

# 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 čisté-

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).

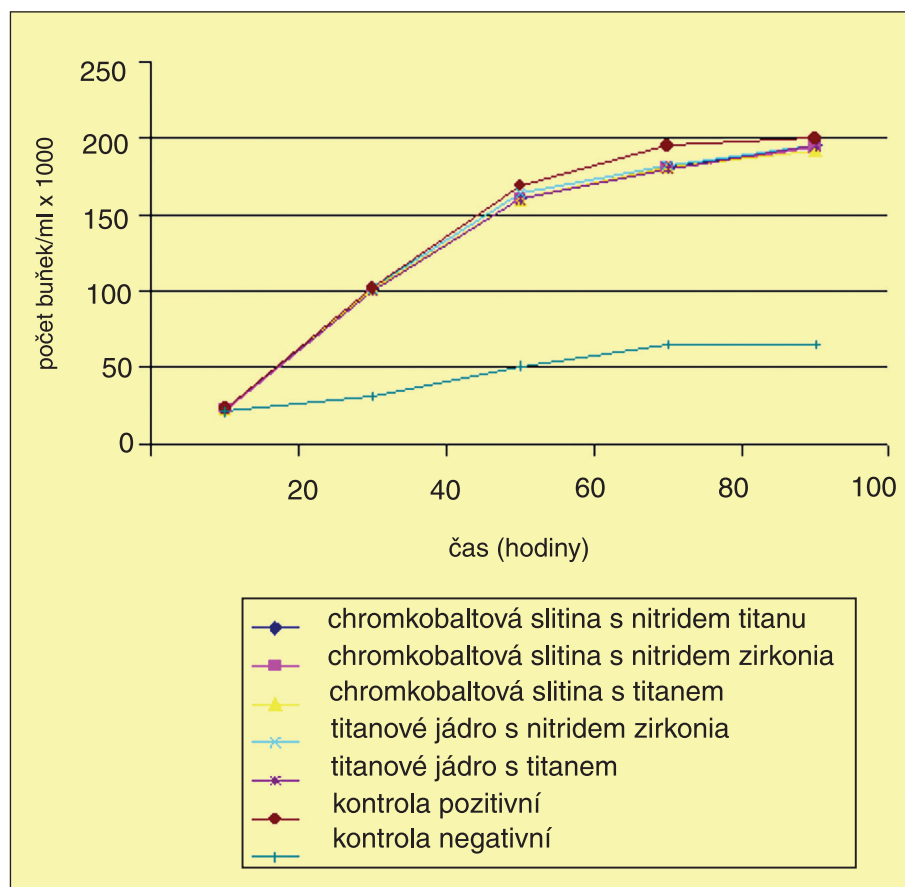
**Složení testovaných modelů:** Bazální, to je vnitřní část implantátu testované generace, je zhotovena z chromkobaltové slitiny, jako materiálu s dobrými mechanicko-fyzikálními vlastnostmi, ale s nevyhovujícími vlastnostmi biokompatibilitu. Ty mají být odstraněny pomocí biokompatibilní vrstvy. Testované 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.

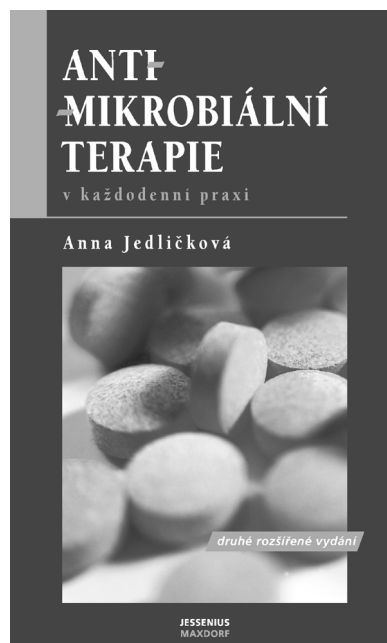
*Celá studie je součástí grantového výzkumu IGA MZ ČR ND/7356-3.*

## 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., Himmlová, 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 nejnámějšího 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**