



**FÖDERALE EINRICHTUNG DES STAATSHAUSHALTS**  
**WISSENSCHAFTLICHES FORSCHUNGSINSTITUT**  
**FÜR ALLGEMEINE PATHOLOGIE UND PATHOPHYSIOLOGIE**  
**DER RUSSISCHEN AKADEMIE DER MEDIZINISCHEN WISSENSCHAFTEN**

Moskau, 125315, Baltijskaja  
ul. 8

E-Mail: [niiopp@mail.ru](mailto:niiopp@mail.ru); <http://www.niiopp.ru>

Tel. +7(499)151-17-56 Fax: +7(495)601-23-66

---

№ 13/07/021

"16." Juli 2013

**Studienbericht zur Biosicherheit und Biokompatibilität von**  
**Mustern zahmedizinischer Stifte auf der Basis von Titan und**  
**Zirconiumdioxid**

Labor für Zellbiologie und Entwicklungspathologie der Föderalen Einrichtung des Staatshaushalts Wissenschaftliches Forschungsinstitut für Allgemeine Pathologie und Pathophysiologie der Russischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften

Saburina, I.N.<sup>1,2</sup>, Kolokol'cova, T.D.<sup>1,2</sup>, Koseleva, N.V.<sup>1</sup>, Zurina, I.M.<sup>1</sup>, Gorkun, A.A.<sup>1</sup>, Orlov, A.A.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup> *Föderale Einrichtung des Staatshaushalts Wissenschaftliches Forschungsinstitut für Allgemeine Pathologie und Pathophysiologie der Russischen Akademie der Medizinischen Wissenschaften, Moskau, Russland*

<sup>2</sup> *Russische Medizinische Akademie für postgraduale Ausbildung, Moskau, Russland*

<sup>3</sup> *Akademische Stomatologische Klinik, Moskau, Russland*

## **Einleitung**

Eine wichtige Methode in der modernen Zahnheilkunde zur Behandlung beschädigter oder zerstörter Zähne ist der Einsatz von Kompositwerkstoffen, wie z.B. zahnärztlichen Implantaten, die vorher mit multipotenten Stammzellen beschichtet wurden, deren Verwendung als eine der zukunftsreichsten Richtungen in der regenerativen Knochenmedizin gilt (Zigdon, Levin, 2012). Klinische Beobachtungen haben gezeigt, dass eine Wiederherstellung des Kronenteils eines Zahnes ohne intrakanalären Stift häufig unmöglich ist. Stifzähne sind schon sehr lange bekannt. Bereits zu Beginn des 18. Jahrhunderts (1728) wurden sie von Pierre Fochard eingesetzt. Ungeachtet der großen Vielfalt von Stiftkonstruktionen, die aktuell in der zahnmedizinischen Praxis effektiv zum Einsatz kommen, werden diese ständig weiterentwickelt (Formen und Zusammensetzung optimiert). Eine wichtige Rolle spielen Material und Oberflächenrelief der zahnmedizinischen Stifte sowie die Minimierung potentieller zytotoxischer Effekte.

In den letzten Jahren waren vorwiegend Stifte aus Titan (Ti) weit verbreitet (Valencia et al., 2009, Cai et al., 2009, Giannoni et al., 2009). Ein Alternativmaterial für zahnmedizinische Implantate ist Zirkoniumdioxid ( $ZrO_2$ ), das außerdem als äußerst vielversprechend für den Einsatz in der regenerativen Medizin gilt (Neunzehn et al., 2012). Eine grundlegende Anforderung an Implantate bleiben deren Ungiftigkeit und die Biokompatibilität zu den Zahngeweben, deren Bewertung durch den Einsatz von in vitro gezüchteten Zellen möglich ist. Die Möglichkeit von in vivo Beobachtungen mit Hilfe eines Mikroskops macht die Zellkulturen zu einem unersetzlichen Modell bei der Durchführung von Studien in der Biologie, Medizin, Pharmakologie und Kosmetologie, und außerdem können sie zur Kontrolle der Zytotoxizität zahnmedizinischer Stifte eingesetzt werden.

Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Zytotoxizität der zahnmedizinischen Implantate Easy Fast S (Ti) und Easy Kon ( $ZrO_2$ ) unter Einsatz multipotenter mesenchymaler Stammzellen aus menschlichem Fettgewebe.

## **MATERIALIEN UND METHODEN:**

**Materialien.** Die Studie wurde an handelsüblichen zahnmedizinischen Stiften 0483 Easy Fast S (General Implants GmbH, Germany) auf der Basis von Titan (Ti) und 0297 Easy Kon (General Implants GmbH, Germany) auf der Basis von Zirkoniumdioxid durchgeführt ( $ZrO_2$ ). Implantatgrößen: Easy Fast S – Durchmesser = 3,8 mm, Länge = 10,0 mm; Easy Kon – Durchmesser = 6,0 mm, Länge = 10,0 mm.

**Zellkultur.** Zur Besiedelung der Implantate wurde eine Kultur von Stammzellen aus menschlichem Fettgewebe (Human Adipose Derived Stromal Cells – hADSC) verwendet, die aus Lipoaspirat gezüchtet wurde, das bei einer Liposuktion mit freiwilliger Zustimmung der Patienten nach der Standardmethode gewonnen wurde (Zuk et al., 2001, Dubois et al., 2008). Das Wachstumsmedium bestand aus einem Gemisch von DMEM/F12 im Verhältnis 1:1 unter Zusatz von 2mM L-Glutamin, 10 % fetalem

Rinderserum und 100 Einh./ml Gentamycin. *Das Kulturmedium für die osteogene Induktion* bestand aus dem Nährmedium unter Zugabe von  $10^{-7}$ M Dexamethason, 10 mM Glycerophosphat und 0,2 mM Ascorbinsäure. Die Zellen wurden bis zur Entstehung einer Monoschicht im Nährmedium über vier Passagen kultiviert, mit Hilfe von 0,25 % Trypsinlösung entnommen und die Zellsuspension durch Zentrifugieren (7 Minuten, 1000 U/min.) abgesetzt. Die Arbeit mit den Zellkulturen erfolgte in einer Laminarbox Thermo Scientific LTD unter Einhaltung der aseptischen Vorschriften.

**Besiedelung der Implantate.** Vor der Besiedelung mit den Zellen wurden die Implantate in das Wachstumsmedium eingebracht und dort mindestens 24 Stunden bei Zimmertemperatur belassen. Dann wurden sie einzeln in die Löcher einer Zellkulturtestplatte mit 12 Kalotten (TPP, Schweiz) übertragen, wobei zuvor die Räume zwischen den Kalotten der Testplatte mit Wachstumsmedium ausgefüllt wurden, um ein Verdunsten des Mediums in den Kalotten zu vermeiden. Nach dem Zentrifugieren wurden die Zellen pipettiert und in einer Menge von  $2 \times 10^5$  Zellen in 80  $\mu$ l osteogenem Induktionsmedium auf jeden Stift aufgetragen, danach in einen CO<sub>2</sub>-Inkubator gestellt und bei 37 °C zur Adhäsion der Zellen an der Implantatoberfläche belassen. Nach 80 min. wurde in jede Kalotte vorsichtig bis zu 1 ml Induktionswachstumsmedium hinzugefügt und in den CO<sub>2</sub>-Inkubator gestellt. Als Kontrolle für die Untersuchung des Fortbestehens der osteogenen Differenzierung wurde eine Kultur von hADSC verwendet, die in 1 ml osteogenes Medium (Kontrolle 1) und Wachstumsmedium (Kontrolle 2) in die Kalotten eingebracht wurde.

Die Zellkulturtestplatte wurde mit einem Spezialdeckel verschlossen, um die Bedingungen zur Zellkultivierung in 5 % CO<sub>2</sub> bei einer Temperatur von 37<sup>0</sup> C zu gewährleisten, und in ein Cell-IQ-Gerät (Chip Man Technologies, Finnland) zur dauerhaften in vivo Beobachtung an lebenden Objekten (Time-lapse microscopy) eingesetzt. Die in vivo Beobachtung der Lebensfähigkeit, der Proliferation der Zellen und ihres Phänotyps erfolgte über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg. Die Probenfixierung erfolgte über 48 Stunden der Co-Kultivierung mit den Zellen.

Die Proben wurden mit der Methode der Rasterelektronenmikroskopie (REM) untersucht. Ein Teil der Versuchs- und Kontrollzellen (Kontrolle 1) wurde in einer Dichte von  $5 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup> auf Deckgläser (24X24 mm, Menzel, Deutschland) aufgetragen und zur anschließenden immuntoxischen Analyse in Petrischalen (35 mm, TPP, Schweiz) platziert. Die restlichen Zellen von jeder Probe in einer Menge von  $2-3 \times 10^5$  wurden zur Gewinnung der totalen Mutter-RNA verwendet.

**Time-lapse microscopy.** Zur Analyse der Zellproliferation und Zellaktivität wurde die Zellkulturtestplatte mit den Stiften und der Kontrolle 2 in ein Cell-IQ-Gerät (Chip Man Technologies, Finnland), ein Gerät zur dauerhaften in vivo Beobachtung lebender Objekte, gelegt. Die fotografische Erfassung erfolgte alle 20 Minuten über zwei Tage. Die weitere Analyse erfolgte mit Hilfe der Software Cell-IQ Analyser.

**Rasterelektronenmikroskopie.** Die Präparate wurden mit 2,5 % Glutaraldehydlösung über einen Zeitraum von 2 Stunden fixiert, dann in 1 % OsO<sub>4</sub>-Lösung (2 Stunden) weiter fixiert und in Alkoholen mit steigender Konzentration (2 Schichten zu je 5 min.) und Aceton (3 Schichten zu je 10 min.) entwässert. Danach wurden die Muster am kritischen Punkt getrocknet und vor der Präsentation im Vakuum mit Gold bedampft, wodurch ein Abdruck mit den Konturen der Probe entstand, der anschließend unter dem Rasterelektronenmikroskop CamScan (Japan) untersucht wurde.

**Expression von Mutter-RNA.** Die Zellen (hADSC) der Versuchs- und Kontrollkulturen wurden mit Trizol (Invitrogen, USA) lysiert. Die Zelllysate jeder Probe wurden durch Zentrifugieren gesammelt und dann pipettiert. Die totale RNA wurde in Übereinstimmung mit dem Herstellerprotokoll gewonnen und mit Ethanol abgeschieden. Mit Hilfe eines MMLV RT Kit (Evrogen, Russland) wurde aus jeder Probe eine komplementäre DNA gewonnen, die zur Bestimmung von TBP („Wirtsgen“), Cbfa-1 und BMP2 untersucht wurden.

**Immunzytochemische Analyse.** An den 4 Tagen der Kultivierung wurden die Gläser mit den Zellen (hADSC) mit dem Wachstumsmedium und dem osteogenen Medium dreimal mit Phosphatsalz-Pufferlösung (pH = 7,4) gespült und in 4 % Paraformaldehydlösung (Sigma, USA) 20 Minute lang bei + 4 °C fixiert. Dann wurden die Gläser mit den Zellen von der Fixierlösung gesäubert und mit primären Antikörpern zum Osteocalcin (R&D Systems; USA) und anschließend mit artspezifischen sekundären Antikörpern inkubiert, die mit Fluorchrom FITC (Thermo Scientific LTD, USA) laut Herstellerprotokoll konjugiert wurden. Die Kerne wurden mit dem Fluoreszenzfarbstoff Bisbenzimid - Hoechst 33258 (Invitrogen, USA) gefärbt. Die erhaltenen Präparate wurden mit Deckgläsern abgedeckt und im sichtbaren und im UV-Licht-Bereich unter dem Laser-Konfokalmikroskop Olympus Fluoview FV101 (*Olympus*, Japan) analysiert.

## UNTERSUCHUNGSERGEBNISSE

Bei der Sichtprüfung wiesen die äußerlich untersuchten Implantate keine Unterschiede auf und sahen aus wie Schrauben mit einer ebenen, glatten Oberfläche (Abb. 1). Bei der Rasterelektronenmikroskopie zeigte sich jedoch ein beträchtlicher Unterschied in der Ultrastruktur ihrer Oberflächen. Die Oberfläche des Zirconiumimplantats 0297 sah ebener und glatter aus als die Oberfläche des Titanimplantats 0483 (Abb. 2). Das Titanimplantat hatte eine unebene Oberfläche mit größeren Vertiefungen und Poren (Abb. 2 V, G).



Abb. 1 Äußere Ansicht der Implantate unter dem Invertmikroskop. Vergrößerung X40 ob.

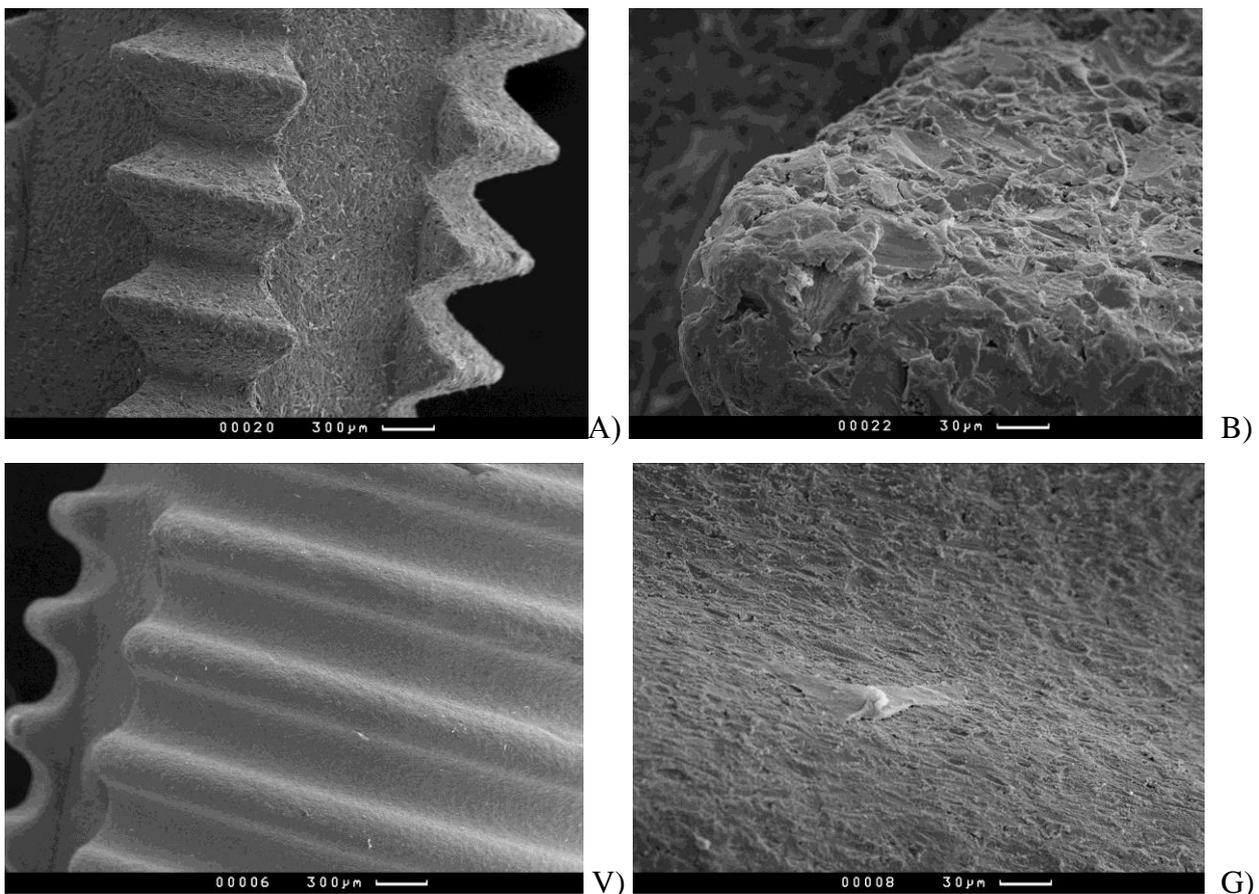


Abb. 2 Rasterelektronenmikroskopie der Oberfläche zahnmedizinischer Implantate bei verschiedenen Vergrößerungen. **A, B** – 0297 Easy Kon (General Implants GmbH, Germany) auf der Basis von Zirkoniumdioxid ( $ZrO_2$ ), **V, G**– 0483 Easy Fast S (General Implants GmbH, Germany) auf Titanbasis (Ti).

Die Untersuchungen im System Cell-IQ zeigten, dass sich die Stifte auch hinsichtlich ihrer Adhäsionseigenschaften unterschieden. Die Stammzellen des Fettgewebes (hADSC) hefteten sich innerhalb der ersten Stunde nach dem Einbringen aktiv an und verflachten an der Oberfläche des Implantats aus Ti. Bei der Kultivierung bedeckten die Zellen nach 48 Stunden gleichmäßig die gesamte Implantatoberfläche.

che, behielten dabei ihren fibroblastähnlichen Phänotyp, produzierten eine große Anzahl langer, dünner Fortsätze (Philopodien), was zu einer Steigerung von Zell-Zell-Kontakten und Kontakten mit dem Implantat führte, die auf starke adhäsive Eigenschaften der Zellen auf dem Titanimplantat hindeuten (Abb. 3 A, B).

Im Unterschied dazu wurden an dem Implantat aus Zirconium keine aktive Adhäsion und kein Zellwachstum festgestellt (Abb 3 B,G). Es wurden einzelne, runde, nicht abgeflachte ("kugelförmige") Zellen beobachtet. Die Berührungsfläche der Zellen mit der Implantatoberfläche waren minimal. Dabei bildeten die Zellen am Boden der Kalotte der Zellkulturtestplatte in Gegenwart des Implantats eine dichte Monoschicht fadenförmig wachsender Stammzellen mit Inseln mit mehrschichtigem Wachstum.

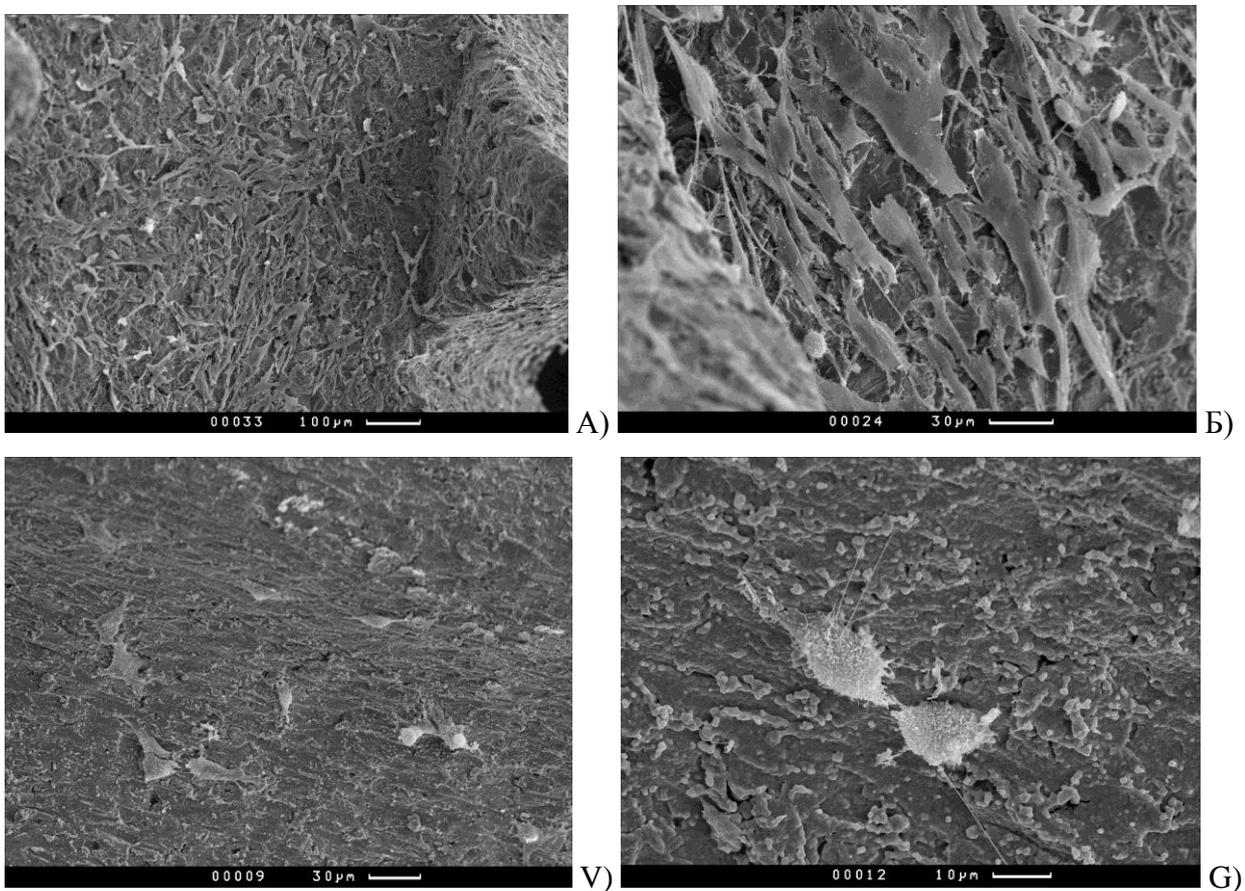


Abb. 3 Morphologie und Charakter des Zellwachstums an der Oberfläche zahnmedizinischer Implantate. *Rasterelektronenmikroskopie.*

**A, B** – 0483 Easy Fast S (General Implants GmbH, Germany) auf Titanbasis (Ti), **V, G** – . 0297 Easy Kon (General Implants GmbH, Germany) auf Basis von Zirconiumdioxid ( $ZrO_2$ ),

In allen Versuchen wurde eine ausreichend große Anzahl von Zellen beobachtet, die sich am Boden der Kalotte absetzten und am Kunststoff anhefteten. Wachstumscharakter und Zellmorphologie unterschieden sich nicht wesentlich voneinander und waren durch polygonale oder fibroblastähnliche Zel-

len mit einer Größe von 8-18  $\mu\text{m}$  vertreten (Abb. 4). Die Zellkulturen waren gekennzeichnet durch ein fadenförmig gerichtetes Wachstum. Die Untersuchungen im System Cell-IQ zeigten, dass die Anzahl der absterbenden Zellen in Gegenwart beider Implantate weniger als 0,5 % betrug und mit den Kennzahlen in der Kontrollkultur (0,3-0,5 % ) korrelierte.

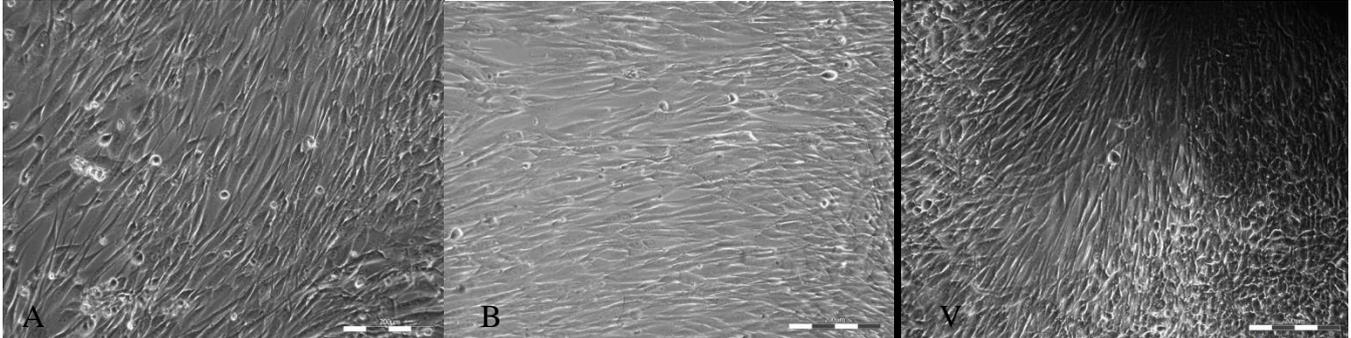


Abb. 4 Morphologie der hADSC über 48 Stunden der Co-Kultivierung in der Kontrolle 1 (A), mit den Stiften Easy Fast S (Ti) 0483 (B), Easy Kon 0297 ( $\text{ZrO}_2$ ) (V). *Phasenlichtmikroskopie*

Die in vivo Kontrolle der Zellenanzahl pro Flächeneinheit wurde im System Cell-IQ mit Hilfe einer Videokamera durchgeführt. Die Gesamtanzahl der Zellen, unter anderem die der sich teilenden und der sich nicht teilenden, in Gegenwart der Implantate und in der Kontrolle wurden mit Hilfe der Software Cell-IQ Analyzer analysiert. Die Ergebnisse sind in Form der Grafiken in Abbildung 5 dargestellt.

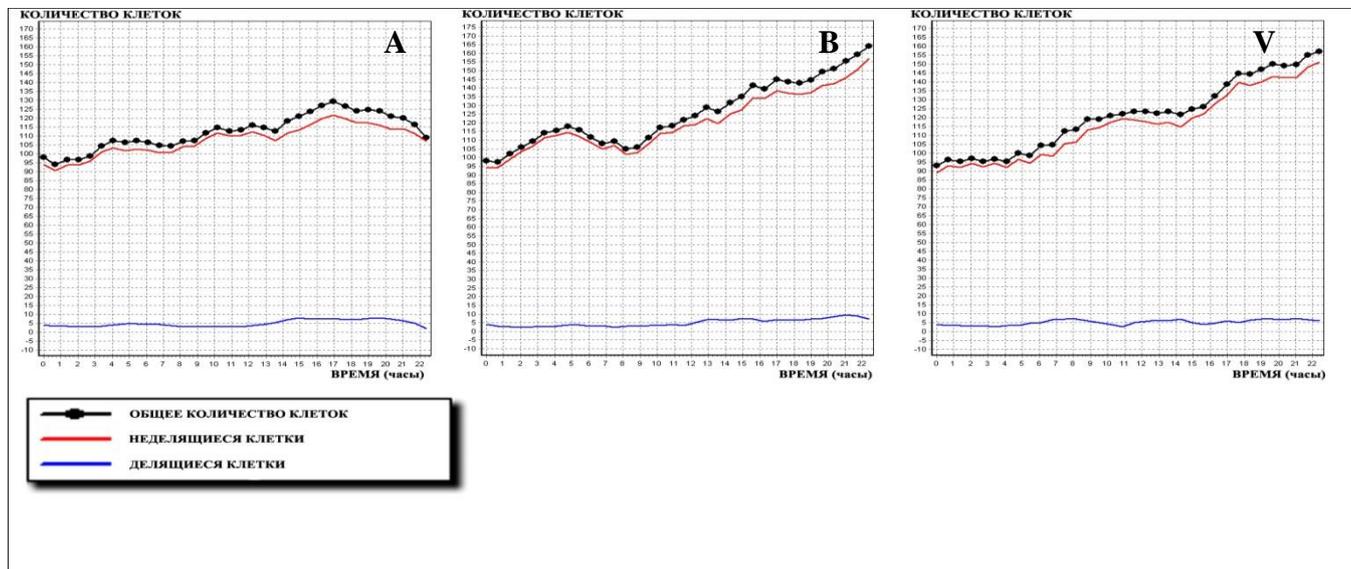


Abbildung 5. Veränderung der Anzahl der Stammzellen auf einer Fläche von 1,25  $\text{mm}^2$  des Kalottenbodens der Zellkulturtestplatte in Gegenwart der Probe 0297 -  $\text{CrO}_2$  (A), in Gegenwart der Probe 0483 - Ti (B) und in der Kontrollkultur (V) im Laufe der ersten 24 Stunden der Kultivierung.

Wie aus Abbildung 5 ersichtlich, unterschied sich das Tempo des Zellwachstums bereits im Laufe des ersten Kultivierungstages. Einen Tag später war die Anzahl der Stammzellen in Gegenwart der Titanprobe in dem analysierten Abschnitt des Kalottenbodens mit einer Fläche von 1,25  $\text{mm}^2$  um 65 %

gestiegen (Abb. 5B), was mit der Kontrollkultur vergleichbar ist, wo die Anzahl der Zellen um 60 % gestiegen war (Abb. 5V), während die Zunahme der Gesamtanzahl der Zellen in Gegenwart der Probe 0297 - CrO<sub>2</sub> zurückging und 24 Stunden später die Gesamtanzahl der Zellen auf der analysierten Fläche lediglich um 13 % (Abb. 5A) stieg. Die Kennzahlen der Zellproliferation korrelierten mit der Anzahl der stabilen, sich nicht teilenden Zellen. Im Laufe von 24 Stunden stieg die Anzahl der Zellen in Gegenwart der Stiftprobe - Ti 0483 um 62 % (Abb. 6B), was vergleichbar ist mit der Kontrollkultur, wo der Anstieg der Anzahl dieser Zellen 65 % betrug (Abb. 6V), während in Gegenwart der Probe 0297 - CrO<sub>2</sub> die Gesamtanzahl der Zellen um 8,5 % anstieg (Abb. 5A). Zwei Tage (48 Stunden) später jedoch war die Gesamtanzahl der Zellen in den Versuchsproben und in der Kontrollgruppe vergleichbar und erreichte die 100 % konfluente Monoschicht (die Zellen bedeckten die gesamte Fläche des Bodens der Zellkulturtestplatte mit einer dicken Monoschicht). Die erhaltenen Daten bestätigen den Rückgang des Proliferations tempos der multipotenten mesenchymalen Stammzellen in Gegenwart der Zirconiumprobe 0297 - CrO<sub>2</sub> in den ersten 24 Stunden der Kultivierung und der Wiederherstellung der Proliferation nach 48 Stunden. Die Gegenwart der Stiftprobe Ti 0483 hat keinen Einfluss auf die Proliferation der multipotenten mesenchymalen Stammzellen.

Die osteogene Differenzierung der Stammzellen wurde anhand der Expression der Osteogenesemarker Osteocalcin, Cbfa-1 und BMP2 untersucht. Die immunzytochemische Analyse zeigte, dass die Zellen in Gegenwart der Implantate ihre Osteocalcin-Expression auf dem Stand der Kontrolle 1 behielten (Abb. 6 A). Bei den Zellen, die im Wachstumsmedium ohne Osteogeneseinduktoren gezüchtet wurden (Kontrolle 2), kam es nicht zu einer Osteocalcinexpression (Abb. 6B).

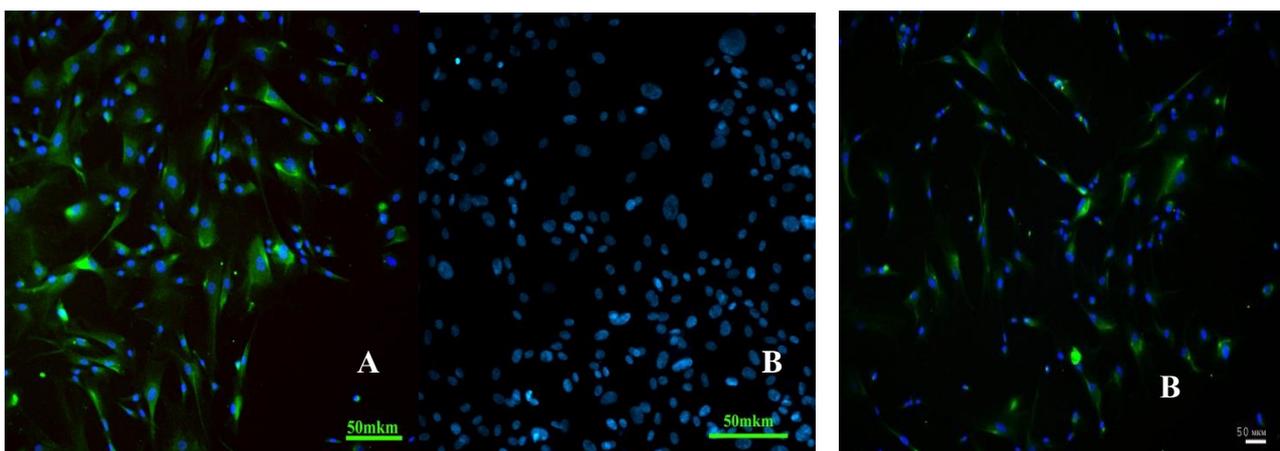


Abb. 6 Osteocalcin-Expression (grün) in den Stammzellen des Fettgewebes der Kontrollgruppen Control 1 (A) und Control 2 (B) nach der Co-Kultivierung mit dem Zirconiumimplantat (V). Kerne mit Hoechst 33258 (blau) eingefärbt. *Laser-Konfokalfluoreszenzmikroskopie*

Das Fortbestehen der osteogenen Differenzierung in den Zellen wurde durch die Analyse der totalen Mutter-RNA bestätigt, bei der in den Testkulturen eine mit der Kontrolle 1 vergleichbare Expression

von Cbfa-1 und BMP2 festgestellt wurde. Die fehlende Expression von Cbfa-1 und BMP2 und das Vorhandensein einer Expression des Kontrollgens TBP in der Kontrolle 2 bestätigen die Korrektheit der präsentierten Ergebnisse (Abb. 7).

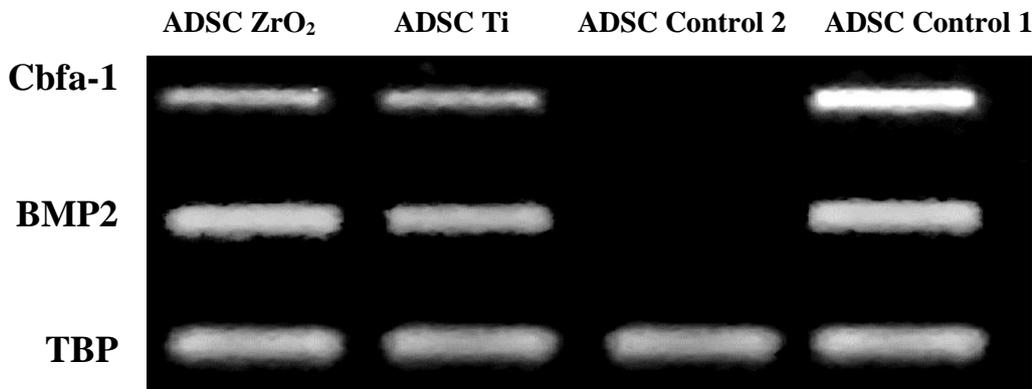


Abb. 7 Expression von Mutter-RNA durch die Zellen am 2. Kultivierungstag im osteoinduktiven Medium mit Stiften (ADSC ZrO<sub>2</sub>, ADSC Ti) und ohne Stifte (ADSC Control 1) und im nichtinduktiven Medium (ADSC Control 2).

## DISKUSSION

Zellkulturen werden gegenwärtig als einzigartiges Modell zur Erforschung der Eigenschaften und der Ungiftigkeit der Biosicherheit von Materialien für die Transplantologie angesehen. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass die Verwendung von Zellen aus unterschiedlichen Geweben und Organen und die Möglichkeit ihrer Langzeitkultivierung zu einer Verringerung der Anzahl von Tierversuchen und zur Reduzierung von Dauer und Kosten vorklinischer Studien führen kann. Stammzellen aus Fettgewebe gelten als die zukunftsträchtigsten für *in vitro* Untersuchungen (Zuk et al., 2001).

Die durchgeführten Studien haben gezeigt, dass Implantate auf der Basis von Titan und Zirkoniumdioxid keinen wesentlichen Einfluss auf die Morphologie und den Charakter des Zellenwachstum hatten. Unter experimentellen Bedingungen behielten die untersuchten Zellkulturen ihren für Stammzellen aus Fettgewebe charakteristischen Phänotyp (hADSC) bei und waren durch polygonale und fibroblast-ähnliche Zellen vertreten (Dubois et al., 2008). Das Fehlen apoptotischer und nekrotischer Körperchen in der Kultur, die hohe Lebensfähigkeit (mehr als 99,5 %) und die proliferative Aktivität waren eine Bestätigung für die nicht vorhandene Zytotoxizität der zahnmedizinischen Implantate. Ähnliche Angaben zur fehlenden Zytotoxizität und Biosicherheit von Titanimplantaten anderer Hersteller wurden bereits zu einem früheren Zeitpunkt präsentiert (Saburina et al., 2010, Neunzehn et al., 2012, Gittens et al., 2012).

In unseren Versuchen zeichnete sich das Implantat aus Zirkoniumdioxid durch einen niedrigen Adhäsionsgrad aus, d.h. wenige an der Oberfläche anhaftende Stammzellen führten zur einer Veränderung der spindelartigen fibroblastähnlichen Morphologie in eine runde Form, wobei sie einen mi-

nimalen Kontakt mit der Implantatoberfläche bildeten. Die raue Oberfläche des Implantats aus Titan begünstigte eine bessere Anhaftung und das Wachstum der hADSC-Zellen. Die Verringerung der Gesamtanzahl der Zellen in der Kalotte mit einer Probe aus Zirkonium ist möglicherweise auf die Anhaftung der Gesamtanzahl der kultivierten Zellen am Kalottenboden und die schnellere Entstehung einer dichten Monoschicht (innerhalb von 20-24 Stunden) mit anschließendem Rückgang des Zellenwachstums durch eine Kontaktinhibition zurückzuführen.

Gleichzeitig wurde von anderen Autoren festgestellt, dass viele Biomaterialien die Differenzierung und Migration mesenchymaler Zellen gefördert haben (Weyand et al., 2012, Keeve et al., 2013) und der Adhäsionsgrad der Zellen von der Mikrostruktur der Oberfläche des Biomaterials abhing (Bauer et al., 2009), was möglicherweise auf die Art und Weise der Oberflächenbehandlung bei der Herstellung zurückzuführen sein könnte.

Ferner ist bekannt, dass die Osteointegration und die osteokonduktive Aktivität zahnmedizinischer Stifte in einem beträchtlichen Maß vom Oberflächenrelief des Biomaterials und dessen Adhäsionseigenschaften abhängen (Mendonça et al., 2009, Kataoka et al., 2011). In unserem Fall wurde die osteogene Differenzierung der Stammzellen im induzierenden Medium ungeachtet des Unterschieds im Adhäsionsgrad der Zellen an ihrer Oberfläche durch beide zahnmedizinische Implantate nicht gehemmt. Bestätigt wurde dies durch die Expression der Mutter-RNA von Cbfa-1 und BMP-2 - den Transkriptionsfaktoren, die mit der frühen Differenzierung der mesenchymalen Zellen in den Osteoblasten verbunden sind, sowie die Expression von Osteocalcin in den späteren Kultivierungsphasen dieser Zellen im induzierten Medium.

## **Zusammenfassung**

Die durchgeführten Untersuchungen haben gezeigt, dass bei den untersuchten Mustern zahnmedizinischer Implantate keine Zytotoxizität vorliegt. Hohe Lebensfähigkeit, aktives Wachstum und Migration der Zellen in Gegenwart der Implantate machen diese Proben zu aussichtsreichen Kandidaten nicht nur für den Einsatz in der Zahnmedizin, sondern auch in der Orthopädie. Der Unterschied in den Adhäsionseigenschaften der Materialien für Zellen liegt augenscheinlich in der Ultrastruktur der Implantatoberfläche. Die raue Oberfläche des Titanimplantats fördert die bessere Adhäsion und das Zellwachstum und hemmt die osteogen ausgerichtete Differenzierung der Zellen nicht.

*Literaturverzeichnis:*

1. Bauer S., Park J., Faltenbacher J., Berger S., von der Mark K., Schmuki P. Size selective behavior of mesenchymal stem cells on ZrO(2) and TiO(2) nanotube arrays // *Integr. Biol. (Camb.)*. 2009. 1(8-9).P.525-32.
2. Cai K., Lai M., Yang W., Hu R., Xin R., Liu Q. et al. Surface engineering of titanium with potassium hydroxide and its effects on the growth behavior of mesenchymal stem cells // *Acta Biomaterialia*. 2010. 6(6).P.2314-21.
3. Dubois S.G., Floyd E.Z., Zvonic S., Kilroy G., Wu X., Carling S., Halvorsen Y.D., Ravussin E., Gimble J.M. Isolation of human adipose-derived stem cells from biopsies and liposuction specimens // *Methods Mol. Biol.* 2008.449.P.69-79.
4. Egusa H., Sonoyama W., Nishimura M., Atsuta I., Akiyama K. Stem cells in dentistry-Part II: Clinical applications // *J. Prosthodont. Res.* 2012.56(4).P.229-48.
5. Giannoni P., Muraglia A., Giordano C., Narcisi R., Cancedda R., Quarto R., et al. Osteogenic differentiation of human mesenchymal stromal cells on surface-modified titanium alloys for orthopedic and dental implants // *International Journal of Artificial Organs*. 2009.32(11).P.811-820.
6. Gittens R.A., Olivares-Navarrete R., McLachlan T., Cai Y., Hyzy S.L., Schneider J.M., Schwartz Z., Sandhage K.H., Boyan B.D. Differential responses of osteoblast lineage cells to nanotopographically-modified, microroughened titanium-aluminum-vanadium alloy surfaces // *Biomaterials*. 2012 .33(35).P.8986-94.
7. Kataoka Y., Tamaki Y., Miyazaki T. Synergistic responses of superficial chemistry and micro topography of titanium created by wire-type electric discharge machining // *Biomed. Mater. Eng.* 2011.21(2). P.13-21
8. Keeve PL, Dittmar T, Gassmann G, Grimm WD, Niggemann B, Friedmann A. Characterization and analysis of migration patterns of dentospheres derived from periodontal tissue and the palate // *J. Periodontal Res.* 2013.48(3).P.276-85 .
9. Mendonça G., Mendonça D.B., Simões L.G., Araújo A.L., Leite E.R., Duarte W.R., Aragão F.J., Cooper L.F. The effects of implant surface nanoscale features on osteoblast-specific gene expression // *Biomaterials*. 2009. 30(25). P.4053-62.
10. Neunzehn J., Lüttenberg B., Wiesmann H.P. Investigation of biomaterials by human epithelial gingiva cells: an in vitro study // *Head Face Med.* 2012.N8. P.35-46.
11. Terheyden H., Lang N.P., Bierbaum S., Stadlinger B. Osseointegration--communication of cells // *Clin. Oral Implants Res.* 2012.V.23(10). P.1127-35.

12. Valencia S., Gretzer C., Cooper L.R. Surface nanofeature effects on titanium-adherent human mesenchymal stem cells // *International Journal of Oral and Maxillofacial Implants*. 2009. V.24(1). P.38-46.
13. Weyand B., Kasper C., Israelowitz M., Gille C., von Schroeder H.P., Reimers K., Vogt P.M. A differential pressure laminar flow reactor supports osteogenic differentiation and extracellular matrix formation from adipose mesenchymal stem cells in a macroporous ceramic scaffold // *Biores. Open Access*. 2012 .V.1(3).P.145-56.
14. Zigdon H., Levin L. Stem cell therapy for bone regeneration: present and future strategies // *Alpha Omegan*. 2012. V.105(1-2) .P.35-8.
15. Zuk P.A., Zhu M., Mizuno H., Huang J.I., Futrell W.J., Katz A.J., Benhaim P., Lorenz H.P., Hedrick M.H. Multilineage cells from human adipose tissue: implications for cell based therapies. // *Tissue Eng*. 2001. V. 7. P. 211-226.
16. Saburina, I.N., Gorkun, A.A., Orlov, A.A., Untersuchung von Biosicherheit, Biokompatibilität und osteokonduktiver Aktivität der zahnmedizinischen Titanstifte Apolonia (Laser) und Apolonia (RBM). // *Medicinskij alfavit: Stomatologija*. – M.: OOO "Al'fmed", 2010. – T.2, Nr 5. – S. 36-39.