

Szegedi Tudományegyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Fogorvostudományi Kutatások alprogram  
Alprogramvezető: Prof. Dr. habil. Rakonczay Zoltán  
egyetemi tanár, az MTA doktora

## **Fogorvoslásban alkalmazott dekontamináló és fluoridot tartalmazó szerek hatása a titán dentális implantátumok felszínére**

Ph.D. értekezés tézisei

**Dr. Ungvári Krisztina**

SZTE FOK Orálbiológiai és Kísérletes Fogorvostudományi Tanszék

Témavezetők:

Prof. Dr. habil. Fazekas András  
emeritus professzor, az orvostudományok kandidátusa  
Dr. Laczkóné Dr. Turzó Kinga  
egyetemi docens, Ph.D.



Szeged

2013

Szegedi Tudományegyetem  
Klinikai Orvostudományok Doktori Iskola

Fogorvostudományi Kutatások alprogram  
Alprogramvezető: Prof. Dr. habil. Rakonczay Zoltán  
egyetemi tanár, az MTA doktora

## **Fogorvoslásban alkalmazott dekontamináló és fluoridot tartalmazó szerek hatása a titán dentális implantátumok felszínére**

Ph.D. értekezés tézisei

**Dr. Ungvári Krisztina**

SZTE FOK Orálbiológiai és Kísérletes Fogorvostudományi Tanszék

Témavezetők:

Prof. Dr. habil. Fazekas András  
emeritus professzor, az orvostudományok kandidátusa  
Dr. Laczkóné Dr. Turzó Kinga  
egyetemi docens, Ph.D.



Szeged

2013

## 1. Bevezetés

Az alloplastikus anyagok biointegrálódnak a szervezetben, ha a közvetlen környezetükkel funkcionális egységet tudnak kialakítani, és nem fejtenek ki rá káros hatást. A biointegráció sikeressége több tényezőtől is függ: az anyag szempontjából a térfogati és felületi tulajdonságoktól, az implantátum formai kialakításától és az anyag biokompatibilitásától. Azonban az alkalmazott sebészi technika, a páciens általános állapota és életminősége is döntő fontosságú a biointegráció folyamatában.

Fő kutatási területünk az alloplastikai anyagok biointegrációjának vizsgálata, elsősorban a titán fogászati implantátumoké, mivel a foghiányok esetében az implantológia legerjedtebben alkalmazott anyaga. Az alloplastikai anyagok vizsgálata alapvető fontosságú a fogorvosi kutatásokban, mivel egyre gyakrabban alkalmazunk fogászati implantátumokat, hogy a mindennapi fogorvosi ellátás során javítani tudjuk a páciensek életminőségét.

A titán és ötvözetei széleskörben alkalmazott különleges fémek az orvosi és fogorvosi területen. Fogorvosi ellátás során az alábbi szakterületeken használjuk: fogpótlástan, fogszabályozás, endodoncia, implantológia.

Mivel ezek az eszközök általában hosszú időn keresztül rögzítve vannak a szájüregben, folyamatosan érik őket az ott található környezeti hatások.

A titán és ötvözetei rendkívül korrózióállóak. Ez a felületet borító titán-dioxid rétegnek köszönhető. Ismert, hogy míg az oxidáció a fogászatban használható egyéb fémek esetén korrozív hatású, addig a titán esetében - a felületi oxidréteg tömörítésével és vastagításával - javítja az anyag korrózióálló tulajdonságait. A felület stabilitását biztosító natív titán-dioxid réteget érdemlegesen módosítani csak az erőteljes redukív hatás képes. Ilyen redukív hatással kell számolni, ha a felületre fluorid vegyületek kerülnek, különösen savas pH mellett.

A fogászati implantátum körül esetlegesen kialakult gyulladás terápiájában a kontaminálódott fogászati implantátum-felszín fertőtlenítése és kémiai tisztítása alapvető fontosságú. Fontos azonban az is, hogy a tisztítás ne eredményezzen a titánfelszínen olyan változást, ami az implantátum biointegrációra való alkalmasságát hátrányosan befolyásolná.

## 2. Az értekezés célkitűzései

Kutatócsoportunk alloplasztikai anyagok biointegrációjával foglalkozik, így Ph.D munkám is erre a területre összpontosul; általánosan alkalmazott fluorid tartalmú és kémiai dekontamináló szerek *in vitro* tesztelését végeztem. Humán epithél sejteket szeparáltam szájüregből származó nyálkahártya részletekből az SZTE FOK Sejtkultúra Laboratóriumában, majd ezeket a sejteket használtam vizsgálataimban.

Első témám a különböző fluorid tartalmú káriesz prevenció céljából alkalmazott profilaktikus oldatok és gélek hatásának vizsgálata volt CP (kereskedelmi tisztaságú) titán felszínen. A felszín morfológiájában és összetételében bekövetkezett változásokat röntgen elektron spektroszkóp (XPS) és atomi erő mikroszkóp (AFM) segítségével ellenőrizték, majd az epithél sejtek letapadását és osztódását mértem dimetil-tiazol-difenil tetrazólium bromid (MTT) és fehérje koncentráció meghatározással. Vizsgáltuk:

- *a fluoriddal kezelt titán felszín érdességének változásait,*
- *a különböző koncentrációjú fluorid oldatok titán felszíni összetételére kifejtett hatásait,*
- *a humán epithél sejtek letapadását a módosított felszíneken,*
- *a humán epithél sejtek osztódásának mértékét ezen módosított felszíneken.*

Második vizsgálatomban három, a peri-implantitisz terápiájában általánosan alkalmazott dekontamináló oldat hatását vizsgáltam. 3%-os H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oldattal, túltelített citromsav oldattal (pH = 1) és klórhexidin-diglükonát (CHX) géllal kezeltem a CP titán felszíneket, majd a kémiai struktúrát és felszíni érdességet (R<sub>a</sub>) vizsgáltam XPS és AFM segítségével. A biológiai környezet reakcióját *in vitro* humán epithél sejtkultúrával értékeltem, a letapadás és proliferáció mértékének meghatározásával (MTT és fehérje koncentráció mérés). Vizsgáltam:

- *a különböző tisztító oldatok hatását a titán felszín érdességére,*
- *a titán felszín összetételében a dekontamináló ágensekkel történő kezelés következtében bekövetkezett változásokat,*
- *epithél sejtek tisztított felszínekre történő letapadásának mértékét,*

- *a már letapadt humán epithél sejtek osztódásával bekövetkezett sejtszám növekedést.*

Ezek a vizsgálatok hozzájárulnak a klinikai gyakorlatban általánosan alkalmazott szerek szájüregben rögzített titán felszínre gyakorolt hatásának értékeléséhez, új és fontos információkkal szolgálunk, így segítséget nyújtunk a gyakorló fogorvosok számára mindennapi munkavégzésük során.

### **3. Anyagok és módszerek**

#### **3.1. Fluorid tartalmú profilaktikus szerek hatásának vizsgálatához alkalmazott anyagok és módszerek (epithél sejtkultúra vizsgálatok)**

CP4-es tisztaságú titánból készült mechanikailag polírozott korongokat (átmérő = 9 mm, vastagság = 2 mm) alkalmaztunk, hogy 0,2  $\mu\text{m}$  alatt legyen az érdesség, mint a dentális implantátum nyaki részén (CAMLOG Biotechnologies AG, Switzerland). Először acetonnal és abszolút etanollal történő tisztítást végeztem ultrahangos fürdőben, majd 1 órán át valamelyik profilaktikus anyaggal kezeltem őket: (1) káriesz prevenciós profilaktikus szájöblögetővel (Elmex, GABA International AG, Switzerland), mely 250 ppm fluoridot tartalmaz Olaflur és nátrium-fluorid formájában (pH = 4,4); (2) NaF 1%-os vizes oldata (3800 ppm  $\text{F}^-$ , pH = 4,5); vagy (3) géllal (Elmex, GABA GmbH, Germany), mely 12 500 ppm (1,25%)  $\text{F}^-$ -ot tartalmaz amin fluoridok és nátrium-fluorid formájában (pH = 4,8). Az egy óra letelte után ultratiszta vízzel mostam a korongokat majd szárítottam.

PSIA XE-100 (PSIA Inc., South Korea) atomi erő mikroszkóppal (AFM) vizsgáltam a felszíni érdességben bekövetkezett változásokat. A felszín kémiai változásait XPS-el értékelttem.

A kontroll és kezelt csoportokat 48-lyukú sejtenyésztő edényben UV-C alatt sterilizáltam a sejtek felvitele előtt. Ezután humán gingivából származó 3. passzázsban lévő epithél sejteket tettem a felszínre:  $10^4$  sejt/0,5ml/korong. A sejt letapadást 24 óra, az osztódás mértékét 72 óra után értékelttem, MTT és fehérje koncentráció mérés segítségével. Három független vizsgálatot végeztem csoportonként 5 koronggal. Statisztikai analízis során Student's t-próbát végeztem 2 mintánként, ahol a szignifikancia szintet  $p = 0,05$ -nél állapítottam meg.

### **3.2. Peri-implantitisz terápiajában alkalmazott kémiai szerek hatásának vizsgálata (epithél sejt-kultúra vizsgálat)**

9 mm átmérőjű és 1,5 mm vastag CP4-es esztergált felszínű korongokat használtam 0,2  $\mu\text{m}$  alatti érdességgel (CAMLOG<sup>R</sup> Biotechnologies AG, Switzerland). Az acetonos és etanolos ultrahangos fürdő után a korongokat valamelyik kémiai tisztító szernek vettem alá: 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  5 percig, túltelített citromsav (pH = 1) 1 percig, vagy klórhexidin-diglukonát (CHX) gél 5 percig (Corsodyl<sup>R</sup> gél; SmithKline Beecham Consumer Healthcare, UK). A kontroll csoportot 5 percig ultratiszta vízzel mostam.

PSIA XE-100 mikroszkópot használtam a felületi érdesség vizsgálatához, a kémiai összetételt XPS segítségével értékeltem.

Tízezer 3. passzázsban lévő sejtet tettem 0,5 ml tápoldatban a korongok felszínére. A sejtletapadást 24, az osztódás mértékét 72 óra elteltével értékeltem MTT és fehérje koncentráció meghatározással. Négy független kísérletet végeztem, csoportonként 5 elemszámmal.

### **3.3. Atomi erő mikroszkóp (AFM)**

A PSIA XE-100 atomi erő mikroszkópot (South Korea) használtunk a minták érdességében bekövetkezett esetleges változások értékeléséhez. Ez a módszer lehetőséget nyújt a felszín mikron-nanométeres nagyságrendű vizsgálatára, miközben a szilikon tartóra rögzített AFM tű (típus: P/N 910M-NSC36, MikroMasch Eesti OU, Észtország) megközelíti és eltávolodik a vizsgált felszíntől. A vizsgálatokat kontakt módban végeztük, a magassági, deflektációs és a 3D (10  $\mu\text{m}$   $\times$  10  $\mu\text{m}$  és 5  $\mu\text{m}$   $\times$  5  $\mu\text{m}$ -es) felvételeket rögzítettük. Érdesség érték meghatározást ( $R_a$ ) végeztünk AFM software program segítségével (legalább 6 független vizsgálat).

### **3.4. Röntgen fotoelektron spektroszkóp (XPS)**

A titán felszín kémiai összetételét XPS készülék segítségével értékeltük. A fotoelektronok Al  $K\alpha$  primer sugárzásból származtak ( $h\nu = 1486,6 \text{ eV}$ ), melyeket hemiszférikus elektronenergia-analizátor segítségével értékeltünk (PHOIBOS 150 MCD 9; SPECS). A röntgen ágyút 150 W-on működtettük (12 kV, 12,5 mA). A kötési energiát normalizáltuk a bekötött C 1s csúcsához viszonyítva (285,1 eV). Az XPS spektrumban mutatkozó változásokat 30-60 perc  $\text{He}^+$

bombázást követően detektáltuk. A  $\text{He}^+$  ionokat ionágyúval generáltuk (5 kV), és a beeső ionsugarakat 200 nA-nál mértük. A bombázás körülbelül 10 nm felszíni anyagot távolított el. Széles illetve nagy felbontású, keskeny spektrumokat vettünk fel, és a Ti 2p, O 1s, és C 1s karakterisztikus vonalakat vizsgáltuk.

### **3.5. *In vitro* sejtkultúra vizsgálat**

#### **3.5.1. Epithél sejt szeparálás orális nyálkahártyából**

Egészséges páciensekből – egyébként is szükséges szájszészeti beavatkozás során – eltávolított gyulladásmentes nyálkahártyából izoláltunk orális epithél sejteket. A donorok életkora 18 és 46 év között volt. A vizsgálati protokollt a Szegedi Tudományegyetem Humán Orvosbiológiai Etikai Bizottsága jóváhagyta, a kutatásetikai mérték mindenben megfelelt a Helsinki Egyezménynek.

#### Sejt szeparálás:

A nyálkahártya darabokat először 2% antibiotikum/antimikotikum oldattal (Sigma-Aldrich GmbH, Németország) kiegészített Salsol A oldatban mostuk (Human Rt., Gödöllő, Magyarország). Ezután a mintákat diszpáz enzimoldatban (Grade II, Roche Diagnostics, Mannheim, Németország) inkubáltuk egy éjszakán át, 4 C°-on. Másnap elválasztottuk egymástól a dermiszt és az epidermiszt. Az izolált epidermiszt 0,25%-os tripszin-EDTA oldatban inkubáltuk (Sigma-Aldrich GmbH, Németország) 5 percig, 37 C°-on, így a szövetből sejteket nyertünk. A sejtszuspenziót 200 g-n 10 percig 4 C°-on centrifugáltuk, majd a továbbiakban az epidermális sejteket 25 cm<sup>2</sup>-es flaskákban tenyésztettük (Orange Scientific, Belgium). Az orális epithél sejteket keratinocita szérumentes mediumban (KSFM, Gibco BRL, Eggstein, Németország) tenyésztettük. A tápfolyadékot 5 µg/ml rekombináns epidermális növekedési faktoral (Gibco BRL, Eggstein, Németország), 50 mg/ml borjú agyalapi mirigy-kivonattal (Gibco), 1% L-glutaminnal és 1% antibiotikum/antimikotikum oldattal egészítettük ki (1% penicillin G, 1% sztreptomicin szulfát és 0,0025% amfotericin B; Sigma-Aldrich GmbH, Németország). A tápfolyadékot hetente háromszor cseréltük le a sejtenyészeteken. A primer epithél sejtkultúra 8–16 nap alatt vált konfluenssé. A konfluens primer kultúrákat PBS-el mostuk (foszfát puffer, pH = 7,4

Gibco) és 2-4 percig kezeltük 0,25%-os tripszin-EDTA oldattal (Sigma-Aldrich GmbH, Németország). A sejteket 2–4 egyenlő részbe passzáltuk. A kultúrákat 37°C-on páras környezetben, 5%-os CO<sub>2</sub> tartalom mellett tenyésztettük.

### **3.5.2. Sejtletapadás és osztódás mértékének meghatározását szolgáló vizsgálati módszerek**

#### Fehérje koncentráció mérés

A fehérje koncentráció mérést (élő és elhalt sejtekből származó fehérje) “micro BCA™ protein assay kit” segítségével végeztük (Pierce, Rockford, IL, USA). A fehérje mérés standardjaként borjú szérum albumint használtuk (Pierce, USA). A sejteket lízis pufferral feltártuk, majd ráértük a zöld színű reagenst. Az oldatot 2 órán át inkubáltuk 37 °C-on. Az oldat lila színűvé vált a benne lévő fehérje mennyiségével arányosan. Az optikai denzitást (OD) 540 nm-en mértük Multiscan Ex spektrofotométer (Thermo Labsystems, Vantaa, Finnország) és Ascent Software (Thermo Labsystems, Vantaa, Finnország) segítségével a Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján.

#### MTT

A dimetiltiazol-difenil tetrazólium bromid (MTT) vizsgálat során az élő sejtek mitokondriális enzimjeik segítségével redukálják a sárga színű MTT-t, mely során kék színű formazán kristályok keletkeznek. A kristályok feloldása után kapott oldat színintenzitása arányos a mintában lévő sejtek számával. A Ti korongokat 48-lyukú sejtenyésző edénybe tettük, majd mindegyikre 10<sup>4</sup> sejtet szélesztettünk. A sejteket 24 vagy 72 óra időtartamig tenyésztettük a Ti próbatesteken. Ezután a felülűszót eltávolítottuk, majd a sejtekre RPMI tápfolyadékban oldott, 0,5 mg/ml koncentrációjú MTT (Sigma-Aldrich GmbH, Németország) festéket mértünk, amellyel a sejteket 4 órán át inkubáltuk 37 °C-on. Ezután a felülűszót óvatosan eltávolítottuk, majd a kristályokat 2%-os nátrium dodecil szulfát oldatban (SDS) és 0,04 mM sósavas izopropanolban feloldottuk. Az optikai denzitást (OD) 540 nm-nél mértük Multiscan Ex



spektofotométer (Thermo LabSystems, Vantaa, Finnország) és Ascent Software (Thermo LabSystems, Vantaa, Finnország) segítségével a Szegedi Tudományegyetem Általános Orvostudományi Karának Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinikáján.

### Adatok feldolgozása, statisztika

Átlag  $\pm$  átlag szórása (standard error of the mean – SEM) értékeket számoltuk ki az AFM, az MTT és a fehérje tartalom vizsgálat esetében is. Normalitás vizsgálat után, egytényezős variancia analízist végeztünk (ANOVA), majd Tukey, Scheffé, LSD, Bonferroni és Sidak *post hoc* tesztek alkalmaztunk az értékek páronkénti összehasonlítására (SPSS 15.0, SPSS, Chicago, Illinois, USA). A szignifikancia-szintet 0,05-nek vettük ( $p < 0,05$ ).

## **4. Eredmények**

### **4.1. Fluorid tartalmú profilaktikus szerek titán felszínre gyakorolt hatásának vizsgálata**

#### **4.1.1. Felszíni változások detektálása AFM és XPS segítségével**

Az AFM mérés során a kontrol csoport felszíni érdessége  $R_a = 37,0 \pm 2$  nm, az öblögetővel kezelt csoportban  $51,3 \pm 4$  nm. A különbség statisztikailag szignifikáns ( $p = 0,007$ ). Az 1% NaF oldattal (3800 ppm  $F^-$ , pH = 4,5) történő kezelés után tapasztaltuk a legnagyobb érdesség növekedést a kontrol csoporthoz képest, 7 x-es a növekedést:  $R_a = 254,8$  nm  $\pm 20$  nm ( $p < 0,001$ ). A géllal kezelt csoportban (12 500 ppm  $F^-$ ) is érdesség növekedést találtunk a kontrolhoz képest:  $R_a = 48,6 \pm 3$  nm ( $p = 0,005$ ).

Az XPS vizsgálat kimutatta, hogy a géllal és 1% NaF oldattal kezelt korongok esetében, ahol magas  $F^-$  koncentráció és savas pH együttes jelenléte volt tapasztalható, erőteljes korrózió és a titán felszín kémiai összetételében változás alakult ki.  $Na_2TiF_6$  vegyület alakult ki a felszínen, így fontos volt, hogy vizsgáljuk az epithél sejtek e módosult felszínhez való reakcióját.

### 4.1.2. MTT és fehérje koncentráció vizsgálata

Az MTT vizsgálat eredménye azt mutatta, hogy az epithél sejt letapadás a titán felszínhez nem volt szignifikánsan eltérő a kontrollhoz képest az öblögető és NaF esetében ( $E_{540, \text{Kontroll}} = 0,216 \pm 0,007$ ,  $E_{540, \text{Öblögető}} = 0,231 \pm 0,011$ ,  $E_{540, \text{NaF}} = 0,192 \pm 0,016$ ). A géllal történt kezelés hatására azonban statisztikailag értékelhető emelkedést tapasztaltunk a kontroll csoporthoz képest ( $E_{540, \text{Gél}} = 0,255 \pm 0,013$ ;  $p = 0,015$ ). A fehérje koncentráció mérés 24 óra után minden csoportban hasonló értéket mutatott a fluorid koncentrációtól függetlenül ( $c_{\text{Kontroll}} = 4,60 \pm 0,47$ ).

A sejtszám csökkenését mutató MTT vizsgálatánál az MTT szignifikáns sejtszám csökkenést mutatott a NaF-al kezelt csoportban a kontrollhoz képest ( $p < 0,001$ ) ( $E_{540, \text{Kontroll}} = 0,268 \pm 0,022$ ,  $E_{540, \text{NaF}} = 0,137 \pm 0,004$ ,  $E_{540, \text{Öblögető}} = 0,271 \pm 0,01$ ,  $E_{540, \text{Gél}} = 0,221 \pm 0,019$ ). A fehérje koncentráció vizsgálata az MTT-hez hasonló tendenciát mutatott. A géllal kezelt minták esetében statisztikailag értékelhető csökkenést tapasztaltunk az öblögetővel kezelt csoporthoz képest ( $c_{\text{Gél}} = 4,59 \pm 0,41 \mu\text{g/ml}$ ;  $c_{\text{Öblögető}} = 5,82 \pm 0,38 \mu\text{g/ml}$ ;  $p = 0,0312$ ). A NaF-al kezelt korongok esetében nem találtunk statisztikailag kimutatható különbséget ( $c_{\text{NaF}} = 5,25 \pm 0,39 \mu\text{g/ml}$ ;  $c_{\text{Kontroll}} = 5,31 \pm 0,18 \mu\text{g/ml}$ ).

## 4.2. Peri-implantitisz terápiájában alkalmazott dekontamináló szerek hatásának vizsgálata titán felszínen

### 4.2.1. Felszíni változások detektálása AFM és XPS segítségével

Az AFM mérések alapján a felszíni érdesség értékek a következők voltak: kontroll  $R_a = 22 \pm 3 \text{ nm}$ , citrom sav:  $25 \pm 7 \text{ nm}$ , 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ :  $30 \pm 5 \text{ nm}$ , és a CHX gél:  $14 \pm 4 \text{ nm}$ . A csökkenést – amely nem volt szignifikáns – valószínűleg a gél Ti-felszínhez történő adszorpciója okozta. Az értékek között nem találtunk szignifikáns eltérést.

Az XPS vizsgálat során a kezelt és kezeletlen minták felszínén is jelen voltak az általában megfigyelhető elemek: a Ti, O, C és N. A  $\text{Ti}^{4+}$ -nak megfelelő Ti 2p 3/2 elektronok kötési energiája  $458,6 \pm 0,1 \text{ eV}$ -nál volt mérhető minden mintán. A kettős Ti csúcsok (Ti 2p, 458,6 és 464 eV- nál) és az O 1s jel (530 eV) bizonyítja a  $\text{TiO}_2$  réteg jelenlétét. A különféle oldatokkal történő kezelés nem

változtatta meg a korongok felszínein a Ti 2p jelet. Változást tapasztaltunk azonban az O 1s csúcsonál, amelyet három csúcsra lehet felbontani. A legintenzívebb  $\sim 530,1$  eV-nál mérhető, amely a  $\text{TiO}_2$ -ban lévő O-t jelzi, míg a  $\sim 531,7$  eV-nál mért csúcs a felszíni OH csoportoknak köszönhető. Az  $532,9$ - $533,0$  eV között mérhető harmadik csúcs a C-O és/vagy C=O kötésekben jelenlévő O-tól származik. Ez utóbbi jel a CHX géllal kezelt minták esetében volt a legintenzívebb, amely valószínűleg a CHX felszínbe történő adszorpciójából származik. Ezt a C 1s jel felbontása is alátámasztja, melyet minden mintánál 4 csúcsra lehetett bontani. A géllal kezelt mintáknál a  $287$  eV-nál mért csúcs intenzívebb volt, mint a többi csoport esetében. A kezeletlen mintákon a C 1s jel gyengülése tapasztalható,  $30$ – $60$  perc Hélium bombázás után. Ez azoknak a szénzennyeződéseknek köszönhető, amelyek a tisztítás után maradtak a felszínen, vagy a levegőből adszorbeálódtak a tárolás során. Ezek az elemek általában jelen vannak a Ti implantátum felszínén.

#### 4.2.2. MTT és fehérje koncentráció mérés

A  $24$  óra után végzett MTT mérés nem mutatott szignifikáns különbséget az egyes csoportokban mért abszorbanciák között. ( $\text{OD}_{540,\text{Kontroll}} = 0,059 \pm 0,006$ ,  $\text{OD}_{540,\text{H}_2\text{O}_2} = 0,081 \pm 0,009$ ,  $\text{OD}_{540,\text{CHX gél}} = 0,067 \pm 0,006$ ,  $\text{OD}_{540,\text{Citromsav}} = 0,077 \pm 0,009$ ). Nagyobb értéket kaptunk a  $\text{H}_2\text{O}_2$ -dal és a citromsavval kezelt korongok esetében, mint a kontroll és a CHX géllal kezelt próbatesteken, azonban a különbség nem volt szignifikáns. A  $72$  óra után végzett MTT teszt enyhe sejtmennyiség növekedést mutatott a  $\text{H}_2\text{O}_2$ -al és a citromsavval kezelt korongokon. A  $\text{H}_2\text{O}_2$ -al kezelt korongokon lévő sejt proliferáció mértéke szignifikánsan magasabbnak ( $p = 0,011$ ) bizonyult a CHX géllal kezelt csoporthoz viszonyítva ( $\text{OD}_{540,\text{Kontroll}} = 0,087 \pm 0,006$ ,  $\text{OD}_{540,\text{H}_2\text{O}_2} = 0,101 \pm 0,009$ ,  $\text{OD}_{540,\text{CHX gél}} = 0,067 \pm 0,006$ ,  $\text{OD}_{540,\text{Citromsav}} = 0,092 \pm 0,009$ ). A többi csoport között nem találtunk szignifikáns eltérést.

A  $24$  órát követő fehérje tartalom mérés hasonló értékeket adott mind a  $4$  csoportban:  $c_{\text{Kontroll}} = 4,385 \pm 0,429$ ,  $c_{\text{H}_2\text{O}_2} = 5,224 \pm 0,592$ ,  $c_{\text{CHX gél}} = 4,945 \pm 0,508$ ,  $c_{\text{Citromsav}} = 4,957 \pm 0,518$ . A fehérje koncentráció mérés eredménye  $72$  óra után is hasonló volt mind a négy csoportban:  $c_{\text{Kontroll}} = 5,207 \pm 0,511$ ,  $c_{\text{H}_2\text{O}_2} = 6,025 \pm 0,895$ ,  $c_{\text{CHX gél}} = 5,654 \pm 0,701$ ,  $c_{\text{Citromsav}} = 6,418 \pm 0,953$ .

## 5. Következtetések

### 5.1. Fluorid tartalmú profilaktikus szerek titán felszínre gyakorolt hatásának vizsgálata

Kutatócsoportunk bizonyította, hogy a magas fluorid koncentráció és savas pH együttes jelenléte (1% NaF oldat és CHX gél) erőteljes korróziót és kémiai összetétel változást okoz a titán felszínben (Stájer Anette Ph.D értekezése, 2012).

Feladatom volt, hogy vizsgáljam az élő sejtek (humán epithél sejt) reakcióját erre az érdeességben és összetételben megváltozott felszínre. A sejtek felszínhez tapadásának vizsgálatánál (24 óra) az MTT a kontroll csoporthoz hasonló értéket adott az öblögetővel és a NaF-al kezelt korongok esetében, azonban a CHX géllal történő kezelés szignifikánsan magasabb letapadt sejt mennyiséget értékelt. A fehérje koncentráció vizsgálatánál minden csoportban hasonló sejtmennyiség volt mérhető. Az osztódás (72 h) mértékének meghatározásakor az MTT vizsgálat során a NaF-al kezelt korongok esetében szignifikáns csökkenést tapasztaltam a kontroll csoporthoz képest, azonban ez a tendencia a fehérje koncentráció mérésénél nem volt látható. A géllal kezelt csoporton mért fehérje koncentráció statisztikailag értékelhető csökkenést mutatott az öblögetővel kezelt csoporthoz képest.

#### *Fő következtetések:*

- A magas fluorid koncentráció és savas pH együttes jelenléte kedvezőtlen hatásokat okozhat a titánból készült fogművekkel, implantátumokkal rendelkező páciensek esetében.
- Az epithél sejtekkel történő vizsgálat eredménye függ az alkalmazott vizsgálati módszertől.

### 5.2. Peri-implantitisz terápiájában alkalmazott dekontamináló szerek hatásának vizsgálata titán felszínen

Az AFM vizsgálat alapján a különböző csoportok érdeesség értékei között nem találtam statisztikailag értékelhető eltérést. A CHX géllal kezelt csoportban azonban csökkent az érdeesség ( $R_a = 14 \pm 4$  nm) a kontroll csoporthoz képest ( $R_a = 22 \pm 3$  nm).

Az XPS intakt  $\text{TiO}_2$  réteget mutatott ki minden csoportban. A CHX géllal kezelt korong esetén a felszín értékelésénél változást tapasztaltam, mely a CHX felszínbe történő adszorpciójával magyarázható.

A sejt letapadást értékelő MTT vizsgálat és fehérje koncentráció meghatározás során nem tapasztaltam statisztikailag értékelhető különbséget a különböző tisztító oldatokkal kezelt csoportok és a kontroll minták között. A sejt proliferáció értékelésénél az MTT szignifikáns csökkenést mutatott a CHX géllal kezelt csoportban a  $\text{H}_2\text{O}_2$ -dal kezelt csoporthoz képest. A citromsavval és peroxiddal kezelt korongokon az MTT és fehérje koncentráció mérés során is nagyobb értéket kaptam, mint a kontroll csoportban.

A különbség a sejt kultúra vizsgálati módszerek eredményei között a módszerek különbözőségében rejlik. Az MTT csak az élő sejteket méri, míg a fehérje koncentráció vizsgálat során az elhalt sejtekből származó fehérje mennyiséget is lemérjük.

*Fő következtetésem:*

- Az epithél sejtekkel történő vizsgálatok eredménye függ az alkalmazott vizsgálati módszer metodikájától.
- A CHX gél adszorbeál a titán felszínhez a titán implantátum dekontaminációja esetén.
- A  $\text{TiO}_2$  felszín kezelése  $\text{H}_2\text{O}_2$  vagy citromsav által hasonló, vagy nagyobb mértékű sejtletapadást és proliferációt eredményez, mint a kontroll csoportra jellemző érték.

A jövőben új, érzékenyebb vizsgáló módszerek bevezetését tervezzük.

## **6. Köszönetnyilvánítás**

Először is szeretném megköszönni Dr. Laczkóné Dr. Turzó Kinga és Prof. Dr. Fazekas András témavezetőimnek, hogy megteremtették számomra a lehetőséget, hogy kutatócsoportjuk tagjává válhattam. Köszönettel tartozom Prof. Dr. Nagy Katalinnak a SZTE FOK Dékánjának, aki messzemenőleg minden segítséget megadott a vizsgálatok lebonyolításához, feldolgozásához. Itt tartozom köszönettel Prof. Dr. Rakonczay Zoltánnak, aki legjobb tudása szerint vezetett kutatói éveim alatt.

Elengedhetetlen volt számomra Prof. Dr. Kemény Lajos támogatása, aki az SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika intézetvezetőjeként lehetőséget biztosított számomra a Sejtbiológia Kutató Laboratóriumban a sejtszeparáló és tenyésztő technika elsajátítására. Minden sejtenyésztéssel és sejtmennyiség méréssel kapcsolatos tudásomat az SZTE ÁOK Bőrgyógyászati és Allergológiai Klinika Sejtbiológia Kutató Laboratóriumának jelenlegi és volt munkatársainak, leginkább Kormos Betti biológusnak köszönhetem, aki mindig minden felmerülő problémára megtalálta a megoldást. Boda Krisztinának, a SZTE ÁOK Természettudományi és Informatikai Kar Orvosi Fizikai és Orvosi Informatikai Intézet docensének hálával tartozom, hogy megismertetett a rettegett orvosi statisztika alapjaival és többször segítségemre sietett, ha elakadtam.

Az egykori SZTE FOK Fogpótlástani és Orális Biológia Tanszék minden dolgozójának köszönettel tartozom, hogy hozzájárultak a felmerülő nehézségek leküzdéséhez és segítettek mind kutatói, mind oktatói munkám során, legfőképpen Dr. Radnai Márta tanszékvezetőnek, Dr. Pelsőczy Kovács István docensnek, Dr. Perényi János adjunktusnak, Dr. Hoppenthaler János főorvosnak, Dr. Antal András főorvosnak, és fiának Dr. Antal Márknak, Dr. Stájer Anettnak, Dr. Baráth Zoltán docensnek, munkatársamnak és barátomnak: Dr. Varga-Matusovits Danicának, Dr. Varga Teának és Dr. Györgyey Ágnesnek és persze nem utolsó sorban az asszisztenseknek. Köszönöm továbbá azt a segítséget és nagyfokú lelkesedést a SZTE FOK Szájsebészeti Tanszék minden dolgozójának, amit a szövetrészletek kimetszése kapcsán tanusított.

Köszönettel tartozom kibővült családomnak: férjemnek Dr. Forster Andrásnak, aki támogatása mellett folyamatosan eszembe juttatta be nem fejezett munkáimat és makacsul kitartott amellett, hogy elérjem régen kitűzött céljaimat; gyermekeinknek Hannának és Ákosnak, akik önzetlenül engedték, hogy időt csenjek Tőlük e dolgozat megírásához; szüleimnek: Fehér Évának és Dr. Ungvári Baláznak, akik mindvégig támogattak, és férjem szüleinek: Dr. Faragó Máriának és Prof. Dr. Forster Tamásnak, hogy minden támogatást megadtak, ami csak megadható.

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉZISEINEK ALAPJÁT KÉPEZŐ KÖZLEMÉNYEK LISTÁJA

- I. A. Stájer, **K. Ungvári**, I. K. Pelsőczi, H. Polyánka, A. Oszkó, E. Mihalik, Z. Rakonczay, M. Radnai, L. Kemény, A. Fazekas, K. Turzó: Corrosive effects of fluoride on titanium: investigation by X-ray photoelectron spectroscopy, atomic force microscopy and human epithelial cell culturing. *J Biomed Mater Res A* 2008; 87:450-458. **IF: 2.706**
- II. **K. Ungvári**, I. K. Pelsőczi, B. Kormos, A. Oszkó, Z. Rakonczay, L. Kemény, M. Radnai, K. Nagy, A. Fazekas, K. Turzó: Effects on titanium implant surfaces of chemical agents used for the treatment of peri-implantitis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2010;94:222–229. **IF: 2.185**
- III. **K. Ungvári**, I. K. Pelsőczi, B. Kormos, A. Oszkó, M. Radnai, K. Nagy, A. Fazekas, K. Turzó: Dekontamináló anyagok hatása a titán felszín biointegrációs tulajdonságaira: *in vitro* humán epithel sejtkultúra vizsgálatok. *Fogorvosi Szemle*, 2011;104:9-18.

**Impakt faktor: 4,891**

## AZ ÉRTEKEZÉS TÉZISEIVEL KAPCSOLATOS IDÉZHETŐ ELŐADÁS KIVONATOK

- IV. K. Turzo, A. Stajer, **K. Ungvari**, I. K. Pelsoczi, H. Polyanka, A. Oszko, D. Matusovits, E. Muhalik, Z. Rakonczay, M. Radnai, A. Fazekas: Investigation of the corrosive effects of flouride on titanium. Abstract: 85184. Poster: 183. IADR PEF Dublin September 13-16, 2006 *J Dent Res* 85; 2006 (abstract IF: 3.475)
- V. I. Pelsőczi-Kovács, **K. Ungvári**, H. Polyánka, Z. Tóth, B. Hopp, C. Gergely, Z. Rakonczay, F. G. J. Cuisinier, A. Fazekas, K. Turzó: Human Fibroblast Cell Culturing on Surface Modified Titanium Implants. Abstract: 96424 Annual Meeting IADR-Continental European and Isreeli Division Thessaloniki, Greece September 26-29, 2007 *J Dent Res* 86; Spec. Iss. B 0378, 2007 (abstract: IF: 3.496)
- VI. **K. Ungvári**, I. Pelsőczi, A. Oszkó, Z. Rakonczay, A. Fazekas, K. Turzó: *In Vitro* Cell Culture Testing of Decontaminated Dental

Implant Surfaces. Abstract: 111350. Poster: 146. 4<sup>th</sup> PEF Meeting of IADR London, United Kingdom, September 10-12, 2008 *J Dent Res* 87; Spec. Iss. C 0438, 2008 (abstract IF: 3.142)

- VII. K. Turzó, I. Pelsőczi, **K. Ungvári**, H. Polyánka, C. Gergely, Z. Rakonczay, A. Fazekas, F. Cuisinier: Self-assembled Polypeptide Film Modifications of Titanium Dental Implants to Improve Biointegration. 9<sup>th</sup> International Conference on the Chemistry and Biology of Mineralized Tissues (ICCBMT) Austin, Texas, USA, November 4-8, 2007 *Cells Tissues Organs* 189; (1-4): 300, 2009 (abstract IF: 3.322)
- VIII. **K. Ungvári**, I. Pelsőczi, A. Oszkó, Z. Rakonczay, A. Fazekas, K. Nagy, K. Turzó: Effects of cleansing solutions on titanium surfaces: tissue culture study. Abstract: 138112. General Session and Exhibition of the IADR Barcelona, Spain July 14-17, 2010, *J Dent Res* 89, spec. Iss. B 4209, 2010 (abstract IF: 3.773)
- IX. A. Forster, **K. Ungvári**, A. Györgyey, A. Kukovecz, M. Antal, Z. Rakonczay, K. Nagy, K. Turzó: Human Epithelial Tissue Culture Study on Restorative Materials. Abstract: 151311. Poster: 0406. 45<sup>th</sup> Meeting of the Continental European Division of the International Association for Dental Research CED-IADR with the Scandinavion Division. Budapest, Hungary August 31-September 3, 2011, *J Dent Res* 90, spec. Iss. B 0406, 2011 (abstract IF: 3.773)
- X. A. Györgyey, **K. Ungvári**, A. Forster, G. Kecskemeti, R. Szenasi, B. Hopp, A. Oszko, I. Pelsőczi, Z. Rakonczay, K. Nagy, K. Turzó: Laser Ablated Titanium Implants Tested by MG63 Osteoblast Cell Culture. Abstract: 151528. Poster: 0423. 45<sup>th</sup> Meeting of the Continental European Division of the International Association for Dental Research (CED-IADR) with the Scandinavion Division, Budapest, Hungary August 31-September 3, 2011, *J Dent Res* 90, spec. Iss. B 0423, 2011 (abstract IF: 3.773)

Összes impakt faktor: 29,645



## AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN TARTOTT ELŐADÁSOK

1. K. Turzó, I. K. Pelsőczy, **K. Ungvári**, M. Radnai, Z. Rakonczay, A. Fazekas: Titán implantátumok biointegrációjának elősegítését célzó fiziko-kémiai és biokémiai felületmódosítások. Absztr. 32, p. 45. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 2006. április 22-23.
2. M. Radnai, K. Turzó, A. Stájer, I. K. Pelsőczy, **K. Ungvári**, H. Polyánka, A. Koós, A. Oszkó, A. Fazekas: Effect of fluoride on the surface structure of titanium. Poster, 1th International CAMLOG Congress 2006, Montreux 2006. május 11-13.
3. **K. Ungvári**, A. Stájer, H. Polyánka, K. Turzó, I. K. Pelsőczy, A. Oszkó, D. Matusovits, E. Mihalik, Z. Rakonczay, M. Radnai, A. Fazekas: Fluorid korróziós hatásának vizsgálata titán felszínen. Absztr. 133. Magyar Fogorvosok Egyesülete (MFE) Árkövy Vándorgyűlése Debrecen, 2006. augusztus 31-szeptember 2.
4. K. Turzó, I. K. Pelsőczy, A. Stájer, A. Oszkó, **K. Ungvári**, M. Radnai, A. Fazekas: Fluoridos készítményekkel kezelt Ti minták röntgen fotoelektronspektroszkópiás (XPS) és atomi erő mikroszkópos (AFM) vizsgálata. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportja és az SZTE Fogászati és Szájsebészeti Klinika Tudományos Ülései Szeged, 2006. november 10.
5. D. Matusovits, I. K. Pelsőczy, **K. Ungvári**, J. Perényi, K. Turzó, K. Donath, A. Fazekas: Titán korongok felületmódosításának *in vivo* vizsgálata állatmodellben. MFE Délkelet-Magyarországi Szakcsoportja és az SZTE Fogászati és Szájsebészeti Klinika Tudományos Ülései Szeged, 2006. november 10.
6. **K. Ungvári**, A. Stájer, H. Polyánka, I. K. Pelsőczy, A. Oszkó, E. Mihalik, Z. Rakonczay, M. Radnai, L. Kemény, A. Fazekas, K. Turzó: Fluoridos készítményekkel kezelt titán korongok epithel sejtkultúra vizsgálata. Absztr. 26, p. 45. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 2007. április 21-22.
7. D. Matusovits, I. K. Pelsőczy, **K. Ungvári**, J. Perényi, L. Bene, K. Turzó, M. Radnai, K. Donath, A. Fazekas: Felületmódosított titán korongok *in vivo* vizsgálata állatkísérletes modellben. Absztr. 30, p.49. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 2007. április 21-22.

8. K. Turzó, A. Stájer, **K. Ungvári**, I. K. Pelsőczy, H. Polyánka, A. Oszkó, E. Mihalik, Z. Rakonczay, M. Radnai, L. Kemény, A. Fazekas: Fluoridot tartalmazó profilaktikus készítmények titán felületre gyakorolt korróziós hatásának vizsgálata. Absztr. 32, p. 51. Tudományos Továbbképző Konferencia és Fogorvostalálkozó Szeged, 2007. április 21-22.
9. D. Matusovits, I. K. Pelsőczy, **K. Ungvári**, J. Perényi, L. Bene, K. Turzó, M. Radnai, K. Donnath, A. Fazekas: Titán korongok különböző felületmódosításainak *in vivo* vizsgálata állat modellben. Absztr. 32, p. 49. MFE Fogpótlástani Társaság XVII., a Magyar Fogorvosok Implantológiai Társaságának VII., és a Magyar Parodontológiai Társaság XV. Közös Kongresszusa Szent-Györgyi Albert 70 éve elnyert Nobel-díja emlékére Szeged, 2007. október 11-13.
10. **K. Ungvári**, I. K. Pelsőczy, H. Polyánka, Zs. Tóth, B. Hopp, Cs. Gergely, Z. Rakonczay, F. Cuisinier, A. Fazekas, K. Turzó: Humán fibroblaszt sejtkultúra vizsgálatok felületkezelt titán próbatestek felszínén. Absztr. 49, p. 66. MFE Fogpótlástani Társaság XVII., a Magyar Fogorvosok Implantológiai Társaságának VII., és a Magyar Parodontológiai Társaság XV. Közös Kongresszusa Szent-Györgyi Albert 70 éve elnyert Nobel-díja emlékére Szeged, 2007. október 11-13.