



УДК 616.716.4-001.5-089.843:615.46:611.018.1 хірургічна
DOI <https://doi.org/10.11603/2311-9624.2025.4.15966>

І. М. Бойчук

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-7300-2004>

А. В. Бамбуляк

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6383-9327>

Буковинський державний медичний університет

ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЦИТОТОКСИЧНОСТІ ТА БІОСУМІСНОСТІ МОДИФІКОВАНИХ ПОВЕРХОНЬ ТИТАНОВИХ ІМПЛАНТАТІВ НА КУЛЬТУРІ ФІБРОБЛАСТІВ ЛЮДИНИ IN VITRO

I. M. Boichuk, A. V. Bambuliak

Bukovinian State Medical University

COMPARATIVE EVALUATION OF CYTOTOXICITY AND BIOCOMPATIBILITY OF MODIFIED TITANIUM IMPLANT SURFACES ON HUMAN FIBROBLAST CULTURES IN VITRO

ІНФОРМАЦІЯ

Електронна адреса
для листування:
bandrivsky@tdmu.edu.ua

Отримано: 15.11.2025
Рекомендовано: 07.12.2025
Опубліковано: 31.12.2025

Ключові слова: остеосинтез,
виростковий відросток, Ti-6Al-
4V, діоксид титану, цитотоксичність,
фібробласти, МТТ-
тест, біосумісність.

АНОТАЦІЯ

Ефективність остеосинтезу виросткового відростка нижньої щелепи значною мірою залежить від біосумісності поверхні імплантату з оточуючими м'якими тканинами. Пошук оптимальної модифікації титанових конструкцій для профілактики запальних ускладнень залишається актуальним завданням сучасної хірургії.

Мета дослідження – провести порівняльну оцінку цитотоксичного впливу та біосумісності зразків титанового сплаву Ti-6Al-4V з різними типами модифікації поверхні на культуру шкірних фібробластів людини в умовах *in vitro* для обґрунтування вибору конструкцій при остеосинтезі виросткового відростка.

Матеріали та методи. Досліджено 20 зразків титанових дисків, розподілених на 4 групи: поліровані та оброблені піскоструминним методом, з покриттям TiO₂ та без нього. Як біологічну модель використано первинну культуру фібробластів шкіри людини. Життєздатність клітин оцінювали за допомогою МТТ-тесту через 72 години культивування, морфологію – методом фазово-контрастної мікроскопії. Статистичний аналіз включав t-критерій Стьюдента, $p < 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлено, що всі типи досліджуваних поверхонь не виявляють вираженої цитотоксичності: життєздатність клітин у всіх групах перевищувала 94% порівняно з контролем. Найвищі показники біосумісності зафіксовані у групі полірованих зразків без покриття $99,7 \pm 0,5\%$ та з покриттям TiO₂ – $98,2 \pm 1,2\%$.

Водночас, у групах з піскоструминною обробкою виявлено феномен емісії мікрочастинок титану в культуральне середовище, що є потенційним фактором ризику розвитку асептичного запалення в м'яких тканинах.

Висновки. Для остеосинтезу в ділянці виросткового відростка, де критичним є контакт імплантату з рухомими м'якими тканинами (фасціями, суглобовою капсулою), перевагу слід надавати конструкціям з полірованою поверхнею без, або з модифікованим покриттям TiO_2 , які забезпечують максимальну біоінертність та відсутність емісії мікрочастинок.

INFORMATION

Email address
for correspondence:
bandrivsky@tdmu.edu.ua

Received: 15.11.2025

Accepted: 07.12.2025

Published: 31.12.2025

Key words: osteosynthesis;
mandibular condylar process;
Ti-6Al-4V alloy; titanium dioxide;
cytotoxicity; fibroblasts;
MTT-test, biocompatibility.

ABSTRACT

The efficacy of osteosynthesis of the mandibular condylar process is critically dependent upon the biocompatibility of the implant surface with the surrounding soft tissues. Identifying the optimal titanium surface modification to prevent inflammatory complications remains a priority in contemporary surgery.

The aim of the study – to conduct a comparative evaluation of the cytotoxicity and biocompatibility of Ti-6Al-4V alloy samples with various surface modifications on human dermal fibroblasts in vitro, to provide a rationale for selecting implant designs for osteosynthesis of the mandibular condylar process.

Materials and Methods. The study analyzed 20 titanium alloy discs divided into four groups based on surface treatment: polished versus sandblasted, and with versus without titanium dioxide (TiO_2) coating. Primary human dermal fibroblasts served as the biological model. Cell viability was assessed using the MTT assay after 72 hours of cultivation, and cell morphology was analyzed via phase-contrast microscopy. Statistical analysis was performed using Student's t-test, $p < 0.05$.

Results. The study revealed that none of the tested surface types exhibited significant cytotoxicity; cell viability across all groups exceeded 94% compared to controls. The highest biocompatibility rates were observed in polished samples without coating – $99.7 \pm 0.5\%$ and those with TiO_2 coating – $98.2 \pm 1.2\%$. However, the sandblasted groups exhibited a phenomenon of titanium microparticle release (detachment) into the culture medium, representing a potential risk factor for the development of aseptic inflammation in soft tissues.

Conclusions. For osteosynthesis of the mandibular condylar process, where the interface between the implant and mobile soft tissues (fascia, joint capsule) is critical, priority should be given to polished implants (either uncoated or TiO_2 -coated). These surfaces demonstrate maximum bioinertness and preclude the emission of microparticles.

Вступ. Переломи виросткового відростка нижньої щелепи складають, за різними даними, від 19% до 52% усіх травматичних пошкоджень нижньої щелепи [1]. На сучасному етапі «золотим стандартом» лікування переломів зі зміщенням у цій ділянці є відкрита репозиція та внутрішня фіксація (остеосинтез) титановими міні-пластинами [2]. Ця анатомічна зона є функціонально складною через безпосередню близькість скронево-нижньощелепного суглоба (СНЩС), гілок лицевого нерва та привушної слинної залози.

Проте, незважаючи на успішність методу, частота післяопераційних ускладнень залишається високою [3]. Серед них особливе місце посідають запальні реакції м'яких тканин навколо фіксуєчих елементів, що може призводити до екструзії пластин, формування норниць або розвитку металозу [4]. У випадку переломів виросткового відростка такі ускладнення є критичними, оскільки хронічне запалення в періартикулярній ділянці здатне спровокувати фіброзні зміни в суглобовій капсулі та, як наслідок, стійкі контрактури СНЩС [5].

Специфіка остеосинтезу виросткового відростка полягає в тому, що імплантат (пластина) з одного боку контактує з кісткою, а з іншого – має значну площу контакту з рухомими м'якими тканинами (фасціями, латеральним крилоподібним м'язом, суглобовою капсулою). Тому біосумісність поверхні матеріалу має подвійне значення: забезпечення стабільності остеointegraції та, що критично важливо, запобігання патологічній реакції м'яких тканин [6].

Саме фібробласти відіграють ключову роль у формуванні бар'єру між поверхнею імплантату та внутрішнім середовищем організму. Якість адгезії та проліферації цих клітин на поверхні титану визначає швидкість утворення сполучнотканинної капсули [7]. Якщо поверхня матеріалу пригнічує життєдіяльність фібробластів, або не сприяє їхньому прикріпленню, це створює умови для мікрорухливості м'яких тканин відносно пластини, що підтримує хронічне запалення та підвищує ризик бактеріальної колонізації поверхні імплантату [8].

Класичний титановий сплав Ti-6Al-4V (Grade 5) завдяки наявності стабільної оксидної плівки (TiO₂) характеризується високою корозійною стійкістю. Однак, з біологічної точки зору, він є біоінертним, а не біоактивним матеріалом [9]. Сучасні стратегії модифікації поверхонь спрямовані на надання їм специфічних властивостей. Особливий інтерес викликає анатаз – метастабільна кристалічна модифікація діоксиду титану. Доведено, що наноструктуровані покриття у фазі анатазу здатні покращувати змочуваність поверхні (гідрофільність) та адсорбцію білків плазми крові, що є пусковим механізмом для клітинної відповіді [10].

Незважаючи на широке використання титанового сплаву, вплив різних модифікацій його поверхні (зокрема, топографії та кристалічної структури покриттів) на клітини сполучної тканини, які формують капсулу навколо імплантату в цій делікатній зоні, недостатньо вивчені на теперішній час.

Мета дослідження – провести порівняльну оцінку цитотоксичного впливу та біосумісності зразків титанового сплаву Ti-6Al-4V з різними типами модифікації поверхні на культуру шкірних фібробластів людини в умовах *in vitro* для обґрунтування вибору конструкцій при остеосинтезі виросткового відростка.

Матеріали та методи дослідження. Експериментальні дослідження *in vitro* проводились на базі Буковинського державного медичного університету. У роботі використано 20 стерильних дисків з титанового сплаву Ti-6Al-4V (діаметр 5 мм, товщина 1 мм), розподілених на 4 експериментальні групи (n=5 у кожній) та одну контрольну групу:

Група 1 – зразки з полірованою поверхнею вкриті TiO₂ («Gebruder Martin», Aescular, Німеччина).

Група 2 – поверхня після піскоструминної обробки з покриттям TiO₂ («DePuy Synthes», Johnson & Johnson, США-Швейцарія).

Група 3 – полірована поверхня без покриття TiO₂ («Gebruder Martin», Aescular, Німеччина).

Група 4 – поверхня після піскоструминної обробки без покриття TiO₂ («DePuy Synthes», Johnson & Johnson, США-Швейцарія).

Контрольна група – культура фібробластів, що вирощувалась у стандартних умовах на дні лунок культурального пластику без внесення титанових зразків (прийнята за еталон 100% життєздатності).

Перед внесенням у культуру всі зразки проходили цикл автоклавування (121°C, 1 година).

Отримання та культивування клітин. Первинну культуру фібробластів отримано з дермальних біоптатів шкіри передпліччя здорових донорів (0,5 см²). Забір матеріалу проводили з дотриманням принципів біоетики. Тканину відмивали у розчині Хенкса з додаванням антибіотика/антимікотика (Gibco, США), після чого проводили ферментативну дисоціацію: інкубація з розчином диспази (25 од/мл, Gibco) протягом 1 год при 37°C для видалення епідермісу, з подальшою обробкою дерми 0,1% розчином колагенази I типу (Gibco) протягом 1 год.

Отриману клітинну суспензію культивували у середовищі DMEM/F12 (Gibco) з додаванням 10% ембріональної сироватки великої рогатої худоби (FBS), пеніциліну (100 од/мл) та стрептоміцину (100 мкг/мл). Умови інкубації: 37°C, 5% CO₂, вологість 80%. Для експерименту використовували клітини 3–5 пасажів [11].

Оцінка цитотоксичності та морфології. Досліджувані титанові диски поміщали у лунки 48-лункового планшета, на які вносили суспензію фібробластів (2 × 10⁴ клітин/лунку). Культивування тривало 72 години.

Морфологічний контроль здійснювали методом фазово-контрастної мікроскопії [12]. Оцінку життєздатності клітин (цитотоксичності) проводили за допомогою колориметричного МТТ-тесту. Оптичну щільність (OD) вимірювали на спектрофотометрі «Biosan HiPo MPP-96» (Латвія) при довжині хвилі 530 нм.

Розрахунок життєздатності клітин (%) проводили за формулою:

$$\text{Життєздатність (\%)} = \frac{OD_{\text{зразок}} - OD_{\text{blank}}}{OD_{\text{контроль}} - OD_{\text{blank}}} \times 100$$

де OD_{зразок} – значення оптичної щільності у лунках з клітинами, що культивувались у присутності дослідних титанових дисків; OD_{blank} – значення оптичної щільності у «порожніх» лунках,

що містили лише середовище, розчин МТТ і диметилсульфоксид (ДМСО) без клітин (фонове поглинання); $OD_{\text{контроль}}$ – значення оптичної щільності у лунках з клітинами, але без титанових зразків (нативний контроль).

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету MedStatistica 6.0 та MS Excel 2021. Перевірку на нормальність розподілу здійснювали за критерієм Шапіро-Вілка. Для порівняння середніх значень незалежних вибірок використовували t-критерій Стюдента. Критичний рівень значущості приймали за $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Візуальний аналіз методом фазово-контрастної мікроскопії показав, що у всіх експериментальних групах фібробласти зберігали типову веретеноподібну морфологію (рис. 1), аналогічну контрольній групі (культура на пластику).

Важливою знахідкою стала відсутність зони інгібіції росту («мертвої зони») навколо зразків, що свідчить про відсутність виділення високотоксичних сполук матеріалами. Клітини активно контактували з бічними поверхнями дисків, формуючи моношар (рис. 2).

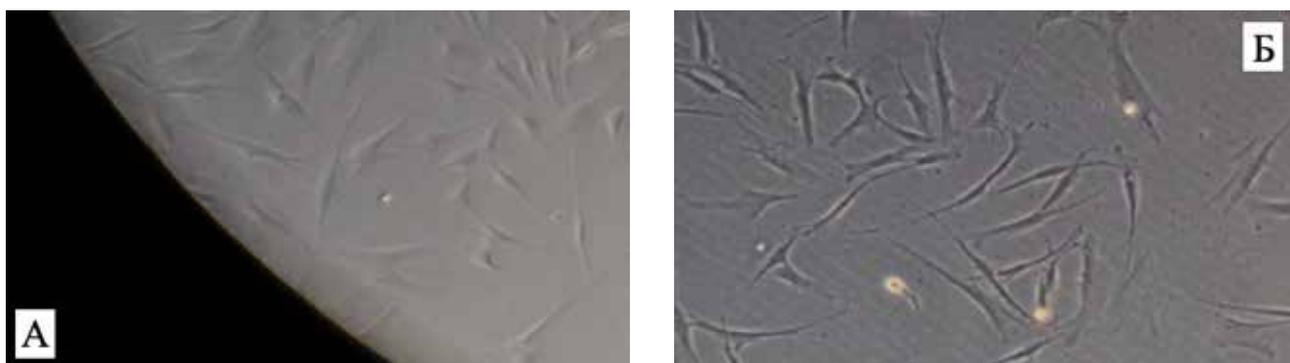


Рис. 1. Фазово-контрастна мікроскопія культур шкірних фібробластів: А – контрольні клітини; Б – клітини, що культивувались у присутності зразка. Збільшення $\times 10$

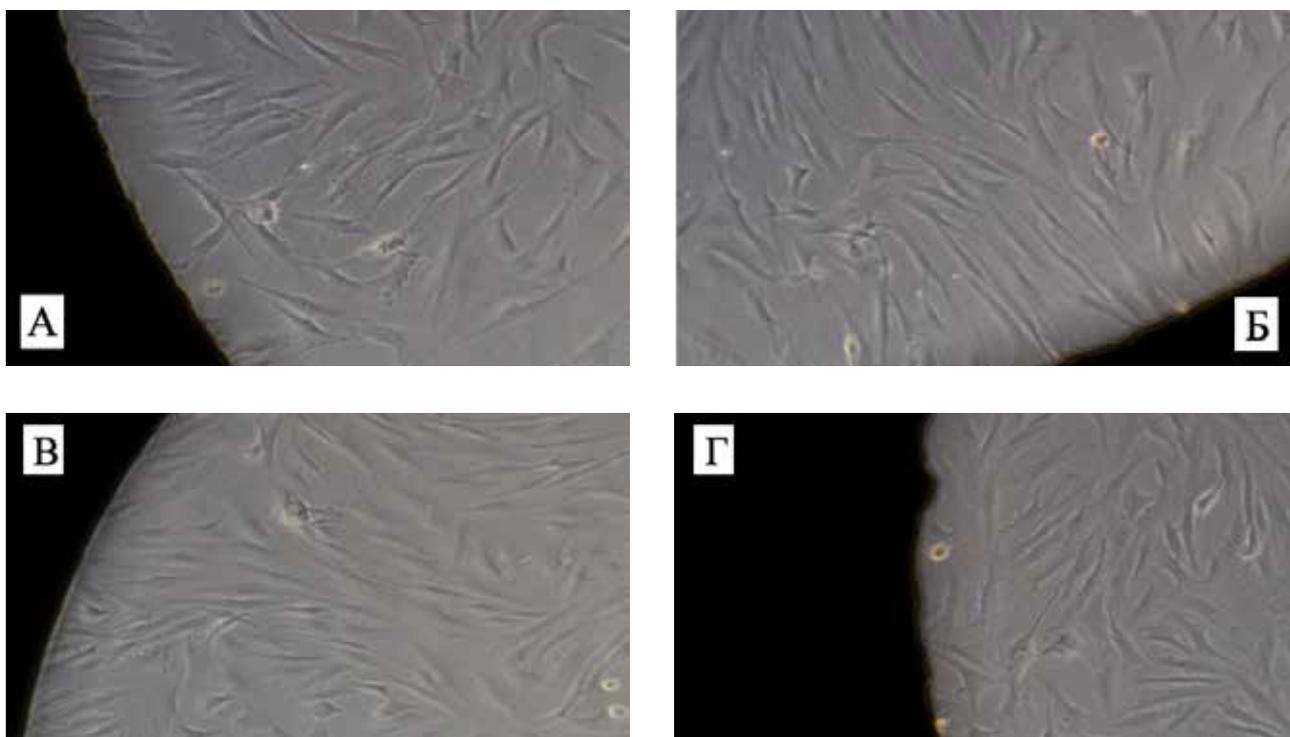


Рис. 2. Фазова-контрастна мікроскопія культур шкірних фібробластів, що культивувались у присутності зразка: А – зразок з поверхнею обробленою піскоструминним методом з покриттям діоксиду титану; Б – зразок з піскоструминною обробкою поверхні без покриття; В – полірований зразок з покриттям діоксиду титану; Д – полірований зразок без покриття. Збільшення $\times 10$

Водночас, для двох типів досліджуваних зразків, які були оброблені піскоструминним методом, з покриттям діоксидом титану та без нього (група 2 та 4), спостерігали злушення мікрочастинок основного матеріалу у культурне середовище (рис. 3), тоді як для зразків з полірованою поверхнею (група 1 та 3) такого явища не спостерігалось.

МТТ-тест (метилтетразолієвий тест) показав (рис. 4), що жоден з використовуваних типів зразків не спричиняє суттєвого цитотоксичного впливу на шкірні фібробласти у культурі. Так встановлено, що найбільша оптична щільність (OD) зразків фібробластів була у контрольних клітин, культивованих без внесення титанових зразків та у присутності конструкцій з відполірованою поверхнею – $0,48 \pm 0,08$ од.



Рис. 3. Фазова-контрастна мікроскопія шкірних фібробластів, що культивувались у присутності зразку обробленого піскоструминним методом. Темні точки на фото – мікрочастинки, злушені з поверхні зразка. Збільшення $\times 10$

опт. щільності, $p > 0,05$. Оптична щільність зразків фібробластів, культивованих у присутності дисків з полірованою поверхнею з покриттям з діоксиду титану та зразків з піскоструминною обробкою поверхні коливалась від $0,47 \pm 0,08$ од. опт. щільності до $0,46 \pm 0,08$ од. опт. щільності, відповідно, $p > 0,05$.

Найнижчим було значення оптичної щільності зразків шкірних фібробластів після їх культивування у конструкціях з піскоструминною обробкою та покриттям з діоксиду титану – $0,45 \pm 0,08$ од. опт. щільності, $p > 0,05$. Водночас, значення OD зразків фібробластів після їх культивування на різних модифікованих поверхнях не відрізнялось статистичною значущістю від значень OD контрольних клітин, що культивувались без зразків, що доводить відсутність значимого цитотоксичного ефекту.

На рисунку 5 життєздатність шкірних фібробластів виражена у відсотках (%) від контролю, тобто значення OD зразків з інтактними клітинами прийняті за 100%.

Встановлено, що самою низькою була життєздатність фібробластів, культивованих на зразках з піскоструминною обробкою поверхні – $94,0 \pm 0,5\%$. Децю вищою була життєздатність клітин, які культивувались у зразках з піскоструминною обробкою поверхні та з покриттям з діоксиду титану – $95,5 \pm 1,10\%$. При цьому, не встановлено вірогідних відмінностей між значеннями вище наведених параметрів, $p > 0,05$. Привертало увагу, що життєздатність фібробластів, які культивувались у присутності відполірованих зразків з покриттям з діоксиду титану та полірованих конструкцій без покриття були вище $98,2 \pm 1,2\%$ та $99,7 \pm 0,5\%$, відповідно. Водночас, не встановлювали вірогідних відмінностей значень параметру,

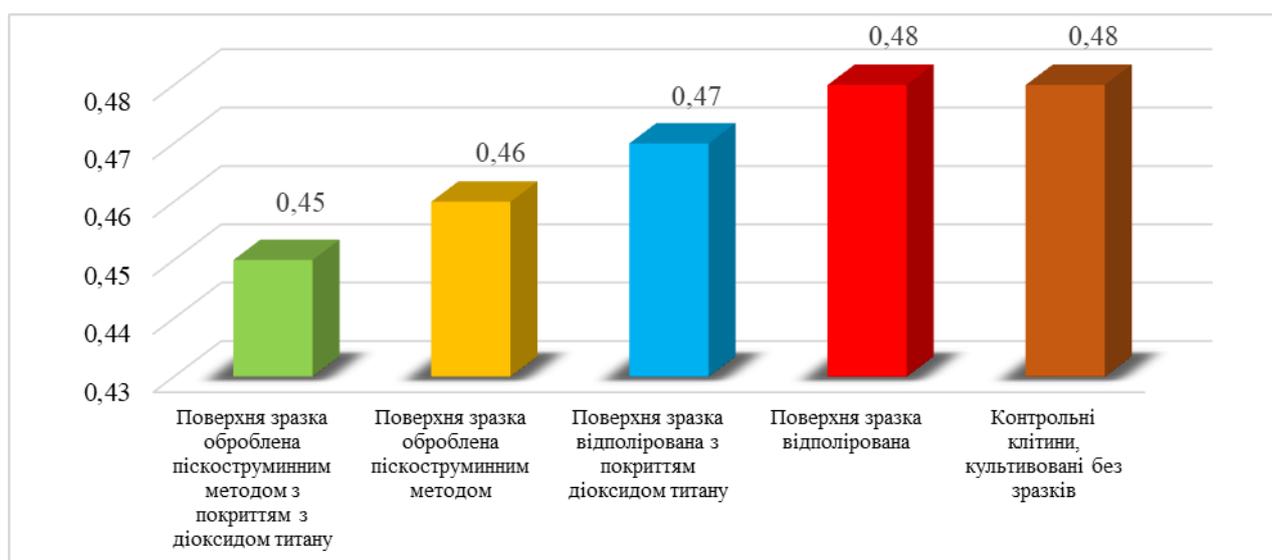


Рис. 4. Значення оптичної щільності зразків шкірних фібробластів у присутності експериментальних дисків

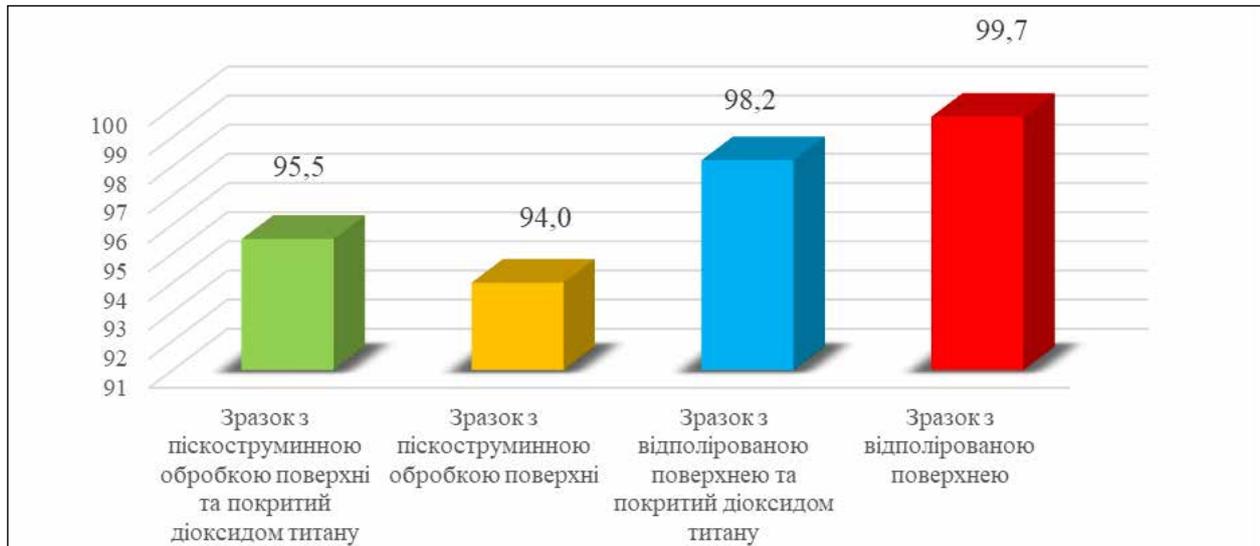


Рис. 5. Значення кількості життєздатності шкірних фібробластів, культивованих у 4 експериментальних зразках

який аналізували між різними групами зразків, $p_1-p_2 > 0,05$, що вказує на достатню життєздатність фібробластів шкіри, незалежно від модифікації поверхні зразків, які вивчали.

Таким чином отримані нами результати дають важливу інформацію для вибору конструкцій при остеосинтезі в ділянці виросткового відростка. Висока життєздатність фібробластів (>94%) у всіх групах свідчить про загальну біобезпеку сплаву Ti-6Al-4V, що відповідає стандартам ISO 10993-5 [13].

Проте виявлені відмінності мають клінічне значення. Особливу увагу привертає факт злучування (емісія) мікрочастинок титану зі зразків, оброблених піскоструминним методом. В умовах субконділярної ділянки, де наявна постійна м'язова активність, наявність вільного дебрису (частинок металу) у м'яких тканинах є небажаною. Це може провокувати хронічне запалення, металоз або формування грубої фібрознаї капсули, що в безпосередній близькості до капсули суглоба може негативно вплинути на біомеханіку нижньої щелепи [14].

Водночас, поліровані зразки, особливо з покриттям TiO₂, продемонстрували найкращу сумісність із фібробластами без ознак руйнування поверхні. Це дозволяє припустити, що для зовнішньої поверхні пластин, яка контактує з м'якими тканинами в ділянці виросткового відростка, оптимальною є саме гладка

(полірована) структура. Вона мінімізує тертя та подразнення фасцій і м'язів під час артикуляції.

Висновки. Отже, в результаті проведеного дослідження вдалося встановити, що усі досліджені зразки титанового сплаву Ti-6Al-4V не виявляють вираженої цитотоксичності до фібробластів шкіри людини *in vitro*, що обґрунтовує можливість їх використання в безпосередньому контакті з м'якими тканинами при остеосинтезі виросткового відростка. Зразки з полірованою поверхнею (з покриттям TiO₂ та без нього) показали найкращі параметри біосумісності (життєздатність клітин >98%), що робить таку обробку пріоритетною для поверхонь, що контактують з періартикулярними тканинами. Піскоструминна обробка поверхні, незважаючи на відсутність прямої цитотоксичності, супроводжується виділенням мікрочастинок матеріалу в середовище, що є потенційним фактором ризику реактивного запалення в функціонально активній зоні СНЩС.

Перспективи подальших досліджень. Подальша наукова робота буде спрямована на вивчення адгезії та проліферації остеобластів на даних зразках для комплексної оцінки остеointегративних властивостей, а також на проведення експериментальних досліджень *in vivo* для аналізу тканинної реакції на мікрочастинки титану.

Список літератури

- Boffano P., Kommers S.C., Karagozoglou K.H., et al. Aetiology of maxillofacial fractures: a review of published studies during the last 30 years. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2014. Vol. 52(10). P. 901–906. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2014.08.007>
- Al-Moraissi E.A., Ellis E. 3rd. Surgical treatment of adult mandibular condylar fractures provides better outcomes than closed treatment: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2015. Vol. 73(3). P. 482–493. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2014.09.027>
- García-Guerrero I., Ramírez J.M., Gómez de Diego R., Martínez-Gonzalez J.M., Poblador M.S., Lancho J.L., et al. Complications in the treatment of mandibular condylar fractures: Surgical versus conservative treatment. *Annals of Anatomy*. 2018. Vol. 216. P. 60–68. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2017.10.007>
- Gilardino M.S., Chen E., Bartlett S.P. Choice of Internal Rigid Fixation Materials in the Treatment of Facial Fractures. *Craniomaxillofacial Trauma & Reconstruction*. 2009. Vol. 2, (1). P. 49–60. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-0029-1202591>
- Anyanechi C.E. Temporomandibular joint ankylosis caused by condylar fractures: a retrospective analysis of cases at a Nigerian teaching hospital. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*. 2015. Vol. 27(5). P. 605–608. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2015.05.003>
- Rompen E., Domken O., Degrange M., Teughels W., Lamy M. The effect of material characteristics, of surface topography and of implant components and connections on soft tissue integration: a literature review. *Clinical Oral Implants Research*. 2006. Vol. 17(2). P. 55–67. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01367.x>
- Choi S.H., Jang Y.S., Jang J.H., Bae T.S., Lee S.J., Lee M.H. Enhanced antibacterial activity of titanium by surface modification with polydopamine and silver for dental implant application. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*. 2019. Vol. 17(3). DOI: <https://doi.org/10.1177/2280800019847067>
- Ravanetti F., Chiesa R., Ossiprandi M.C., Gazza F., Farina V., Martini F.M., et al. Osteogenic response and osteoprotective effects in vivo of a nanostructured titanium surface with antibacterial properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 2016. Vol. 27(3). P. 52. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5661-6>
- Elias C.N., Lima J.H.C., Valiev R., Meyers M.A. Biomedical applications of titanium and its alloys. *JOM*. 2008. Vol. 60(3). P. 46–49. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11837-008-0031-1>
- Li Y., Yang Y., Li R., Tang X., Guo D., Qing Y., Qin Y. Enhanced antibacterial properties of orthopedic implants by titanium nanotube surface modification: a review of current techniques. *International Journal of Nanomedicine*. 2019. Vol. 14. P. 7217–7236. DOI: <https://doi.org/10.2147/IJN.S216175>
- Freshney R.I. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique and Specialized Applications. 7th ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell, 2016. 746
- Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*. 1983. Vol. 65(1-2). P. 55–63. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- ISO 10993-5:2009. Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. – Geneva: ISO, 2009.
- Frissen K.W., Dandie G.W., Lugowski S., Jordan G. A study of titanium release into body organs following the insertion of single threaded screw implants into the mandibles of sheep. *Australian Dental Journal*. 2002. Vol. 47(3). P. 214–217. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2002.tb00331.x>

References

- Boffano, P., Kommers, S. C., Karagozoglou, K. H., & Forouzanfar, T. (2014). Aetiology of maxillofacial fractures: A review of published studies during the last 30 years. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 52(10), 901–906. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2014.08.007>
- Al-Moraissi, E. A., & Ellis, E., 3rd. (2015). Surgical treatment of adult mandibular condylar fractures provides better outcomes than closed treatment: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 73(3), 482–493. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2014.09.027>
- García-Guerrero, I., Ramírez, J. M., Gómez de Diego, R., Martínez-Gonzalez, J. M., Poblador, M. S., & Lancho, J. L. (2018). Complications in the treatment of mandibular condylar fractures: Surgical versus conservative treatment. *Annals of Anatomy*, 216, 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2017.10.007>
- Gilardino, M. S., Chen, E., & Bartlett, S. P. (2009). Choice of internal rigid fixation materials in the treatment of facial fractures. *Craniomaxillofacial Trauma & Reconstruction*, 2(1), 49–60. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1202591>
- Anyanechi, C. E. (2015). Temporomandibular joint ankylosis caused by condylar fractures: A retrospective analysis of cases at a Nigerian teaching hospital. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery, Medicine, and Pathology*, 27(5), 605–608. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2015.05.003>
- Rompen, E., Domken, O., Degrange, M., Teughels, W., & Lamy, M. (2006). The effect of material characteristics, of surface topography and of implant components and connections on soft tissue integration: A literature review. *Clinical Oral Implants Research*, 17(S2), 55–67. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2006.01367.x>
- Choi, S.-H., Jang, Y.-S., Jang, J.-H., Bae, T.-S., Lee, S.-J., & Lee, M.-H. (2019). Enhanced antibacterial activity of titanium by surface modification with polydopamine and silver for dental implant application. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 17(3). <https://doi.org/10.1177/2280800019847067>
- Ravanetti, F., Chiesa, R., Ossiprandi, M. C., Gazza, F., Farina, V., Martini, F. M., Di Lecce, R., Gnudi, G., Della Valle, C., Gavini, J., & Cacchioli, A. (2016). Osteogenic response and osteoprotective effects in vivo of a nanostructured titanium surface with antibacterial properties. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 27(3), 52. <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5661-6>
- Elias, C. N., Lima, J. H. C., Valiev, R., & Meyers, M. A. (2008). Biomedical applications of titanium and its alloys. *JOM*, 60(3), 46–49. <https://doi.org/10.1007/s11837-008-0031-1>

10. Li, Y., Yang, Y., Li, R., Tang, X., Guo, D., Qing, Y., & Qin, Y. (2019). Enhanced antibacterial properties of orthopedic implants by titanium nanotube surface modification: A review of current techniques. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 7217–7236. <https://doi.org/10.2147/IJN.S216175>
11. Freshney, R. I. (2016). *Culture of animal cells: A manual of basic technique and specialized applications* (7th ed.). Wiley-Blackwell.
12. Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1–2), 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
13. International Organization for Standardization. (2009). *Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity* (ISO Standard №. 10993-5:2009).
14. Frisken, K. W., Dandie, G. W., Lugowski, S., & Jordan, G. (2002). A study of titanium release into body organs following the insertion of single threaded screw implants into the mandibles of sheep. *Australian Dental Journal*, 47(3), 214–217. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2002.tb00331.x>