

Янішен І. В., Федотова О. Л., Савцова О. В., Фесенко О. І., Хлисту́н Н. Л., Петро́ченко Г. В.

# Дослідження склокерамічного покриття дентальних імплантів в умовах різного бактеріального статусу

Харківський національний медичний університет, м. Харків, Україна

**Анотація.** Здатність поверхні впливати на ріст клітин була відома понад 100 років тому. Серед функціональних покриттів, що найчастіше використовуються біоактивна склокераміка,  $\alpha/\beta$ -ТСР, тетракальційфосфат, гідроксиапатит, цирконій, а також фактори росту, колаген, адгезивні білки, біологічно активні препарати, іони й метали, включаючи графен.

**Метою** дослідження було підвищення якості ортопедичного лікування пацієнтів шляхом вивчення впливу склокерамічного покриття дентальних імплантів в умовах помірного та жорсткого бактеріального зараження. Експериментальні зразки були підготовані дискової форми товщиною 1 мм і діаметром 10 мм. Склокристалічне покриття FAR-5.3-TZ нанесено на металеву основу з титану VT1-00 (шлікерна технологія) і випалено при температурі 780°C. Інокулятом біотесту заражали поживне середовище МПБ, в який поміщали диск зразка склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ. Дослідження проводили в умовах помірного (початкової щільності біотесту  $10^3$  кл/см<sup>3</sup>) та жорсткого (початкової щільності біотесту  $10^6$  кл/см<sup>3</sup>) бактеріального зараження. Підготовлені пробірки встановлювали в термостат для інкубування за температурою  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  і витримували впродовж 6 й 24-х годин. Дослідження показало, що впродовж 6 годин експозиції, зразки склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ характеризувалися бактеріостатичним ефектом при концентраціях біотесту  $10^3$  та  $10^6$  кл/см<sup>3</sup>, який проявляється у зменшенні утворення ДГА в 1,8 та 1,2 раза відповідно, що вказує на їхню токсичну дію стосовно культури *E.coli*. Візуально встановлено інтенсивність забарвленого формазану в контрольних варіантах більше ніж у досліджених варіантах, що свідчить про адекватне зменшення утворення ДГА при контакті зразків склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ з біотестом.

**Висновки.** Результати дослідження показали, що зразок склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ при збільшенні співвідношення його площі контакту до щільності біомаси біотесту пригнічує метаболічні процеси в *E.coli* під впливом активних речовин склокристалічних покриттів.

**Ключові слова:** склокерамічне покриття, бактеріальний статус, дентальні імпланти, остеointegraція.

Втрата зубів найчастіше пов'язана з невилікованим карієсом та захворюваннями пародонту, що призводять до адентії. Імплантологія стала надійним методом заміни зубів з використанням титанових імплантів, завдяки їх біосумісності та низькій токсичності [1]. Титан має гарну механічну міцність і хімічну активність, що сприяє утворенню оксидного шару на поверхні. Однак для ефективної адгезії клітин до імплантів потрібні нові методи поверхневої модифікації.

Основні вимоги для успішної остеointegraції були визначені у роботі Brånemark et al. на початку 1980-х років. Численні дослідження спрямовані на розуміння цього процесу, враховуючи вплив різних факторів, включаючи імунну та нервову системи. Нині біосумісними матеріалами виготовлення зубних імплантів вважаються технічно чистий титан, титанові сплави, кераміка, гідроксиапатит, фосфати кальцію і діоксид цирконію [2, 3].

Здатність поверхні впливати на ріст клітин була відома понад 100 років тому, у той час як термін *контактна інтеграція* почав використовуватись лише в 1950–1960-х роках. Фізичні обробки, такі як іонна імплантація, катодне розпилення, лазерна абляція та плазмове напилення з анодуванням часто використовуються для створення наноструктур на поверхні титанових імплантів [3]. Популярною є комбінація фізичних та хімічних обробок, таких як піскоструминна обробка великою зернистістю та кислотне травлення, що забезпечує поверхні з покращеною змочуваністю та зменшеним кутом контакту з водою.

Ідеальні поверхневі покриття повинні мати мінімальну токсичність, достатню механічну цілісність і контрольовану кінетику вивільнення. Комбіновані покриття покращують остеointegraцію та запобігають інфекції [4]. Топографія та склад поверхонь дентальних імплантів впливають на адгезію, проліфе-

рацію та диференціювання мезенхімальних клітин, важливих для остеointegraції. Серед функціональних покриттів, що найчастіше використовуються біоактивна склокераміка,  $\alpha/\beta$ -ТСР, тетракальційфосфат, гідроксиапатит, цирконій, а також фактори росту, колаген, адгезивні білки, біологічно активні препарати, іони й метали, включаючи графен [5].

Біоактивна склокераміка (БС) — це особливий клас кераміки, який характеризується добре відомою здатністю взаємодіяти та зв'язуватися з твердими тканинами, а в деяких випадках також із м'якими тканинами [6]. Термін *біоактивність* означає здатність матеріалу бути біологічно активним, викликаючи специфічну біологічну реакцію, яка призводить до зв'язку між самим матеріалом і тканиною [7]. Зокрема, біологічно активні стекла виконують свою функцію за допомогою специфічних поверхневих реакцій, які призводять до розвитку шару силікагелю, що поступово сприяє утворенню шару біологічно активного мінералу, подібного до гідроксиапатиту (ГА), який зазвичай називають ГА-подібним шаром, у присутності рідин організму *in vitro* або *in vivo* [8]. Завдяки своїй хімічній і структурній подібності до мінеральної складової кістки, новоутворена поверхня може міцно зв'язуватися з живою кісткою та навколишніми тканинами, забезпечуючи міжфазний зв'язок між імплантатом і тканиною тіла [9]. До того ж, руйнуючись із контрольованою швидкістю та перетворюючись на подібний до ГА-матеріал, БС вивільняють іони контрольованим чином [10].

**Метою** дослідження було підвищення якості ортопедичного лікування пацієнтів шляхом вивчення впливу склокерамічного покриття денціальних імплантів в умовах помірного та жорсткого бактеріального зараження.

### Матеріали і методи дослідження

Дослідження дегідрогеназної активності в умовах помірного та жорсткого бактеріального зараження проведено на базі та зі співробітниками кафедри хімії та інтегрованих технологій Харківського національного університету міського господарства ім. О. М. Бекетова (договір № 483/06-24 від 01.06.2024).

Експериментальні зразки були підготовані дискової форми товщиною 1 мм і діаметром 10 мм. Склокристалічне покриття FAR-5.3-TZ нанесено на металеву основу з титану ВТ1-00 (шлікерна технологія) і випалено при температурі 780°C.

Задля забезпечення бактерицидних властивостей до складу порошків скла додатково вводили антибактеріальний агент титанат цинку ( $Zn_2TiO_4$ ), у кількості 1 мас. % на 100 мас. % порошку скла (FAR-5.3-TZ). До складу склофази було введено

одразу два біоцидних компоненти — іонів  $Zn^{2+}$  та  $Ti^{4+}$ , для них гранична концентрація впливу на більшість патогенних мікроорганізмів є меншою, ніж їх допустима концентрація міграції для людини при вилуговуванні у водні розчини. За ступенем впливу на організм людини дані іони належать до класу помірно небезпечних речовин (3 клас), їх допустимі концентрації міграції (ДКМ) при вилуговуванні у водних розчинах складає  $Zn^{2+} = 1,0$  мг/л,  $Ti^{4+} = 0,1$  мг/л [11].

Інокулятом біотесту заражали поживне середовище МПБ, та поміщали диск зразку склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ. Дослідження проводили в умовах помірного (початкової щільності біотесту  $10^3$  кл/см<sup>3</sup>) та жорсткого (початкової щільності біотесту  $10^6$  кл/см<sup>3</sup>) бактеріального зараження.

Для порівняння та чистоти експерименту за тих самих умов використовували дві контрольні проби, а саме:

- контроль № 1 — МПБ з інокулятом біотесту, без додавання дослідного зразка;
- контроль № 2 — МПБ з дослідним зразком, без додавання інокуляту.

Підготовлені пробірки встановлювали в термостат для інкубування за температурою  $37 \pm 1^\circ C$  і витримували впродовж 6 та 24-х годин.

За певною експозицією визначали життєздатність біотесту за дегідрогеназною активністю. Візуально перевіряли стан зразків і культуральної рідини. Дослідження проводили в трикратній повторності.

### Результати дослідження

Результати визначення ДГА біотесту *E.coli* під час взаємодії зі зразками склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ в умовах помірного бактеріального зараження (початкова щільність біотесту  $10^3$  кл/см<sup>3</sup>) в дослідних пробах надані у таблицях 1 і 2.

Дослідження показало, що впродовж 6 годин експозиції зразки склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ характеризувалися бактеріостатичним ефектом при концентраціях біотесту  $10^3$  та  $10^6$  кл/см<sup>3</sup>, який проявляється у зменшенні утворення ДГА в 1,8 та 1,2 раза відповідно, що вказує на їхню токсичну дію щодо культури *E.coli*.

Під час контактування біотестової культури зі зразками склокристалічного покриття впродовж 24 годин концентрація формазану у варіантах із дослідними зразками досягає значень контрольного варіанту, тобто бактеріостатичний ефект практично відсутній внаслідок адаптування культури *E.coli* до впливу активного агента з матеріалу покриттів.

Візуально встановлено інтенсивність забарвленого формазану у контрольних варіантах більше ніж

**ДГА біотесту *E.coli* під час взаємодії зі зразками  
склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ в умовах помірного бактеріального зараження  
(початкова щільність біотесту  $10^3$  кл/см<sup>3</sup>)**

Показник	№ з/п	Найменування проби					
		Біотест + зразок FAR-5.3-TZ		Контроль № 1		Контроль № 2	
		Період інкубування, годин					
		6	24	6	24	6	24
Довжина хвилі <i>D</i> , нм	1	0,20	0,68	0,37	0,70	0,00	0,00
	2	0,205	0,69	0,37	0,70	0,00	0,00
	3	0,21	0,70	0,37	0,70	0,00	0,00
Концентрація формазану <i>Sx</i> , мг/л	1	103,5100	350,8565	191,1135	361,1625	Не визначено	Не визначено
	2	106,0890	356,0095	191,1135	361,1625		
	3	111,2420	361,1625	191,1135	361,1625		
Середня концентрація формазану <i>Sx</i> , мг/л	1	106,9470	356,0095	191,1135	361,1625		
	2						
	3						
ДГА*, мг/л	1	106,9	356,0	191,1	361,2		
	2						
	3						

**Примітка:** \*ДГА розраховували на основі середньої концентрації формазану, приймаючи, що розбавлення  $P = 1$ .

**ДГА біотесту *E.coli* під час взаємодії зі зразками  
склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ в умовах жорсткого бактеріального зараження  
(початкова щільність біотесту  $10^6$  кл/см<sup>3</sup>)**

Показник	№ з/п	Найменування проби					
		Біотест + зразок FAR-5.3-TZ		Контроль № 1		Контроль № 2	
		Період інкубування, годин					
		6	24	6	24	6	24
Довжина хвилі <i>D</i> , нм	1	1,16	1,58	1,38	1,58	0,00	0,00
	2	1,16	1,58	1,38	1,58	0,00	0,00
	3	1,17	1,60	1,38	1,58	0,00	0,00
Концентрація формазану <i>Sx</i> , мг/л	1	598,2005	814,6265	711,5665	814,6265	Не визначено	Не визначено
	2	598,2005	814,6265	711,5665	814,6265		
	3	603,3535	814,9325	711,5665	814,6265		
Середня концентрація формазану <i>Sx</i> , мг/л	1	599,9182	814,7285	711,5665	814,6265		
	2						
	3						
ДГА*, мг/л	1	599,9	814,7	711,5	814,6		
	2						
	3						

**Примітка:** \*ДГА розраховували на основі середньої концентрації формазану, приймаючи, що розбавлення  $P = 1$ .

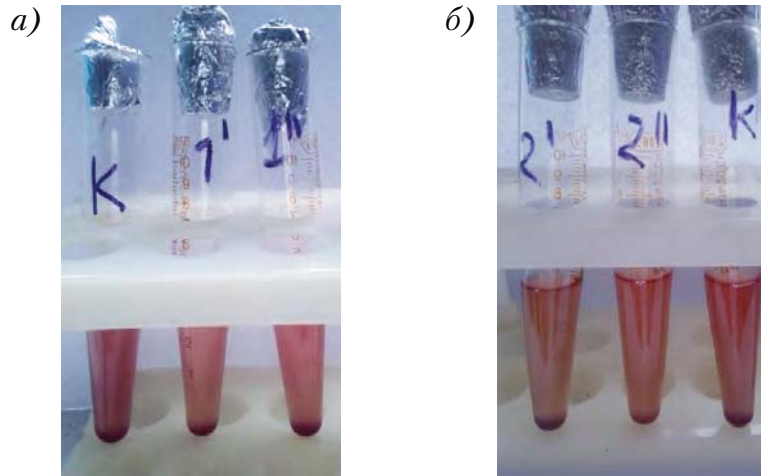


Рис. 1. Утворення формагану під час росту біотестової культури *E.coli* впродовж 6 (а) та 24 (б) годин:

К – контроль № 1 (без додавання дослідного зразку); № 1', № 1'',  
№ 2', № 2'' – біотестові культури під час контактування зі зразком FAR-5.3-TZ.

у досліджених варіантах, що свідчить про адекватне зменшення утворення ДГА при контакті зразків склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ з біотестом (рис. 1 а, б).

Для встановлення впливу на біотест співвідношення площ контакту дослідного зразка та інкуляту було проведено дослідження зміни кольорових показників утворення формагану в умовах щільності біомаси біотесту  $10^6$  кл/см<sup>3</sup>. Пробірки з контрольними і дослідженими варіантами інкубували у термостаті впродовж 6 та 24 годин, при збільшенні співвідношення площі контакту зразків склокристалічних покриттів з біомасою біотесту у 4 і 6 разів відповідно. При завершенні часу інкубування визначали активність біомаси у кожній пробірці за ДГА.

Після 6 годин інгібування у пробірках із тест-культурою, до якої додавали зразки покриття FAR-5.3-TZ у кількості, збільшеній до 4-х разів спостерігалися лише сліди утворення формагану внаслідок пригнічення ферментативних процесів у клітинах, і повна відсутність утворення формагану (рис. 2 б) у пробірках з тест-культурою, до якої додавали зразки покриття FAR-5.3-TZ у кількості збільшеній до 6 разів (24 години інгібування) (рис. 2 в). Це свідчить про бактерицидну дію дослідних покриттів при збільшенні зони контакту покриттів із тест-культурою.

У пробах, термін експозиції яких становив 24 години, спостерігалась повна відсутність утворення формагану, що свідчить про блокування синтезу дегідрогеназних ферментів і пригнічення

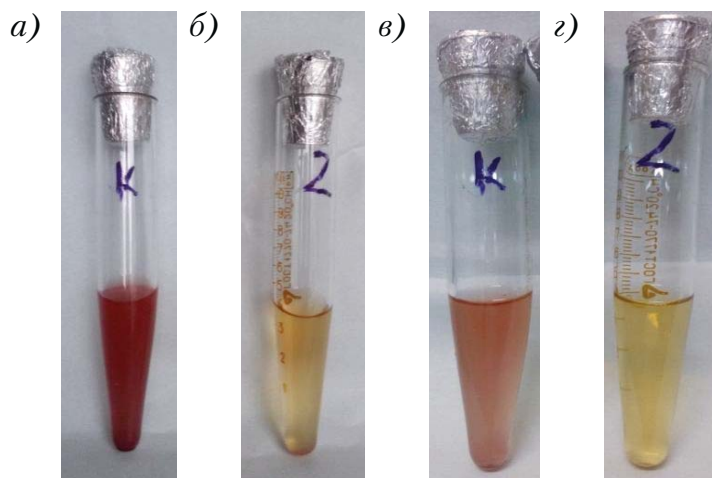


Рис. 2. Зміна ДГА у разі збільшення співвідношення площі контакту склокристалічного покриття до щільності біомаси біотестової культури:

а – контроль № 1 після 6 годин інгібування;  
б – зразок при збільшенні площі контакту в 4 рази впродовж 6 годин інгібування;  
в – контроль № 1 після 24 годин інгібування;  
г – зразок при збільшенні площі контакту у 4 рази впродовж 24 годин інгібування.

метаболических процесів у тестовій культурі під впливом активних речовин склокристалічного покриття.

Візуальний огляд пробірок з біотестом, що не контактували з дослідними зразками склокристалічних покриттів, показав наявність яскравого фарбування середовища внаслідок інтенсивного утворення формагану, що свідчить про велику інтенсивність ферментативних процесів у бактеріальних клітинах.

### Висновки

Результати дослідження показали, що зразок склокристалічного покриття FAR-5.3-TZ при

збільшенні співвідношення його площі контакту до щільності біомаси біотесту пригнічує метаболічні процеси в *E.coli* під впливом активних речовин склокристалічних покриттів.

З урахуванням проведених досліджень токсичності склокристалічного покриття з бактерицидним наповнювачем встановлено, що при застосуванні імплантату з біоактивним покриттям необхідно чітко регламентувати площу контакту та вміст бактерицидного наповнювача для попередження його токсичної дії на організм людини.

### ПОСИЛАННЯ

1. Wang G., Li J., Lv K. et al. Surface thermal oxidation on titanium implants to enhance osteogenic activity and in vivo osseointegration. *Sci. Rep.* 2016; 6:1–13.
2. O.M. Mishchenko, O.V. Solodovnyk, O.M. Oleshko. Osteointehratsiia dentalnykh implantativ z riznymy typamy poverkhni. *Bukovynskiy medychnyi visnyk.* 2020; T. 24, № 1 (93):79–89. DOI: <https://doi.org/10.24061/2413-0737.XXIV.1.93.2020.11>
3. Piatti E, Miola M, Verné E. Tailoring of bioactive glass and glass-ceramics properties for in vitro and in vivo response optimization: a review. *Biomater Sci.* 2024; 6. DOI: <https://doi.org/10.1039/d3bm01574b>
4. Xu R, Hu X, Yu X, Wan S, Wu F, Ouyang J, et al. Micro-/nano-topography of selective laser melting titanium enhances adhesion and proliferation and regulates adhesion-related gene expressions of human gingival fibroblasts and human gingival epithelial cells. *Int J Nanomedicine.* 2018;13:5045-57. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S166661>
5. Savvova OV., Bragina LL, Shadrina GN et al. Surface properties of biocompatible calcium-silicon-phosphate glass ceramic materials and coatings. *Glass and Ceramics.* 2017; 74(1):29–33.
6. Rahaman MN, Day DE, Bal BS, Fu Q, Jung SB, Bonewald LF, Tomsia AP. Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater.* 2011 Jun;7(6):2355–73. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2011.03.016>
7. Kulanthaivel S, Roy B, Agarwal T, Giri S, Pramanik K, Pal K, Ray SS, Maiti TK, Banerjee I. Cobalt doped proangiogenic hydroxyapatite for bone tissue engineering application. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2016 Jan 1;58:648–58. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2015.08.052>
8. Savvova OV., Bragina LL, Shadrina GN. Properties of bioactive glass ceramic coatings on titanium alloys obtained by slip technology. *Glass and Ceramics.* 2015; 72(3–4):145-149. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10717-015-9744-0>
9. Savvova OV, Fesenko OI, Babich OV. Osoblyvosti zarodkoutvorennia krystaliv apatyty na poverkhni kaltsiisylifikofosfatnykh sklomaterialiv. "Informatsiini tekhnolohii: nauka, tekhnika, tekhnolohiia, osvita, zdorovia." XKhIII Mizhnarodna naukovo praktychna konferentsiia, 20–22 travnia 2015 r.: materialy konferentsii. Kharkiv: NTU "KhPI," 2015: 220.
10. Hench L.L. The Future of Bioactive. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2015; 26(2):86–90. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5425-3>
11. <https://regulation.gov.ua/documents/id207824>

## Study of glass-ceramic coating of dental implants in conditions of different bacterial status

*Yanishen I., Fedotova O., Savvova O., Fesenko O., Khlystun N., Petrochenko G.*

Kharkiv National Medical University, Kharkiv, Ukraine

**Annotation.** The ability of a surface to influence cell growth was known more than 100 years ago. Among the most commonly used functional coatings are bioactive glass ceramics,  $\alpha/\beta$ -TCP, tetracalcium phosphate, hydroxyapatite, zirconium, as well as growth factors, collagen, adhesive proteins, biologically active drugs, ions and metals, including graphene.

The purpose of the study was to improve the quality of orthopedic treatment of patients by studying the effect of glass-ceramic coating of dental implants in conditions of moderate and severe bacterial infection. Experimental samples were prepared in the form of discs with a thickness of 1 mm and a diameter of 10 mm. Glass crystal coating FAR-5.3-TZ is applied to a metal base made of titanium VT1-00 (slicker technology) and fired at a temperature of 780°C. The biotest inoculum was used to inoculate the MPB nutrient medium, into

which a sample disk of FAR-5.3-TZ vitreous coating was placed. The study was conducted under conditions of moderate (initial bioassay density  $10^3$  cells/cm<sup>3</sup>) and severe (initial bioassay density  $10^6$  cells/cm<sup>3</sup>) bacterial infection. The prepared test tubes were placed in a thermostat for incubation at a temperature of  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  and kept for 6 and 24 hours. The study showed that during 6 hours of exposure, samples of glass crystal coating FAR-5.3-TZ were characterized by a bacteriostatic effect at biotest concentrations of  $10^3$  and  $10^6$  cl/cm<sup>3</sup>, which is manifested in a decrease in the formation of DHA by 1.8 and 1.2 times, respectively, which indicates their toxic effect in relation to *E.coli* culture. It was visually established that the intensity of the colored formazan in the control variants is greater than in the tested variants, which indicates an adequate reduction in the formation of DHA when the FAR-5.3-TZ glass-crystalline coating samples come into contact with the bioassay.

**Conclusions.** The results of the study showed that the FAR-5.3-TZ vitreous coating sample, with an increase in the ratio of its contact area to the bioassay biomass density, suppresses metabolic processes in *E. coli* under the influence of the active substances of the vitreous coatings.

**Keywords:** glass-ceramic coating, bacterial status, dental implants, osseointegration.

**Янішен Ігор Володимирович** — доктор медичних наук, професор, завідувач кафедри ортопедичної стоматології Харківського національного медичного університету.

E-mail: [iv.yanishen@kntmu.edu.ua](mailto:iv.yanishen@kntmu.edu.ua)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4278-5355>.

**Федотова Олена Леонідівна** — PhD, доцент кафедри ортопедичної стоматології Харківського національного медичного університету

E-mail: [ol.fedotova@kntmu.edu.ua](mailto:ol.fedotova@kntmu.edu.ua)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9421-9262>.

**Савцова Оксана Вікторівна** — доктор медичних наук, професор, професор кафедри хімії та інтегрованих технологій Харківського національного університету міського господарства ім. О. М. Бекетова

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6664-2274>.

**Фесенко Олексій Ігорович** — кандидат технічних наук, старший викладач професор кафедри хімії та інтегрованих технологій Харківського національного університету міського господарства ім. О. М. Бекетова;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3888-9493>.

**Хлисту́н Ната́лія Леоні́дівна** — кандидат медичних наук, головний лікар стоматологічної клініки «Мрія»;

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6943-1835>.

**Петро́ченко Глі́б В'ячесла́вович** — аспірант кафедри ортопедичної стоматології Харківського національного медичного університету;

ORCID: <https://orcid.org/0009-0007-9544-7671>.

*Стаття: надійшла до редакції 23.08.2024 р. — прийнята до друку 20.09.2024 р.*