

Materiály v zubním lékařství

Martina Kašparová

Bakalářská práce
2016/17



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav inženýrství polymerů
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Martina Kašparová**
Osobní číslo: **T14340**
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Materiály v zubním lékařství**

Zásady pro vypracování:

Studentka se seznámí s dosud publikovanými pracemi o materiálech pro zubní lékařství a jejich interakcemi s eukaryotickými i prokaryotickými buňkami. V teoretické části se zaměří především na využití polymerů. Prakticky se seznámí s prací v laboratoři buněčných kultur a osvojí si základní techniky práce v této laboratoři. V praktické části pak provede a vyhodnotí sérii testů zaměřených na stanovení interakce zubních materiálů s eukaryotickými buňkami a to především v kontextu jejich adheze a následné proliferace.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

SNUSTAD, D.P., SIMMONS, M.J., RELICHOVÁ, J. et al. Genetika. Brno: Masarykova univerzita, 2009.

ALBERTS B. et al. Molecular Biology of the Cell 5th ed. Garland Science.

ROSYPAL, S. Nový přehled biologie. . Praha: Scientia, 2003. ISBN 10: 80-7183-268-5.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Petr Humpolíček, Ph.D.**
Centrum polymerních materiálů

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2017**

Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2017**

Ve Zlíně dne 1. března 2017



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: KAŠPAROVA MARTINA

Obor: PMT

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9.5.2017

Kašparova

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlédnutí veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výtisky, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Abstrakt česky

Tato bakalářská práce byla napsána za účelem prozkoumat nové možnosti dentálních implantátů a materiálů použitých v dentálních aplikacích. Práce je zaměřena na možnosti výplní kavity různými druhy materiálů a jsou zde popsány vlastnosti nejčastěji používaných základních výplní. Praktická část práce se zabývá cytotoxicitou extraktu keramického materiálu, vyrobeného pomocí technologie PIM, a testováním adheze a proliferace buněk k materiálu.

Klíčová slova:

Biokompatibilita, dentální materiály, amalgám, kompozit, skloionomerní cement, dentální implantát, keramika, PIM technologie

ABSTRACT

This bachelor thesis describes possibilities of dental implants and materials used in dental applications. This thesis is focused on various materials for cavity dental fillings and describes the most common fillings. Practical part is focused on cytotoxicity extract of ceramic material created using PIM technology and cell-material adhesion and proliferation.

Keywords:

Biocompatibility, dental materials, amalgam, composite, glass-ionomer cement, dental implants, ceramic, PIM technology

Za odborné vedení a cenné rady při psaní práce bych chtěla poděkovat mému vedoucímu panu doc. Ing. Petru Humpolíčkovi, Ph.D.

Dále bych chtěla poděkovat paní Ing. Zdeně Kucekové, Ph.D za pomoc v laboratoři při získávání výsledků pro praktickou část bakalářské práce.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 BIOMATERIÁLY V DENTÁLNÍCH APLIKACÍCH	12
1.1 NÁROKY NA POUŽÍVANÝ MATERIÁL	13
1.2 BOKOMPATIBILITA	13
1.2.1 Testy pro dentální materiály.....	13
1.3 BIOSTABILITA.....	14
1.4 BIOMATERIÁLY V ZUBNÍM LÉKAŘSTVÍ	14
2 STAVBA ZUBU	15
2.1 FYLOGENETICKÝ VÝVOJ ZUBŮ	15
2.2 ONTOGENETICKÝ VÝVOJ ZUBŮ	15
2.3 POŠKOZENÍ ZUBU	17
2.3.1 Dentální plak a vznik zubního kazu	17
2.3.2 Vliv výplně na vznik sekundárního zubního kazu	18
2.4 HISTORIE ZUBNÍHO LÉKAŘSTVÍ	19
3 VÝPLŇOVÉ MATERIÁLY	20
3.1 AMALGÁM.....	20
3.1.1 Složení amalgámů	20
3.1.2 Vlastnosti amalgámů	20
3.1.3 Problematika rtuti v amalgámu	22
3.1.4 Negativní působení rtuti v lidském těle	22
3.1.5 Aktuální situace v EU	23
3.2 KOMPOZITNÍ VÝPLŇ	24
3.2.1 Složení kompozitních materiálů.....	26
3.2.2 Klasifikace podle velikosti částic plniva.....	26
3.2.3 Klasifikace podle druhu polymerizace.....	27
3.2.3.1 Světlem tuhnutí.....	28
3.3 SKLOIONOMERNÍ CEMENT	29
3.3.1 Dělení podle typu tuhnutí.....	30
3.3.2 Vlastnosti skloionomerních cementů	30
4 IMPLANTÁTY	31
4.1 KLASIFIKACE DENTÁLNÍCH IMPLANTÁTŮ	32
4.2 DENTÁLNÍ KERAMIKA	32
4.2.1 Složení keramických materiálů	33
4.2.2 Vlastnosti keramického materiálu	34
4.2.3 Kovokeramické náhrady	34
4.2.4 Celokeramické náhrady.....	34
4.2.5 PIM keramika.....	34
4.2.5.1 Technologie PIM	35
II PRAKTICKÁ ČÁST	36

5	CYTO-KOMPATIBILITA PIM MATERIÁLU	37
5.1	POUŽITÁ BUNĚČNÁ LINIE	37
5.2	POUŽITÝ MATERIÁL	38
5.3	CYTOTOXICITA EXTRAKTU	38
5.3.1	Pasážování	38
5.3.2	Příprava extraktu	38
5.3.3	MTT test	39
5.4	ADHEZE BUNĚK NA POVRCH MATERIÁLU A PROLIFERACE	39
5.4.1	Sterilizace PIM keramiky	39
5.4.2	Fixace buněk a barvení buněk	39
5.5	VÝSLEDKY CYTOTOXICITY	40
5.6	VÝSLEDKY BUNĚČNÉ ADHEZE A PROLIFERACE	43
5.7	TEPELNÁ VODIVOST PIM MATERIÁLU	45
5.8	DISKUZE	46
	ZÁVĚR	48
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	55
	SEZNAM OBRÁZKŮ	56
	SEZNAM TABULEK	57

ÚVOD

Biomateriály jsou v poslední době jedny z nejvyužívanějších materiálů v oblasti medicíny. Od polymerů přes kovy, keramiku a kompozity. Zhotovují se z nich nejen operační nástroje a pomůcky, ale především nalézají využití jako implantáty. Za implantát z biomateriálu jsou považovány veškeré syntetické materiály, které nahrazují část nebo funkci části živého organismu. Tyto materiály nacházejí uplatnění také v dentální medicíně, kde slouží nejen jako implantáty, ale také jako výplně kavit.

Nejčastějším dentálním onemocněním na světě je zubní kaz. Jedná se o demineralizaci povrchové vrstvy skloviny, která se musí odstranit a nahradit vhodným výplňovým materiálem. Nejvíce užívaný výplňový materiál je amalgám, u něhož se již dlouho diskutuje o jeho bezpečnosti kvůli obsahu rtuti. Evropská komise navrhla zákaz používání amalgámu u dětí do šestnácti let a u těhotných a kojících žen. Kvůli tomuto návrhu roste poptávka po alternativních materiálech vhodných jako náhrada amalgámu. Takovými materiály by mohly být kompozity na bázi pryskyřice nebo skloionomerní cement. Ale ani alternativy nejsou zcela bezproblémové a mají klinická omezení. Například některé z používaných monomerů u kompozitů jsou *in vitro* cytotoxické pro buňky dřeně a dásně. Další z alternativních materiálů obsahují organické a anorganické látky, které mohou podstoupit chemickou reakci se zubní kavitou a s okolními měkkými tkáněmi během zavádění.

Když už je poškození zubu rozsáhlé a samotná výplň nestačí, používají se v praxi implantáty. Ty mohou být z polymeru, kovu nebo keramiky. Větší náhrady z keramiky by se mohly vyrábět pomocí práškového vstřikovacího tvarování, PIM technologií. Tato technologie by umožňovala vyrábět různé tvary s požadovanou velikostí pórů, kterými by buňky byly schopny prorůstat a mohly by tak usnadňovat přijetí implantátu.

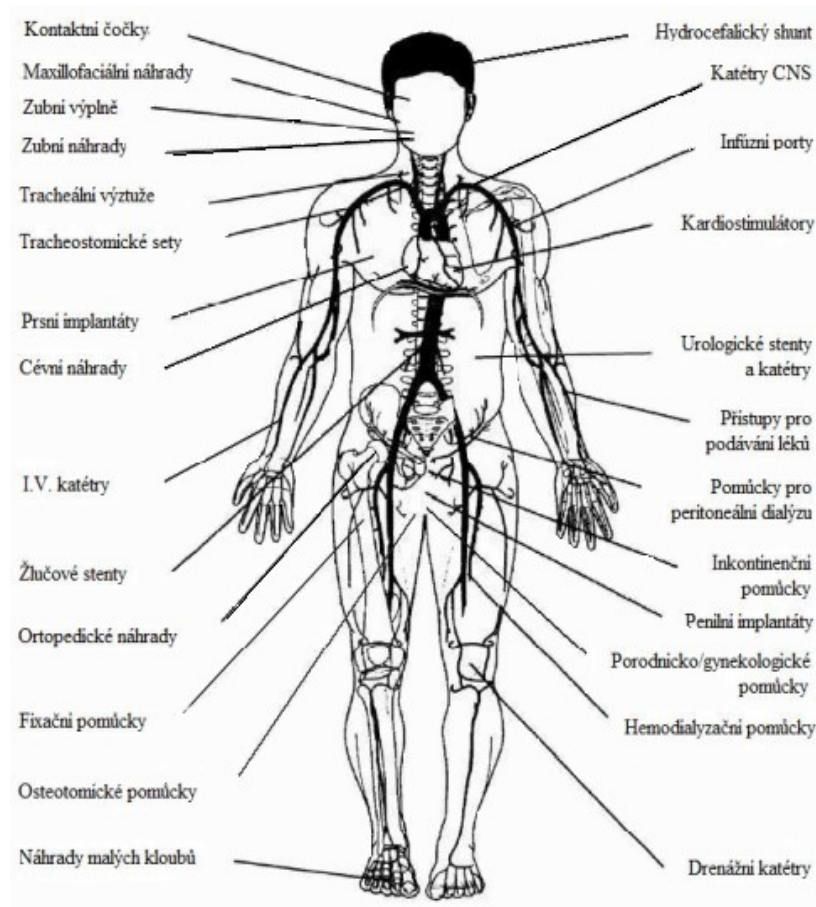
V praktické části této práci je popsána cytotoxicita materiálů, buněčná adheze k materiálu a proliferace buněk na povrchu materiálu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOMATERIÁLY V DENTÁLNÍCH APLIKACÍCH

Pro vysvětlení pojmu biomateriál existuje mnoho definic. Jedna z nich říká, že jako biomateriál můžeme označit přírodní nebo syntetický materiál, jehož funkce je rozšíření, nahrazení, opravení nebo regenerování orgánů, tkání nebo buněk. Biomateriálem se tedy rozumí jakákoliv látka nebo kombinace látek, syntetického nebo přírodního původu, který může být použit po různě dlouhou dobu, který doplňuje nebo nahrazuje částečně nebo úplně jednotlivé tkáně, orgány nebo funkce těla [1], za účelem zachování nebo zlepšení kvality života jedince. Biomateriál je zamýšlen pro přímý kontakt s živou tkání a jsou na něj kladeny mnohem vyšší požadavky [2]. Biomateriál může být také definován jako látka, která byla navržena, aby přijala formu, která jednotlivě nebo jako součást živého systému slouží k přímému řízení diagnostických postupů [1].

Z biomateriálů jsou zhotovovány například náhrady malých kloubů, kardiostimulátory, cévní a zubní náhrady, zubní výplně a mnoho dalších [3].



Obr. 1 využití biomateriálů upraveno z [3]

1.1 Nároky na používaný materiál

Jelikož se biomateriály využívají v přímém kontaktu s tkání, musí splňovat několik podmínek pro bezpečné použití. Základní požadavky jsou biokompatibilita a biostabilita materiálu. Též nesmí narušovat metabolismus organismu [2]. Nejčastějšími příčinami selhání implantátů jsou alergické reakce, korozní opotřebení, degradace materiálu. Okolo 10 % všech chirurgických implantátů je odmítnuto z důvodu selhání rozhraní implantát-tkáň [4].

Při aplikaci biomateriálu do tkáně se také mění mechanické napětí, takže je důležité, aby měl materiál dobré mechanické vlastnosti, tak aby při zátěžích nebo změnách teplot nedocházelo například ke změně struktury nebo při zvýšené aktivitě k odlamování, tudíž musí být dostatečně pevný a elektrochemicky stálý. Důležitá je i jeho snadná zpracovatelnost [2]. V případě dentálních materiálů musí být odolný, aby vydržel v orálním prostředí, protože na něj bude na něj působit široké rozmezí teplot přibližně od 15 °C do 68 °C (podle autora McNally [4]), i pH v ústech se mění zhruba od 6,0 do 7,4. Také bude vystaven chemické působení potravin a nápojů společně se statickou únavovou zátěží až do 600 N [4].

1.2 Biokompatibilita

Od doby, kdy byly biomateriály navrženy pro použití v přímém kontaktu s živou tkání, je nezbytné, aby materiál nevyvolal žádnou nežádoucí reakci, žádný škodlivý efekt na hostitelskou tkáň nebo orgán [1]. Biokompatibilita je schopnost materiálu vyvolat vhodnou biologickou odpověď pro danou aplikaci v těle [5]. Jedná se o kompatibilitu s živou tkání, nebo s živým systémem s tím, že materiál není toxický, škodlivý, nebo fyziologicky reaktivní a není příčinou imunologického odmítnutí [2]. Biokompatibilita biomateriálů je dále klasifikována podle jejich schopnosti indukovat buněčnou nebo tkáňovou smrt (cytotoxicita), zahájit rakovinné bujení (karcinogenita), poškodit genetickou informaci (mutagenita), atd [1].

1.2.1 Testy pro dentální materiály

Pro posouzení vhodnosti potenciálního materiálu existuje řada testů. Povaha klinicky testovaných nežádoucích účinků dentálních materiálů je různá (místní, alergická, systémová) a liší se tedy i jejich reakční mechanismy. Kromě toho i kontakt materiálu s tkání je odlišný, může se vztahovat k době, pohybuje se v rozmezí od minut po měsíce a roky. Nebo je ve vztahu k místu působení, uvnitř těla nebo na povrchu [6].

Součástí většiny testů pro dentální materiály bylo stanovení cytotoxicity *in vitro*, genotoxicity a mutagenity (zejména *in vitro*). Dále určení lokálních reakcí, hlavně experimentálně prováděnými testy na zvířatech nebo *in vitro* simulací, jako je například bariérová zkouška dentinu. Posledním testem je senzibilizace, která se testuje především na pokusných zvířatech [6].

1.3 Biostabilita

Biostabilita implantátů je značně ovlivněna adsorpcí a absorpcí účinných látek ve fyziologických roztocích. Z tohoto důvodu je biostabilita polymerních biomateriálů důležitou vlastností pro dlouhodobé implantabilní zdravotnické prostředky [7]. Biostabilita vyžaduje, aby materiál nebyl degradován biologickými interakcemi v těle. Materiál též nesmí iniciovat reakce v tkáních, které implantát obklopují [8].

1.4 Biomateriály v zubním lékařství

Zájem o vývoj nových biomateriálů je obrovský a roste s poptávkou. Využití v zubním lékařství je velké. Z biomateriálů se zhotovují například zubní výplně, zubní protézy, implantáty, dále v ortodontii se používají jako drátky fixních aparátů, zámečky, gumičky [9]. V dentálních aplikacích se často používají materiály, jako jsou kovy (stříbrné amalgámy, zlato), keramika (živec, oxid hlinitý, vyztužený porcelán) a kompozity. Snaha omezit dopad dříve využívaných materiálů, jako jsou amalgámy, na životní prostředí, vede k častějšímu ošetření zubu pomocí keramiky a kompozitních pryskyřic.

2 STAVBA ZUBU

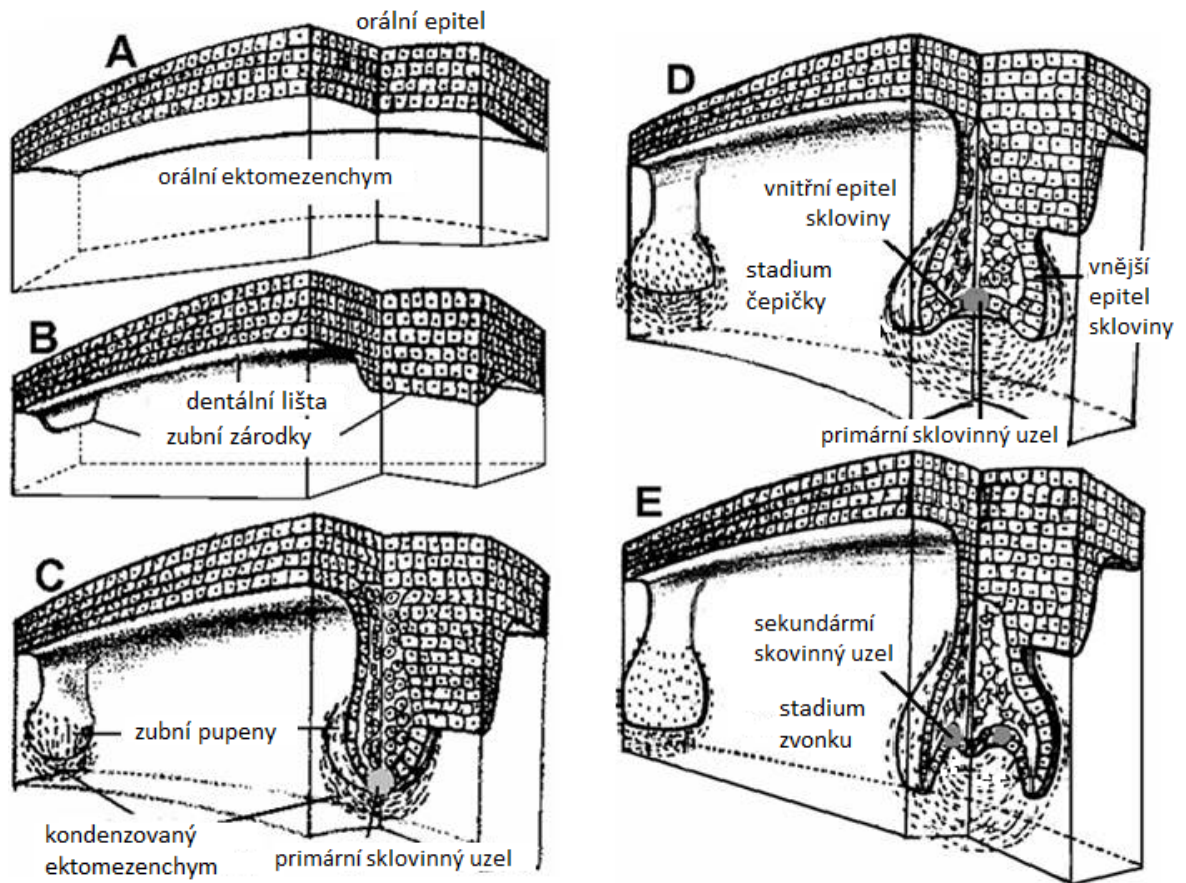
2.1 Fylogenetický vývoj zubů

První pravé zuby se v evoluci vyskytli u čelistnatých ryb. Jejich dentinové zuby se pravděpodobně vyvinuly jako deriváty plakoidních šupin. Současně s nimi se tvořili i nepravé zuby jako rohovatějící epitel dutiny ústní (kruhoústí, ptáci a larvální stádia obojživelníků) [10].

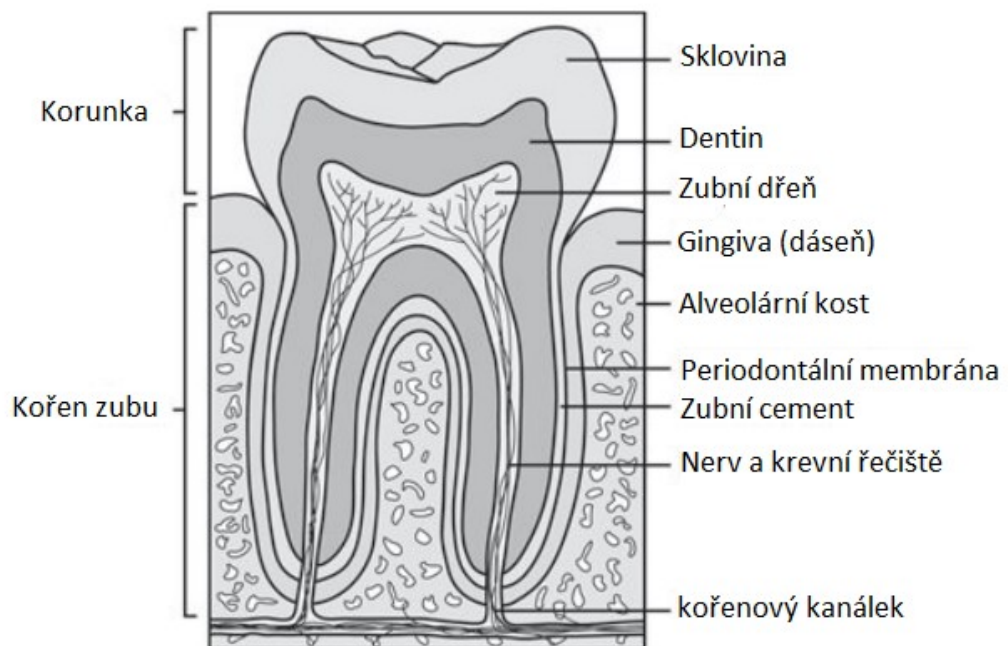
2.2 Ontogenetický vývoj zubů

Za začátek vývoje zubu můžeme označit asi 6. týden vývoje embrya. V tomto období se ektodermový epitel primitivní dutiny ústní (stomodea) ztlušťuje a vytváří tak základ pro vestibulární a dentální lišty, které se vyvíjejí asi o týden později. Z dentální lišty poté vznikají zárodky všech zubů. Nejprve se dentální lišta rozdělí na primární a sekundární zubní lištu. Z primární lišty se vyvíjí všech 20 zubů dočasného chrupu a dále 1. až 3. molár chrupu stálého. Ze sekundární lišty se vytvoří řezáky, špičáky a premoláry chrupu stálého. Každý zub se vyvíjí jako samostatný orgán, přičemž stádia vývoje zubu lze morfologicky rozdělit na stádium pupenu, pohárku (čepičky) a zvonku. U zárodku ve stádiu zvonku popisujeme orgán skloviny, ze kterého se vyvinou ameloblasty, dentální papilu, z ní se diferencují odontoblasty a buňky zubní dřevě, a dentální vak, jenž dává vznik cementoblastům, fibroblastům a jiným buňkám periodoncia (závěsného aparátu zubu). V tomto stádiu začíná proces tvorby skloviny (amelogeneze) i dentinu (dentinogeneze) v oblasti korunky zubu, diferencuje se zubní dřevě, vyvíjí se základ kořene, periodoncia i zubního alveolu. Během vývoje buněk zubu je zajímavý sled vzájemných indukcí a interakcí. Buňky dentální papily vyvolají přeměnu okolních buněk v preameloblasty, díky jejich přítomnosti se později vyvinou preodontoblasty. Ty následně vyzrají v odontoblasty a začnou tvořit preentin. Následně dochází ke kontaktu preentinu s preameloblasty, což indukuje jejich přeměnu v ameloblasty, které jsou schopny produkovat sklovinu.

Zuby dočasného i stálého chrupu se vyvíjejí od střední čáry směrem dozadu (distálně), symetricky na obou stranách. Základy zubů dolní čelisti (mandibuly) se vytvářejí o něco dříve než základy zubů v čelisti horní (maxily). Po vývoji korunky nastává vývoj kořene a periodoncia (závěsného aparátu zubu), které se dokončují až po prořezání zubu do dutiny ústní. Základy všech 20 zubů dočasných a 32 zubů stálých jsou přítomny již při narození [10] [11] [12] [13].



Obr. 2 Ontogenetický vývoj zubu upraveno z [13]



Obr. 3 Stavba zubu upraveno z [11]

Zub je složen ze tří různých materiálů. Základním konstrukčním prvkem je dentin, složený z fosforečnanu vápenatého (72%), kolagenu a odontoblastů. Koruna je pokryta zubní sklovinou, což je extrémně pevný krystalický hydroxyapatit. Spojení s kostí zajišťuje kořen [14].

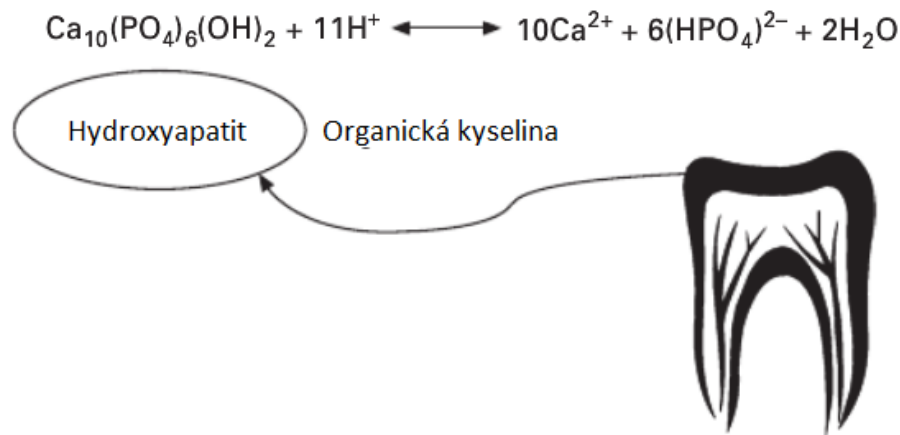
2.3 Poškození zubu

Orální choroby postihují značnou část populace. Zubní kaz nebo onemocnění parodontu jsou nejčastější zdravotní potíže dutiny ústní, které lidstvo postihují. Zubní kaz je komplexní chronické multifaktoriální onemocnění [15], které je způsobeno interakcí čtyř faktorů (zubní plak, strava, čas a hostitel). Tyto proměnné faktory však nemusí vysvětlit celý vývoj nemoci. Proto ve 30. letech 20. století začal genetický výzkum zaměřený na vznik zubního kazu. Lidská genetická dědičnost je klasifikovaná do dvou kategorií. První je dědičnost podle Mendela, která je vázaná pouze se změnami v jednom genu (monogenní), a druhou kategorií je komplexní dědičnost, která je výsledkem interakce genetického (většinou polygenního) a negenetického faktoru [16]. Některé studie zkoumaly geny pro náchylnost k zubnímu kazu. Genetická variabilita byla zjištěna u amelogeninu (gen pro skleroprotein, který se vyskytuje v primární zubní matrici), u tuftelinu (gen fosfosforylovaného glykoproteinu) a u enamelinu. Ovšem studie zdůrazňují, že je za potřebí dalšího výzkumu. Předpokládá se tedy, že náchylnost či odolnost vůči vzniku zubního kazu je výsledkem genetických a environmentálních interakcí [17].

2.3.1 Dentální plak a vznik zubního kazu

Lidské zuby jsou kalcifikované a potažené biofilmem původních a endogenních mikroorganismů [18]. Existují studie, které potvrzují, že biofilm zubního plaku, je příčinou vzniku zubního kazu a parodontitidy. Biofilm zubního plaku se skládá z několika set druhů bakterií [19]. Bakterie v biofilmu produkují extracelulární matrix látek, která se skládá ze sacharidů, proteinů, nukleových kyselin, lipidů respektive fosfolipidů [20]. Tato extracelulární matrix může tvořit až 90 % z biologické vrstvy. Jednou z přítomných bakterií je *Streptococcus mutans* a ta je zodpovědná za iniciaci zubního plaku. Bakterie také způsobují poškození zubů tvorbou kyseliny, která je produkovaná procesem fermentace v přítomnosti fermentujících cukrů jako jsou glukóza, sacharóza a fruktóza [21]. Tyto organické kyseliny demineralizují vápník a další kationty z krystalické struktury hydroxyapatitu na povrchu

zubu. Tělo proti demineralizaci bojuje produkcí slinného proteinu Statherinu, který napomáhá opětovné mineralizaci zubu. První viditelná změna při vzniku kazu, která ukazuje demineralizaci zubní skloviny, je průsvitná zóna [18].



Obr. 4 Vznik zubního kazu upraveno z [18]

Hydroxyapatit se hydrolyzuje ze skloviny zubu organickými kyselinami vylučovanými *Streptococcus mutans* a jinými kariogenními bakteriemi a dochází k rozpuštění vápníku a fosfátu [18]. Narušení sklovinné vrstvy (demineralizace) je příčinou vzniku zubního kazu. Obnovou zubní skloviny se zabýval výzkumný tým z King's College v Londýně. Dokázali remineralizovat zubní sklovinu elektrickým proudem (EAER, Electrically Accelerated and Enhanced Remineralisation), což by v budoucnu mohlo urychlit a zjednodušit léčbu zubních kazů [22].

2.3.2 Vliv výplně na vznik sekundárního zubního kazu

Léze zubního kazu vznikají interakcí odontopatogenních bakterií, které kolonizují na povrchu zubu [18]. V literaturách bývá uváděno, že amalgám a skloionomerní cement mají tzv. antikariogenní účinek, tedy že zabraňují vzniku sekundárního zubního kazu. Podle některých studií (např. [23] Christian Splieth) bylo u sekundárního kazu, vzniklého pod kompozitní výplní, mnohem více mikrobů než pod výplní amalgámovou [23]. Ovšem podle novější studie ([24] Si-su Mo) je množství bakterií u recidivního kazu pod oběma výplněmi srovnatelné.

2.4 Historie zubního lékařství

Používání zlata pro zhotovení protéz bylo dokázáno z archeologických nálezů [25]. Metody léčení zubů se postupem času, s vývojem technologie a nových materiálů mění. Nejprve se jakékoli poškození zubu léčilo jeho vytrhnutím, což ve většině případů bylo velmi bolestivé. Někdy spolu s nezdravým zubem docházelo k vytrhnutí i části dásně a čelistní kosti. Později dospěli lékaři k názoru, že je lepší zub zachránit a začali zkoumat možnosti výplně zubního kazu. Byly nalezeny ostatky mladopaleolitického *Homo sapiens*, které dokazují snahu o vyvrtání zubu, pravděpodobně ostrým úlomkem kamene. Vzniklá díra byla vyplněna pravěkým tmelem, který obsahoval stébla a chlupy. Předpokládá se, že tato výplň mohla být použita jako antiseptikum. V pozdější době našel uplatnění včelí vosk, kterým byla díra v zubu vyplněna [26]. Pokud poškození zubu bylo většího rozměru, byla použita náhrada celého zubu. Tak vznikly první dentální implantáty. Některé kultury použily zub zvěři, který pak zasadili do zlatých kroužků, které připevnili k ostatním zubům. Také se používala slonovina, která byla do dutiny ústní připevněna zlatými drátky [25].

Jednou z prvních výplní byla slitina stříbra a kapalné rtuti, spolu tyto dvě látky vytvořily pastu, která byla snadno zpracovatelná. Tento primitivní amalgám měl však značné nevýhody, jelikož při tuhnutí zvětšoval svůj objem, docházelo k přečnívání zubní výplně, která pak bránila skusu, nebo vnitřním tlakem zub praskl [27].

3 VÝPLŇOVÉ MATERIÁLY

Zubní kaz je celosvětový zdravotní problém. Standardní léčebný postup je odstranění kariézní zubní tkáně a její obnovení inertním výplňovým materiálem jako jsou amalgámy nebo dentální kompozity [28]. Více než polovina zubních výplní je způsobena vznikem sekundárního (recidivního) kazu, tj. nedostatečným odvrácením kazem napadené části zubu. Pro zabránění vzniku sekundárního kazu bylo prokázáno, že fluorid má antibakteriální účinky a proto se začaly vyvíjet výplně, které uvolňují fluorid. Například skloionomery a fluorid uvolňující kompozity [29].

3.1 Amalgám

Úplný počátek amalgámů byl v Číně, od 7. století se tento výplňový materiál začal používat i v Evropě. Postupně se upravovalo jeho složení, avšak stále nebyl zcela přijat kvůli obsahu rtuti. Na začátku 20. století byl zjištěn optimální poměr všech přítomných látek v soustavě Ag–Zn–Hg a to iniciovalo první zavedení normy pro dentální materiály v roce 1920, která byla vydána Americkou dentální asociací (ADA). Podle normy musely amalgámové slitiny, konvenční amalgámy, obsahovat nejméně 65 % stříbra a maximálně 29 % cínu, 6 % mědi a 2 % zinku [27].

V pozdější době byly smíchány dva druhy amalgámů, konvenční stříbrný a slitina Ag–Cu, tzv. disperzní amalgám [30]. Tato výplňová hmota byla oproti původním konvenčním amalgámům pevnější v tlaku. Zjistilo se, že tato pevnost byla způsobena chemickou reakcí, která probíhala v amalgámu s přísadkou slitiny [27].

Dalším druhem amalgámu je moderní amalgám, který má obsah mědi v rozmezí od 10 % do 30 % [30].

3.1.1 Složení amalgámů

Výplňový materiál, který se označuje jako amalgám, vzniká rozpuštěním kovu ve rtuti. Prášek bývá složen z Ag, Sn, Cu. Poměr použitých prvků se liší a určuje vlastnosti zhotoveného amalgámu. Prvky, které se přidávají ve stopovém množství, jako jsou Au, Pt a In, mají na vlastnosti zhotoveného amalgámu jen zanedbatelný vliv [27].

3.1.2 Vlastnosti amalgámů

Jeden z hlavních důvodů použití amalgámu je, že bod tání je okolo 300 °C, což v krátkém čase bývá dobře tolerováno lidskými zuby. Rychlost tuhnutí je taková, že manipulace

při výměně je velmi snadná. Výplň zůstává po krátkou dobu měkká, takže může být zabalena pro obsazení nepravidelné výdutě, později tvoří pevnou hmotu [1]. Vlastnosti amalgámů lze dělit podle několika kritérií na chemické, fyzikální nebo biologické. Obecně mají amalgámy dobré fyzikální vlastnosti, jsou snadno manipulovatelné a mají dobrou klinickou snášenlivost. Nevýhodou je, že po čase v ústech korodují a jejich povrchová kvalita je narušená [27]. Amalgám, díky svému obsahu stříbra a mědi, má bakteriostatické účinky a tím omezuje vznik sekundárního zubního kazu (antikariogenní účinek) [30]. U nových typů amalgámů, to jsou amalgámy s velkým obsahem mědi, se často u větších kavit projevuje velká expanze a dochází tak k pnutí, což má za následek prasknutí zubu. Proto se doporučuje u kavit větších rozměrů použít kompozitní výplňové materiály s vazebným systémem na sklovinu [27].

Trvanlivost amalgámů je poměrně delší než u ostatních výplňových materiálů [29]. Je podmíněna řadou faktorů, nejvíce závisí na kariezním zubu, věku pacienta, typu amalgámové výplně a v neposlední řadě na ústní hygieně pacienta. Doba trvanlivosti amalgámové výplně je různá, některé zdroje (Preklinická stomatologie, Jansová) uvádí přibližně 7 až 10 let [27], ovšem pokud je plomba v dobrém stavu, může zůstat i delší dobu. Problém může vzniknout, když je v ústech více stejných slitin různé výroby, pak mohou mezi amalgámovými plombami vznikat galvanické proudy. Jedná se o rozdíl elektrodových potenciálů různých slitin kovů.

Tab. 1 Vliv jednotlivých prvků na amalgámovou výplň [30]

Prvek amalgámu	Podmiňující vlastnost amalgámu
Ag	Mechanická odolnost, odolnost vůči korozi (a dlouho-trvající lesk), expanze
Sn	Antagonista Ag, kontrakce, plasticita
Cu	Podobné jako Ag



Obr. 5 Zkorodovaný konvenční amalgám z [30]

3.1.3 Problematika rtuti v amalgámu

Rtuť je kovový prvek, jenž se vyskytuje v jednom z nejčastěji používaných výplňových materiálů. Zoxidovaná forma rtuti má zašedlou barvu a před přípravou amalgámu by měla být přefiltrována. Čistá kovová rtuť by byla nebezpečná pouze při zpracování amalgámu, kdy dochází k odpařování. Dnes je využíváno strojové míchání v uzavřeném systému, takže k odpařování nedochází, při odvrtávání bez chlazení je možnost, že by se rtuť vyskytovala ve formě par [30]. Chronická koncentrace rtuti v těle z amalgámového zdroje může být ovlivněna i pH v ústech pacienta [31]. Rtuť se také může ze zubního amalgámu uvolňovat při odstraňování staré výplně, případně při likvidaci přebytečného materiálu. Emise rtuti do ovzduší způsobené lidskou činností a přirozeným uvolňováním daleko přesahují emise rtuti z dentálního amalgámu, který se využívá v zubním lékařství, ty jsou odhadované na 20 tun za rok [32].

3.1.4 Negativní působení rtuti v lidském těle

Páry rtuti jsou lipofilního charakteru, mohou procházet membránami, například hematoencefalickou bariérou a placentou. Pára je dobře rozpustná v krvi a tkáních a důsledkem aktivity katalázy se oxiduje. Rtuť se ukládá především v centrálním nervovém systému včetně fetálního mozku. Kovová rtuť se dokáže navázat a hromadit v ledvinách. Vylučuje se především močí [33]. Při inhalaci rtuti se přibližně 80 % z vdechovaných elementárních částic

dostane až do plic [32]. Ze studií Minamata byla zjištěna hranice rtuti ve vlasech 50 ppm, kdy se začínají objevovat první příznaky intoxikace methylrtutí. Neurotoxické účinky rtuti u dospělých lidí se projevují něco málo pod hodnotou 30 ppm. V jiné studii se hranice v krvi pohybuje od 0,1 do 0,5 $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Při těchto hodnotách se u 5 % případů začaly objevovat první příznaky, kterými jsou parestezie a dysartrie [33]. Existuje celá řada možných zdravotních problémů způsobených rtutí uvolněné z amalgámových výplní. Známé účinky ovlivňují nervový, imunitní, respirační, kardiovaskulární, gastrointestinální ale i reprodukční systém [32].

3.1.5 Aktuální situace v EU

Stanovisko SCENIHR (Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks) aktualizuje předchozí návrh z roku 2008. Hodnotí se v něm bezpečnost zubního amalgámu a jeho možné alternativy jako jsou kompozity na bázi pryskyřic, skloionomerní cement, keramika a slitiny zlata. Avšak i alternativní materiály mají svá omezení. Například některé z použitých monomerů u kompozitních výplní na bázi pryskyřice jsou *in vitro* cytotoxické pro buňky zubní dřevě. Materiál se volí s ohledem na charakteristiku pacienta, jedná se o primární nebo trvalý zub, těhotenství, přítomnost alergií na rtuť nebo na nějakou složku z dalších výplňových materiálů, případně množství již existujících amalgámových výplní [32].

Ochrana občanů před novými zdravotními riziky SCENIHR uznává, že stávající důkazy nevyklučují používání amalgámu v konzervačním zubním ošetření u běžné populace. Obecný závěr je, že nebyly pozorovány žádné zvýšené nežádoucí systémové účinky a je za to, že současné užívání zubního amalgámu nepředstavuje žádné riziko systémového onemocnění. Je známo, že některé nežádoucí místní účinky jsou občas pozorovány u zubní amalgámové výplně, avšak incidence je nízká a obvykle snadno zvládnutelná. Zubní regenerační terapie v průběhu těhotenství jako u každého jiného terapeutického ošetření, by měla být co nejvíce omezena, aby se snížila expozice plodu [32].

Z tohoto důvodu navrhla Evropská komise zakázat používání amalgámu u těhotných a kojících žen, ale i u dětí do šestnácti let. Debatuje se i o úplném zrušení amalgámových výplní v zubní medicíně v celé Evropské unii.

3.2 Kompozitní výplně

V poslední době roste poptávka po vyztužených kompozitech určených pro dentální aplikace [34]. Kompozitní výplň se používá jako alternativa k amalgámovým výplním. Lze je rozdělit podle určité aplikace a jejím konkrétním požadavkům. Časté uplatnění nalézají jako výplňové materiály, tmely, cementy ale i prozatímní materiály [35]. Kompozitní výplňové materiály jsou složeny z organické a anorganické složky, jsou to heterogenní materiály z polymerní matrice a částicového plniva, které je pevně vázáno k organické pryskyřici. Pojivem je organická pryskyřice, která materiál váže. Anorganickým plnivem jsou částičky skla, ty dodávají chemickou a mechanickou odolnost a díky bílé barvě přirozený vzhled [30]. Dalšími přísadami můžou být například pigmenty nebo absorbenty UV záření, které zajišťují, aby kompozit neměnil barvu v průběhu času. [36]



Obr. 6 Výměna staré kompozitní výplně upraveno z [36]

Na obrázku 4 (Obr. A) je vidět na levém středním řezáku stará a diskolorovaná kompozitní výplň. Po odstranění staré kompozitní výplně (Obr. B) se na preparovaný zub nanese leptací gel (Obr. C). Poté se nanáší vazebný prostředek (Obr. D), který byl následně vytvrzen pomocí světla (Obr. E). Byla použita univerzální nanohybridní kompozitní pryskyřice (Obr. F). Po opracování a ozáření první vrstvy, byla nanesena a ozářena vrstva druhá (Obr. G). Povrch byl opracován diamantovým brouskem a leštěn diskem potaženým oxidem hlinitým (Obr. H).

3.2.1 Složení kompozitních materiálů

Anorganické plnivo je pevně vázáno k organické matici, která je tvořena monomery, kopolymerem, inhibitory samovolného tuhnutí, stabilizátory a iniciačním systémem [30]. Existuje spousta různých organických složek, které se liší především hydrofilností, nejčastěji se jedná o monomer z části hydrofilní a části hydrofobní.

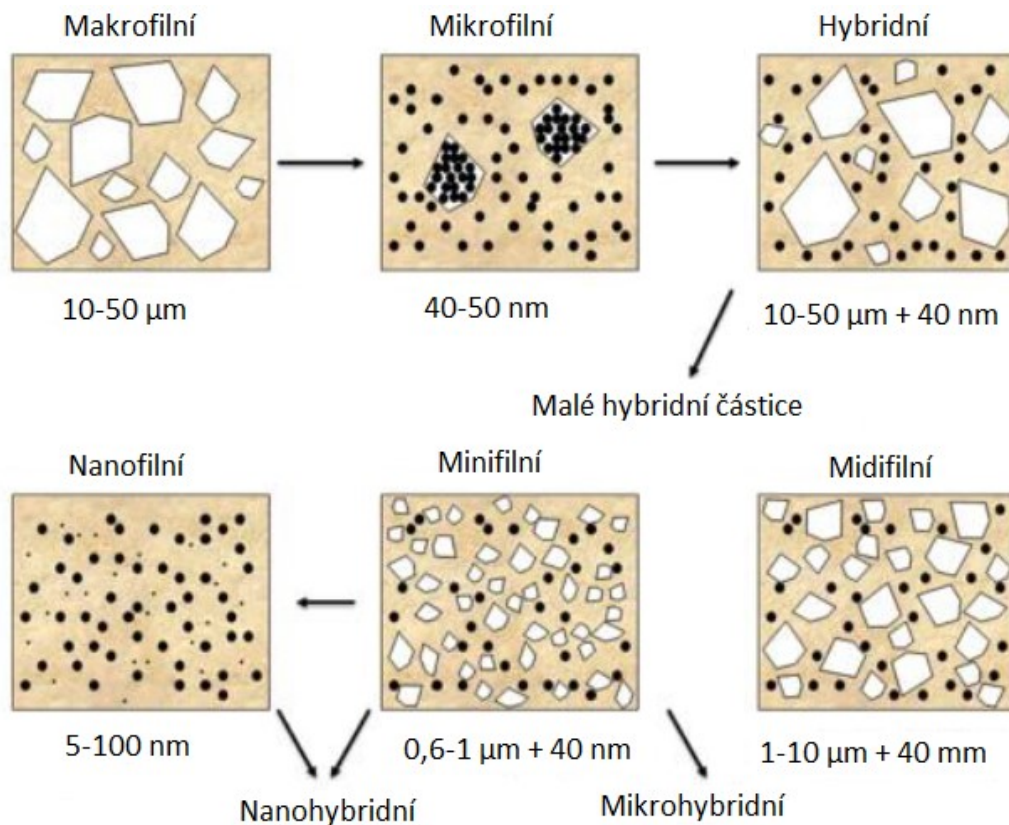
Plnivo je složeno z částecek obsahujících křemen (SiO_2), oxid hlinitý a boritý, fosfát, sklo (Sr, Ba), sklokeramiku, keramiku a barevné pigmenty [30]. Plnivo snižuje polymerační kontrakci. Čím je částice skla menší, tím lépe se materiál leští.

Jako pigmenty se využívají oxidy kovů, které zajišťují opacitu, tj. neprostupnost látky tělesa v důsledku absorpce či rozptylu pro světelné, radiové, rentgenové, akustické apod. záření.

3.2.2 Klasifikace podle velikosti částic plniva

V rámci každého typu kompozitních materiálů jsou charakteristické vlastnosti, které jsou dány velikostí výztužných plniv. Velikost částic běžných kompozit přesahovala $1\ \mu\text{m}$, vyskytovaly se však i kompozity, kdy jejich plniva měla průměr přibližně jako lidský vlas, to je okolo $50\ \mu\text{m}$. Takto tvořené kompozity, jsou označovány jako makrofilní [35] [37]. Materiál má velmi dobré mechanické vlastnosti, je odolný vůči abrazi, vylomit velkou částici z matrix je náročné. Jsou barevně nestálé a způsobují kontrakci a pnutí mezi monomery. Vyznačují se velkou tvrdostí, avšak leštění nebo dosažení hladkého povrchu je obtížné [35].

Z estetického hlediska se jako další začaly vyrábět mikrofilní kompozity, jejichž plnivé částice mají velikost do $0,5\ \mu\text{m}$. Jsou poměrně snadno lešitelné a barevně stálé, avšak mají nízkou mechanickou odolnost. O něco málo větší jsou midifilní částice [35].

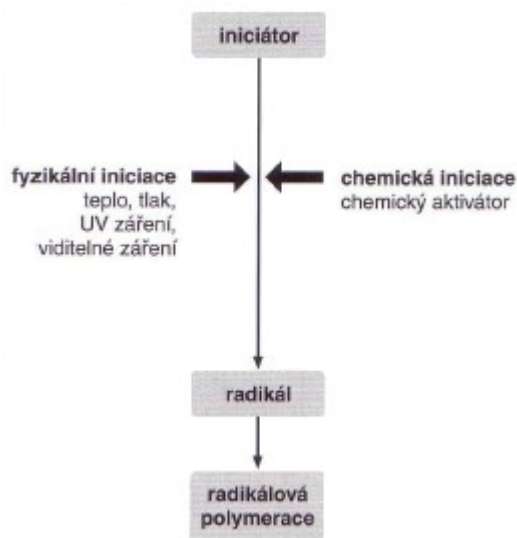


Obr. 7 Schéma různých velikostí částic kompozit upraveno z [38]

3.2.3 Klasifikace podle druhu polymerizace

Tuhnutí pryskyřicových kompozitních výplní lze dělit podle způsobu iniciace tuhnutí materiálu na: [30]

- chemicky tuhnoucí
- světlem tuhnoucí
- světlem a chemicky tuhnoucí
- teplem a světlem tuhnoucí
- teplem tuhnoucí



Obr. 8 Iniciace polymerace kompozitních pryskyřic [30]

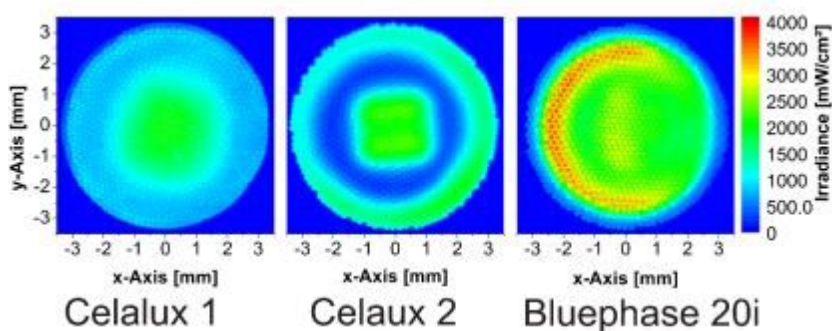
3.2.3.1 Světlem tuhnoucí kompozit

Materiál využívající k tuhnutí světlo, fotoiniciaci, se nazývá fotokompozit. Nejčastější uplatnění nalézá jako materiál pro korunky nebo vložky kořenových kanálků [37]. K tuhnutí se používá modrá část viditelného světla (VLC – Visible Light Cure), jeho vlnová délka se pohybuje v rozmezí od 420 do 500 nm. Běžným iniciátorovým systémem je kافرchinon (CQ) a ethyl-4-(dimethylamino)benzoát (DABE) [37]. Dalšími fotoiniciátory, které se používají, jsou například PPD (1-fenyl-1,2-propandion), Lucirin TPO (oxid monoacylphosphine) a oxid bisacylphosphine pod komerčním názvem Irgacure 819 [35]. Funkcí iniciátoru je přeměna světelné energie do radikálového stavu molekul iniciátoru [37]. Po ozáření halogenovou žárovkou, LED světlem, argonovým laserem nebo xenonovým světlem se CQ rozpadá na radikály, tím je fotopolymerace zahájena. Převažující monomer, který se vyskytuje v komerčních výrobcích, je bis-GMA, má vysokou viskozitu, a proto bývá míchán s dimethakryláty jako je TEGMA, UDMA [35]. Viskózní monomery s velkou molekulovou hmotností se používají, aby se zabránilo nadměrnému smrštění v průběhu polymerace. Nízko hustotní monomery s malou molekulovou hmotností se využívají především pro zlepšení reologických vlastností [37].

Proces fotopolymerace

Fotopolymerace probíhá radikálovým způsobem. Iniciací je zahájena ozářením, které předává molekule CQ energii, a ta přechází do excitovaného stavu. V tomto stavu je CQ schopen reagovat s molekulou DABE a aktivovat tak aminoalkylové radikály. Po světelné aktivaci začnou molekuly iniciátoru ve formě radikálů polymerizaci s monomerem [37].

Finální vlastnosti jsou odvislé od dobrého zesíťování, které závisí na správném úhlu ozáření, na délce expozice a na použité ozařovací jednotce. Rozložení světla závisí na vnitřním nastavení světelné jednotky (například odraz světla zrcátky). Tak mohou vznikat místa s nižší a vyšší intenzitou ozáření [37].



Obr. 9 Snímky pořízené profilem laserového paprsku: Celalux 1, Celalux 2 a Bluephase 20i Turbo [37]

To vede k lokálně odlišným stupňům vytvrzení, a tím k různým mechanickým vlastnostem, které se odrážejí v distribuci tvrdosti vzorků. Zvýšení doby expozice vede ke zvýšení tvrdosti materiálu. Plochy s nízkým ozářením však vždy vykazují nižší hodnoty tvrdosti ve srovnání s plochami vystavenými vysokým ozářením, bez ohledu na dobu expozice. Vytvoření zesíťované polymerní struktury během foto-polymerizace je rychlý proces. A jeho reakční rychlost dosáhne maxima po několika sekundách [37].

3.3 Skloionomerní cement

Skloionomerní cement neboli také sklopolyalkeonátový cementy byly vynalezeny Wilsonem ve vládní laboratoři v roce 1969. Do klinické praxe byly zavedeny od roku 1972 [39]. První skloionomerní cement byl opatřen zkratkou "ASPA" (alumino silicate polyal-

kenoic acid), jako prášek obsahoval sklo z oxidu křemičitého a kapalinou byla polyakrylová kyselina [39] [40].

Tyto cementy se skládají z organické části, kterou bývá kyselina polyalkenová a kyselina hydroxykarbonová, a z anorganické části, což je rektivní aluminium-silikátové sklo. Reakčním médiem je voda [30]. Skloionomerní cement vzniká acidobazickou reakcí mezi aluminium-silikátovým sklem a kyselinou polyalkenovou [41].

3.3.1 Dělení podle typu tuhnutí

Skloionomerní cementy lze dělit podle typu tuhnutí. Prvním typem jsou samotuhnoucí cementy, kde reakce probíhá acidobazicky. Druhá možnost tuhnutí je dual, kdy se využívá fotopolymerace v kombinaci s acidobazickou reakcí. Poslední typ se nazývá tri cure. Oproti předešlým typům navíc probíhá autopolymerace pryskyřičné složky [30].

Jeho koeficient tepelné roztažnosti je podobný struktuře zubu a jsou biokompatibilní [39]

3.3.2 Vlastnosti skloionomerních cementů

U skloionomerního materiálu vzniká chemická vazba ke sklovině a dentinu, která je způsobena iontovou výměnou. Adheze ke sklovině je silnější než k dentinu, vzniká reakcí karboxylových skupin kyseliny s kalciovými ionty, ty se vyskytují na povrchu zubní tkáně. Z materiálu se dlouhodobě uvolňují ionty fluoru, jenž mají antikariogenní účinek. Uvolněné fluoridové ionty pozměňují mikrobiální plak, který je na povrchu zubů [30]. Fluorid zvyšuje pevnost v tlaku a snižuje dobu tuhnutí cementu [41].

4 IMPLANTÁTY

Implantát je medicinský přípravek konstruovaný z jednoho nebo více biomateriálů, který je záměrně umístěn do těla za účelem nahradit poškozenou tkáň a z části nebo úplně nahradit funkci části lidského organismu.

Pro zhotovení implantátů se využívají biomateriály – především polymery, kovy, keramika a kompozity. Použití polymerů jako je například polystyren (PS) nebo polymethylmethakrylát (PMMA) v zubním lékařství pro umělé zuby začalo v roce 1930 [37]. Na základě reakce tkáně s biomateriálem lze implantáty, používané v dentálních aplikacích, dělit do tří skupin.

Na biotolerantní, bioinertní a bioaktivní [3].

a) Biotolerantní materiál

Biotolerantní materiál je takový, který je tkání plně tolerovaný a nevyvolává žádné nežádoucí reakce organismu. Do této skupiny se řadí především slitiny obecných kovů a ušlechtilé kovy, tedy materiály, které jsou biologicky tolerované [2].

Biomateriály v dentálních aplikacích jsou odděleny od kostní tkáně vrstvou tkáně fibrózní [42]. Mezi implantátem a kostí dochází k fibrointegraci, tedy ke vzniku různě silné spojovací vrstvy vaziva. Dle některých autorů, (např. Šimůnek – dentální implantologie [2]), jsou biotolerantní materiály pro dlouhodobou aplikaci nevhodné. „*Pro fibrogenaci je typický vznik různě silné spojovací vazivové vrstvy mezi kostí a implantátem, což není pro dlouhodobé vhojení a funkci ideální a může to vést dokonce i k částečné explantaci.*“ [2] Největší problém, který se vyskytuje u této skupiny, je koroze, v povrchové vrstvě dochází k elektrochemické interakci a kovové ionty mohou přestupovat do tkáně, na kterou mnohdy působí toxicky [2].

b) Bioaktivní materiál

Je biologicky aktivní, řadí se sem například hydroxyapatitová keramika, sklokeramika, keramika trikalciemfosfátová a tetraalkalciemfosfátová [2]. Hydroxyapatit má vynikající biologické vlastnosti, jeho složením a krystalickou strukturou se podobá apatitu v lidském zubu. Jeho částice byly začleněny do skloionomerního prášku [39].

Bioaktivní materiály uvolňují v kosti kalciové a fosfátové ionty. Dochází k fyzikálně-chemickému spojení s kostí, biointegrace [2].

c) *Bioinertní materiál*

Pojem inertní z biochemického hlediska znamená, že materiál má malou nebo žádnou schopnost reagovat chemicky nebo fyziologicky [43]. Materiál je biologicky neaktivní, nejvíce používán je titan a jeho slitiny, uhlíkové materiály a aluminiumoxidová a zirkoniumoxidová keramika. Též se používají polymerní materiály, jako jsou PE, PP, PTFE, PA a další.

Do této skupiny spadají materiály, které jsou pro tkáň biologicky zcela akceptovatelné. Za určitých podmínek, správného tvaru, úpravy povrchu, způsobu inzerce, je možné, aby sousední kostní tkáň byla v přímém kontaktu bez vazivové vrstvy, osteointegrace [2]. Pojem osteointegrace rozumíme funkční uchycení implantátu [44]. Nesmí dojít k chemickým reakcím mezi implantátem a tkání [2].

Titan je velmi mechanicky odolný při nízké specifické hmotnosti, na povrchu se vytvoří malá vrstva TiO , TiO_2 a hydridů titanu, tato vrstva odolává korozi a má i bakteriostatický efekt. Po dalším opracování se vrstva opět obnoví [2] [42].

4.1 Klasifikace dentálních implantátů

V současné době existují tři hlavní typy zubní protézy, jsou to snímatelné náhrady, celkové zubní implantáty a pevné můstky [11]. Dentální implantáty lze řadit do několika skupin, podle vztahu k prostředí dutiny ústní na uzavřené, polouzavřené a otevřené. Skupina otevřených implantátů se dělí na sub-, intramukózní dále subperiostální a endoseální, ty mohou být čepkové, válcové a ostatního typu [2].

4.2 Dentální keramika

Ačkoli jsou kovy nejčastěji používaný materiál ve stomatologii, nevypadají jako přirozený zub. K dosažení estetického vzhledu se začala používat keramika [45]. Ve stomatologii byla již od konce 18. století. Z počátku 20. století byly objeveny žaketové korunky, které bývaly vypalovány na platinové fólii a zhotovovány ze živcového nebo korundového porcelánu. Na konci 20. století se začaly rozvíjet nové technologie pro výrobu celokeramických náhrad, lisovaná keramika, infitovaná keramika, systémy CAD/CAM a MAD/MAM [25]. Literatura definuje keramiku jako anorganické, nekovové materiály vyrobené člověkem zahřátím surových minerálů při vysokých teplotách [46].

Přednostmi keramiky jsou výborná estetika, biokompatibilita a trvanlivost [25]. Navíc jsou keramické implantáty vhodné pro pacienty s alergií na kovy jako je titan [11]. Sklokeramika se využívá ve velké míře jako výztužné prostředky, plniva pro dentální kompozita. Též se používá v některých dentálních cementech a dočasných výplňových materiálech [45]. Keramické systémy se dají dělit podle několika kritérií, dle chemického složení na převážně skelné materiály, částečně plněné skelné materiály a polykrystalické materiály. První typ, převážně skelné materiály obsahující amorfní skelnou matrix, má čtyři atomy kyslíku a jeden atom křemíku vázané kovalentní a iontovou vazbou. Optické vlastnosti odpovídají přirozenému zubu [47]. Keramické hmoty dle teploty tavení se rozlišují na vysokotavitelné, nad 1300 °C, středně tavitelné (1100–1250) °C a nízko tavitelné (870–1050) °C. U metody infiltrace může teplotní rozsah přesáhnout i 1500 °C [25].

4.2.1 Složení keramických materiálů

Keramika se skládá především z kovových a nekovových součástí. Většina těchto materiálů jsou oxidy tvořené spojením kyslíku a kovu, jako je hliník, křemík, vápník a hořčík [45]. Dentální porcelán je tvořen ze tří složek: živce, kaolinu a křemene. Křemičitan hlinitodraselný neboli živec se po vypálení stává spojovacím materiálem. Křemen udává tvar a při zahřívání se mírně rozpíná [25]. Porcelán je specifickým typem keramického materiálu rozsáhle používaného v zubním lékařství. Vyskytuje se ve dvou fázích, krystalický a amorfní. Atomy, které tvoří keramiku, mohou být spojeny kovalentní nebo iontovou vazbou [45].

Živec je tavitelný při 1290 °C, jeho chemické složení je $K_2O \cdot Al_2O_3 \cdot 6SiO_3$, obsahuje příměsi, jako je slída nebo železo, které mohou způsobit odlišné zbarvení, proto se po rozemletí z prášku odstraňují pomocí magnetu. Stabilitu zajišťuje křemen a oxid křemičitý, dodává výrobku tvar při zahřívání a pálení [47].

Kaolin se po smísení s vodou stává mazlavým a je spojovacím prvkem směsi, díky němu je materiál matný a neprůhledný [47]. V moderních materiálech se vyskytuje kaolin velmi málo, byl zaměněn oxidem hlinitým, který zvyšuje mechanickou odolnost [25]. Pigmenty jsou látky, které se používají pro přirozenou barvu keramiky, například to jsou oxidy titanu, železa nebo niklu, kobaltu a další [47].

4.2.2 Vlastnosti keramického materiálu

Keramika je charakteristická pro svůj vysoký bod tání a nízkou tepelnou a elektrickou vodivost. Je vyráběna tavením práškových oxidů v pecích při vysokých teplotách [45]. Po vypálení obsahuje dentální keramika dvě fáze, uvnitř se nachází fáze krystalická, která je překryta amorfní skelnou hmotou [25]. Keramika je inertní, tedy málo chemicky reaktivní [45].

Dentální keramika jako ostatní protetické materiály degraduje vlivem ústních tekutin, tj. podléhá korozi. Z povrchu keramické náhrady mohou být uvolňovány ionty, potenciální toxickou reakci mohou vyvolat prvky, jako je například hliník, lithium, draslík a další.

4.2.3 Kovokeramické náhrady

Náhrada se skládá z nosné konstrukce a ze zevního estetického pláště. Základem konstrukce je dentální slitina, u kovokeramických náhrad, nebo keramika, celokeramické náhrady. Plášť, který tvoří vnější povrch, se nanáší po vrstvách [25].

Kovokeramické náhrady se vyrábějí několika způsoby. Jedna z možností je odlévání z dentálních slitin určených pro napalování keramiky, nebo elektrogalvanicky (galvanoformingem). Dále se dají náhrady připravit adaptací a tepelným ošetřením speciálních fólií a nejnovějším způsobem je technologie CAD/CAM. Jedná se o počítačovou modelaci a výrobu. Frézování z bloků pomocí kamer s počítačově řízenou frézou. Materiál je obráběn pomocí diamantových nástrojů případně laserového paprsku [25]. Keramické výplně vyrobené touto metodou prokázaly vynikající uchycení, pevnost a dlouhověkost [46].

4.2.4 Celokeramické náhrady

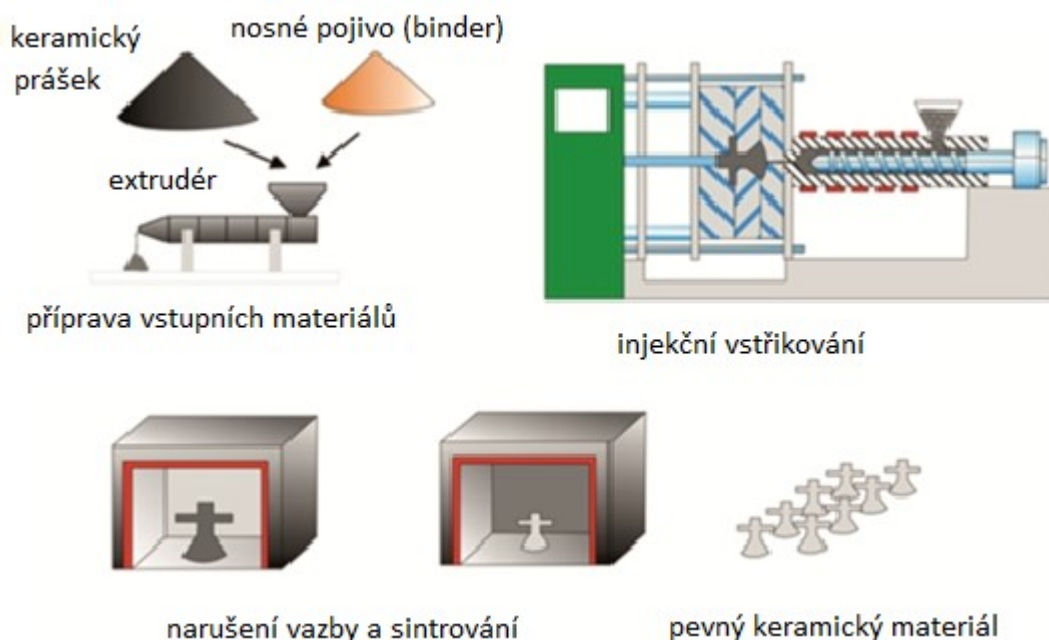
Celokeramickou náhradu lze vyrábět čtyřmi technologickými postupy. Sintrovací neboli šlikrovací technikou se zpracovává infiltrační keramika. Metoda je založena na natírání vrstev keramické kašovité hmoty na model z porézní sádry. Další možností, jak zhotovit náhradu, je lití a lisování. Frézování CAD/CAM a frézování MAD/MAM, což je v podstatě jednodušší varianta systémů CAD/CAM, přístroj naskenuje a manuálně vyfrézuje předtvar [25].

4.2.5 PIM keramika

Vyrobena technologií PIM (powder injection molding).

4.2.5.1 Technologie PIM

Práškové vstřikování je inovativní a nákladově efektivní výrobní proces běžně používaný pro komplexní, vysoce kvalitní lékařské a zubní komponenty [48]. Při tomto způsobu se polymer a prášek smísí za vzniku směsi s nízkou viskozitou, která umožňuje tvar tváření. Tento proces se obvykle provádí za použití prášků s velikostí částic v rozmezí 5–45 μm . U technologie PIM se dá určovat porozita a velikost pórů [49]. Při tvarovacím procesu je polymer naplněn rozptýleným kovovým nebo keramickým práškem. Pomocí této technologie lze vyrábět přesně tvarované díl [50].



Obr. 10 Schéma PIM technologie upraveno z [51]

PIM technologie pro dentální aplikace jsou zatím málo studované, a proto je praktická část zaměřená na stanovení základních biologických vlastností. Porozita a složení materiálu mohou ovlivnit finální biologickou odezvu.

PRAKTICKÁ ČÁST

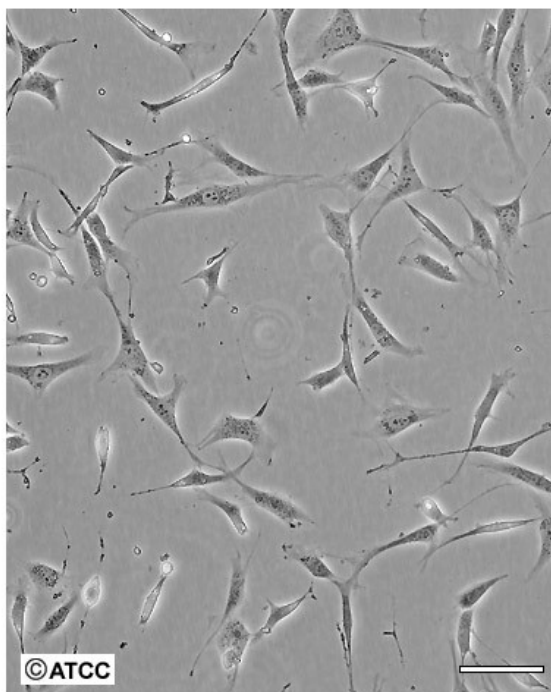
5 CYTO-KOMPATIBILITA PIM MATERIÁLU

Cílem praktické části bylo stanovení cytotoxicity PIM materiálu s potenciálem pro využití v dentálních aplikacích. Cytokompatibilita byla konkrétně stanovena jednak testem toxicity extraktu z PIM keramiky a dále pomocí stanovení buněčné adheze na povrch materiálu. Metodika testování vychází z mezinárodních standardů EN ISO 10993-5 Biologické hodnocení zdravotnických prostředků – Část 5: Zkoušky na cytotoxicitu *in vitro*. Extrakce probíhala v souladu podle stejné normy, ale z 12. části, EN ISO 10993-5 Biologické hodnocení zdravotnických prostředků – Část 12: Příprava vzorků a referenční materiály.

5.1 Použitá buněčná linie

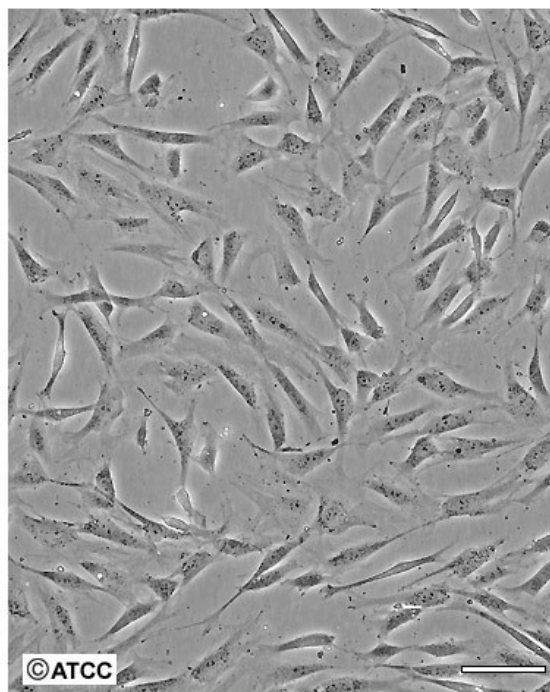
Na testování byla použita kultura buněk NIH/3T3 (ATCC CRL-1658TM), toto označení se používá pro myší embryonální fibroblasty, které jsou adherentní. Kultivace probíhala na tkáňovém polystyrenu TPP.

ATCC Number: **CRL-1658**
Designation: **NIH/3T3**



Low Density

Scale Bar = 100µm



High Density

Scale Bar = 100µm

Obr. 11 NIH 3T3 z [52]

5.2 Použitý materiál

Použitý materiál byl vyroben na Ústavu výrobního inženýrství FT UTB. Vzorčky se lišili obsahem jednotlivých složek materiálu. Materiály se skládaly z oxidu hlinitého, chloridu draselného a nosného pojiva (binder). PIM2 obsahoval 30 objemových % Al_2O_3 , ve stejném poměru i KCl (30 obj. %) a nosné pojivo 40 obj. %. Materiál PIM3 se skládal z Al_2O_3 20 obj. %, KCl 40 obj. % a binder 40 obj. %.

5.3 Cytotoxicita extraktu

První den byly buňky zpasažovány a vysazeny na dvě 96 jamkové destičky. Pro test cytotoxicity byl použit extrakt z PIM materiálu. Po odstranění částic keramiky z extraktu pomocí filtrace přes 0,2 μm filter (Milipore) byl v různých koncentracích přidáván k buňkám nasazeným v platu. Do druhé 96 jamkové destičky nebyl přidáván extrakt, pouze bylo vyměněno médium a buňky byly ponechány jako reference. Po 24 hodinách, před zahájením testu MTT, byly udělány mikrofotografie buněk pomocí mikroskopu Olympus IX81. Poté byl proveden test MTT a vyhodnocena cytotoxicita materiálu.

5.3.1 Pasážování

Jedná se o oddělení buněk od povrchu enzymatickým působením. Po odsátí média byly buňky propláchnuty 15 ml roztoku pufru PBS (Phosphate Buffered Saline). Buňky musí být promyty pomocí PBS, kvůli důkladnému odstranění zbytků média. Jelikož médium obsahuje Ca ionty, které inhibují trypsin, nebylo by možné buňky oddělit od povrchu. Po odsátí PBS bylo k buňkám přidáno 7,5 ml trypsinu a buňky byly na 5 minut dány do inkubátoru. Po oddělení buněk od povrchu bylo pro neutralizaci přidáno 7,5 ml média DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium). Celý objem i s buňkami byl převeden do zkumavky, která se umístila do centrifugy, a po dobu tří minut byl obsah odstředován při otáčkách 1100 rpm. Po odstředění se médium s trypsinem odsálo a ve zkumavce zůstaly pouze buňky, které byly v koncentraci 10^5 buněk na 1 ml vysazeny do 96 jamkového platu.

5.3.2 Příprava extraktu

Vzorčky byly rozdrceny v třecí misce na prášek a podle normy biologické hodnocení zdravotních prostředků na testy *in vitro*, ČSN EN ISO 10993-5, bylo použito na 0,2 g práškového vzorku na 1 ml kultivačního média. Směs byla umístěna do orbitální třepačky a byla protřepávána po dobu 24 hodin při 37 °C. Po ukončení extrahování byla směs přefiltrována

přes filtrační nástavec s vrstveným předfiltrem ze skleněných vláken a membránovým filtrem (0,2 μm) pro injekční stříkačky.

5.3.3 MTT test

MTT test je vyhodnocení viability buněk na základě spektrofotometrie. Buňkám vystaveným extraktu i buňkám reference bylo před započítáním testu MTT vyměněno médium. Do jednotlivých jamek bylo přidáno 10 μl MTT (3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-difenyl tetrazolium bromidu). Principem metody MTT je schopnost živých buněk přeměnit thiazolovou sůl na nerozpustné fialovo-modré krystalky formazanu, který se rozpustí pomocí organického rozpouštědla DMSO (Dimethylsulfoxid). Po čtyřech hodinách byl obsah jamek odsát (ponecháno 40 μl) a bylo přidáno 80 μl DMSO. Po patnácti minutách se změřila absorbance při 570 nm, referenční vlnová délka byla nastavena na 690 nm (Tecan, Infinite M200 PRO). Výsledky jsou uvedeny jako snížení životaschopnosti buněk v relativní buněčné viabilitě ve srovnání s buňkami kultivovanými v čistém médiu.

5.4 Adheze buněk na povrch materiálu a proliferace

Před započítáním testu byl materiál vysterilizován a přemístěn na 3,5 ml miskou. Na povrch materiálu bylo nanášeno 100 μl média s buňkami v koncentraci 10^6 buněk na 1 ml média. Účelem bylo zajistit prvotní adhezi buněk na povrchu, aniž by médium mohlo stéct z povrchu vzorku. Po třiceti minutách byly přidány 2 ml média a následně byly vzorky kultivovány za standardních podmínek. Buňky rostly při prvním pokusu dva dny a při druhém pokusu po dobu tří dnů. Poté byly buňky zafixovány a obarveny pro focení mikroskopem.

5.4.1 Sterilizace PIM keramiky

Aby mohla být zkoumána buněčná adheze s keramikou, musel být materiál nejdříve vysterilizován. Sterilizace keramiky probíhala v sušárně po dobu čtyřiceti minut při teplotě 120 °C.

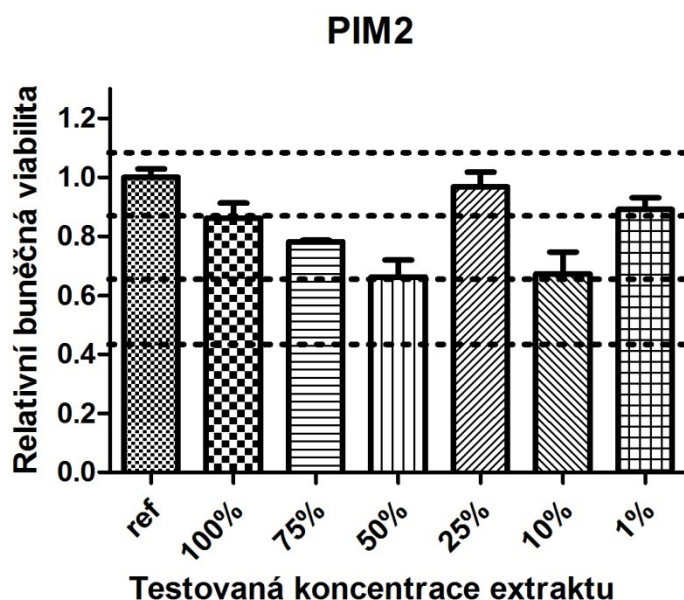
5.4.2 Fixace buněk a barvení buněk

Před samotnou fixací se odsaje staré médium a buňky se zafixují pomocí 4% formaldehydu, který se nechá působit po dobu patnácti minut. Poté se formaldehyd odsaje a buňky se propláchnou PBS. Po odsátí se přidá 0,5 Triton X-100, ten se nechá působit pět minut. Objem se odsaje a třikrát promyje PBS. Od této chvíle se musí pracovat ve tmě. Do PBS se přidají na 1 ml dvě kapky barviva AktinRedTM 555, který barví aktinová vlákna

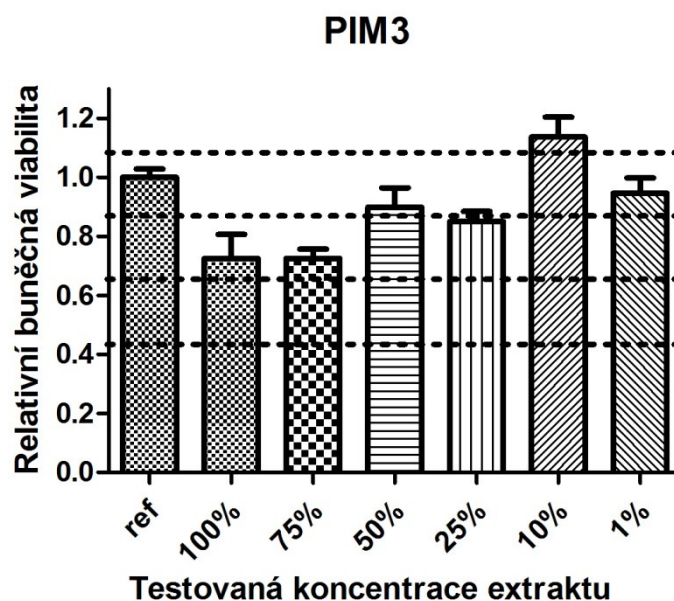
na červeno. Pro obarvení DNA na modro se používá Hoechst, přidá se v poměru 20 kapek na 1 ml. Po třiceti minutách v inkubátoru byly pořízeny mikrofotografie morfologie buněk z kultivačních destiček za použití invertovaného fázového kontrastního mikroskopu Olympus IX81.

5.5 Výsledky cytotoxicity

Stanovení cytotoxicity je obecně uznáváno, za první test při stanovení biokompatibility. Test byl proveden na dvou vzorcích, a to na keramice připravené technologií PIM (Powder injection moulding). Pomocí metodiky stanovení cytotoxicity extraktu metody MTT.

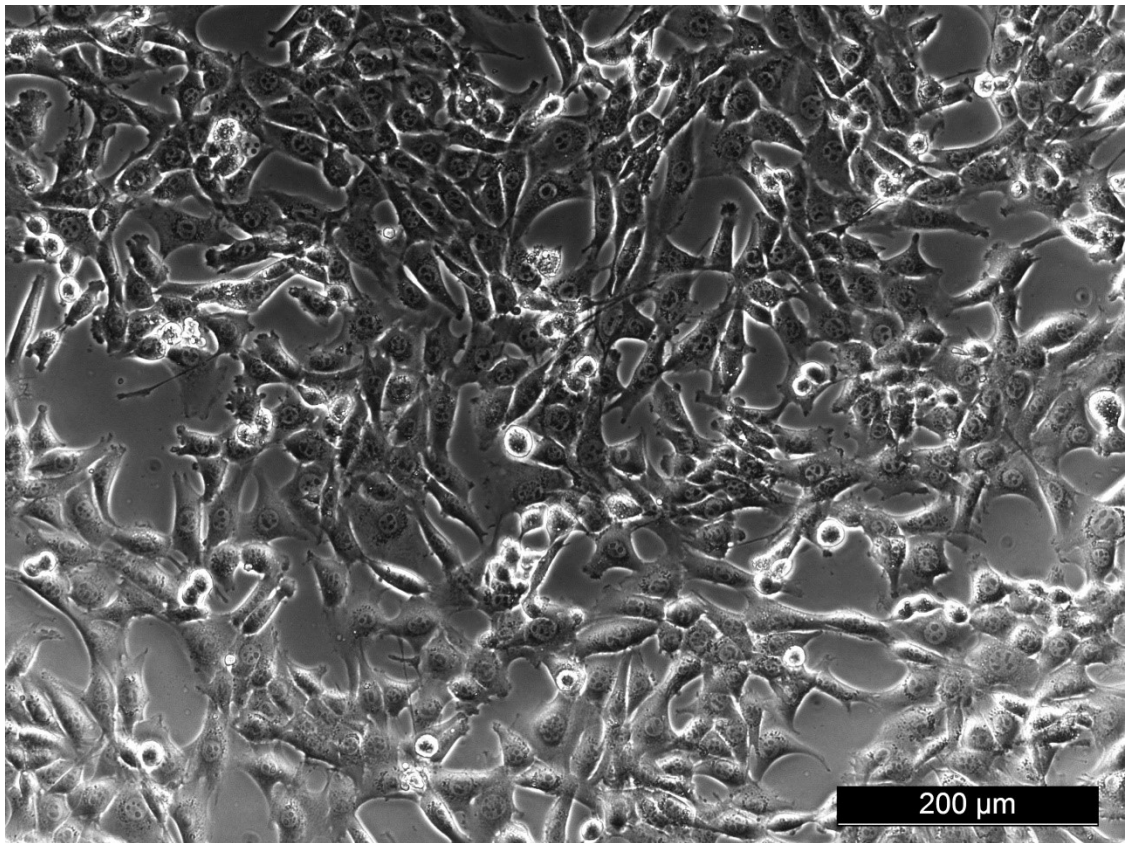


Obr. 12 Graf relativní buněčné viability v závislosti na koncentraci extraktu PIM2

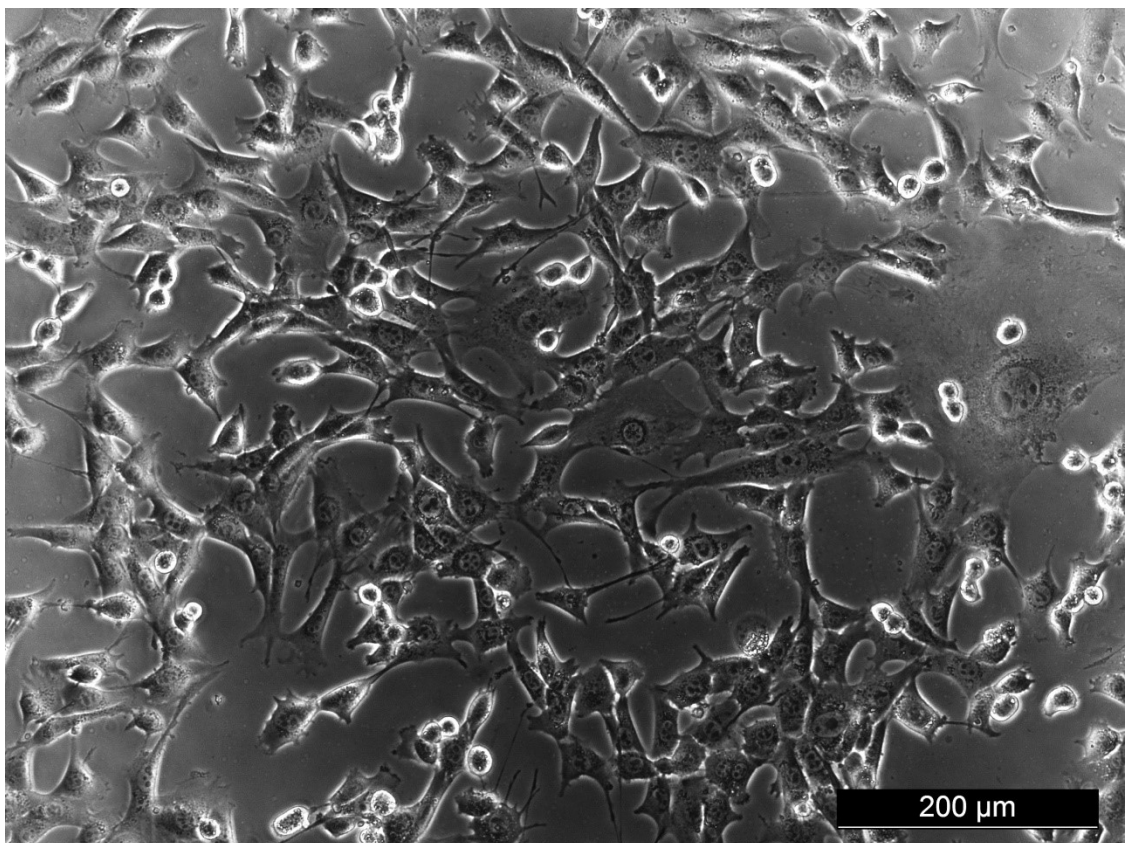


Obr. 13 Graf relativní buněčné viability v závislosti na koncentraci extraktu PIM3

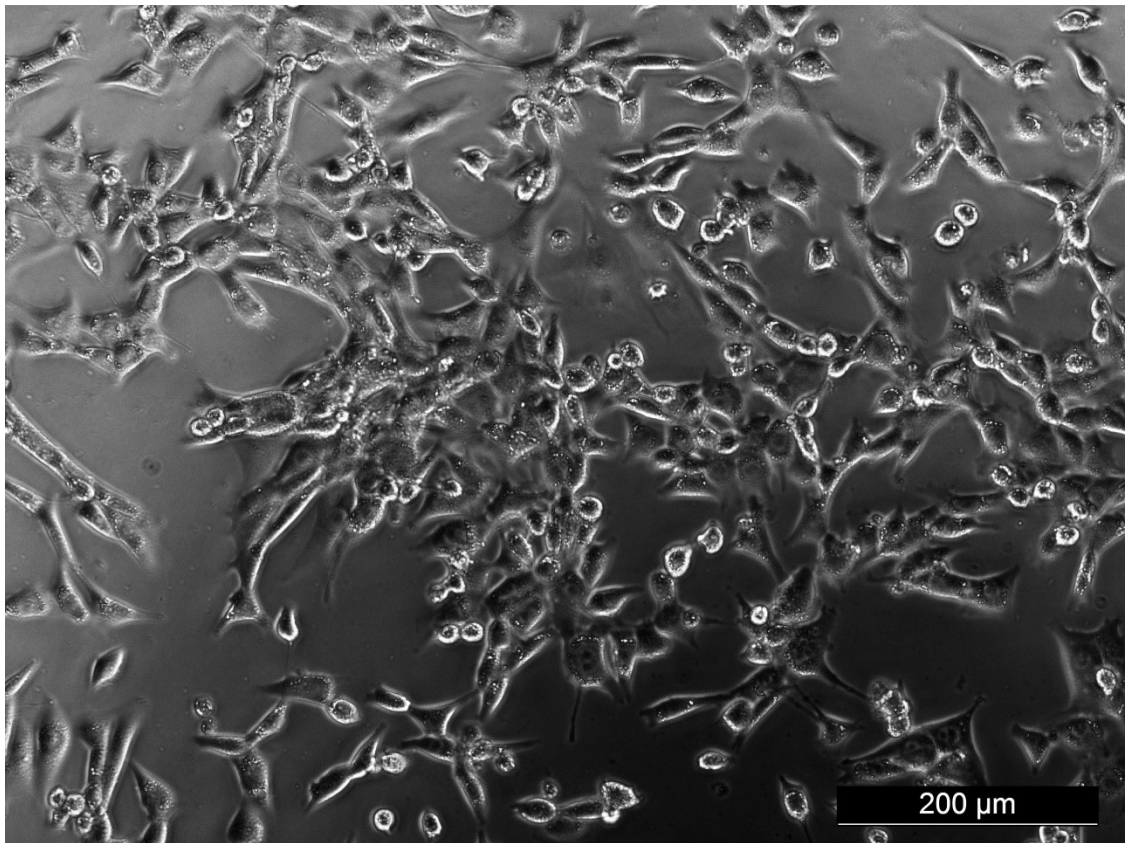
Podle normy ISO 10993-5 bylo určeno, že hodnota relativní buněčné viability 1 odpovídá 100 %. Pro hodnocení bylo určeno rozmezí hodnot, nad 0,8 relativní buněčné viability je extrakt netoxický, mírně toxický je mezi 0,6–0,8. Od 0,4 do 0,6 vykazuje extrakt střední cytotoxicitu, pod hodnotou 0,4 je závažná cytotoxicita. Z grafů na obr. 12 a obr. 13 lze vyčíst, že buňky byly schopny růst i ve 100% koncentraci PIM extraktu. U PIM2 extraktu (obr. 12) jsou mírně toxické extrakty v koncentracích 75 %, 50 % a 10 %. Zbytek extraktů se pohybuje v netoxickém rozmezí. Na obrázku 13 PIM3 je na hranici mírné toxicity 25% extrakt. Extrakty o koncentraci 100 % a 75 % jsou mírně toxické. Všechny ostatní jsou netoxické. Buňky byly schopny růst ve všech koncentracích extraktu. Výsledky biologických testů jsou ze své podstaty více variabilní než například chemické a fyzikální testy. V našem případě byly u vzorku PIM2 u 50% roztoku a vzorku PIM3 u 10% roztoku extraktu značně odlehlé. S ohledem na časové možnosti nebylo možné provést další opakování testů. Práce na stanovení biologických vlastností PIM materiálů jsou však plánovány pro další práci.



Obr. 14 NIH/3T3 reference



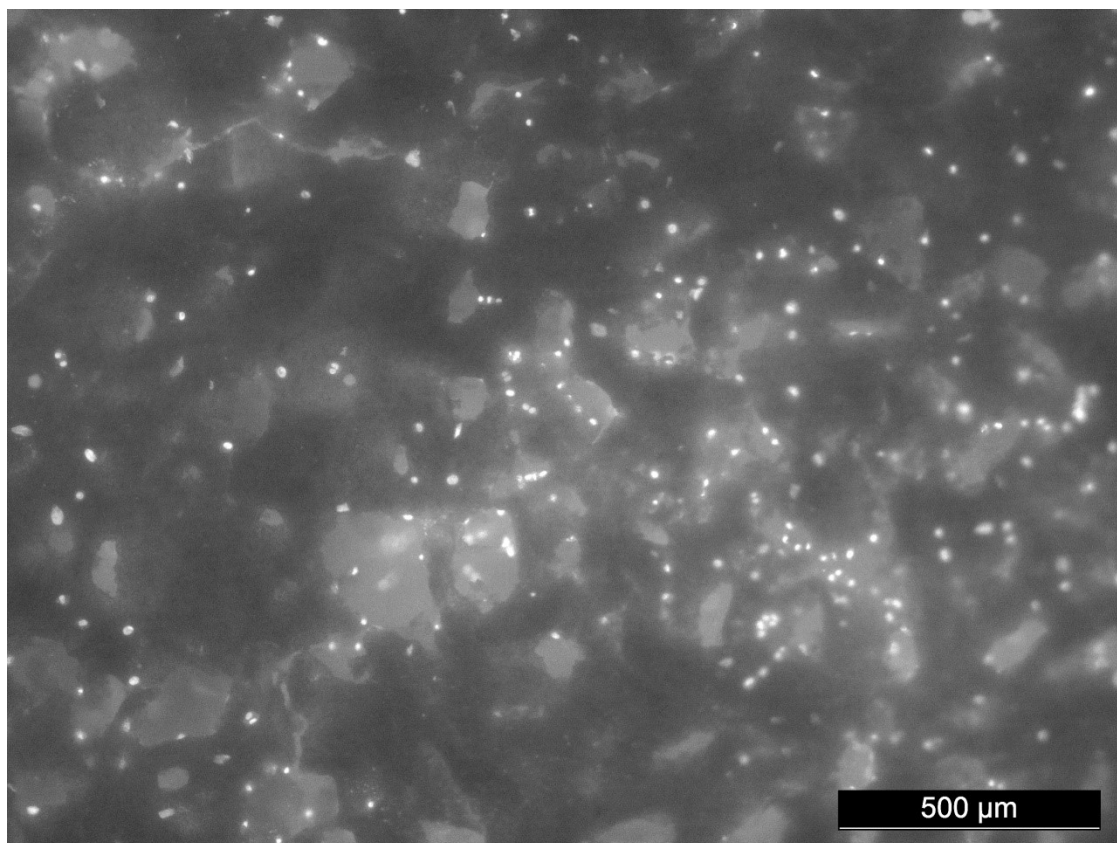
Obr. 15 PIM2_1% extrakt



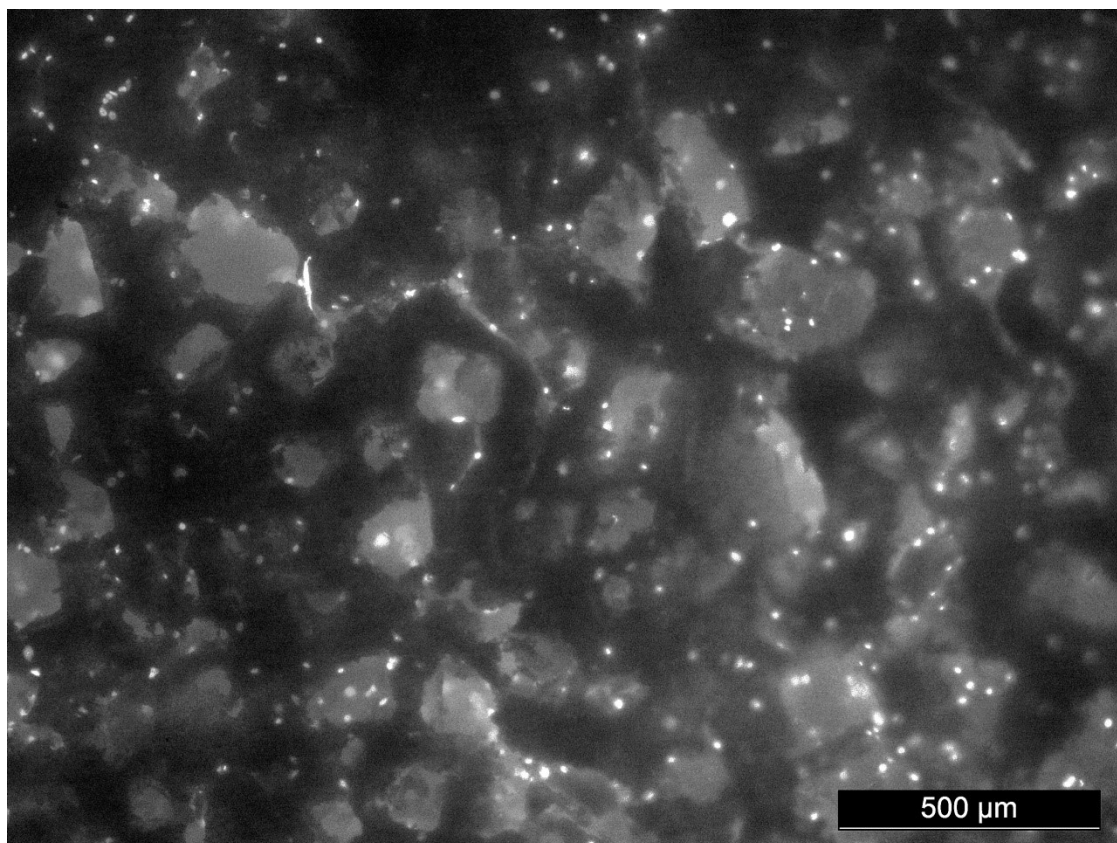
Obr. 16 PIM2_100% extrakt

5.6 Výsledky buněčné adheze a proliferace

Interakce buněk a implantovaného materiálu závisí na jeho fyzikálních a chemických parametrech. Aby mohlo dojít k dobrému přijetí implantátu, je buněčná adheze k materiálu jednou z nejdůležitějších vlastností. Schopnost proliferace buněk je nezbytná a spolu s rozhráním tkáň-implantát určují, jak dobře bude materiál okolními tkáněmi přijat.



Obr. 17 Adheze buněk na vzorku PIM2 keramiky po dvou dnech růstu.
DNA buněk je obarveno pomocí Hoechst.



Obr. 18 Adheze buněk na vzorku PIM3 keramiky po dvou dnech růstu.

DNA buněk je obarveno pomocí Hoechst.

Schopnost adheze buněk je významným faktorem pro biologickou kompatibilitu. Buněčná adheze se uskutečňuje prostřednictvím buněčných adhezivních proteinů. Jak je patrné z obrázků 17 a 18 jsou NIH/3T3 buňky schopné adherovat a proliferovat na povrchu materiálu. Prvotní adheze probíhala po dobu 30 minut, následně byl vzorek přelit médiem a neadherované buňky byly spláchnuty do kultivační misky. S ohledem na fakt, že linie NIH/3T3 má průměrnou dobu zdvojení populace 24 hodin, lze konstatovat, že buňky byly schopné na povrchu růst a pravděpodobně i proliferovat, jak je patrné z obrázku 17 a 18. Obrázky z kultivace po dobu tří dnů neuvádíme, protože výsledek byl stejný. Bohužel nejsou k dispozici mikrofotografie množství adherovaných buněk na povrchu po pouhých třiceti minutách, což by umožnilo srovnat množství adherovaných buněk a buněk po dvou či třech dnech. Tento test nebylo možné provést kvůli omezenému množství vzorku.

5.7 Tepelná vodivost PIM materiálu

Nízká tepelná vodivost je důležitou vlastností pro materiály v dentálních aplikacích, protože ovlivňuje riziko bolesti nebo podráždění související s teplotními změnami.

Níže uvedené výsledky byly naměřeny ve spolupráci s kolegy z Ústavu fyziky a materiálového inženýrství FT UTB.

Tab. 2 Tepelná vodivost suchého a mokrého materiálu

číslo měření	Suchý vzorek λ [$\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$]	mokrá vzorek λ [$\text{W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$]
1	7,247	6,263
2	7,162	6,222
3	7,145	6,215
4	7,172	6,288
5	7,219	6,199
6	7,133	6,132
7	7,129	6,254
8	7,075	6,192
9	7,172	6,260
10	7,136	6,187
průměr	7,16	6,22
RSD [%]	0,68	0,74

Tepelná vodivost byla naměřena na analyzátoru TCi od C-THERM Technologies. Cylindrický vzorek keramického materiálu připraveného technologií PIM o průměru 1,5 cm a výšce 0,4 cm byl změřen při teplotě 37 °C. Koeficient tepelné vodivosti pro suchý vzorek byl $(7,2 \pm 0,7) \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ a pro mokrá vzorek $(6,2 \pm 0,7) \text{ W}\cdot\text{m}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$.

5.8 Diskuze

U dentálních implantátů je největší snahou vytvořit takový materiál, který bude vyhovovat jak měkké, tak i tvrdé okolní tkáni v dutině ústní. Zároveň by tento materiál měl podporovat růst okolní tkáně a neměl by podporovat růst mikrobiálního biofilmu.

Uvedené výsledky, jsou prvotní studií, která se zaměřila na biokompatibilitu materiálu v prostřední *in vitro*. Existují studie, které potvrzují, že materiály s různým poměrem látek ovlivňují biologickou odezvu stejně, jako ji ovlivňuje velikost pórů nebo povrch materiálu [53] [54]. Je zřejmé, že samotné optimální složení bioimplantačního materiálu nestačí k podpoře růstu okolní tkáně. Důležitá je struktura materiálu. Podporovat růst buněk může pórovitost, velikost pórů, tloušťka a mikrostruktura propojení s materiálem. To vše dává jemnou mechanickou odezvu, funkčnost a rozhodující vlastnosti [55]. Záleží samozřejmě i na povrchu materiálu. Na hladkém povrchu buňky adherují méně než na plochách zvrásněných pískováním před slinováním keramiky [56]. Keramika, která obsahuje přísady jako

je oxid zirkoničitý nebo oxid hlinitý vykazuje velmi dobré mechanické vlastnosti při zátěžových aplikacích.

Vzorky PIM keramiky zkoumané v této práci obsahovaly Al_2O_3 , KCl a nosič (binder) v různém poměru. Vzorky byly rozdrceny a byl vytvořen extrakt, u kterého se zkoumala cytotoxicita na buněčné linii myších fibroblastů. Stanovení buněčné viability proběhlo pomocí metody MTT. Byla srovnávána buněčná viabilita referenčních buněk kultivovaných v čistém médiu s buňkami vystaveným různé koncentraci extraktu PIM keramiky. Extrakt byl ve většině koncentrací netoxický, v pár koncentracích byly na hranici mírné cytotoxicity u PIM2 vzorku 100% extrakt a u PIM3 25% roztok extraktu. Mírně toxické pak byly koncentrace 50 % a 10 % u vzorku PIM2 a u PIM3 100% a 75% extrakt. Proto byla dále zkoumána buněčná adheze a proliferace buněk na povrchu materiálu. Buňky byly schopné adheze k povrchu materiálu. Celý materiál byl pórovitý, což umožňovalo buňkám alespoň částečně prorůstát i dovnitř materiálu.

Je důležité brát tyto výsledky jako prvotní a je potřeba rozšířit tuto studii pro dentální aplikace, například zkoumáním na mezenchymálních kmenových buňkách z dřevné dutiny (dental pulp mesenchymal).

ZÁVĚR

V teoretické části práce byla provedena literární rešerše na téma dentální materiály. Na začátku byly definovány biomateriály a nároky na biomateriály pro medicinské a dentální aplikace. Poté byly vysvětleny pojmy biokompatibilita a biostabilita. V dalším oddíle práce byl popsán vývoj zubu, jeho stavba, možné poškození zubu a vznik zubního kazu. Krátký úsek je zaměřen na vliv výplně na vznik sekundárního zubního kazu. V první polovině teoretické části byly dále popsány některé z možností pro výplně zubních kavit (amalgám, kompozity, skloionomerní cement). Současnou nejhojněji používanou dentální výplní je amalgám. Jelikož vyšel nedávno návrh EU tento materiál úplně zrušit, byl úsek práce zaměřen na jeho potenciálně negativní vliv na lidské tělo. Další segment práce byl věnován možným alternativám amalgámové výplně. V druhé polovině teoretické části práce byly popsány zubní implantáty. Nejvíce rozebíraným materiálem pro dentální implantáty byla keramika.

V praktické části byla zkoumána cytotoxicita keramického materiálu, který byl připraven pomocí technologie PIM. Keramický materiál byl extrahován a výsledný extrakt byl v různé koncentraci přidán k myším fibroblastům. Test cytotoxicity extraktu byl několikrát opakován. Stanovení viability buněk pomocí testu MTT ukázalo, že extrakt je ve většině koncentrací netoxický, případně jen mírně toxický a to u vzorku PIM2 v 50% a 10% extraktu a u PIM3 ve 100 % a 75 % koncentrace extraktu. Dále byla u PIM materiálu testována adheze a následná proliferace buněk, což jsou podstatné faktory pro biokompatibilitu. Buňky byly schopny buněčné adheze a pravděpodobně i proliferace. Tento materiál se jeví jako potenciálně vhodný pro dentální aplikace, nicméně je potřeba provést další testy.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] CHEN, Q. a G. THOUAS. *Biomaterials: a basic introduction*. Boca Raton: CRC press, 2014. ISBN 978-1-4822-2769-7.
- [2] ŠIMŮNEK, A. *Dentální implantologie*. 2., přeprac. a dopl. vyd. Hradec Králové: Nucleus HK, 2008. ISBN 80-86225-15-1.
- [3] PARK, J. *Biomaterials: an introduction*. 3rd ed. New York: Springer, 2007, ISBN 9780387378800.
- [4] MCNALLY, T. a P. PÖTSCHKE. *Polymer-carbon nanotube composites preparation, properties and applications*. Oxford: Woodhead Publishing, 2011. ISBN 978-085-7091-390.
- [5] PERROTTI, V. *Biocompatibility of Dental Biomaterials*. 1st ed. United Kingdom: A volume in Woodhead Publishing Series in Biomaterials, 2017, 1–7. ISBN 978-0-08-100943-7.
- [6] SCHMALZ, G. *Biocompatibility of biomaterials: Lessons learned and considerations for the design of novel materials*. Dental Materials. 2017, **33**(4), 382–393.
- [7] BRUCK, S.D. *Biostability of materials and implants*. Journal of Long-Term Effects of Medical Implants. 1991, **1**(1), 89–106.
- [8] CHOY, Kwang-Leong. *Innovative processing of films and nanocrystalline powders*. London: Imperial College Press, 2002. ISBN 978-161-5832-392.
- [9] SERBAN, M. *Translational biomaterials: the journey from the bench to the market—think ‘product’*. Current Opinion in Biotechnology. Elsevier, 2016, **40**, 31-34. DOI: 10.1016/j.copbio.2016.02.009. ISSN 09581669.
- [10] MINČÍK, J. *Kariologie*. 1. vyd. Praha: StomaTeam, 2014, 13–16. ISBN 978-80-904377-2-2.
- [11] PRUITT, L. *Mechanics of biomaterials: fundamental principles for implant design*. 1st ed. New York: Cambridge University Press, 2011. Cambridge texts in biomedical engineering. ISBN 978-052-1762-212.

- [12] MAZÁNEK, J. *Zubní lékařství: propedeutika*. 1. vyd. Praha: Grada publishing, 2014. ISBN 978-80-247-8679-7.
- [13] KOUSSOULAKOU, D., L. MARGARITIS a S. KOUSSOULAKOS. *A Curriculum Vitae of Teeth: Evolution, Generation, Regeneration*. International Journal of Biological Sciences. 2009, **5**(3), 226–243. DOI: 10.7150/ijbs.5.226. ISSN 1449-2288.
- [14] BUSCHOW, K.H. *Encyclopedia of materials science and technology: Science and Technology*. Amsterdam: Elsevier, 2001. ISBN 978-008-0523-583.
- [15] FEJERSKOV, O. *Changing Paradigms in Concepts on Dental Caries: Consequences for Oral Health Care*. Caries Research. 2004, **38**(3), 182-191. DOI: 10.1159/000077753. ISSN 0008-6568.
- [16] WERNECK, R., M. MIRA a P. TREVILATTO. *A critical review: an overview of genetic influence on dental caries*. Oral Diseases. 2010, **16**(7), 613–623. DOI: 10.1111/j.1601-0825.2010.01675.x. ISSN 1354523x.
- [17] UHLEN, M., K. STENHAGEN, P. DIZAK, B. HOLME, A. MULIC, A. TVEIT a A. VIEIRA. *Genetic variation may explain why females are less susceptible to dental erosion*. European Journal of Oral Sciences. 2016, **124**(5), 426-432. DOI: 10.1111/eos.12297. ISSN 09098836.
- [18] SAARELA, M. *Functional dairy products*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2007. ISBN 978-184-5693-107.
- [19] ROSEN, M.R. *Harry's Cosmeticology: Art and Science of Formulating Cosmetic Products*. 9th ed. US of America: Chemical Publishing Company, 2015. ISBN 978-1-5231-0327-0.
- [20] MARSH, P.D., A. MOTER a D.A. DEVINE. *Dental plaque biofilms: communities, conflict and control*. Periodontology. 2010, **55**(1), 16.
- [21] RMAILE, A. *Microbial tribology and disruption of dental plaque bacterial biofilms*. Wear. 2013, **306**(1–2), 276–284.
- [22] *Natural, painless tooth repair*. In: Reminova [online] [cit. 2017-05-04]. Dostupné z: <http://www.reminova.com/our-technology>

- [23] SPLIETH, C. *Anaerobic microflora under Class I and Class II composite and amalgam restorations*. Quintessence International. 2003, **34**(7), 497–503.
- [24] MO, S., W. BAO, G. LAI, J. WANG a M. LI. *The Microfloral Analysis of Secondary Caries Biofilm around Class I and Class II Composite and Amalgam Fillings*. BMC Infectious Diseases. 2010, **10**(1), 1–6. DOI: 10.1186/1471-2334-10-241. ISSN 1471-2334.
- [25] HUBÁLKOVÁ, H. a J. KRŇOULOVÁ. *Materiály a technologie v protetickém zubním lékařství*. 1. vyd. Praha: Galén, 2009. ISBN 978-80-7262-581-9.
- [26] OXILIA, G. *The dawn of dentistry in the late upper Paleolithic: An early case of pathological intervention at Riparo Fredian*. American Journal of Physical Anthropology. 2017, 1–16. DOI: 10.1002/ajpa.23216. ISSN 00029483.
- [27] JANSOVÁ, K. a M. EBER. *Preklinická stomatologie: Dentální amalgamy II. díl*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého, 1996. ISBN 978-807-0676-813.
- [28] JOKSTAD, A. *Quality of dental restorations*. International Dental Journal. 2001, **51**(3), 1177–158.
- [29] MUÑOZ-BONILLA, A., M. CERRADA a M. FERNÁNDEZ-GARCÍA. *Polymeric materials with antimicrobial activity: from synthesis to applications*. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2014. ISBN 18-497-3807-6.
- [30] STEJSKALOVÁ, J. *Konzervační zubní lékařství*. 2. vyd. Praha: Galén, 2008. ISBN 9788072625406.
- [31] YAHIA, H. *Shape memory polymers for biomedical applications*. 1st ed. UK: Elsevier, 2015. ISBN 978-0-85709-705-7.
- [32] *Scientific opinion on the Safety of Dental Amalgam and Alternative Dental Restoration Materials for Patients and Users*. In: SCENIHR [online]. EU: SCENIHR, 2015, [cit. 2017-03-22]. DOI: 10.2772/42641. ISBN 978-92-79-35605-6. ISSN 1831-4783. Dostupné také z: https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consultations/public_consultations/scenih_r_consultation_24_en
- [33] SANFELIU, C. *Neurotoxicity of organomercurial compounds*. Neurotoxicity

- Research. 2003, **5**(4), 283–305.
- [34] PORTNOY., R.C. *Medical Plastics Degradation Resistance and Failure Analysis: Degradation Resistance & Failure Analysis*. 1st ed. Burlington: Elsevier, 1998. ISBN 978-081-5518-259.
- [35] FERRACANE, JL. *Resin composite: state of the art*. Dental Materials. 2011, **27**(1), 29–38.
- [36] ROSS, W. *Přímé kompozitní pryskyřičné výplně pro současnou zubní ordinaci*. StomaTeam. 2014, **14**(1), 67–69. ISSN 1214 - 147X.
- [37] HAENEL, T. *Curing of Visible Light Curing Resin Based Dental Composites*. Zlín, 2016. Tomas Bata University in Zlín.
- [38] COOK, W.D. a M. JOHANNSON. *The influence of postcuring on the fracture properties of photo-cured dimethacrylate based dental composite resin*. Journal of Biomedical Materials Research. 1987, **21**(8), 979–989.
- [39] MOSHAVERINIA, A. *Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluoroapatite nanobioceramics into conventional glass ionomer cements (GIC)*. Acta Biomaterialia. 2008, **4**(2), 432–440.
- [40] WILSON, A.D. *The glass-ionomer cement: a new translucent dental filling material*. British Dental Journal. 1972, **21**(11), 133–135.
- [41] CALUWÉ, T. *Addition of bioactive glass to glass ionomer cements: Effect on the physico-chemical properties and biocompatibility*. Dental Materials. 2017, **33**(4), 186–203.
- [42] BERGMANN, C.P. a A. STUMPF. *Dental ceramics*. 1. vyd. New York: Springer, 2013. ISBN 978-3-642-38223-9.
- [43] CAMMACK, R. *Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press, 2006. ISBN 978-161-3441-138.
- [44] SCHROEDER, A. *Oral implantology: basics, ITI hollow cylinder system*. 2nd rev. ed. New York: Thieme Medical Publishers, 1996. ISBN 31-374-4302-4.

- [45] FERRACANE, J.L. *Materials in dentistry: principles and applications*. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams, 2001. ISBN 07-817-2733-2.
- [46] SHENOY, A. a N. SHENOY. *Dental ceramics: An update*. Journal of Conservative Dentistry. 2010, **13**(4), 195–203. DOI: 10.4103/0972-0707.73379. ISSN 0972-0707.
- [47] VAVŘIČKOVÁ, L. *Celokeramické systémy v klinické praxi*. LKS. 2008, **18**(10), 5–11. ISSN 1210-3381.
- [48] OBERG, E. *Machinery's Handbook*. 30th ed. Connecticut: Industrial Press, 2016. ISBN 978-0-8311-3091-6.
- [49] VENUGOPALAN, R. a M. WU. *Medical device materials III: proceedings from the Materials*. Materials Park, OH: ASM International, 2006. ISBN 978-0-87170-845-8.
- [50] AUZENE, D., J.L. DUVAL, C. EGLES a J.M. POPOT. *Biological characterisation of materials produced by powder injection moulding for dental applications*. Powder Metallurgy. 2015, **58**(1), 16–19. ISSN 0032-5899.
- [51] *Powder injection moulding*. In: Powderinjectionmoulding.com [online] [cit. 2017-04-03]. Dostupné z: <http://www.powderinjectionmoulding.com/>
- [52] *NIH/3T3: ATCC® CRL-1658™*. In: ATCC [online] [cit. 2017-03-08]. Dostupné z: https://www.atcc.org/Products/All/CRL-1658.aspx?geo_country=us#characteristics
- [53] CHAN, C., L. CARSON, G. SMITH, A. MORELLI a S. LEE. *Enhancing the antibacterial performance of orthopaedic implant materials by fibre laser surface engineering*. Applied Surface Science. 2017, **404**, 67–81. DOI: 10.1016/j.apsusc.2017.01.233. ISSN 01694332.
- [54] SCHMITT, S. *Tuning the Cell Adhesion on Biofunctionalized Nanoporous Organic Frameworks*. Advanced Functional Materials. 2016, **26**(46), 8455–8462. DOI: 10.1002/adfm.201603054. ISSN 1616301x.
- [55] GRUMEZESCU, A. *Nanobiomaterials in hard tissue engineering: applications of nanobiomaterials*. 1st ed. Bucharest: Elsevier, 2016. ISBN 978-032-3428-620.
- [56] AL QAHTANI, W. *Effect of surface modification of zirconia on cell adhesion, metabolic activity and proliferation of human osteoblasts*. Biomedical Engineering-

Biomedizinische Technik. 2017, **62**(1), 75–87. DOI: 10.1515/bmt-2015-0139. ISSN 1862-278x.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ADA	Americká dentální asociace
ASPA	Almino silicate polyalkenoic acid
BisGMA	Bisphenol A glycidyl methacrylate
CAD/CAM	Computer Aided Design/ Computer Aided Manufacturing nebo Milling
CQ	Kafrchinon
DABE	Ethyl 4-aminobenzoate
DMEM	Dulbecco's Modified Medium
DMSO	Dimethylsulfoxid
EAER	Electrically Accelerated and Enhanced Remineralisation
MAD/MAM	Manual Aided Design/Manual Aided Manufacturing
PBS	Phosphate Buffered Saline
PA	Polyamid
PE	Polyethylen
PIM	Powder Injection Moulding
PMMA	Polymethylmethakrylát
PP	Polypropylen
PS	Polystyren
PTFE	Polytetrafluorethylen
SCENIHR	Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks
TEGMA	Triethylene glycol dimethacrylate
UDMA	Urethane dimethacrylate
VLC	Visible Light Cure

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obr. 1 využití biomateriálů upraveno z [3].....	12
Obr. 2 Ontogenetický vývoj zubu upraveno z [13]	16
Obr. 3 Stavba zubu upraveno z [11]	16
Obr. 4 Vznik zubního kazu upraveno z [18].....	18
Obr. 5 Zkorodovaný konvenční amalgám z [30].....	22
Obr. 6 Výměna staré kompozitní výplně upraveno z [36].....	25
Obr. 7 Schéma různých velikostí částic kompozit upraveno z [38]	27
Obr. 8 Iniciace polymerace kompozitních pryskyřic [30]	28
Obr. 9 Snímky pořízené profilem laserového paprsku: Celalux 1, Celalux 2 a Bluephase 20i Turbo [37]	29
Obr. 10 Schéma PIM technologie upraveno z [51]	35
Obr. 11 NIH 3T3 z [52]	37
Obr. 12 Graf relativní buněčné viability v závislosti na koncentraci extraktu PIM2	40
Obr. 13 Graf relativní buněčné viability v závislosti na koncentraci extraktu PIM3	41
Obr. 14 NIH/3T3 reference.....	42
Obr. 15 PIM2_ 1% extrakt.....	42
Obr. 16 PIM2_100% extrakt.....	43
Obr. 17 Adheze buněk na vzorku PIM2 keramiky po dvou dnech růstu. DNA buněk je obarveno pomocí Hoechst.	44
Obr. 18 Adheze buněk na vzorku PIM3 keramiky po dvou dnech růstu. DNA buněk je obarveno pomocí Hoechst.	45

SEZNAM TABULEK

Tab. 1 Vliv jednotlivých prvků na amalgámovou výplň [30].....	21
Tab. 2 Tepelná vodivost suchého a mokrého materiálu	46