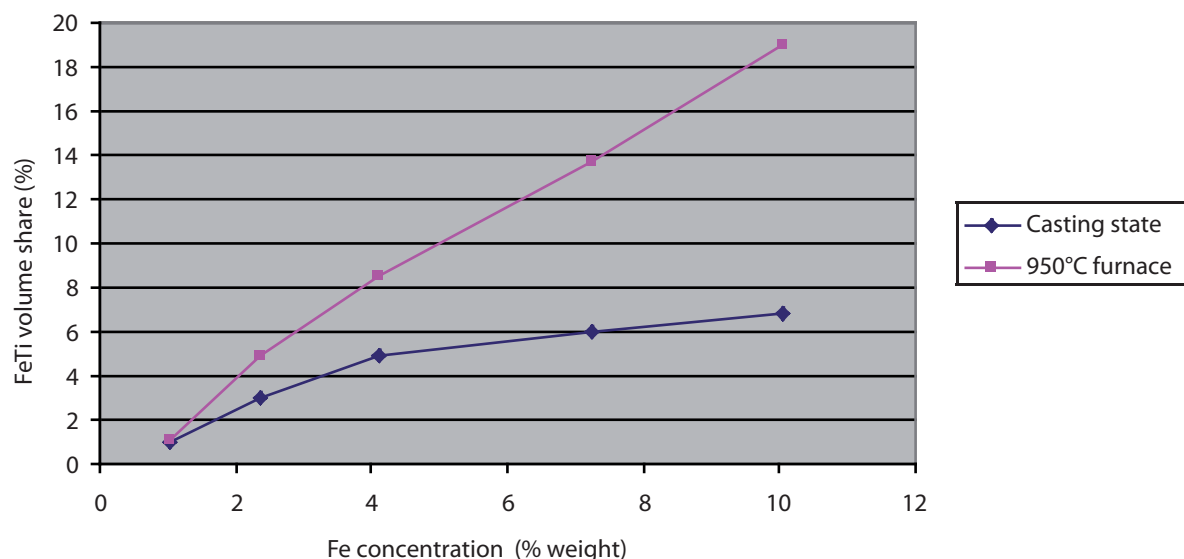


Figure 2
Relation of the volume share of intermetallic TiFe phase to Fe concentration and heat processing

spaces untransformed into the β phase. After slow cooling of the alloy, a typical combined $\alpha+\beta$ structure is reached (Figure 1 right). To achieve a proper β -phase alloy, higher Nb concentrations must be used (Ti35Nb).

A test of cell growth in the elution showed that the kinetics were of the same shape (data not shown) in TiAlFe, TiAlNb, and TiTa alloys. Similar growth curves were also found in an earlier study focused on titanium implants covered with a surface Cr-Co alloy [7]. For TiAlFe alloys, the number of cells found for particular lengths of exposition was the same, slightly lower if compared to a positive etalon. From this point of view, Fe alloys do not exhibit any toxic effect. A dilatation test showed a reduced number of dilated cells. The reduction was more pronounced in slowly cooled alloys. Moreover, a test of tolerance showed that around TiAlFe alloys a zone of toxic effect was formed. These results showed that TiAlFe alloys were not suitable for dental implants. The reason is the likely elution of particles of the intermetallic TiFe phase and release of Fe ions from the phase (see Figure 2).

Cell adherence to TiAlFe alloys was higher when the alloys were annealed at 950 °C and cooled in a furnace. In comparison to other metals in the alloy, TiAlFe exhibited lower values of cell adherence. A high proportion of the intermetallic phase reduced the number of atypical mitoses. We can, therefore, summarise that Fe caused negative effects in cells. A carcinogenic effect cannot be therefore excluded. TiAlFe al-

loys have poor biocompatibility and thus cannot be recommended for dental implants.

The results obtained in biological tests with TiAlNb alloys showed that they were very suitable for dental implant production. They exhibited the required biocompatibility parameters, even if the proportion of Nb was 35 %. It means that the binary system TiNb allows to prepare biocompatible β -alloys that would not be shaped under cool conditions. Generally, TiAlNb alloys might be recommended for the production of dental implants.

A biological test of TiAlV alloys resulted in slightly negative parameters. The TiAlV alloys are, however, still ranked as biotolerant. Moreover, some anomaly was observed, such as creation of fibrous cell structures and abnormalities of cell membranes. These abnormalities will be further analysed in detail in a separate paper. It can be stated that V-alloyed materials are acceptable and have recently been frequently used for dental implant production. They are, however, less suitable. There is the probable effect of V toxicity, in spite of the fact that V is well fixed in compact solution in TiAlV alloys.

TiTa alloys showed either very good biocompatibility or at least tolerance. The compatibility was high even when the Ta proportion was above 25 %. The results of all the tests indicated that Ta-alloyed materials were very suitable for dental implant production. It means that the binary system TiTa allows to prepare biocompatible β -alloys that would not be

Table 2

Summary of biocompatibility of metals presented in the alloys tested

Element	Dilatation test	Adherence test	Screening	Overall evaluation
Al	tolerant	tolerant	toxic	tolerant
Cu	toxic	toxic	toxic	toxic
In	toxic	toxic	tolerant	toxic
Mo	tolerant	tolerant	tolerant	tolerant
Nb	compatible	compatible	compatible	compatible
Pb	toxic	toxic	toxic	toxic
Ta	compatible	compatible	compatible	compatible
Ti	compatible	compatible	compatible	compatible
V	tolerant	toxic	tolerant	tolerant
Zn	toxic	toxic	toxic	toxic
Zr	compatible	compatible	compatible	compatible

shaped under cool conditions. TiTa alloys may therefore be recommended for the production of dental implants. Moreover, recent *in vitro* studies focused on the cytotoxicity of TiTa alloys [8, 9] support the idea of application of such materials in dental implantology.

A biological test of TiMo alloys showed somewhat lower biocompatibility than TiAlNb and TiTa alloys. However, TiMo alloys were evaluated as tolerant. It might be stated that TiMo alloys are acceptable for the production of dental implants but less suitable than TiAlNb and TiTa alloys.

Concluding remarks

Biological tests and controlled experiments performed *in vitro* undoubtedly provide valuable information on the biocompatibility of β titanium alloys. Such testing may point out important factors directly and indirectly involved in the process of dental implant functioning in patients. Recently, numerous pure titanium and α and β titanium alloys have been tested for the use in dental implants [10]. However, the rigidity of α and β type titanium alloys is still considerably greater than that of the cortical bone [11], although the rigidity of titanium alloys is less than that of Co-Cr type alloys and stainless steels used for biomedical applications. Therefore, the latest trend is to develop low-rigidity β -type titanium alloys. In such a material, a strongly limited or zero presence of toxic and allergic elements is a necessity. Such titanium alloys should have, apart from excellent mechanical properties and workability [12], also a high biocompatibility.

From the experimental results it can be seen that among the alloys tested, TiAlNb and TiTa alloys are potentially highly desirable for clinical use since they exhibit the best parameters in all the biologically-related features tested. Titanium alloys used in this study showed high cell adherence, similar to the results of the recent adsorption study [13, 14]. The biocom-

patibility of the beta titanium alloy might be excellent similarly as found in other β -alloys with Ni, Ta, and Zr [15]. In spite of the fact that there is only limited knowledge on long-term studies of titanium alloy effects in the oral cavity and thus on the incidence of sensitivity to titanium in the general population, we may recommend TiAlNb and TiTa alloys for clinical use. Their susceptibility to fretting corrosion and potential negative effects, such as small-scale debris production resulting in cellular reaction and osteolysis [16, 17, 18], will be the subject of our further study. It has been demonstrated in our earlier studies [19] that pure titanium dental implants did not increase the number of chromosomal aberrance. The results of our present study with β titanium alloys support this information. It may be concluded that β titanium alloys undoubtedly will enlarge the set of materials used at the Department of Stomatology, Masaryk University, Brno (for overview see e.g. [20]). However, careful preclinical testing will have to precede clinical application of dental implants made of β -alloys.

ACKNOWLEDGEMENTS

The research reported in this paper was carried out within the framework of the Stomatological Research Centre of Masaryk University, Brno. The research was supported by grant No. SVC 1M0528 MŠMT provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic.

REFERENCES

- 1 Niinomi M. Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. *Science and Technology of Advanced Materials* 2003; 4: 445–454.

2. Shaama FA. An *in vitro* comparison of implant materials cell attachment, cytokine and osteocalcin production. *West Indian Med J* 2005; 54: 250.
3. Martin E, Manceur A, Polizu S, Oumarou Savadogo O, Wu MH, L'Hocine Y. Corrosion behaviour of a beta-titanium alloy. *Bio-Medical Materials and Engineering*, 2006; 16: 171–182.
4. Raman V, Tamilselvi S, Nanjundan S, Rajendran N. Electrochemical behaviour of titanium and titanium alloy in artificial saliva. *Trends Biomater Artif Organs* 2005, 18: 137–140.
5. Půža V. Sensitive method for injured cell finding, grown *in vitro*. *Coll Res Med Fac Hradec Králové* 1975; 18(Suppl): 149–153. (in Czech)
6. Vaněk J, Březina V, Smola FS. Analyse der mutagenen Aktivität des für die Produktion dentaler Implantate bestimmten Titans. *Implantologie Journal* 1999; 32: 65–66.
7. Bartáková S, Prachár P, Březina V, Vaněk J. Processing of surface layer of chromium-cobalt alloy and its application in dental implantology. In: Book of Abstracts. 29th Annual Conference of the European Prosthetic Association, Poznan, Poland. *Protetika Stomatologiczna* 2005, 5(Suppl): 75.
8. Shimojo N, Kondo C, Yamashita K, Hoshino T, Hayakawa T. Cytotoxicity analysis of a novel titanium alloy *in vitro*: adhesion, spreading, and proliferation of human gingival fibroblasts. *Bio-Medical Materials and Engineering* 2007; 17: 127–135.
9. Zhao Y, Yao Y, Liu W, Zheng C, Li S. Fibroblast adhesion and proliferation on a new β type Ti–39Nb–13Ta–4.6Zr alloy for biomedical application. *J Mater Sci Technol* 2006; 22: 205–210.
10. Hashimoto K, Kawahara D, Toshimori Y, Hayakawa M, Sakashita H, Kawahara W. New titanium alloy of Ti-Fe-O-N for dental implant. *Advances in Science and Technology* 2006; 49: 119–123.
11. Niinomi M. Recent research and development in titanium alloys for biomedical applications and healthcare goods. *Science and Technology of Advanced Materials* 2003; 4: 445–454.
12. Niinomi M. Recent metallic materials for biomedical applications. *Metal Mater Trans A* 2002; 33: 477–486.
13. Vetterl V, Vaněk J, Hasoň S, Strašák L, Fojt L, Bartáková S. Adsorption of human blood plasma fibrinogen on titanium implants. In: Book of abstracts. 58th Meeting of the International Society of Electrochemistry, Banff, Canada 2007: 1.
14. Vetterl V, Vaněk J, Fojt L, Hasoň S, Strašák L, Bartáková S, Silvennoinen R. Adsorption of oligonucleotides on titanium surface. In: Book of Abstracts, XIXth International symposium on Bioelectrochemistry and Bioenergetics (BES 2007), Toulouse, 2007: 97.
15. Niinomi M. Fatigue performance and cytotoxicity of low rigidity titanium alloy, Ti–29Nb–13Ta–4.6Zr. *Biomaterials* 2003; 24: 2673–2683.
16. Agins HJ, Alcock NW, Bansal M, et al. Metallic wear in failed titanium-alloy total hip replacements; a histological and quantitative analysis. *J Bone Joint Surg Am* 1988; 70: 347–356.
17. Brown S, Margevicius R, Merritt K. Fretting and accelerated corrosion of titanium *in vitro* and *in vivo*. *Clin Implant Mater* 1990; 9: 37–42.
18. Lombardi AV Jr, Mallory TH, Vaughan BK, Drouillard P. Aseptic loosening in total hip arthroplasty secondary to osteolysis induced by wear debris from titanium-alloy modular femoral heads. *J Bone Joint Surg Am* 1989; 71: 1337–1342.
19. Vaněk J, Březina V, Prachár P. Long-term inserted endosseal dental implants made of Poldi 45 Titanium do not increase frequency of chromosomal aberrancies. *Czech Stomatology* 1996; 96: 182–188. (in Czech)
20. Bulik O. An overview of recent implantological systems used in bone defects. Abstracts of International Workshop of the Stomatological Research Centre, Brno, 2005: 18. (in Czech) ■

Optical sensing of attached ODN and dsDNA molecules on biomaterial surface

H. Tuononen¹, M. Silvennoinen¹, K. Myller², R. Silvennoinen¹

¹University of Joensuu, Department of Physics and Mathematics
P.O. Box 111, FI-80101 Joensuu, Finland

²MGM-Devices Ltd, Länsikatu 15, FI-80110 Joensuu, Finland
Email: raimo.silvennoinen@joensuu.fi

V. Vetterl^{3,4}, J. Vanek⁴, S. Hason³ and S. Bartáková⁴

³Institute of Biophysics, Academy of Sciences of the Czech Republic, 61265 Brno,
Kralovopolska 135, Czech Republic,

⁴Stomatological Research Center, Faculty of Medicine, Masaryk University, 60300 Brno,
Vinarska 6, Czech Republic
Email: hasons@ibp.cz

ABSTRACT

Sensing of organization of oligodeoxynucleotides (ODNs) and double-stranded DNA (dsDNA) on titanium oxide surface is introduced by using diffractive optical element (DOE) sensor. Permittivity change and fluctuation in optical roughness of treated titanium surface in the presence of background electrolyte (buffer) without and with ODNs and dsDNA's are investigated by using DOE sensor and optical ellipsometry. Correlation between transmitted light and thickness of molecule layer was found. The findings allow to sense temporal organization of nano-scale ODN and dsDNA molecules on titanium oxide surface.

Keywords: Susceptibility, optical constants, diffractive lenses, surface measurements, roughness, ellipsometry and polarimetry, medical optics and biotechnology

1. INTRODUCTION

The investigation of the interactions of nucleic acids and proteins at different surfaces is a challenging task in biomedicine. For instance advances in nucleotide sequencing of genomes of different organisms, which also includes the human genome, has stimulated interest in DNA hybridization sensors¹. These commonly rely on the immobilization of a single-stranded DNA probe onto a transducer surface to recognize, utilizing hybridization, i.e. formation of a DNA duplex, its complementary sequence in the target DNA with unknown sequence. Detection of sequence-specific DNA is a topic of great interest because it can be used for the screening of genetic and infectious diseases and identifying disease before any symptoms appears.

A number of conceptions of electrochemical sensor are available based on carbon, gold or ITO electrodes, differing in the ways of DNA immobilization at the electrode surface and methods of hybridization detection². Immobilization of the oligodeoxynucleotide (ODN) probe at the electrode surface can be performed covalently using thiolated ODNs, which are bound to the electrode. Another method of immobilization utilizes the self-assembled layers of thiols to fasten the ODN probe^{3,4}.

Titanium is frequently used as a biomaterial for hard tissue replacement, such as dental and orthopaedic implants, and biomaterial devices made of titanium give a satisfactory performance. The surface topography, which can be varied by different processing methods, influence the final interactions of the implant with the surrounding environment. Rough surfaces promote better osseointegration than smooth surfaces⁵⁻⁸. Thus we have also selected titanium to act as a reference surface for our diffractive optical element based sensor experiments to detect temporal organization of ODN molecules on the reference surface.

Previously we have applied diffractive optical element (DOE) based sensor for inspection of different type of bulk and fragile materials⁹, and later the same principle is applied to investigate quality of electrode surface used in electrochemistry^{10,11} and we have started a new direction of application of DOE separating the non-coherent and the coherent response of the DOE based sensor. This procedure will be described in details in the book¹². The DOE procedure is utilized to investigate permittivity change and fluctuation in optical roughness (R_{opt}) of mechanically polished titanium composed by oxide layer (TiO_2) down to ~ 220 nm surface, immersed in the background electrolyte (0.3 M NaCl + 50 mM Na_2HPO_4 ; pH ~ 8.3) with and without ODN molecules.

In this paper we report results from our recent DOE sensor investigations concerning the organization of biopolymers as oligodeoxynucleotides (ODNs) and double-stranded DNA (dsDNAs) on titanium oxide surface by using diffractive optical element (DOE) sensor. The data is gained by using the DOE sensor through optical window of a cuvette to sense permittivity change and fluctuation in optical roughness (R_{opt}) of titanium oxide surface, when the surface is subjected to the absorption of the ions of electrolyte without and with ODN and dsDNA molecules on these treated surfaces.

2. EXPERIMENTAL

We started to investigate the adsorption of 5 μ M ODNs (homopurinic 5'-(AAG)₁₂-3', and homopyrimidinic 5'-(TTC)₁₂-3', which represent single-stranded DNA) and double-stranded DNA (to prepare an (AAG)₁₂-(TTC)₁₂ duplex, a mixture of both 36-mer ODNs, each at a concentration of 5 μ M in 0.3 M NaCl + 50 mM Na_2HPO_4 , was heated to 95°C in a water bath; after 4 min the sample was allowed to slowly cool down at room temperature) on the mechanically polished titanium Ti sample covered by TiO_2 layer. The idea was to compare the optical roughness of ODN layers (volumes) adsorbed on TiO_2 surface measured by DOE in liquid cuvette and ellipsometric (in dry environment during a half hour when the Ti sample was taken out from liquid) results. The corroborative ellipsometric measurements were performed at angle of 75° to minimize the harmful effects caused by the surface roughness of polished titanium^{13,14}.

In the DOE sensor measurements we investigated the permittivity change and fluctuation in optical roughness (R_{opt}) of a titanium oxide surface (N_4) in the presence of electrolyte (N_2) without and with ODN molecules (N_3) (see Figure 1). The DOE sensor utilises expanded and focused laser beam ($\lambda=632.8$ nm) realized by using the lens system $L_1 - L_2$ to hit titanium surface N_4 locating in liquid cuvette via beam splitter BS and cuvette window N_1 . Backscattered light is directed by using BS on DOE aperture, which analyses if the wavefront is distorted by adsorbed ODN molecules denoted by N_3 from electrolyte N_2 on TiO_2 surface. Distorted 4x4 light spot DOE image is grabbed from 2D photoarray of CCD camera and analysed by a PC. The DOE sensor utilises non-coherent response for permittivity changes and coherent response for optical roughness changes.

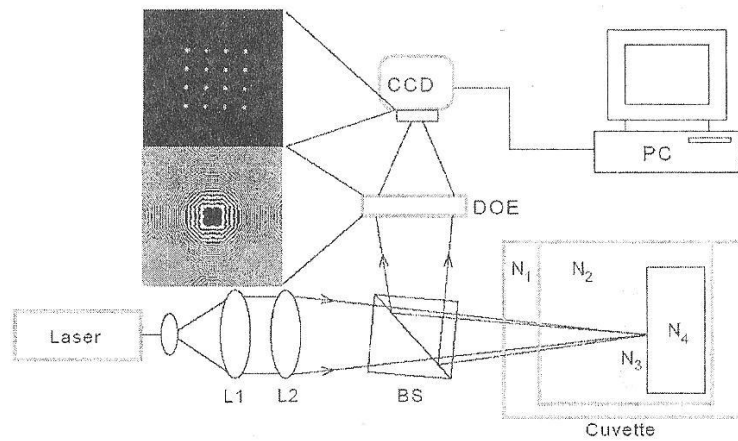


Figure 1. DOE sensor geometry including sample compartment (cuvette).

Although the DOE sensor principle and procedure is described in the reference⁹ and in the chapter 8 of the reference¹², we show how the reflectance of normal incidence from the titanium oxide interface depends both on n and κ if the interface is immersed in the electrolyte solution (Figure 2). The permittivity ε and complex refractive index $N_{n\kappa} = n + i\kappa$ is assumed to relate to each other as follows

$$\varepsilon = \varepsilon' + i\varepsilon'' = (n + i\kappa)^2, \quad (1)$$

where $\varepsilon' = n^2 - \kappa^2$, $\varepsilon'' = 2n\kappa$. The loss angle δ denotes the relation

$$\tan(\delta) = \varepsilon''/\varepsilon'. \quad (2)$$

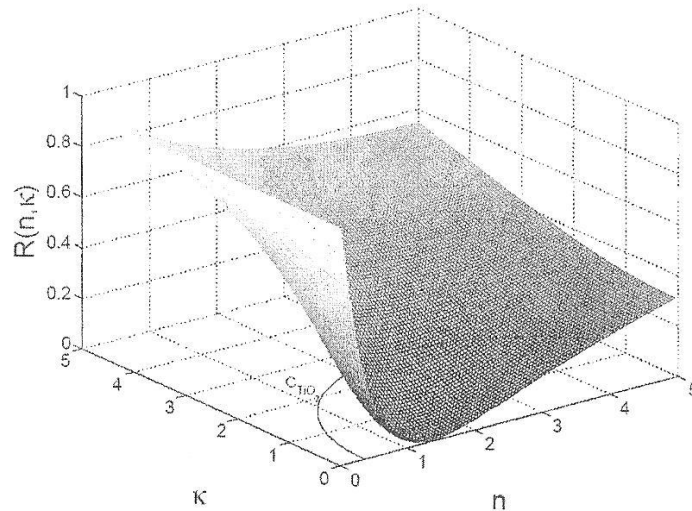


Figure 2. Reflectance from the molecule – titanium oxide interface as a function of n and κ from Eq. (1), when the interface locates inside the electrolyte solution in the cuvette as shown in figure 1. Zero reflection appears at the refractive index of electrolyte solution as a consequence of complete refractive index matching. Locus of contour line in (n, κ) –plane, which is projected from the reflectance surface at the level of $R_{n\kappa} = 0.3437$. The locus C_{TiO_2} shown in (n, κ) –plane is projected from $R_{TiO_2} = 0.3437$ and it includes also reflectance of titanium oxide surface, which complex refractive index is $N_{TiO_2} = 2.874 + i2.584$ at 632.8 nm.

In Figure 2 is also shown a locus of contour line, which is projection of a contour line from the reflectance surface on the level of $R_{\text{TiO}_2} = 0.3437$ at 632.8 nm. The locus of reflectance value of 0.3437 includes also the titanium oxide reflectance at complex refractive index of $N_{\text{TiO}_2} = 2.874 + i2.584$ at 632.8 nm, and the origin of the radius of the curvature of the projected circular locus C_{TiO_2} locates on the n -axis. When the adsorption of ODN molecules from electrolyte on the titanium oxide surface starts, the reflectance from that interface will also change. This will change the curvature and the origin of the projected locus. By measuring the reflectance value by DOE sensor at single wavelength (632.8nm) it is possible to gain information to plot new reflectance contour line and project it into (n, κ) -plane to be C_x .

3. RESULTS AND DISCUSSION

To find out the changes in n and κ values really caused by the ODNs adsorption from electrolyte solution on titanium oxide surface, we measured first the fluctuations in optical density OD respecting the optical path length, which is used in our DOE experiments. The OD value respecting the wavelength of 632.8 nm was observed to be negligible being 0.004 ± 0.001 , which respects the accuracy limit of the spectrophotometry used in measurements. Secondly basing on the data reported in the literature, purine and pyrimidine molecules do not have strong absorption anomalies in the VIS regime¹⁵⁻¹⁷, which may in turn if the absorption anomalies are strong affect changes in extinction coefficient κ according to Kramers-Kronig relation^{18,19}. Mainly however the strong absorption appears in UV regime²⁰. In the final detection of the changes in n and κ values of N_x caused by the attached molecule interface on the titanium oxide surface we made projection from the complex refractive index value of titanium sample located on C_{TiO_2} via its curvature origin onto C_x just compensating the shift of the curvature origin of C_x . Thereafter we compared the temporal optical roughness R_{opt} values measured by DOE sensor from the treated titanium surface - electrolyte interface in the absence or presence of HPF molecules. The threshold of optical roughness of the treated titanium surface was cancelled out by measuring the base line of R_{opt} in distilled water, which refractive index ($n = 1.3334$) was close to electrolyte. As an example we present here two temporal optical roughness R_{opt} responses from a polished titanium surface in background electrolyte with the presence of ODN and dsDNA molecules (Figure 3).

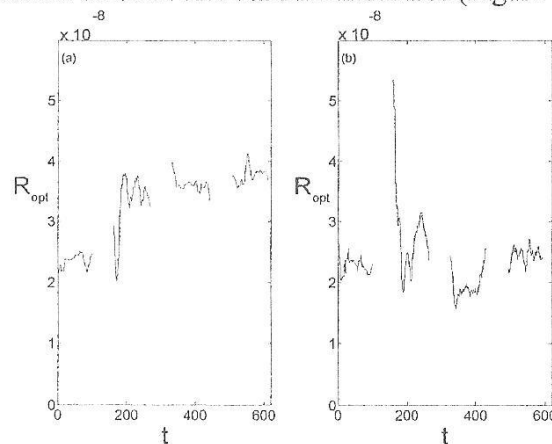


Figure 3. Temporal optical roughness R_{opt} in meters sensed (a) from polished titanium surfaces in background electrolyte ($t_1=0-100\text{s}$) and in background electrolyte with molecules ($t_2=160-280\text{s}$, $t_3=320-440\text{s}$ and $t_4=500-620\text{s}$). (a) ODN (homopyrimidinic $(\text{TTC})_{12}$) and (b) dsDNA (duplex of $(\text{AAG})_{12} \cdot (\text{TTC})_{12}$) molecules. To make the temporal trends visible each R_{opt} raw data sequence with 1000 points is filtered by using Savitzky-Golay digital filter in MATLAB© with the parameters $K=1$ and $F=101$.

The temporal response from polished titanium surface in background electrolyte ($t_1=0-100s$) shows almost same R_{opt} level, which confirms that the roughness fluctuation of titanium surfaces from sample to sample is negligible as also shown in Table 1. When the polished titanium is immersed in electrolyte with ODN molecules, the R_{opt} levels show rather stable increase as a function of time (Figure 3(a)). The temporal increase of R_{opt} , which is greater than average of R_{opt} from the base of polished titanium surface in background electrolyte, indicates that the homopyrimidinic ODN molecules are attaching to the polished titanium surface. On the contrary the R_{opt} values from polished titanium surface in background electrolyte with dsDNA molecules do not differ significantly from the average of R_{opt} from the base of polished titanium surface in background electrolyte, which in turn indicates that the dsDNA molecules do not attach the titanium surface as a function of time (Figure 3(b)).

Table 1. Average optical roughness values with standard deviations calculated from each R_{opt} non-filtered raw data sequence with 1000 points shown in figure 3.

	Ti _{polished} in background electrolyte with homopyrimidinic ODN molecules		Ti _{polished} in background electrolyte with dsDNA molecules	
	R_{opt} (nm)	ΔR_{opt} (nm)	R_{opt} (nm)	ΔR_{opt} (nm)
t_1	23.6	2.1	22.7	5.2
t_2	33.1	7.0	27.5	12.9
t_3	36.1	2.6	19.4	8.1
t_4	37.7	2.1	24.4	8.1

After DOE sensor measurements the ODNs - modified titanium oxide surfaces were subjected to ellipsometric measurements in aim to gain information about the absorbability and to compare the complex refractive index values for the ODN layers drawn out by the DOE sensor. Also the effective thickness value of each ODN layer was calculated from the extinction coefficient κ obtained by ellipsometric measurement. The effective thickness h of each layer was calculated by using the Beer-Lambert law

$$h = -\log(I/I_0)\lambda/4\pi\kappa, \quad (3)$$

where I and I_0 denote here the respective irradiances reflected from the ODN-modified titanium oxide interface and the bare mechanically polished titanium (TiO₂) surface at used laser wavelength ($\lambda = 632.8$ nm). In Figure 4 is shown the loss angle δ values calculated from Eq. (2) for mechanically polished TiO₂, in contact with air, electrolyte, and different ODNs (homopurinic (AAG)₁₂, homopyrimidinic (TTC)₁₂ and dsDNA (duplex of (AAG)₁₂·(TTC)₁₂). Data were measured by using DOE sensor in cuvette and by using ellipsometry in air. The angle values reveal good agreement for both methodology treatments. Thereafter we compared the optical roughness R_{opt} values measured by DOE sensor against the thickness of the dry volume. The response shown in Figure 5 implies clearly that there exists significant correlation between R_{opt} (in wet environment) and thickness h (in dry environment) of the electrolyte solution without and with single-stranded DNA, whereas double-stranded DNA does not differ significantly from the electrolyte.

The threshold of 14.43 nm in the correlation response $R_{opt} = 0.464h + 1.443 \times 10^{-8}$ reveals average optical roughness of the polished TiO₂ surfaces used in the experiments.

roughness of treated titanium surface, when the DNA molecules modify the surface in wet environment. The results are also in accordance with the ellipsometer results, which are gained from the same surfaces in dry environment. Moreover, the observation of the magnitude of temporal optical roughness evolution, which relates to the porosity of the molecule layer or volume is valuable and reveal novel information from the dynamic processes of organization of the molecules on the biomaterial surface.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was supported by the Ministry of Education and Sport of the Czech Republic (1M0528 to J.V.), the Academy of Sciences of the Czech Republic (KAN200040651 to S.H.), the grant agency of the Czech Republic (202/08/1688 to V.V.), the Ministry of Education of the Czech Republic (LC06035), and by an institutional research plan (AVOZ 50040507).

REFERENCES

1. A.M. Oliveira Brett In: *Comprehensive Analytical Chemistry, Biosensors and Modern Specific Analytical Techniques*, L. Gorton, ed., vol. 44., Chapt. 8, p. 179. Elsevier (2004).
2. *Perspectives in Bioanalysis Vol. 1. Electro-chemistry of nucleic acids and proteins. Towards electrochemical sensors for genomics and proteomics*, E. Paleček, F.Scheller and J.Wang, eds. Elsevier, Amsterdam (2005).
3. C. Boozer, S.F. Chen and S.Z.Jiang, Langmuir, "Controlling DNA Orientation on Mixed ssDNA /OEG SAMs," 22, pp. 4694 - 4698 (2006).
4. I. Willner, E. Katz and B. Wilner, "Amplified and specific electronic transduction of DNAs sensing processes in monolayer and thin-film assemblies," in: *Electroanalytical methods for Biological Materials*, A.Brajther-Toth and J.Q.Chambers, eds. Chapt. 3, pp. 43-107. Marcel Dekker, Inc., New York (2002).
5. D. L. Cochran, "A Comparison of Endosseous Dental Implant Surfaces," *J. Periodontol.*, vol. 70, pp. 1523 -1539 (1999).
6. T. J. Webster, R. W. Siegel, R. Bizios, "Osteoblast adhesion on nanophase ceramics," *Biomaterials*, vol. 20, pp. 1221-1227 (1999).
7. P. M. Brett, J. Harle, V. Salih, R. Mihoc, I. Olsen, F. H. Jones and M. Tonetti, "Roughness response genes in osteoblasts," *Bone*, 35, pp. 124-133 (2004).
8. E. Jansoon and P. Tengvall, "Adsorption of albumin and IgG to porous and smooth titanium," *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, vol. 35, pp. 45-51 (2004).
9. R. Silvennoinen, K.-E. Peiponen and T. Asakura, "Diffractive optical elements in materials inspection", in: *The International Trends in Optics and Photonics ICO IV , Part VI Optical Metrology (Optical Systems)*, T. Asakura, ed. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, pp. 281-293 (1999).
10. S. Hason, S.-P. Simonaho, R. Silvennoinen and V. Vetterl, "On the adsorption and kinetics of phase transients of adenosine at the different carbon electrodes modified with a mercury layer," *Electrochimica Acta*, vol. 48, pp. 651-668 (2003).
11. S. Hason, S.-P. Simonaho, R. Silvennoinen, V. Vetterl, "Detection of phase transients in two-dimensional adlayers of adenosine at the solid amalgam electrode surfaces," *J. Electroanalytical Chemistry*, vol. 568(1), pp. 65-77 (2004).
12. R. Silvennoinen, K.-E. Peiponen and K. Myller, *Specular Gloss*. Elsevier, Amsterdam (2008).
13. R.A.M. Azzam and N.M. Bashra, *Ellipsometry and Polarized Light*, North-Holland, Amsterdam (1977).

14. S.-M. F. Nee and T.-W. Nee, Principal Mueller matrix of reflection and scattering measured for a one-dimensional rough surface, *Opt. Eng.*, vol. 41, pp. 994-1001 (2002).
15. E. Chan, T. Menovsky, and A. J. Welch, "Effects of cryogenic grinding on soft-tissue optical properties," *Appl. Opt.*, vol. 35, pp. 4526-4532 (1996).
16. R. Pechous, J. Celli, R. Penoske, S.F. Hayes, D.W. Frank and T.C. Zahrt, "Construction and Characterization of an Attenuated Purine Auxotroph in a Francisella tularensis Live Vaccine Strain," *Infection and Immunity*, vol. 74, pp. 4452-4461 (2006).
17. J. Zhong, S. Skouloubris, Q. Dai, H. Myllykallio, and A.G. Barbour, "Function and Evolution of Plasmid-Borne Genes for Pyrimidine Biosynthesis in *Borrelia* spp." *J. Bacteriology*, vol. 188, pp. 909-918 (2006).
18. H.A. Kramers, "Some remarks on the theory of absorption and refraction of x-rays.", *Nature*, vol. 117, pp. 775-778 (1926).
19. V. Lucarini, J.J. Saarinen, K.-E. Peiponen and E. Vartiainen, *Kramers-Kronig Relations in Optical Materials Research*, Springer, Berlin (2005).
20. N.N. Boustany, "Absorption coefficient and purine photobleaching rate in colon mucosa during resonance Raman spectroscopy at 251 nm", *Appl. Opt.*, vol. 40, pp. 6396-6405 (2001).

materiál ve formě pásku, protože ocelový drát je pro MR hlavy kontraindikován.

Klinický postup:

1. Očištění lingválních plošek řezáků a špičáků.
2. Zajištění suchého operačního pole.
3. Leptání roztokem 38% kyseliny fosforečné po dobu 20 sec.
4. Opláchnutí po dobu 20 sec.
5. Aplikace bondu pomocí štětečků, jemné ofouknutí proudem vzduchu cca 2 sec a polymerace 10 sec.
6. Změření požadované délky pásku pomocí dentální nitě přímo v ústech, pásek je na tuto délku upraven.
7. Nanášení flow kompozitního materiálu postupně na jednotlivé plošky zubů a adaptace FRC pásku.
8. Polymerizace každého zubu zvlášť, zároveň během polymerace zakrytí volné části pásku neprůhlednou folií (obr. 1 – obr. 4).

ZÁVĚR

Ukončení léčby fixním ortodontickým aparátem vyžaduje udržení dosaženého postavení a polohy zubů pomocí retenčních zařízení. Retenční zařízení (retainery) mohou být snímatelné – laboratorně zhotovené retenční desky nebo fixní připevněné na zuby. Ty jsou připevněny na lingvální nebo palatinální plošky řezáků

a špičáků nejčastěji pomoci flow kompozitních materiálů. Výhodou fixních retainerů je jejich neustálé působení, výsledek retence tak nezáleží na dobré spolupráci pacienta, jako při použití snímatelných retenčních desek. Jako stabilizační prvek je konvenčně používán ocelový drát.

S vyššími nároky na estetiku se rozvíjí použití bezkovových technologií. Používání FRC materiálů pro retenci po ortodontické léčbě nabývá na významu. V případě vyšetření MR hlavy má použití nekovových materiálů zásadní význam.

Podporováno projektem SVC č. 1M0528.

LITERATURA

1. **Freilich, M. A., Meiers, J. O., Duncan J. P., Goldberg, A. J.:** Fiber reinforced composites in clinical dentistry. Quintessence Publishing, 2000.
2. **Roubalíková, L., Vaněk, J., Jančář, J.:** Přímé aplikace vláknových kompozitů. Prakt. zub. Lék., 55, 2007, 1, s. 10-15.
3. **Vallitu, P. K.:** A review of fibre – reinforced denture base resins. J. Prosthodontics, 1996, 5, s. 270-276.

*MUDr. Vladimír Filipi
Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny,
oddělení ortodoncie
Pekařská 53
656 02 Brno
e-mail: filipi@chello.cz*

Vyhodnocení chemické stability povlakované vrstvy nitridu zirkonia na základní konstrukci z chromkobaltové slitiny

Bartáková S., Prachár P., Cvrček L.¹, Březina V., Vaněk J.

Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno,
přednosta prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.
Stomatologické výzkumné centrum LF MU, Brno,
hlavní řešitel prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.
¹HVM Plasma, Praha

Souhrn

V orální implantologii se v současnosti ve velké šíři užívá kovový - technicky čistý titan nebo jeho slitiny. Tento materiál má optimální biologické vlastnosti, bohužel jeho technologické zpracování je obtížné a limitující pro výrobu některých forem dentálních implantátů. Příkladem obtížnosti jsou implantáty subperiostální. Cílem projektového výzkumu bylo nahrazení titanu, titanových slit, dobře zpracovatelnou chromkobaltovou slitinou povlakovanou keramickým materiálem ZrN nebo multivrstvou Zr/ZrN a potvrzení její biokompatibility, dokonalé adhezivity a mechanické odolnosti. V práci pre-

zentované výsledky prokazují vyhodnocení chemické odolnosti, která povlakováním podstatně snižuje uvolňování iontů chromkobaltové slitiny o 28-32 % v závislosti na drsnosti povrchu základní chromkobaltové slitiny. Výsledky se jeví pro implantace příznivě. Studie byla součástí grantového výzkumu IGA MZ ČR ND č. 7356-3 a následné činnosti Stomatologického výzkumného centra č. 1M0528.

Klíčová slova: implantát – nitrid zirkonia – chromkobaltová slitina – povlakování – iont – bioinertnost

Bartáková S., Prachár P., Cvrček L., Březina V., Vaněk J.: Evaluation of Chemical Stability of Coating Layer of Zirconium Nitride on the Basic Construction from Chromium-cobalt Alloy

Summary: In recent dental implantology, technically pure titanium or its alloys are broadly used as common metal material. The material possesses optimal biological characteristics. Unfortunately, its technological processing is difficult and limiting for production of some types of dental implants. Subperiosteal implants might be pointed out in this respect. The objective of research project was to substitute titanium and titanium alloys for well-processed chromium-cobalt alloy coated with ceramic material ZrN or multilayered Zr/ZrN. Other objective was to prove its biocompatibility, full adhesivity and mechanical resistance. Results indicated high chemical resistance, of the material that, thanks to coating, reduced ion release from chromium – cobalt alloy by 28-32 % in relation to surface roughness. Such results are very promising for dental implantology. The study presented in this paper was supported by project No. 7356-3 provided by the IGA MZ ČR ND grant agency. The research was carried out within the frame of Stomatological Research Center number 1M0528 (SVC).

Key words: implant – zirconium nitride – chromium-cobalt alloy – coating – ion – bioinertness

Prakt. zub. Lék., roč. 55, 2007, č. 4, s. 63–66.

ÚVOD

Při funkční a esteticky účinné léčbě defektního chrupu se ve zvyšující míře uplatňují dentální implantáty různých tvarů a forem, z různých materiálů [5, 17, 18, 20]. Cílem pro funkční úspěšnost zavedených implantátů je jejich dokonalá integrace s okolní tkání v dlouhodobém kontaktu [15, 18] a za tím účelem je předmětem pozornosti při dodržení základních požadavků na implantační materiál povrchová úprava materiálu, která má při tkáňové integraci materiálu rozhodující význam [7, 17]. Přitom je sledováno technologické hledisko zhotovovaných dentálních materiálů, která předznamenává i jejich dostupnost pro klinickou praxi. V našem projektovém výzkumu (IGA MZČR ND 7356-3, SVC č. 1M0528) jsme se mimo jiné zaměřili, při uvažovaném využití konstrukce subperiostálních implantátů, možností jejich zhotovování z dostupné chromkobaltové slitiny povlakované biologicky ověřenou povlakovou vrstvou nitridu zirkonia (ZrN).

MATERIÁL A METODIKA

K vyhodnocení chemické stability modelové konstrukce subperiostálního implantátu z chromkobaltové slitiny povlakované ZrN jsme využili metodu, jejímž cílem bylo zjistit, kolik iontů kovu se vyloučí do fyziologického roztoku v dlouhodobé expozici. Do kádinky s 80 ml fyziologického roztoku jsme umístili jednotlivé konstrukce modelů subperiostálních implantátů z chromkobaltové slitiny CrCo (Co 60,5 %, Cr 28 %, W 9 %) ve stomatologii – běžně používané ke zhotovování třmenových náhrad. Byly to konstrukce z chromkobaltu bez povlakování – drsný a leštěný, dále konstrukce drsné a leštěné povlakované ZrN

a konstrukce drsné a hladké povlakované multivrstvou Zr/ZrN (obr. 1 – obr. 3). Povlakování bylo vytvořeno technologií PVD (Physical Vapour Deposition) metodou magnetotronového rozprašování.

Po umístění jednotlivého modelu implantátu byla kádinka uzavřena a třepána při teplotě fyziologického roztoku 37 stupňů po dobu 60 dnů. Kontrolní varianta obsahovala pouze fyziologický roztok a třepána bez vzorku konstrukce. Po expozici byl fyziologický roztok slit, doplněn do 100 ml a předán na analýzu. Analyzován byl metodou ICP-MS Inductively Coupled Plasma Mass Spectroscopy [11, 12, 19].

VÝSLEDKY

Při hodnocení byly porovnány hodnoty uvolněných iontů zvláště u leštěných povrchů, zvláště u drsných povrchů. Výsledky prezentuje tabulka a graf (tab. 1, graf 1). U povlakových leštěných implantátů bylo prokázáno snížení celkové hmotnosti uvolněných iontů z objemového materiálu oproti nepovlakovanému implantátu. Povlak ZrN snížil celkovou hmotnost uvolněných iontů o 18 % a povlak s multivrstvou Zr/ZrN o 28 % v porovnání s drsným nepovlakovaným implantátem.

Tab. 1. Hodnoty uvolněných iontů v $\mu\text{g l}^{-1}$

Vzorek	Cr	Mo ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Co	Zr	Celkem ($\mu\text{g l}^{-1}$)
CrCoMo leštěný	0,5	17,0	150,0	< 0,5	167,5
CrCoMo drsný	1,5	33,0	340,0	< 0,5	374,5
ZrN leštěný	1,8	15,0	121,0	< 0,5	137,8
ZrN drsný	4,8	44,0	220,0	< 0,5	268,8
Zr/ZrN leštěný	1,7	11,0	110,0	< 0,5	122,7
Zr/ZrN drsný	5,5	43,0	205,0	< 0,5	253,5
kontrola	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5	< 0,5



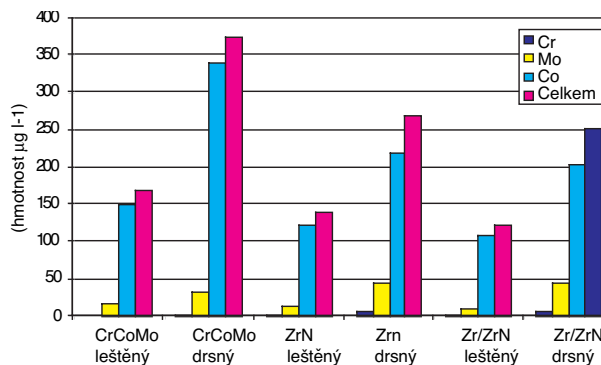
Obr. 1. Nepovlakovaný implantát: (a) leštěný, (b) drsňý.



Obr. 2. Implantát povlakovaný vrstvou ZrN: (a) leštěný, (b) drsňý.



Obr. 3. Implantát povlakovaný multivrstvou Zr/ZrN: (a) leštěný, (b) drsňý.



Graf 1. Hodnoty uvolněných iontů v $\mu\text{g l}^{-1}$.

Potvrdilo se, že při zdrsňelém povrchu se uvolňuje více iontů než při povrchu leštěném. Porovnání povlaku u drsňého implantátu s nepovlakovaným leštěným implantátem přináší zjištění, že povlak ZrN snižuje celkovou hmotnost uvolněných iontů o 28 %, multivrstva o 32 %.

DISKUSE

Podmínkou úspěšné implantace je dokonalá tkáňová integrace. Dosahuje se toho tím, že implantační materiál je biokompatibilní [15, 16, 17, 18, 19, 20]. Bohužel, žádný materiál nemůže být pro každý organismus a pro každého jedince do všech důsledků biokompatibilní. Jsou materiály, které je určitý organismus ochoten tolerovat, jiné nekompromisně vyloučí [10, 13]. Nejpoužívanějším implantačním materiálem v dentální implantologii je technicky čistý titan nebo jeho slitiny, které jsou vysoce biokompatibilní [16] a odpovídají stanoveným normám (4). Technologické vlastnosti a z toho plynoucí mechanicko-fyzikální vlastnosti této dokonalosti, bohužel, ve všech směrech nedosahují, proto jsou hledány i další možnosti spočívající v povlakování kovového jádra implantátu, např. titanovou plazmou, hydroxyapatitem aj. [1, 2, 7, 8, 9, 21, 22]. Bohužel, z dlouhodobého hlediska i toto povlakování není úplně dokonalé. U hydroxyapatitu je zpochybňován a jeho stabilita spočívající v tom, že není ve formě krystalické, ale i ve formě amorfní, a tím může být desintegrován [7]. Hledají se i nové slitiny a nové formy povlakování. K tomu patří i uvažované využití chromkobaltové slitiny technologicky dobře zpracovatelné povlakované nitridem zirkonia k výrobě subperiostálních implantátů, třmenových náhrad nebo i dalších implantačních komponentů [1, 6, 12]. V rámci výzkumného projektu IGA MZČR ND 7356-3 bylo prokázáno, že po stránce biologické, adhezibility povlakované vrstvy ZrN i ve formě multivrstvy Zr/ZrN jsou vysoce kvalitní [11, 12]. Tuto vysokou kvalitu prokázalo i hodnocení chemické stability modelu povlakovaného implantátu z chromkobaltové slitiny vrstvou ZrN a Zr/ZrN. Potvrzeno bylo jak ve výzkumném projektu IGA MZČR ND 7356-3, tak i ve výzkumu v dalším projektu SVC1M0528.

ZÁVĚR

Výsledky hodnocení chemické stability modelové chromkobaltové konstrukce subperiostálního implantátu povlakovaného keramickou vrstvou ZrN nebo multivrstvou Zr/ZrN ukázaly významné snížení uvolňování iontů chromkobaltové slitiny oproti stavu bez povlakování. Tím byla prokázána dokonalá biokompatibilita této povlakované slitiny potvrzená před tím již biologickými zkouškami, a tím dokonalá adhezibilita povlakovaného materiálu ZrN a zejména Zr/ZrN a využitelnost v klinické praxi.

Studie je součástí grantového výzkumu IGA MZ ČR ND č. 7356-3 a následné činnosti Stomatologického výzkumného centra č. 1M0528.

LITERATURA

1. **Dostálová, T., Himmlová, L., Jelínek, M., Dvořák, V., Bártová, J.:** Spojení titanových implantátů a biokeamiky na bázi hydroxyapatitu-hodnocení in vitro. *Čes. Stomat.*, 1995, č.3, s. 89-96
2. **Gruberová, Z., Seydlová, M., Dostálová, T., Jelínek, M., Dvořánková, B.:** Titanový terčík modifikovaný hydroxyapatitem a zirkonem nevykazuje známky cytotoxicity. *Prakt. zub. Léč.*, 53, 1, 2005, s. 7-14.
3. **Hora, T., Joska, L., Gojišová, E.:** Korozní odolnost titanu ve stomatologických aplikacích. *Čes. Stomat.*, 2005, č. 1, s. 20.
4. **Hubálková, H.:** Habilitační práce, Materiály a technologie v protetiickém zubním lékařství, 2005, s. 36-39.
5. **Chen, G., Wen, X., Zhang, N.:** Corrosion resistance and ion dissolution of titanium with different surface micro-roughness. *Biomed. Mater. Eng.*, 8, 1998, 2, s. 61-74.
6. **Jonášová, L., Strnad, J.:** Tvorba apatitu na chemicky upraveném titanu (52. sjezd chemických společností, České Budějovice, 17.-20. 9. 2000). *Chemické listy*, 2000, č. 9, s. 775-778.
7. **Kopecká, D., Šimůnek, A.:** Současné názory na povlakování dentálních implantátů hydroxyapatitem (Souborný referát). *Čes. Stomat.*, 2000, s. 29-35.
8. **Mengek, R., Meer, C., Flores-de-Jacoby, L.:** The treatment of coated and titanium nitride-coated abutments with different instruments. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants.*, 19, 2004, 2, s. 232-238.
9. **Nakayama, T., Tahala, T., Tsumoto, Y., Katayama, H., Katto, M.:** High-quality hydroxyapatite coating on biocompatible materials by laser-assisted laser ablation. *Metod. Appl. Phys.*, A 79, 2004, s. 833-836.
10. **Ozeki K., Yuhta T., Aoki H., Fukui Y.:** Inhibition of Ni release from NiTi *alkou* by hydroxyapatite, alumina, and titanium sputtered coatings. *Biomed. Mater. Eng.*, 2003, 13, s. 355-362.
11. **Prachár, P., Vaněk, J., Bartáková, S., Březina V.:** Růst buněk stabilizované linie HeLa ve výluhu chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Prakt. zub. Léč.*, 53, 1, 2005, s. 15-18.
12. **Prachár, P., Vaněk, J., Cvrček, L., Bartáková, S.:** Vlastnosti povrchové vrstvy chromkobaltové slitiny povlakované nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Prakt. zub. Léč.*, 53, 4, 2005, s. 65 -67.
13. **Procházková J., Kučerová H., Bártová, J., Venclíková, Z.:** Nežádoucí účinky kovů v dentálních materiálech. Diagnostické a terapeutické možnosti. *Progresdent*, 2001, 7, s. 34-36.
14. **Strietzel, R., Hosch, A., Kalbfleisch, H., Buch, D.:** In vitro corrosion of titanium. *Biomaterials*, 19, 1998, s. 1495-1499.
15. **Šimůnek, A. a kol.:** Dentální implantologie. Nukleus, Hradec Králové, 2001, 192.
16. **Vaněk, J., Březina, V., Freyburg, L.:** Biokompatibilita titanu pro účely dentální implantologie. *Čes. Stomat.*, 95, 1995, s. 151-153
17. **Vaněk, J., Prachár, P., Bartáková, S., Fassmann, A., Freyburg, L.:** Kvalita osseointegrace zavedených enosseálních dentálních titanových implantátů a celkový zdravotní stav. *Čes. Stomat.* 102, 2002, 2, s. 48-52,
18. **Vaněk, J., Prachár, P., Bartáková, S., Fassmann, A.:** Vyhodnocení osseointegrace zavedených enosseálních jednofázových čepelkových implantátů do dvou let po implantaci. *Čes. Stomat.* 102, 2002, 1, s. 11-17.
19. **Vaněk, J., Prachár, P., Bartáková, S., Březina, V., Freyburg, L.:** Biologické testy chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Čes. Stomat.*, 105, 2005, 6, s. 149-153.
20. **Wahala, J. C.:** Material for endosseous dental implants. *J. Oral Rehab.*, 23, 1996, s. 4.
21. **Watson, C. J.:** Hydroxyapatite coated dental implants. *Brit. Dent. J.*, 187, 1999, s. 90-94.
22. **Wie, H., Hero, H., Solheim, T.:** Hot isostatic pressing-processed hydroxyapatite-coated implant: light microscopic and scanning electron microscopy investigations. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants*, 13, 1998, 6, s. 837-844.

*MUDr. Sonia Bartáková, Ph.D.
Stomatologická klinika LF MU
a FN u sv. Anny
Pekařská 53
656 91 Brno*

Index CPITN u fixních protetických náhrad z Wironu a drahokovu Aurixu

Bartáková S., Vaněk J.

Stomatologická klinika LF MU a FN U Sv. Anny, Brno,
přednosta prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.

Souhrn

Autoři předkládají studii řešení zkráceného zubního oblouku pomocí fixních protetických náhrad zhotovených z Wironu 99 v kombinaci s keramikou a drahokovové slitiny Aurixu v kombinaci s kompozitním materiálem. Na Stomatologické klinice v Brně byl v letech 1998–2000 ošetřen a vyhodnocen soubor 74 pacientů. V horní čelisti bylo zhotoveno 39 fixních náhrad, 17 z Wironu, 21 z Aurixu, v dolní čelisti 35 fixních náhrad, 14 z Wironu, 21 z Aurixu v kombinaci s kompozitem. Po ošetření byly stanoveny průměrné hodnoty indexu CPITN a PBI zvláště pro horní a dolní čelist. U fixních náhrad z Wironu 99 v kombinaci s keramikou byly průměrné hodnoty CPITN a PBI nižší než u slitiny Aurixu v kombinaci s kompozitem. Rozdíly byly markantnější v dolní čelisti. Pro protetickou praxi lze z parodontologického hlediska doporučit zhotovování metalokeramických můstků, neboť mají menší vliv na hodnoty CPITN a PBI než můstky z materiálu Aurix.

Klíčová slova: můstek – metalokeramika – fazetový můstek – Wiron 99 – Aurix – CPITN index – PBI index

Bartáková S., Vaněk J.: CPITN Index in Fixed Prosthetic Dentures from Wiron and Aurix Alloys

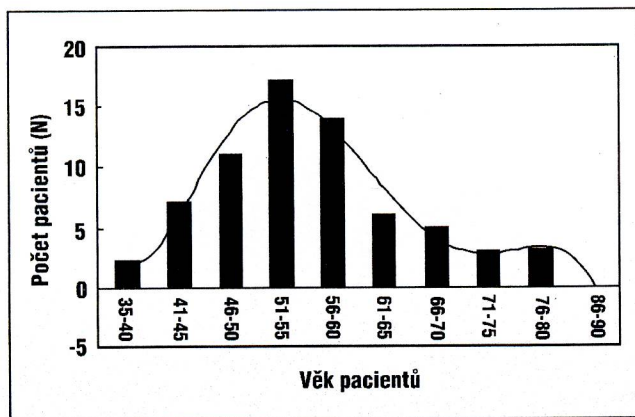
Summary: The authors present the study of prosthetic treatment of shortened dental arch by means of fixed bridges made either from Wiron 99 metal-fused ceramic or Aurix alloy. At Stomatological Clinic in Brno, 74 cases of shortened dental arch were treated by fixed bridges within the period of 1998–2000. In the upper jaw, 39 bridges were made (17 metal-fused ceramic Wiron 99 alloy, 21 from Aurix). In the lower jaw, 35 bridges were made (14 metal-fused ceramic Wiron 99 alloy, 21 from Aurix). Six months after the treatment, mean values of CPITN a PBI indices were evaluated for each patient, separately for the upper and lower jaw. When Wiron 99 metal-fused ceramic was used, mean CPITN and PBI values were lower than in the case of Aurix combined with composite. The difference was particularly higher in the lower jaw. For dental prosthetic practice, the use of metal-fused ceramic bridges might be recommended, because they influence CPITN and PBI values less than bridges made from Aurix alloy.

Keywords: bridge – metal-fused ceramic – venner bridges – Wiron 99 – Aurix – CPITN index – PBI index

Čes. Stomat., roč. 104, 2004, č. 4, s. 135–139.

ÚVOD

Na Stomatologické klinice v Brně se zabýváme hodnocením protetického řešení zkráceného zubního oblouku [5, 7]. Při léčbě těchto defektů, které mohou být jedno-



Graf 1. Rozdělení souboru pacientů do věkových tříd. Absolutní četnosti v jednotlivých třídách jsou vyjádřeny sloupci. Celková distribuce pacientů je vyjádřena distribuční křivkou (polynom šestého stupně ve tvaru $y = 0,0006 * x^6 - 0,0368 * x^5 + 0,7434 * x^4 - 6,4557 * x^3 + 24,815 * x^2 + 18,533$

Graph 1. The group of patients was divided into age categories. The absolute frequencies in individual categories are expressed in columns. The general distribution of patients is expressed by a distribution curve (polynom of 6th degree in the shape of $y = 0.0006 * x^6 - 0.0368 * x^5 + 0.7434 * x^4 - 6.4557 * x^3 + 24.815 * x^2 + 18.533$

stranné, oboustranné, kombinované s větší nebo menší mezerou ve frontálním úseku, využíváme vedle snímatelných protetických náhrad také náhrady fixní. Tyto mohou mít dlahovací účinek ve formě spojených korunek, formu můstků ukončených sponovými korunkami nebo nesené titanovými enoseálními implantáty. Ke zhotovení fixních náhrad jsme využili kovového materiálu Wiron 99 v kombinaci s keramikou, nebo drahokovu Aurix s kompozitním materiálem [1, 2, 6].

Za cíl jsme si dali zhodnotit reakci tkání parodontu na fixní náhrady zhotovené z těchto materiálů. Využili jsme k tomu hodnocení pomocí indexu CPITN a srovnání, s indexem PBI.

MATERIÁL A METODIKA

Do hodnocení jsme zařadili soubor 74 pacientů se zkráceným zubním obloukem, 50 žen a 24 mužů ve věku 35–87 let, ošetřených na Stomatologické klinice v Brně v období let 1998–2000. Věkové rozložení a počet hodnocených pacientů ukazuje graf 1. Pacientům bylo zhotoveno v horní čelisti 39 fixních náhrad, 17 z Wironu a 21 z Aurixu s kompozitem, v dolní čelisti 35 fixních náhrad, 14 z Wironu s keramikou, 21 z Aurixu. Stav parodontu podle indexu CPITN jsme hodnotili dle standardní metodiky půl roku po nasazení fixní náhrady. Pro srovnání jsme využili hodnocení indexu PBI (tab. 1, tab. 2).

VÝSLEDKY

Stav hodnoceného CPITN a PBI v dolní a horní čelisti ukazuje v průměrných hodnotách u fixních náhrad zhotovených z Wironu a Aurixu tabulka 3. Průměrné hod-

Tab. 1. Kritéria pro hodnocení indexu CPITN (angl. *Community Periodontal Index of Treatment Needs*). Vyšetření projevů se uskutečňuje pomocí kalibrované sondy od dna chobotu ke krčku, po stěně zubu, po celém jeho obvodu. CPITN index je součástí WHO metodik. Upraveno podle [4]

Tab. 1. Criteria for the evaluation of the CPITN index (*Community Periodontal Index of Treatment Needs*) are displayed. The examination of manifestations is executed by means of a calibrated probe from the bottom of the inlet to the cervix, along the wall of the tooth, around the whole circumference. CPITN index is a part of WHO methods. Adjusted according to [4]

CPITN	Projevy	Terapie
0		instruktáž ústní hygieny
1	krvácení gingivy	instruktáž ústní hygieny, konzervativní terapie
2	zubní kámen supragingivální, subgingivální	odstranění zubního kamene, instruktáž ústní hygieny, konzervativní terapie
3	parodontální choboty 3,5–5,5 mm	komplexní parodontologická terapie
4	parodontální choboty nad 5,5 mm	komplexní parodontologická terapie

Tab. 2. Kritéria (příznaky) pro hodnocení stupně krvácení papily indukovaného vytíráním papilárního sulku tupou parodontální sondou

Tab. 2. Criteria (symptoms) for the evaluation of the degree of bleeding of papilla induced by wiping out the papillary sulcus by a dull parodontal probe

Stupeň krvácivosti papily	Popis příznaků
0	Sulkus nekrvácí.
1	Krvácení izolovaných bodů nebo krvácení v kratších liniích.
2	Krvácení v delších liniích nebo v omezených mezizubních krvavých skrvnách.
3	Mezizubní trojúhelník se po sondáži brzy vyplňuje krví. Krev odtéká pomalu do marginálních oblastí.
4	Silné krvácení při sondáži. Krev plní okamžitě mezizubní trojúhelník a stéká sedícímu pacientovi v dolní čelisti ihned do marginální oblasti. V horní čelisti stéká incizálním nebo okluzálním směrem.

noty byly získány jako aritmetický průměr hodnot CPITN, respektive PBI, zjištěných u všech pacientů, a to odděleně pro dolní a horní čelist. Pacienti ošetření pomocí fixních náhrad z Aurixu měli výrazně vyšší hodnoty CPITN než u náhrad zhotovených z Wironu. Stejně tomu bylo i u indexu PBI. Zvláště výrazné to bylo v dolní čelisti. Zvýšené průměrné hodnoty CPITN a PBI jsme zaznamenali u protetických náhrad z Wironu i Aurixu v částech kontaktu s titanovými implantáty. Pro dolní čelisti byla zjištěna vysoce průkazná pozitivní závislost ($P < 0,001$, neparametrický Spearmanův test) mezi věkem pacientů a hodnotami CPITN a PBI, zatímco v horní čelisti nebyla tato závislost statisticky průkazná.

Tab. 3. Vliv materiálu fixních náhrad na průměrné hodnoty indexů CPITN, PBI
Tab. 3. The influence of materials of fixed substitutions on average values of CPITN and PBI indexes

	Dolní čelist		Horní čelist	
	CPITN	PBI	CPITN	PBI
WIRON	1,14	1,05	1,84	4,21
AURIX	11,67	8,38	6,07	6,31

DISKUSE

Z hodnoceného souboru pacientů se ukazuje, že k protetickému řešení defektů zkráceného zubního oblouku bylo nutno přistoupit nejčastěji již ve věku pacientů 51–60 roků. Lze to vysvětlit nejen stupněm defektů chrupu v tomto věku, ale také snahou pacientů řešit problémy chrupu ještě v době jejich aktivní pracovní činnosti [3]. Uplatňují se tu tedy vlivy sociálně-ekonomické. Z hlediska vlivu materiálu protetické náhrady je jasně patrný vliv na index CPITN, a to více v dolní čelisti, než v čelisti horní. Při užití materiálu Wiron dosahovaly průměrné hodnoty CPITN indexu nižších hodnot, než v případě užití Aurixu. Podobný výsledek je zaznamenán i u PBI indexu, i když změny u CPITN v závislosti na materiálu jsou výraznější [1]. Může se tu uplatnit nedokonale provedená preparace, nedokonalá modelace, přílišné zasahování náhrady do sulku. Jako příčina přichází v úvahu i elektrochemická koroze mezi kovem suprakonstrukce a titanovou nástavbou [3]. Tento typ koroze a z toho plynoucí dráždění se jeví vyšší u protetických náhrad z Aurixu než z Wironu. Důvodem může být dokonaleji krytá kovová konstrukce z Wironu napálenou keramikou než kovová konstrukce z Aurixu krytá kompozitem zasahující do gingiválního sulku. Rozdíly mezi horní a dolní čelistí mohou vyplývat ze zvýšené tendence rozvoje parodontálních změn vlivem sialolithiázy i na větší konstrukční vliv modelace fixních náhrad na parodont [3].

ZÁVĚR

Na základě vyhodnocení úrovně indexu CPITN a indexu PBI u pacientů se zhotovenými fixními protetickými náhradami při řešení zkráceného zubního oblouku lze konstatovat, že druh materiálu může úroveň parodontologických indexů negativně ovlivnit. Výrazně horší výsledky byly zaznamenány u fixních náhrad z Aurixu v kombinaci s kompozitem v porovnání s fixními náhradami z Wironu 99 s napálenou keramikou. Negativní vliv se uplatnil zvláště v dolní čelisti. Jako příčina se může uplatnit i elektrochemická koroze.

Tato studie vznikla v rámci doktorského studijního programu S. Bartákové na Stomatologické klinice v Brně.

LITERATURA

1. **Bartáková S., Prachár, P., Vaněk, J.:** Parodontological evaluation of prosthetic solution of shortened dental arch. Book of Abstracts. Prosthodontics Yesterday, Today and Tomorrow. 25th Annual Conference of the European Prosthodontic Association, Prague 2001, s. 54.

2. **Bernardová, M., Eber, M.:** Komplikace po aplikaci fixních náhrad. Praktické zubní lékařství 44, 1996, s. 63–67. ISSN 1213-0613.
3. **Dapeci, A.:** Fixní zubní náhrady v prevenci parodontopatologií. Acta Facultatis Mediccae Universitatis Brunensis Masarykianae, Masarykova Univerzita, Brno, 1990, 108, 136 s.
4. **Rateitschak, K. H., Rateitschak, E. M., Wolf, H. F.:** Parodontologie. Farbatlanten der Zahnmedizin 1. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2. přepracované a rozšířené vydání, 1989, 400 s. ISBN 3-13-655602-X.
5. **Vacek, M., Bittner, J.:** Gnatologie. Avicenum, 1986, Praha, 175 s. ISBN 08-046-86.
6. **Vaněk, J., Prachár, P., Fassmann, A., Bartáková, S.:** VNI implantační systém – sedmileté zkušenosti. Čes. Stomat., 100, 2000, s. 183–187.
7. **Voldřich, M.:** Stomatologická protetika. Státní zdravotnické nakladatelství, 1969, Praha, 700 s.

*MUDr. Sonia Bartáková
Stomatologická klinika LF MU a FN U Sv. Anny v Brně
Pekařská 53
656 91 Brno*

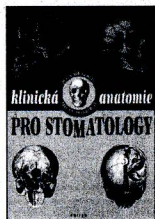


Nabídka publikací z produkce nakladatelství TRITON



Klinická anatomie pro stomatology

doc. MUDr. Olga Mrázková, CSc.,
prof. MUDr. Milan Doskočil, DrSc.



Předkládaná učební pomůcka je určena především studentům stomatology.

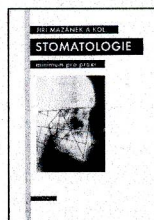
Publikace by měla být rovněž pomůckou ke stručnému zopakování klinické anatomie pro mladé lékaře – stomatology, kteří se připravují na atestaci. Stejnou úlohu by měl tento text plnit i u absolventů všeobecného lékařského studia, kteří

se hodlají věnovat stomatologii a čelistní chirurgii rozšířením své kvalifikace.

144 str., brož., 148 Kč, 2001, ISBN 80-7254-172-2

Stomatologie – minimum pro praxi

prof. MUDr. Jiří Mazánek, DrSc. a kol.



Stomatologie se zabývá diagnostikou, terapií a prevencí chorob ústní dutiny, zubů a tkání s nimi funkčně spojených. Základními stomatologickými obory jsou zachovná stomatologie, stomatologická protetika, ortodoncie a stomatochirurgie. Postupně však vznikly i obory nadstavbové, mezi které patří dětská stomatologie, parodontologie aj.

Všem uvedeným disciplínám je věnována tato přehledná publikace, jež je pro větší názornost doplněna kvalitními barevnými snímky a nákresy.

168 str., brož., 198 Kč, 1999, ISBN 80-7254-032-7

Publikace objednávejte na adrese:

Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, I 20 26 Praha 2

fax: 224 26 62 26, e-mail: nts@iol.cz

Růst buněk stabilizované linie HeLa ve výluhu chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia

Prachár P., Vaněk J., Bartáková S., Březina V.

Stomatologická klinika LF MU a FN u Sv. Anny, Brno,
přednosta prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.

Souhrn

Materiály užívané v současné době v dentální implantologii jsou výhradně vyráběny ze slitin titanu. Tomu odpovídá velmi nesnadné zpracování materiálu. Příprava a ekonomické hledisko je náročné. Snahou bylo najít materiál s kvalitativními mechanicko-fyzikálními i biologickými vlastnostmi. Volbou materiálu s lepšími mechanicko-fyzikálními vlastnostmi než slitiny titanu byla chromkobaltová slitina. Zachování biologických vlastností jako u slitin titanu bylo nanesení vrstvy nitridu titanu a nitridu zirkonia. Na začátku započaly biologické testy takto povrchově upraveného materiálu. Prvním testem byl růst buněk.

Klíčová slova: nitrid titanu – nitrid zirkonia – biologické testy – růst buněk

Prachár P., Vaněk J., Bartáková S., Březina V.: Growth of the Stabilized HeLa Cell line in Chromium-Cobalt Extract of Surface – Layered Titanium Nitride and Zirconium Nitride

Summary: The materials used recently in dental implantology are exclusively made of titanium alloy. This is reflected in a difficult processing of the material.

Preparation and economic point of view are also very demanding. Our aim was to find a material with high physico-mechanical and biological properties. Our selection was an alloy of chromium and cobalt that exhibited better physical properties than titanium alloy. Biological properties were maintained by a layering of titanium nitride and zirconium nitride on the chromium-cobalt alloy. The material with surface – layered structure was biologically tested. The first test was a cell growth test. The study is a part of the project No. 7356-3 provided by IGA grant of the Czech Ministry of Health.

Key words: titanium nitride – zirconium nitride – biological tests – cell growth test

Prakt. zub. Léč., roč. 53, 2005, č. 1, s. 12–14.

ÚVOD

Implantace se těší stále větší pozornosti a užití při léčebných výkonech. Je tomu tak i ve stomatologii, kde se stále více zavádějí dentální implantáty různého typu, implantuje se biomateriál využívaný k augmentaci, při tkáňové regeneraci, metodě tkáňového inženýrství apod. [1, 2, 3, 4]. Cílem je dokonalá integrace implantovaného materiálu zajišťující dlouhodobý léčebný efekt. Toho je dosahováno optimálními biologickými vlastnostmi materiálu, zvláště jeho povrchu. Dále také vlastnostmi biofyzikálními, vyplývajícími z jeho možné zpracovatelnosti, a tím uplatnění v různých anatomických aplikacích. Tento cíl vede implantology také k využívání kombinace implantovaného materiálu, zvláště v jeho povrchové úpravě [2, 5]. Tak vznikl podnět upravit

v protetické stomatologii velmi využívanou chromkobaltovou slitinu s povrchově nanesenou vrstvou nitridu titanu, nebo nitridu zirkonia, např. při konstrukci subperiostálních implantátů (výzkum IGA apod.).

MATERIÁL A METODIKA

Technologie přípravy materiálů: Bazální materiál je vyroben ve formě slitiny CrCo, která je ve stomatologii běžně využívána. Povrch tohoto základního materiálu byl upraven tryskáním. Poté následovalo povlakování základního chromkobaltového materiálu vrstvou podle jednotlivých pokusných variant. Jedna skupina modelů byla povlečena vrstvou TiN (nitrid titanu), druhá vrstvou ZrN (nitrid zirkonia), třetí pak vrstvou čistě-

ho Ti (titan). Povlaky byly vytvořeny technologií PVD (Physical Vapor Deposition) metodou magnetronového naprašování. Průměrná tloušťka povlaků byla u Ti 4,2 um, pro TiN 1,4 um a pro ZrN 1,7 um. Při těchto tloušťkách nedochází ke změně drsnosti povrchu základního materiálu, což je vlastnost významná pro vlastní stomatologickou aplikaci. Adheze vrstev k základnímu materiálu je další významná vlastnost a při navržené technologii je odpovídající, s hodnotami mezi 60 a 70 N (CSEM Revetest).

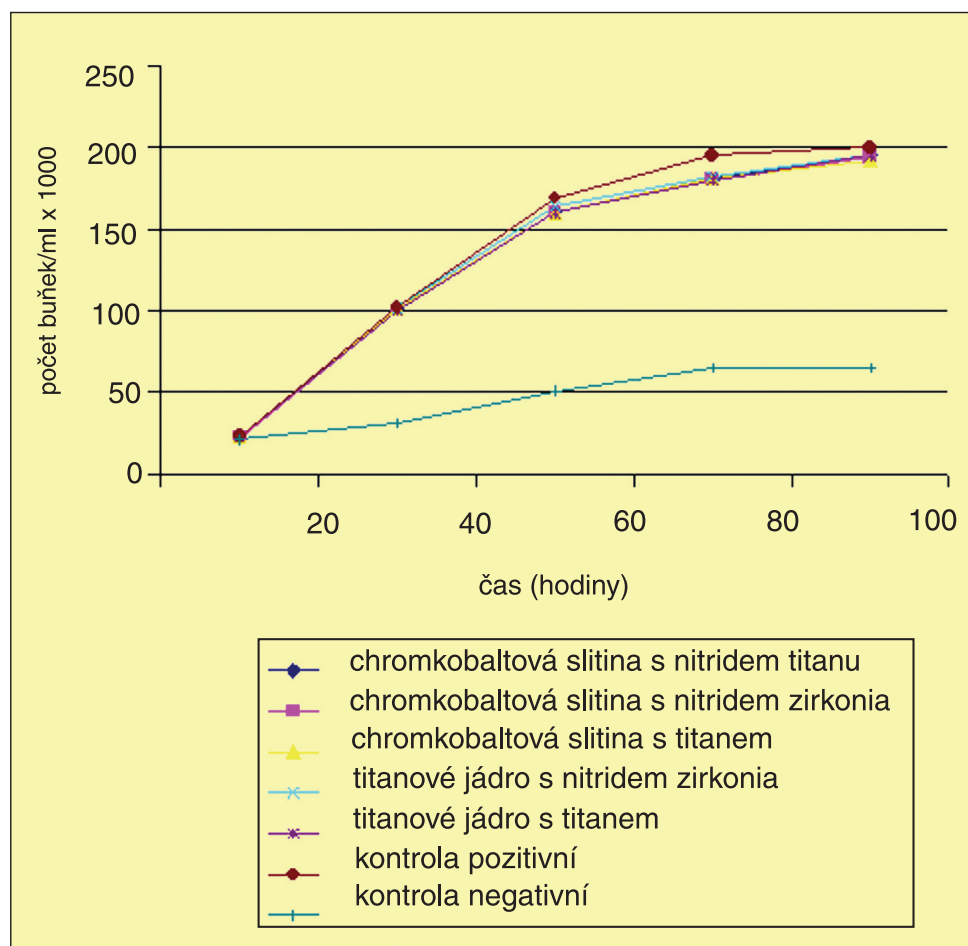
Složení testovaných modelů: Bazální, to je vnitřní část implantátu testované generace, je zhotovena z chromkobaltové slitiny, jako materiálu s dobrými mechanicko-fyzikálními vlastnostmi, ale s nevyhovujícími vlastnostmi biokompatibility. Ty mají být odstraněny pomocí biokompatibilní vrstvy. Testované vnější vrstvy jsou nitrid titanu, nitrid zirkonia, titan a zirkonium.

Modelové uspořádání bylo zvoleno standardní, to je válec o průměru 8 mm a výšce 3 mm, který umožňuje většinu zkoušek na biokompatibilitu.

Příprava testovaného výluhu: Testované válečky byly horkovzdušně sterilizovány a louženy ve vodě pro injectio po dobu 120 hodin při teplotě 36 °C na třepače s frekvencí 120 kmitů za minutu. Po expozici bylo z takto připraveného výluhu připraveno růstové médium ve čtyřech ředěních v geometrické řadě. Kontrolní médium bylo zhotoveno z vody stejně ošetřené, ovšem bez testovacích terčů.

Kultivační prostředí: Kultivační láhve podle Müllera v uzavřeném systému s 5 ml kultivačního média, v termostatu při 37 °C. Kultivační médium MEM doplněné 10% CS (PAA, Biotech. as).

Testovací buňky: Heteronukleární stabilizovaná buněčná linie HeLa. Jejich přírůstek byl stanovován početně po stažení buněčné populace versenem.



Graf 1. Charakter růstu buněk HeLa v závislosti na povrchové úpravě materiálu. Graph 1. Character of growth of HeLa cells in relation to surface treatment of the material.

VÝSLEDKY

Růst buněčné kultury byl stanoven jako růstová křivka kultury, vyjádřená počtem buněk v jednom mililitru. Počet buněk byl proveden v Burkerově počítací komůrce po oddělení buněk od substrátu pomocí versenu a jejich promíchání. Každý den pokusu byly spočítány buňky z každé varianty ve trojím opakování a údaje průměrovány. Výsledkem je grafické zobrazení počtu buněk na mililitr za čas v hodinách (graf 1). Pokus byl ve stejných podmínkách opakován třikrát.

Charakter růstu buněk HeLa (epiteloidní stabilizovaná buněčná linie) je uveden v grafu. Nebyla zjištěna růstová deprese v žádné ze zkoumaných materiálů proti pozitivní kontrole. Kontrola s definovanou toxickou složkou vykazuje standardní růstovou depresi.

DISKUSE

V dentální implantologii existuje několik druhů povrchové úpravy enosseálních implantátů [2, 5]. Hlavním cílem je dokonalá biokompatibilita [1, 2, 6]. Při povrchové úpravě hydroxyapatitem toho bylo dosaženo [2, 3, 7, 8]. Není tomu však po stránce mechanicko-fyzikální, a to z hlediska

adheze materiálu užitého k povlakování. Proto jsou hledány další způsoby povrchové úpravy dentálních implantátů. K těm patří užití materiálu nitridu titanu, nitridu zirkonia [9, 10, 11]. Biologická přijatelnost těchto materiálů nebyla zatím absolutně potvrzena. Naše dosavadní výsledky biologickou přijatelnost těchto materiálů ukazují. Podobně se nám jeví i adheze tohoto materiálu na bazální chromkobaltovou slitinu.

ZÁVĚR

Vodní výluhy testovaných materiálů nitridu titanu a nitridu zirkonia neovlivňují růst buněk v kultuře. Na základě výsledků se povrchová úprava dentálních implantátů pomocí těchto materiálů jeví biologicky přijatelná a pro klinické využití perspektivní.

Celá studie je součástí grantového výzkumu IGA MZ ČR ND/7356-3.

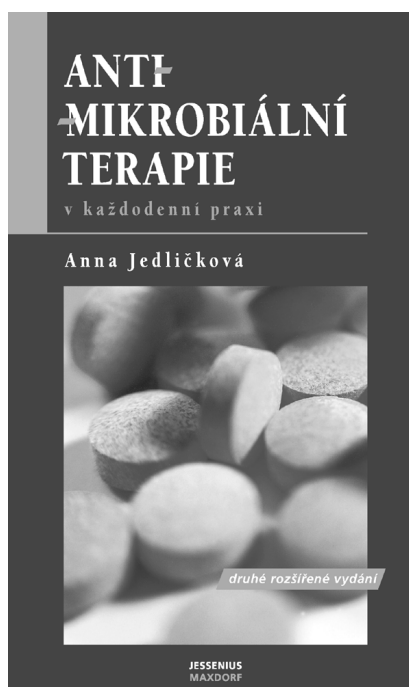
LITERATURA

1. Vaněk, J., Prachár, P., Bartáková, S., Fassmann, A., Freyburg, L.: Kvalita osseointegrace zavedených enosseálních dentálních titanových implantátů a celkový zdravotní stav. Čes. Stomat., 102, 2002, 2, s. 48–52, ISSN 1210-7891.
2. Šimůnek, A. a kol.: Dentální implantologie. Nucleus, Hradec Králové, 2001, 192, ISBN 80-86225-15-1.
3. Fassmann, A., Dvořáková, N.: Nové metody terapie kostních defektů orofaciálního skeletu. Čes. Stomat., 99, 1999, s. 88–93.

4. Fassmann, A. a kol.: Řízená tkáňová a kostní regenerace ve stomatologii. Grada Publishing, a.s., 2002, ISBN 80-247-0316-5.
5. Dostálová, Z., Himmllová, L., Jelínek, M., Bártová, J.: Spojení titanových implantátů a biokeramiky na bázi hydroxyapatitu – hodnocení in vitro. Čes. Stomat., 95, 1995, s. 89–96.
6. Vaněk, J., Prachár, P., Bartáková, S., Fassmann, A.: Vyhodnocení osseointegrace zavedených enosseálních jednofázových čepelkových implantátů do dvou let po implantaci. Čes. Stomat., 102, 2002, 1, s. 11–17, ISSN 1210-7891.
7. Kopecká, D., Šimůnek, A.: Současné názory na povlakování dentálních implantátů hydroxyapatitem. Čes. Stomat., 100, 2000, s. 29–35.
8. Wie, H., Hero, H., Solheim, T.: Hot isostatic pressing-processed hydroxyapatite-coated titanium implants: light microscopic and scanning electron microscopy investigations. Int. J. Oral. Maxillofac. Implants, 13, 1998, 6, s. 837–844.
9. Groessner-Schreiber, B., Neubert, A., Muller, W. D., Hopp, M., Griepentrog, M., Lange, K. P.: Fibroblast growth on surface-modified dental implants: a in vitro study. J. Biomed. Mater. Res., 15, 2003, 64A, 4, s. 591–599.
10. Mengel, R., Meer, C., Flores-de-Jacoby, L.: The treatment of uncoated and titanium nitride-coated abutments with different instruments. Int. J. Oral. Maxillofac. Implants., 19, 2004, 2, s. 232–238.
11. Nagai, M., Hayakawa, T., Fukatsu, A., Yamamoto, M., Fukumoto, M., Nagahama, F., Mishima, H., Yoshinari, M., Nemoto, K., Kato, T.: In vitro study of collagen coating of titanium implants for initial cell attachment. Dent. Mater. J., 21, 2002, 3, s. 250–260.

As. MUDr. Patrik Prachár

*Stomatologická klinika LF MU
a FN U Sv. Anny
Pekařská 53
656 91 Brno*



ANTIMIKROBIÁLNÍ TERAPIE (2. vydání)

Anna Jedličková

Od zavedení prvního a dodnes nejznámějšího antibiotika – penicilinu – uplynulo více než 50 let. Dnes dosáhl počet běžně užívaných antibiotik několika set a je možné bez nadsázky říci, že lze najít antibiotikum proti každé bakterii. Velký počet dostupných antibiotik však klade před lékaře zvýšené nároky na výběr, neboť užití nesprávného antibiotika přináší značná rizika. Publikace naší přední odbornice v oblasti antimikrobiální terapie klade důraz na praktičnost a rychlou orientaci.

Vydal Maxdorf v roce 2004, edice Jessenius, formát 110 x 190 mm, váz
ISBN 80-85912-63-5, 356 str., cena 395 Kč

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko
ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226
e-mail: nts@cls.cz



REDAKČNÍ RADA

VEDOUCÍ REDAKTORKA

Doc. MUDr. L. Roubalíková, Ph.D.

Stomatologická klinika LF MU
a FN U Sv. Anny, Brno

ZÁSTUPKYNĚ VEDOUCÍ REDAKTORKY

MUDr. I. Lekešová, CSc.

Ministerstvo školství, mládeže
a tělovýchovy, Praha

ČLENOVĚ

MUDr. P. Bednář

Stomatologická klinika FN,
Hradec Králové

MUDr. L. Korábek, CSc.

Stomatologická klinika 1. LF UK a VFN,
Praha

Doc. MUDr. N. Markovská, CSc.

I. stomatologická klinika LF UPJŠ
Košice, SR

Doc. MUDr. J. Stejskalová, CSc.

Stomatologická klinika LF UP,
Olomouc

Doc. MUDr. J. Zemen, Ph.D.

Stomatologická klinika LF UK,
Plzeň

PRAKTICKÉ ZUBNÍ LÉKAŘSTVÍ

ČASOPIS PRO DALŠÍ VZDĚLÁVÁNÍ
PRACOVNÍKŮ V PÉČI O ORÁLNÍ ZDRAVÍ

ČÍSLO 4 / ČERVENEC 2005 / ROČNÍK 53

OBSAH / CONTENTS

Prachár P., Vaněk J., Cvrček L., Bartáková S.:

Vlastnosti povrchové vrstvy chromkobaltové slitiny povlakované
nitridem titanu a nitridem zirkonia

*Characteristics of Surface Layer of Chromium Cobalt Alloy with
Titanium Nitride and Zirconium Nitride* 65

Závodský P., Bednář P., Černý D., Ságlová S.:

Přesnost elektronického stanovení pracovní délky apexlokátorem
Ray-Pex 4

*The Accuracy of Electronic Working Length Determination by
Apex Locator Ray-Pex 4* 68

**Dostálová T., Jelínková H., Němec M., Koranda P., Miyagi,
M., Shi Y., Matsuura Y.:**

Srovnání preparačního účinku laserového záření s ultrazvukovou
mikropreparací a klasickou zubní vrtačkou

*Comparison of Preoperative Effect of Laser Radiation with
Ultrasound Micropreparation and Classical Drilling
Machine* 73

Hecová H., Stehlíková J.:

Hodnocení úspěšnosti ošetření u zlomenin kořene stálých zubů

Evaluation of Root Fractures of the Permanent Teeth 77

ISSN 1213-0613

Bibliographia medica čechoslovaca
INDEX DENTAL LITERATURE

CHEMICAL ABSTRACTS, DENTAL ABSTRACTS

Vlastnosti povrchové vrstvy chromkobaltové slitiny povlakované nitridem titanu a nitridem zirkonia

Prachár P., Vaněk J., Cvrček L.¹, Bartáková S.

Stomatologická klinika LF MU a FN U Sv. Anny, Brno,
přednosta prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.
¹HVM Plasma, s.r.o., Brno

Souhrn

Orální implantologie v současnosti užívá ve velké šíři technicky čistý titan nebo jeho slitiny. Tento materiál má optimální biologické vlastnosti, je však obtížně zpracovatelný. Cílem našeho výzkumu z hlediska zlepšení zpracovatelnosti materiálu se zachováním odpovídajících biologických vlastností se stala chromkobaltová slitina povrchově upravená biomateriálem nitridem titanu, nitridem zirkonia. Práce podává zprávu z výzkumu hodnocení mechanicko-fyzikálních vlastností takto upraveného povrchu chromkobaltové slitiny. Výsledky se jeví pro implantaci příznivé. Studie je součástí grantového výzkumu IGA MZ ČR ND č. 7356-3.

Klíčová slova: povrch – nitrid titanu – nitrid zirkonia – mechanicko-fyzikální vlastnosti – integrace – bioinertní vlastnosti

Prachár P., Vaněk J., Cvrček L., Bartáková S.: Characteristics of Surface Layer of Chromium Cobalt Alloy Coated with Titanium Nitride and Zirconium Nitride

Summary: Technically pure titanium or its alloys are broadly used in recent oral implantology. The material has optimal biological characteristics but its technological processing is difficult. The aim of our research was to improve the technological processing of a chromium cobalt alloy and to maintain the biological characteristics of the material. We focused on a chromium cobalt alloy coated with biomaterials titanium nitride and zirconium nitride. Our study brings a report from the evaluation of mechanical and physical characteristics of the coated surface of the chromium cobalt alloy. The obtained results are promising for oral implantology. The study is a part of the project No. 7356-3 of the Internal Grant Agency of the Ministry of Health of the Czech Republic.

Key words: surface – titanium nitride – zirconium nitride – mechanical and physical characteristics – integration – biologically inert

Prakt. zub. Lék., roč. 53, 2005, č. 4, s. 65–67.

ÚVOD

Implantace je stále více využívána při léčebných výkonech. Je tomu tak i ve stomatologii, kde jsou při nápravě defektů chrupu využívány dentální implantáty různého typu, implantuje se biomateriál za účelem augmentace alveolu čelistí [2]. Využívá se k tomu řízené tkáňové regenerace, metody tkáňového inženýrství apod. [2]. Stálou snahou je dosažení dokonalé integrace implantovaného materiálu zajišťující dlouhodobý léčebný efekt. Velmi důležité jsou nejen optimální biologické vlastnosti materiálu, zvláště jeho povrchu, ale i vlastnosti mechanicko-fyzikální, týkající se zpracovatelnosti, a tím uplatnění v různých anatomických aplikacích s dlouhodobou úspěšnou prognózou [5, 9]. V implantologii se proto využívá často kombinace implantovaného materiálu, zvláště v jeho povrchové úpravě [1, 3, 4, 10, 11].

Toto sleduje i povrchová úprava základní chromkobaltové slitiny s nanesenou vrstvou nitridu titanu, nebo nitridu zirkonia, čímž hodláme využít výborných, vyzkoušených vlastností chromkobaltové slitiny a zároveň ověřených přijatelných biologických vlastností nitridu titanu a nitridu zirkonia [7, 8].

MATERIÁL A METODIKA

Bazální materiál k povrchové úpravě byl vyroben ve formě standardizovaných terčíků ze slitiny CrCo (Co 60,5 %, Cr 28 %, W 9 %), ve stomatologii běžně užívané. Povrch tohoto základního materiálu byl upraven tryskáním na definovanou drsnost povrchu. Poté následovalo povlakování základního chromkobaltového materiálu vrstvou podle jednotlivých pokusných variant. Jedna

skupina modelů byla povlečena vrstvou TiN (nitridu titanu), druhá vrstvou ZrN (nitridu zirkonia) třetí pak vrstvou čistého Ti (technicky čistého titanu). Povlakování bylo vytvořeno technologií PVD (Physical Vapor Deposition) metodou magnetronového naprašování. Byla stanovena průměrná tloušťka povlaků jak u čisté vrstvy titanu, tak u povlakovaných vrstev TiN a ZrN.

Pro měření tloušťky jednotlivých vrstev byla použita metoda kalotest. Vrstva je pomocí ocelové koule a diamantové pasty probroušena až na povlakovaný materiál. Z průměru vzniklých vrstevnic a průměru koule je možné vypočítat sílu vrstvy.

Ve vztahu bazální materiál – povlakový materiál byla testována adheze a její srovnání s adhezí na zkušebním tělísku. Za účelem testování adheze byly připraveny tři sady vzorků – leštěný povrch diamantovou pastou A – povrch tryskaný korundem B – povrch tryskaný korundem a následně leptaný C. Vzorek A byl určen pro testování adheze a její srovnání s adhezí na zkušebním tělísku (ocel ČSN 19436 zakalená na 62 HRC).

Dále byla stanovena adheze pomocí metody scratch-testu a metodou vnikací. Sady B a C sloužily k testování metodou scratch-testu. Princip je založen na postupném zvyšování zátěžné síly na diamantový Rockwellův hrot při současném posouvání špičky hrotu po zkoumané povlakované vrstvě. Odečtou se kritické hodnoty, kdy dochází k odtržení vrstev.

Jako druhá metoda měření adheze pro sady B a C je vnikací metoda. Principem je měření okolí vpichu vytvořené tvrdoměrem s diamantovým Rockwellovým hrotem. Srovnání je pomocí hodnotící škály 1–6 při zatížení 150 kg (HRC).

Dále byla stanovena tvrdost a modul pružnosti nanosených vrstev. Tvrdost vrstev byla určována nanotvrdoměrem Shimadzu DUH 202 s Vickersovým hrotem při zatížení 5 g, který umožňuje také určit modul elasticity (pružnosti).

VÝSLEDKY

1. Měření síly nanosených vrstev (tab. 1).
2. Měření adheze povlakovaných vrstev (tab. 1).
3. Měření tvrdosti vrstev (tab. 1).
4. Měření modulu elasticity (pružnosti) (tab. 1).

Tab. 1. Souhrn výsledků jednotlivých měřených parametrů
Tab. 1. Summary of results of individual measured parameters

Vrstva	Síla vrstvy (μm)	Adheze (N)	Adheze HRC	Tvrdost (GPa)	Modul elasticity (GPa)
Ti	4,2 \pm 0,2	70	1	8–10	100–104
TiN	1,4 \pm 0,2	60	1	23–24	300–360
ZrN	1,4 \pm 0,2	60	1	27,28	300–360

Ad 1. Síla jednotlivých nanosených vrstev byla pro vrstvu titanu 4,1 μm , pro vrstvu nitridu titanu 1,4 μm , pro vrstvu nitridu zirkonia 1,7 μm (tab. 1).

Ad 2. Výsledky byly pro vrstvu titanu 70 N, pro vrstvu nitridu titanu 60 N a pro vrstvu nitridu zirkonia 60 N (tab. 1).

Další výsledky vnikací zkoušky pro měření adheze byly všechny v hodnotící škále jak pro technicky čistý titan, tak i pro vrstvy nitridu titanu a nitridu zirkonia hodnoceny číslem 1. To je nejlepší hodnocení ve škále 1–6 (tab. 1).

Ad 3., 4. Výsledky pro tvrdost byly pro vrstvu titanu 8–10 GPa, pro vrstvu nitridu titanu 23–24 GPa a pro vrstvu nitridu zirkonia 27–28 GPa.

Modul elasticity byl pro první vrstvu 100–104 GPa, pro druhou 300–360 GPa a pro třetí vrstvu 300–360 GPa (tab. 1).

DISKUSE

Materiály užívané v implantologii musí mít kromě optimálních biologických vlastností [7] i odpovídající biomechanické a biofyzikální vlastnosti. Nerespektování těchto požadavků může vést k předčasné ztrátě implantátu. Pro dlouhodobé užívání povlakovaných dentálních implantátů v agresivním prostředí ústní dutiny je nutné zaručit dobrou adhezi vrstvy k bazálnímu materiálu [1, 3, 5].

Příkladem této ne úplně optimální situace se stala povrchová úprava hydroxyapatitem [1, 3, 5, 10, 11]. Bylo sice dosaženo velmi dobrých biologických vlastností povlakovaného materiálu. Nebylo tomu však po stránce mechanciko-fyzikální.

Přistoupilo se proto ke změně metodiky nanášení vrstvy hydroxyapatitu laserem [6]. Stále se však při této metodice uplatňuje náročná zpracovatelnost technicky čistého titanu, jeho slitin a z toho plynoucí i ekonomická náročnost i při povlakování. Užítí chromkobaltové slitiny námi zkoumanými materiály TiN a ZrN tuto situaci zásadně řeší. Jednodušší zpracovatelnost chromkobaltových slitin umožňuje větší variabilitu ve využití tvaru implantátu, např. u subperiostálních implantátů. To je také jeden z cílů grantového projektu, který řešíme [7].

Bylo zjištěno, že metodou magnetronového naprašování nedošlo ke změně konfigurace drs-

nosti povrchu povlakovaného vzorku. Vrstva pouze kopíruje daný povrch. To je velmi důležité pro tkáňovou integraci implantátů.

U stanovení adheze jednotlivých nanosených vrstev bylo zjištěno, že mají velmi dobrou adhezi.

Tvrdość jednotlivých vrstev byla velmi vysoká, hlavně u vrstev nitridu titanu a nitridu zirkonia. S tím korespondoval nižší modul pružnosti, který je však pro dentální implantáty plně dostačující.

ZÁVĚR

Výsledky našeho hodnocení povlakování chromkobaltové slitiny TiN, ZrN prokázaly ve sledovaných parametrech reálnost jejich využití při zhotovení orálních implantátů různých tvarů. Jeví se, že tato kombinace materiálů má perspektivu v klinickém využití. Bude to předmětem dalšího výzkumu.

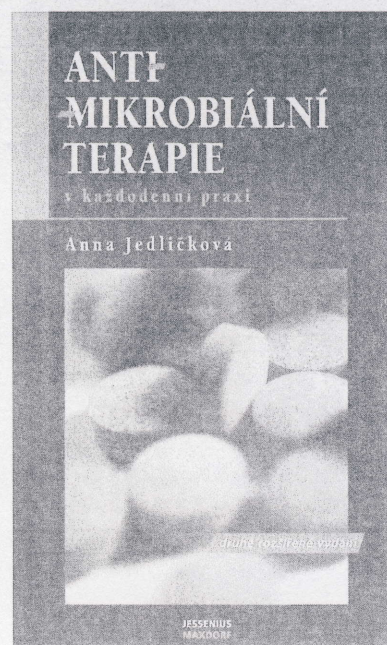
Studie vznikla za podpory projektu IGA MZ ČR ND/7356-3.

LITERATURA

1. **Dostálová, T., Himmlová, L., Jelínek, M., Dvořák, V., Bártová, J.:** Spojení titanových implantátů a biokeřamiky na bázi hydroxyapatitu – hodnocení in vitro. Čes. Stomat., 1995, č. 3, s. 89–96.
2. **Fassmann, A. a kol.:** Řízená tkáňová a kostní regenerace ve stomatologii. Grada Publishing, a.s., 2002. ISBN – 80-247-0316-5.

3. **Groessner-Schreiber, B., Neubert, A., Müller, W. D., Hopp, M., Griepentrog, M., Lange, K. P.:** Fibroblast growth on surface-modified dental implants: an in vitro study. J. Biomed. Mater. Res., 15, 2003, 4, s. 591–599.
4. **Kopecská, D., Šimůnek, A.:** Současné názory na povlakování dentálních implantátů hydroxyapatitem (Souborný referát). Čes. Stomat., 2000, č. 1, s. 29–35.
5. **Mengel, R., Meer, C., Flores-de-Jacoby, L.:** The treatment of coated and titanium nitride-coated abutments with different instruments. Int. J. Oral. Maxillofac. Implants. 19, 2004, 2, s. 232–238.
6. **Nakayama, T., Tahala, T., Tsumoto, Y., Katayama, H., Katto, M.:** High-quality hydroxyapatite coating on biocompatible materiale by laser-assisted laser ablation. Metod. Appl. Phys. A 79, 2004, s. 833–836.
7. **Prachár, P., Vaněk, J., Bartáková, S., Březina, V.:** Růst buněk stabilizované linie HeLa ve vyluhu chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. Prakt. zub. Lék., roč. 53, 2005, č. 1, s. 12–14.
8. **Vaněk, J., Březina, V., Freyburg, L.:** Biokompatibilita titanu pro účely dentální implantologie. Čes. Stomat., 95, 1995, s. 151–153.
9. **Wataha, J. C.:** Material for endosseous dental implants. J. Oral Rehab., 23, 1996, s. 4.
10. **Watson, C. J.:** Hydroxyapatite coated dental implants. Brit. Dent. J., 187, 1999, 90–94.
11. **Wie, H., Hero, H., Solheim, T.:** Hot isostatic pressing-processed hydroxyapatite-coated titanium implants: light microscopic and scanning electron microscopy investigations. Int. J. Oral. Maxillofac. Implants. 13, 1998, 6, s. 837–844.

*MUDr. Patrik Prachár
Stomatologická klinika LF MU
a FN U Sv. Anny
Pekařská 53
656 91 Brno*



ANTIMIKROBIÁLNÍ TERAPIE (2. vydání)

Anna Jedličková

Od zavedení prvního a dodnes neznámějšího antibiotika – penicilinu – uplynulo více než 50 let. Dnes dosáhl počet běžně užívaných antibiotik několika set a je možné bez nadsázky říci, že lze najít antibiotikum proti každé bakterii. Velký počet dostupných antibiotik však klade před lékaře zvýšené nároky na výběr, neboť užití nesprávného antibiotika přináší značná rizika. Publikace naší přední odbornice v oblasti antimikrobiální terapie klade důraz na praktičnost a rychlou orientaci.

Vydal Maxdorf v roce 2004, edice Jessenius, formát 110 x 190 mm, váz.

ISBN 80-85912-63-5, 356 str., cena 395 Kč

Objednávku můžete poslat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226
e-mail: nts@cls.cz

Biologické testy chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia

Vaněk J., Prachár P., Bartáková S., Březina V., Freyburg L.

Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno,
přednosta prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.

Věnováno k významnému životnímu jubileu prof. MUDr. J. Bildera, CSc.

Souhrn

V současnosti platí, že materiály užívané běžně v ústní dutině, pouze na sliznicích, k můstkovým konstrukcím atd. jsou co do mechanicko-fyzikálních vlastností odpovídající. Lze s nimi velmi dobře pracovat. Jsou technologicky ideálními materiály, protože jejich úprava a manipulace je snadná. Pro kontakt pouze na povrchu gingivy a sliznice ústní dutiny je jejich biotolerantnost plně akceptovatelná. V kostěné části při kontaktu s implantovaným materiálem je situace z důvodu požadované osseointegrace složitější a náročnější. Je nutné využívat minimálně bioinertní materiály, nebo bioaktivní materiály.

Proto bylo v rámci našeho výzkumu vytvořeno jádro z chromkobaltové slitiny běžně užívané ve stomatologické praxi, povrchově upravené nitridem titanu nebo nitridem zirkonia. Tyto povlakované vrstvy byly testovány pro možnost využití v orální implantologii. Výsledek biologického testování prokázal biologickou přijatelnost pro implantologické účely.

Klíčová slova: osseointegrace – nitrid zirkonia – nitrid titanu – biologické testy

Vaněk J., Prachár P., Bartáková S., Březina V., Freyburg L.: Biological Tests of Chromium-cobalt Alloy Coated with Zirconium Nitride and Titanium Nitride

Summary: It is well established in recent clinical stomatology that the materials used routinely in oral cavity, mucosa, and bridges constructions have proper mechanical and physical characteristics. The materials are ideal from technological point of view and it is easy to work with them in clinical practice. Their processing and surface finishing is easy. The materials show high biocompatibility when used in gingival and mucosal surfaces. In a jaw, the contact of implant materials with bone tissue and required osseointegration represent more complex and demanding issue than in soft tissues. In bone tissue, there is a necessity to use the materials exhibiting a high level of bioactivity. Within the frame of a long-term research project, we tested a modification of material routinely used in stomatological practice. A chromium-cobalt alloy was coated with titanium nitrate or zirconium nitrate. The two above-specified surface layers were tested for a prospective application in dental implantology. The results of standard biotests demonstrated a biocompatibility sufficient for the requirements of dental implantology.

Key words: osseointegration – zirconium nitrate – titanium nitrate – biological tests

Čes. Stomat., roč. 105, 2005, č. 6, s. 149–153.

ÚVOD

Materiály v dentální implantologii prošly mnoha testováními co do biologických vlastností, tak mechanicko-fyzikálních vlastností [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Existuje sedm skupin materiálů při testování. Skupina, která je pro studii potřebná je II. – materiály protetické (chirurgicko-protetické) a v ní třída implantačních materiálů – segmentálních, enoseálních, subperiostálních, endodontických implantátů.

Materiály pro implantologii rozdělujeme podle biologických vlastností (2) na:

1. biotolerantní,
2. bioinertní,
3. bioaktivní.

Biotolerantní materiály jsou tolerovány, což znamená, že při jejich vhojení dochází k fibrointegraci. Jedná se o vazivovou mezivrstvu mezi dentálním implantátem a kostí. Takové spojení je z dlouhodobého hlediska pro implantologii nepřijatelné. Takovými materiály jsou drahokovové

slitiny, slitiny obecných kovů, chromkobaltové slitiny.

Bioinertní materiály jsou tkání akceptovány plně biologicky. Vlastní vhojení dentálního implantátu se děje pomocí oseointegrace. Do této skupiny patří titan se svými slitinami, tantal, uhlíkové materiály, polykrystalická a monokrystalická keramika, zirkoniumoxidová keramika.

Bioaktivní materiály vytvářejí pravděpodobně fyzikálně-chemické spojení mezi dentálním implantátem a kostí – biointegraci. Patří sem materiály jako jsou hydroxyapatitová keramika, tri a tetrakalciová keramika, bioaktivní sklokeramika.

Jako další kritérium vhodnosti implantačních materiálů pro klinické účely jsou mechanicko-fyzikální vlastnosti. Tyto jsou dány přesnou specifikací. Podle nich lze materiály rozdělit v opačném sledu. To znamená, že nejlepší mechanicko-fyzikální vlastnosti mají drahokovové slitiny, slitiny obecných kovů a slitiny na bazi kobaltu.

Tyto všechny aspekty nás vedly k definování bazálního materiálu, který bude dobře zpracovatelný s finanční dostupností. Stala se jím chromkobaltová slitina běžně užívaná v každodenní praxi. Zlepšení biokompatibility materiálu jsme řešili povlakováním základního materiálu nitridem titanu nebo nitridem zirkonia, které podle předpokladů měly splňovat bioinertnost [7, 8].

MATERIÁL A METODIKA

Cílem bylo zkoušení biologických vlastností nanosených vrstev pro možnost přijatelnosti materiálů. Nutné bylo stanovit pozitivní i negativní kontrolu pro biologické testování.

Bylo navrženo testování materiálů podle platných FDI biologických testů [9]. Jednalo se o testy úvodní jak s nitridem titanu a nitridem zirkonia. Jednotlivé vrstvy byly na chromkobaltové jádro nanoseny metodou magnetronového naprašování (PVD – Physical Vapour Deposition). Adhezibilita takto povlakovaných materiálů je velmi vysoká.

Realizovali jsme testy **cytotoxicity testovaného materiálu** ve třech metodách.

1. Test toxicity (inhibice růstu buněk) – byl proveden na živočišných buňkách heteroploidní buněčné linie. Účelem bylo zjistit toxicitu výluhu testovaného materiálu. Růst buněčné kultury byl stanoven jako růstová křivka kultury, vyjádřená počtem buněk v jednom mililitru. Počet buněk byl proveden v Burkerově počítací komůrce po oddělení buněk od substrátu pomocí versenu a jejich promíchání. Každý den pokusu byly spočítány buňky z každé varianty ve trojím opakování a údaje průměrovány.

2. Test dilatace buněk – byl proveden na živočišných buňkách heteroploidní buněčné linie. Účelem bylo zjistit, do jaké míry jsou buňky výluhem testovaného materiálu ovlivněny ve své schopnosti adherovat. To znamená přichytit se a rozšířit svoje membrány. Test vypověděl o míře schopnosti buněk tolerovat výluh testovaného materiálu. Vzorek testovaného materiálu byl umístěn do Petriho misky, přelit suspenzí buněk v mediu a kultivován. Po určené době se v mikroskopu v dopadajícím světle vyhodnocoval přímý charakter adheze buněk k testovanému substrátu.

3. Test adaptace buněk k testovanému materiálu – byl proveden na živočišných buňkách a jeho účelem bylo zjistit, zda se v narostlé buněčné kultuře, do níž je přidán pevný vzorek materiálu, tvoří zóna odumírajících buněk a jak je tato zóna velká. Test vypověděl o toleranci rostoucích buněk k pevnému testovanému materiálu. Testovaný kovový materiál byl nanesen na sklo v tenké průhledné formě a buňky byly suspendovány na tento povrch. Vyhodnocovala se oblast v těsné blízkosti daného vzorku a stanovovala se tzv. inhibiční zóna, tedy zóna odumírajících buněk a její velikost.

Genotoxicity testovaného materiálu ve dvou způsobech:

1. Test toxicity (inhibice růstu buněk) – byl proveden na živočišných buňkách heteroploidní buněčné linie. Účelem bylo zjistit toxicitu výluhu testovaného materiálu. Růst buněčné kultury byl stanoven jako růstová křivka kultury, vyjádřená počtem buněk v jednom mililitru. Počet buněk byl proveden v Burkerově počítací komůrce po oddělení buněk od substrátu pomocí versenu a jejich promíchání. Každý den pokusu byly spočítány buňky z každé varianty ve trojím opakování a údaje průměrovány.

2. Test dilatace buněk – byl proveden na živočišných buňkách heteroploidní buněčné linie. Účelem bylo zjistit, do jaké míry jsou buňky výluhem testovaného materiálu ovlivněny ve své schopnosti adherovat. To znamená přichytit se a rozšířit svoje membrány. Test vypověděl o míře schopnosti buněk tolerovat výluh testovaného materiálu. Vzorek testovaného materiálu byl umístěn do Petriho misky, přelit suspenzí buněk v mediu a kultivován. Po určené době se v mikroskopu v dopadajícím světle vyhodnocoval přímý charakter adheze buněk k testovanému substrátu.

3. Test adaptace buněk k testovanému materiálu – byl proveden na živočišných buňkách a jeho účelem bylo zjistit, zda se v narostlé buněčné kultuře, do níž je přidán pevný vzorek materiálu, tvoří zóna odumírajících buněk a jak je tato zóna velká. Test vypověděl o toleranci rostoucích buněk k pevnému testovanému materiálu. Testo-

vaný kovový materiál byl nanesen na sklo v tenké průhledné formě a buňky byly suspendovány na tento povrch. Vyhodnocovala se oblast v těsné blízkosti daného vzorku a stanovovala se tzv. inhibiční zóna, tedy zóna odumírajících buněk a její velikost.

Genotoxicity testovaného materiálu ve dvou způsobech:

1. Test morfologických atypií mitóz – byl proveden v heteroploidní buněčné linii. V mikroskopu se odečítala frekvence tripolárních či multipolárních mitóz, frekvence mitotických buněk s migrujícím chromozomem, nebo shlukem chromozomů a mitotický index. Test vypověděl o možném karcinogenním působení testovaného agens. Buňky byly resuspendovány v testovaném mediu a kultivovány do stadia konfluence. Poté je medium odsáto a buňky na skle jsou fixovány a obarveny. V preparátu jsou hodnoceny a počítány mitózy s vyjádřením počtu atypických metafázových figur. Referenčním vzorkem byly buňky kultivované v neovlivněném mediu.

2. Test indukce chromozomálních aberací – byl proveden jak na lidských lymfocytech, tak na heteroploidní buněčné linii. Účelem bylo zjistit, zda výluh testovaného materiálu indukuje změny na chromozomech v dlouhodobé kultivaci. Test vypověděl o schopnosti materiálu indukovat chromozomové aberace, a tedy o jeho mutagenních vlastnostech. Byly užity lymfocyty dobrovolníka – muže 30 let, pracovně neexponovaného mutagenním látkám, nekuřáka, který nekonzumuje alkohol. Lymfocyty byly kultivovány standardním způsobem, to je po 48 hodinách byl přidán kolcemid a po dalších třech hodinách bylo provedeno standardní cytogenetické zpracování. V každé variantě bylo hodnoceno 100 mitóz a stanoven počet a typ chromozomálních aberací. Jako mutagenní je hodnocen materiál, který indukuje více než 5 % aberantních mitóz a je-li prokázána závislost na dávce.

Byly připraveny válečky z chromkobaltové slitiny o průměru 8 mm a výšce 3 mm. Na toto jádro byly nanášeny vrstvy 1. nitridu titanu a 2. nitridu zirkonia. Dále zde byly pozitivní kontrola a negativní kontrola.

VÝSLEDKY

Test toxicity (inhibice růstu buněk)

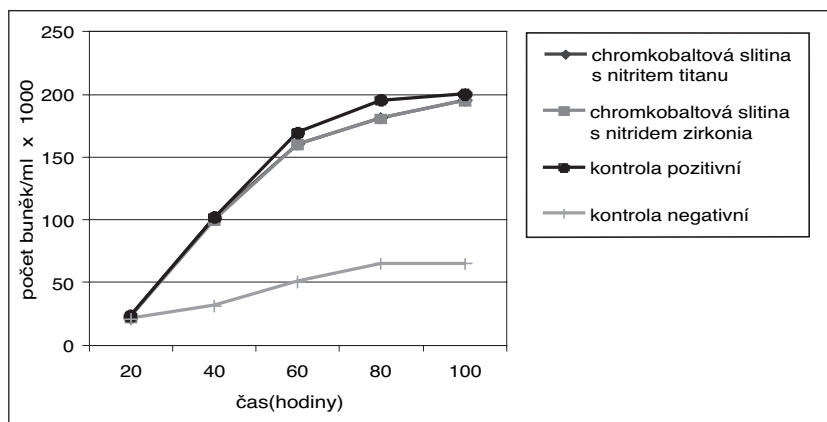
V rámci tohoto testu nebyla zjištěna růstová deprese v žádném ze zkoumaných materiálů proti pozitivní kontrole. Kontrola s definovanou toxickou složkou vykazuje standardní růstovou depresi. Růstové křivky jsou zobrazeny v grafu 1.

Test dilatace buněk

Dilatace, adherence buněk k jednotlivým zkoušeným materiálům se neliší od pozitivní kontrolní varianty, není zde deprese v křivkách hodnocení počtu adherovaných buněk za daný čas. Negativní kontrola odpovídá depresi dané toxicitou. Výsledky jsou zobrazeny v grafu 2.

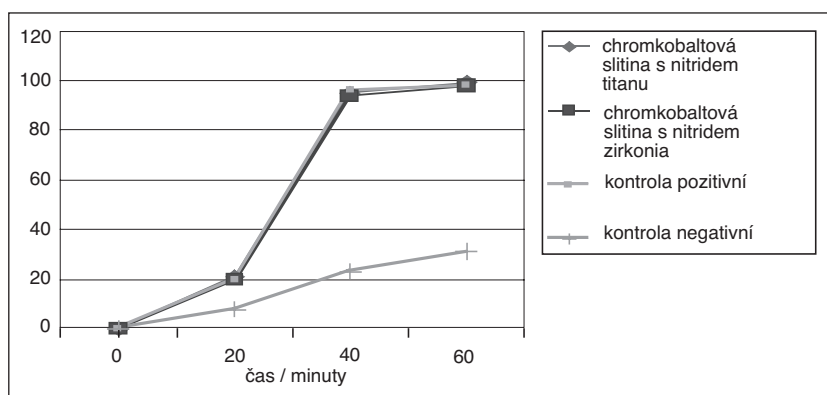
Test adaptace buněk k testovanému materiálu

Oblast, tzv. inhibiční zóna, není rozdílná u daných zkoušených materiálů oproti kontrolní pozitivní variantě, nevytváří se tedy patrná vrstva odumírajících buněk. V negativní kontrolní



Graf 1. Charakter růstu buněk HeLa v závislosti na povrchové úpravě materiálu.

Graph 1. Character of the HeLa cells growth in relation to the surface coating of the material.



Graf 2. Charakter dilatační křivky v závislosti na užití povrchové vrstvy.

Graph 2. Character of the dilatation curve in relation to the surface layer used.

Tab. 1. Výsledky testů mutagenity v závislosti na ředění
Tab. 1. Results of mutagenicity in relation to dilution

Varianta	Opakování		Mitózy	Aberantních mitóz	%
	1	2			
	Počet mitóz		Celkem	Celkem	Celkem
ZrN + neředěné medium (m.)	0	3	1300	4	1,33
ZrN + ředěné 50% (m.)	1	1	2300	4	1,33
ZrN + ředěné 25% (m.)	1	2	2300	5	1,67
TiN + neředěné (m.)	1	1	2300	4	1,33
TiN + ředěné 50% (m.)	2	1	2300	5	1,67
TiN + ředěné 25% (m.)	2	0	1300	3	1,00
Pozitivní kontrola	2	1	1300	4	1,33
Negativní kontrola	9	11	12 300	32	10,67

variantě je tato vrstva odumírajících buněk zřetelná.

Test morfologických atypií mitóz

Při tomto testu nebylo zjištěno možné karcinogenní působení testovaných agens. Oproti kontrolní pozitivní variantě nebyly zjištěny rozdíly při hodnocení.

Test indukce chromozomálních aberací

Nebyla zjištěna zvýšená frekvence chromozomálních aberací, tedy zkoumané materiály nepůsobí mutageně. Výsledky jsou zobrazeny v tabulce 1.

DISKUSE

V dentální implantologii existuje několik druhů povrchové úpravy dentálních implantátů. Snahou je dokonalá biokompatibilita [1, 6]. Tedy z pohledu dentální či orální implantologie biointertnost nebo lépe oseointegrace daného materiálu.

Při užití hydroxyapatitu bylo dosaženo i bioaktivity z pohledu biologických vlastností materiálu. Bohužel u tohoto materiálu po stránce mechanicko-fyzikální nebylo dosaženo potřebné kvality, především adheze vrstvy nanosené na bazální vrstvu [2, 5, 10, 11]. Proto jsou hledány stále nové možnosti povrchové úpravy implantátů. K těm patří i nitrid titanu a nitrid zirkonia [11, 12, 13]. Biologická přijatelnost těchto materiálů byla absolutně potvrzena. Podobně je tomu i u mechanicko-fyzikálních vlastností především tak důležité adheze těchto vrstev na základní chromkobaltovou strukturu. Výsledky jsou pozitivní a lze předpokládat úspěšnost takového užití v klinické praxi.

ZÁVĚR

Doporučené úvodní biologické testy pro implantační materiál, tvořený chromkobaltovým jádrem povrchově upraveným nitridem titanu

nebo nitridem zirkonia, potvrdily inertnost takto strukturovaného materiálu. Je možné tento materiál využít pro dentální implantologii. Jednou z možností mohou být subperiostální implantáty. Využitím takto strukturované slitiny může také být zhotovování prote-

tických skeletových náhrad. V tomto směru začínáme s preklinickými zkouškami.

Celá studie je součástí grantového výzkumu IGA MZ ČR ND/7356-3.

LITERATURA

- Vaněk, J., Prachár, P., Bartáková, S., Fassmann, A., Freyburg, L.:** Kvalita oseointegrace zavedených enosseálních dentálních titanových implantátů a celkový zdravotní stav. *Čes. Stomat.*, 102, 2002, 2, s. 48–52, ISSN 1210-7891.
- Šimůnek, A. a kol.:** Dentální implantologie. Nucleus, Hradec Králové, 2001, 192, ISBN 80-86225-15-1.
- Fassmann, A., Dvořáková, N.:** Nové metody terapie kostních defektů orofaciálního skeletu. *Čes. Stomat.*, 99, 1999, s. 88–93.
- Fassmann, A. a kol.:** Řízená tkáňová a kostní regenerace ve stomatologii. Grada Publishing, a.s., 2002, ISBN 80-247-0316-5.
- Dostálová, Z., Himmlová, L., Jelínek, M., Bártová, J.:** Spojení titanových implantátů a biokeramiky na bázi hydroxyapatitu – hodnocení in vitro. *Čes. Stomat.*, 95, 1995, s. 89–96.
- Vaněk, J., Prachár, P., Bartáková, S., Fassmann, A.:** Vyhodnocení oseointegrace zavedených enosseálních jednofázových čepelkových implantátů do dvou let po implantaci. *Čes. Stomat.*, 102, 2002, 1, s. 11–17, ISSN 1210-7891.
- Prachár, P., Vaněk, J., Bartáková, S., Březina, V.:** Růst buněk stabilizované linie HeLa ve vyluhu chromkobaltové slitiny povrchově upravené nitridem titanu a nitridem zirkonia. *Prakt. zub. Lék.*, roč. 53, 2005, č. 1, s. 12–14.
- Mengel, R., Meer, C., Flores-de-Jacoby, L.:** The treatment of uncoated and titanium nitride-coated abutments with different instruments. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants*, 19, 2004, 2, s. 232–238.
- Vaněk, J., Březina, V., Freyburg, L.:** Testování biokompatibilita nových stomatologických materiálů. *Auto-referát, Scripta Medica*, 65, 1992, 2, s. 124.
- Kopecká, D., Šimůnek, A.:** Současné názory na povlakování dentálních implantátů hydroxyapatitem. *Čes. Stomat.*, 100, 2000, s. 29–35.
- Wie, H., Hero, H., Solheim, T.:** Hot isostatic pressing-processed hydroxyapatite-coated titanium implants: light microscopic and scanning electron microscopy investigations. *Int. J. Oral. Maxillofac. Implants*, 13, 1998, 6, s. 837–844.

12. **Groessner-Schreiber, B., Neubert, A., Muller, W. D., Hopp, M., Griepentrog, M., Lange, K. P.:** Fibroblast growth on surface-modified dental implants: an in vitro study. *J. Biomed. Mater. Res.*, 15, 2003, 64A(4), s. 591–599.
13. **Nagai, M., Hayakawa, T., Fukatsu, A., Yamamoto, M., Fukumoto, M., Nagahama, F., Mishima, H., Yoshinari, M., Nemoto, K., Kato, T.:** In vitro study of col-

lagen coating of titanium implants for initial cell attachment. *Dent. Mater. J.*, 21, 2002, 3, s. 250–260.

Prof. MUDr. Jiří Vaněk, CSc.

*Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny
Pekařská 53
656 91 Brno*

Další práci jubilatovi věnovali:

Fassmann A., Slapnička J., Izakovičová-Hollá L., Augustín P., Celerová J.:
Plazma bohatá na trombocyty v tkáňovém inženýrství

RECENZE KNIHY

Kastenbauer, E. R., Tardy, M. E.: Ästhetische und plastische Chirurgie an Nase, Gesicht, Ohrmuschel
Georg Thieme Verlag, Stuttgart – New York, 2005, 470 s., ilustrace v textu, barevná obrazová příloha.

Známé německé vydavatelství uvádí na knižní trh již třetí vydání monografie, která je společným dílem německých a amerických autorů. Kniha je rozdělena do dvaceti tematicky zaměřených kapitol. První část knihy je věnována chirurgii nosu – od korekčních operací nosního septa přes korekční chirurgické výkony k odstranění stenóz až po rhinoplastiky. Podrobně jsou probrány také možnosti korekčních operací rozštěpových vad, chirurgické postupy při rekonstrukci zevního nosu a estetická chirurgie očních víček. Pozornost je věnována také komplikacím blefaroplastik a jejich léčení.

Pasáže věnované rhytidoplastice (faceliftu) informují o všem podstatném od výběru pacienta přes psychologické aspekty operace až po detaily operační techniky. Následují informace o využití laseru v estetické chirurgii, možnostech korekce kožních jizev a tranplantace tukové tkáně. Zvláštní kapitola je věnována estetice obličejového profilu.

Podrobné informace o možnostech rekonstrukce defektů měkkých tkání obličeje ocení každý, kdo se zabývá maxilofaciální onkochirurgií. Maxilofaciálního chirurga budou zajímat především možnosti rekonstrukce defektů tváře a rtů.

Po krátké kapitole věnované plastické a rekonstrukční chirurgii ušních boltců následují pasáže věnované chirurgickým možnostem estetické rehabilitace poruch motorické inervace. Probrány jsou možnosti rekonstrukce motorických nervů i korekční chirurgické výkony na měkkých tkáních. Knihu uzavírá stručná informace o možnostech fotodynamické laserové terapie maligních tumorů kůže.

Každý čtenář jistě ocení krásnou grafickou úpravu knihy, desítky názorných ilustrací i jasný a srozumitelný text. I když je monografie určena především plastickým chirurgům, bude jistě zdrojem inspirace a poučení i pro maxilofaciální chirurgy a otolaryngology. Recenzent v knize jen obtížně hledá chyby nebo slabé stránky až na jednu maličkost: fotografické přílohy umístěné na 39 stranách v závěru knihy mají mnohdy posunuté barevné spektrum a jejich barvy tak působí nepřírodně. Odstranit tento drobný nedostatek by v éře dokonalých počítačových programů nemělo být problémem.

Prof. MUDr. Jindřich Pazdera, CSc.

*Klinika ústní, čelistní a obličejové
chirurgie LF UP, Olomouc*

COMPUTER SIMULATION OF BONY TISSUE RESPONSE TO A PARTIAL REMOVABLE DENTURE FITTED TO A LOWER JAW

BARTÁKOVÁ S.¹, SUCHÁNEK J.², MIČULKA J.², VANĚK J.¹

¹Department of Stomatology, St. Anne's Teaching Hospital, Faculty of Medicine, Masaryk University, Brno

²Institute of Solid Mechanics, Faculty of Mechanical Engineering, University of Technology, Brno

Abstract

Mathematical simulations in dentistry can be used for evaluation of conditions that arise in bone due to restoration of dental defects by prosthetic treatment. This study was concerned with stress distribution around an abutment tooth in the mandible fitted with a partial removable denture. On the basis of computed tomography data from a real edentulous jaw, a three-dimensional model of the mandible was constructed and completed with models of an abutment tooth (first premolar) and periodontium. The load imposed on the tooth by mastication forces of the musculus temporalis and musculus masseter and the load imposed by a partial removable denture attached to the abutment tooth in either suprabulge or infrabulge areas of its crown were calculated and expressed, as stress intensity (σ_{red}), in MPa. The simulation showed that, around the abutment tooth, the maximal σ_{red} value was on the vestibular side of the jaw, at the site where bone resorption occurred. These values differed markedly when the abutment was subjected only to a physiological load or when the load was imposed by a partial denture (3.9 MPa vs 13.7 to 18.8 MPa). The simulation also revealed that the mode of denture attachment, by either an occlusally or gingivally approaching clasp, affected stress distribution in the bony tissue involved and increased the σ_{red} value by 8 to 16 %. In conclusion, mathematical simulation offers a method for assessment of the response of a jaw to loads imposed by prostheses before therapy is commenced; this is of great value particularly in extensive or rare dental defects.

Key words

Mathematical model, Mandible, Abutment tooth, Dental defect, Dental restoration, Stress distribution, Bone resorption

INTRODUCTION

The present era is characterised by the spread of computer technologies into nearly every sphere of human activity, with dental medicine not excluded. Computer simulation can be used with advantage for the assessment of mechanical load imposed on teeth or jaws, in which different tooth shapes, different tooth number and various mastication forces can be considered (1). In prosthetics, mathematical modelling enables us to predict stress distribution in the bony tissues supporting a dental restoration or its parts under different conditions

that may exist in the mouth of a patient. It is possible, for instance, to estimate the sites subjected to the highest potential load of a denture before this is made and fitted. On the basis of mathematical models it can be calculated what load will be imposed on the sites of clasp attachment or sites of contact between a restoration and the adjacent teeth and tissues, and thus optimise the reconstructive procedure.

A shortened dental arch, either uni- or bilaterally, is a frequently occurring dental defect (2). Restoration of this defect with a partial denture may often result in induced resorption of bony tissue, which may be both fast and substantial (3). Resorption is usually observed at those sites of contact between a restoration and the jaw where there is a maximum load due to the effect of mastication forces on the denture body, i.e., around abutment teeth. The aim of this study was to simulate stress distribution in the mandible that was fitted with a partial removable denture by means of a clasp placed in either the suprabulge or the infrabulge crown area of a tooth, and to use the results of simulation to show the extent of and progress in bone resorption and to compare the calculations with real situations in dental practice.

MATERIALS AND METHODS

For mathematical simulation, the finite element method (FME) was used (1, 4). The mathematical model for distribution of stress in the lower jaw was constructed for a partial removable denture with a clasp attached at the first premolar at either the suprabulge or the infrabulge region because, in prosthetics, this restoration is used most frequently to treat of defects of a shortened dental arch.

Our model was based on digitalised data, obtained by computer tomography examination of an edentulous lower jaw (5, 6.), and processed by an ANSYS finite element system (7). The model was completed with the geometrical model of a tooth, which had a single root and was placed in the first premolar's position, and with the model of a periodontium (*Fig. 1*) in a simplified form to make calculations easier. The tooth was represented by an image composed of two truncated cones adjoining at their bases and the periodontium was represented by a hollow truncated cone with a constant wall thickness. To simulate the effect of a denture, the forces acting on the abutment tooth and corpus mandibulae were calculated. The jaw bone was taken as being homogeneous and isotropic in structure and the values of modulus of elasticity $E = 5\ 509\ \text{MPa}$ and Poisson number $m = 0.34$ were used. The isotropic and linear properties of cortical and spongy bone were considered. The tooth was characterised as a homogeneous and isotropic continuum with $E = 10\ 000\ \text{MPa}$ and $m = 0.3$. The values for the periodontal ligament were $E = 100\ \text{MPa}$ and $m = 0.45$ (8).

The magnitudes and directions of forces acting on the tooth and the relevant tooth displacement were defined (9). For mathematical modelling, a rectangular coordinate system (x, y, z) was adopted, the origin of which was identical with the centre of gravity of the tooth surface. The tooth was loaded with a resultant force that, in relation to the coordinate system, had a general direction. The force acting along the vertical axis of the tooth and representing mastication forces of the m. temporalis and m. masseter was designated F_4 .

The model was based on parameters of symmetry because the jaw bone can be considered symmetrical in the median plane. The effect of only two muscles, i.e., m. temporalis and m. masseter, on the denture was simulated. The effect of the m. pterygoideus medialis was included in the force of m. temporalis because the attachment site of their ligaments and direction of their forces are very similar. In the ANSYS programme, bone responses in the region between tooth 4 and 8

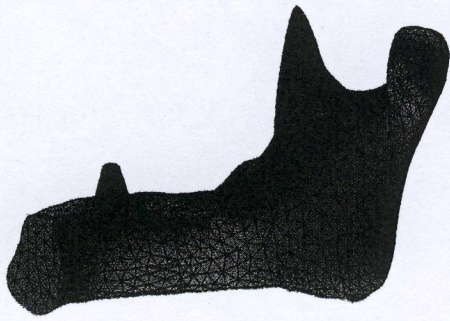


Fig. 1
Three-dimensional geometric model of a lower jaw with the first premolar (blue cone).

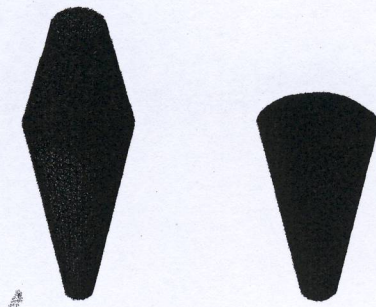


Fig. 2
Three-dimensional models of the first premolar (left) and periodontium (right).

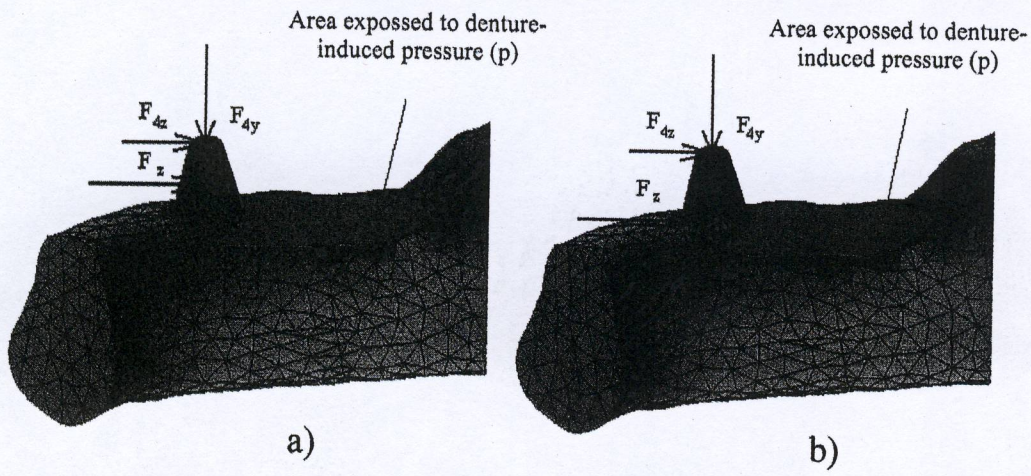


Fig. 3
Three-dimensional model showing areas of loads imposed on a tooth to which a partial denture is attached by a three-arm clasp; blue cone, abutment tooth; red area, surface under the body of a denture; F_{4z} , F_{4y} and F_z , loads imposed on the tooth; (a) infrabulge bulge clasp attachment; (b) subrabulge clasp attachment.

were defined in the manner that eliminated tooth displacement along axes y and z on the bone surface. For each tooth, a separate calculation was made. The following situations were considered:

Simulation 1 (not illustrated). The first premolar was subjected to a physiological load and stress distribution in the surrounding tissues was calculated. The force (F) imposed on the tooth had only two components, F_{4y} and F_{4z} , corresponding to m. masseter and m. temporalis mastication forces.

Simulation 2. A removable partial denture was attached to the first premolar and the body of the denture was supported along the whole length of the corpus mandibulae (tooth positions 5 to 8). The forces acting on each of the artificial teeth were calculated and related to the abutment tooth and the region of the corpus mandibulae between teeth 5 and 8). An occlusally approaching clasp with F_z acting on the middle of the crown in a transversal plane was considered (Fig. 3a).

Simulation 3. The calculation was as in simulation 2 but, this time, a gingivally approaching clasp associated with force F_{4z} acting on the tooth neck area close to the gingival was considered (Fig. 3b).

The loads on the abutment tooth and the corpus mandibulae were calculated according to the following formulae:

Load on the abutment tooth in the vertical direction, $F_{4y} = 40.2$ N.

Load on the abutment tooth along axis z, $F_{4z} = 14.4$ N.

Total load on the abutment tooth imposed by a clasp along axis z,

$$F_z = F_{5z} + F_{6z} + F_{7z} + F_{8z} = 14.4 + 14.4 + 14.4 + 14.4 = 57.6$$
 N.

Loading pressure on the corpus mandibulae

$$p = \frac{F_{5y} + F_{6y} + F_{7y} + F_{8y}}{S} = \frac{43.2 + 48.2 + 55.9 + 70.7}{230} = 0.95 \text{ MPa}$$

where F_{4z} , F_{5z} , F_{6z} , F_{7z} and F_{8z} are load components acting on teeth 4, 5, 6, 7, 8 along axis z, F_{4y} , F_{5y} , F_{6y} , F_{7y} and F_{8y} are loads on teeth 4, 5, 6, 7, 8 along axis y, and S is a surface subjected to the load.

For the interpretation of numerical results of simulation, stress intensity in the bone was characterised by σ_{red} according to the HMM conditions of plasticity (Misses) (10).

RESULTS

In a partial removable denture attached by means of a clasp, the simulations showed different values of stress distribution according to the mode of approach. In simulation II (occlusally approaching clasp), the value for σ_{red} increased to 15.0 MPa and, in simulation III (gingivally approaching clasp), σ_{red} had a value of 13.7 MPa. The difference in stress distribution between these two methods of attachment was 1.3 MPa. In simulations II and III shown in Figs 7 to 7, stress distribution and its intensity are illustrated by means of spectral colours on a scale from red (maximum) to blue (minimum). Overall, the approach of a clasp led to an increase in σ_{red} value by 8 to 16% according to the mode of clasp approach. Gingival clasp approach resulted in a lower value of σ_{red} stress, i.e., in the slower progress of bone resorption in the vicinity of the abutment tooth.

DISCUSSION

In this study, the maximum values for σ_{red} characterising stress distribution in tissues in the first premolar's vicinity were in agreement with the data reported in

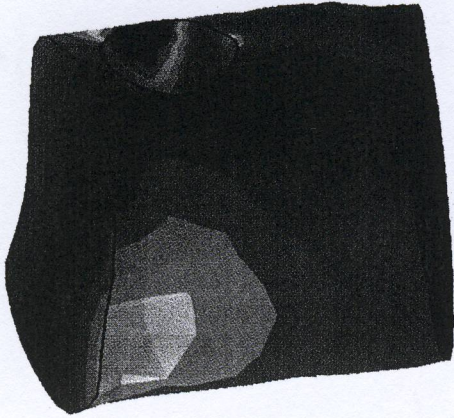


Fig. 4
Simulation II. Stress distribution and its intensity shown by spectral colours from red (maximum) to blue (minimum); vestibular view.

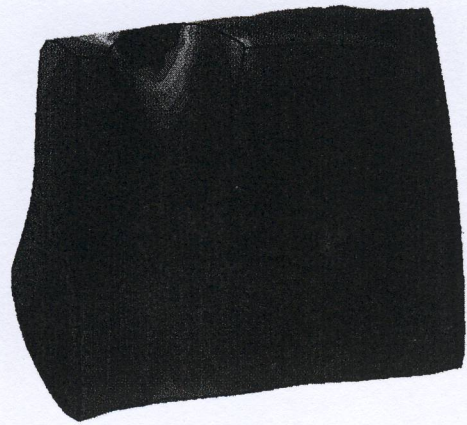


Fig. 5
Simulation II. Stress distribution and its intensity shown by spectral colours from red (maximum) to blue (minimum); cross-sectional view.

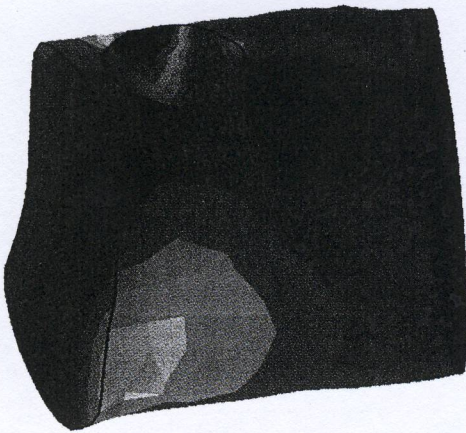


Fig. 6
Simulation III. Stress distribution and its intensity shown by spectral colours from red (maximum) to blue (minimum); vestibular view.

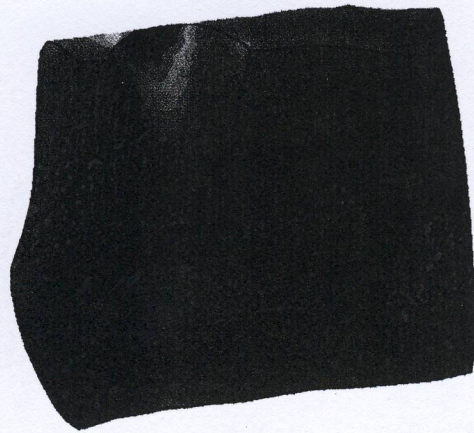


Fig. 7
Simulation III. Stress distribution and its intensity shown by spectral colours from red (maximum) to blue (minimum); cross-sectional view.

the relevant literature. *Papavasiliou et al.* (11) found the maximum value of σ_{red} to be 15.0 MPa in the cortical bone region in the close vicinity of a dental implant supported by an edentulous jaw. Our previous studies concerning the mathematical simulation of stress distribution in jaw bone also showed σ_{red} values in the range of 10.1 to 15.5 MPa, which was related to the position of an abutment tooth, mode of denture attachment or shape of a dental implant (4, 7, 12).

The finding of the maximum σ_{red} value in bone on the vestibular side of an abutment tooth corresponds to what is known from prosthetic practice. This region, i.e., the vestibular and near distal sides of the first premolar, undergoes the greatest bone resorption. In addition to this maximum, another bone region found to be subjected to resorption was that distal to the abutment tooth ($\sigma_{\text{red}} = 9.6$ MPa). In clinical practice, this region is characterised by resorption of the bone under the body of a denture. This implies that the results of mathematical simulation provide valuable assistance in explaining the fact that resorption is located to this particular region.

Our simulated models have important implications for prosthetic dentistry. The restoration of extensive dental defects by a partial denture in a jaw with a shortened dental arch results in bone resorption due to the effect of stress distributed in the vicinity of an abutment tooth. The progress of bone resorption can be slowed down by an alternative approach that is based on placement of a central implant in the distal jaw and fitting a permanent denture by means of matrix and patrix attachments, which reduces the load imposed on the last abutment tooth (13). This type of restoration, as compared with a partial removable denture, will result in less trauma to bony tissue and minimal progress in bone resorption. Our previous clinical experience (2), given support by the results of histomorphological studies (13), has confirmed that when defect restoration is based on the use of a bridge, bone resorption is non-existent or is only very low.

Our further research using mathematical simulations will be focused on more complex situations related to partial denture attachment in a shortened dental arch and on identification of other jaw regions that are at risk of developing resorption. The application of the results of mathematical simulation to the early stages of prosthetic management in extensive or rare dental defects showed that the possibility of risk evaluation for different approaches to treatment before this is started permitted the use of methods that had minimal adverse effects on the health of jaw bone involved.

Acknowledgement

The authors wish to thank Professor P. Krupa, Head of the Department of Radiodiagnostic Imaging, Faculty of Medicine in Brno, for providing the original computed-tomography.

POČÍTAČOVÁ SIMULACE ODEZVY KOSTNÍ TKÁNĚ DOLNÍ ČELISTI
NA PARCIÁLNÍ NÁHRADU

S o u h r n

Matematická simulace může být ve stomatologii použita pro ověření podmínek vznikajících v kostní tkáni při protetických úpravách. Článek je zaměřen na matematickou simulaci napětí v dolní čelisti zvláště v okolí pilířového zubu částečné snímatelné náhrady. Na základě údajů zjištěných počítačovou tomografií na reálných čelistech byl vytvořen trojrozměrný model dolní čelisti, který byl doplněn o model pilířového zubu (první premolár) a model parodontu. Bylo simulováno působení žvýkacích sil musculus temporalis a musculus masseter na geometrický model prvního premoláru a částečnou snímatelnou náhradu kotvenou na tento zub pomocí trojramenné spony s vysokým a nízkým odstupem. Matematická simulace ukázala, že maximální hodnota redukovaného napětí σ_{red} byla v oblasti pilířového zubu na vnější straně čelisti, kde docházelo resorpci kosti. Hodnoty redukovaného napětí σ_{red} se však výrazně lišily: 3,9 MPa u jednotlivého zubu, 13,7–18,8 MPa u snímatelné náhrady. Rovněž bylo zjištěno, že způsob použití kotevních prvků může zvýšit nebo snížit hodnotu σ_{red} přibližně o 8–16%. Matematická simulace ukázala, že je účinným prostředkem při stanovení kritických oblastí čelisti zatížených tlakem konstrukčních prvků náhrady, ve kterých lze očekávat resorpci kosti.

REFERENCES

1. Kršek P. Possibilities of creation of FEM models from CT/MR data. Abstracts of the 2000 Conference on Engineering Mechanics, Academy of Sciences of the Czech Republic, Prague, 2000.
2. Bartáková S, Suchánek J. Tradiční a alternativní postupy při řešení zkráceného zubního oblouku [Conventional and alternative procedures for the management of a shortened dental arch]. Implantologické dny, 2000, Abstracts, Brno 2000.
3. Fassmann A. Alveolární kost dolní čelisti u osob různých věkových skupin v histologickém, histochemickém a elektronmikroskopickém obraze [Histological, histochemical and electron microscopic findings in the alveolar bone of human mandibles in relation to different age categories]. Dissertation thesis, 1985, J E Purkyně University, Brno, 84 p.
4. Suchánek J, Janiček P, Jirásek J. Posouzení vlivu geometrie dentálního implantátu na napjatost a deformaci kostní tkáně. [Assessment of the effect of dental implant geometry on stress distribution in and deformation of bony tissue]. Sborník příspěvků konference: Biomechanika člověka 1998; 98: 217–221.
5. Krupa P, Novák Z. Endovaskulární endokraniální intervence [Endovascular endocranial intervention]. Česká radiologie 2000; 54: 120–125.
6. Kršek P, Krupa P. 3D rekonstrukce lidských tkání z CT/MR dat pro lékařské a biomechanické aplikace [3D reconstruction of human tissues from CT/MR data for medical and biomechanical applications]. Jemná mechanika a optika 2001; 10: 315–318.
7. Zima J. Analýza napjatosti a deformace dolní čelisti člověka [Analysis of stress distribution in and deformation of the human mandibular bone]. Diploma thesis, 2000, VUT Brno, 81 p.
8. Valenta J a kol. [Biomechanika] 1985, Academia, Praha.
9. Bittner, Vacek M. Gnatologie [Gnathology], Zdravotnické nakladatelství, Prague 1986.
10. Timoshenko SP, Goodier JN. Theory of Elasticity, 3rd edition, McGraw Hill, London, 1970.
11. Papavasiliou G, Kamposiora, P, Bayne, SC, Felton, DA. Three-dimensional finite element analysis of stress-distribution around single tooth implants as a function of bony support, prosthetic type, and loading during function. J Prosthet Dent 1996; 76: 633–640.
12. Mičulka J. Vliv způsobu ukotvení zubní náhrady na deformačně napjatostní odezvu v kostní tkáni [Effect of dental prosthesis attachment on stress distribution in bony tissues]. Diploma thesis, 2001, VUT Brno, 61 p.
13. Imai Y, Sato T, Mori S, Okamoto M. A histomorphometric analysis of bone dynamics in denture supporting tissue under continuous pressure. J Oral Rehab, 2002; 29: 72–79.
14. Vaněk J, Prachár P, Fassmann A, Bartáková S. VNI implantační systém – sedmileté zkušenosti [VNI system of dental implants – seven years of experience]. Čes Stomat 2000; 100:183–187.

Ektodermální dysplazie – souvislosti a implantace

Prachár P., Bartáková S., Černochová P., Kuklová J., Vaněk J.

Stomatologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno

Věnováno prim. MUDr. Lubomíru Freyburgovi, CSc., k jeho životnímu jubileu.

SOUHRN

Ektodermální dysplazie je onemocnění se silnou dědičnou zátěží. Toto onemocnění má širokou škálu podtypů s více či méně vyjádřenými příznaky. Velmi důležitá je diagnostika a s tím spojené chybění zubů. Nedostatky dentice jsou patrné již v dočasném chrupu. Ve stálé dentici jsou hypodoncie výrazně vyjádřeny až k anodonciím.

Důležitou součástí je také nedostatečná kostní hmota. Zde se uplatňuje interdisciplinární spolupráce stomatologických odborností.

V konečné fázi lze v terapii také využít dentální implantologii, a to od pedostomatologie, přes ortodontii až po finální protetickou sanaci.

Snahou autorů je přiblížit léčbu ektodermální dysplazie spolu s individuálním přístupem k pacientům a využívání implantací rovněž ve věkové kategorii mladiství a děti.

Klíčová slova: ektodermální dysplazie - dědičná zátěž - podtyp - hypodoncie - anodoncie - implantace - interdisciplinární spolupráce - mladiství - děti

SUMMARY

Prachár P., Bartáková S., Černochová P., Kuklová J., Vaněk J.: Ectodermal Dysplasia – Connections and Implantation

Ectodermal dysplasia is a disease of strong familial disposition. There is a broad scale of subtypes with more or less expressed signs. The diagnostics is of high significance as well as the associated missing teeth. The shortage in dentition becomes apparent already in the primary teeth. In the permanent dentition hypodontia is significantly expressed and there are even cases anodontia.

An insufficient bone matter is an important part of the problem. An interdisciplinary collaboration of several stomatology professions takes a part in the solution.

In the final phase of therapy dental implantology can be used, specifically pedostomatology to orthodontia up to final prosthetic sanitation.

The authors provided an outline of the therapy of ectodermal dysplasia together with the individual approach to patients and implication of implants in the age category of youth and adolescents.

Key words: ectodermal dysplasia – hereditary disposition - subtype - hypodontia - anodontia – implantation – interdisciplinary collaboration - adolescents - children

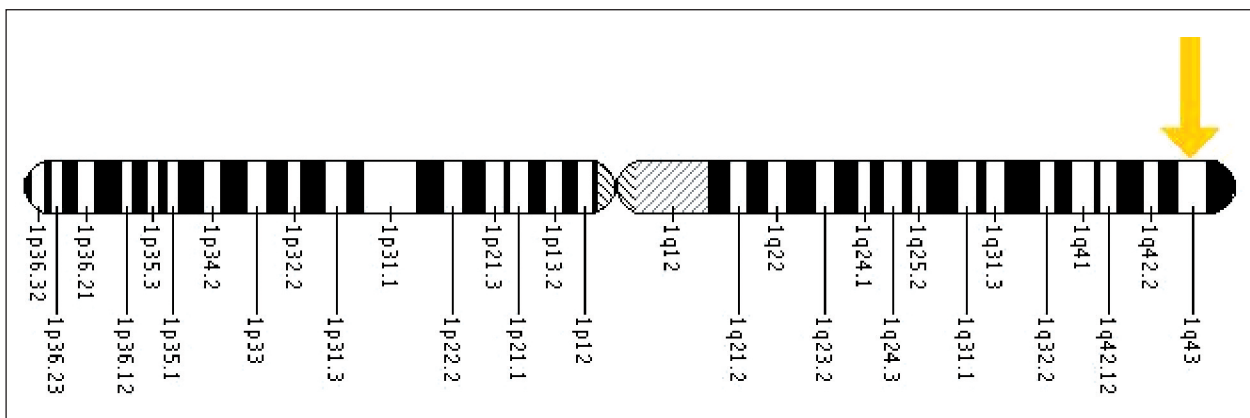
Čes. Stomat., roč. 109, 2009, č. 6, s. 106–111.

ÚVOD

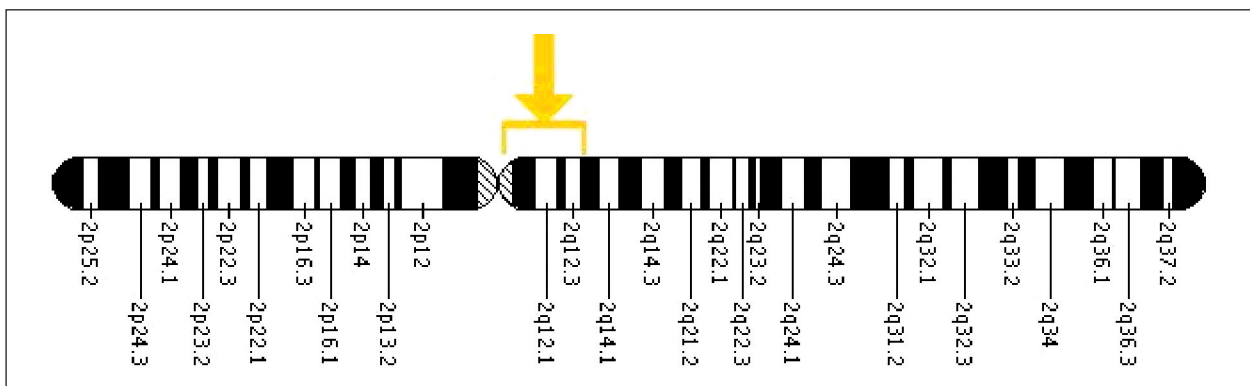
Definicí je : dysplasia ectodermalis hereditaria syndrom Christův – Siemensův – Tourainův
anhidrosis hypotrichotica syndroma Jaquet

Ektodermální dysplazie je onemocnění populace geneticky silně postihující. Existuje ektodermální dysplazie společně s mnoha dalšími příznaky či

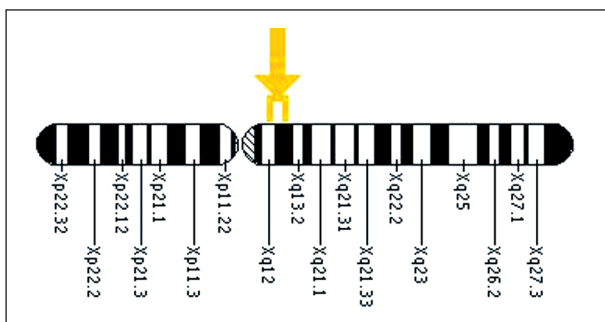
přidruženými onemocněními [1, 6, 7]. Uvádí se přibližně 150 podtypů s různě vyjádřenými příznaky. Statisticky není toto onemocnění výrazněji prozkoumáno, ale předpokládaný poměr postižených lidí je 1 ku 17 000. Odpovědné geny za toto onemocnění jsou EDA (ectodysplasin A) – umístění na chromozomu X v pozici mezi 12 a 13.1, EDAR (ectodysplasin receptor) – umístění na chromozomu 2 v pozici mezi 11 a 13 a EDARADD (asociovaná doména smrti) – umístění na chromozomu 1 v pozici 43 (obr. 1, obr. 2, obr. 3).



Obr. 1. Umístění genu EDA na X chromozomu.



Obr. 2. Umístění genu EDAR na 2. chromozomu.



Obr. 3. Umístění genu EDARADD na 1. chromozomu.

Hypohidrotické ektodermální dysplazie mají několik různých forem dědičnosti. Většina případů je způsobená mutací v genu EDA, který se dědí v X-vázané recesivní formě. U žen musí být přítomny mutace v obou kopiích genu, aby způsobily poruchu. Muži jsou ovlivněni X-vázaným recesivním onemocněním mnohem častěji než ženy. Charakteristická X-vázaná dědičnost znamená, že otcové nemohou přenést X-vázané znaky na své syny. Méně často, jsou hypohidrotické ektodermální dysplazie výsledkem mutací v genu EDAR nebo EDARADD. EDAR mutace mohou mít autosomálně dominantní nebo autosomálně recesivní model dědičnosti. EDARADD mutace mají autosomálně recesivní model dědičnosti. Platí, že asi v 95 % se

jedná o onemocnění vázané na X-chromozom. Zbytek odpovídá EDAR a EDARADD mutacím.

K popisu onemocnění patří: anhidróza, hypotrichóza, anodoncie, hypodoncie, pseudoprogenie; dále sedlovitý nos, vystouplé čelo, tlusté rty, málo vyvinuté řasy a obočí. K dalším příznakům patří anomálie pigmentace: periferní bledost obličej, tmavě zabarvená kůže kolem očí, hypoplazie tukových žláz, častý ekzém; někdy i výtok z nosu – ozéna. Dále hypoplazie potních žláz, vedoucí ke špatné snášenlivosti vyšší okolní teploty. Poškození nebo ztráta sluchu a zraku; časté infekce způsobené imunitním systémem; nepřítomnost nebo malformace některých prstů na rukou nebo nohou. Bývá přítomen i rozštěp rtu nebo patra. Při tomto onemocnění je pozorována citlivost na světlo, dýchací obtíže a nedostatečný vývoj prsů. Fyzický i duševní vývoj je normální a je zde vyjádřený výrazný androtropismus [4, 5, 8, 9, 10].

Onemocnění bývá již vyjádřeno v dočasné dentici chyběním několika zubů. Toto zjištění by mělo vést k důkladnější analýze a diagnostice hypodoncií především ve stálé dentici. Zde je totiž, bohužel, hypodoncie mnohem více numericky vyjádřená. K tomu se jedná v mnoha případech o impaktované pilíře. Velmi často jde o retence a anomální uložení [2, 3, 4, 5]. Podle statistik se uvádí, že až v 63,5 % případů bývá numericky větší hypodon-

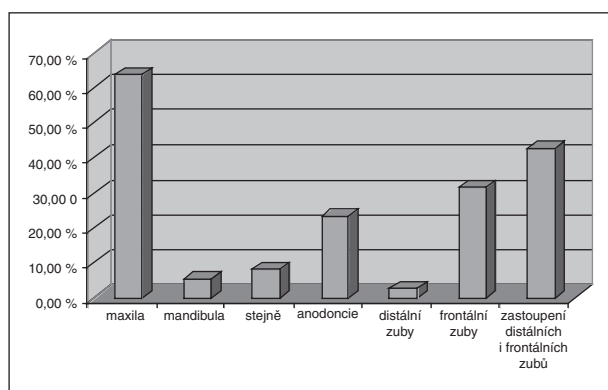
Tab. 1. Rozložení chybějící dentice podle jednotlivých parametrů.

Vyjádření hypodoncií	Dentice větší v HČ	Dentice větší v DČ	Stejný počet zubů	Anodoncie	Pouze distální zuby	Pouze meziální zuby	Mediální distální zuby
	63,5	5,4	8,1	23,1	2,7	31,5	42,5

cie v dolní čelisti, což odpovídá minimu zubů k protetické sanaci. V horní čelisti bývá větší hypodoncie pouze v 5,4 % uváděných případů; stejný počet chybějících zubů v horní i dolní čelisti bývá statisticky v 8,1 %. Co je však podstatné - bezzubé čelisti, typické anodoncie, bývají v 23,1 % (tab. 1, graf 1) [4].

Ohledně dědičnosti hypodoncie je nutné konstatovat, že představuje genetickou zátěž a že v rodokmenu nacházíme stále se vyskytující onemocnění bez jeho ztráty v genealogickém kmeni.

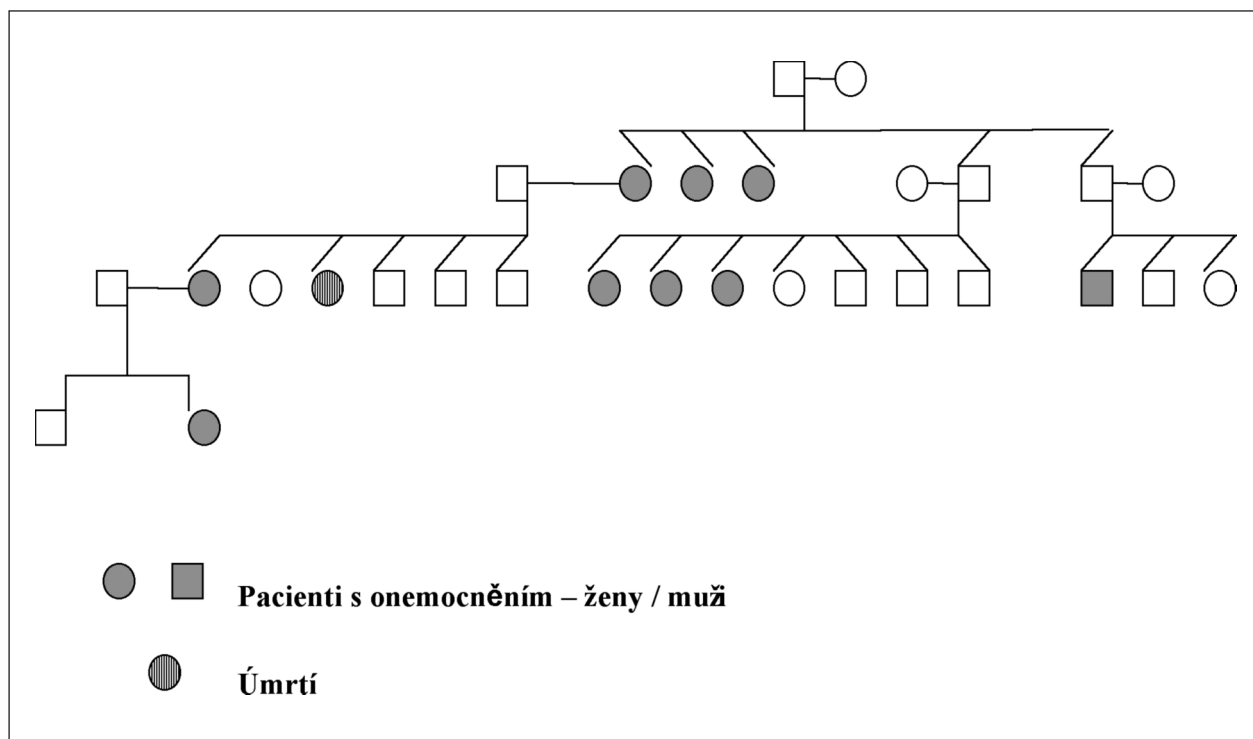
To znamená, že toto onemocnění se stále v dané rodině vyskytuje. Příkladem je genealogický kmen 3 generací ukázkové rodiny (obr. 4) [4]. U heterozygotních žen chybí na různých úsecích kůže potní žlázy (lyonizace). V důsledku lyonizace fenotypová variabilita ženských MZ dvojčat s genotypem XAXa; u mužů je postižení větší – porucha dentice, hypertermie, těžší průběh infekcí - mužská MZ dvojčata: XaY (obě postižená) nebo XAY (obě zdravá) (tab. 1, graf 1, obr. 5).



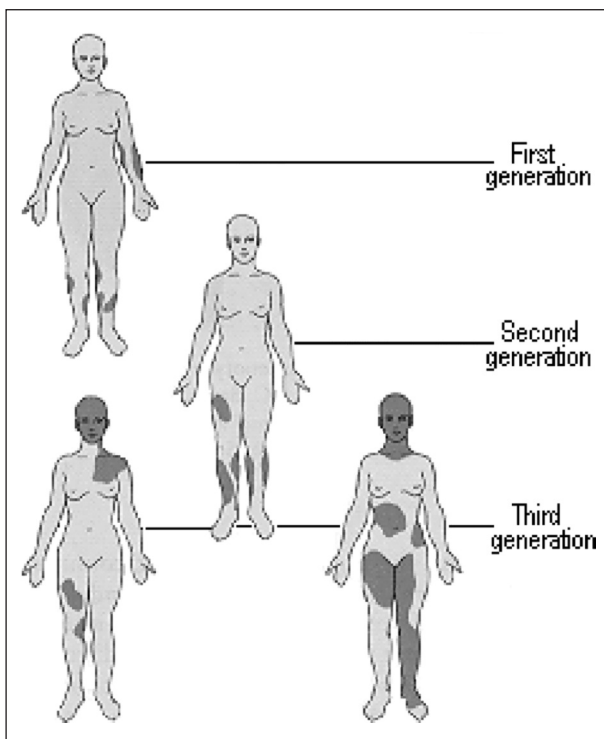
Graf 1. Procentuální zastoupení postižení dentice – odpovídá tabulce 1.

DIAGNOSTIKA Z POHLEDU STOMATOLOGIE

U onemocnění ektodermální dysplazie je nejdůležitější primární záchyt. Pacient by měl být diagnostikován již v dočasné dentici. Zde by se mělo zohlednit, že jakékoliv hypodoncie, vyjádřené v dočasné dentici, musejí být zkontrolovány společně s již vytvořenými zárodky stálých zubů. Velmi často zde platí, že hypodoncie jsou vyjádřeny ještě markantněji ve stálé dentici. Odpovídá to sumárnímu snímku ortopantomogramu a jeho kvalifikovanému vyhodnocení. Další možností je využití CT diagnostiky především v trojrozměrné dimenzi. Platí, že ve stálé dentici je u ekto-

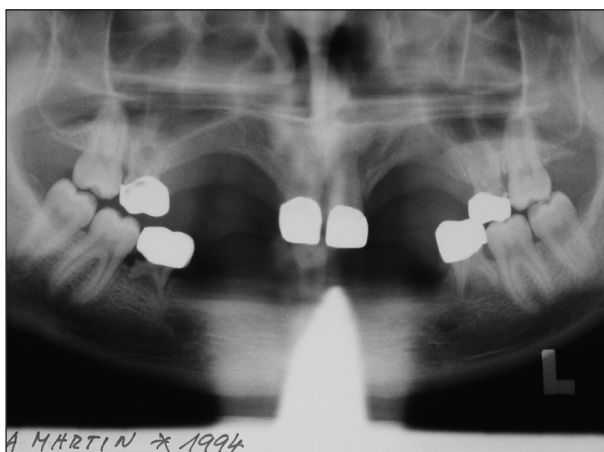


Obr. 4. Příklad genealogie jedné rodiny.



Obr. 5. Fenotypová variabilita v důsledku lyonizace.

dermální dysplazie často přítomná ektopie zubů. A proto se zde vyplatí 3D zobrazení uložení zubů také ve spojitosti a v návaznosti ortodontické terapie (obr. 6).



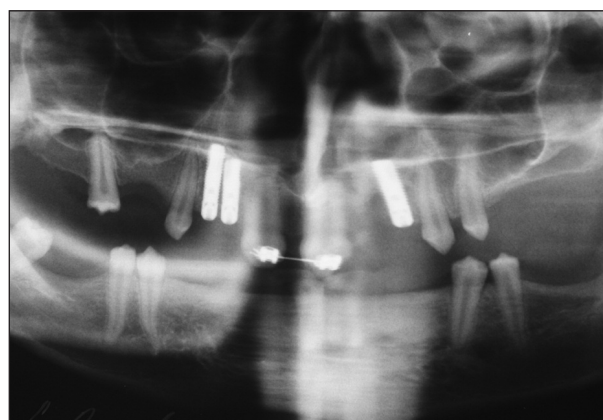
Obr. 6. 14letý pacient připravený k implantaci při využití včasné diagnostiky a perzistence dočasných zubů.

MOŽNOSTI PŘÍSTUPU K ONEMOCNĚNÍ

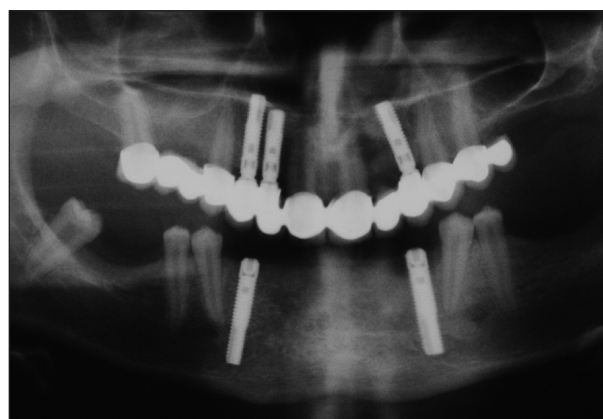
Jedním z přístupů je včasná ortodontická korekce postavení zbytkového chrupu, včetně posunu – mezializaci a distalizaci zubů. Tímto korektivním posunem se nejen zuby dostanou do předem požadovaného protetického postavení, ale především se umožní vytvoření kosti v podobné



Obr. 7. Smíšený chrup a včasná ortodontická terapie.



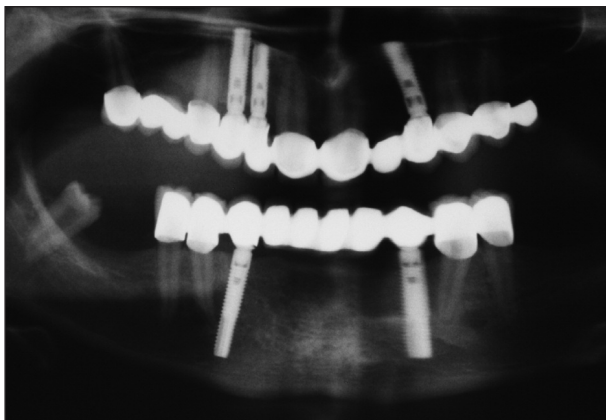
Obr. 8. Stav po ortodontické korekci a implantaci v horní čelisti.



Obr. 9. Stav z obrázků 7 a 8 po zhotovení fixní práce v horní čelisti a implantaci v dolní čelisti.

šíří zuby posouvaného – tzv. pseudoaugmentace. Do takto připraveného místa se zub implantuje co možná nejdříve pro zamezení ztráty kosti (obr.7 – obr. 10).

Dalším přístupem je korekce impaktovaných zubů do stanovené pozice. Jedná se o postup, kdy často není využitelná veškerá dentice. Některé zuby jsou resorbovány, a tím jsou z pohledu orto-



Obr. 10. Stav z obrázků 7, 8 a 9 po 2 letech od implantace.

doncie i protetiky nevyužitelné. V případě mnohočetných semiretinovaných a retinovaných zubů je nutné mít pilíře, které budou sloužit jako kotvící prvky pro posun zubů. Zde se uplatňují dentální i nedentální implantáty. Z nedentálních implantátů to jsou kotevní implantáty, které mohou



Obr. 11. Stav s impaktovanými zuby.

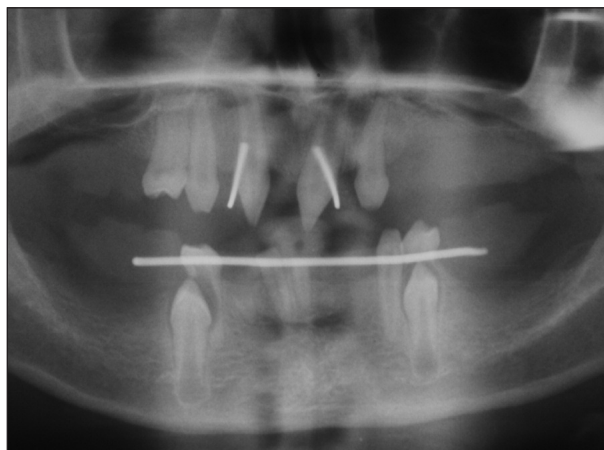


Obr. 12. Stav po ortodontické patefakci a úpravě do ideálního postavení. Retence v dolní čelisti nebude možná pro patefakci. Semiretence v horní čelisti bude využita ke stažení do ústní dutiny.

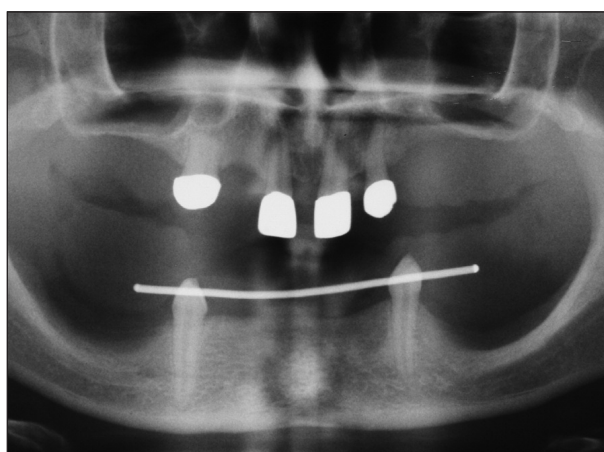
pomoci k posunu zubů v daném směru. Dentální implantáty bývají používány nejen pro kotvení a posun pilířů, ale jsou po ortodontické korekci také využitelné k definitivnímu protetickému ošetření (obr. 11, obr. 12).

Jeden z přístupů k onemocnění využívá včasné diagnostiky a udržení stálých zubů v místech fyziologicky daných. K tomu ještě napomáhá co možná nejdéle udržení perzistujících dočasných zubů. Ty umožňují svým setrváním dostatečnou sílu alveolu. A ta je jednou z podmínek zavedení dentálních implantátů, které v mnoha případech nemají pro inzerci dostatečnou kostní hmotu. Také možnosti augmentace u ektodermální dysplazie jsou minimální. Jednou z otázek je věkové rozmezí vhodnosti implantace. Vzhledem k onemocnění je snaha o co nejdříve zavedení dentálních implantátů. Věková hranice se výrazně snižuje oproti klasickému schématu zavádění implantátů po ukončení růstu. Nebývá výjimkou, že implantáty jsou zaváděny pod hranici 15., resp. 14. roku věku pacientů (obr. 6).

Další z možností je využití stávajících pilířů,



Obr. 13. Stav před definitivním prořezáním špičáků v dolní čelisti.



Obr. 14. Stav po ošetření protetickými snímatelnými náhradami.

velmi často ortodonticky upravených do protetické náhrady. Zde jsou možnosti ošetření závislé na počtu a postavení pilířů. Ošetření může být od fixních prací až po snímatelné náhrady. V takovém případě se jedná o ošetření, kdy, vzhledem k pozdnímu řešení, je výrazně atrofický alveol. Tehdy je možné pouze protetické konzervativní ošetření (obr. 13, obr. 14).

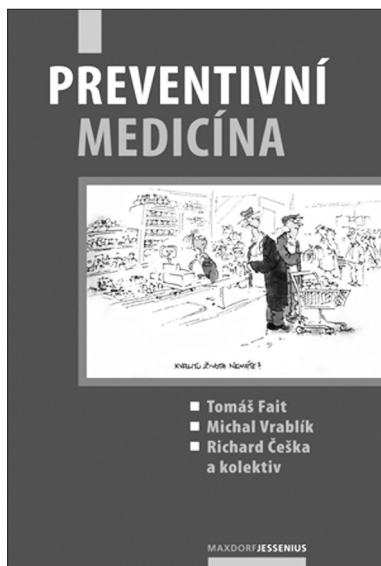
ZÁVĚR

Ektodermální dysplazie je dědičné onemocnění, které s sebou nese významnou rodinnou zátěž. Možnosti ovlivnění sanace defektního chrupu jsou dány počtem zbylých pilířů. Velmi důležitou podmínkou správného ošetření je včasná diagnostika hypodoncií, které jsou s tímto onemocněním spjaty. Věková hranice se proto posouvá k mladistvým z důvodu udržení síly alveolu za pomoci perzistence dočasných zubů. Další důležitou charakteristikou je ovlivnění terapie pomocí ortodontické korekce, která má zde zásadní význam. Umožňuje nejen zařazení zubů do zubní řady, ale i posun meziálními či distálními směrem, včetně pseudoaugmentace.

LITERATURA

1. **Andlaw, R. J., Rock, W. P.:** A manual of paedodontics. Churchill Livingstone, 1993.
2. **Černochová, P., Kaňovská, K., Krupa, P.:** Aplikace výpočetní tomografie (CT) a multiplanární rekonstrukce (MPR) v případech retinovaných zubů. Čes. Stomat., 102, 2002, 3, s. 99-106.
3. **Černochová P.:** Diagnostika retinovaných zubů. GRADA Publishing, a.s., 1. vydání. Praha, 2006, 192 s., ISBN 80-247-1269-5.
4. **Flinn S. B.:** Clinical paedodontics. Philadelphia, London and Toronto, 1973.
5. **Komínek, J., Rozkocová, E., Semján, M.:** Dětská stomatologie. Praha, Avicenum, 1988.
6. **Prachár, P., Vaněk, J.:** Tooth defects treated by dental implants in adolescents. Skripta Medica, 76, 2003, 1 s. 5-8.
7. **Prachár, P.:** Hypodoncie řešená dentálními implantáty Ankylos. StomaTeam, 3, 2003, 4, s. 25.
8. **Prachár, P., Bartáková, S., Černochová, P., Vaněk, J.:** Ektodermální dysplazie a dentální implantologie. Biomedicínské postupy. Zborník referátov, Košice, 2008, s. 221-227, ISBN 978-80-89361-28-1.
9. **Scully, C., Velbury, R.:** Color atlas of oral diseases in children and adolescents. London, Wolfe Publishing, 1994.
10. **Welbury, R. R.:** Paediatric dentistry. Oxford University Press, 1997.

*MUDr. Patrik Prachár, Ph.D.
Stomatologická klinika LF MU
a FN u sv. Anny
Pekařská 53
659 14 Brno*



PREVENTIVNÍ MEDICÍNA

Tomáš Fait, Michal Vrablík, Richard Češka a kolektiv

Publikace pojednává o preventivní medicíně, která je sice moderním oborem, ale prevencí se zabývali již lékaři před mnoha tisíci lety. V knize je zdůrazněna role praktického lékaře, který může být klíčovým zprostředkovatelem masově individualizované prevence a podpory zdraví. Je k tomu předurčen svými vědomostmi, znalostí pacienta a jeho rodiny, znalostí anamnézy a prostředí, ve kterém žije a pracuje, a schopností posoudit hodnoty a preference pacienta. Totéž platí i pro praktického lékaře pediatra. Publikace přináší přehled současných programů primární a sekundární prevence v jednotlivých oborech, např. gynekologii, obezitologii, diabetologii, onkologii, ortopedii, psychiatrii a v mnoha dalších oblastech.

Vydalo nakladatelství Maxdorf v roce 2008, 552 str., cena 695 Kč, formát B5, váz., edice Jessenius, ISBN: 978-80-7345-160-8.

Objednávky můžete posílat na adresu: Nakladatelské a tiskové středisko ČLS JEP, Sokolská 31, 120 26 Praha 2, fax: 224 266 226, e-mail: nts@cls.cz. Na objednávce laskavě uveďte i jméno časopisu, v němž jste se o knize dozvěděli.

Klasifikace defektů chrupu

S. Bartáková, P. Prachár, J. Vaněk

Stomatologická klinika LF MU, Fakultní nemocnice U svaté Anny,
přednosta prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.

Článek je věnován problematice klasifikace defektů chrupu. Je zde uveden vývoj klasifikací a detailněji jsou popsány i klasifikace, u kterých nedošlo k většímu rozšíření v České republice. Mechanická, morfolo-gicko-funkční a fyziologická kritéria navázala na původně výhradně morfolo-gická kritéria. Kennedyho a Voldřichova klasifikace jsou poslední nejvíce užívané klasifikace v České republice. Přesto se dá očekávat vznik dalších klasifikačních systémů, které umožní spojení klasifikace s diagnostikou a pomocné softwa-rové prostředí bude pomáhat lékařům vytvářet i protetické návrhy, z nichž se vybere optimální řešení.

Klíčová slova: zkrácený zubní oblouk, klasifikace, koncept zkráceného zubního oblouku

Cílem současné stomatologické péče o chrup je zajistit základní biologické a sociální funkce chrupu po celý život pacienta. Mezi tyto funkce patří žvýkání, řeč, chuť a ústní pohodlí, estetika a spokojenost pacienta. Od počátku 70. let se při hodnocení funkčnosti chrupu postupně přechází od výhradně morfolo-gických či mechanických hodnotících kritérií ke kritériím fyziologickým. Tento fakt se odráží v sou-časné hodnotící stupnici okluze^[1, 2]:

- 1) absence patologických projevů
- 2) uspokojivá funkce
- 3) stabilita čelisti
- 4) variabilita ve formě a funkci stomatognátních systémů
- 5) schopnost přizpůsobení stomatognátního systému měnícím se podmínkám

Tento fyziologicko-funkční přístup k hodnocení okluze umožňuje velkou šíři dentálních zákroků, které zabezpečí optimální okluzi a tomu odpovídající funkce chrupu. Důležitým důsledkem tohoto přístupu je fakt, že počet zubů, které plní výše uvedené funkce, může být velmi individuální u jednotlivých pacientů a může dokonce poklesnout pod 28^[3]. Problematikou minimálního počtu zubů uspokojivě plnících základní funkce se v posledním desetiletí zabývala řada prací, které studovaly zejména otázku nutnosti udržení posterio-rních zubů pro zachování funkcí chrupu. Výsledky tohoto výzkumu shrnuli v souborné práci Elias et Sheiham^[4]. Uvá-ďejí, že chybějící posteriorní zuby, převážně moláry, nejsou ze subjektivního hlediska nezbytně nutné. Rovněž epidemio-logické práce^[5] potvrdily, že není těsný vztah mezi počtem zubů v čelisti a uspokojivou funkcí chrupu. Jsou-li funkce zachovány, pak i chybění molárů a premolárů lze do značné míry akceptovat. Poklesne-li však počet zubů v čelisti pod 20, pak jsou funkce okluze hodnoceny jako nevyhovující^[3].

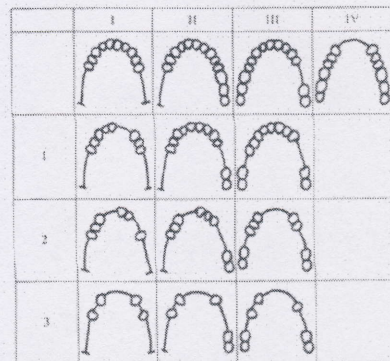
Klasifikace defektů chrupu

Pro určení typu a charakteru defektu zubního oblouku se používá řada klasifikací, které vznikaly postupně a které od-rážejí přechod od čistě morfolo-gických hodnotících kritérií k morfolo-gicko-funkčním kritériím např.:

- 1) Kennedyho 2) Cummerova 3) Eichnerova 4) Wildova
- 5) Svensonova 6) Voldřichova 7) Körberova 8) Witterova

Kennedyho klasifikace

Kennedyho klasifikace obsahuje dvě základní hodnotící krité-ria: symetrii zubního oblouku a přerušení zubního oblouku. Podle prvního kritéria rozeznáváme jednostranně a obou-stranně zkrácený zubní oblouk. Podle druhého kritéria roze-znáváme jednostranně, anteriorně a mnohočetně přerušeny oblouk jednostranně a oboustranně. V klinické praxi může dojít i ke kombinaci obou typů defektů, například zkrácení oblouku na jedné straně a přerušení na druhé nebo zkrácení oblouku na obou stranách a přerušení v anteriorní oblasti.



Obr. 1: Schématické znázornění zkráceného zubního oblouku a jeho klasifikace dle Kennedyho (převzato z Vacek a Bittner^[6])

Formálně je Kennedyho klasifikace členěna do tříd I až IV, které se dále dělí na podtřídy označené a) až c) podle počtu a rozsahu mezer v oblouku.

I. třídu dle Kennedyho lze charakterizovat jako oboustranně zkrácený zubní oblouk, který má jednu, dvě, či více mezer:

- a) malou frontální mezeru – maximálně dva zuby
- b) vícečetné izolované mezery
- c) malé mezery s velkou frontální mezerou

II. třída představuje jednostranně zkrácený zubní oblouk s mezerami:

- a) rozsáhlou kontralaterální mezerou
- b) dvěma kontralaterálními mezerami
- c) několika mezerami s velkou frontální mezerou

III. třída je charakterizována rozsáhlou mezerou v postranním úseku chrupu:

- a) zubní oblouk je přerušen na dvou místech
- b) dvě mezery v distálním úseku chrupu a frontální mezerou
- c) vícečetné rozsáhlé mezery

IV. třída jsou typické rozsáhlé defekty v zubním oblouku ve frontálním úseku včetně ztráty jednoho nebo obou špičáků (přehledně viz např. Hohmann a Hielschler⁷⁾).

Voldřichova klasifikace

Voldřichova klasifikace vychází v Wildovy klasifikace chrupu, která popisuje jednotlivé třídy takto:

- I. třída – zkrácený zubní oblouk
- II. třída – přerušená zubní řada
- III. třída – kombinace zkráceného zubního oblouku a mezer (přerušení)

Voldřich tuto klasifikaci zdokonalil. Podle množství defektů rozděluje Voldřichova klasifikace chrup do tří tříd:

- I. třída (chrup s mezerami)
- II. třída (zkrácený zubní oblouk)
- III. třída (velké defekty)
- IV. celková náhrada chrupu

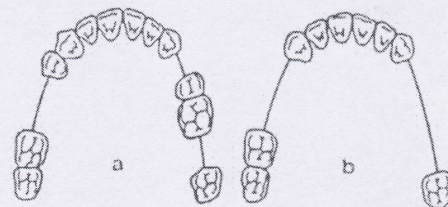
I. třída se dále člení na:

- a) defekt se ztrátou jednoho maximálně dvou zubů, kdy vznikají pouze malé mezery,
- b) defekt se ztrátou 3–4 zubů definovaný jako velká mezer, přičemž mezer by měla být ohraničena pilíři I. třídy nebo jejich ekvivalenty.

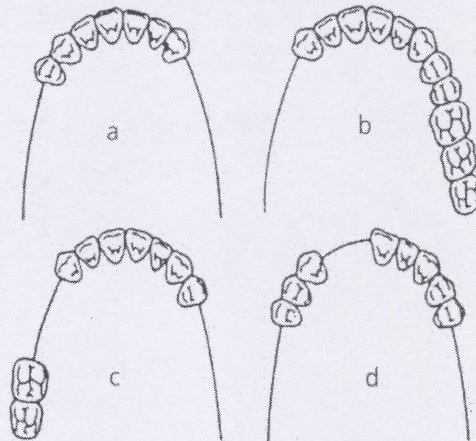
Ve II. třídě existují čtyři základní typy zkráceného zubního oblouku:

- a) oboustranné zkrácení bez mezer
- b) jednostranné zkrácení bez mezer
- c) oboustranné zkrácení s mezerami
- d) jednostranné zkrácení s mezerami

Kromě těchto základních typů Voldřichova klasifikace rozpoznává ještě mezní typy charakteristické minimálním a maximálním počtem zubů v okluzi zkráceného zubního oblouku – vždy musí být zachovány špičáky (obr. 2).



Obr. 2: Schématické znázornění I. třídy dle Voldřicha. a) defekt se ztrátou jednoho maximálně dvou zubů, b) defekt se ztrátou 3-4 zubů definovaný jako velká mezer.

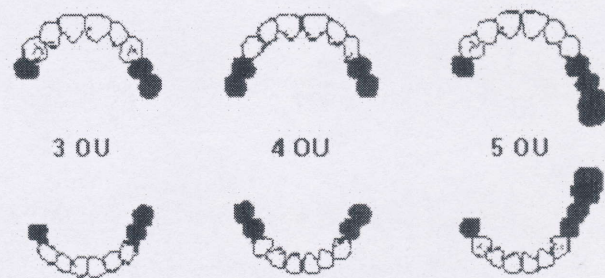


Obr. 3: Schématické znázornění II. třídy dle Voldřicha. Typy zkráceného zubního oblouku: a) oboustranně zkrácený zubní oblouk, b) jednostranně zkrácený zubní oblouk, c) jednostranně zkrácený s mezerami, d) oboustranně zkrácený zubní oblouk s mezerami ve frontálním úseku – upraveno dle Voldřich a kol.⁸⁾

Nepravidelné či mnohočetné umístění mezer v chrupu vymezuje ve Voldřichově klasifikaci zařazení do I. až III. třídy defektů chrupu. III. třída dle Voldřicha jsou ojedinělé zuby či jejich skupiny a defekty chrupu nepatřící do skupiny I. třídy a II. třídy.

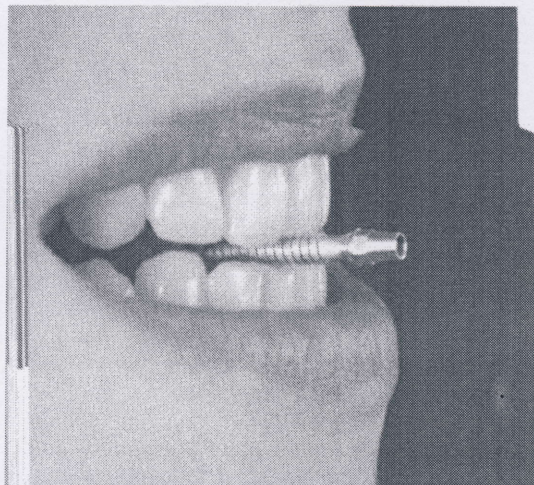
Witterova klasifikace

Pro kvantifikaci zkrácení oblouku používá Witterova klasifikace počty párů zubů v okluzi, a to v její posteriovní části. Tento přístup předpokládá, že jeden molár (molárová jednotka) je roven dvěma premolárům (obr. 4).

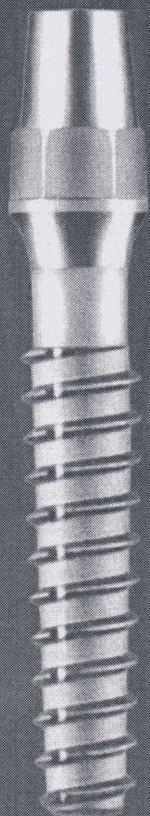


Obr. 4: Schématické znázornění Witterovy klasifikace zkráceného zubního oblouku podle okluzní jednotky – molárové nebo premolárové. Různá délka oblouku je vyjádřena počtem okluzních jednotek, předpokládá se plné ozubení v anteriorní části. Upraveno dle [2].

Dentální implantáty



Nanoimplant® První na světě

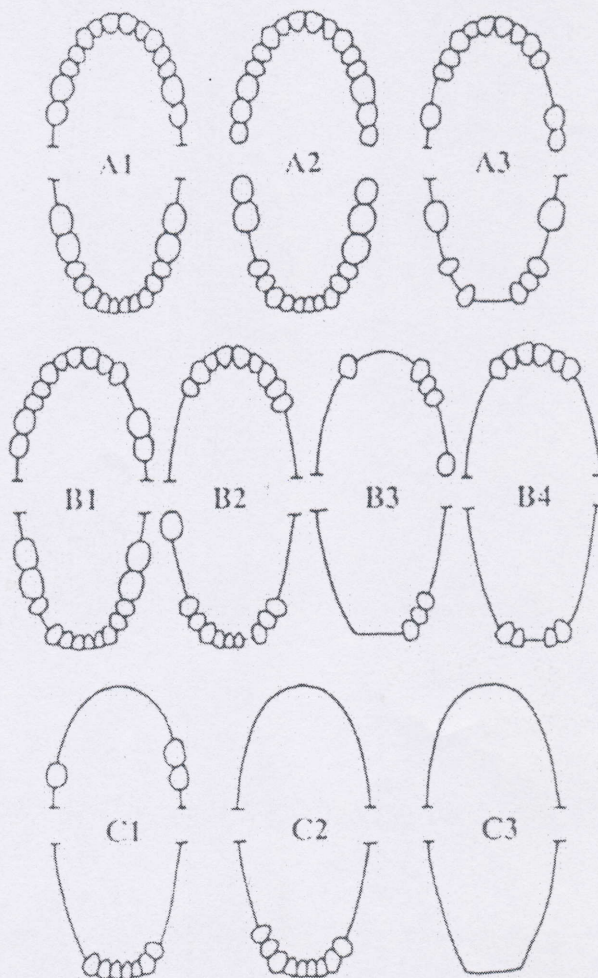


odborná sdělení

Eichnerova klasifikace

Eichnerova klasifikace vychází z opěrných zón, které jsou tvořeny premoláry a moláry. Rozoznáváme čtyři opěrné zóny chrupu. Jedna opěrná zóna je tvořena dvěma premoláry s jedním protilehlým molárem nebo molár s protilehlým molárem.

- I. třída – A1 – všechny 4 opěrné zóny jsou zachovány, A2 – všechny 4 opěrné zóny jsou zachovány a v distálním úseku chrupu je malá mezera, A3 – vícečetné malé mezery chrupu se zachováním všech čtyř opěrných zón
- II. třída – B1 – malé mezery, chybění premolárů v horní čelisti a v dolní čelisti na protější straně čelisti, B2 – oboustranně zkrácený zubní oblouk v horní čelisti se zachováním špičáků a minimálně jednoho premoláru a jednostranně zkrácený zubní oblouk v dolní čelisti s rozsáhlou mezerou v distálním úseku chrupu, B3 – jednostranně zkrácený zubní oblouk s kontralaterální mezerou a velkou frontální mezerou chrupu a zbytkový chrup v dolní čelisti, B4 – zachovány zuby pouze ve frontálním úseku chrupu horní čelisti a dolní čelisti s mezerou ve frontálním úseku (ztraceny všechny opěrné zóny chrupu)
- III. třída – C1 zbytkový chrup v čelisti horní a zachovaný chrup v dolní čelisti pouze ve frontálním úseku chrupu, C2 – ztráta všech zubů v horní čelisti a zachovány zuby pouze ve frontálním úseku chrupu čelisti dolní, C3 ztráta všech zubů v horní i dolní čelisti. Opěrné zóny nejsou zachovány.



Obr. 5: Eichnerova klasifikace (převzato z Vacek a Bittner^[6])

Pokračování v příštím vydání. Celý článek včetně použité literatury již nyní naleznete na www.stomateam.cz

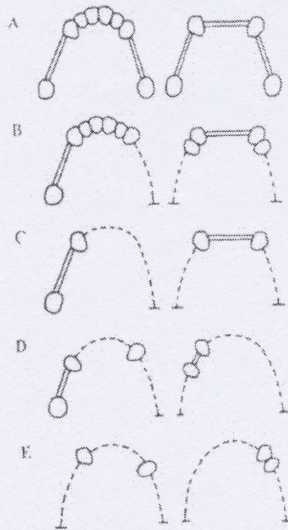
Klasifikace defektů chrupu II

pokračování ze StomaTeamu 2/2008

S. Bartáková, P. Prachár, J. Vaněk
Stomatologická klinika LF MU, Fakultní nemocnice U svaté Anny,
přednosta prof. MUDr. J. Vaněk, CSc.

Körberova klasifikace

Rozděluje jednotlivé defekty chrupu podle přenosu žvýkacího tlaku a možnosti dlahování jednotlivých zubů. Přenos tlaku v jednotlivých třídách je dentální, dento-mukózní, muco-dentální a mukózní.

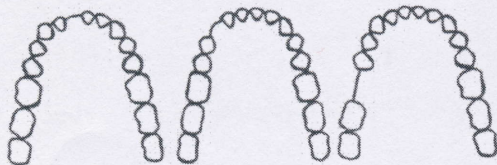


Obr. 5 Körberova klasifikace (převzato z Vacek a Bittner⁽⁶⁾)

Tvrdoňova klasifikace

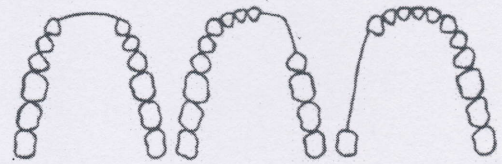
Základem Tvrdoňovy klasifikace je Voldřichova klasifikace. Rozlišuje rozmístění defektu a detailněji popisuje jednotlivé zbytkové zuby a tím určuje podrobněji jednotlivé druhy žvýkacího tlaku.

I.a třída – chybění jednoho nebo dvou zubů v oblasti řezáků, špičáků a stoliček



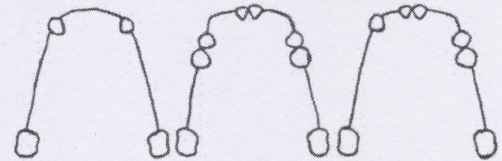
Obr. 6: I.a třída – chybění jednoho nebo dvou zubů v oblasti řezáků, špičáků a stoliček
Tvrdoňova klasifikace (převzato z Tvrdoň a kol.⁽⁹⁾)

I.b třída – chybění tří až čtyř zubů v oblasti řezáků, špičáků a stoliček



Obr. 7: I.b třída – chybění tří až čtyř zubů v oblasti řezáků, špičáků a stoliček Tvrdoňova klasifikace (převzato z Tvrdoň a kol.⁽⁹⁾)

I. třída kombinace



Obr. 8 I. třída kombinace Tvrdoňova klasifikace (převzato z Tvrdoň a kol.⁽⁹⁾)

II.a třída – defekt při ztrátě špičáku a minimálně ještě dalších 4 zubů, v molárové oblasti je ztráta minimálně tří sousedících zubů. Podmínkou je aby dentální plocha vymezená spojnicí zubů byla větší nebo stejná jako plocha mukózní.
Podskupina I – defekt, který vychází z frontální oblasti
Podskupina C – defekt vychází ze špičáků
Podskupina M – defekt vychází z molárové oblasti

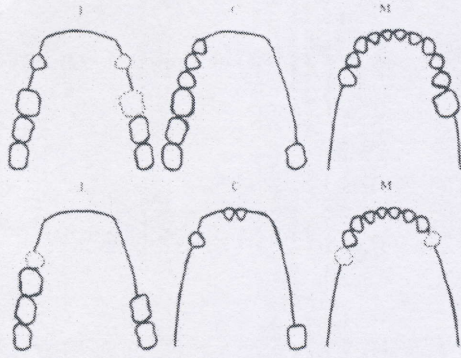
II.b třída

Plocha mukózní je větší než plocha dentální.

Podskupina I – defekt frontálního typu

Podskupina C – defekt diagonálního typu

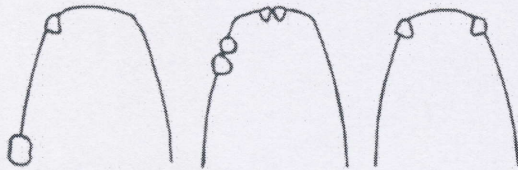
Podskupina M – transversální defekty



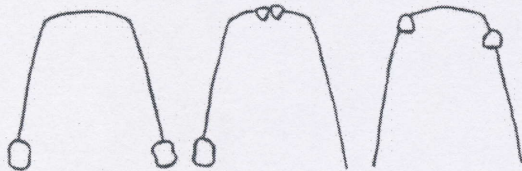
Obr. 9 : II.a a II.b třída Tvrdoňova klasifikace (převzato z Tvrdoň a kol.^[9])

III. třída

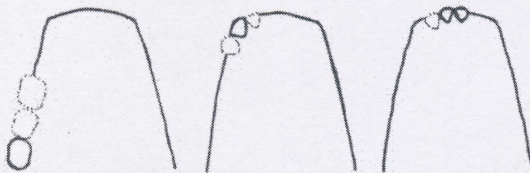
Tato třída vznikla v součinnosti na naléhavost situace rozdělit zbytkový chrup na skupiny podle možnosti dlahování zubů (je možné dlahovat, není možné dlahovat, jeden až tři zbytkové zuby vedle sebe).



Obr.10: III.a třída Tvrdoňova klasifikace (převzato z Tvrdoň a kol.^[9])



Obr. 11: III.b třída Tvrdoňova klasifikace (převzato z Tvrdoň a kol.^[9])



Obr. 12: III.c třída Tvrdoňova klasifikace (převzato z Tvrdoň a kol.^[9])

Diskuze

V současné době je nejčastěji používaná Kennedyho klasifikace. Vzhledem k nepřesné definici jednotlivých defektů chrupu vznikaly na jednotlivých evropských školách podtřídy. Proto je možno v literatuře nalézt Kennedyho klasifikace, které nejsou zcela identické. Nevýhodou Kennedyho klasifikace je, že nemá pevně stanovená kritéria rozdílů v přenosu žvýkacího tlaku u jednotlivých typů náhrad a že nehodnotí

stav chrupu od malých mezer po velké. Körberova klasifikace se již nepoužívá neboť, popsat třídy dle dlahování jednotlivých zubů, ale nevěnoval pozornost topografickému umístění jednotlivých zubů. Eichnerova klasifikace, která hodnotí stav zubů v horní a dolní čelisti současně, podle přenosu žvýkacího tlaku, se ukázala být pro lékaře v praxi naprosto nepoužitelná. Voldřichova klasifikace v české republice je nejvíce rozšířena pro svoji jednoduchost, systematické rozdělení chrupu od nejmenších po největší mezery a stanovením kritérií pro ztráty zubů v čelisti. Z Voldřicha vycházel Tvrdoň, jehož klasifikace je podobná, ale byla upřesněna ve vztahu ke ztrátám zubů, zejména ve III. třídě.

Závěr

V práci je uveden přehled klasifikačních systémů defektů chrupu. Některé z nich byly již zcela opuštěny, např. Wildova a Eichnerova. Z některých vycházely další klasifikace, např. z Wildovy vznikla Oldřichova a dále Tvrdoňova. Kennedyho klasifikace doznala změn v jednotlivých anglosaských dentálních školách. V současné době se v České republice používá nejvíce Voldřichova a Kennedyho klasifikace^[10] vzhledem k jejich historickému rozšíření a univerzální použitelnosti v různých počítačových softwarech. V budoucnosti lze očekávat vznik nových klasifikací, které budou mimo jiné založeny na kompatibilitě s počítačovým prostředím. Dalším budoucím postupem mohou být počítačem nabízené návrhy jednotlivých náhrad, respektive způsobů ošetření chrupu po zadání vstupních digitálních dat v 3D systému^[11,12].

Literatura

1. Mohl, N.D., Zarb, G.A., Carlsson, G.E., Rugh, J.D.: A textbook of occlusion. Quintessence, 1988, s.22-23.
2. Ramjord, S.P., Ash, M.M.: Occlusion. WB Saunders, Chicago, 1995, s. 83-85.
3. Witter, D.J., van Palenstein Helderma, W.H., Creugers, N.H.J., Käyser, A.F.: (1999): The shortened dental arch concept and its implication for oral health. Community Dentistry and Oral Epidemiology 1999; 27, s. 249-258.
4. Elias, A.C., Sheiham, A.: The relationship between satisfaction and with mouth and number and position of teeth. Journal of Oral Rehabilitation 1998; 25, s. 649-661.
5. Liedberg, B., Norlén, P., Öwall, B.: Teeth, tooth spaces, and prosthetic appliances in elderly men in Malmö, Sweden. Community Dentistry and Oral Epidemiology 1991; 19, s.164-168.
6. Vacek, M., Bittner, J.: Gnatologie. Avicenum, Praha, 1986; 175 s.
7. Hohmann, A., Hielscher, W.: Konstrukce částečných snimatelných náhrad ve stomatologii. Grada Publishing, Avicenum, Praha, 1999; 188 s.
8. Voldřich, M. a kol.: Stomatologická protetika. SZN, Praha, 1969, 700 s.
9. Tvrdoň, M. a kol.: Protetická stomatologie, léčba a prevence. Science 2001, Bratislava, 1999; 580 s.
10. Dostálová, T.: Fixní a snimatelná protetika. Grada Publishing, Avicenum, Praha, 2004; 220 s.
11. Bartáková, S., Suchánek, J., Mičulka, J., Vaněk, J.: Computer simulation of bony tissue response to a partial removable denture fitted to a lower jaw. Scripta Medica (Brno) 2003; 76: s.21-28
12. Černochová, P., Krupa, P.: Analysis of the cause of failure of the surgical-orthodontic treatment of impacted permanent upper canines – CT study. Scripta Medica (Brno) 2005; 78, s. 161-170.

E-LEARNING VE STOMATOLOGII A ZUBNÍM LÉKAŘSTVÍ E-LEARNING IN STOMATOLOGY AND DENTISTRY

S. Bartáková, L. Roubalíková, J. Vaněk

Masarykova univerzita, Stomatologická klinika, Lékařská fakulta, Brno

Abstrakt

Rozvoj e-learningových metod patří v současné době k jedné z priorit na Stomatologické klinice Lékařské fakulty Masarykovy univerzity v Brně. Článek přináší přehled e-learningových metod využívaných v současné době na Stomatologické klinice. Rovněž je uveden plánovaný rozvoj e-learningu pro nejbližší budoucnost.

Klíčová slova

stomatologie, zubní lékařství, počítačem podporovaná výuka

Abstract

Development of e-learning supports is one of major educational priorities at the Stomatological Clinic, Faculty of Medicine, Masaryk University (Brno). This contribution gives a review of recent e-learning methods used at the Stomatological Clinic. Future enhancement in e-learning methodology is also reported.

Keywords

stomatology, dental education, computer assisted learning

Přehled e-learningových aktivit

V současné době se e-learningové metody používané na Stomatologické klinice dají rozdělit do čtyř hlavních oblastí. První z nich je postupná aplikace výpočetní techniky do jednotlivých specializací vyučovaných v rámci oboru Stomatologie a Zubního lékařství. Dentálního simulátoru skládajícího se z 3 D skeneru propojeného s počítačovými stanicemi a vyhodnocovacího software. Uvedenou pomůcku je možno využívat v preklinické výuce pro výuku základních preparačních technik, zejména v protetice, ale i v konzervačním zubním lékařství. Preparace, kterou studenti provedou na pryskyřičných zubech, je snímána ced kamerou a poté porovnává se vzorovou preparací uloženou v paměti simulátoru. Přístroj ukáže na monitoru chyby a je rovněž možno uložené informace používat k sledování vývoje praktických dovedností studentů.

Další oblasti využití e-learningových metod je poskytování informací formou vystavování studijních a učebních materiálů. Tuto formou se studentům dostanou nejmodernější poznatky a výsledky výzkumu získané v rámci Stomatologického výzkumného centra (LF MU, Brno). Jde například o prezentaci nejnovějších povlakových materiálů subperiostálních implantátů, mikroinvazivní techniky při ošetření zubu, matematické modelování rozložení napětí v čelisti při různých zátěžových situacích. Formou elektronických prezentací jsou rovněž využívány interaktivní testy SCM (single choice method), na nichž si studenti osvojují míru získaných znalostí. Další prioritou je využití vlastních výukových video snímků, které byly vytvořeny pro obory konzervační zubní lékařství, dentální implantologie, protetické zubní lékařství. Naši hlavní prioritou v oblasti e-learningu je zavádění moderních výukových technik tak, aby respektovaly evropské standardy [1, 2] zaměřených zejména na počítačově podporovanou výuku (CAL – Computer Assisted Learning) a problémově orientovanou výuku dentálních oborů (POL – Problem Oriented Learning).

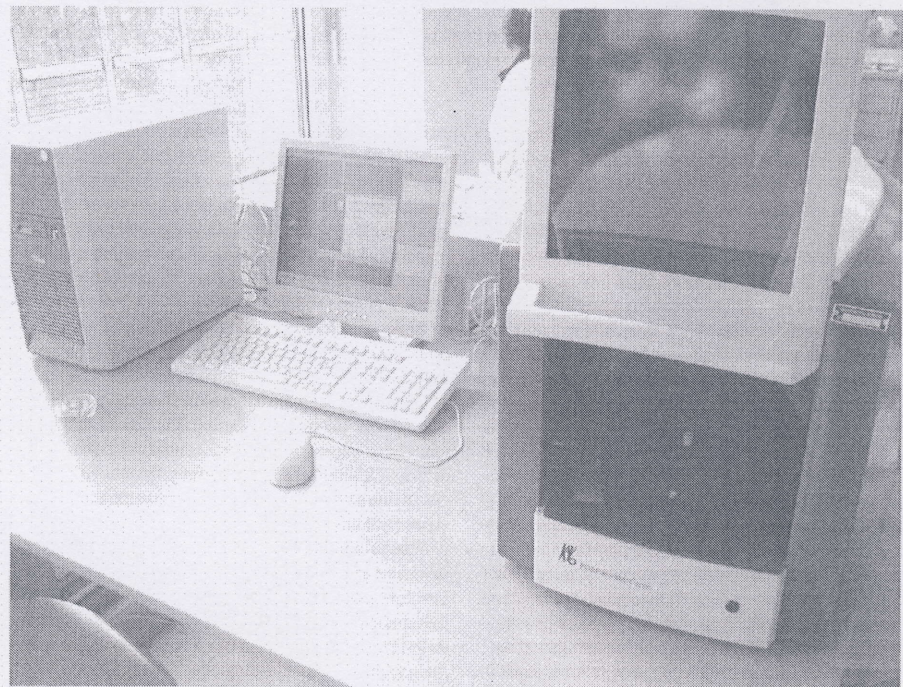
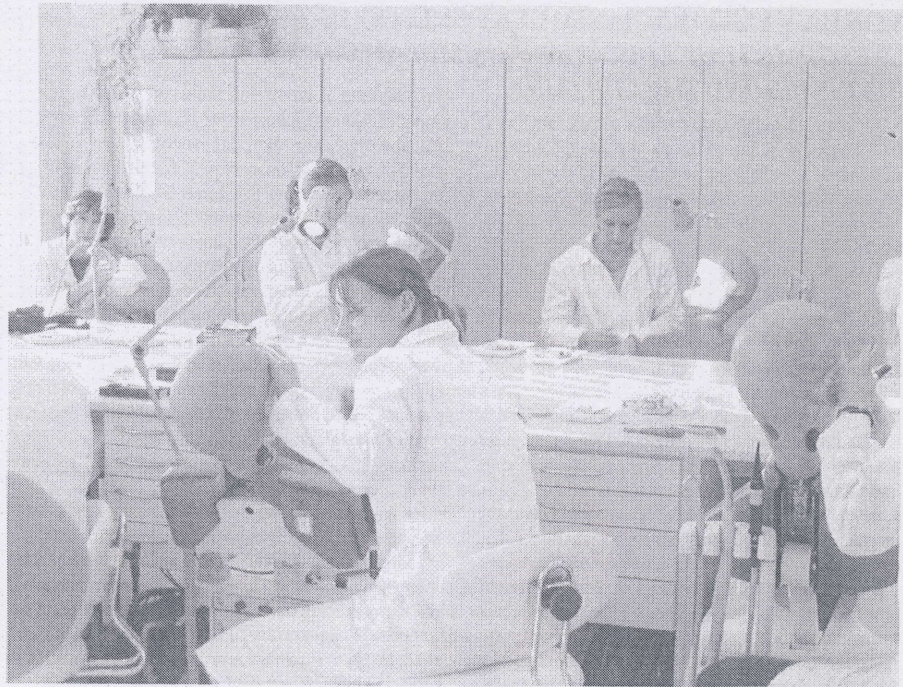
Perspektivy e-learningu

Pro nejbližší období je plánováno plně elektronické on-line propojení simulačních modelů (tzv. fantomů) s počítači a vyhodnocovacím software tak, aby se aby se práce studentů na modelech daly vyhodnocovat rychleji a chyby preparace bylo možno ihned korigovat za pomoci počítače a chyby preparace ihned korigovat. Rovněž bude v nejbližší budoucnosti posíláno technické zázemí nákupem nové počítačové techniky tak, aby výukové metody využívající e-learningu mohly být zavedeny ve větší míře než dosud.

Literatura

- [1] Manogue, M., Kelly, M., Bartáková, S., Brown, G., Catalanotto, F., Cheo-Soo, T., Delap, E., Godorojo, P., Morio, I., Rotgans, J., Saag, M. (2002): Evolving Methods of Assessment, *European Journal of Dental Education*, 6: 53–66.
- [2] Röhlai, M., Schaub, R.M.H., Holbrook, P., Leibert, E., Lévy, G., Roubalíková, L., Nilner, M., Roger-Leroy, V., Danner, G., Iseri, H., Feldman, C. (2002): Continuous Quality Improvement, *European Journal of Dental Education*, 6: 67–77.

13

ikuly
i Sto-acul-
usednické
omů)
by se
ych-
at za
ovat.
mic-
aby
zave-ata-
rio,
if
zz
s
du-

Obrázek 1: Pohled na studenty v praktické výuce pracujících na simulátorech. (nahore), pohled na 3D skener PREPassistant (dole)