

COMMENTARY

Title: Titanium beta alloys in dental implantology. Material properties, biocompatibility and osseointegration

Current state of knowledge

The presented habilitation thesis deals with titanium and titanium alloys in relation to their application in dentistry. The theoretical part of the thesis presents a summary of current knowledge about material properties, depending on their chemical composition and manufacturing technique. Attention is also paid to the biocompatibility of these alloys. Special attention is given to the effects of alloying elements (Ta, Fe, Nb, V, Mo) on the material properties of titanium alloys and surface treatment methods to facilitate osseointegration. Factors influencing the osseointegration of titanium and its alloys are presented and described, especially the process of TiO₂ formation on the alloy surface and coating of the surface with materials to promote osseointegration. Attention is also paid to current trends in the research of titanium and titanium alloys for future use in dental implantology and clinical trials.

Objectives of the work

The experimental part of the work summarizes the long-term research of the above-specified topics carried out in the period of 2005-2011 within the Stomatological Center of the Medical Faculty of the Masaryk University and in the following years within the framework of partial projects. The aim of the research work was to characterize the properties of titanium alloys with addition of niobium and tantalum (Ti-38Nb, Ti-35Nb-6Ta and Ti-33.5Nb-5.7Ta) in terms of material properties, ion release from the alloy, corrosivity and biocompatibility evaluated by biotests. The aim was to quantify the influence of alloying elements of titanium β alloys on their cytotoxicity. Another aim of the work was to test the growth rate of osteoblasts and osteoclasts on the surface of hydroxyapatite-coated alloy using cell adherence and proliferation tests, and specific markers (amount of DNA and alkaline phosphatase activity). Last but not least, the aim was to apply mathematical modeling procedures to calculate stress distribution in dental implants of various types, in the implant-bone tissue system and in the jaw.

Methods

The following methods and procedures were used for the experimental and clinical part of the habilitation thesis: biocompatibility tests consisting of cytotoxicity tests, cell adherence tests, and quantification of osteoblast growth. Simulated body fluid and determination of released ions was done by X-ray photoelectron spectroscopy and used to quantify the corrosivity of titanium alloys. The adsorption of fibrinogen and deoxyoligonucleotides was monitored using a laser diffraction sensor. Cell adherence and proliferation were monitored by DAPI staining and microscopy. *In vivo* implant osseointegration assays (done on Ti38-Nb6-Ta alloy) were performed on minipigs using the relative percentage of bone-to-implant contact and implant stability (ISQ). Analysis of the surface microstructure of titanium alloys was performed by microfilming using digital 3-D microscopy methods. The ANSYS version 3.5 software environment and the ADPL (Ansys Parameter Design Language) programming tool were used to model stresses in implants of various types, stress distribution in the implant-bone system and to model periodontal properties.

Results

The main results obtained using the methods specified above, which are the subject of published professional work, can be summarized as follows:

- Tests of the cytocompatibility of titanium alloys and alloying elements have shown that the suitability of alloying elements decreases in the order of Ta Ni V Mo.
- In the experiment using simulated body fluids to assess the corrosivity of the Ti-Nb-Ta alloy, low corrosivity was demonstrated and stinaTi-33.5Ni-5.7Ta was characterized as biocompatible and suitable for the production of dental implants.
- Tests of cell adherence to the surface of titanium alloys and various alloying elements (Ta, Fe, Nb, V, Mo) have shown that Fe and V ions reduce the rate of adherence and the surface coverage of the tested material.
- Tests have shown that the surface treatment method significantly affects the growth of human osteoblasts on the Ti surface. The growth of osteoblasts was supported on the polished and etched surface compared to only the polished surface. Fibrinogen adsorption was promoted by surface treatment: titanium-enriched hydrocarbon coatings.
- The microroughness of the material positively influences the adsorption of deoxynucleotides on the titanium surface. A suitable micro- and nano-structure can be monitored using a diffractive optical sensor.
- An *in vitro* study demonstrated the suitability of coating the titanium surface with hydroxyapatite (sputtered HA) by evaluating cell adherence, density and growth (stromal cells of laboratory rats), selected markers (amount of DNA and alkaline phosphatase).
- Tests of VP dental implants performed *in vivo* in the tibia of minipigs (in collaboration with Tokyo Medical and Dental University) showed very good osseointegration and stability in bone (ISQ - implant stability quotient).
- The micro- and nano-structure of the surface is important for the biointegration of the dental implant. Using AFM (Atomic force Microscopy) and 3-D digital microscopy techniques, the suitability of the surface structure created after the end of the technological phase, i.e. after individual types of surface treatment, can be effectively checked.
- Mathematical modeling in the ANSYS software environment can be used to determine deformation analysis of parts of dental implants (blade, cylindrical, disc implants are presented in the habilitation thesis), which show critically high stress values after insertion into bone tissue. Thus, potential fractures of dental implants can be indicated
- Mathematical modeling of the implant-bone system and simulation of variously large masticatory forces acting on the implant can be used to simulate and predict the occurrence of critical stress in the periodontium and surrounding bone. These sites pose a risk of potential bone resorption.

The author's share in the preparation of published professional publications excerpted in the WOS database was in the range of 10-40% for publications with foreign co-authors. In the case of publications with national co-authors the share achieved 20-70%.

Conclusion

Based on the results presented in the habilitation thesis, it can be concluded that most titanium alloys are fully biocompatible or biotolerant. The issue of titanium and its alloys is developing dynamically in the field of medical research and clinical practice and, thanks to the rapid development of technologies, is promising for a wide application of these materials in dentistry.

Date: 19. 6. 2020

Signature: MUDr. Šonia Bartáková, Ph.D.

KOMENTÁŘ K HABILITAČNÍ PRÁCI

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

Stav problematiky Předkládaná habilitační práce se zabývá problematikou titanu a zejména slitin titanu ve vztahu k jejich využití v zubním lékařství. Teoretická část práce uvádí souhrn současných poznatků o jejich materiálových vlastnostech, a to v závislosti na jejich chemickém složení a technice výroby. Pozornost je rovněž věnována biokompatibilitě těchto slitin, zejména vlivu legujících prvků (Ta, Fe, Nb, V, Mo) na materiálové vlastnosti slitin titanu a metodám povrchové úpravy pro usnadnění oseointegrace. Přehledně jsou uvedeny faktory ovlivňující oseointegraci titanu a jeho slitin, a to zejména proces vytváření TiO₂ na povrchu slitiny a povlakování povrchu materiálu pro podporu oseointegrace. Pozornost je věnována i současným trendům ve výzkumu titanu a titanových slitin pro budoucí uplatnění v zubní implantologii a klinickým testům.

Cíle práce Experimentální část práce shrnuje dlouholetý výzkum této problematiky uskutečňovaný v letech 2005-2011 v rámci Stomatologického centra LF MU a v dalších letech v rámci dílčích projektů. Cílem výzkumné práce bylo zejména charakterizovat vlastnosti slitin s příměsí niobu a tantalu (Ti-38Nb, Ti-35Nb-6Ta a Ti-33.5Nb-5.7Ta), a to z hlediska materiálových vlastností, uvolňování iontů ze slitiny, korozivity a biokompatibility sledované na základě biotestů. Cílem bylo kvantifikovat vliv příměsových (legujících) prvků titanových β slitin na jejich cytotoxicitu. Dalším cílem práce bylo testovat rychlost růstu osteoblastů a osteoklastů na povrchu slitiny povlakované hydroxyapatitem pomocí testů adherence a proliferace buněk a specifických markerů (množství DNA a aktivita alkalické fosfatázy). V neposlední řadě bylo cílem aplikovat postupy matematického modelování pro výpočet napětí v zubních implantátech různého typu, v systému implantát-kostní tkáň a v čelisti.

Metodika Pro experimentální a klinickou část habilitační práce byly využity následující metody a postupy: testy biokompatibility sestávající se z testů cytotoxicity, adherence buněk, a kvantifikace růstu osteoblastů. Pro kvantifikaci korozivity slitin titanu byla využita simulovaná tělní tekutina a stanovení iontů prvků pomocí rentgenové fotoelektronové spektroskopie. Adsorbce fibrinogenu a deoxyoligonukleotidů byla sledována pomocí laserového difrakčního sensoru. Adherence a proliferace buněk byla sledována pomocí barvení DAPI a mikroskopie. Testy oseointegrace *in vivo* implantátu (Ti38-Nb6-Ta) byly uskutečněny na miniprasátcích pomocí poměrného procenta kontaktu kosti s tělem implantátu a stabilitou implantátu (ISQ). Analýza mikrostruktury povrchu slitin titanu byla uskutečněna pomocí mikrofilování za využití metod digitální 3-D mikroskopie. Pro modelování napětí v implantátech různého typu, přenosu napětí v systému implantát-kost a modelování vlastností parodontu bylo využito programové prostředí ANSYS verze 3.5 a programovací prostředek ADPL (*Ansys Parameter Design Language*).

Výsledky Hlavní výsledky získané pomocí výše specifikovaných metod, které jsou předmětem publikovaných odborných prací lze shrnout takto:

- Testy cytotoxicity slitin titanu a zušlechťujících (legujících) prvků prokázaly, že vhodnost příměsí klesá v pořadí Ta Ni Va Mo.

- V experimentu využívám simulované tělní tekutiny pro posouzení korozivní slitiny Ti-Nb-Ta byla prokázána malá korozivita. Slitina Ti-33.5Ni-5.7Ta byla charakterizována jako biokompatibilní a vhodná pro výrobu zubních implantátů.
- 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.
- 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.
- Mikrorelief povrchu materiálu (*microroughness*) pozitivně ovlivňuje adsorpci deoxynukleotidů na povrch titanu. Vhodnou mikro- a nano- strukturu lze sledovat pomocí difrakčního optického sensoru.
- *In vitro* studie prokázala vhodnost povlakování povrchu titanu hydroxyapatitem (naprašovaný HA), a to pomocí hodnocení adherence, hustoty a růstu buněk (stromální buňky laboratorních krys), vybraných markerů (množství DNA a alkalické fosfatázy).
- Testy dentálních implantátů VP uskutečněné *in vivo* v holenní kosti miniprasátek (ve spolupráci s Tokijskou lékařskou a dentální univerzitou) prokázaly dobrou oseointegraci a stabilitu v kosti (ISQ – *implant stability quotient*).
- Pro biointegraci zubního implantátu je důležitá mikro- a nano- struktura povrchu. Pomocí mikroskopických technik AFM (*Atomic force Microscopy*) a 3 D Digitální mikroskopie (*3-D digital microscopy*) lze účinně kontrolovat vhodnost struktury povrchu vzniklou po ukončení technologické fáze, tedy po jednotlivých typech opracování (úpravy) povrchu.
- Matematickým modelováním v programovém prostředí ANSYS lze pomocí deformační analýzy určit části zubních implantátů (v habilitační práci jsou uvedeny čepkové, válcové, diskové implantáty), které po zavedení do kostní tkáně vykazují kriticky vysoké hodnoty napětí. Lze tak indikovat potenciální zlomy zubních implantátů
- Matematickým modelováním systému implantát-kost a simulací různě velikých žvýkacích sil působících na implantát lze simulovat a predikovat vznik kritického napětí v parodontu a okolní kosti. Tato místa jsou riziková z hlediska vzniku resorpce kosti.

Podíl autorky na přípravě publikovaných odborných publikací excerptovaných v databázi WOS byl v rozmezí 10-40 % u publikací se zahraničními spoluautory. V případě publikací s národním spoluautory 20-70 %.

Závěr Na základě výsledků prezentovaných v habilitační práci lze shrnout, že většina testovaných slitin titanu je plně biokompatibilních, popřípadě biotolerantních. Problematika titanu a jeho slitin se v oblasti medicínského výzkumu a klinické praxe dynamicky vyvíjí a díky rychlému rozvoji technologií je příslibem pro široké uplatnění těchto materiálů v zubní medicíně.

V Brně 19. 6. 2020

MUDr. Sonia Bartáková, Ph.D.