



**TURUN
YLIOPISTO**

Krista Korkealehto

UV-KÄSITTELYN VAIKUTUS IKENEN FIBROBLASTIEN TOIMINTAAN KERAAMISTEN MATERIAALIEN PINNOILLA

Syventävien opintojen kirjallinen työ

Kevätlukukausi 2023

Krista Korkealehto

UV-KÄSITTELYN VAIKUTUS IKENEN FIBROBLASTIEN TOIMINTAAN KERAAMISTEN MATERIAALIEN PINNOILLA

Lääketieteellinen tiedekunta

Hammaslääketieteen laitos

Hammasprotetiikan ja parentafysiologian oppiaine

Kevätlukukausi 2023

Vastuuhenkilöt: Khalil Shahramian, Timo Närhi

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

TURUN YLIOPISTO
Lääketieteellinen tiedekunta
Hammaslääketieteen laitos

KORKEALEHTO, KRISTA: UV-käsittelyn vaikutus ikenen fibroblastien toimintaan
keraamisten materiaalien pinnoilla

Syventävien opintojen kirjallinen työ, 23 s.
Hammasprotetiikan ja purentafysiologian oppiaine
Toukokuu 2023

Tämän syventävän tutkielman tavoitteena oli selvittää UV-käsittelyn vaikutusta fibroblastien toimintaan hammasimplanttikruunuissa käytettävien keraamisten materiaalien pinnoilla. Viime aikoina on tutkittu enenemissä määrin erilaisia puhdistus- ja pintakäsittelymenetelmiä, joilla voitaisiin parantaa implantoinnin onnistumista ja ennaltaehkäistä komplikaatioita. Tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, onko UV-käsittelyllä vaikutusta ihmisen ikenen fibroblastien adheesioon ja proliferaatioon litiumdisilikaatti- ja zirkoniamateriaaleihin. Litiumdisilikaatti ja zirkonia ovat yleisesti käytettyjä materiaaleja kiinteässä hammasprotetiikassa. Lisäksi tutkittiin, onko UV-käsittelyn ajankohdalla vaikutusta tulokseen, eli säilykö UV-käsittelyn vaikutus pitkäaikaisesti.

Litiumdisilikaatti- ja zirkonia näytteet valmistettiin valmistajan ohjeiden mukaisesti. Ennen tutkimusta näytteet pestiin asetonilla ja etanolilla ultraäänipesurissa, sekä autoklaavattiin. UV-käsittely tehtiin joko juuri ennen tutkimusta tai 24 tuntia ennen. Kontrolliryhmässä UV-käsittelyä ei tehty laisinkaan. 24 tuntia ennen tehty UV-käsittely simuloi tekniikon tekemää käsittelyä ennen implantin toimittamista vastaanotolle. UV-käsittelyyn käytettiin sekoitetun spektrin UV-lamppua, 0.05 mW/cm^2 ($\lambda = 360 \pm 20 \text{ nm}$) ja 2 mW/cm^2 ($\lambda = 250 \pm 20 \text{ nm}$). Fibroblastien proliferaatiomittaus tehtiin AlamarBlueTM-analyysin avulla. Adheesiokinetiikka-tutkimuksessa kiinnittyneiden solujen määrä selvitettiin kvantitatiivisilla DNA-mittauksilla fluoresoivan väriaineen avulla (PicoGreen® dsDNA quantitation kit).

Tutkimuksessa ei havaittu UV-käsittelyllä olevan merkittävää vaikutusta fibroblastien adheesioon ja proliferaatioon zirkoniassa ja litiumdisilikaatissa. Jatkossa menetelmää voisi tutkia esimerkiksi isommilla ryhmäkoilla, eri materiaaleilla, sekä ilman näytteiden sterilointia ennen tutkimusta. Lisäksi voitaisiin selvittää eri UV-säteilyn aallonpituuksien, sekä vaihtelevien käsittely- ja säilytysaikojen vaikutusta.

Asiasanat: UV-käsittely, fibroblasti, zirkonia, litiumdisilikaatti

SISÄLLYS

1	JOHDANTO	1
2	KIRJALLISUUSKATSAUS	3
2.1	Biomateriaalit ja biokompatibiliteetti	3
2.2	Keraamit	4
2.2.1	Zirkonia ZrO_2	4
2.2.2	Litiumdisilikaatti $LiSi_2$	5
2.3	Hammasimplantit ja peri-implanttikudos	5
2.4	Puhdistusmenetelmät	6
3	TUTKIMUKSEN TAVOITTEET	9
4	AINEISTO JA MENETELMÄT	10
4.1	Näytteiden valmistelu	10
4.1.1	Zirkonia	10
4.1.2	Litiumdisilikaatti	11
4.1.3	UV-käsittely	12
4.1.4	Soluviljely	13
4.2	Proliferaatiomittaus	13
4.3	Adheesiokinetiikka	14
5	TULOKSET	16
5.1	Proliferaatiomittaus	16
5.2	Adheesiokinetiikka	17
6	POHDINTA	19
7	LÄHTEET	21

1 JOHDANTO

Hammasimplantit yleistyvät maailmalla ja Suomessa materiaalien, sekä hoitomenetelmien kehittyessä. Implanttirekisterin ja Kelan maksamien korvausten mukaan vuonna 2000 Suomessa asennettiin 9 532 implanttia, kun taas vuonna 2014 lukema oli 16 207 kappaletta. Ajantasaista tietoa lukemista ei ole, koska THL lakkautti implanttirekisterin vuonna 2016. (Järvelin 2017.) Implantteihin voidaan kiinnittää erilaisia proteettisia ratkaisuja, kuten irtoproteeseja, kruunuja tai siltoja. Tässä syventävässä työssä keskitytään hammaskruunuihin. Hammasimplantit eli keinojuuret ovat monimuotoisessa vuorovaikutuksessa niitä ympäröivän kudoksen kanssa (Rupp ym. 1996, 2018). Implantti liittyy sitä ympäröiviin kudoksiin peri-implanttiliitoksen ja osseointegraation avulla. Implanttien bioyhteesopivuutta ja osseointegraatiota edistäviä menetelmiä ja materiaaleja on tutkittu jo paljon. (Rupp ym. 1996, 2018.) Yhtenä kiinnostuksen kohteena ovat olleet keinojuurien erilaiset puhdistus- ja pintakäsittelymenetelmät, kuten ultraviolettikäsittely (UV), hiekkapuhallus ja erilaiset pinnoitteet. Useissa tutkimuksissa on jo osoitettu implanttiruuvien eli fikstuuroiden pintakäsittelyjen edesauttavan osseointegraatiota ja siten nopeuttavan luunmuodostusta. Pintakäsittelymenetelmät voivat esimerkiksi lisätä osteoblastien ja fibroblastien proliferaatiota, erilaistumista ja adheesiota. (Rupp ym. 2018, Schünemann ym. 2019.)

Useimmat hammaslaboratoriot eivät puhdistu kruunuja lainkaan, tai ne käyttävät vain yksinkertaisia puhdistustoimenpiteitä. Tutkimuksissa on osoitettu implanttipinnan puhtauden vaikuttavan merkittävästi bakteerien ja solujen kolonisaatioon, haavan paranemiseen ja lopulta erilaisten implanttipintojen integraatioon (Rupp ym. 2018). Tutkimuksissa on havaittu, että orgaaniset epäpuhtaudet, kuten ilman hiilivedyt ja polykarbonyylit, voivat liata ja muuttaa implantin titaanipinnan ominaisuuksia säilytyksen aikana. UV-käsittelyllä, erityisesti UV-C-säteilyllä, voidaan muuttaa tämä hiilihydraattiepäpuhtauksien aiheuttama elektronegatiivinen varaus positiiviseksi, mikä tekee pinnasta hydrofiilisempää eli vaikuttaa sen vettyvyyteen ja sitä kautta solujen toimintaan. (Choi ym. 2017, Rupp ym. 2018.) Muutamissa tutkimuksissa on osoitettu UV-käsittelyn lisäävän myös zirkonian pinnan vettyvyyttä, mikä voi edesauttaa osteoblastien kiinnittymistä sekä nopeuttavan osseointegraatiota. Aiheesta tarvitaan kuitenkin vielä lisää tutkimusta erityisesti *in vivo* -olosuhteissa. (Noro ym. 2013, Schünemann ym. 2019.) Vastaavaa tutkimusta on tehty myös implanttien abutmenteista eli keinojuurijatkeista (Razali ym. 2021), mutta ei juurikaan implanttikruunuista.

Koska aiemmat tutkimukset aiheesta ovat pääosin keskittyneet implanttien fikstuuroihin ja abutmentteihin, tässä tutkielmassa kiinnitetään huomio implanttikruunuun eli keraamisiin materiaaleihin. Implanttikruunun kaulaosaa on vuorovaikutuksessa ympäröivien pehmytkudosten kanssa, ja siten keraamien pintakäsittelymenetelmillä voidaan vaikuttaa myös itse implantoinnin onnistumisessa. Tiivis pehmytkudosliitos kruunun kaulaosassa on olennaisessa roolissa peri-implanttimukosiitin ja peri-implantiitin ehkäisyssä. (Rupp ym. 2018.) Tässä työssä tutkitaan UV-käsittelyn vaikutusta fibroblastien adheesioon ja proliferaatioon litiumdisilikaatti- ja zirkoniamateriaaleissa. CAD/CAM-teknologian, digitaalisen hammashoidon, sekä molempien materiaalien kehityksen myötä, litiumdisilikaatin ja zirkonian käyttö on yleistynyt jatkuvasti. (Shenoy ja Shenoy 2010, Miyazaki ym. 2013.) Tällä hetkellä kyseiset materiaalit ovat käytetyimpiä keraamisten kruunujen materiaaleja Suomessa. Tuloksista saadaan viitteitä siitä, voisiko kruunujen UV-käsittely toimia yhtenä puhdistus- tai pintakäsittelymenetelmänä hammaslaboratorioissa tai vastaanotolla ennen implanttikruunujen asentamista.

2 KIRJALLISUUSKATSAUS

Tässä luvussa tutustutaan biomateriaaleihin ja niiden biokompatibiliteettiin, sekä keraamisten kruunujen, erityisesti zirkonian ja litiumdisilikaatin, ominaisuuksiin. Luvussa käsitellään myös hammasimplanttien ja peri-implanttikudoksen rakennetta ja vuorovaikutusta, sekä käydään läpi erilaisia puhdistus- ja käsittelymenetelmiä, kuten tässä tutkielmassa tutkittavaa UV-käsittelyä.

2.1 Biomateriaalit ja biokompatibiliteetti

Hammaslääketieteessä käytetään päivittäin biomateriaaleja, kuten keraameja, metalleja ja polymeereja, puuttuvien hammaskudosten ja niitä ympäröivien rakenteiden korvaamiseen. IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) luokittelee biomateriaalit materiaaleiksi, joita käytetään niin, että ne ovat kosketuksissa elävien kudosten, organismien tai mikro-organismien kanssa (Vert ym. 2012). Biokompatibiliteetilla tarkoitetaan näiden biomateriaalien kudosityhteensopivuutta, eli ne eivät aiheuta haittavaikutuksia kontaktissa olevaan elävään systeemiin, kuten tässä tapauksessa ihmiseen ja kehon kudoksiin. (Williams 2008, Vert ym. 2012.) Tämä tarkoittaa esimerkiksi sitä, että materiaalit eivät ole toksisia, karsinogeenisiä, kudoksia tai immuunipuolustusta ärsyttäviä (Williams 2008). Williamsin (2008) ja Perrottin ym. (2017) mukaan materiaalin kudosityhteensopivuuteen vaikuttaa sen sijainti kehossa ja kudoksissa, sekä se, kuinka pitkän ajan materiaali on siellä. Biomateriaalien kehityksessä ja valmistuksessa pyritään siihen, että ne reagoisivat ja toimisivat ennalta suunnitellulla tavalla kehossa, kuten hajoaisivat tietyn ajan kuluessa ilman haitallisia hajoamistuotteita ja niiden aiheuttamia reaktioita kehossa (Williams 2008, Vert ym. 2012). Biokompatibiliteettia mietittäessä tulee huomioida millaiselle fysikaaliselle, lämpötilasta johtuvalle tai kemialliselle rasitukselle materiaali joutuu. Rasituksella voi olla erilaisia vaikutuksia riippuen siitä, onko se lyhyt- vai pitkäkestoista. (Perrotti ym. 2017.)

Terveydenhuollon laitteiden ja tarvikkeiden kudosityhteensopivuutta ohjeistetaan erilaisin kansainvälisin suosituksin, kuten esimerkiksi International Organization for Standardizationin ISO 10993 -standardein. Ohjeistuksilla pyritään vähentämään käytettyjen materiaalien ja laitteiden riskejä ja huolehtimaan niiden turvallisuudesta yhtenäistämällä käytäntöjä. (Törmälä ym. 2003, Fimea n.d.) Nämä suositukset koskevat myös hammasimplantteja, joita käsitellään myöhemmin tässä luvussa.

2.2 Keraamit

Keraamien ominaisuudet, valmistustavat ja käyttökohteet ovat kehittyneet huomattavasti viime vuosikymmeninä. Keraamisia materiaaleja suositaan hammasprotetiikassa niiden hyvän esteetiikan ja kudosityhteensopivuuden vuoksi. (Matinlinna 2012.) Keraamit ovat metalli- ja epämetalliyhdisteiden, kuten metallioksidien, muodostamia epäorgaanisia materiaaleja, jotka voivat olla kiteisiä tai amorfisia taikka niiden yhdistelmiä (Vallittu ja Könönen 2013). Ne koostuvat lasikeraameista, posliineista, erittäin kiteisistä aineista ja lasista (Anusavice ym. 2012). Keraameja voidaan jaotella esimerkiksi mikrorakenteen, polttolämpötilojen, valmistustekniikoiden, ominaisuuksien ja käyttökohteiden mukaan (Shenoy ja Shenoy 2010, Gracis ym. 2015). Gracis ym. (2015) jakavat keraamit kolmeen ryhmään: lasipohjaisiin (glass-matrix ceramics), monikiteisiin (polycrystalline ceramics) ja resiinipohjaisiin (resin-matrix ceramics). Keraamit ovat vahvoja ja kemiallisesti hyvin stabiileja (inerttejä). Niihin voi kuitenkin tulla halkeamia nopeiden lämpötilavaihteluiden tai vetolujuuden takia. (Anusavice ym. 2012.)

2.2.1 Zirkonia ZrO_2

Yttriumoksidilla stabiloitua zirkoniumdioksidia (Y-TZP, yttriumoksidilla stabiloitu tetragonaalinen polykristallinen zirkoniumdioksidi) eli zirkoniaa on käytetty hammaslääketieteessä yli kahdenkymmenen vuoden ajan. Zirkonia kuuluu monikiteisiin keraameihin, ja sitä esiintyy lämpötilariippuvaisesti monokliinisessä, tetragonaalisessa ja kuutiomaisessa muodossa. Zirkonia esiintyy pääosin monokliinisessä muodossa 1170 °C:seen saakka, minkä jälkeen tetragonaalista muotoa on enemmän. Kun kidefaasin muuttuu tetragonaaliseksi, materiaalin tilavuus kasvaa ja mahdolliset raot sulkeutuvat, mikä vahvistaa materiaalia. (Piconi ja Maccauro 1999, Gracis ym. 2015.) Yttriumstabiloinnin avulla zirkonia jää sintrauksen eli tiivistyspolton jälkeen tetragonaaliseen muotoonsa, vaikka lämpötila laskee. Stabilointiin voidaan käyttää myös muita oksideja, kuten magnesiumia, kalsiumia ja ceriumia. (Piconi ja Maccauro 1999, Shenoy ja Shenoy 2010, Vallittu ja Könönen 2013, Gracis ym. 2015.)

Hjerpe ja Vult von Steyern (2019) kävivät läpi katsauksessaan zirkonian ominaisuuksia, käyttöaiheita ja kulumista. Pisimpään käytössä olleet ensimmäisen sukupolven zirkoniamateriaalit on todettu kliinisesti kestäviksi kruunujen ja siltojen runkomateriaaliksi. Lisäksi niistä on kehitelty hammasimplantteja ja abutmentteja eli keinojuurijatkeita. Ensimmäisen sukupolven zirkonian etuna on muita keraameja suurempi taivutuslujuus (800–1500 MPa) ja murtositkeys (9–12 MPa $m^{1/2}$). Zirkonia vastustaa siis hyvin murtumien syntymistä ja etenemistä. Tällä hetkellä kehitteillä on esteettisempiä, läpikuultavampia zirkoniamateriaaleja, joista voitaisiin tehdä

monoliittisiä kruunuja ja siltarakenteita. Tällöin voitaisiin luopua hauraampien päällepolttoposliinien käytöstä kokonaan. Löpikuultavan ja erittäin löpikuultavan zirkonian kehityksessä haasteena on mekaanisten ominaisuuksien säilyttäminen, sillä mitä löpikuultavampaa materiaali on, sitä heikompaa se on, eli sen taivutuslujuus ja murtositkeys ovat heikommat. (Hjerppe ja Vult von Steyern 2019.)

2.2.2 Litiumdisilikaatti LiSi₂

Tällä hetkellä proteettisissa rakenteissa käytetyimpiä lasikeraamimateriaaleja ovat litiumdisilikaattilujitteiset lasikeraamit. Johansson ja Vult von Steyern (2019) kävivät läpi katsauksessaan posliinien ja lasikeraamien ominaisuuksia ja käyttökohteita. He katsoivat litiumdisilikaatin eduiksi esteettisyyden, hyvät mekaaniset ominaisuudet, kuten suuren taivutuslujuuden (360–400 MPa) ja murtositkeyden (2–3 MPa m^{1/2}), sekä monipuoliset käyttökohteet. Niitä voidaan käyttää kruunuissa, laminaateissa, inlay- ja onlay-täytteissä sekä korkeintaan kolmen yksikön silloissa etualueella. Litiumdisilikaattilujitteiset lasikeraamit soveltuvat myös implanttikruunuiksi titaanijatkkeen päälle. (Johansson ja Vult von Steyern 2019.)

2.3 Hammasimplantit ja peri-implanttikudos

Hammasimplantit kuuluvat lääkinällisiin laitteisiin, joiden valmistusta ja käyttöä ohjeistetaan erilaisilla standardeilla ja lainsäädännöllä, kuten esimerkiksi laissa lääkinällisistä laitteista (Laki lääkinällisistä laitteista 719/2021). Hammasta korvaava hammasimplantti koostuu juurta korvaavasta fikstuurasta eli ruuvista, keinojuurijatkkeesta eli abutmentista ja niiden päälle tulevasta proteettisesta rakenteesta, kuten kruunusta. Rupp ym. (1996, 2018) kutsuvat hammasimplantteja hybridi-implanteiksi, sillä ne ovat kosketuksissa niin kovakudoksen kuin pehmytkudoksen, sekä syljen kanssa. Katsauksessaan Rupp ym. (2018) jakavat hammasimplantin ja kudosten vuorovaikutuksen koostuvan subgingivaalisesta kovakudososasta, transgingivaalisesta pehmytkudososasta, sekä transgingivaalisesta ja supragingivaalisesta osasta, joka on yhteydessä suuonteloon. Supragingivaalisessa osassa abutmentti ja sen päälle kiinnitetty proteettinen rakenne ovat kosketuksissa pehmytkudosten, syljen ja biofilmin kanssa. Eri kudosten asettamat vaatimukset biokompatibiliteetille tekevät implanttien suunnittelusta ja vuorovaikutusten tutkimisesta haasteellista. (Rupp ym. 2018.)

Hampaan parodontaaliligamentin ja juurisementin puuttuessa implantti on suorassa kontaktissa alveolaariluun kanssa, mitä kutsutaan osseointegraatioksi (Albrektsson ym. 1981). Albrektsson

ym. (2017) ovat ehdottaneet osseointegraatiolle uutta määritelmää, jonka mukaan se tarkoittaa vierasesinereaktiota, jossa elimistö puolustautuu muodostamalla uutta luuta implantin ja luun rajapintaan suojatakseen kudoksia implantilta. Osseointegraatio on keskeistä implantoinnin onnistumiselle. Implantin kaulaosaa ympäröivä epiteeli suojaa alla olevaa luuta fyysisesti ja fysiologisesti, sekä ylläpitää siten osseointegraatiota (Rupp ym. 2018). Epiteelin alla on sidekudos, joka koostuu pääosin kollageenikuiduista ja matriksista, mutta siinä on myös hieman fibroblasteja ja verisuonia. Implanttia ympäröivässä pehmytkudoksessa on vähemmän fibroblasteja ja heikompi verisuonitus kuin hammasta ympäröivässä kudoksessa. Vähäisemmän verenkierron oletetaan heikentävän immuunipuolustusta, jolloin peri-implanttikudos on alttiimpi bakteereille ja tulehduksille. (Fiorellini ym. 2013, Ivanovski ja Lee 2018.)

Tässä tutkielmassa tutkitaan, voiko kruunuosan biokompatibiliteettiin vaikuttaa UV-käsittelyn avulla. Rupp ym. (2018) korostavat implantin eri osien pintavuorovaikutusten optimoinnin tärkeyttä. Vaikka implantin kruunuosa on pinta-alan puolesta vain pienessä kontaktissa epiteelisolujen kanssa, on sillä merkitystä toimivan epiteelisulun syntymisessä. Toisaalta esimerkiksi titaanipohjaisiin eli ti-base (titanium base) keinojuurijatkeisiin kiinnitettävät kruunut ovat kontaktissa peri-implanttikudoksiin aina luurajan tasolta asti. Ikenen fibroblastien ja keratinosyyttien hyvä adheesio kruunumateriaaliin voi ehkäistä bakteeri-infiltraatiota ja siten myös peri-implanttimukosiittia ja peri-implantiittia. (Rupp. ym. 2018.)

2.4 Puhdistusmenetelmät

Ennen implantointia, on rakenteiden sterilointi, eli mikrobien ja niiden itiöiden tappaminen tai poistaminen, olennaista infektioiden ehkäisemiseksi, sekä osseointegraation ja haavan paranemisen edistämiseksi (Lääkelaitos 2005, Rupp ym. 2018). Sterilointilaitteille on erilaisia validointimenetelmiä, jotta laitteet varmasti täyttäsivät standardien ja Terveystieteiden laitosten ja tarvikkeista annetun lain (1505/1994). Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitoksen mukaan ihon tai limakalvon läpäisevien, sekä juurikanavassa käytettävien välineiden tulee olla steriilejä ja pusitettuja, mutta jos instrumentilla vain kosketaan limakalvoa tai ihoa, voidaan välineet steriloida tai lämpödesinfoida (Lääkelaitos 2005, Välimaa 2016). Lääkelaitoksen (2005) mukaan desinfiointilla mikrobimäärä pyritään saamaan turvalliselle ja hyväksyttävälle tasolle niiden poistamisen tai deaktivoimisen eli toimintakyvyttömäksi tekemisen avulla. Kuitenkaan bakteeri-itiöitä ei välttämättä saada poistettua. Erilaisia sterilointi- ja desinfektioimenetelmiä ovat esimerkiksi lämpökäsittelyt, säteily, kuten UV- ja gammasäteily, sekä kemialliset puhdistusaineet, kuten alkoholi (Dai ym. 2016). Lämpökäsittelymenetelmiä ovat lääketieteessä aiemmin käytetty

kuumailmasterilointi, sekä sen lähes jo kokonaan syrjäyttänyt höyrysterilointi. Höyrysteriloinnin etuina ovat matalampi lämpötila, lyhyempi sterilointiaika ja sen monipuolisemmat käyttökohteet, sillä monet materiaalit eivät sovellu kuumailmasterilointiin korkean lämpötilan vuoksi. (Lääkelaitos 2005.) Kuumailmakaapissa lämpötila on vähintään 160 °C ja käsittelyaika on lämpötilasta riippuen tunnista kahteen, kun taas höyryautoklaavissa käytetty lämpötila on yleensä 121–134 °C ja sterilointiaika 3–15 minuuttia (Lääkelaitos 2005, Välimaa 2016). Höyryautoklaavia käytetään suun terveydenhuollossa välineiden ja instrumenttien sterilointiin. Kuuma-saumauksella pussitetut tavarat ja instrumentit pysyvät steriileinä jopa vuoden ajan. (Välimaa 2016.) Tässä tutkimuksessa näytteet pussitetaan ja steriloidaan autoklaavissa tutkimusprotokollan mukaisesti.

Rupp ym. (2018) käyvät katsauksessaan läpi hammasimplanttien pintaominaisuuksia ja tutkimuksia, joissa niihin on pyritty vaikuttamaan. UV-käsittelyä desinfiointitapana ja pinnan käsittelymenetelmänä on tutkittu viime vuosina kasvavissa määrin, sillä sen on huomattu parantavan pinnan vettyvyyttä ja vähentävän pinnan hiilen määrää. Tämän oletetaan parantavan implanttien osseointegraatiota, haavan paranemista ja esimerkiksi fibroblastien proliferaatiota ja adheesiota. (Rupp ym. 2018.) Ultraviolettisäteily voi myös lisätä materiaalin pintaenergiaa virittämällä elektroneja (Schünemann ym. 2019). UV-säteily jaetaan aallonpituuden mukaan UV-A- (315–400 nm), UV-B- (280–315 nm) ja UV-C-säteilyyn (100–280 nm) (IARC 1992). Mitä pienempi aallonpituus on, sitä suurempi energistä sähkömagneettinen säteily on, eli UV-C on näistä suurienergisiin. STUK (Säteilyturvakeskus 2021) on antanut UV-C-säteilylle väestö- ja työntekijäaltistusta koskevat raja-arvot, sillä suuremman fotonien energiansa vuoksi se voi polttaa ihoa ja vaurioittaa silmiä lyhyessäkin ajassa. Lisäksi UV-C-säteilyn muodostama otsoni ärsyttää silmiä ja hengitysteitä. UV-C-säteily on erityisen tehokas ilman ja veden puhdistukseen, mutta se ei puhdistaa yhtä tehokkaasti pintoja. (STUK 2021.) Tässä tutkimuksessa käytetään sekoitetun spektrin UV-lamppua, jossa on UV-A- ja UV-C-säteilyä vastaavat aallonpituudet.

Han ym. (2018) tutkivat *in vitro* -menetelmin eri sterilointitapojen vaikutusta zirkonian pintaominaisuuksiin ja biofilmin muodostukseen. He havaitsivat UV-C-säteilyn ja gammasäteiden lisäävän pinnan hydrofiilisyyttä, mutta myös muuttavan zirkonian väriä epäedullisesti. Niissä kasvoi enemmän bakteereita verrattuna höyryautoklaavissa ja kuumailmassa steriloituihin näytteisiin verrattuna, eli puhdistusmenetelminä ne eivät olleet yhtä tehokkaita. Dai ym. (2016) kävivät läpi katsauksessaan eri sterilointimenetelmiä biohajoaville skaffoldeille, jotka ovat esimerkiksi biotekniikassa käytettäviä solujen tukirakenteita tai kasvualustoja. UV-säteilyn ja

etanolin eduiksi he katsoivat esimerkiksi edullisuuden, matalan lämpötilan ja nopeuden, mutta sterilointiin ne eivät olleet riittävän tehokkaita eli ne toimivat pelkinä desinfiointimenetelminä. Vastaavasti lämpökäsittelyt olivat tehokkaita inaktivoimaan useita mikrobeja ja suhteellisen nopeita käyttää, mutta korkea lämpötila voi olla esteenä joidenkin materiaalien sterilointiin. (Dai ym. 2016.)

3 TUTKIMUKSEN TAVOITTEET

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää keraamisten kruunumateriaalien UV-käsittelyn vaikutusta ihmisen ikenen fibroblastien proliferaatioon ja adheesioon. Fibroblastien proliferaatiivista aktiivisuutta mitattiin AlamarBlueTM-analyysillä. Vastaavasti fibroblastien adheesiota mitattiin kvantitatiivisella DNA-mittauksella (PicoGreen® dsDNA quantitation kit), jolla selvitettiin kiinnittyneiden solujen määrä. Tutkimuksen keraamisiksi materiaaleiksi valittiin zirkonia ja litiumdisilikaatti niiden yleistyneen käytön vuoksi. Tällä hetkellä ei ole yhtenäistä protokollaa siitä, miten implanttikruunut tulee puhdistaa niiden valmistamisen jälkeen. UV-käsittely on yksi käytetyistä puhdistus- ja käsittelymenetelmistä hammaslaboratorioissa ja vastaanotolla. Tässä tutkimuksessa selvitetään UV-käsittelyn vaikutusta fibroblastien toimintaan keraamisten materiaalien pinnoilla, mikä voi siten vaikuttaa implantoinnin onnistumiseen.

Lisäksi tutkimuksessa selvitettiin UV-käsittelyn tehoa suhteessa aikaan. UV-käsittelyn vaikutuksen tutkimiseen valittiin kolme eri vertailukohtaa. Kontrolliryhmässä materiaaleja ei UV-käsitelty ollenkaan. Toisen ryhmän materiaalit UV-käsiteltiin juuri ennen koehetkeä, jolla simuloidaan tilannetta missä käsittely suoritettaisiin vastaanotolla. Kolmannen ryhmän materiaalit UV-käsiteltiin 24 tuntia ennen, joka simuloi tilannetta missä käsittely suoritettaisiin tekniikon toimesta etukäteen. Tällä pyrittiin saamaan viitteitä siitä, onko UV-käsittelyn ajankohdalla merkitystä.

4 AINEISTO JA MENETELMÄT

Tutkimuksen materiaaleina käytettiin zirkoniaa ja litiumdisilikaattia, joista muodostettiin yhteensä kuusi eri ryhmää. Kontrolliryhmissä zirkoniaa ja litiumdisilikaattia ei UV-käsitelty, kun taas koeryhmissä näytteet käsiteltiin kahtena eri ajanhetkenä. Koe- ja kontrolliryhmät on esitetty taulukossa 1.

Taulukko 1. Koe- ja kontrolliryhmät

Ryhmät	Käsittely
1. Zirkonia	käsittelemätön
2. Zirkonia	UV-käsittely juuri ennen tutkimusta
3. Zirkonia	UV-käsittely, pakkaus ja käyttö kokeissa 24 tuntia käsittelyn jälkeen*
4. Litiumdisilikaatti	käsittelemätön
5. Litiumdisilikaatti	UV-käsittely juuri ennen tutkimusta
6. Litiumdisilikaatti	UV-käsittely, pakkaus ja käyttö kokeissa 24 tuntia käsittelyn jälkeen*

* Verrannollinen UV-käsittelyyn hammaslaboratoriossa ennen kruunun toimitusta hammaslääkärille.

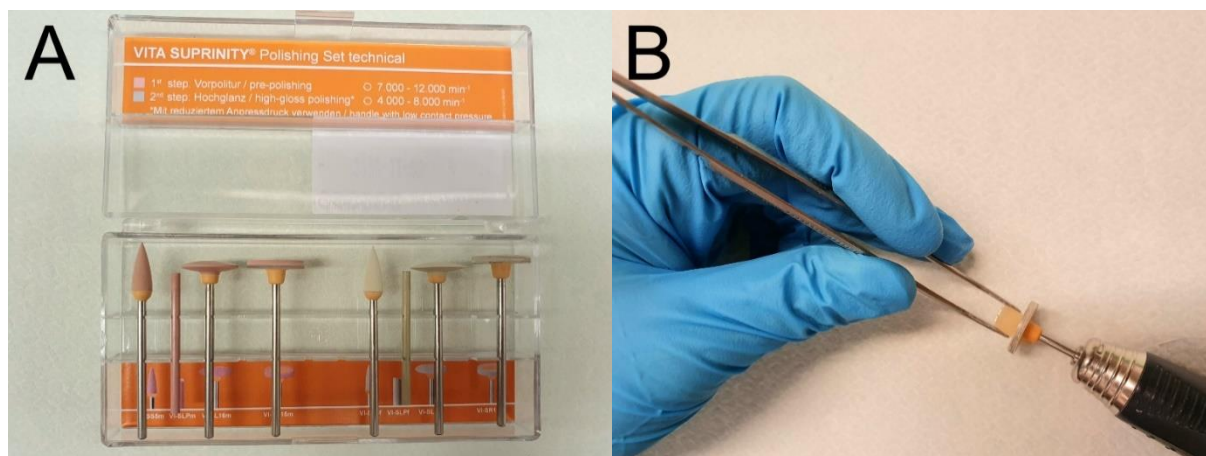
UV-käsittely juuri ennen tutkimusta vastaa UV-käsittelyn tekemistä vastaanotolla ennen kruunun asentamista. UV-käsittely 24 tuntia ennen koetta vastaa tilannetta, jossa esimerkiksi tekniikko käsittelee kruunun etukäteen.

4.1 Näytteiden valmistelu

Proliferaatio- ja adheesiokinetiikkatutkimuksissa käytettiin samoja menetelmiä näytteiden valmistamiseen ja fibroblastien soluviljelyyn. Zirkonia- ja litiumdisilikaattinäytteiden valmistus- ja puhdistusmenetelmät, UV-käsittely, sekä soluviljely on kuvattu tarkemmin tässä luvussa.

4.1.1 Zirkonia

Tutkimuksessa valmistettiin zirkonia-näytteet leikkaamalla prässätyt zirkonia-kiekot (Zirkon-Zahn, Taufers, Italia) katkaisulaikalla (NSK Ultimate XL-K/D -mikromoottori) niin, että niistä tuli sintrauksen jälkeisen kutistumisen myötä 12 x 7 x 2 mm kokoisia paloja. Näytteet hiottiin mahdollisimman tasaisiksi piikarbidi-hiontapaperilla (#1200) ja kiillotuskoneella (Struers LaboPol-21, Rodovre, Tanska). Sintraus tehtiin valmistajan ohjeiden mukaisesti. Palat kiillotettiin sintrauksen jälkeen kaksivaiheisella Vita Suprinity Polishing Set technical -kiillotuskiekoilla (kuvat 1 a ja b).

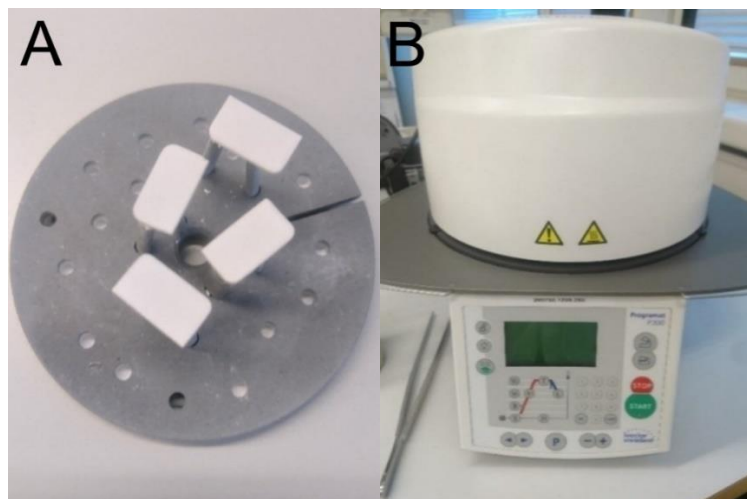


Kuva 1. A) Zirkonian kiillotukseen käytetty Vita Suprinity Polishing Set technical -kiillotussetti. B) Zirkonian kiillotus.

Esikiillotus tehtiin vaaleanpunaisella kiekolla, minkä jälkeen lopuksi tehtiin harmaalla kiekolla loppukiillotus (kuva 1b).

4.1.2 Litiumdisilikaatti

Tutkimusta varten valmistettiin litiumdisilikaattipaloja, joille tehtiin kristallisointipoltto. Litiumdisilikaatti-blokit (IPS e.max CAD) leikattiin 12 x 7 x 2 mm kokoisiksi paloiksi histologisella sahalla (Struers Secotom-50, Kööpenhamina, Tanska) käyttäen MOD20-terää. Tämän jälkeen näytteet hiottiin piikarbidi-hiontapaperilla #1200:n karheuteen (Struers LaboPol-21, Rodovre, Tanska). Ennen kristallisointia näytteet puhdistettiin höyrypesurilla (Wassermann Wasi-Stream Classic, Saksa) ja kuivattiin paineilmalla. Näytteiden päälle suihkutettiin valmistajan ohjeiden mukaisesti tasainen kerros lasitesuihketta (Ivoclar Vivadent IPS e.max CAD Crystall./Glaze Spray) (kuva 2a). Näytteet kiinnitettiin polttoalustan (IPS e.max CAD Crystallization Tray, Ivoclar Vivadent) pinneihin Ivoclar Vivadentin Object Fix Flow -polttopastalla. Poltto tehtiin Ivoclar Vivadent Programat P300 -laitteella (kuva 2b). Käytetty ohjelma oli IPS e.max CAD Crystal/Glaze 81 (24 min, 840 °C).

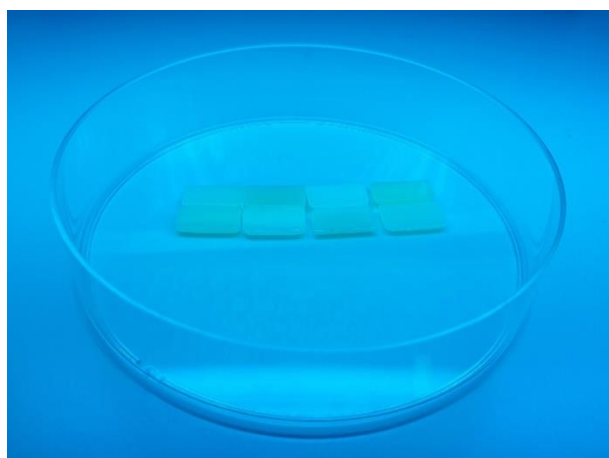


Kuva 2. A) Kristallisointikerros litiumdisilikaatti-näytteiden päällä ennen polttoa. B) Kristallisointipolttoon käytetty posliiniuuni Ivoclar Vivadent Programat P300.

Mikäli kristallisoinnilla ei saavutettu tasaista lopputulosta, näytteiden päälle suihkutettiin uusi tasainen kerros lasitesuihketta ja näytteet poltettiin uudestaan lyhyemmällä ohjelmalla 82 (20min, 840°C).

4.1.3 UV-käsittely

Kaikki substraattit pestiin 5 minuutin ajan asetonilla ja etanolilla (70 %) ultraäänipesurissa (Branson 221, GWB), minkä jälkeen näytteitä autoklaavattiin 20 minuutin ajan 121 °C:n lämpötilassa kontaminaatioiden eliminoimiseksi. Ryhmien 2, 3, 5 ja 6 (taulukko 1) substraattien UV-säteilyttämiseen käytettiin sekoitetun spektrin UV-lamppua (kuva 3), 0.05 mW/cm² ($\lambda = 360 \pm 20$ nm) ja 2 mW/cm² ($\lambda = 250 \pm 20$ nm). UV-käsittely kesti 15 minuuttia.



Kuva 3. Näytteiden UV-käsittely.

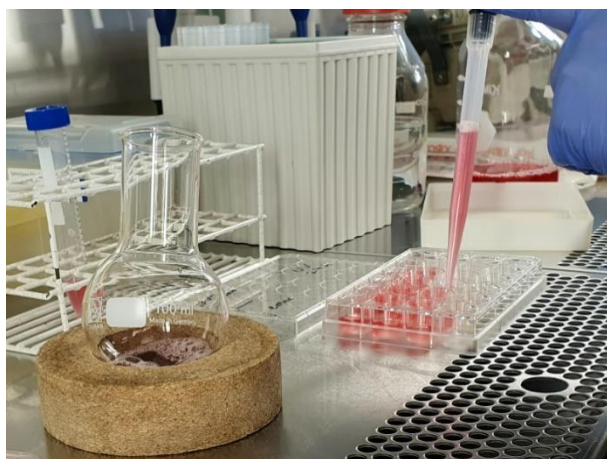
Ryhmille 2 ja 5 UV-käsittely tehtiin juuri ennen tutkimusta, kun taas ryhmille 3 ja 6 se tehtiin 24 tuntia ennen proliferaatiomittausta ja adheesiokinetiikkatutkimusta.

4.1.4 Soluviljely

Tutkimuksessa käytetyt ihmisen ikenen fibroblastit oli eristetty koehenkilöltä. Fibroblastien ylläpitoliuos koostui DMEM:sta (Dulbecco's Modified Eagle Medium), jossa oli 10 % naudan sikiön seerumia (FBS), 100 U/ml penisilliiniä, ja 100 µg/ml streptomysiiniä (Gibco BRL, Life Technologies, Paisley, UK). Soluja inkuboitiin 37 °C:ssa 5 % CO₂ -ympäristössä. Kun viljelmä oli saavuttanut riittävän solutiheyden, solut irrotettiin trypsinoimalla, laskettiin ja resuspensoitiin kasvatusmediumiin. Kasvatusmedium vaihdettiin 3 kertaa viikossa.

4.2 Proliferaatiomittaus

Soluviljely ja materiaalien valmistelu (n=10) tehtiin proliferaatiotutkimusta varten ylläkuva-
tuilla menetelmillä. Proliferaatiomittaukseen käytettiin värinmittaukseen perustuvaa Alamar-
Blue™-analyysia (BioSource International, Camarillo, CA), joka suoritettiin valmistajan oh-
jeiden mukaisesti. Näytteet ja fibroblastit (12 500 solua/cm²) siirrettiin ensin steriileille kuop-
palevyille (Ø 1,5 cm, pinta-ala 1,9 cm²), mikä on esitetty kuvassa 4.



Kuva 4. Fibroblastien siirtäminen näytetaljoihin.

Siirron jälkeen fibroblasteja viljeltiin enintään seitsemän päivän ajan. Aikapisteinä käytettiin viljelypäiviä yksi, kolme ja seitsemän. Kussakin aikapisteessä substraatteja (n=10) otettiin pois ja siirrettiin steriileille kuoppalevyille, joissa oli 10 % koereagenssia (AlamarBlue™) ja loput kasvatusmediumia (kuva 5).

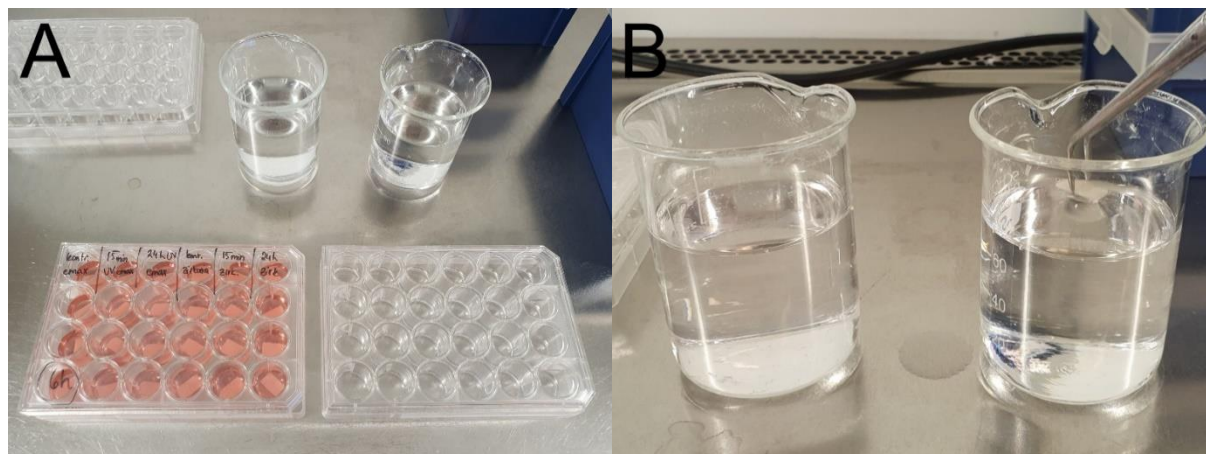


Kuva 5. AlamarBlue -liuoksen pipetointi kuoppalevyille.

Soluja inkuboitiin kolme tuntia 37 °C:ssa 5 % CO₂ -ympäristössä. Tämän jälkeen jokaisesta näytteestä pipetoitiin 200 µl mikrolevyn kuoppiin. Mikrolevylle pipetoitiin saman verran myös kontrollipolymeeria. Absorbanssiarvot mitattiin ELISA plate -lukijalla (Multiskan MS, Lab-systems, Helsinki, Suomi) aallonpituuksilla 570 nm ja 595 nm. Absorbanssiarvojen avulla laskettiin koereagenssin reduktio. Solujen proliferaatioaste normalisoitiin kontrollipolymeerin proliferaatioasteeseen ensimmäisessä aikapisteessä, joka valittiin sadaksi prosentiksi. Absorbanssilukemien ja solujen lukumäärien välille muodostettiin lineaarinen suhde.

4.3 Adheesiokinetiikka

Kiinnittyneiden solujen määrä selvitettiin kvantitatiivisilla DNA-mittauksilla, jossa käytettiin fluoresoivaa väriainetta (PicoGreen® dsDNA quantitation kit, Molecular Probes Europe, Leiden, Alankomaat) valmistajan ohjeiden mukaisesti. Adheesiokinetiikkatutkimusta varten materiaalit (n=4) ja solut valmisteltiin aiemmin kuvatuilla menetelmillä. Fibroblastit (25 000 solua/cm²) siirrettiin steriileille kuoppalevyille (Ø 1,5 cm, pinta-ala 1,9 cm²) näytteiden päälle. Näytteitä inkuboitiin 1, 6, tai 24 tuntia 37 °C:ssa 5 % CO₂ -ympäristössä. Näistä ajoista muodostettiin tutkimuksen eri aikapisteet. Inkuboinnin jälkeen näytteet pestiin kahdesti PBS-puskuriliuoksessa (0,005 % Trypsiini, 0,05 mM EDTA; Gibco, Invitrogen), jolla poistettiin ei-kiinnittyneet solut (kuva 6).



Kuva 6. A) Fibroblastit ja näytteet vasemmalla kuoppalevyllä, PBS-liuos dekanttereissa ja TE-puskuri oikeanpuolimmaisessa kuoppalevyssä. B) Näytteiden pesu PBS-liuoksessa.

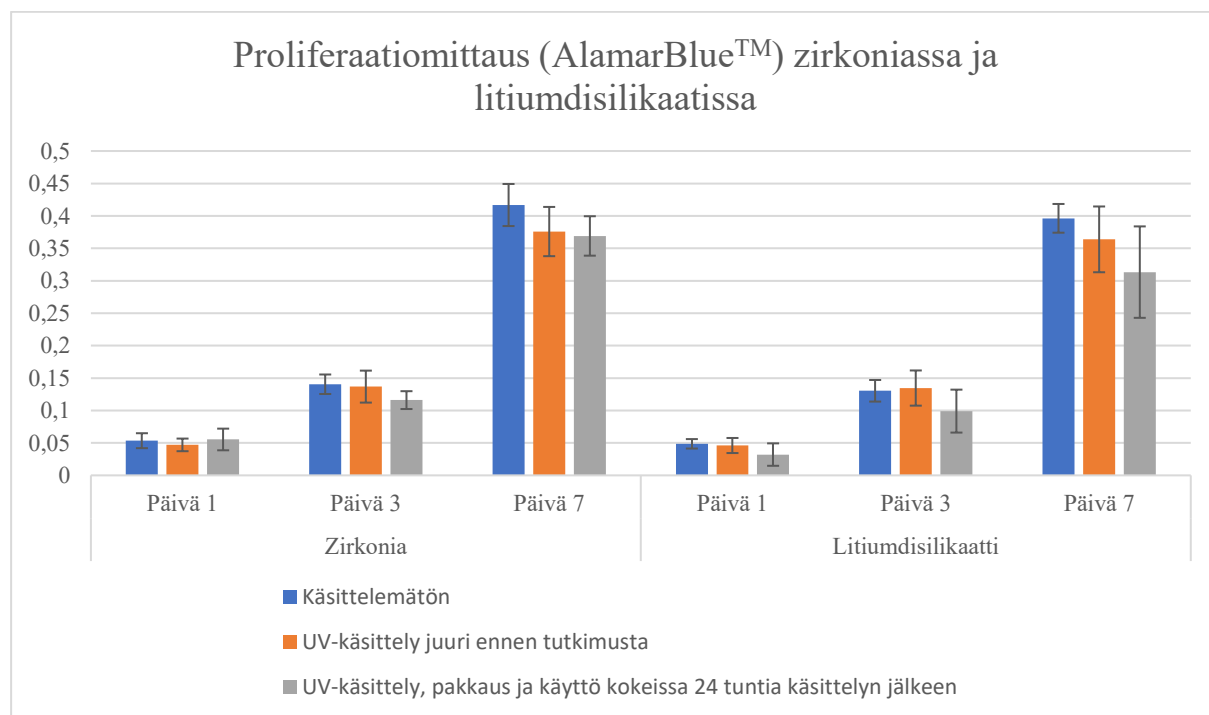
Materiaalit laitettiin uusille kuoppalevyille, joissa oli TE-puskuriliuos (10 mmol/l Tris-HCl, 1 mmol/l EDTA, pH 7,5). Näytteet säilytettiin $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$:ssa. Substraatteja sonikoitiin eli altistettiin ääniaalloille (Hielscher UP50H) jäävesikylvyssä 15 sekunnin ajan, jotta genominen DNA vapautuisi. Tämän jälkeen näytteet ja PicoGreen® valmisteltiin ja yhdistettiin valmistajan protokollan mukaisesti, minkä jälkeen liuos pipetoitiin mikrolevyille. Fluoresenssi mitattiin eksitaation ja emission avulla aallonpituuksilla 485 nm ja 590 nm (BioTek Synergy HT, Winooski, USA). DNA:n määrä luettiin protokollan mukaisesti kaksijuosteisen DNA-fagin vakiokäyrältä.

5 TULOKSET

Fibroblastisolujen proliferaatiomittauksen ja adheesiokinetiikan tutkimuksen tulokset käydään läpi tässä osiossa. Koeryhminä oli juuri ennen kokeita UV-käsitelty tai 24 tuntia ennen tutkimusta UV-käsitelty zirkonia ja litiumdisilikaatti. Kontrolliryhminä toimivat UV-käsittelemätön zirkonia ja litiumdisilikaatti.

5.1 Proliferaatiomittaus

Fibroblastien proliferaatiota UV-käsitellyissä ja käsittelemättömissä zirkoniassa ja litiumdisilikaatissa mitattiin AlamarBlue™ -analyysin avulla. Aikapisteinä käytettiin viljelypäiviä yksi, kolme ja seitsemän. Eri aikapisteissä mitattujen absorbanssien avulla laskettiin koereagenssin (AlamarBlue™) reduktio. Solujen proliferaatioaste normalisoitiin kontrollipolymeerin proliferaatioasteeseen ensimmäisessä aikapisteessä, joka valittiin mielivaltaisesti sadaksi prosentiksi. Absorbanssin ja fibroblastien lukumäärien välille muodostettiin lineaarinen suhde. Ryhmien proliferaatiomittauksen tulokset on esitetty kuviossa 1.

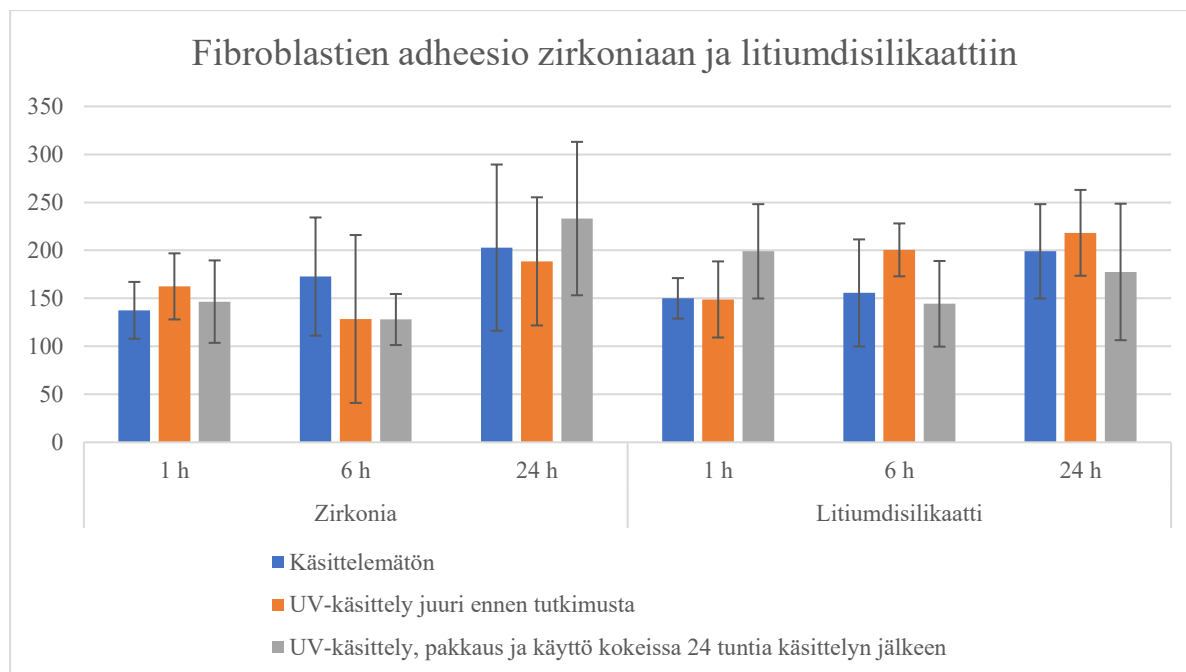


Kuvio 1. Fibroblastien proliferaatioasteen muutos eri ryhmissä aikapisteiden välillä kuvattuna absorbanssiarvojen muutoksena zirkoniassa ja litiumdisilikaatissa. Aikapisteinä toimi viljelypäivät yksi, kolme ja seitsemän. AlamarBlue™ -koereagenssin reduktio kontrolliryhmissä ensimmäisenä päivänä valittiin sadaksi prosentiksi. Tulokset on esitetty muodossa keskiarvo ± keskihajonta (n=10).

Solujen proliferaatiomittausten tuloksissa havaittiin tilastollisesti merkittävä kasvu absorbanssiarvoissa ($p < 0.001$) päivien 1, 3 ja 7 välillä kaikissa ryhmissä. Zirkonianäytteillä oli tilastollisesti merkittävästi suurempi absorbanssiarvo verrattuna litiumdisilikaattiin päivinä 3 ($p = 0.014$) ja 7 ($p < 0.001$), mikä viittaa proliferaation lisääntymiseen. Kuviosta 1 havaitaan, että ensimmäisenä päivänä zirkonianäytteissä juuri ennen koetta UV-käsitellyissä näytteissä (2. ryhmä) oli matalampi absorbanssi verrattuna käsittelemättömään (1. ryhmä) ja 24 tuntia ennen koetta UV-käsitelyihin (3. ryhmä) ($p = 0,039$). Kolmantena päivänä 3. ryhmässä oli merkittävästi matalampi absorbanssiarvo verrattuna 1. ja 2. ryhmiin ($p < 0,001$). Seitsemäntenä päivänä 1. ryhmässä oli merkittävästi korkeampi absorbanssi ($p < 0,001$). Litiumdisilikaatissa matalin absorbanssi oli 6. ryhmässä, eli 24 tuntia ennen koetta UV-käsitellyissä näytteissä, kaikkina mittausajankohtina ($p < 0,001$). Seitsemäntenä päivänä jokaisten ryhmien välillä oli tilastollisesti merkittäviä eroja absorbanssiarvoissa, joista korkein absorbanssi oli käsittelemättömässä ryhmässä (4. ryhmä) ja matalin 6. ryhmässä.

5.2 Adheesiokinetiikka

Fluoresoivaan väriaineeseen perustuvaa kvantitatiivista DNA-mittausta (PicoGreen®), käytettiin kiinnittyneiden fibroblastien lukumäärän selvittämiseen UV-käsitellyissä ja käsittelemättömissä zirkoniassa ja litiumdisilikaatissa. Fibroblasteja viljeltiin eri aikoja, mistä muodostettiin aikapisteet 1 tunti, 6 tuntia ja 24 tuntia. Fluoresenssi mitattiin eksitaation ja emission avulla, jonka jälkeen DNA:n määrä luettiin valmistajan protokollan mukaisesti kaksijuosteisen DNA-fagin vakiokäyrältä. Fibroblastien adheesiokinetiikan tulokset eri aikapisteissä UV-käsitellyssä ja käsittelemättömässä zirkoniassa ja litiumdisilikaatissa on esitetty kuviossa 2.



Kuvio 2. Fibroblastien adheesio UV-käsitellyissä ja käsittelemättömässä zirkoniassa ja litiumdisilikaatissa eri aikapisteissä. DNA:n määrä luettiin valmistajan protokollan mukaisesti kaksijuosteisen DNA-fagin vakiokäyrältä. Tulokset on esitetty muodossa keskiarvo \pm keskihajonta ($n=4$).

Kuviosta 2 havaitaan, että yhden tunnin aikapisteessä fibroblasteja oli kiinnittynyt tilastollisesti merkittävästi enemmän 24 tuntia ennen tutkimusta UV-käsiteltyyn litiumdisilikaattiin (6. ryhmä) verrattuna vastaavaan zirkoniaryhmään (3. ryhmä) ($p=0,039$). Litiumdisilikaatissa oli enemmän fibroblasteja myös juuri ennen koetta UV-käsitellyssä ryhmässä (5. ryhmä) kuuden tunnin aikapisteiden kohdalla verrattuna vastaavan ryhmän, eli 2. ryhmän, zirkoniaan ($p=0,043$). Zirkonianäytteissä 3. ryhmässä oli merkittävästi suurempi adheesio 24 tunnin aikapisteessä ($p=0,012$). Litiumdisilikaatissa vastaava adheesio kasvu oli havaittavissa kuuden tunnin aikapisteessä juuri ennen koetta UV-käsitellyissä näytteissä ($p=0,003$). Tuloksissa ei havaittu eroja UV-käsiteltyjen zirkoniaryhmien välillä. Verratessa litiumdisilikaattiryhmiä toisiinsa havaitaan, että yhden tunnin aikapisteiden kohdalla 6. ryhmässä oli tilastollisesti korkeampi adheesio ($p=0,047$) ja kuuden tunnin kohdalla 5. ryhmässä oli tilastollisesti korkeampi adheesio ($p=0,048$).

6 POHDINTA

Implanttien kehitystyössä olennaisessa roolissa on materiaalien, rakenteiden ja niiden asennusmenetelmien parantaminen. Myös implanttien pinnan modifiointi eli muokkaus eri menetelmien avulla voi tuoda lisähyötyjä erityisesti alkuvaiheen implantoinnin onnistumisessa. Tässä työssä keskityttiin kruunumateriaalien pinnan muokkaamiseen UV-säteilyn avulla. Tutkimusprotokollan vuoksi näytteet puhdistettiin ja steriloitiin ennen UV-käsittelyä, minkä vuoksi tutkimuksessa ei voitu tarkastella UV-käsittelyä varsinaisena puhdistusmenetelmänä, vaan sitä, millainen vaikutus sillä on keraamin pinnan ominaisuuksiin. Schünemann ym. (2019) totesivat katsauksessaan UV-käsittelyn voivan lisätä zirkonian pinnan vettyvyyttä ja pintaenergiaa, mikä voi vaikuttaa esimerkiksi osteoblastien kiinnittymiseen, erilaistumiseen ja lisääntymiseen. Tässä työssä tutkittiin UV-käsittelyn vaikutusta fibroblastien adheesioon ja proliferaatioon zirkonia- ja litiumdisilikaattimateriaaleilla. Tutkimusryhmiksi valittiin UV-käsittely juuri ennen tutkimusta, joka vastaisi käsittelyä vastaanotolla, ja UV-käsittely 24 tuntia aiemmin, mikä vastaisi käsittelyä hammaslaboratoriossa. Kontrollina toimi ryhmät, joita ei UV-käsitelty.

Tuloksissa ei havaittu UV-käsittelyllä olevan merkittävää vaikutusta fibroblastien adheesioon ja proliferaatioon. Tuloksia analysoitaessa tulee pitää mielessä kontaminaation mahdollisuus ja pienen ryhmäkoon vaikutus. Tutkimusasetelma on yksinkertaistettu tilanne verrattuna suun todelliseen mikrobiomiin ja solujen vuorovaikutukseen. In vivo -olosuhteissa on huomattavasti enemmän muuttujia, joiden vaikutusta on hankala jäljitellä in vitro -menetelmällä. Tässä tutkimuksessa saatiin alustavia viitteitä UV-käsittelyn vaikutuksesta fibroblastien toimintaan zirkoniassa ja litiumdisilikaatissa. Jatkossa UV-käsittelyä voisi tutkia tutkimusasetelmalla, joka olisi lähempänä aitoa kliinistä tilannetta, kuten esimerkiksi epiteelisolujen ja laajempien solujen ja mikrobiverkostojen vaikutusta. Lisäksi olisi hyvä tutkia tilannetta ilman, että näytteet steriloidaan ja puhdistetaan etukäteen, sillä ne voivat myös vaikuttaa materiaalien pintaominaisuuksiin. In vitro -menetelmässä käytetään useita aineita, joita ei kliinisessä työssä käytetä, mitkä voivat vaikuttaa tutkittuihin materiaaleihin ja fibroblastien toimintaan, ja siten tutkimustuloksiin. Tutkimuksessa litiumdisilikaattinäytteet käsiteltiin erikoislasitesuihkeella, joka muuttaa materiaalin pintaa ja minkä vuoksi solut eivät olleet suorassa kontaktissa litiumdisilikaattipinnan kanssa. Tämä vastaa kuitenkin kliinistä tilannetta, sillä kristallisointipolttio on yleinen käytäntö litiumdisilikaattikruunuille ja -täytteille. Lisäksi käytettyjen näytteiden pintojen säilyminen saattoi vaihdella, mikä voi vaikuttaa fibroblastien kiinnittymiseen ja proliferaatioon.

Tulevaisuudessa UV-käsittelyn vaikutusta tulisi tutkia isommilla näyteryhmillä ja eri materiaaleilla. Lisäksi tulisi tutkia kuinka pitkään UV-käsittelyn mahdollinen vaikutus kestää. Tässä tutkimuksessa saatiin vaihtelevia tuloksia eri ajoilla, mistä herää epäily onko UV-käsittelyn vaikutus loppunut tai onko näytteiden pinta kontaminoitunut. Myös tutkimukseen valitun ultravioletti säteilyn aallonpituus ja käsittelyaika voivat vaikuttaa tutkimustuloksiin. Yang ym. (2015) tutkivat UV-käsittelyn vaikutusta sileillä ja karheilla zirkonianäytteillä. Tutkimuksen UV-käsittely kesti 24 tuntia verrattuna tässä syventävässä tutkielmassa käytettyyn 15 minuuttiin. Heidän tutkimuksessaan fibroblastien proliferaatio, adheesio ja kollageenin vapautus lisääntyi erityisesti karheassa UV-käsitellyssä zirkoniassa. Säteilyturvakeskuksen (2021) mukaan pintojen desinfiointiin tulisikin käyttää suuria säteilyannoksia, sillä UV-C-säteily ei ole tehokas desinfioimaan pintoja, erityisesti jos pinta on huokoinen tai jos siinä on likaa. Riskinä kuitenkin on, että se heikentäisi materiaalia ja muuttaisi väriä (Han ym. 2018, STUK 2021). Tässä tutkimuksessa värinmuutosta ei havaittu. Voi olla, ettei UV-käsittelystä saada merkittävää lisähyötyä keraamien desinfiointiin, mutta sillä voitaisiin muokata esimerkiksi pinnan vettyvyyttä.

7 LÄHTEET

- Albrektsson, T. ym. 1981. Osseointegrated Titanium Implants: Requirements for Ensuring a Long-Lasting, Direct Bone-to-Implant Anchorage in Man, *Acta Orthopaedica Scandinavica*. Vol. 52(2). S. 155–170.
- Albrektsson, T. ym. 2017. Osseointegration of Implants – A Biological and Clinical Overview. *JSM Dental Surgery*. Vol.2(3): 1022.
- Anusavice, K., Shen, C. & Rawls, H. R. 2012. *Phillips' Science of Dental Materials*. 12. painos toim. St. Louis: Saunders. S.420.
- Choi, S. H. ym. 2017. Effect of the ultraviolet light treatment and storage methods on the biological activity of a titanium implant surface. *Dental Materials*. Vol. 33(12). S. 1426–1435.
- Dai, Z. ym. 2016. Sterilization techniques for biodegradable scaffolds in tissue engineering applications. *Journal of Tissue Engineering*. Vol. 7. S. 1-13.
- Fimea. N.d. Biomateriaalit. Viitattu 18.4.2023. Saatavissa: https://www.fimea.fi/laakinnalliset_laitteet/mita-ovat-laakinnalliset-laitteet-/erikoislaiteryhmat/biomateriaalit
- Fiorellini, J. ym. 2019. Peri-implant Anatomy, Biology, and Function. Teoksessa: Newman, Michael ym. *Newman and Carranza's Clinical Periodontology*. 13. painos. Philadelphia, PA: Elsevier. S. 732-740.
- Gracis, S. ym. 2015. A new classification system for all-ceramic and ceramic-like restorative materials. *The International journal of prosthodontics*. Vol. 28(3). S. 227–235.
- Han, A. ym. 2018. Effects of different sterilization methods on surface characteristics and biofilm formation on zirconia in vitro. *Dent Mater*. Vol. 34(2). S. 272–281.
- Hjerppe, J. & Vult von Steyern, P. 2019. Zirkonia hammaslääketieteessä 20 vuotta - mitä olemme oppineet. *Suomen hammaslääkärilehti*. Vol. 26(1). S. 34–41. Saatavissa: <https://www.lehtiluukku.fi/lehti/hammaslaakarilehti/read/01-2019/207260.html>
- International Agency for Research on Cancer 1992. Solar and Ultraviolet Radiation. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 55. World Health Organization. S. 43-44.
- Ivanovski, S. & Lee, R. 2018. Comparison of peri-implant and periodontal marginal soft tissues in health and disease. *Periodontol 2000*. Vol. Feb;76(1). S. 116–130.
- Johansson, C. & Vult von Steyern, P. 2019. Posliinit ja lasikeraamit – esteettisimmät hammastekniset materiaalimme. *Suomen Hammaslääkärilehti*. Vol. 26(1). S. 28–33.
- Järvelin, J. 2017. Hammasimplantit. THL-tilastoraportti 4/2017. Terveystieteiden tutkimuslaitos. Saatavissa: https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/131998/Tr04_17.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Laki lääkinnällisistä laitteista 719/2021. Viitattu 24.4.2023. Saatavissa: <https://finlex.fi/fi/laki/alkup/2021/20210719>
- Lääkelaitos 2005. Sterilointi perusterveydenhuollossa. Piensterilointilaitteen valinta, validointi ja sterilointitehon valvonta. TLT-info 1/2005.
- Matinlinna, J. 2012. Processing and bonding of dental ceramics. Teoksessa: P. Vallittu, toim. *Non-Metallic Biomaterials for Tooth Repair and Replacement*. Cambridge: Woodhead Publishing. S. 129–135.
- Miyazaki, T. ym. 2013. Current status of zirconia restoration. *Journal of Prosthodontic Research*. Vol. 57(4). S. 236–261.
- Noro, A. ym. 2013. Influence of surface topography and surface physicochemistry on wettability of zirconia (tetragonal zirconia polycrystal). *Journal of biomedical materials research*. Vol. 101B(2). S. 355–363.
- Perrotti, V. ym. 2017. Biocompatibility of Dental Biomaterials. Teoksessa: Shelton, R. toim. *Biocompatibility of Dental Biomaterials*. Amsterdam: Woodhead Publishing. S. 1-7.
- Piconi, C. ja Maccauro, G. 1999. Zirconia as a ceramic biomaterial. *Biomaterials*. Vol. 20(1). S. 1-25.
- Razali ym. 2021. An In-Vitro Analysis of Peri-Implant Mucosal Seal Following Photofunctionalization of Zirconia Abutment Materials. *Biomedicines*. 2021 Jan 15;9(1):78.
- Rupp, F. ym. 1996. Dental implant materials: Surface modification and interface phenomena. *Advanced Materials*. Vol. 8(3). S. 254-256.
- Rupp, F. ym. 2018. Surface characteristics of dental implants: A review. *Dental Materials*, 34(1). S. 40–57.
- Schünemann, F. H. ym. 2019. Zirconia surface modifications for implant dentistry. *Materials Science and Engineering: C*. Vol. 98. S. 1294–1305.
- Shenoy, A. & Shenoy, N. 2010. Dental ceramics: An update. *Journal of Conservative Dentistry*. Vol. 13(4). S. 195–203.
- STUK 2021. UV-C-säteilyn käyttö desinfiointissa. Viitattu 26.4.2023. Saatavissa: <https://www.stuk.fi/aiheet/uv-sateily-aurinko-ja-solarium/uv-c-sateilyn-kaytto-desinfiointissa>
- Törmälä, T. ym. 2003. Yleiskatsaus terveydenhuollon laitteissa ja tarvikkeissa käytettyihin biomateriaaleihin. Lääkelaitoksen julkaisusarja. 3/2003.
- Vallittu, P. & Könönen, M. 2013. Biomechanical Aspects and Material Properties. Teoksessa: K. Nilner, B. L. Dahl & S. Karlsson, toim. *A textbook of fixed prosthodontics: the Scandinavian approach*. Tukholma: Gothia fortbildning. S. 152–171.
- Vert, M. ym. 2012. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure Appl. Chem.*, Vol. 84(2). S. 377–410, 2012.

Välimaa, H. 2016. Ohje suun terveydenhuollon yksiköiden tartunnantorjuntaan. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. Ohjaus 22/2016. Helsinki.

Williams, D. 2008. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*. Vol. 29(20). S. 2941-2953.

Yang, Y. ym. 2015. Ultraviolet light-treated zirconia with different roughness affects function of human gingival fibroblasts in vitro: The potential surface modification developed from implant to abutment. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. Vol. 103(1). S. 116-124.