

Uporaba eksperimentalnih životinja u ispitivanju dentalnih implantata

The Use of Experimental Animals During Investigation of Dental Implants

Tihomir Švajhler¹,
Irina Filipović-Zore²,
Pavel Kobler²,
Darko Macan²

¹Privatna stomatološka
ordinacija, Zagreb
²Zavod za oralnu kirurgiju
Stomatološkog fakulteta
Sveučilišta u Zagrebu

Sažetak

Ispitivanje na životinjama uobičajena je metoda provjere teoretskih načela medicinske prakse. Gotovo da nema vrste i podvrste životinjskoga svijeta na kojoj se nije obavljalo koje znanstveno istraživanje. U stomatološkim istraživanjima najčešće se upotrebljavaju laboratorijski štakori, psi, čimpanze ili svinje. Svaki novi dentalni implantološki sustav prije komercijalizacije treba strogo znanstveno i klinički provjeriti. Pokusi na životinjama nezaobilazan su dio temeljnih istraživanja, i to: testiranja toksičnosti dentalnog implantata, istraživanja njegove biokompatibilnosti, te procjene uspješnosti oblika (dizajna). Znanstvena istraživanja dentalnih implantata počinju pedesetih godina ovoga stoljeća, a znanstvene metode istraživanja svakim su danom sve sofisticiranije, kriteriji za kliničku evaluaciju sve stroži.

U radu je opisano temeljno istraživanje novoga implantološkog sustava DPI provedenog na pasmini beagle. Cijelo istraživanje na psu kao eksperimentalnome modelu provedeno je na Zavodu za oralnu kirurgiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Dobivenim rezultatima istraživanja je potvrdilo da je DPI sustav dobar i dalje upotrebljiv, da je osebujna dizajna, biokompatibilan i oseointegrirajući. Pas beagle pokazao se dobrim eksperimentalnim modelom za ispitivanje dentalnih implantata.

Ključne riječi: dentalni implantat, eksperimentalni model, pas pasmine beagle

Acta Stomatol Croat
1997; 213—220

IZVORNI ZNANSTVENI
RAD
Primljeno. 30. Svibnja 1997.
Received: May, 30. 1997.

Uvod

U povijesti medicine dobro je znana činjenica da je ispitivanje na životinjama bilo temelj rada kao metoda kritičke provjere teoretskih počela i načela medicinske prakse (1).

Ta je znanstvena metoda kroz povijest postala nezaobilazna odrednica u znanstvenim i stručnim medicinskim istraživanjima, poglavito u bazičnim medicinskim znanostima.

Povjesničari medicine razilaze se u porocjenama (1) uloge eksperimentalnoga pristupa u medicini he-

lenističkoga razdoblja, koja je ključno ishodište zapadnjačke znanstvene misli. Jedni osporavaju mogućnost da su se grčki učenjaci uopće služili pokusima, a time i životinjama, kao metodom otkrivanja prirodnih zakona, drugi pak antičkom eksperimentiranju pripisuju važnu ulogu.

Pokuse na životinjama izvodio je još u V. stoljeću prije Krista Alkmeon iz Krotona (grčki liječnik i filozof, Pitagorin učenik u Krotonu, južna Italija), a početke poredbene anatomofiziologije postavio je Aristotel. Vitalne su funkcije organizma eksperimentima na životinjama objasnili predstavnici Aleksandrijske škole (III. stoljeće prije Krista), a kulminacija tih istraživanja dostiže se misli i djelom Galena (120.-200. g. po Kristu). Pojavom arabiziranoga galenizma i skolastičke dogme do XVI. stoljeća eksperimentalnoj misli zamire svaki trag. Eksperimentiranje životinjama ponovno se javlja u renesansi, a sredinom XIX. stoljeća prevladavanjem materijalističkoga tumačenja javlja se moderna eksperimentalna medicina. Pokusne životinje danas se upotrebljavaju u svim temeljnim istraživanjima biomedicinskih znanosti kao osnova svih kliničkih disciplina u medicini, stomatologiji, veterini i farmaciji (2-12).

Gotovo da nema vrste i podvrste životinjskoga svijeta na kojoj se nije obavljalo koje znanstveno istraživanje, no u konvencionalne laboratorijske vrste ubrajaju se i za to uzgajaju miševi, štakori, zamorci, hrčci i kunići od glodavaca, te psi, svinje, konji i čimpanze od većih sisavaca.

Poredbenom se je odontologijom spoznalo da su za stomatološka istraživanja najpogodniji laboratorijski štakori, psi, čimpanze ili svinje (13). Premda su zubi sastavni dio organizma svih kralježnjaka (14), zbog načina prehrane, rasporeda zuba, načina nicanja i metabolizma okolne čeljusne kosti najveća je sličnost između stomatognatoga sustava ljudi i majmuna. Čimpanza, gorila i orangutan imaju frugivorno-omnivorno zubalo i vuku zajedno s čovjekom korijen iz eocenskih sisavaca (14). Zbog posebnih uvjeta uzgoja i rasta takvi animalni modeli zahtijevaju posebne laboratorijske uvjete i znatne novčane troškove. Svinja kao svežder (po prehranbenim navikama vrlo slična čovjeku, ali morfološki ima dosta razlikovno zubalo, a pogotovo temporo-mandibularni zglob) zbog svoje lake uzgojivosti često služi u eksperimentalne svrhe (6,7,9). Glodavci kao eksperimentalni model nisu sasvim pogodni za

istraživanje na zubima jer im sjekutići imaju perzistentan rast, ali su nezaobilazan model u istraživanju metabolizma čeljusne kosti, čeljusnoga zgloba, toksičnosti i kancerogenosti dentalnih materijala, istraživanja nuspojava kod farmakoloških pripravaka i općenito kao početni model za ispitivanje u svim stomatološkim istraživanjima (15,16,17).

Pas se kao eksperimentalni model pokazao u temeljnim stomatološkim istraživanjima najpogodnijim modelom. U tu je svrhu uzgojena i posebna eksperimentalna pasmina - beagle (4,10,11,18-24).

Svaki se novi dentalni implantološki sustav mora prije komercijalizacije strogo klinički provjeriti (2-12, 18-24). Pokusi na životinjama nezaobilazni su dio postupka prije kliničke procjene (2-12, 18-24).

Danas je razvijen čitav niz implantoloških sustava koji su slični, ali svaki ima i svoje posebnosti. Niti jedan od njih nije univerzalan. Zato svi proizvođači dentalnih implantata imaju znanstvene timove koji eksperimentiraju i usavršavaju implantološke sustave i stalno uvode nove parametre kliničkoga praćenja, ali i praćenja na eksperimentalnome modelu.

Prijelomnicama se u dentalnoj implantologiji smatraju dva otkrića. Pedesetih godina ovoga stoljeća Breder je ustanovio da se implantat od titana usađen u kost eksperimentalne životinje dobro prihvatio (25). Šesdesetih je godina na nizu eksperimenata na životinjama Švedski znanstvenik Per Ingvar Branemark sa svojim istraživačkim timom dokazao da titanijski implantati oseointegriraju (26-31). Na toj se činjenici danas temelji pristup implantologiji kao disciplini stomatološke znanosti. Osamdesete godine donose dokaze o oseointegraciji iz niza eksperimentalnih radova na životinjama i prve rezultate uporabe implantata u desetogodišnjem razdoblju (31-25). Nakon toga slijedi prava poplava eksperimenata na životinjama u svrhu procjene oblika i kakvoće pojedinih dentalnih implantata (2-12, 18-24, 26-30). Danas eksperimentalnim radom upravljaju tri sktrukovne organizacije: ANSI (American National Standard Institute), ADA (American Dental Association) i FDI (Federation Dentaire International), a većina je internacionalnih implantoloških kongresa sponzorirana od NIH-a (National Institute of Health) (36).

Temeljna istraživanja na životinjskome modelu, prije kliničke uporebe implantata, sastoji se od:

- testiranja toksičnosti implantata
- istraživanja biokompatibilnosti
- procjene uspješnosti oblika (dizajna) implantata na određenome mjestu.

Istraživanje **toksičnosti**, odnosno sigurnosti dentalnih materijala, najčešće uključuje sedamnaest testova (37,38). Od jedanaest testova koji se provode za dentalne implantate sedam ih se izvodi na eksperimentalnim životinjama. Cilj je odrediti odgovor domaćina na usađeni materijal s obzirom na upalnu reakciju, kancerogeni potencijal, mikrosistemske i makrosistemske učinke. Za te se testove upotrebljavaju male laboratorijske životinje, a ispitivani materijal usađuje se u bilo koju kost u tijelu, pa čak i u drugo tkivo (27,29). Kako se danas u implantologiji rabe materijali za koje se otprilike zna da nisu toksični za ljudsko tijelo, u izvješćima o novim implantološkim sustavima nailazimo samo na negativne odgovore istraživanih parametara (38).

Ipak ima autora (38) koji upozoravaju na oslobađanje kovinskih produkata s površine kovinskih implantata, koji do sada nisu registrirani u testovima ni lokalne ni sustavne toksičnosti. Dokazana je činjenica da postoji prijenos iona s površine implantata u okolno tkivo domaćina, a pri tome nije isključena ni distribucija krvotokom u druge vitalne organe. No točni metabolički putovi nisu do sada poznati (38).

Za procjenu **biokompatibilnost implantata** rad na eksperimentalnim životinjama neprocjenivo je važan. Kriterije za procjenu vrijednosti materijala za izradu dentalnih implantata postavio je na osnovi niza pokusa 1986. European Society of Biomaterials i mjeri se stupnjem njegove biokompatibilnosti. Odlika je toga svojstva da u živu organizmu ne izaziva reakciju na strano tijelo, ne resorbira se, nije toksičan ni kancerogen (37). Akademsko je pitanje postoji li potpuna biokompatibilnost, jer se to često ne događa ni sa autologno usađenom kosti. Materijale koji se danas upotrebljavaju u dentalnoj implantologiji dijelimo - s obzirom na reakcije koje izazivaju u koštanoj metabolizmu, te na vrstu tkivnoga cijeljenja po usađivanju - na biotolerantne, bioinertne i bioaktivne. Do takve se podjele došlo nakon mnogih pokusa *in vitro* i *in vivo*, te mjerenjem raznih parametara koštanoj metabolizma. Kod svakog ispitivanja bilo kojega materijala za usađivanje uvijek se radi čitav niz biokemijskih pretraga (ion-

ski kalcij, anorganski fosfati, aktivnost alkalne i kiselice fosfataze, vrijednosti osteokalcina (BGP), standardizirane radiološke pretrage, kvantitativne metode za određivanje koštane mase i gustoće na osnovi standardiziranih radioloških snimaka (radiogrametrija, denzitometrija, kompjutorizirana tomografija), biopsije kosti, histologija, te statička i dinamička histomorfometrija.

Biotolerantni materijali većinom su kovine (nehrđajući čelik, krom-kobalt-molibden slitina, slitina plemenitih kovina), te plastične mase (polioksimetilen i polimetilmetakrilat). Bioreakcija na takve materijale je fibrozealna inkorporacija.

Kod bioinertnih materijala (titan, tantal, aluminijsko-oksidna keramika) usađivanjem u kost ne oštećuje se regenerativna sposobnost koštanoj tkiva, te njegovo kasnije remodeliranje nema imunoloških odgovora pa se implantati mogu inkorporirati neposrednom koštanoj vezom (6,8,28,30,31,39,40,41). Na takvoj neposrednoj koštanoj vezi, dokazivoj elektronskim mikroskopom, temelji se već spominjana Branemarkova koncepcija osteointegracije (25-31).

Sedamdesetih godina, kada je većina faza osteogeneze bila razjašnjena počelo se je s presađivanjem vaskulariziranih i nevasikulariziranih koštanih usadaka, osnutkom pravih koštanih banaka, te se je intenzivno počela istraživati oseinduktivna sposobnost koštanoj tkiva. Tada je nizom pokusa (15, 42-44), većinom na životinjskom eksperimentalnome modelu, dokazano de se kost može stvarati bilo gdje, gdje god ima stanica mezenhimalnoga podrijetla pod utjecajem morfogenetskog proteina kosti, ali da i neki biomaterijali mogu u kosti izazvati osteogenezu, dok tu mogućnost nema izvan skeleta (15,41).

Nakon takvih pokusa i u dentalnoj su se implantologiji počeli rabiti tzv. bioaktivni materijali (staklena keramika, kalcijfosfatna keramika) koji nakon usadnje u koštano tkivo pobuđuju osteogenezu. Međutim, osnovni je problem tih materijala njihova resorbibilnost, odnosno prodor osteogeneze s površine materijala u dubinu te inkorporiranje materijala u koštano tkivo domaćina i podložnost tih materijala remodeliranju (8,10,11,23,24,33,34,38).

Danas postoji čitav niz studija na eksperimentalnim modelima koje vrednuju svaki materijal stupnjem njegove biokompatibilnosti, ispituju način obrade njegove površine, te mogućnosti sterilizaci-

je. Istraživanja na životinjskome modelu pokazala su da su za uporabu u dentalnoj implantologiji najprihvatljiviji bioinertni materijali. Zato su u današnjoj komercijalnoj upotrebi najčešći implantati od nekog bioinertnoga materijala, presvučen eventualno slojem nekog bioaktivnoga materijala.

Premda se u dentalnoj implantologiji prema mjestu usadnje razlikuju tri vrste implantata: submukozni, subperiostalni i endoosealni, danas se gotovo isključivo upotrebljavaju endoosealni u obliku vijka ili cilindra. Za ispitivanje **dizajna** implantata nisu pogodne male laboratorijske životinje već samo velike, i to najčešće pas i majmun, ali eksperimentalno se je i na svinjama, ovcama i kozama (2-12, 18-24, 30-35). Iako se okluzijske i artikulacijske koncepcije, te prehrabene navike velikih eksperimentalnih životinja razlikuju od ljudskih, spomenuti modeli dobri su u istraživanju odgovora mekoga tkiva oko vrata implantata, u raščlambi koštanoga tkiva oko endoosealnog dijela implantata. Kao relativno slabiju točku takvih istraživanja moraju se istaknuti veliki troškovi pokusa, dužina trajanja, te nemogućnost egzaktnog opterećenja takva usatka protetskom suprastrukturuom. Danas se upotreba životinjskoga modela u ispitivanju i komercijalizaciji novih dentalnih implantoloških sustava smatra nezaobilaznom fazom u procjeni sigurnosti i djelotvornosti.

Istraživanje novoga dentalnog implantata - Dental Prosthesis Implant System (DPI)

U američkom je Uredu za patente 22. svibnja 1990. godine prijavljen pod rednim brojem 4927363 novi model osteointegrirajućeg dentalnog implantata, inovatora Rudolfa Schneidera pod radnim naslovom DPI (Dental Prosthesis Implant System). Kako be se taj model i sustav mogao početi i klinički primjenjivati, te komercijalizirati, prijeko je potrebno bilo provesti istraživanje na životinjskome modelu.

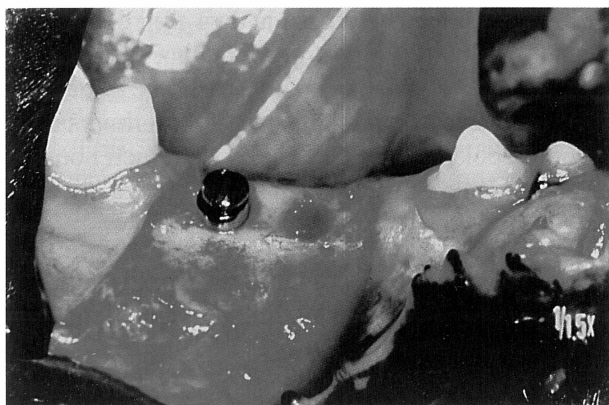
Istraživanje na životinjskome modelu u cjelosti je provedeno u Zavodu za oralnu kirurgiju Stomatološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Za eksperimentalni model izabran je pas pasmine beagle (4,18-24). Pas te pasmine uzgojen je za potrebe znanstvenog istraživanja. Beagle je izabran kao eksperimentalna pasmina zbog niza svojih vrijednosti.

Glavne su njegove odlike: srednja veličina, blaga ćud, prilagodljivost, nepostojanje uzgojnih i nasljednih bolesti, umjerena dužina dlake, ujednačenost i reprezentativan izgled. Zbog njegove dobroćudne naravi i privrženosti tijekom istraživanja nije mu potrebno posvetiti osobitu pozornost. Od nedostataka te pasmine treba spomenuti varijabilnost u veličini i tjelesnoj težini, opadanje dlake i glasan lavež. Kada se izabere takav pas kao eksperimentalni model, treba voditi računa o visokoj nabavnoj cijeni, o troškovima održavanja za vrijeme pokusa, te o razlikama psećeg i humanoga stomatognatog sustava. O tim razlikama, ali i sličnostima, pisao je već u XVI. stoljeću Andreas Vesalius u djelu "De humani corporis fabrica". Pas spada u mesoždere (carnivora), za razliku od čovjeka koji je svejed, ali ima također difiodontnu denticiju, te je postav mliječnih zuba: I 3/3, C 1/1, M 3/3, ukupno 28, a trajnih ima 42, i to I 3/3, C 1/1, P 4/4, M 2/2. Pseći je temporomandibularni zglob valjkast i ne omogućuje lateralne kretanje kao ljudski (13,14).

Psi litalice i slučajno odabrani psi zbog niza neujednačenosti i eventualnih zatečenih bolesti općenito nisu pogodni za eksperimentalne modele i mogu kompromitirati pokus. Kako u Hrvatskoj ne postoji organiziran uzgoj pasmine beagle, istraživanje novoga modela dentalnog implantata DPI učinjeno je na životinjskoj farmi "Hudenje", vlasništvo tvornice lijekova "Krka" iz Novog Mesta u Sloveniji.

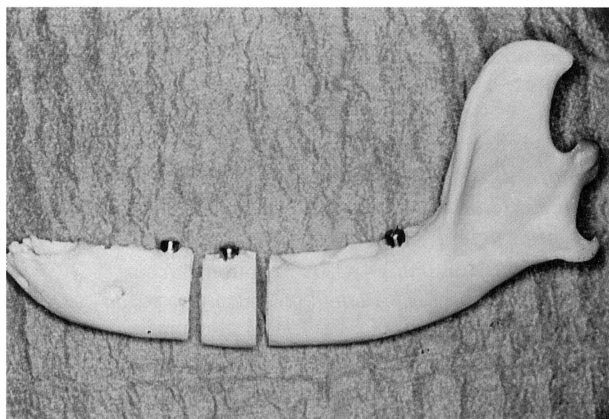
Za pokus je upotrebljeno šest pasa, tri ženke i tri mužjaka, prosječne starosti 16,6 mjeseci i prosječne težine 13,4 kilograma.

U radu sa životinjama poštovala se je sva medicinsko-veterinarska deontologija (2). Svi su zahvati učinjeni u općoj endotrahealnoj anesteziji, postoperativno sve su životinje smještene u stacionar i imale su antibiotsku zaštitu i pojačani higijensko-dietetski režim. Nakon svih završenih pokusa kroz godinu dana sve su životinje žrtvovane iskrvarenjem u općoj endotrahealnoj anesteziji. Svim su životinjama 16. i 10. dana prije žrtvovanja intraperitonealno injicirani koštani markeri zbog histomorfometrijskih istraživanja kosti oko implantata. Žrtvovanje je bilo nužno zbog jednostranih ili obostranih resekcija mandibule s usađenim implantatima ili prirođenim zubima kao kontrolama. (Slike 1 i 2). Razdoblje od godinu dana smatra se dostatnim za kliničko i radiološko praćenje za određivanje stupnja oseointegracije.



Slika 1. *Usađivanje implantata u premolaro područje mandibule psa*

Figure 1. *Insertion of the implant into the premolar area of the mandibula in the dog*



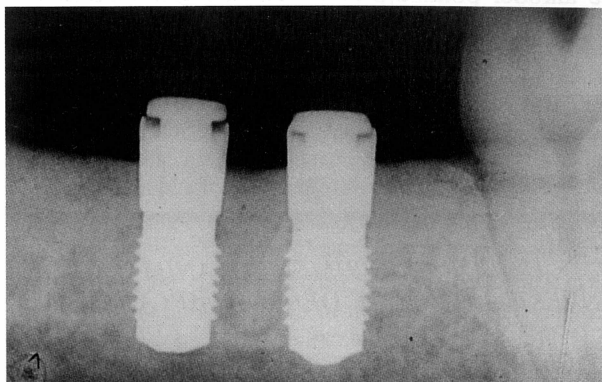
Slika 2. *Resecirana mandibula psa s pripremljenim blokovima za daljnja histološka istraživanja*

Figure 2. *Incised mandibula of the dog with prepared blocks for detailed histological investigation*

Kliničkim praćenjem mjerilo se gingivalno zdravlje oko vrata implantata, procjenjivala se čvrstoća, odnosno klimavost implantata, te ocjenjivao perkutorni zvuk. Radiološki snimci rađeni su standardiziranim dentalnim snimakama. (Slika 3). Od biokemijskih pretraga utvrđivala se vrijednost Ca i P, alkalne i kisele fosfataze u serumu.

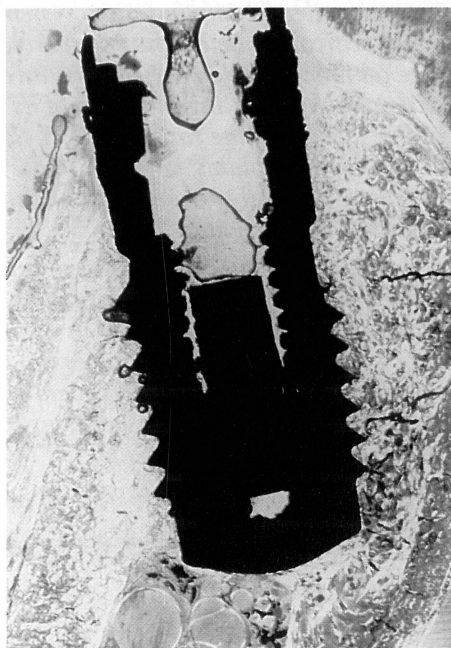
Nakon žrtvovanja životinja, iz reseciranih dijelova mandibule napravljeni su preparati za statičku i dinamičku histomorfometriju s pomoću koje bi se potvrdili klinički i radiološki rezultati. (Slika 4). Histomorfometrijskom raščlambom kosti u području implantata utvrđena je ukupna koštana masa, širina kortikalisa, odnos širine kortikalisa i ukupne koštane mase, aktivna resorptivna površina, aktivna oste-

oblastična zona, te glavni trabekularni dijametri. Cijela je histomorfometrijska raščlamba napravljena u laboratoriju za metabolička koštana istraživanja kompanije Celtrix Pharmaceuticals Inc, Santa Clara, USA. Za to je istraživanje učinjena standardizacija kosti oko implantata na temelju parametara zdrave kosti područja premolara, slično histomorfometrijskim istraživanjima kosti femura kod kunića i štakora (41).



Slika 3. *Kontrolni dentalni rendgenogram u području implantata*

Figure 3. *Control dental roentgenogram in the area of the implant*



Slika 4. *Histološki preparat za daljnja histomorfometrijska mjerenja*

Figure 4. *Histologic specimens for further histomorphometric measurement*

Istraživanje DPI sustava na eksperimentalnome modelu pokazalo je da se radi o dobru implantološkom sustavu, osebnog oblika i originalnog rješenja za kompenzaciju žvačnoga pritiska. Klinički su rezultati pokazali da su svi implantati usađeni u mandibulu bili čvrsti, a sluznica oko njih zdrava visoko perkutornog zvuka. Radiološka je raščlamba pokazala visoki stupanj pokrivenosti implantata koštanim tkivom. Rezultati statičke histomorfometrije također pokazuju pokrivenost implantata koštanim tkivom u visokom postotku, a rezultati dinamič-

ke histomorfometrije pokazuju da u zoni dodira implantat-okolno tkivo postoji normalno, zdravo koštano tkivo bez znakova upale u mekome tkivu. Rezultati biokemijske raščlambe krvi eksperimentalnih životinja pokazuju da DPI sustav ne remeti homeostazu minerala i time postaje primjenjiv za svakodnevnu kliničku praksu.

Ovo je istraživanje potvrdilo da je pas beagle dobar eksperimentalni model za ispitivanje dentalnih implantata.

THE USE OF EXPERIMENTAL ANIMALS DURING INVESTIGATION OF DENTAL IMPLANTS

Summary

The use of animals during investigations is an accepted method for verification of current theoretical principles in medical practice. There is almost no species or subspecies of the animal world on which scientific research has not been carried out. The laboratory rats, dogs, chimpanzees and pigs are most often used in stomatological investigations. Each new dental implantation system requires strict scientific and clinical verification before its commercialisation. Experiments on animals are an unavoidable part of basic investigations, e.g. testing the toxicity of dental implants, investigation of its biocompatibility, and evaluation of the success of the form (design). Scientific approach to investigations of dental implants began in the 1950's, and scientific methods of research are daily becoming sophisticated, and criteria for clinical evaluation more rigid.

The paper describes a basic investigation of a new implantation system, DPI, carried out on beagle dogs as the experimental model. The investigation was performed entirely in the Department for Oral Surgery School of Dental Medicine University of Zagreb. Results of the investigation confirm that the DPI system is a good, usable, outstanding design, biocompatible and oseointegrative. The beagle dog proved to be a good experimental model for testing dental implants.

Key words: *dental implant, experimental model, beagle dog*

Adresa za dopisivanje:
Address for correspondence:

Dr.sc. Irina Filipović-Zore
Stomatološki fakultet
Sveučilišta u Zagrebu
Gundulićeva 5
10000 Zagreb

Literatura

1. BELICZA B. Pokusne životinje u znanstvenim medicinskim istraživanjima - povijesno-medicinska promišljanja. Na: Pokusne životinje u znanstvenim istraživanjima. Prvi hrvatski simpozij s međunarodnim sudjelovanjem. Zagreb, listopad 1996. sažetak str. 26.
2. CRANIN NA. Position Statements on the Use of Animals in Surgical Research. J. Cral. Implantol 1991;17:76-78.
3. GROSS P, MARCUS M, HEISTAD D. Measurements of blood flow to bone and marrow in experimental animals by means of the microsphere technique. J Bone Joint Surg 1981;63A:1028.
4. ŠVAJHLER T. Temeljna istraživanja novog dizajna oseointegrirajućeg implantata u pasa. Disertacija. Zagreb: Stomatološki fakultet, 1996.
5. NATIELLA JR. The Use of Animal Models in Research on Dental Implants. J Dent Educ 1988;52:792-797.
6. BUSER D, SCHENK RK, STEINEMANN S i sur. Influence of the surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometrics study in miniature pigs. J Biomed Mater Res 1991;25:889-902.
7. MANDERSON RD. Experimental intra-osseous implantation in the jaws of pigs. Dent Practic 1972;22:225.
8. ZETTERQUIST L, ANNEROTH G, NORDENARM A. Tissue integration of Al₂O₃ - Ceramic dental implants: An Experimental Study in Monkeys. Int. J Oral Maxillofac Implants 1991;6:19-23.
9. KALE TM, BORETSKY BB, SCHEEIDT MJ i sur. Evaluation of titanium dental implant osseointegration in posterior edentulous areas of micro swine. J Cral Implantol 1991;17:118-124.
10. De LANGE GL, De PUTTER CC, De GROOT K, BURGER EH. A Clinical Radiographic and Histological Evaluation of Perimucosal Dental Implants of Dense Hydroxylapatite in Dogs. J Dent Res 1989;68:509-518.
11. PILLIAR RM, DEPORTER DA, WATSON PA i sur. The effect of partial coating with hydroxylapatite on bone remodeling in relation to porous coated titanium alloy dental implants in dog. J Dental Res 1991;70:1338-1345.
12. ETTINGER RL, SPIVEY JD, HAN DH, KOORBUSCH GF. Measurement of the Interface between Bone and Immediate Endosseous Implants: A Pilot Study in Dogs. Int J Cral Maxillofac Implants 1993;8:420-427.
13. KALLAY J. Komparativna odontologija. Zagreb: Izdavački zavod Jugoslavenske akademije, 1974.
14. KALLAY J. Dentalna antropologija. Zagreb: Izdavački zavod Jugoslavenske akademije, 1974.
15. FILIPOVIĆ I. Utjecaj apikotomije na koštani i stomatognatni sustav kod štakora. Magistarski rad. Zagreb: Stomatološki fakultet, 1989.
16. FILIPOVIĆ-ZORE I. Učinak manjka estrogena na oporavak koštanih promjena nastalih kao posljedica trudnoće i dojenja kod štakora. Disertacija. Zagreb: Stomatološki fakultet, 1992.
17. DAVID T. Atlas of Small Animal Surgery. Hannover; Schlutersche Verlagseinstall und druckerei, 1977.
18. OHNO K, SUGIMOTO A, SHIROTA T i sur. Histologic findings of apatite-titanium complex dental implants in the jaws of dogs. Oral Surg Med Oral Pathol 1991;426-429.
19. ARVIDSON K, BYSTEDT H, ERIKSON I. Histometric and ultrastructural studies of tissue surrounding Astra dental implants in dogs. Int J Oral Maxillofac Implants 1990;5:127-134.
20. ASKAINEN R, KOTILAINEN R, VUILLEMIN T i sur. Osseointegration of Dental I Implants in Ratiated Mandibles: An Experimental Study with Beagle Dogs J Oral Implantol 1991;17:48-54.
21. ANDERSEN AC. The Beagle as an experimeental dog. Ames, Iowa: The Iowa State University press, 1970.
22. STRUB JR, GABERTHUEL TW, GRUNDER R. The role of attached gingiva in the health of peri-implant tissue in dogs. Int J Periodont Res Dent 1991;11:317-333.
23. KOHRI M, COOPER EP, FERRACANE JL, WAITE DF. Comparative Study od Hydroxylapatite and Titanium Dental Implants in Dogs. J Oral Maxillofac Surg 1990;48:1265-1273.
24. BLOCK MS, FINGER IM, FONTENOT MG, KENT JN. Koaded Hydroxylapatite: Coated and Grifit-Blasted titanium Implants in Dog. Int J Oral Maxillofac Implants 1989;4:219-225.
25. BEDER OE. A study of tissue reactions to titanium implants. J Dent Res 1955;34:787.
26. BRANEMARK PI. Vital microscopy of bone marrow in rabbit. Thesis. Lund:University of Lund 1959.
27. BRANEMARK PI i sur. Osseointegration and its experimental back-ground. J Prostet Dent 1983;50:399-410.
28. LINDER L i sur. Electron microscopis analysis of bone-titanium interface. Acta Orthop Scand 1983;54:45-52.
29. LINDER L, LUNDSKOG J. Incorporation of stainless stell, titanium and vitalium in bone. Injury 1975;6:277.
30. BRANEMARK PI. Osseointegration and its experimental background. J Prost Dent 1983;50:399-410.
31. BRANEMARK PI i sur. Osseointegrated titanium implants in the rehabilitation of the edentulous patient. Adv Biomater 1982;4:133-141.
32. Proceedings of the Toronto Conference on Osseointegration in Clinical Dentistry Reprinted from J Prost Dent 1983;49, 50:114:278, 824-848. St. Louis: C.V. Mosby Co. 1983.
33. BLOCK M, KENT J, KAY J. Evaluation of hydroxylapatite-coated titanium dental implants in dog. J Oral Maxillofac Surg 1987;45:601-607.

34. BARTH E, JOHANNSON C, ALBRKTSSON T. Histologic comparison of ceramic and titanium implants in cats. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 1990;5:227-231.
35. GROSS HN, HOLMES RE. Surgical retrieved and histologic evaluation of an endostal implant: A case report with clinical, radiographic and microscopic observation. *J Oral Implantol* 1989;15:104-113.
36. National Institutes of Health: National Institutes of Health Consensus Development Statement: Dental Implants. *JADA* 1988;117:509-513.
37. American National Standard Institute /American Dental Association ANSI/ ADA Documents § 41. Recommended standard practices for biological evaluation of dental instruments. New York: American National Standards Institute, 1979.
38. BLACK J. Systemic effects of biomaterials. *Biomaterials*. 1984;5:11-15.
39. McNAMARA A, WILLIAMS D. Enzyme histochemistry of tissue response to pure metal implants. *J Biomed Mater Res* 1984;18:185-290.
40. AMŠEL V, GAŠPAR B, ŠVAJHLER T. Ispitivanje dentalnih implantata *in vitro*. *Acta Stomatol Croat* 1985;19:95-99.
41. PARFIT AM i sur. Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Comitete. *J Bone Mine Res* 1987;2:595-610.