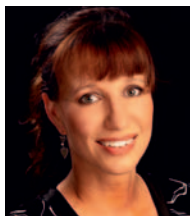


# Nya spännande implantatytor

**AUTOREFERAT** Orala implantat har använts regelbundet i nästan 40 år och i dag finns det 3–4 miljoner implantat installerade i patienter runt om i världen. Trots att lyckandefrekvensen är hög, framför allt i mandibelns frontområde, finns det behov av fortsatt forskning.

Godkänt för publicering 19 november 2007



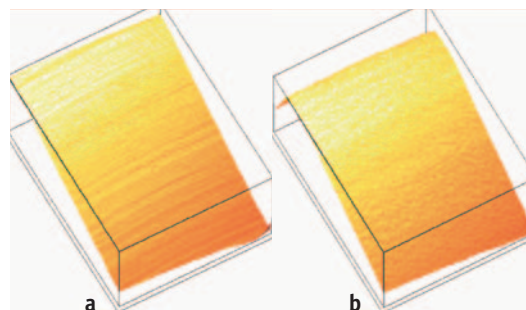
**Anna Göransson**  
Odont doktor, över-  
tandläkare, specialav-  
delningen för ortodonti,  
odontologiska institu-  
tionen, Göteborg  
E-post: anna.goransson  
@biomaterials.gu.se

Forskningen kring implantat syftar i dag i första hand till att öka lyckandefrekvensen även i ben med dålig kvalitet, till exempel strålat och transplanterat ben. För det andra vill man påskynda inläkningsprocessen, vilket är aktuellt inte minst i debatten om direktbelastning. En snabbare inläkningsprocess skulle medföra funktionella och sociala vinster för patienter genom att de snabbare kan återvända till ett normalt liv.

En förutsättning för att implantaten ska kunna vidareutvecklas, är att vi känner till och förstår mekanismerna för implantatläkning, men i dag är mycket fortfarande outforskat. Albrektsson et al (1981) har listat sex faktorer som anses påverka implantatens inläkning; biokompatibilitet, implantatets design, implantatets yta, kirurgisk teknik, belastning samt patientstatus.

Denna avhandling fokuserade på att optimera implantatytans topografi och kemi.

Eftersom begreppet »osseointegration« bygger på mikromekanisk bindning, det vill säga inväxt av ben i små oregelbundenheter, kom implantatets topografi tidigt att stå i fokus. Olika metoder har använts för att ändra ytans topografi,



**Figur 1:** Bilder av ytor från delarbete I gjorda med en optisk interferometer som visar a) en anisotrop yta med en klar orientering b) en isotrop yta där blästringsproceduren har avlägsnat svarvspåren så att ytan saknar orientering.

exempelvis svarvning, blästring och etsning. I mitten av 1990-talet föreslog Wennerberg et al riktlinjer dels för hur implantatytor bör mätas men också för hur resultaten bör presenteras på ett standardiserat sätt. Baserat på experimentella studier visade sig en råhet på 1,5 (vilket är rårare än Brånemarks originalyta) vara optimalt för osseointegration. Ytråhet är dock bara en del av begreppet topografi; betydelsen av orientering är till exempel fortfarande outforskad.

I avhandlingen utvärderas betydelsen av orientering på ett kontrollerat sätt (delarbete I).

Ett annat sätt att försöka förbättra inläkningen är att ändra kemien på ytan. Förutom att kemien ändras automatiskt när man modifierar topografin, har man försökt ändra ytans kemi avsiktligt för att få en kemisk bindning mellan material och levande vävnad, så kallad »bioaktivitet«.

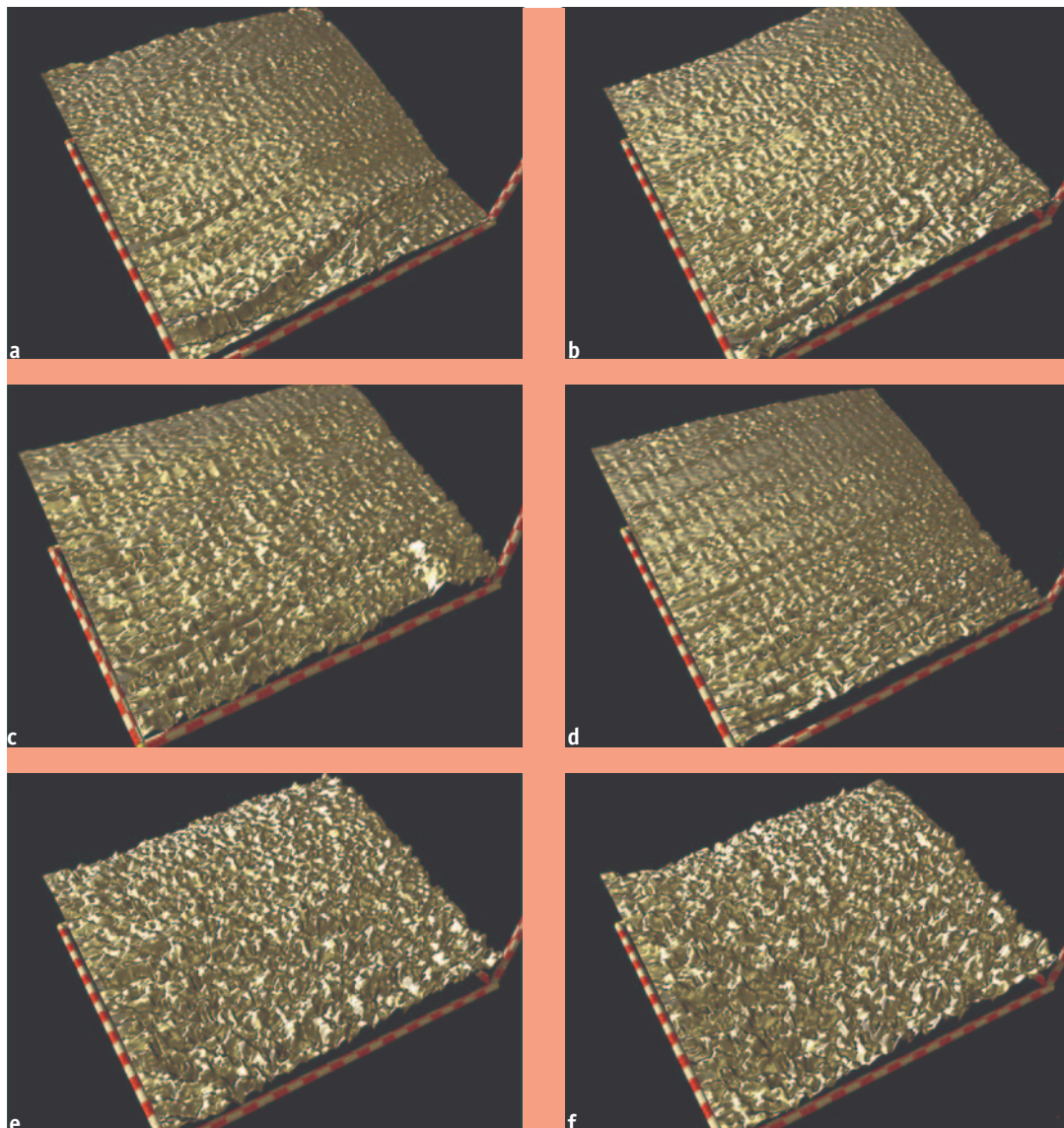
Begreppet bioaktivitet är omdiskuterat eftersom bevisen som läggs fram är av indirekt natur; till exempel nära kontakt mellan vävnad och material som observerats i transmissionselektronmikroskop eller att materialet utlöser en utfällning av apatit i fysiologiska lösningar och djurexperimentella modeller. Rent hypotetiskt anses fördelen med en kemisk bindning, det vill säga bioaktivitet, vara att den skulle inträffa tidigare än den mekaniska bindningen och dessutom stärka den.

Problemen med de »bioaktiva« materialen (hy-

## DISPUTATION

Den 8 december 2006 försvarade Anna Göransson, avdelningen för oral protetik och odontologisk materialvetenskap, Sahlgrenska akademien, Göteborg, avhandlingen »On possibly bioactive CP titanium implant surf-aces«. Fakultetsopponent var professor Birte Melsen, avdelningen för ortodonti, Århus universitet. Huvudhandledare var professor Ann Wennerberg, protetik/odontologisk materialvetenskap, odontologiska fakulteten, Göteborg.

SVENSKA  
TANDLÄKARE-  
SÄLLSKAPETS  
PRIS FÖR BÄSTA  
AVHANDLING



**Figur 2:** Bilder av ytor från delarbete II gjorda med en konfokal laserscanning-profilometer som visar en a) svarvad yta, b) svarvad och blodplasmabelagd yta, c) alkali- och värmebehandlad yta, d) alkali- och värmebehandlad samt blodplasmabelagd yta, e) elektrokemiskt oxiderad yta (TiUnite) och f) elektrokemiskt oxiderad (TiUnite) och blodplasmabelagd yta.

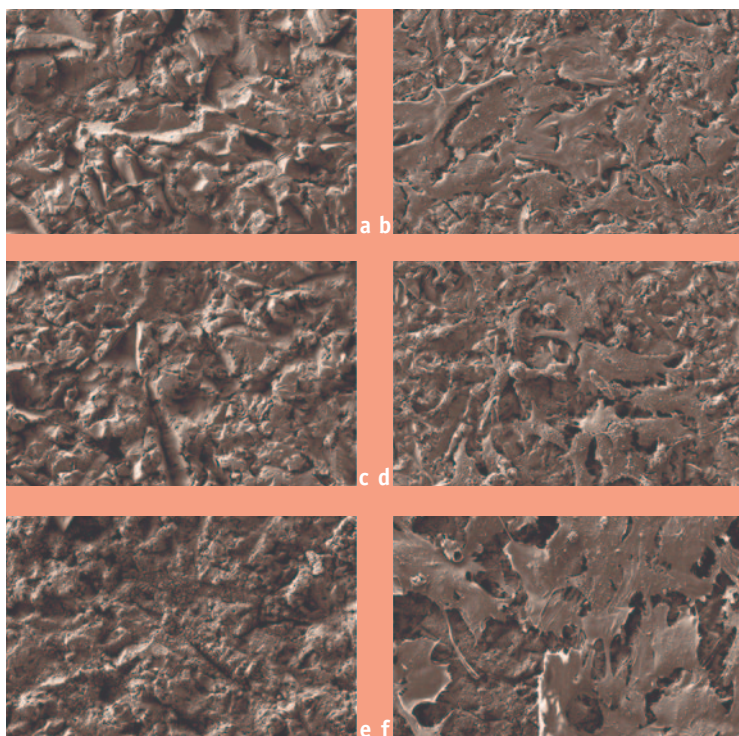
droxyapatit, Bio-glass) är att de inte tål den mekaniska belastning ett implantat utsätts för. Det har gjorts försök att belägga titan med hydroxyapatit, HA, genom till exempel plasmasprayning. Beninväxten ökade initialt, men visade sig senare ge bakslag genom att HA-beläggningen lossnade och orsakade inflammation.

Intensiv forskning bedrivs för tillfället för att ta fram alternativa metoder för att implantera och belägga ytor med attraktiva joner för ökad bioaktivitet. Tunna HA-lager framställda i sol-gels, etsning med fluor, alkali och värmebehandling samt elektrisk anodisering med specifika joner är metoder som använts (delarbete II, III, IV). En annan

metod går ut på att binda biomolekyler, till exempel proteiner, till ytan (se delarbete II, IV). För en utförlig genomgång av vad metoderna innebär och av vad som är publicerat inom respektive område hänvisas till avhandlingens introduktionsdel. I avhandlingen jämförs experimentella och kommersiella ytor framställda med dessa tekniker i djurmodell och förklaringsmodeller söks i cellkulturer samt fysiologiska lösningar.

#### **Delarbete I**

Syftet var att på ett kontrollerat sätt utvärdera betydelsen av ytorientering i förhållande till ytråheten för inläkning av titanimplantat i ben.



**Figur 3:** Bilder på ytor från delarbete V gjorda med SEMx1000-förstoring (vänster kolumn) och med benceller på ytan efter 3 timmarx500-förstoring (höger kolumn). a & b) blåstrad kontrolllyta, c & d) blåstrad yta efter 72 timmar i fysiologisk lösning samt e & f) etsad/fluoriderad yta efter 72 timmar i fysiologisk lösning.

Anisotropa (yta med orientering) och isotropa (yta utan orientering) ytor framställdes med hjälp av svarvning respektive svarvning/blästring (figur 1). En konfokal laser-scanningprofilometer användes för att verifiera att ytorna fick en liknande medelhöjdavvikelse från ett standardplan (Sa) och ytarea (Sdr), men som skiljde sig vad det gäller medelavstånd mellan topparna i ett horisontalplan (Scx).

Benmängd och stabilitet utvärderades i en kaninmodell med hjälp av histomorfometri (benkontakt, benarea) respektive resonansfrekvensmätning efter tre månader.

Resultaten visade en ökad stabilitet över tid för både de anisotropa och isotropa ytorna, men i övrigt visade de olika ytorna inga skillnader i benmängd och stabilitet.

Slutsats: Tillsammans med resultat från tidigare studier ger studie I en indirekt indikation på att en implantatytas orientering har en underordnad betydelse i förhållande till ytråhet för inläkning i ben.

#### Delarbete II

Här jämfördes benmängd och stabilitet hos bioaktiva (alkali- och värmebehandlade) och icke bioaktiva (elektrokemiskt oxiderade) titanimplantat med och utan blodplasmabeläggning (figur 2).

Ytorna karakteriserades topografiskt med hjälp av en konfokal laser-scanningprofilometer. Benmängd och stabilitet utvärderades i en kaninmodell med hjälp av histomorfometri (benkontakt, benarea) respektive resonansfrekvensmätning efter en månad.

Resultaten visade en ökad stabilitet över tid för samtliga implantat, men i övrigt inga skillnader mellan de olika modifierade implantaten vad det gäller benmängd och stabilitet.

Slutsats: De undersökta »bioaktiva« implantaten förbättrade inte beninläkning jämfört med icke bioaktiva implantat. Studien ger dock indirekta bevis för förbättrad beninläkning för samtliga behandlingar jämfört med traditionellt blåstrade och svarvade implantat.

#### Delarbete III

Det inflammatoriska svaret *in vitro* jämfördes för svarvade, blåstrade samt bioaktiva (elektrokemiskt oxiderade/magnesiumjoner) och icke bioaktiva (elektrokemiskt oxiderade) titanimplantat.

Ytorna karakteriserades topografiskt med hjälp av en optisk interferometer. Humana monocyter användes för att utvärdera cellsvaret *in vitro* för de modifierade titanytorna, där cellantal (DAPI), differentiering (markörer E27/10, RM3/1) och proteinproduktion (Tumor necrosis factor- $\alpha$ /TNF- $\alpha$ , Interleukin-10/IL-10) utvärderades med hjälp av immunofluorescence efter 24 och 72 timmar.

Resultaten visade ett ökat cellantal på de bioaktiva ytorna jämfört med de övriga i förhållande till ytråhetsgrad. Däremot sågs ett liknande antal differentierade celler och en liknande mängd pro- och antiinflammatoriska mediatorer.

Slutsats: De bioaktiva implantaten attraherar ett ökat antal inflammatoriska celler *in vitro* jämfört med icke bioaktiva implantat i förhållande till ytråhetsgrad. Däremot uppvisar cellerna en lägre inflammatorisk aktivitet.

#### Delarbete IV

Syftet var att jämföra och försöka påverka det inflammatoriska svaret genom att belägga ytan med två olika proteinbeläggningar, dels en tänkt proinflammatorisk (fibrinogen) och dels en tänkt antiinflammatorisk (katalas) där en svarvad yta användes som kontroll.

Humana monocyter användes för att utvärdera cellsvaret *in vitro* för de modifierade titanytorna, där cellantal (DAPI), differentiering (E27/10, RM3/1) och proteinproduktion (TNF- $\alpha$ , IL-10) utvärderades med hjälp av immunofluorescens efter 24 och 72 timmar.

Resultaten visade att det tänkta antiinflammatoriska implantatet (katalas) visade det kraftigaste cellsvaret både vad gäller mängden antiinflammatoriska mediatorer (IL-10) och cellantal (figur

3) samt pro-inflammatoriska mediatorer (TNF- $\alpha$ ). De svarade ytorna visade svagast cellsvar.

Slutsats: Det går att påverka det inflammatoriska svaret *in vitro* genom att binda olika protein till titanytan. Katalasbeläggnings visade dock *in vitro* inte den tänkta antiinflammatoriska effekten.

#### Delarbete V

Här jämfördes bioaktiva ytors (alkali- och värmebehandlade, elektrokemiskt oxiderade/magnesiumjoner, etsad/fluorjoner, nanotunn HA-beläggnings med en blästrad yta som kontroll) förmåga att inducera kalciumfosfatutfallning samt attrahera och stimulera bencellsvaret *in vitro*.

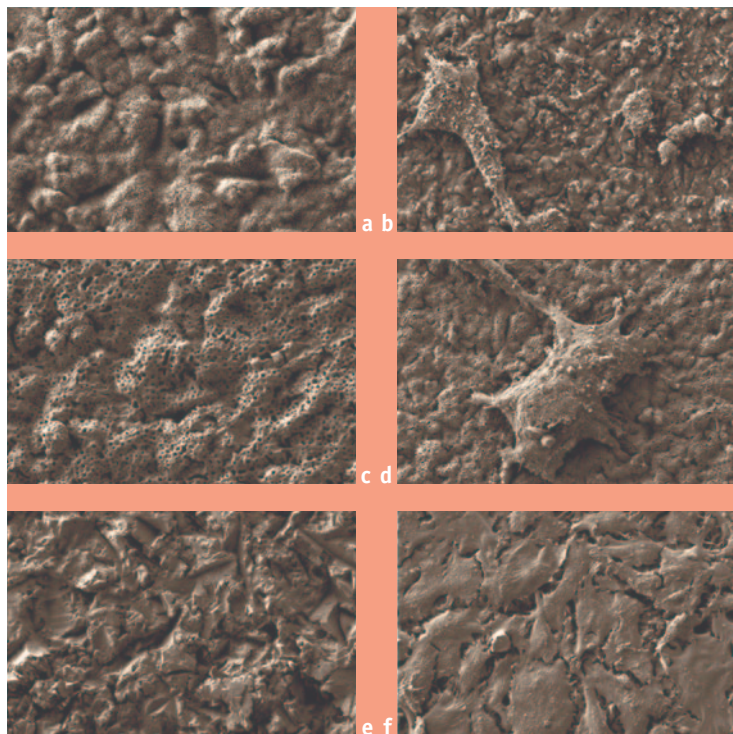
Ytorna karakteriserades både topografiskt (optisk interferometer) som kemiskt (x-ray photo electron spectroscopy). Kalciumfosfatutfallning utvärderades efter 12, 24 och 72 timmar i en fysiologisk lösning, SBF. Humana osteoblaster odlades på de ytor som behandlats 72 timmar i SBF (figur 3 och 4). Cellantal, differentiering (osteocalcin) och proteinproduktion (TGF- $\beta$ ) utvärderades med hjälp av immunofluorescens efter tre timmar respektive 10 dagar.

Resultaten visade att de bioaktiva ytorna initialt (12, 24 timmar) stimulerade ökad kalciumfosfatutfallning: Men efter 72 timmar visade den blästrade och den nanotunna HA-belagda ytan störst mängd kalciumfosfat och benceller på dessa ytor producerade ökad mängd osteocalcin och TGF- $\beta$ .

Slutsats: De bioaktiva ytorna stimulerade en tidigare kalciumfosfatutfallning *in vitro* än icke bioaktiva ytor. Mängden utfällt kalciumfosfat korrelerar med bencellssvaret vad gäller produktion av osteocalcin och TGF- $\beta$ . Detta gör implantatet med den nanotunna HA-beläggnings intressant för fortsatta studier.

#### SLUTSATSER

- Ytorientering har en underordnad betydelse jämfört med ytråhet för inläkning av titanimplantat i ben *in vivo*.
- Bioaktiva implantat förbättrade inte beninläkningen jämfört med icke bioaktiva implantat. Studien ger dock indirekta bevis för förbättrad beninläkning för samtliga behandlingar jämfört med traditionellt blästrade och svarvade implantat.



**Figur 4:** Ytor från delarbete V i SEMx1000-förstoring (vänster kolumn) och med benceller på ytan efter 3 timmarx500-förstoring (höger kolumn). a & b) alkali- och värmebehandlad yta efter 72 timmar i fysiologisk lösning, c & d) elektrokemiskt oxiderad/Mg yta efter 72 timmar i fysiologisk lösning, e & f) nanotunn HA-belagd yta efter 72 timmar i fysiologisk lösning.

■ Bioaktiva implantat attraherade ett ökat antal inflammatoriska celler *in vitro* jämfört med icke bioaktiva implantat i förhållande till ytråhetsgrad. Dock uppvisar cellerna en lägre inflammatorisk aktivitet.

■ Det går att påverka det inflammatoriska svaret *in vitro* genom att binda olika protein till titanytan. Däremot visar katalasbeläggnings inte den antiinflammatoriska effekt som var avsedd.

■ De bioaktiva ytorna stimulerade en tidigare kalciumfosfatutfallning *in vitro* än icke bioaktiva ytor. Vidare korrelerar mängden utfällt kalciumfosfat med bencellssvaret när det gäller produktion av osteocalcin och TGF- $\beta$ . Detta gör implantatet med nanotunn HA-beläggnings intressant för fortsatta studier.

#### DELARBETEN

- I. Göransson A, Wennerberg A. Bone formation at titanium implants prepared with iso- and anisotropic surfaces of similar roughness: An *in vivo* study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2005;7(1): 17–23.
- II. Göransson A, Jansson E, Tengvall P, Wennerberg A. Bone formation after 4

weeks around blood-plasma-modified titanium implants with varying surface topographies: an *in vivo* study. *Biomaterials* 2003; 24 (2): 197–205.

- III. Göransson A, Gretzer C, Johansson A, Sul Y, Wennerberg A. Inflammatory response to a titanium surface with potential bioactive properties. An *in vitro*

study. *Clinical Implant Dentistry and Related Research* 2006; 8 (4): 210–7.

- IV. Göransson A, Gretzer C, Tengvall P, Wennerberg A. Inflammatory response to titanium surfaces with fibrinogen and catalase coatings: an *in vitro* study. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*

2007; 80A/3: 693–9.

- V. Göransson A, Arvidsson A, Currie F, Franke-Stenport V, Kjellin P, Mustafa K, Sul YT, Wennerberg A. An *in vitro* comparison of possibly bioactive titanium implants surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research Part A* - Accepted.