

Aus dem Universitätsklinikum Münster

Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie

-Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. U. Joos-

Primärkongruenz und Knochenzellverhalten an der

Grenzfläche

von sofortbelastbaren Implantaten

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentinum

der medizinischen Fakultät

der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

vorgelegt von

Yanik, Baris

aus Marl

2006

Gedruckt mit der Genehmigung der medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. H. Jürgens

1. Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. Hans Peter Wiesmann

2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Dr. Ulrich Meyer

Tag der mündlichen Prüfung: 31.03.2006

Für Papa (+ 25.12.1992)

Aus dem Univeritätsklinikum Münster
Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. U. Joos-
Referent: Priv.-Doz. Dr. Hans Peter Wiesmann
Koreferent:: Univ.-Prof. Dr. Dr. Ulrich Meyer

ZUSAMMENFASSUNG

Primärkongruenz und Knochenzellverhalten an der Grenzfläche
von sofortbelastbaren Implantaten

Baris Yanik

Die Behandlung von Patienten mit sofort- oder frühbelasteten Implantaten hat das Interesse an dem Verhalten des umgebenden Gewebes an der Implantatgrenzfläche unter Belastung neu geweckt. Ein neu entwickeltes Implantatsystem, bestimmt für die Sofortbelastung, wurde im Tierversuch (genehmigt durch die Bezirksregierung Münster mit dem Aktenzeichen G90/99 vom 3. Januar 2000) getestet, um die frühe Gewebereaktion unter Belastung zu determinieren. In dieser Studie wurden 32 Implantate in den Unterkiefer von Göttinger Minischweinen inseriert. Die Hälfte der Implantate (n=16) wurde sofort okklusal belastet, die andere Hälfte wurde in eine nicht- okklusale Relation gesetzt. Jeweils zwei Tiere wurden am 1., 3., 14., 21. und 28. Tag nach der Sofortbelastung getötet und die Unterkiefer für die verschiedenen Untersuchungen aufgearbeitet. Histologische und ultrastrukturelle Untersuchungen zeigten eine enge Kongruenz von Knochen und Implantatoberfläche, die vom ersten Tag der Implantatinserion an zu finden war. Die Phänotypie der adhärenenten Osteoblasten war unabhängig von der Applikation okklusaler und nicht-okklusaler Belastungen. Es zeigten sich auf zellulärer und anorganischer Seite keine Unterschiede im Gewebeverhalten zwischen crestalen und apikalen Implantatbereichen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine Sofortbelastung von speziell entwickelten Implantaten ohne Ablösung der Knochen/Implantatgrenzschicht oder Störung der Osteoblastenphysiologie erfolgen kann.

Tag der mündlichen Prüfung: 31.03.2006

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	8
1.1 Die historische Genese der Zahnimplantate.....	8
1.2 Bedingungen an Zahnimplantate.....	9
1.3 Implantatmaterial.....	10
1.4 Implantatformen.....	10
1.5 Wichtige Implantatsysteme und deren Konstruktionsprinzip.....	11
1.5.1 Bränemark-Implantat.....	11
1.5.2 Frialit-2.....	12
1.5.3 ITI-System.....	12
1.5.4 Ankylos-Implantat.....	13
1.6 Implantateinheilung.....	15
1.6.1 Ultrastrukturelle Gesichtspunkte der Implantateinheilung.....	15
1.6.2 Matrixproteine.....	17
1.7 Zielsetzung.....	18
2. Material	19
2.1 Das Implantat.....	19
2.2 Die Versuchstiere.....	19
2.3 Verwendete Geräte.....	22
2.4 Verwendete Narkotika und Anästhetika.....	23
2.5 Verbrauchsmaterialien.....	23
2.6 Verwendete Chemikalien.....	24

3. Angewandte Methoden.....	25
3.1 Anästhesieverfahren.....	25
3.2 Operatives Vorgehen.....	26
3.3 Das Implantationsprotokoll.....	28
3.4 Postoperative Versorgung der Versuchstiere.....	28
3.5 Probengewinnung.....	29
3.6 Probenfixierung.....	30
3.7 Histologische Untersuchungsmethoden.....	31
3.8 Das Immunogold-Labeling.....	32
4. Ergebnisse.....	33
5. Diskussion.....	38
6. Zusammenfassung.....	46
7. Summary.....	47
8. Verzeichnis der Abbildungen.....	48
9. Literaturverzeichnis.....	49
10. Abkürzungen.....	66
11. Danksagungen.....	67
12. Lebenslauf.....	68
13. Genehmigungsbescheid.....	69

1. Einleitung

1.1 Historische Genese der Zahnimplantate

Der Wunsch verloren gegangene Zähne zu ersetzen ist so alt wie die Menschheit selbst. Von den Ägyptern weiß man, dass sie Zahnelemente aus Knochen und Elfenbein mit Golddrähten befestigt und diese in die Zahnlücken gesetzt und somit ersetzt haben.

Südamerikanische Hochkulturen wie Majas und Inkas gingen einen Schritt weiter und hämmerten unmittelbar nach der Zahnentfernung wurzelförmige Implantate aus Halbedelsteinen ins Zahnfach. Dieser Vorgehensweise folgten auch die Araber, welche zumeist aus Ochsenknochen geschnitzte Implantate in die leeren Alveolen gepresst und mit Rosshaaren und Silberdrähten befestigten. Die Versuche, verloren gegangene Zähne durch homöo- oder alloplastisches Material zu ersetzen, gehen nach *Marziani*¹ (1955) bis in die präkolumbianische Zeit (vor 1492) zurück. Die große Anzahl der Misserfolge auf diesem Gebiet im 19. Jahrhundert ließ die Implantologie aber vorerst wieder in den Hintergrund treten.

Erst vor ca. 190 Jahren experimentierten Forscher^{2,3} mit Kunstzähnen, die in Wurzelform gegossen oder geschnitzt wurden. Es wurde Gold, Silber, Platin, Aluminium, Kupfer, Porzellan, Elfenbein und Kautschuk verwendet – jedoch ohne nennenswerten Erfolg. Es dauerte bis 1909, ehe das erste zweiteilige Implantat aus einer Iridium-Platin-Legierung von *Greenfield*⁴ zum Einsatz kam. Er verwendete hohle Implantatpfosten und befürwortete Einheilphasen von mehreren Wochen, ehe es mit einer Zahnkrone versehen werden konnte. 1939 arbeitete *Strock*⁵ zum ersten Mal mit Formen nach Art einer Holzschraube aus Chrom-Kobalt-Molybdän-Legierung (Vitallium). Diese setzte er in frische oder chirurgisch geschaffene Alveolen ein wie auch *Formigini*⁶ (1958) und leiteten damit den Beginn der heutigen enossalen Implantologie ein. Vielfach wird der Italiener *Formigini*⁶ als Gründervater genannt, der Heliokoidalschrauben aus Tantal verwendete. Danach folgten *Cherchève*⁷ (1962) mit einer Doppelhelix-

hohlschraube, *Scialom*⁸ (1962) mit seinen Tantalnadeln und *Tramonte*⁹ (1965) mit einer selbstschneidenden Implantatschraube.

Im Jahr 1940 wies man nach, dass sich Knochen an Titan anlagern, ein Befund, der in den sechziger und siebziger Jahren durch zahlreiche tierexperimentellen Studien, hauptsächlich von *Brånemark*¹⁰, bestätigt wurde. Dieses Phänomen bezeichnet man seither als Osseointegration.

Es handelt sich hier um ein Qualitätskriterium für den Erfolg eines Implantatsystems schlechthin. Somit stellen schraubenförmige Implantate aus Titan in ihren vielfältigen Formen den implantologischen Standard dar, an dem alle anderen neuen erfundenen Systeme gemessen werden.

1.2 Bedingungen an Zahnimplantate

Nach *Brånemark*¹¹ muss lebendes Knochengewebe mit der belasteten Implantatoberfläche ohne dazwischenliegendes Bindegewebe in Kontakt stehen. Diese Definition des Begriffes „Osseointegration“ ist das Fundament für die moderne Entwicklung der dentalen Implantate. Ein optimaler Heilungserfolg, so *Jacobsson*¹² ist abhängig von der Biokompatibilität des Implantatmaterials, der makro- und mikroskopischen Struktur der Implantatoberfläche, den Bedingungen im Implantatbett, einer minimal traumatisierenden Chirurgie, einem belastungsfreien Heilungsprozess und der Gestaltung der Prothese und der Langzeitbelastung. Die äquate Osseointegration ist abhängig von der Knochenheilung. Während der primären Knochenheilung wird durch stabile Fixierung ein Einwachsen von Gefäßen und mesenchymalen Zellen in den interfragmentären Spalt begünstigt. Ohne intermediäre Form eines Zwischenprodukts aus Bindegewebe oder Faserknorpel wird der Spalt mit Knochen gefüllt ohne initiale Resorption durch Osteoklasten. Die Knochenapposition tritt hier in den Vordergrund und nicht der Knochenersatz. Bereiche kleiner als 1mm werden nach *Schenk*¹³ (1987) langsam und schrittweise mittels Geflechtknochen überbrückt. Bei der sekundären Ossifikation zeichnet sich durch Differenzierung eines Zwischengewebes aus, welches durch langsamen

Umbau in Knochen im Rahmen einer ossären und endochondralen Ossifikation umgewandelt wird. Da letztere jedoch Monate, ja sogar Jahre dauern kann, ist sie daher für die Implantatheilung völlig ungeeignet.^{14,15}

1.3 Implantatmaterial

Der Einsatz von Titan, d.h. Reintitan mit einem Eisengehalt von max. 0,5% (meist jedoch unter 0,1%) ist in der modernen Implantologie obligat. Unter Verwendung von zylindrischen Gewindeimplantaten aus Reintitan entstand das klassische Protokoll der Osseointegration. *Adell et al.*¹⁶ konnte 1990 mit klinischen Langzeitergebnissen belegen, dass Titan sich besonders für Zahnimplantate eigne. Titan wird erfolgreich als enossales Implantat und Biomaterial eingesetzt. Seine besondere Eigenschaft ist das Bilden einer stabilen Oxidschicht bei Kontakt mit Luft und Gewebsflüssigkeiten, was zur Korrosionsverminderung führt. Wegen seiner geringen Dichte wird es zumeist mit Aluminium (Verstärkung bei paralleler Gewichtsverringerung) und Vanadium (Korrosionsschutz) legiert. Die Erhöhung der mechanischen Stabilisierung der Oberflächeneigenschaften mittels Titannitrit-Beschichtung steht in Diskussion. Die heutige Fokussierung liegt derweil auf Reintitan Implantaten mit unterschiedlichen Oberflächenstrukturen.

1.4 Implantatformen

Zu den momentan gängigsten Formen zählen zunächst die rotationssymmetrischen Formen, d.h. zylindrische und schraubenförmige, als auch blattförmige Implantate, welche auch als Extensionsimplantate bezeichnet werden. Die schraubenförmigen Implantate sind in ihrer Form der Zahnwurzel nachempfunden und erreichen durch passgenaue Lageaufbereitung mit rotierenden Instrumenten durch unterschiedlich geformte selbstschneidende oder vorgeschchnittene Gewindegänge ihre primäre Stabilität, während die zylindrischen Implantate durch Klemmpassung in einem diskret unterdimensioniert präparierten Lager fixiert werden. Eine angestrebte dauerhafte Osseointegration kann jedoch

nur erzielt werden, wenn das Lastverteilungsmuster unter funktioneller Belastung optimal ist. Eine weitere Studie¹⁷ beweist 1989 mittels spannungsanalytischer Überlegungen, dass das Implantatdesign von wesentlicher Bedeutung ist. Als optimal erreichbarer Integrationstyp hat sich der direkte Implantat-Knochenkontakt unter funktioneller Belastung bewährt.

Die Lagerpräparation zur Verringerung der Distanz zwischen Implantat und Knochen, Verwendung eines biokompatiblen Materials, Vermeidung von Relativbewegungen zur Gewährleistung einer hohen Primärstabilität und der Erhalt der Knochenanlagerung für eine optimale Kraffteinteilung Sekundärstabilität. Druckreduktion und Vermeidung von Druckspitzen wird durch eine möglichst große Oberfläche gewährleistet, denn die Druck-Zug-Transformation der parodontalen Aufhängung fehlt dem enossalen Implantat.

Nach *Bossler*¹⁸ (1981) werden durch eine abgerundete Implantatspitze und abgerundete Gewindegrade Spannungskonzentrationen weitestgehend vermieden und eine axiale Belastung wird nicht punktförmig auf das Implantatlager übertragen, sondern über den gesamten Spitzenbereich verteilt, was zusätzlich durch die Optimierung des Konuswinkels verstärkt wurde.

Negative Abscherspannungen werden minimiert, indem das Implantat keine beanspruchungsarmen oder gar –freien Lagerzonen aufweist, womit die gesamte Oberfläche des Gewindeganges an der Kraftübertragung teilnimmt.

1.5 Wichtige Implantatsysteme und deren Konstruktionsprinzip

Es existiert eine Vielzahl von Implantatsystemen, so dass hier nur auszugsweise die gängigsten vorgestellt werden können.

1.5.1 Bränemark-Implantat

Die Implantate von Bränemark gelten heute weltweit als das bestuntersuchtete Schraubenimplantat. Aufgrund hoher Primärstabilität auch bei geringem

Restknochenangebot, lässt sich das Implantat auch zu Fixierung von Osteoplastiken nutzen. Unerwünscht ist jedoch die relativ geringe Rotationsstabilität. Besonders problematisch gestaltet es sich, wenn die einzige Rotationssicherung des glatten und unbeschichteten Schraubenimplantats (s. hierzu auch Abb.2, S.14) im enossalen Teil der Spitze des Implantats im Augmentat des Kieferhöhlenbodens befindet.

1.5.2 Frialit-2

Das Produkt konsequenter Weiterentwicklung des von Schulte und Heimke entwickelten Tübinger Sofortimplantats versteckt sich hinter dem Namen Frialit-2-System. Das charakteristische Design des Stufenzylinders aus polykristalliner Aluminiumoxid-Keramik ist in 2 differenten Oberflächenmodifikationen (Titan- oder Apatitbeschichtung) erhältlich. Die Weiterentwicklung hat nun den Typus der so genannten Stufenschraube geschaffen, die mit selbstschneidenden Gewindegängen eine rotationsgesicherte Aufbaumöglichkeit bietet, die vorgefertigte Implantatteile und einen hohen Grad an Anpassung an die jeweilige Situation erlaubt (s.Abb.1, S.13)

1.5.3 ITI-System

Zu den großen Standardimplantatsystemen zählt auch das von Schroeder und Sutter eigentlich als transgingival einheilender Hohlzylinder mit rauer Oberfläche entwickelte System. Grundlegendes Entwicklungsziel hier war die transgingivale Einheilung und die Oberflächenvergrößerung durch Aufrauen mittels TPF-Beschichtung. Die Konstruktion gewährleistet einen möglichst geringen Knochendefekt bei gleichzeitig maximaler Oberfläche zur Kraftübertragung. Das ITI-Bonefit-System enthält drei verschiedene Grundimplantattypen: Hohlzylinder-, Hohlschrauben- und Kompaktschraubenimplantat (s. Abb2, S.14)

1.5.4 Ankylos Implantat

Nentwig und Moser kreierten ein ablativ-raues Titanschraubenimplantat mit strukturierter Oberfläche. Das Kreisbogenprofil bietet in der Spongiosa nach apikal nicht nur vertikalen, sondern auch horizontalen Kraftvektoren eine maximale Übertragungsfläche. Die Reduktion von belastungsbedingten Einbrüchen im Kortikalisbereich gewährleistet ein polierter zervikaler Bereich von 2mm, der einer kraftschlüssigen Verzahnung mit der Kortikalis entgegenarbeitet. Zur Fixierung der Suprastruktur wird das Konusprinzip angewandt, das durch zusätzliche thermische Verspannung eine mechanische Dauer- und Rotationsstabilität erzielt.



Abbildung 1. Frialit-2: FRIOS

Von links nach rechts:

Titanbeschichtung,
Apatitbeschichtung,
Tiefenstrukturierung

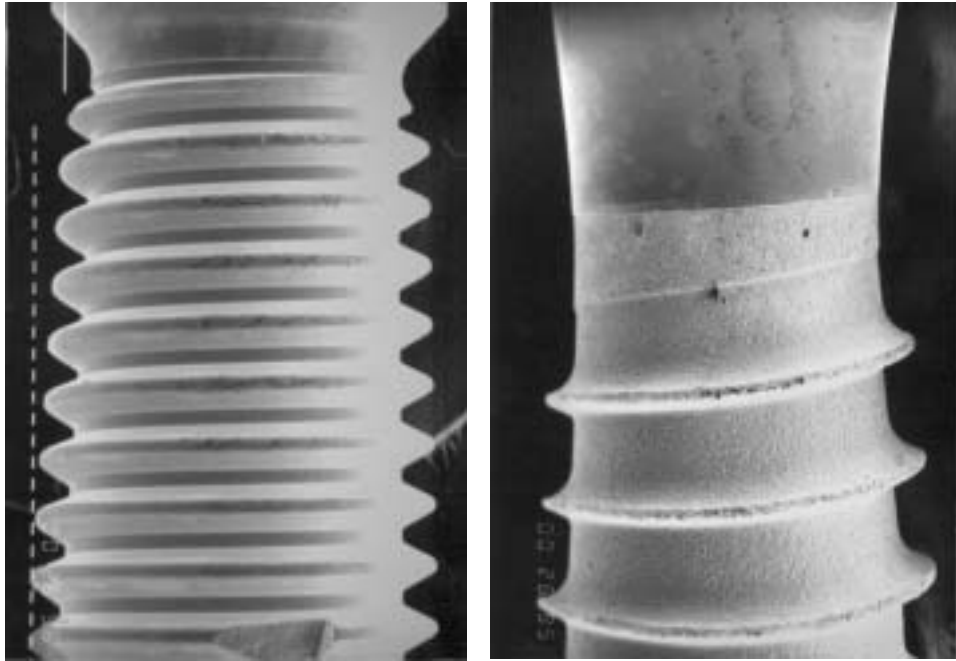


Abbildung 2. Implantatsysteme nach Brånemark und ITI Benefit

Im linken Bild ist das zylindrische Implantatsystem nach Brånemark dargestellt. Es zeichnet sich durch eine glatte und nicht beschichtete Oberfläche aus. Im rechten Bild sehen wir ein ITI Benefit Implantat, das im Vergleich zu Brånemarks deutlich schlanker und beschichtet ist.

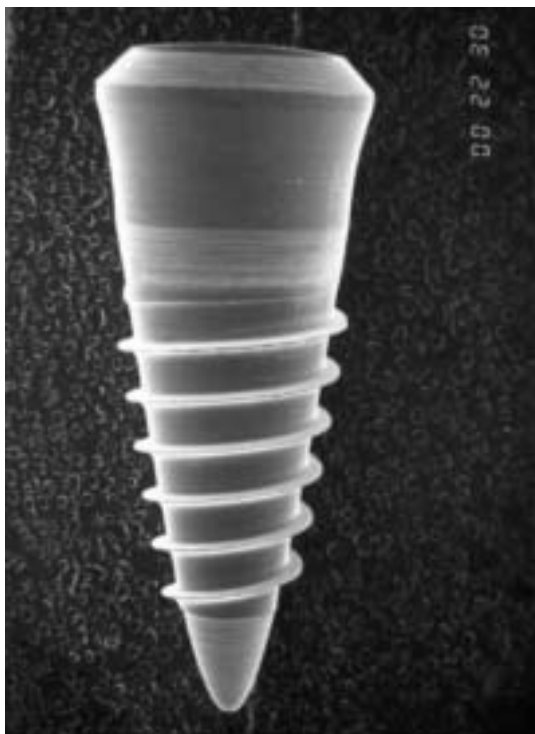


Abbildung 3. Verwendetes Implantat der Studie

Eine aus Reintitan hergestellte konische Implantatschraube wird in dieser Versuchsreihe getestet. Die Oberfläche des Implantats wurde an der Implantatschulter und an der Implantatspitze mit Mikrorillen einer Tiefe von 20 µm und einer Breite von 40µm versehen, um einen optimierten Osteoblasteneinwuchs zu garantieren.

1.6 Implantateinheilung

Die günstigste realisierbare Einheilungsform bei enossalen Implantaten ist der funktionell belastbare, unmittelbare Implantat-Knochenkontakt. Einige Autoren empfehlen hier zur Erreichung der Osseointegration eine Entlastung oder eine zumindest subkritische Belastung analog der allgemeinen Frakturheilung^{19,20}. Der Zeitpunkt der funktionellen Belastung ist abhängig von der zu erwartenden Knochenregeneration, die zu einer belastungsfähigen Osseointegration führen soll. Eine bewährte Einheilungszeit für den Unterkiefer liegt bei ca. 3 Monaten, bei sehr spongiösen Knochenarealen sollte aber auch bis zu 6 Monate abgewartet werden. Für den eher spongiösen Oberkiefer empfiehlt es sich eine Mindestzeit von 4 Monaten zumeist aber 6 Monate abzuwarten^{11,21}. Die Reevaluierung des Protokolls nach Brånemark und die Verkürzung von Einheilzeiten gewinnt in der dentalen Implantologie zunehmend an Bedeutung.

1.6.1 Ultrastrukturelle Gesichtspunkte der Implantateinheilung

Die Osseointegration ist charakterisiert durch einen lebenslangen Prozess von Knochenbildung und Knochenadaptation. Ähnlich den Vorgängen der allgemeinen Wundheilung nach Masuda²³ oder der primären Knochenheilung^{22,23} läuft nach der Hämostase unter Bildung eines Fibringerinnsels die Fibrinolyse mit der angiogenetisch unterstützten Formation eines losen Bindegewebes ab. Das sich der Neovaskularisation anschließende Osteoblastenrekrutment von Stammzellen aus dem Knochenmark aktiviert die Mesenchymzellen aus dem Gefäßbindegewebe^{24,25,26}. Unbestritten ist zudem der Einfluss von begrenzten Entzündungsreaktion, vermittelt durch Mediatoren wie Interleukine, Eikosanoide und Chemokine, auf die Knochenbildung²⁷. Die weitere Osteogenese vollzieht sich über die Zwischenstufen des Rekrutments, der Proliferation und die Differenzierung der Osteoblastenzellen^{23,26}. Die von differenzierten Osteoblasten sezernierte Matrix trägt zur Mineralisation bei, die eine unorganisierte Knochenmasse, den Geflechtknochen, entstehen lässt. Das Remodeling wandelt

letztlich den Geflechtknochen in Lamellenknochen um. Wichtige Begriffe im Zusammenhang mit der Knochenbildung an Implantaten sind die Osteokonduktion, Osteogenese, Osteoinduktion und Osteopromotion.

Die Osteokonduktion beschreibt die Oberflächeneigenschaft, Knochenbildung zu induzieren mittels „osseosympathischer“ Oberflächenstrukturen die zur fibringestützten Adhäsion nach *Davies*²⁸ von osteogenetischen Zellen führen. Weitere Adäsivproteine halten zum Einen die osteogenetischen Zellen an der Oberfläche, zum Anderen regulieren sie auch ein Attachment der Osteoblasten^{24,29}.

Die Osteogenese kennzeichnet die Stimulierung der Proliferation von Osteoprogenitorzellen und der biosynthetischen Aktivität der Osteoblasten. Ein weiterer Stimulus geht zudem noch von einer Reihe an Wachstumsfaktoren aus^{30,31}. der chirurgische Eingriff als solcher stellt schon einen Reiz für das Rekrutment von Osteoblasten dar.

Die Osteoinduktion steht für das Rekrutment von mesenchymalen Stammzellen, die sich zu Osteoblasten differenzieren. Die Implantatoberfläche ist nicht osteoinduktiv.

Die Osteopromotion steht für die Steuerung der Knochenbildung in bestimmten Arealen, die durch die Anwendung von Membranen bei der guided bone regeneration (GBR, gesteuerte Knochenregeneration) erreicht wird (*Hämmerle*)³². Für die Knochenbildung entscheidend ist die Osteoblastenaktivität. Der Osteoblast entsteht aus mesenchymalen Stammzellen und differenziert terminal zum Osteozyten. Osteoblasten regulieren die Mineralisation der Matrix und synthetisieren sie aus Kollagen Typ I und knochenspezifischen Proteinen. Zudem agieren sie als autokrine Regulationszellen, die Wachstumsfaktoren synthetisieren und in den Knochen einbauen. Ebenso vermitteln sie die systemischen und physikalischen Signale, die das Rekrutment von Osteoklasten einleiten, welches wichtige Faktoren beim Remodelling und Repair sind.³³

1.6.2 Matrixproteine

Die Matrixproteine sind verantwortlich für das Attachment, Spreading, Adhäsion, Migration und die Synthese der extrazellulären Matrix und sind charakterisiert durch eine spezifische RGD Sequenz (Arginin-Glycin-Asparaginsäure), die als Bindungsstellen für Integrine und Rezeptoren dienen³⁴. Eine große Familie von Adhäsionsmolekülen, die hauptsächlich als Rezeptoren für Matrixproteine dienen, sind die transmembranständigen Integrine (Cell-Surface-Rezeptoren)³⁵. Es sind Heterodimere, die aus je einer α - und einer β -Untereinheit bestehen, die nicht kovalent untereinander gebunden sind.

Integrine binden ihre Liganden mit einer relativ geringen Affinität, jedoch ist die Avidität der Integrine streng reguliert³⁶. Sie können Wechselwirkungen zwischen der ECM und dem Aktin des Zytoskeletts in beide Richtungen vermitteln („in-side-out“ und „out-side-in“), sind abhängig von der Präsenz zweiwertiger Ionen und dienen als Signalüberträger (*Faull*³⁷, *Dedhar*³⁸, *Calderwood*³⁹).

Ein wichtiges Matrixprotein ist das Fibronectin. Es bindet Kollagen, Fibrin und Heparin und mittels Integrine sogar Zellen wie mesenchymale Stammzellen (MSC)²⁹. Dies fördert den Prozess der Differenzierung von Osteoblasten^{40,41}. Durch das Anhaften an einer alloplastischen Oberfläche beeinflusst Fibronectin die Zell/Zell- und die Zell/Oberflächen-Adhäsion^{34,42}. *Davies et al.*²⁴ und *Thomas et al.*⁴⁴ sprechen sich hingegen dafür aus, dass Fibronectin primär für die Zell/Zell-Adhäsion verantwortlich sei und sekundär für die Adhäsion an alloplastischen Oberflächen^{24,44}.

Das extrazelluläre, calciumbindende Protein BM-40 (SPARC, Osteonectin) wurde erstmals von *Termine et al.*⁴⁵ als eines der wichtigsten, nicht-kollagenen Proteine in bovinem und humanem Knochen beschrieben und mit Osteonectin bezeichnet. Im weiteren Verlauf stellte sich heraus, dass dieses Protein mit SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteines), einem Protein, das von Endothelzellen und Fibroblasten sekretiert wird⁴⁶, und BM-40, einem aus dem Basalmembran produzierenden Engelbreth-Holm-Swarm-Tumor (EHS-Tumor) isolierten Protein⁴⁷,

identisch ist⁴⁸. Osteonectin bindet an Hydroxylapatit⁴⁹ sowie an Kollagene vom Typ I⁴⁵, Typ II und III⁵⁰, Typ IV⁵¹ sowie Typ V⁴⁶. Interessanterweise beobachtet man bei Kollagen I-defizienten Mäusen einen verschlechterten Einbau von Osteonectin in die extrazelluläre Matrix⁵². Die Kollagenbindungsstelle befindet sich in der EC-Domäne und konnte wie bereits erwähnt durch gezielte Mutagenese und Röntgenstrukturanalyse lokalisiert werden.⁵³

1.7 Zielsetzung

Eine große Anzahl von Untersuchungen beschreibt die konventionelle Osseointegration von Implantaten nach der Einheilungsphase. Es hat sich gezeigt, dass die Einheilung, ob bindegewebig oder knöchern, nicht vom Biomaterial allein, sondern von der biomechanischen Stabilität in der Einheilphase abhängig ist. Entscheidende Faktoren hierbei sind die Knochendichte des Implantatlagers, das Implantatdesign, die Mikromorphologie der Implantatoberfläche und die Kongruenz zwischen Implantat und Knochen.

Ziel dieser Studie war es, eine Implantatform zu entwickeln, die eine Primärkongruenz und eine optimierte Belastungsverteilung an der Oberfläche mittels einer Finite Element Analyse (FEM). Es hat sich nach mehreren experimentellen Untersuchungen herausgestellt, dass nicht die Sofortbelastung als ausschlaggebende Größe, sondern das Ausmaß an Mikrobewegungen im Interface zwischen Implantat und Knochen in der Einheilphase die verantwortliche Größe ist. Aus dieser Überlegung heraus hängt die Osseointegration von knöchernen Dehnungseffekten ab, den Mikrobewegungen in der Belastungszone, gemessen in der Einheit Strain.

Schwerpunkt der Untersuchung war die initiale Gewebereaktion an der Grenzfläche, vor allem die Primärkongruenz und Osteoblastenreaktion unter Sofortbelastung histologisch zu evaluieren.

2. Material

2.1 Das Implantat

In dieser Tierexperimentellen Studie wurden neue, aus Reintitan hergestellte, konische Implantatschrauben (Medartis, Basel, Schweiz) von einer Länge von 10mm und einem Durchmesser von 4,1 mm an der Implantatschulter untersucht. Die optimale Implantatform wurde mit Hilfe einer Finiten Element Methode (FEM, englisch: finite element method) berechnet. Die Finite-Elemente-Methode ist das am häufigsten eingesetzte Verfahren zur Berechnung komplexer Konstruktionen im Maschinenbau, im Apparatebau, in der Fahrzeugtechnik oder im Luft- und Raumfahrttechnikwesen.

Der Einsatz erfolgt dabei nicht nur für Standardprobleme der Festigkeitsberechnung und der Schwingungs- und Stabilitätsuntersuchung, sondern auch für Spezialaufgaben, wie z.B. für Aufgaben der Bruch- und Kontaktmechanik oder bei extrem großen Deformationen und plastischen Beanspruchungen. Die mittels FEM errechnete Implantatform gewährleistet unter physiologischer Belastung (1500-3000 μ strains) eine homogene Stress- und Strainverteilung auf der Implantatoberfläche. Ferner wurden die Oberflächen der Implantate an der Implantatschulter und an der Implantatspitze mit Mikrorillen einer Tiefe von 20 μ m und einer Breite von 40 μ m versehen, um einen optimierten Osteoblasteneinwuchs zu garantieren. Die Grenzbedingungen waren eine vertikale Last von 300 nm bei normaler Knochendichte und direktem Implantat-Knochenkontakt.

2.2 Die Versuchstiere

Als Tiermodell dienten acht männliche *Göttinger* Minipigs im Alter von 14 bis 16 Monaten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 35 kg. Alle Tiere wurden im Zeitraum von August 2001 bis Januar 2002 im Tierstall der Westfälischen Wilhelms-Universität betreut und unter vergleichbaren Bedingungen in Einzelboxen gehalten. Die Minischweine als Versuchstiere erwiesen sich in

früheren Implantatstudien als erfolgreiches Modell. Genehmigt wurde die experimentelle Studie am 3. Januar 2000 durch die Ethikkommission der Universität Münster unter der Bezugsnummer G90/99.

Als vorbereitende Maßnahme wurde den Minipigs der zweite Prämolare bilateral im Unterkiefer extrahiert und eine ossäre Neustrukturierung zu gewährleisten. Sämtliche chirurgischen Eingriffe wurden im dafür vorgesehenen Operationssaal unter aseptischen Bedingungen durchgeführt.

In Übereinstimmung mit dem Versuchsplan wurden 16 Implantate in die ausgeheilten Extraktionsalveolen mit einer Länge von 10 mm und einem Durchmesser von 4,1 mm inseriert. 16 weitere Implantate mit denselben Abmessungen wurden in die Primatenlücke als Vergleichsgruppe implantiert. Somit wurden in jedem Unterkiefer seitengetreunt zwei Vergleichsgruppen untersucht mit je zwei okklusal belastete Implantate, implantiert in den Extraktionsalveolen und zwei nicht-okklusal belastete Implantate, eingebracht in der Primatenlücke.

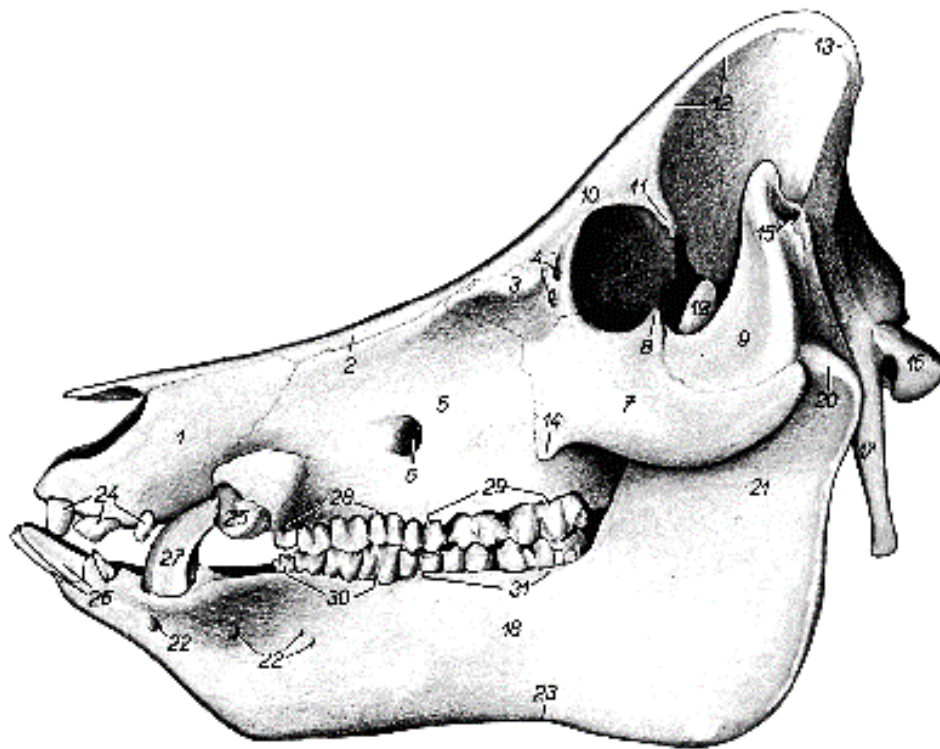


Abbildung 4. Anatomie des Schweinekopfes

- | | |
|---|-------------------------------------|
| 1. Os incisivum | 17. Processus paracondylaris |
| 2. Os nasale | 18. Corpus mandibulae |
| 3. Os lacrimale mandibulae | 19. Processus coronoideus |
| 4. Foramina lacrimalia mandibulae | 20. Processus condylaris mandibulae |
| 5. Maxilla | 21. Ramus mandibulae |
| 6. Foramen infraorbitale | 22. Foramina mentalia lateralia |
| 7. Os zygomaticum (Processus temporalis) | 23. Incisura vasorum facialis |
| 8. Processus frontalis ossis zygomatici | 24. Dentes incisivi superiores |
| 9. Processus zygomaticus ossis temporalis | 25. Dens caninus superior |
| 10. Os frontale | 26. Dentes incisivi inferiores |
| 11. Processus zygomaticus ossis frontalis | 27. Dens caninus inferior |
| 12. Linea temporalis | 28. Dentes premolares superiores |
| 13. Crista nuchae | 29. Dentes molares superiores |
| 14. Tuber faciale | 30. Dentes premolares inferiores |
| 15. Porus acusticus externus | 31. Dentes molares inferiores |
| 16. Condylus occipitalis | |

2.3 Verwendete Geräte

Implantate	Firma Medartis, Basel, Schweiz
Serienschnitt-Mikrotom, D-Messer	Jung, Heidelberg, Deutschland
Wasserbad	Walter F. C. Ebel, Hamburg, Deutschland
Trockenschrank US/UL-Typ	Memmert, Schwabach, Deutschland
Mikroskop Typ 28512	Wild, Heerburg, Schweiz
Mikroskop Typ LEO 1530 VP	Oberkochem, Deutschland
Fotomikroskop Typ 114	Nikon, Japan
Winkelstück mit Wasserkupplung	KaVo, Deutschland
Ratsche	Firma Medartis, Basel, Schweiz
Rosenbohrer	Komet, Deutschland
Gewindeschneider	Firma Medartis, Basel, Schweiz

2.4 Verwendete Narkotika und Anästhetika

Stresnil	Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland
Ketamin	Ceva Tiergesundheit, Düsseldorf, Deutschland
Atropin	Braun, Melsungen, Deutschland
Tötungsmittel T61	Hoechst, Frankfurt a. M., Deutschland
Articain	Hoechst, Frankfurt a. M., Deutschland

2.5 Verbrauchsmaterialien

Objektträger	Superfrost, Dako, Hamburg
OP-Handschuhe	Biogel, Regent, Broxbourne, England
Einwegspritzen	Amefa, Kriffel, Deutschland
Skalpelle Nr. 15	Feather Industries, Japan
Probengefäße	Glasküvetten, Waldeck, Deutschland
Fotofilm, Kodak Color	Kodak, Eastman, Rochester, USA
Deckgläser Typ 38116; 24*60mm	Menzel, Braunschweig, Deutschland

2.6 Verwendete Chemikalien

Aceton	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Alkohol 100% Isopropanol	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Alkohol 96%	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Alkohol 90%	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Alkohol 70%	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Alkohol 50%	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Anilinöl – Alkohol	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Antikörper	Takara Chemicals, Japan
Antikörper (20 nm Gold)	British Bio-Cell, International
Aqua dest.	Zentralapotheke der Uniklinik Münster
Carboxylol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Celloidin – Äther	Chroma, Diagonal, Münster, Deutschland
Eiessig – Alkohol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Essigsäure	Merck, Darmstadt, Deutschland
Ethylendiamin-tetraessigsäure (EDTA)	Serva, Heidelberg, Deutschland

Ethanol	Merck, Darmstadt, Deutschland
Orange G	Merck, Darmstadt, Deutschland
Paraffin I, II, III, IV (DMSO)	Sherwood-Medical, St. Louis, USA
Paraformaldehyd	Merck, Darmstadt, Deutschland
PBS-Puffer, Phosphatpuffer nach Sørensen (pH 7,4)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Propan	Westfalengas Münster, Deutschland
Stickstoff flüssig	Westfalengas Münster, Deutschland
Xylol	Merck, Darmstadt, Deutschland

3. Angewandte Methoden

3.1 Anästhesieverfahren

Die Sedierung der Minipigs wurde mit einer Kombination aus Ketamin, Atropin und Stresnil® durchgeführt. Die Menge des Injektionsnarkotikums stand in Relation zum Gewicht der Tiere, so dass eine empfohlene Dosis von 10 mg/kg Ketamin, 0,06 ml/kg Atropin und 0,03 ml/kg Stresnil® eingehalten wurde. Die intramuskuläre Injektion erfolgte mittels Einwegspritze und Einwegkanüle in die Nackenmuskulatur. Der Wirkungseintritt der Anästhetika belief sich auf ca. 10 – 15 Minuten nach Applikation. Die Spontanatmung blieb stets erhalten und die Narkosetiefe wurde anhand des Lidreflexes regelmäßig überprüft. Bei

nachlassender Narkosetiefe wurde Ketamin und Stresnil® nachinjiziert. Das Ketamin besitzt eine analgetische und sedative Wirkung, letztere wird durch Stresnil verstärkt. Das Atropin hemmt hierbei die Speichelsekretion. Zusätzlich zur Allgemeinanästhesie wurde das Operationsgebiet mit 2 ml Ultracain® mit dem Wirkstoff Articain anästhesiert, um eine ausreichende Blutarmut im Operationsgebiet zu gewährleisten.

3.2 Operatives Vorgehen

Die operativen Eingriffe an den *Minipigs* erfolgten in dafür speziell vorgesehenen Operationssälen unter aseptischen Bedingungen. Nach erfolgter intramuskulärer Injektion des Anästhetikums und dessen Wirkungseintritt wurde zur lokalen Analgesie im Operationsgebiet übergegangen. Es erfolgte die Ausstanzung der Mucosa in den Bereichen der Implantatinsertion.

Mit einem Pilotbohrer wurde die Länge und die Neigung der Implantatachse im Raum festgelegt. Mit standardisierten Instrumenten, gemäß den Herstellerangaben, wurden die Bohrlöcher bis zur gewünschten Größe erweitert. Jede Bohrung erfolgte unter ständiger steriler Wasserkühlung mit geringem Anpressdruck. Die Implantate wurden mit einer eigens dafür hergestellten Ratsche im Knochen eingebettet. Zwei Implantate, je Kieferhälfte einer, wurden nun mit einer Einheilkappe ohne okklusale Belastung verschlossen. Zwei weitere Implantate, wiederum je Kieferhälfte einer, wurden mit Kronen zur Aufnahme der Kaukräfte mit okklusaler Belastung versehen. Hierbei wurde besonders sorgfältig die Okklusion mittels Okklusionsfolie auf einen vertikalen Kontaktpunkt mittels Diamantfräser eingeschliffen. Nach Insertion der Implantate erfolgte die Reinigung des Operationsgebietes mit physiologischer Kochsalzlösung. Nach dem Aufwachen aus der Narkose bekamen die Tiere eine regelmäßige Nahrungs- und Wasserzufuhr.



Abbildung 5. Operationsgebiet vor Einsatz des Implantats



Abbildung 6. Einschleifen des Kontaktpunktes mittels Okklusionsfolie

3.3 Das Implantationsprotokoll

Minipig	Implantate (Anzahl)	Belastungsregion	Keine Belastung	Explantationszeitraum
I	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 1. Tag
II	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 3. Tag
III	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 14 Tagen
IV	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 14 Tagen
V	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 21 Tagen
VI	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 21 Tagen
VII	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 28 Tagen
VIII	4	35, 45	Primatenlücke beidseits UK	Nach 28 Tagen

Tabelle 1. Übersicht über Dauer des Implantateinsatzes als auch der Implantationsregion

3.4 Postoperative Versorgung der Versuchstiere

Die Minipigs wurden kontinuierlich klinisch überwacht. Nahrungsaufnahme und Körpergewicht wurden regelmäßig kontrolliert. Das Implantationsgebiet wurde regelmäßig auf Zeichen der Wundinfektion überprüft.

3.5 Probengewinnung

Hierfür wurde nach einem Tag, nach drei Tagen post Implantation jeweils ein Tier getötet, zwei Tiere nach 14 Tagen, zwei nach 21 Tagen und schließlich zwei nach 28 Tagen. Die Tötung erfolgte mittels intrakardialer Injektion von T61 und der implantattragende Anteil des Unterkiefers wurde mit einer Trennscheibe unter permanenter Kochsalzkühlung osteotomiert. Nun konnten extraoral kleinere an den Implantaten gelegene Knochenareale vom Explantat zerteilt und für die histologischen Untersuchungen aufgearbeitet werden.

Die Proben wurden randomisiert, jeweils für Immunhistologie, Rasterelektronen-Transmissionselektronenmikroskopie und Technovit. Die Präparate zur histologischen und immunhistologischen Analyse wurden in 4%-gepuffertes Paraformaldehyd (pH 7,4) fixiert.

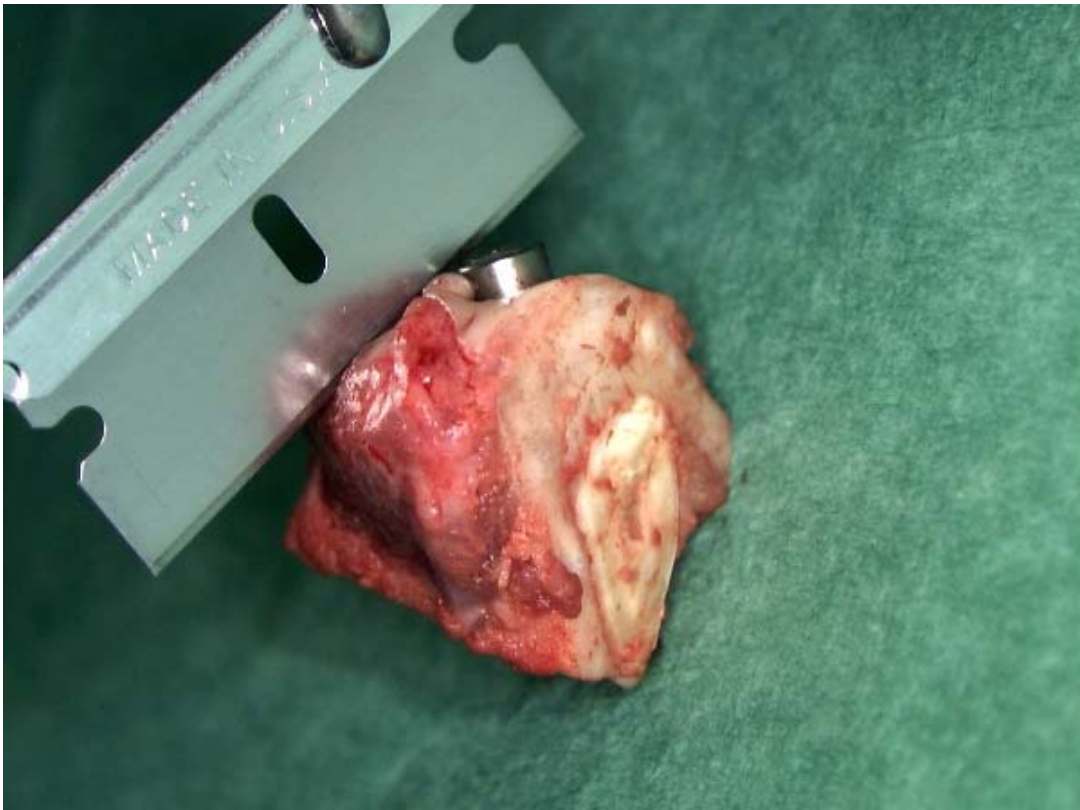


Abbildung 7. Zerteilung des Explantat zur histologischen Aufreinigung

3.6 Probenfixierung

Die osteotomierten Gewebstücke wurden sofort für 4 Stunden in 4%iges Paraformaldehyd gegeben, dessen pH-Wert durch 0,1M PBS-Puffer nach Sörensen abgepuffert wurden. Es folgten drei weitere Auswaschungen mit 0,1M PBS-Puffer (pH 7,4) um Rückstände des Fixierungsmittels aus dem Präparat zu entfernen. Im Anschluss erfolgte die Entkalkung und Erweichung der Präparate in 20% EDTA mit 0,2% Paraformaldehyd, bis die Entkalkung sichtbar wurde.

Nachdem die Proben vollständig demineralisiert waren, wurden sie durch eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert. Die Präparate befanden sich jeweils 24 Stunden nacheinander in 50%, 70%, 90%, 96% und schließlich 100% Alkohol. Dieses Vorgehen vermeidet unerwünschte Interaktionen mit hydrophoben Färbechemikalien und ermöglicht ein besseres Schneiden der Präparate. Anschließend wurden die Präparate zur Entfernung ihrer Alkoholanteile zunächst für 24 Stunden in Zedernholzöl und dann für weitere 24 Stunden in ein Gemisch aus Zedernholzöl und Paraffin gelegt. Nach Eintauchen der Proben in Paraffin I, II, III und IV für jeweils weitere 24 Stunden bei einer Temperatur von 60°C, wurden sie achsengerecht in passende Blockformen mit Paraffin eingebettet.

Die Serienschnitte wurden mittels eines Serienschnitt-Mikrotoms gefertigt. Die einzelnen Schnitte, deren Dicke 8-10µm betrug, wurden in einem auf 40°C erwärmten Wasserbad zur Entfaltung gebracht und zu jeweils 2 Präparaten auf einen mit 0,5% Poly-L-Lysin beschichteten Objektträger aufgezogen. Anschließend wurden die Präparate auf den Objektträgern in einem Trockenschrank bei 50°C getrocknet und danach hitzefixiert.



Abbildung 8. Proben vor der Fixierung und Entkalkung

3.7 Histologische Untersuchungsmethoden

Die Aufarbeitung erfolgte durch folgende Standard- und Spezialfärbung:

1. Immunolabeling *in vivo*
2. Immunolabeling *in vitro*

3.8 Das Immunogold-Labeling

Die Methode des Immunolabeling dient der spezifischen Markierung und Färbung von Strukturen einer Probe. Hierbei behandelt man das zu untersuchende Objekt mit Antikörpern, welche entweder mit Fluorochromen, Farbstoffen oder Reaktanden, welche einen Farbstoff umsetzen, beladen sind. Antikörper sind für die immunologischen Prozesse, sowohl im menschlichen, als auch im tierischen Organismus, von entscheidender Bedeutung und dadurch charakterisiert, dass sie an spezifische Antigene binden. Dies ermöglicht eine sehr selektive Markierung von zu untersuchenden Gewebsbestandteilen. Allerdings lagern sich die Antikörper meist nicht nur an das zu untersuchende Antigen, sondern auch unspezifisch an andere Moleküle, welche im Gewebe vorhanden sind. Bei dieser unspezifischen Bindung handelt es sich meist um ionische Wechselwirkungen und sind aus diesem Grunde nicht sehr affin. Durch diese unerwünschte Bindung kommt es bei der Färbung zu einer Hintergrundmarkierung, welche die lichtmikroskopische Betrachtung natürlich erschwert. Um diesen Faktor zu minimieren, setzt man deshalb vor der Markierung Serum hinzu, fötales Rinderserum-Albumin (BSA). Die darin enthaltenen Proteine konkurrieren mit den unspezifischen Bindungsstellen, jedoch nicht mit den selektiven Epitopen der zu untersuchenden Antigene. Eine Bindung der Antikörper an andere Moleküle wird so minimiert.

Die Immunogold Elektronen Mikroskopie ist die analoge Methode zur Fluoreszenz Mikroskopie. Dünne Sektionen werden erst mit dem spezifischen Antikörper, dann mit dem sekundären Antikörper behandelt. An diesem ist ein Goldpartikel gebunden, welches elektronendicht ist und als schwarzer Punkt sichtbar wird.

Selbst dünne Schnitte haben eine gewisse Dicke. Um zu verhindern, dass die Goldpartikel nur die oberste Schicht einfärben, muss die Färbung vor dem Eingießen in Harz geschehen. Dazu sind Partikel von 1 nm Durchmesser am besten geeignet. Da so kleine Partikel aber nicht sichtbar sind, wird zusätzliches Gold oder Silber chemisch angeheftet.

Das Immunogold-Labeling für diese Untersuchungsreihe begann mit einer unterschiedlich dauernden Fixierung der Proben mit Implantat in 3% Paraformaldehyd. Anschließend wurden die Proben mit primären Antikörpern, Anti-Fibronectin, Anti-Fibronectin-Rezeptor und Anti-Osteonectin (Takara Chemicals, Japan) in einer Verdünnung von 1:200 in einem Zeitintervall von einer Stunde inkubiert. Nach einer weiteren Stunde Inkubation der Proben mit sekundären Antikörpern (British Bio-Cell International, Cardiff, GB), die an 20nm große Goldpartikel gebunden waren, wurden die Proben mit einer Silber Lösung (British Bio-Cell International, Cardiff, GB) reichlich gewaschen. Das Protein A-Gold (Fa. British Biocell International, Cardiff, GB) ist ein aus Bakterien isoliertes Protein, das an der FC-Region der verwendeten Antikörper (IgG) bindet und mit 20 nm großen kolloidalen Goldkörnchen markiert ist.

Die Proben wurden später durch eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert, gefriergetrocknet und mit Kohlenstoff bedeckt. Diese Objekte wurden mit einem LEO 1530 VP Mikroskop betrachtet und mit Proben ohne Immunogold-Labeling verglichen.

4. Ergebnisse

Die Histologie bestätigt den klinischen Befund, der gut integrierten sofort belastbaren Implantate. Alle Implantate waren monokortikal verankert. Der direkte Implantat-Knochen- kontakt zeigte sich ohne Inkongruenzen über die gesamte Länge der Implantatoberfläche. Die histologischen Bilder der occlusal belasteten Implantate ähneln den occlusal nicht belasteten Implantaten an der Knochen-Implantatoberfläche über die ganze Dauer der Studie hinweg. Die histologischen Analysen der Knochen-Implantatschnittstelle offenbaren einen wohlbekanntem Kontakt zwischen Titanoberfläche und dem knöchigen Implantationsbett. Gelegentlich fügten sich interzelluläre Zellschichten zwischen Knochen und Titan ein. Verbindende Gewebsanteile aus Blutgefäßen und Fibroblasten wurden selten zwischen Knochen und Titan beobachtet.

Höhere Mikroskopvergrößerungen zeigten Knochenzellen, die direkt an der Titanoberfläche anliegen. Osteoblasten, die der Implantatoberfläche auflagen, zeigten deren typische Morphologie. Die Immunohistochemie der Zellen der Implantatoberfläche zeigte die Synthese von Osteonectin und Osteocalcin in deren verschiedenen Entwicklungsstadien. Die Zellen zeigten zudem die Tendenz, sich durch flache polygonale Strukturkonfigurationen netzartig über die Oberfläche auszubreiten. Die Osteoblasten zeigten alle Zeichen einer normalen Zellfunktion, einschließlich mehrere Mitochondrien und einem ausgedehnten endoplasmatischen Retikulum. Occlusale Belastungen führten zu keinen besonderen Veränderungen der Knochen-Implantat Grenzfläche und waren mit den nicht-occlusalen vergleichbar. Proben mit gebrochenen Implantatanteilen und Knochenresten zeigten, dass die Stärke der Knochen-Implantat-Bindung mit dem am Implantat umliegenden Knochengewebe vergleichbar ist. Auffällig war vor allen Dingen die Fähigkeit der Zellen sich in die Mikrorillen einzubetten. Die frakturierten Exemplare demonstrierten die direkte Bindung der Osteoblasten an die Titanoberfläche sehr deutlich. Prominent ist hierbei der Zell- und Matrixüberzug der Titanoberfläche in einigen Arealen. Die Adhäsion der Zellen und der extrazellulären Matrixproteine war vom ersten Tag des Knochen-Implantatkontaktes bis zum Ende der experimentellen Studie hinweg zu beobachten, unabhängig von der Art der Belastung (occlusal/nicht-occlusal). Das Anhaften der Zellen wurde z.T. durch extrazelluläre Matrixproteine vermittelt. Glatte Zellen hafteten an der Oberfläche und wiesen somit auf eine Zelladhäsion hin, die abhängig vom fokalen Kontakt ist, was von *in vitro* Untersuchungen bestätigt wurde. An der Implantatoberfläche organisierte sich zudem die Skizze einer Kollagenmatrix. Nach eingängiger Prüfung der mikroskopischen Befunde der extrazellulären Matrix, verdichtete sich der Verdacht eines zeitabhängigen Mineralisationsprozess. Kleine Kristalle in der Eiweißschicht, die der Titanoberfläche anliegt, wuchsen in 14 Tagen zu kleinen Knochenknötchen zusammen. Sie wuchsen entlang der frisch synthetisierten Kollagenfasern der Kollagenmatrix und waren von bereits existierenden Mineralien kaum zu unterscheiden.

Das Immunogold-Labeling bestätigte, dass Zellen an der Titanoberfläche vom ersten Tag der Implantatinserktion an fähig waren, sich zu normalen Knochenzellen zu differenzieren. In der dem Titanimplantat anliegenden Schicht schien eine stets physiologisch normale Synthese der Proteine zu erfolgen. Die Bindungsproteine, Fibronectin und der Fibronectinrezeptor wurden bevorzugt an den Kontaktstellen zwischen Osteoblasten und der Titanoberfläche gefunden (s. Abb.8 S.31, Abb 9 S. 35, sowie Abb. 10 und 11, S.36).

Markant war zudem die große Anzahl an Markerprotein Osteonectin in der Umgebung der Zellen an der Implantatoberfläche (s. hierzu auch Abb. 10-12, S.36/37). Ein Hinweis darauf, dass die Zellen in ihrem funktionsfähigem und differenzierten Zustand verblieben. Die Immunoreaktivität des Osteonectins sicherte ein diffuses homogenes extrazelluläres Färbemuster entlang der gesamten Implantatlänge.

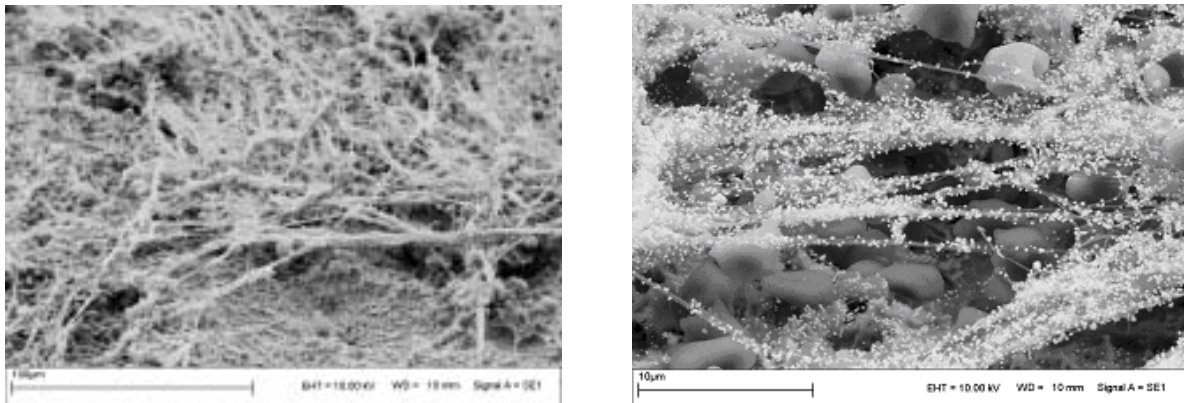


Abbildung 9. Fibronectin und Fibronectinrezeptor

Bei einer 100 μ m Vergrößerung zeigt sich ein stark vernetztes Zellgerüst aus Fibronectin und Fibronectinrezeptoren (linkes Bild). Rechts stellt eine nochmalige 10 fache Vergrößerung der linken Bildebene dar.

Die Untersuchung hinterließ keinen Hinweis auf eine Diskrepanz zwischen dem Auftreten von Fibronectin, Fibronectinrezeptoren und Osteonectin an den unterschiedlich belasteten Implantaten.

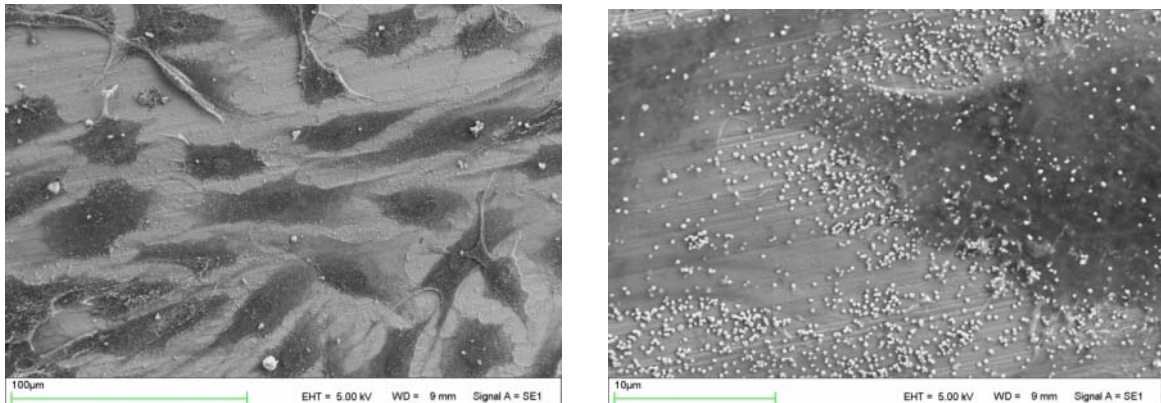


Abbildung 10. Antifibronectin gelabelte Zellen

Die gelabelten Zellen wurden auch hier anschließend mit Gold überzogen und in 100µm Vergrößerung (links) aufgenommen. Rechts sehen Sie eine 10 fache Vergrößerung der linken Ebene.

Auf der Suche nach Titanpartikeln im umliegenden Gewebe als auch in der Grenzfläche fand sich nur eine geringfügige Freisetzung von Titan aus dem Implantat. Hohe Auflösung der Gewebemorphologie- und Gewebeelementverteilung der dem Implantat angrenzenden Schicht bestätigte außerdem, dass Zellen und die Komponenten der mineralisierten extrazellulären Matrix die Detektierbarkeit von Titanpartikeln verschlechterten. Die untersuchten Gewebeschnitte sicherten den Eindruck eines Aufbaus von Hydroxyapatit der normalen Knochengewebe aufgrund der dafür gefundenen Mengen an Calcium und Phosphor in der Gewebematrix.

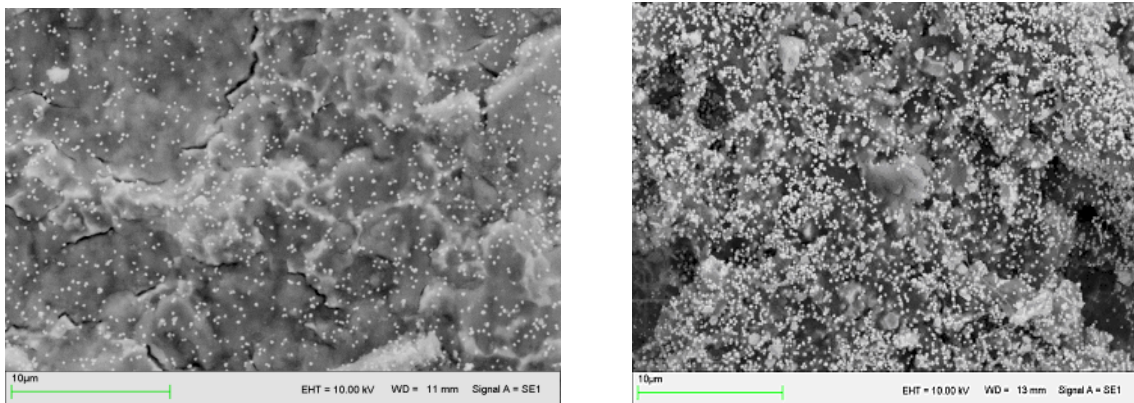


Abbildung 11. Osteonectin

Die linke Aufnahme zeigt einen dichten diffusen homogenen Belag von Osteonectin entlang der Implantatoberfläche bei einer Vergrößerung von 10µm. Das rechte stellt eine 10 fache Vergrößerung der linken Bildaufnahme dar.

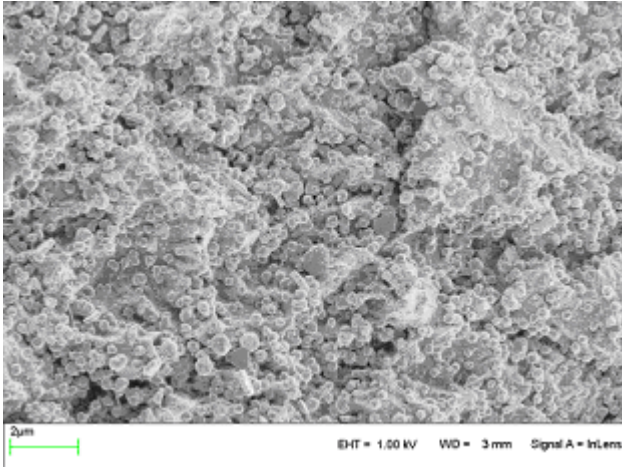


Abbildung 12. Osteonectin in hoher Auflösung

In einer weiteren 5 fachen Vergrößerung der Bildebene erkennt man einen diffusen homogenen und dichten Zellrasen aus Osteonectinzellen.

Bei Betrachtung der sehr feinen Schnitte der Grenzflächen des Implantats mittels der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie zeigte sich eine scharfe Abgrenzung bedingt durch eine vermehrte Apposition von kalziumhaltigen Knochengewebe an der Titanoberfläche. In einigen Bereichen war deutlich eine nanometerdünne Schicht unmineralisierter Matrix in direktem Kontakt zur Titanoberfläche zu erkennen.

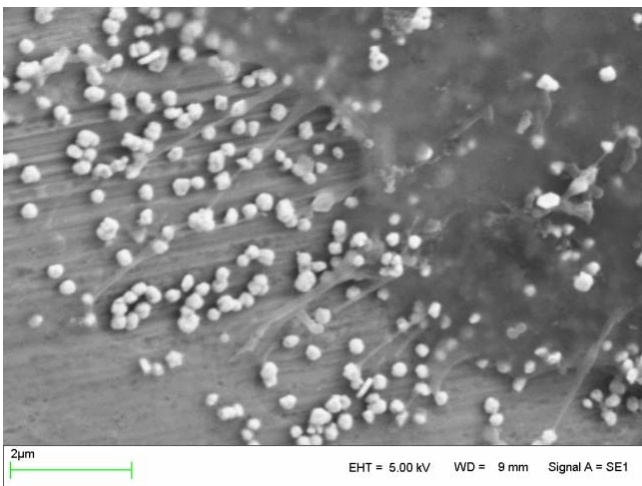


Abbildung 13. Fibronectin in hoher Auflösung

Die Abbildung zeigt die Antifibronectin gelabelten Zellen in einer Auflösung von $2\mu\text{m}$ in einer Mikrorille der Titanoberfläche. Gut lässt sich das Einnisten der Zellen entlang der Kollagenfasern erkennen.

5. Diskussion

Die Osseointegration, d.h. die Verankerung des Zahnimplantats im Knochen durch direkten Implantat-Knochenkontakt, ist unbestritten das allgemein anerkannte Einheilungsprinzip der dentalen Implantologie. Da sich als Implantatmaterial das Titan wegen seiner Biokompatibilität und besonderen mechanischen Eigenschaften als obligates Material der Wahl bewährt hat, bedarf es der Fokussierung auf andere Aspekte, die der Osseointegration förderlich sind. Die Implantatform veränderte sich im Zuge der Jahre, jedoch hat sich die Anwendung von konischen Implantaten durchgesetzt. Diese bieten den Vorteil einer besseren Primärstabilität und eine günstigere Belastungsweitergabe an den Knochen. Durch den kortikalen Eintrittsbereich des Implantats kommt es zu weniger Knochenresorptionen, wie *Behneke*⁵⁴, *Dietrich*⁵⁵ und *Spiekermann*⁵⁶ es an IMZ Implantaten schon häufig feststellten. Der ausschlaggebende Faktor hierfür könnte nach *Joos*⁵⁷ die gleich bleibende Spannungsverteilung entlang der zylindrischen Implantate sein, was aus einer neueren Studie über die Spannungsverteilung unterschiedlicher Implantatformen hervorgeht.

Nach *Nentwig* und *Moser*⁵⁸ ist die optimale Primärstabilität vorwiegend durch eine spezielle Gewindegeometrie zu erreichen, denn die Belastungsweitergabe an die Spongiosa unter Entlastung der Kortikalis erfüllt so ein progressives Gewinde. Es darf hierbei aber nicht außer Acht gelassen werden, dass die Knochendichte einen ebenso großen Einfluss auf die Osseointegration hat wie die Behandlungsplanung, das chirurgische Vorgehen, Einheilzeit und Belastungsphase^{59,60,61}. Bei gleicher Oberflächenkonfiguration weisen Schraubenimplantate eine größere Knochenkontaktfläche auf als Zylinderimplantate⁶².

Bei exakter Lagepräparation ist mit fast jedem Implantat in allen Knochenqualitäten eine Primärstabilität zu erreichen, bedenkt man dabei die Anpassung an die jeweilige Situation durch besondere Details, wie z.B. auf den Verzicht eines Gewindeschneiders und die Ausnutzung von Gewindegängen auf spongiösem Lager. Da konische Implantatformen weitgehend im Lager versenkt

werden und die Herstellung eines geführten Gewindes möglich ist, ist mit dieser Implantatform eine gute bis optimale Primärstabilität zu erzielen.

Laut *Albrektsson et al.*⁶³ weisen die Interfaces, d.h. die organischen Schichten zwischen alloplastischem Material und der mineralisierten Knochenmatrix, unterschiedliche Dicken und Morphologien auf. Dies geht aus sieben Studien an Hund, Ratte und Hase hervor. In einer Studie von *Sennerby* (1991/1992)⁶³ an Mensch und Hasen mit CpTi Schraubenimplantaten fand man 2 Schichten : eine 100-100 nm dicke amorphe Schicht ohne Kollagen und Knochenzellen und eine 50-100 nm dicke mineralisierte Schicht zum Knochen hin. *Davies* und *Lowenberg*⁶³ fanden bei einer *in vitro* Studie mit Titanscheiben an Ratten ebenfalls 2 Schichten: eine 500 nm dicke afibrilläre kalzifizierte Zone und eine 500 nm dicke dicht gepackte Kollagenfaserschicht. *Jarcho*⁶³ entdeckte eine 50-200 nm dicke mineralisierte kollagenfreie Schicht bei einer Studie am Hund mit Keramikbeschichteten Implantaten. Die Unterschiede in der Interfacebeurteilung mag nicht nur Materialabhängig gewesen sein , sondern auch daran liegen, dass unterschiedliche Stadien des Interfaceremodellings betrachtet wurden⁶⁴. *Albrektssons*⁶³ aufgestellte Hypothese besagt nun, dass zunächst eine unmineralisierte kollagenhaltige Fasermatrix sich an der Implantatoberfläche ablagert. Während der Osteogenese mineralisiert diese Matrix. Laut *Steflik et al.*⁶⁵ sind in den Regionen initialer Osteogenese Kollagenfasern, amorphes Material und Osteoblasten entdeckt worden.

Über Kollagenfasern und deren Ausläufern kommunizieren die Osteoblasten mit den Osteozyten der mineralisierten Matrix. Kanalikuli (interdigitating Canaliculi) verbinden die Osteozyten miteinander und reichen bis zur Implantatoberfläche, so dass okklusale Belastung direkt vermittelbar wird. Diese Form der Informationsvermittlung ließe Osteozyten und Osteoblasten reagieren und in die Matrix einschweben.

Die Implantatoberfläche ist der wichtigste Faktor der optimalen Osseointegration. Die Auswirkungen eines glatten und rauen Implantathalses auf die Stressverteilung im kortikalen Knochenbereich untersuchte *Hansson et al.*⁶⁶ Eine

aufgeraute Oberfläche würde einer Knochenresorption in diesem Areal entgegenwirken.

Die effektive Oberfläche enossaler Implantate resultiert aus der Summe von Mikro- und Makrostrukturen, die eine optimale Primärstabilität, Biomechanik und Osseointegration bedingen. Der Einfluss der Oberfläche auf den Implantat-Knochenkontakt und die Verankerungsfestigkeit haben viele Autoren untersucht.

*Wilke et al.*⁶⁷ untersuchte unterschiedlich raue Oberflächenstrukturen auf deren Verankerungsfestigkeit im Knochen mit der Feststellung, dass sandgestrahlte, geätzte oder Plasmaspitzbeschichtete (TPS) Implantate 5-7-fach höhere Explantationswerte bzw. Ausdrehwerte zeigten als glatte Oberflächen. *Buser et al.*⁶⁸ demonstrierte aufgrund seiner Studie zur Beurteilung des prozentualen Anteils an direktem Implantat-Knochenkontakt eine Korrelation zwischen einer ansteigenden Rauigkeit und Implantat-Knochenkontakt. In einer *in vivo* Studie am Hasen verglich *Wennerberg et al.*⁶⁹ 3 verschiedene Oberflächen: glattgedreht, gestrahlt mit 25 und 250 µm. Er untersuchte die Ausdrehwerte, den Knochen-Implantatkontakt und die Ionenabgabe. Dabei stellte sich heraus, dass die Ausdrehwerte für die 250µm gestrahlte Oberfläche am höchsten und für die glatte am niedrigsten war. Der Knochen-Implantatkontakt lag für die gestrahlte Oberfläche ebenfalls höher als für die glatte. Die Ionenabgabe blieb unbeeinflusst. Somit resümierte *Wenneberg et al.*⁶⁹, dass eine raue Oberfläche positiv auf die Verankerungsfestigkeit von Implantaten wirkt.

*Größner-Schreiber*⁷⁰ untersuchte inwieweit unterschiedliche Titan-Oberflächen die Osseointegration beeinflussen. Der *in vitro* Modellversuch zeigte, dass Osteoblasten auf rauen und porösen Titanoberflächen mehr Kollagen synthetisierten und zeigten eine deutlich gesteigerte Mineralisation unter Erhalt der für Knochen typischen Zusammensetzung.

Keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Zellzahl auf Titanoberflächen oder CaP-beschichteten Oberflächen konnte *Ong et al.*⁷¹ feststellen. Ein höheres Zellattachement stellte hingegen *Qu et al.*⁷² fest. Dabei untersuchte er das Verhalten von Osteoblasten aus Ratten an verschiedenen rauen

Oberflächenstrukturen. Keine Zellorientierung fand er auf glatten Oberflächen. Er führte zusammen, dass raue Oberflächen einen positiveren Einfluss auf das Verhalten von osteogenetischen Zellen haben und somit die Osseointegration unterstützen.

*Misch*⁷³ sieht in der unbelasteten Einheilphase (vgl. *Branemark*⁷⁴) die optimale Voraussetzung für die Osseointegration von dentalen Implantaten. Nach *Brunski*⁷⁵ führen Makrobewegungen zu einer bindegewebigen Einkapselung, während Mikrobewegungen bis zu 100µm zu keiner nennenswerten Beeinträchtigung der Osseointegration führen.

Nach 4 Wochen ließ *Hashimoto et al.*⁷⁶ in einer Studie am Affen eingesetzte Implantate belasten. Die histologische Auswertung erfolgte nach 3 Monaten mit dem Resultat, dass alle Implantate osseointegriert waren und keine Anzeichen einer fibrösen Entkapselung zeigten. Das gleiche stellte *Deporter et al.*⁷⁷ fest, als er in seiner Studie Hunde mit Titanschrauben und konischen Implantaten versorgte und nach 6 Wochen belasten ließ.

Die Osseointegration erfolgte auch hier ohne Ausbildung eines fibrösen Gewebes. *Corigliano et al.*⁷⁸ liessen Einzelzahnversorgungen mit Implantaten an Makaken durchführen und diese nach 2 Wochen belasten. Auch hier wurde ein hoher Knochen-Implantatkontakt festgestellt. Eine kompaktere Knochenstruktur bei belasteten im Vergleich zu unbelasteten Implantaten stellte *Piatelli et al.*⁷⁹ fest. Er ließ Schraubenimplantate an Makaken nach 30 Tagen belasten mit dem Ergebnis eines besseren Implantat-Knochenkontaktes für die belasteten Implantate. *Schnitman et al.*⁸⁰ stellte in seiner Studie fest, dass eine Abhängigkeit von der Knochendichte und der Eliminierung von extremen Bewegungen für den Erfolg der sofort belasteten Implantate verantwortlich ist. *Salama et al.*⁸¹ ließ 2 Patienten mit Implantaten sofort belasten und stellte fest, dass alle Implantate erfolgreich osseointegriert waren. Anhand dieser klinischen Studie stellte er Richtlinien für die Sofortbelastung auf. Keine signifikante Beziehung zwischen Implantattyp und Verlustrate stellte *Chiapasco et al.*⁸² fest. Für ihn sind die Knochendichte und die

Implantatlänge und -breite wichtige Faktoren für die Osseointegration von sofortbelasteten Implantaten.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigten auch die Studien von *Lavos-Valereto et al.*⁸³ und *Simmons et al.*⁸⁴, die in der frühen und späten Postimplantationsphase einen optimalen Implantation-Knochenkontakt auf Elektronenmikroskopischer Ebene feststellten. *Murai et al.*⁸⁵ blickte noch tiefer und fand eine netzartig strukturierte Schicht zwischen Implantat und Knochen, die aus Zellcorpi und mineralisierten Zonen bestand. Einblicke in die ultrastrukturellen Prozesse an der Implantat Grenzfläche unter sofortiger Belastung sind daher wichtig für das Verständnis für das klinische Endresultat durchgeführter Implantatprotokolle. Der histologische Überblick über den Knochen-Implantatkontakt dieser Studie zeigt eindeutige Kongruenz zwischen Implantat und umliegendem Gewebe. Ein direkter Kontakt zwischen Implantat und Knochen war über die ganze Oberfläche zu beobachten, und dies unabhängig von der Dauer der Postimplantationsphase. Ähnlich wie *Sowden* und *Schmitz*⁸⁶ schon in ihrer Studie belegten, zeigte sich eine optimale Adaption des gesamten Knochens an die Titanoberfläche auf ultrastruktureller Ebene.

Die Ergebnisse des Immunogold-Labelings offerierten zudem nicht nur mineralisierte Knochengewebe auf der Titanoberfläche, sondern auch an die Oberfläche fest haftende Osteoblasten wie schon *Qu et al.*⁷² es in ihren Studien belegten.

Diese Beobachtung ist kongruent mit denen *Jayaraman et al.*⁸⁷, denn auch hier bestätigte sich die Erwartung, dass die Entwicklung von Knochen-Implantat Interfaces direkt proportional abhängig ist von den Interaktionen zwischen der Knochenmatrix und Osteoblasten mit der Titanoberfläche. Die Auswertung der ultrastrukturellen Analysen dieser Studie ergab, dass sich Zellen bevorzugt an bestimmten Adhäsionsstellen der Titanoberfläche anheften. Sie zeigten alle phänotypischen Merkmale von vollständig funktionsfähigen Osteoblasten die sich im weiteren Verlauf zu differenzierten Knochenzellen weiterentwickelten. Wie schon *Herman et al.*⁸⁸ und *Slot et al.*⁸⁹ in ihren Ausführung richtig bemerkten,

liegen auch schon frühere Untersuchungen zum Adhäsionsverhalten von Osteoblasten an Titanoberflächen vor, sowie deren Proliferation und Differenzierung im Interface, jedoch ohne den Oberflächeneigenschaften sonderliche Beachtung zu schenken. Dies ist insofern interessant und zugleich unverständlich, da mesenchymale Zellen, unreife Progenitorzellen, besonders empfindlich auf Oberflächeneigenschaften reagieren, da sie abhängig von der Lokalisation reifen und sich ortsabhängig zu skelettalen Phänotypen differenzieren⁹⁰.

Kürzlich durchgeführte Studien haben zudem gezeigt, dass phänotypische Expression von Osteoblasten abhängig von der Implantatoberflächen ist. Zelluläre Eigenschaften wie die Formierung des Zytoskeletts, die Zelladhäsion und die Interaktion mit anderen Zellen sind Faktoren, welche die Fähigkeit einer Zelle zur Anpassung an eine Oberfläche bestimmen⁹¹. *Qu et al.*⁷² und *Anselme et al.*^{92,93} zeigten, dass die Zellen sich tendenziell eher in gerillten Oberflächen statt in glatten anheften. Zellkörper und Zellskelette konnten sich hierbei besser in den Mikrorillen der Implantatoberflächen einnisten und anpassen, was die Ergebnisse dieser Studie klar belegen. Fibronectin, Fibronectinrezeptoren und Osteonectin wurde von den anhaftenden Progenitorzellen in den Mikrorillen synthetisiert und wies auf eine ungestörte Funktionsfähigkeit von Osteoblasten nach der Insertion hin. Die Anwesenheit von Fibronectin und Fibronectinrezeptoren. Vaskuläre Verbindungen zeigten sich in den Analysen dieser Studie nur geringfügig, was dem Konzept der Hydrophobie von *Geist-Gerstorfer*⁹⁴ entspricht, der erklärte, dass konventionelle Titanoberflächen zu hydrophob seien und somit Blut und Serum abstoßen würden. Im Allgemeinen führen hydrophile Oberflächen zu einer verbesserten Zellaffinität, wohingegen die Proteinadsorption durch hydrophobe Oberflächen gefördert wird^{95,96,97}.

Schon andere Autoren bewiesen, dass Fibronectin und Fibronectinrezeptoren ein stabiles Attachment zwischen Zellen und Biomaterial induzieren⁹⁸. Die in dieser Studie durchgeführten histochemischen Untersuchungen zeigten außerdem eine erhöhte Anzahl an Osteonectin im Interface. Wie schon *Roach et al.*⁹⁹ und *Sagakuri et al.*¹⁰⁰ bestätigten ist Osteonectin unabdingbar für das Wachstum und

die Größe von Hydroxyapatitkristallen. Die weit reichende Verteilung dieses Kalzium bindenden Proteins scheint einen großen Einfluss auf das belastungsabhängige Geweberemodelling zu haben, denn die Auswertung ergab eine Korrelation osteoblastischer Differenzierung und Mineralisierung wie es auch schon *Rösner et al.*¹⁰¹ und *Johansson et al.*¹⁰² in ihren Studien beschrieben. Unter schwacher Vergrößerung ließ sich im Mikroskop eine eindeutige Differenzierung an Knochenzellen und die Synthese von Signalinduzierenden und Knochengewebe aufbauenden Proteinen beobachten¹⁰³. Die hier durchgeführte Untersuchung belegt, dass auch Zellen im direkten Implantatkontakt nichts an ihrer Funktionsfähigkeit einbüßen, sondern weiterhin alle für die Einheilphase physiologischen Proteine synthetisieren und differenzieren.

Wie schon *Wiess et al.*¹⁰⁴ und *Lacouture et al.*¹⁰⁵ in ihren Studien zeigten, exprimieren Osteoblasten Fibronectin schon während der frühen Osteogenesis. Dies wiederum vermittelt Zellkontakt und das Ausbreiten von Knochenzellen. Die hier durchgeführten Untersuchungen schließen sich klar den Ausführung von *Jayaraman et al.*⁸⁷ an, die ganz klar belegen, dass eine gerillte Titanoberfläche ein besseres Zellattachment und somit zu einer viel höheren Synthese und Expression von ECM Proteinen führt.

Die lokale mechanische Umgebung des Implantats während und nach der Implantation hängt zudem von den einwirkenden Kräften und dem Implantat-Knochenkontakt ab, so dass bestimmte Implantatformen zu einer optimalen osseointegration führen, da sie günstige mechanische Belastungen für die Knochenentwicklung im periplantaren Gewebe schaffen^{107,108}. Aufgrund dieser Erkenntnisse können wir zusammenfassend sagen, dass eine ungestörte Osseointegration ein Ergebnis des Makrodesigns mit charakteristischer dreidimensionaler Form ist. Es begünstigt eine optimale lokale mechanische Belastung im frühentwickelten Interface, die der Primärstabilität und der Osseointegration förderlich ist, und verhindert punktuelle hohe Belastungsgrade im Interface. Die Mikrorillen der Oberfläche schaffen die optimale Umgebung für die Adhäsion von mesenchymale Zellen.

Der Proliferation von mesenchymalen Stammzellen folgt die Differenzierung in Osteoblasten und die Ausbildung von extrazellulärer Matrix. Eine Reihe von weiteren Signalproteinen wird als Folge dieser Prozesse sezerniert, was zur weiteren Entwicklung des Gewebes beiträgt.

Das knorpelige Gewebe kalzifiziert, es kommt zum Einsprossen von Blutkapillaren und die extrazelluläre Matrix wird entsprechend den funktionellen Anforderungen umgebaut. Aus Vorläuferzellen neu gebildete Osteoblasten bilden Knochenmatrix, die durch ihre trabekulären Strukturen alle Charakteristika primärer Spongiosa aufweist. All dies führt zu einer schnelleren Erholung des Patienten, kürzeren Rekonvaleszenzphasen durch eine optimale Primärstabilität des Implantats.

6. Zusammenfassung

Die Behandlung von Patienten mit sofort- oder frühbelasteten Implantaten hat das Interesse an dem Verhalten des umgebenden Gewebes an der Implantatgrenzfläche unter Belastung neu geweckt. Ein neu entwickeltes Implantatsystem, bestimmt für die Sofortbelastung, wurde im Tierversuch (genehmigt durch die Bezirksregierung Münster mit dem Aktenzeichen G90/99 vom 3. Januar 2000) getestet, um die frühe Gewebereaktion unter Belastung zu determinieren. In dieser Studie wurden 32 Implantate in den Unterkiefer von Göttinger Minischweinen inseriert. Die Hälfte der Implantate (n=16) wurde sofort okklusal belastet, die andere Hälfte wurde in eine nicht- okklusale Relation gesetzt. Jeweils zwei Tiere wurden am 1., 3., 14., 21. und 28. Tag nach der Sofortbelastung getötet und die Unterkiefer für die verschiedenen Untersuchungen aufgearbeitet. Histologische und ultrastrukturelle Untersuchungen zeigten eine enge Kongruenz von Knochen und Implantatoberfläche, die vom ersten Tag der Implantatinsertion an zu finden war. Die Phänotypie der adhären Osteoblasten war unabhängig von der Applikation okklusaler und nicht-okklusaler Belastungen. Es zeigten sich auf zellulärer und anorganischer Seite keine Unterschiede im Gewebeverhalten zwischen crestalen und apikalen Implantatbereichen. Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine Sofortbelastung von speziell entwickelten Implantaten ohne Ablösung der Knochen/Implantatgrenzschicht oder Störung der Osteoblastenphysiologie erfolgen kann.

7. Summary

The treatment of patients with early or immediate loaded dental implants has renewed interests in the behaviour of osteoblasts at the implant surface under load. A newly designed dental implant, indicated for immediate loading, was tested in vivo for early stages of osteoblast behaviour at the implant surface. In this study 32 implants were placed in the mandible of eight minipigs. Half of the implants (n = 16) were immediate loaded under occlusal contacts, and implants placed in non-occlusal relations served as a control. Two animals each were sacrificed at day 1, 3, 14, 21 and 28 of implant loading and mandibular block specimens processed for the different investigations. Histological and ultrastructural analysis revealed an intimate attachment of osteoblasts to the material surface beginning at day 1. Application of either occlusal or non-occlusal load did not alter the phenotypic morphology of intimately attached osteoblasts. These results indicate that immediate loading of dental implants can be performed without disruption of the titanium/bone interface or disturbance of osteoblast physiology in the early loading phase.

8. Verzeichnis der Abbildungen

Abb.1. Frialit-2:FRIOS.....	13
Abb.2. Implantatsysteme nach Brånemark und ITI Bonelit.....	14
Abb.3. Verwendetes Implantat der Studie.....	14
Abb.4. Anatomie des Schweinekopfes.....	21
Abb.5. Operationsgebiet vor Insertion des Implantats.....	27
Abb.6. Einschleifen des Kontaktpunktes mittels Okklusionsfolie.....	27
Abb.7. Zerteilung des Explantats zur histologischen Untersuchung.....	29
Abb.8. Proben vor der Fixierung und Entkalkung.....	31
Abb.9. Fibronectin und Fibronectinrezeptor.....	35
Abb.10. Antifibronectin gelabelte Zellen.....	36
Abb.11. Osteonectin.....	36
Abb.12. Osteonectin in hoher Auflösung.....	37
Abb.13. Fibronectin in hoher Auflösung.....	37

9. Literaturverzeichnis

- [1] Marziani, L. Subperiostale Gerüstimplantate zu prothetischen Zwecken. Dtsch Zahnärztl Z 10: 1115-1129 (1955)
- [2] Jourdan . Geschichte der zahnärztlichen Implantologie. Zahn- Mund- Kiefer-Heilkunde, Band 3:127 (2000)
- [3] Magiolo. Geschichte der zahnärztlichen Implantologie. Zahn- Mund- Kiefer-Heilkunde, Band 3:127 (2000)
- [4] Greenfield. Geschichte der zahnärztlichen Implantologie. Zahn- Mund- Kiefer- Heilkunde, Band 3:127 (2000)
- [5] Strock, A.E. Experimental work on a method for the replacement of missing teeth by direct implantation of a mental support into the alveolus. Am J Orthod 25: 467-472, 1939
- [6] Formiggini, M.S. Méthode personnelle d´implants alloplastiques endo-osseux à spirales métalliques. Schweiz Monatsschr Zahnheilk 68: 906-911, 1958
- [7] Cherchève, R.: Les implants endo-osseux. Libraire Maloine, Paris 1962
- [8] Scialom, M.J. Immediate needle implants. Inform Dent 44: 1606-1613, 1962
- [9] Tramonte, S. A further report on intraosseous implants with improved drive screws. J Oral Implantol 11: 35-37, 1965

- [10] Brånemark, P.I., Breine, U., Adell, R., Hansson, B.O., Lindström, J., Olsson, A. Intraosseous anchorage of dental prostheses. *Scand J Plast Reconstr Surg.* 3: 81-100 1969
- [11] Brånemark, P.-I., Hansson, B.O., Adell, R., Breine, U., Lindström, J., Hallen, O., Öhman, A.: Osseointegrated implants in the treatment of edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg* 11(Suppl) 16, 1977, 6-132.
- [12] Jacobsson, M., Albreksson, T.: Resultate des Brånemark-Implantats. *Z Zahnärztl Implantol* IV,1988, 165-166.
- [13] Schenk R.K.: Cytodynamics and Histodynamics of Primary Bone Repair, in *Fracture Healing*, J.M.Lane(ed).Churchill-Livingstone New York. 1987.,23-32.
- [14] Lane, M.J., Wertz,J.R. *Biology of fracture healing*. Churchill Livingstone New York. 1987, 49-59
- [15] Rüter,A: *Frakturen*. In : *Praxis der Orthopädie*. Georg Thieme Verlag. 1992, 238-255
- [16] Adell, R., Eriksson,B., Lekholm, U., Brånemark, P.-I, Jemt,T. A long-Term Follow-up Study Of Osseointegrated Implants in the Treatment of Totally Edentulous Jaws. *Int J Oral Maxillofac Implants* 5,. 1990, 347-359
- [17] Moser,W., Nentwig,G.-H. Finite-Element-Studien zur Optimierung von Implantatgewindeformen. *Z. zahnärztl Implantol* V. 1989, 29-32
- [18] Bossler, L. Vergleichende spannungsoptische Untersuchungen an verschiedenen blattförmigen und schraubenförmigen Dentalimplantaten. *Med Diss, Mainz* 1981

- [19] Scharf,R.K. Cytodynamics and Histodynamics of Primary Bone Repair in Fracture healing. J.M. Lane (ed). Churchill Livingstone New York. 1987, 23-32
- [20] Schenk, H., Besimo, Ch., Hammer, B. Komplikationen und Misserfolge der enossalen Implantationen mit dem Ha-Ti-System und deren Ursachen. Z Zahnärztl Implantol XI. 1993, 140-144
- [21] Meyer U, Vollmer D, Bourauel C, Joos U. Sensitivity analysis of bone geometries around oral implants upon bone loading using finite element method. Comp Meth Biomech Biomed Eng 2001; 3:553-559.
- [22] Loos, G.L., McDonald, A. Factors to consider while treatent planning dental Implants in the Partially edentulous Patient. CDA. Journal, Vol. 25. No.12. 1997, 852-859
- [23] Masuda, T. Yliheikkilä, P.K., Felton, D.A:, Cooper, L.F. Generalizations Regarding the Process and Phenomenon of Osseointegration. Part I in Vivo Studies. Int J Oral Maxillofac Implants 13.1998, 17-29
- [24] Davies, J.E. In Vitro Modeling of the Bone-Implant Interface. The Anatomical Record 245.1996, 426-445
- [25] Feifel,H. Osteoinduktion und Osteokonduktion. Therapie des Knochendefekts mit Proteinen und xenogenem Knochen. Dtsch Zahnärztl Z 51.1996, 3:144-156

- [26] Schmidt, K. Knochenbildung durch osteoproduktives Biomaterial. Sonderdruck Zahnärzteblatt Baden-Württemberg 4. 1999.
- [27] Weryha, G., Leclere, J. Paracrine Regulation of Bone Remodeling. *Horm Res.* 1995, 43:69-75
- [28] Davies, J.E. Mechanisms of Endosseous Integration. *The International Journal of Prosthodontics*, Vol. 11. No.15. 1998, 391-401
- [29] Potts, J.R., Campbell, I.D. Fibronectin structure and assembly. *Current Opinion in Cell Biology.* 1994. 6:648-655
- [30] Linkhart, T.A., Mohan, S., Baylink, D.J. Growth factors for bone growth and repair. IGF, TGF beta and BMP. *Bone* 19 (1 Suppl). 1996, 1-12
- [31] Bab, I.A., Einhorn, Th.A. Regulatory Role of Osteogenetic Growth Polypeptides in Bone Formation and Hemopoiesis. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 3(1),. 1996, 31-46
- [32] Hämmerle, Ch.H.F., Brägger, U., Schmid, B., Lang, N.P. Successful Bone Formation at Immediate Transmucosal Implants. A Clinical report. *Int J maxillofac Implants* 13. 1998, 522-530
- [33] Mundy, G.R. Local Control of Bone Formation by Osteoblasts. *Clin Orth* 313. 1995, 19-26

- [34] Bagambisa, F.B., Kappert, H.F., Schilli, W. Cellular and molecular biological events at the implant interface. *Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery*. 1994. 22, 12-17
- [35] Hynes, R.O. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 69 1992, 11-25
- [36] van Kooyk, Y., Figdor, C.G. (2000) Avidity regulation of integrins: the driving force in leukocyte adhesion. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 542-547.
- [37] Faull, R.J., Ginsberg, M.H. Inside-out signaling through integrins. *J. Am. Soc. Nephrol.* 7. 1996, 1091-1097.
- [38] Dedhar, S. Integrins and signal transduction. *Curr. Opin. Hematol.* 6, 1999, 37-43.
- [39] Calderwood, D.A., Shattil, S.J., Ginsberg, M.H. (2000) Integrins and actin filaments: reciprocal regulation as cell adhesion and signaling. *J. Biol. Chem.* 275, 22607-22610.
- [40] McKee, M.D., Nanci, A.: Ultrastructural, Cytochemical and Immunocytochemical Studies on Bone and its Interfaces. *Cells and Materials*, Vol.3.1993, 219-243.

- [41] Ohgushi,H.,Caplan,A.I.: Stem Cell Technology and Bioceramics: From cell to Gene Engineering.J Biomed Mater Res(Appl Biomater)48. 1996, 913-927
- [42] Shen ,X.,Roberts, E.,Peel, S.A.F.,Davies, J.E.: Organic extracellular Matrix Components at the Bone Cell/Substratum Interface. Cells and Materials, Vol.3,No.3.1993, 257-272. 221
- [43] Thomas, C.H.,McFarland, C.D.,Jenkins, M.L.,Rezania, A.,Steele, J.G.,Healy, K.E. The role of vitronectin in the attachment and spatial distribution of bone-derived cells on materials with patterned surface chemistry. J Biomed Mater Res,37.1997,81-93
- [44] Friberg B, Jemt T, Lekholm U. Early failures in 4,641 consecutively placed Brånemark dental implants: A study from stage I surgery to the connection of completed prostheses. Int J Oral Maxillofac Implant 1991; 6:142-146.
- [45] Termine, J.D., Belcourt, A.B., Conn, K.M., Kleinman, H.K. (1981). Mineral and collagenbinding proteins of fetal calf bone. J.Biol.Chem. 256, 10403-10408.
- [46] Sage, E.H., Johnson, C. and Bornstein, P. (1984). Characterization of a novel serum albuminbinding glycoprotein secreted by endothelial cells in culture. J. Biol. Chem. 259, 3993-4007.

- [47] Dziadek, M., Paulsson, M., Aumailley, M., Timpl, R. (1986). Purification and tissue distribution of a small protein (BM-40) extracted from basement membrane tumor Eur. J. Biochem. 161, 455-464.
- [48] Mann, K., Deutzmann, R., Paulsson, M., Timpl, R. (1987). Solubilization of protein BM-40 from a basement membrane tumor with chelating agents and evidence for its identity with osteonectin and SPARC. FEBS Letters 218, 167-172.
- [49] Termine, J.D., Kleinman, H.K., Whitson, S.W., Conn, K.M., McGarvey, M.L., Martin, G.R. (1981). Osteonectin, a bone-specific protein linking mineral to collagen. Cell 26, 99-105.
- [50] Sage, E.H., Vernon, R., Funk, S., Everitt, E. und Angello, J. (1989). SPARC, a secreted protein associated with cellular proliferation, inhibits cell spreading in vitro and exhibits Ca^{2+} - dependent binding to the extracellular matrix. J. Cell Biol. 109, 341-356.
- [51] Mayer, U., Aumailley, M., Mann, K., Timpl, R., Engel, J. (1991). Calcium-dependent binding of basement membrane protein BM-40 (osteonectin, SPARC) to basement membrane collagen type IV. Eur. J. Biochem. 198, 141-150.

- [52] Iruela-Arispe, M.L., Vernon R.O., Wu, H., Jaenisch, R. and Sage, H. (1996). Type I collagendeficient Mov-13 mice do not retain SPARC in the extracellular matrix: implications for Fibroblast Function. *Dev. Dyn.* 207, 171-183.
- [53] Sasaki, T., Göhring, W., Mann, K., Maurer, P., Hohenester, E., Knäuper, V., Murphy, G. and Timpl, R. (1997). Limited cleavage of extracellular matrix protein BM-40 by matrix metalloproteinases increases its affinity for collagens. *J. Biol. Chem.* 272, 9237-9243.
- [54] Behneke, N.: Klinische Erfahrungen mit enossalen Implantaten im zahnlosen Unterkiefer. Ergebnisse einer Langzeitstudie über 12 Jahre. Med Habil, Mainz 1995. [55] Dietrich, U., Wagner, W. : Zur Frage des Knochenabbaus bei IMZ Implantaten. *Z Zahnärztl Implantol* 8, (1992), 240-245.
- [56] Spiekermann, H., Jansen, V.K., Richter, E.J.: A 10-years follow-up of IMZ and TPS implants in the edentulous mandible using barretained overdentures. *Int. J. Maxillofac Implants* 10 (1995), 231-243.
- [57] Joos, U., Vollmer, D., Kleinheinz, J.: Einfluss der Implantatgeometrie auf die Strainverteilung im periimplantären Knochen. *Mund Kiefer GesichtsChir* 4(2000), 143-147.

- [58] Nentwig, G.-H., Moser, W.: Untersuchungen zur periimplantären Knochensituation bei Brückenversorgungen im Seitenzahnggebiet mit dem NM-Implantat. Z Zahnärztl Implantol VII, (1991), 100-103.
- [59] Misch, C.E., Qu, Z., Bidez, M.W. : Mechanical Properties of Trabecular Bone in the Human Mandible: Implications for Dental Implant Treatment Planning and Surgical Placement. J Oral Maxillofac Surg 57(1999), 700-706.
- [60] Misch, C.E.: Density of Bone: Effect on Treatment Plans, Surgical Approach, Healing, and Progressive Bone Loading. Int J Oral Implant Vol.6, No.2, (1990).
- [61] Misch, C.E.: Density of Bone: Effect on Treatment Planning, Surgical Approach and Healing. Contemporary Implant Dentistry, Mosby Year Book; 469-483; (1993).
- [62] Tetsch, P., Tetsch, J. : Fortschritte der zahnärztlichen Implantologie : ein Atlas. Carl Hanser Verlag München 1996. 232.
- [63] Albrektsson, T.O., Johansson, C.B., Sennerby, L.: Biological aspects of implant dentistry: osseointegration. Periodontology 2000. Vol.4 (1994), 58-73.

- [64] Garetto, L.P., Chen, J., Parr, J.A., Roberts, W.E.: Remodeling Dynamics of Bone supporting rigidly fixed titanium Implants: A Histomorphometric Comparison in four Species including Humans. *Implant Dent* 4;235-243;(1995).
- [65] Steflik, D.E., Corpe, R.S., Lake, F.T., Young, R.T., Sisk, L.A., Parr, G.R., Hanes, P.J., Berkeley, D.J.. Ultrastructural analyses of the attachment (bonding) zone between bone and implanted biomaterials. *J Biomed Mater Res*, 39, 611- 620, 1998
- [66] Hansson, S.: The implant neck: smooth or provided with retention elements. A biomechanical approach. *Clin Oral Implants Res* 10(5),394-405,(1999).
- [67] Wilke, H.-J., Claes, L., Steinemann, S.: The influence of various titanium surfaces on the interface shear strength between implants and bone. *Advances in Biomaterials* 9, (1990), 309-314.
- [68] Buser, D., Schenk, R.K., Steinemann, S., Fiorellini, J.P., Fox, C.H., Stich, H.: Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25, (1991), 889-902.
- [69] Wennerberg, A., Ektessabi, A., Albrektsson, T., Johansson, C., Andersson, B.: A 1-Year Follow-up of Implants of Differing Surface Roughness Placed in Rabbit Bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* (1997);12:486-494.

- [70] Größner-Schreiber, B., Tuan, R.S. :Die Bedeutung der Oberfläche von Titanimplantaten im Osseointegrationsvorgang. Dtsch Zahnärztl Z 46 691-693,(1991),10.
- [71] Ong, J.L. ,Prince, C.W. ,Lukas, L.C. : Cellular response to well-characterized calcium phosphate coatings and titanium surfaces in vitro. J Biomed Mater Res Vol.29,165-172 (1995)
- [72] Qu, J. ,Chehroudi, B.,Brunette, D.M. : The use of micromachined surfaces to investigate the cell behavioural factors essential to osseointegration. Oral Diseases (1996) 2, 102-115.
- [73] Misch, C.E.: Density of Bone:Effect on Treatment Planning,Surgical Approach and Healing. Contemporary Implant Dentistry, Mosby Year Book.1993, 469-483
- [74] Brånemark, P.I., Breine, U., Adell, R., Hansson, B.O., Lindström, J., Ohlsson, A.: Intra-osseous Anchorage of Dental Prostheses. Scand J Plast Reconstr Surg 3.1969, 81-100.
- [75] Brunski, JB.: Avoid pitfalls overloading and micromotions of intraosseous implants (interview). Dental Implantol Update,4(10)(1993),77-81.

- [76] Hashimoto, M.,Akagawa, Y.,Hashimoto, M.,Nikai, H.,Tsuru, H. : Single crystal sapphire endosseous implant loaded with functional stress: clinical and histological evaluation of peri-implant tissues. *J Oral Rehab* 15(1988),65-76.
- [77] Deporter, D.A.,Watson, P.A.,Pilliar, R.M.,Chipman,M.L.,Valiquette, N.: A histological comparison in the dog of porous-coated vs threaded dental implants. *J Dent Res* 69(1990),1138-1145.
- [78] Corigliano, M.,Quaranta, M.,Scarano, A.,Piattelli, A.: Bone reactions to early loaded plasma-sprayed titanium implants. *IADR. J Dent Res* 74(1995)Abstract 275.
- [79] Piattelli, A.,Ruggieri, A.,Franchi, M.,Romasco, N.,Trisi, P.: A histologic and histomorphometric study of bone reactions to unloaded and loaded non-submerged single implants in monkeys: a pilot study. *J Oral Implantol* 19(1993),314-320.
- [80] Schnitman, P.A.,Wöhrle, P.S.,Rubenstein, J.E.: Immediate Fixed Interim Protheses Supported by Two-stage Threaded Implants: Methodology and Results. *The Journal of Oral Implantology* 16;96-105;(1990).
- [81] Salama, H.,Rose, L.F.,Salama, M.,Betts, N.J.: Immediate Loading of Bilaterally Splinted Titanium Root-Form Implants in Fixed Prosthodontics - A Technique Reexamined:Two Case Reports. *Int J of Periodontics & Restorative Dentistry*

- [82] Chiapasco, M., Gatti, C., Rossi, E., Haefliger, W., Markwalder, Th.: Implant-retained mandibular overdentures with immediate loading. *Clin Oral Impl Res* 8;48-57;(1997).
- [83] Lavos-Valereto IC, Wolyneec S, Deboni MC, Konig B Jr. In vitro and in vivo biocompatibility testing of Ti-6Al-7Nb alloy with and without plasma-sprayed hydroxyapatite coating. *J Biomed Mater Res* 2001; 58:727-733.
- [84] Simmons CA, Valiquette N, Pilliar RM. Osseointegration of sintered porous-surfaced and plasma-spray coated implants: an animal model study of early post-implantation healing response and mechanical stability. *J Biomed Mater Res* 1999; 47:127-138.
- [85] Murai K, Takeshita F, Ayukawa Y, Kiyoshima T, Suetsugu T, Tanaka T. Light and electron microscopic studies of bone-titanium interface in the tibiae of young and mature rats. *J Biomed Mater Res* 1996; 30:523-533.
- [86] Sowden, D., Schmitz, JP. AO self-drilling and self-tapping screws in rat calvarial bone: an ultrastructural study of the implant interface. *J Oral Maxillofac Surg* 2002, 60, 294-299
- [87] Jayaraman, M., Meyer, U., Bühner, M., Joos, U., Wiesmann, H.P., Influence of Titanium surfaces on attachment of osteoblast-like cells in vitro, *Science direct* 2003

- [88] Hermann, R., Walther, P., Muller, M. Immunogold-Labeling in scanning electron microscopy. *Histochem Cell Biol* 1996, 106, 31-9.
- [89] Slot, J.W., Geuze, H.J. A new method of preparing gold probes for multiple labelling cytochemistry. *Eur J Cell Biol* 1985, 38, 87-93
- [90] Chehroudi B, McDonnell D, Brunette DM. The effects of micromachined surfaces on formation of bonelike tissue on subcutaneous implants as assessed by radiography and computer image processing. *J Biomed Mat Res* 1997; 34:279-290.
- [91] Clark, P., Connolly, P., Curtis, A.S.G., Dow, J.A.T., Wilkinson, C.D.W. (1990): Topographical control of cell behaviour: II. Multiple grooved substrata., *Development* 108) [4], Seite 635-644.
- [92] Qu, J., Chehroudi, B, Brunette, D.M. The use of micromachined surfaces to investigate the cell behavioural factors essential to osseointegration. *Oral Dis* 1996, 2 (1), 102-15
- [93] Anselme, K., Bigerelle, M., Noel, B., Iost, A., Hardouin, P. Effect of grooved titanium substratum on human osteoblastic cell growth. *J Biomed Mater Res* 2002, 60 (4), 529-40

- [94] Geis-Gerstorfer, J., Rupp, F., Scheideler, L. Influence of Blood Components on Cell Adhesion to Bioactive Implant Surfaces. Proceedings of 18th European Conference on Biomaterials, 1-4th Oct. 2003, Stuttgart, P76.
- [95] Altankov, G., Groth, T., Reorganization of substratum on hydrophilic and hydrophobic materials is related to biocompatibility, *J Mater Sci* 5, 1994, 732-737
- [96] Kothari, S., Hatton, P.V., Danglas, C.W.I., Protein adsorption to titanic surface, *J Mater Sci* 6, 1995, 695-698
- [97] Weiss, L., Blumenson, L.E. Dynamic adhesion and separation of cells in vitro. 2 Interactions of cells with hydrophilic and hydrophobic surfaces. *Journal of Cellular Physiology*. 1967. 23-32
- [98] Rosengren A, Johansson BR, Danielsen N, Thomsen P, Ericson LE. Immunohistochemical studies on the distribution of albumin, fibrinogen, fibronectin, IgG and collagen around PTFE and titanium implants. *Biomaterials* 1996; 17:1779-1786.
- [99] Roach HI. Why does bone matrix contain non-collagenous proteins? The possible roles of osteocalcin, osteonectin, osteopontin and bone sialoprotein in bone mineralisation and resorption. *Cell Biol Int* 1994; 18:617-628.

- [100] Sasaguri K, Jiang H, Chen J. The affect of altered functional forces on the expression of bone-matrix proteins in developing mouse mandibular condyle. *Arch Oral Biol* 1998; 43:83-92.
- [101] Röser K, Johansson CB, Donath K, Albrektsson T. A new approach to demonstrate cellular activity in bone formation adjacent to implants. *J Biomed Mater Res* 2000; 51:280-291.
- [102] Johansson CB, Roser K, Bolind P, Donath K, Albrektsson T. Bone-tissue formation and integration of titanium implants: an evaluation with newly developed enzyme and immunohistochemical techniques. *Clin Implant Dent Relat Res* 1999; 1:33-40.
- [103] Sagara M, Akagawa Y, Nikai H, Tsuru H. The effects of early occlusal loading on one-stage titanium implants in beagle dogs: A pilot study. *J Prosth Dent* 1993; 69:281-288.
- [104] Piattelli A, Paoloantonio M, Corigliano M Scarano A. Immediate loading of titanium plasma-sprayed screw-shaped implants in man: A clinical and histological report of 2 cases. *J Periodontol* 1997; 68:591-597.
- [105] Wiess,R.E., Reddi, A.H., Synthesis and localization of fibronectin during collagenous matrix mesenchymal cell interaction and differentiation of cartilage and bon in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980. 108. 709-21

- [106] Lacouture, M.E., Schaffer, J.L., Klickstein, L.B. A comparison of type I collagen, fibronectin and vitronectin in supporting adhesion mechanically strained osteoblasts. *J Bone Miner Res* 2002. 17 (3), 481-92
- [107] Misch CE, Bidez MW, Sharawy M. A bioengineered implant for a predetermined bone cellular response to loading forces. A literature review and case report. *J Periodontol* 2001; 72:1276-1286.
- [108] Simmons CA, Meguid SA, Pilliar RM. Mechanical regulation of localized and appositional bone formation around bone-interfacing implants. *J Biomed Mater Res* 2001; 55:63-71.

10. Abkürzungen

Abb.	Abbildung
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
dest.	destilliert
EDTA	Ethylendiamin-tetraessigsäure
et al.	und andere
°C	Grad Celsius
kg	Kilogramm
M	Molar
max	Maximum
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
nm	Nanometer
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung nach Sørensen
pH	Säure- / Basenwert
%	Prozent
µm	Mikrometer
µstrain	Mikrstrain
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

11. Danksagung

Den Mitarbeitern der Abteilung für MKG (Herrn Univ.-Prof. Dr. Dr. Dr. h. c. U. Joos, Direktor der Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefer- Gesichtschirurgie) danke ich recht herzlich für die Überlassung, Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung der Studie.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Dr. U. Meyer für die Betreuung der Arbeit und seiner stets hilfreichen Unterstützung sowie die sehr gute Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. U. Stratmann sowie Frau Cebulla, Institut für Anatomie, danke ich für die Unterstützung der Herstellung der histologischen und mikroskopischen Arbeiten.

Dem Koreferenten danke ich für die Begutachtung der Arbeit

Herrn Prof. Dr. Richter sowie Dr. Lücke und deren Mitarbeitern der zentralen tierexperimentellen Einrichtung danke ich für die sorgfältige Betreuung der Tiere.

Lebenslauf



Durchschuß

Bezirksregierung Münster

Friedensgang, Münster - 48149 Münster

Gegen Empfangsbekanntnis

Herrn
 Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Ulrich Joos
 Herrn
 Dr. Dr. Ulrich Meyer
 Klinik und Poliklinik für Mund-,
 Kiefer- und Gesichtschirurgie der
 Westf. Wilhelms-Universität Münster
 Waldeyerstraße 30

48149 Münster

Dienstgebäude
 Domplatz 1-3
 Telefon: (0251) 411-0
 Durchwahl: 2110
 Zimmer: 431
 Frau Möllers
 Aktenzeichen
 23.0035.1.0 (0.90/99)

3. Januar 2000

Betr.: Tierschutz;
 hier: Durchführung von Versuchen an Wirbeltieren

Bezug: Ihr Antrag vom 03.12.1999, hier eingegangen am
 03.12.1999

G e n e h m i g u n g s b e s c h e i d

Sehr geehrter Herr Prof. Dr. Joos,
 sehr geehrter Herr Dr. Meyer,

gemäß § 8 Tierschutzgesetz (TierSchG) in der Fassung der Bekanntmachung vom 25. Mai 1998 (BGBl. I. S. 1105) wird Ihnen die Genehmigung zur Durchführung nachstehenden Versuchsvorhabens erteilt:

Experimentelle Untersuchungen der Knochenumbauvorgänge um sofortbelastbare biodynamische Implantate.Kurzbezeichnung: **Knochenumbauvorgänge um Dentalimplantate**

Leiter des Versuchsvorhabens und sein Stellvertreter sind:

Herr
 Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Ulrich Joos
 Klinik u. Poliklinik für Mund-,
 Kiefer- u. Gesichtschirurgie der
 Westf. Wilhelms-Universität
 Waldeyerstraße 30

48149 Münster

Herr
 Dr. Dr. Ulrich Meyer
 Klinik u. Poliklinik f. Mund-,
 Kiefer- u. Gesichtschirurgie
 Westf. Wilhelms-Universität
 Waldeyerstraße 30

48149 Münster

Grünes Umweltkennzeichen: (0251) 411-3300

e-mail: poststelle@bezug-muenster.nrw.de • X-400: C=de, A=dlp, F=ds-erw, O=bezreg-muenster, S=poststelle • Telefax (0251) 411-2525

Konten der Regierungskasse Münster:

Landeszentralbank Niederlassung Münster BLZ: 400 000 00 Konto: 40 001 520

Westfälische Landesbank Girozentrale Münster BLZ: 400 500 00 Konto: 61 820

Öffentliche Verkehrsmittel - Buslinien 1, 5, 6, 17 bis Haltestelle Prinzipalmarkt und 2, 10, 11, 14, 21, 64 bis Domplatz

Diese Genehmigung gilt bis zum 31. 01. 2002.

Zur Durchführung des Versuchsvorhabens dürfen folgende Tiere verwendet werden:

30 Minischweine.

Auflagen:

Mit dem Versuchsvorhaben darf erst nach Vorliegen dieser Genehmigung begonnen werden.

~~Ich bitte, mir umgehend einen postoperativen Schmerzplan nachzureichen.~~

Sofern der Leiter des Versuchsvorhabens oder sein Stellvertreter wechselt, ist mir dieser Wechsel unverzüglich anzuzeigen.

Diese Genehmigung wird zurückgenommen, wenn bei der Erteilung die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht gegeben waren.

Sie wird widerrufen, wenn die Voraussetzungen nach § 8 Abs. 3 TierSchG nicht mehr gegeben sind und dem Mangel nicht innerhalb einer von mir zu bestimmenden Frist abgeholfen wird; sie kann widerrufen werden, wenn ihre Bedingungen und Auflagen nicht erfüllt werden oder den Vorschriften des § 9 Abs. 2 TierSchG wiederholt oder grob zuwidergehandelt worden ist.

Ein Antrag auf Verlängerung der Genehmigung ist rechtzeitig vor Ablauf der Frist bei mir zu stellen.

Da das Versuchsvorhaben überwiegend im öffentlichen Interesse erfolgt, wird von der Erhebung einer Verwaltungsgebühr Abstand genommen.

Rechtsbehelfsbelehrung:

Gegen diesen Bescheid kann innerhalb eines Monats nach Bekanntgabe Widerspruch erhoben werden. Der Widerspruch ist bei mir unter der oben genannten Anschrift schriftlich oder zur Niederschrift einzureichen.

Sollte die Frist durch das Verschulden eines von Ihnen Bevollmächtigten versäumt werden, so würde dessen Verschulden Ihnen zugerechnet werden.

Ich bitte um umgehende Rückgabe des beiliegenden Empfangsbekanntnisses.

Mit freundlichen Grüßen
Im Auftrag

gel.

Dr. Piontkowski