

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Kopf- und Neurozentrum / Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie

Klinikdirektor: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Martin Gosau

**Vergleichende Untersuchungen zur Osseointegration nach
Photofunktionalisation und Oberflächenplasmaaktivierung
dentaler Titanimplantate im Landschwein**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät der
Universität Hamburg

vorgelegt von:

Dr. med. Nadia Karnatz

aus Rostock

Hamburg 2020

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 16.09.2020

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Dr. Ralf Smeets

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. Florian Barvencik

Meiner Mutter

Inhaltsverzeichnis

1. Fragestellung	- 3 -
2. Einleitung	- 4 -
2.1 Biologische Aspekte des Knochens	- 4 -
2.1.1 Aufbau der Knochenstruktur	- 4 -
2.1.2 Funktionelle Regulationsprozesse des Knochengewebes.....	- 5 -
2.2 Dentale Implantate	- 6 -
2.2.1 Biokompatibilität von Implantatwerkstoffen	- 6 -
2.2.2 Titan als Implantatwerkstoff.....	- 6 -
2.2.3 Oberflächenbeschaffenheit	- 7 -
2.3 Osseointegration	- 8 -
2.3.1 Zelluläre Abläufe bei der Osseointegration.....	- 9 -
2.3.2 Kontakt- und Distanzosteogenese	- 10 -
2.3.3 Knochen-Implantat-Kontakt.....	- 11 -
2.3.4 Stabilitätsgrade bei der Implantatinsertion	- 12 -
2.4 Funktionalisierung von Implantatoberflächen	- 14 -
2.4.1 Methoden zur Modifikation der Oberflächenrauheit.....	- 14 -
2.4.2 Beschichtung mit Hydroxylapatit/ Calciumphosphat.....	- 15 -
2.4.3 Wachstumsfaktoren	- 16 -
2.4.4 Hydrophilie von dentalen Implantaten	- 16 -
3. Materialien und Methoden	- 20 -
3.1 Studiendesign.....	- 20 -
3.2 Verwendete Implantate	- 21 -
3.3 Oberflächenmodifikation	- 22 -
3.4 Resonanzfrequenzanalyse	- 22 -
3.5 Tierversuch	- 23 -
3.5.1 Operationsvorbereitung und Narkoseüberwachung	- 23 -
3.5.2 Operationsablauf.....	- 24 -
3.5.3 Postoperative Versorgung der Tiere	- 25 -
3.5.4 Euthanasie und Probenentnahme.....	- 25 -
3.6 Probenbearbeitung für die histologische Untersuchung	- 26 -
3.6.1 Herstellung der Präparate	- 26 -
3.7 Fotodokumentation und Auswertung der Schriffe.....	- 28 -

3.8	Statistische Auswertung.....	- 30 -
4.	Ergebnisse	- 31 -
4.1	Tierexperimentelle Ergebnisse	- 31 -
4.2	Makroskopische und radiologische Auswertung.....	- 31 -
4.3	Auswertung der Resonanzfrequenzanalyse	- 34 -
4.4	Histologische Auswertung.....	- 36 -
4.4.1	Qualitative Beurteilung der histologischen Schliffe.....	- 36 -
4.4.2	Quantitative Auswertung der histologischen Schliffe.....	- 38 -
5.	Diskussion	- 43 -
5.1	Tiermodell.....	- 44 -
5.2	Limitationen.....	- 45 -
5.3	Resonanzfrequenzanalyse	- 48 -
5.4	Beurteilung der radiologischen Befunde	- 51 -
5.5	Histologische und histomorphometrische Beurteilung.....	- 52 -
5.5.1	Beurteilung der histologischen Untersuchungen.....	- 52 -
5.5.2	Beurteilung des Knochen-Implantat-Kontakts	- 53 -
5.5.3	Beurteilung des Knochenanteils in den retentiven Anteilen	- 56 -
5.6	Schlussfolgerung.....	- 58 -
6.	Zusammenfassung.....	- 60 -
7.	Summary.....	- 61 -
8.	Literatur.....	- 62 -
9.	Anhang	- 75 -
9.1	Abbildungsverzeichnis.....	- 75 -
9.2	Tabellenverzeichnis	- 76 -
9.3	Abkürzungsverzeichnis.....	- 76 -
9.4	Bezugsquellenverzeichnis.....	- 77 -
10.	Danksagung	- 80 -
11.	Lebenslauf.....	- 81 -
12.	Eidesstattliche Erklärung.....	- 82 -

1. Fragestellung

Der Einsatz von dentalen Implantaten hat sich in den letzten Jahrzehnten als eine wissenschaftlich anerkannte Therapie für die Rehabilitation von teilbezahnten und unbezahnten Patienten etabliert. Vor allem durch die Entdeckung und Erforschung des Phänomens der Osseointegration von Titan durch Brånemark im letzten Jahrhundert eröffnete sich ein breites Interessengebiet. Dies ist unter anderem auf die hohe Erfolgsrate der dentalen Implantation zurückzuführen. In klinischen Langzeitstudien wird mittlerweile von Erfolgswahrscheinlichkeiten eines derartigen Zahnersatzes von mehr als 90 % nach acht bis zehn Jahren berichtet. Dieser Fortschritt basiert unter anderem auch auf den guten Materialeigenschaften von Titan mit seiner hohen Härte und der guten Korrosionsbeständigkeit. Bedingt durch die Ausbildung einer Oxidschicht an der Oberfläche wird die suffiziente Osseointegration eines Implantats ermöglicht. In neueren Untersuchungen verfolgt man derzeit die Möglichkeiten der Modifikation von Titan, ohne die bioinerten Materialeigenschaften zu beeinflussen, mit der Intention die Interaktionen von Zellen und Proteinen an der Knochen-Implantat-Grenzfläche zu fördern. Vielversprechende Methoden scheinen hierfür die Oberflächenfunktionalisierung mit ultraviolettem Licht oder Kaltplasma zu sein.

Demgemäß ist die Zielsetzung dieser Dissertation die Untersuchung des Einflusses von UV-Licht bzw. Kaltplasma auf Titanoberflächen und die Darstellung von Unterschieden zwischen den Verfahren bezüglich ihres osseointegrativen Verhaltens *in vivo*, basierend auf einem Tierversuch. Die oberflächenfunktionalisierten Titanimplantate werden in die Kalotte eines Hausschweines implantiert. Die Osseointegration wird radiologisch, histologisch und histomorphometrisch beurteilt.

2. Einleitung

2.1 Biologische Aspekte des Knochens

2.1.1 Aufbau der Knochenstruktur

Das Knochengewebe wird dem spezialisierten Bindegewebe zugeordnet, dessen Eigenschaften auf den Aufbau seiner Matrix zurückzuführen sind. Diese setzt sich aus 30 % organischem Material, 45 % anorganischem Material sowie 25 % Wasser zusammen. Der organische Anteil umfasst Knochenproteine, Proteoglykane und vor allem Kollagenfasern (Typ I). Diese verlaufen in einer Lamelle organisiert parallel zueinander, wechseln jedoch ihre Ausrichtung in benachbarten Lamellen. [60,220]

Die unterschiedliche Lokalisation sowie die Anordnung der Lamellen in der Knochenstruktur definieren die Gliederung in Spezial-, General- und Schaltlamellen. Die Speziallamellen sind konzentrisch um ein längs verlaufendes Gefäß, den Havers'schen Kanal, gruppiert und bilden die funktionelle Grundeinheit, das Osteon. [219] Zwischen den Kollagenfasern sind in kleinen Lakunen Osteozyten eingebettet, welche über Fortsätze in Canaliculi in Verbindung stehen. Weitere knochenspezifische Zellen sind Osteoblasten bzw. -klasten, die die Auf- und Umbauprozesse des Knochengewebes lenken. Ein Osteon besteht aus ca. 4-20 Speziallamellen. [26,220]

Aufgrund der kontinuierlich ablaufenden intrakortikalen Umbauprozesse bleiben inmitten der Osteone noch Bruchstücke von Vorgängerstrukturen zurück, die sogenannten Schaltlamellen. Die lamellären Schichten, welche die äußere und innere Oberfläche des kompakten Knochens auskleiden, werden als Generallamellen bezeichnet. Der anorganische Anteil besteht aus Hydroxylapatit. Die Mineralisierungsvorgänge sowie die Verbundstruktur der organischen und anorganischen Komponenten erklären die Druck- und Zugfestigkeit sowie die Torsions- und Biegeeigenschaften des Knochengewebes. [60] Makroskopisch lassen sich zwei Erscheinungsformen des Gewebes charakterisieren, der kompakte Knochen (*Substantia compacta*) und der spongiöse Knochen (*Substantia spongiosa*). Diese können fließend ineinander übergehen. Der spongiöse Knochen besteht aus dünnen sich verzweigenden Knochenbälkchen im Knocheninneren. Diese Trabekel bilden ein dreidimensionales Geflecht mit weiten Räumen, die blutbildendes Gewebe oder Fettgewebe, jedoch keine Gefäße, enthalten. Das Netzwerk der spongiösen Knochenbälkchen variiert in Abhängigkeit von Lokalisation, Alter und Beanspruchung. Die Trabekel richten sich parallel zur größten Druck- oder Biegebeanspruchung aus. Im Vergleich zur Spongiosa des Knochens weist die

Substantia compacta eine wesentlich höhere Dichte auf als der trabekuläre Knochen. Das Gewebe ist reich an Blutgefäßen. [143,220]

2.1.2 Funktionelle Regulationsprozesse des Knochengewebes

Die Fähigkeit des Knochens auf mechanische beziehungsweise traumatische Einflüsse mit einer funktionellen Adaption zu antworten, ist eine der Grundvoraussetzungen für die enossale Implantatinsertion. [53]

Eine Form der Anpassung des Knochens auf eine veränderte mechanische Belastung ist das sogenannte *bone remodeling*. Dieses wird durch Knochenzellen gesteuert, welche zwar nur 2 % der Knochenmasse ausmachen, jedoch für die gesamten biologischen Regulationsprozesse des Knochenumbaus verantwortlich sind. [101] Dabei ist es essenziell, dass neben der Neubildung parallel Resorptionsvorgänge in einem kontrollierten Zusammenspiel ablaufen. [26,166] Die dafür verantwortlichen Knochenzellen, zu denen u. a. die Osteozyten und -blasten gehören, differenzieren sich aus den pluripotenten Stammzellen des Knochenmarkstromas. [191] Die für Abbauvorgänge erforderlichen Osteoklasten werden dagegen als Abkömmlinge des hämatopoetischen Systems betrachtet. [22] Eine besondere Bedeutung für die osteogene Differenzierung besitzen die Wachstumsfaktoren Transforming Growth Factor β (TGF- β), Insulin-like Growth Factor (IGF) und Bone Morphogenetic Proteins (BMPs). [122] Eine weitere Möglichkeit des Knochens auf eine traumatisierende Überbelastung zu reagieren, ist die Frakturheilung, die in primäre und sekundäre unterschieden wird. Generell weist das knöchernen Gewebe als ein sich ständig im Umbau befindliches und gut vaskularisiertes Gewebe gute Voraussetzungen für Heilungsprozesse auf. [101] Bei der primären Frakturheilung sprießen durch direkte Anlagerung der Frakturrenden unter Druck aus den Havers'schen Kanälen Blutgefäße und Osteoklasten in die Gegenseite und bilden hier Resorptionskanäle. Diese werden von Osteoblasten mit Knochengewebe ausgefüllt. [225]

Besteht dagegen eine Distanz zwischen den Frakturrenden erfolgt die sekundäre Frakturheilung: Das zwischen den Frakturrenden gelegene Hämatom wird durch zell- und kapillarreiches Reparationsgewebe, das Granulationsgewebe, ersetzt. Es entsteht eine bewegungseinschränkende, bindegewebige Narbe. Durch einwandernde Chondroblasten bildet sich Faserknorpel, der durch aktivierte Osteoblasten verknöchert, die sogenannte Kallusbildung. Anschließend starten funktionelle Umbauprozesse (remodeling), der Kallus wird schrittweise resorbiert und durch Knochengewebe ersetzt. [28]

2.2 Dentale Implantate

2.2.1 Biokompatibilität von Implantatwerkstoffen

Grundlage für die stabile und beständige Osseointegration eines Implantats ist die Biokompatibilität des verwendeten Werkstoffes. Bezüglich der Wechselwirkung der biokompatiblen Materialoberfläche mit dem Knochen klassifiziert man 3 Untergruppen [165]: *biotolerant*, *bioaktiv* und *bioinert*.

So gelten beispielsweise Kobalt-Chrom-Legierungen oder auch Knochenzemente (Polymethylmethacrylat, PMMA) als biotolerant. Das vitale Gewebe akzeptiert das avitale Material, bildet jedoch über eine Distanzosteogenese eine bindegewebige Kapsel aus, die die Oberfläche des Implantats umschließt. [23,222] Im Gegensatz dazu stehen die bioinerten Materialien. Diese gehen über eine Kontaktosteogenese eine Verbindung mit dem lebenden Knochen ein. Das Knochengewebe entsteht in unmittelbarer Umgebung des Implantats, wächst in Richtung der Implantatoberfläche und ist so befähigt, an der Grenzfläche Druckkräfte zu übertragen. [23,139,183] Die Gruppe der bioaktiven Materialien bilden eine stoffschlüssige Grenzfläche zwischen Biomaterial und Knochen über eine sog. Verbundosteogenese aus. Derzeit können bioaktive Materialien lediglich über eine zusätzliche Implantatbeschichtung mit dem Knochen eine Verbindung eingehen, da sie unvorteilhafte mechanische Eigenschaften aufweisen. [23,183]

2.2.2 Titan als Implantatwerkstoff

Titan sowie seine Legierungen zählen zu den bioinerten Werkstoffen. Es ist aufgrund seiner biomechanischen Eigenschaften, hoher Korrosionsfestigkeit und ausgezeichneten Gewebeverträglichkeit ein in der dentalen Implantologie und orthopädischen Chirurgie bewährtes Material. [27,74] Titan als Werkstoff kann in der Regel eine suffiziente enossale Einheilung ermöglichen. [109]

Die gute Biokompatibilität des Titans, seine chemischen Eigenschaften am Implantat-Knochen-Interface sowie seine Korrosionsbeständigkeit lassen sich auf die Ausbildung einer Dioxidschicht an der Implantatoberfläche zurückführen. [106] Bei unmittelbarem Kontakt mit Luftsauerstoff bildet Titan als reaktives Metall eine dünne Oxidschicht aus (TiO_2). Diese resistente Oberfläche entwickelt sich selbstständig und kann unter physiologischen Bedingungen aufrechterhalten werden. [11] Der Prozess wird als *Passivierung* bezeichnet. Die Oxidschicht schafft somit einen gewissen Schutz für das

Gewebe. [33]. Die Dicke der Oxidschicht bewegt sich im Bereich von 3-40 nm, kann aber durch die chemische Behandlung der Oberfläche noch gesteigert werden. [64,118]

Reintitan weist bei einer Temperatur von bis zu 882,5 °C eine dicht gepackte hexagonale α -Kristallform auf, die sich bei einer Erhöhung der Temperatur in eine kubische Struktur (β -Kristallisationsform) transformiert. In Abhängigkeit von der bei Raumtemperatur vorliegenden Mikrostruktur werden die Legierungen des Titans in Titanlegierungen mit hohem α -Anteil bzw. hohem β -Anteil unterteilt. Dementsprechend verändern sich die Eigenschaften wie Korrosionsresistenz und Stabilität. So weisen α -Legierungen eine gute Widerstandsfähigkeit gegenüber Korrosion auf, besitzen jedoch nur eine geringe Temperaturstabilität. β -Legierungen überzeugen dagegen durch eine hohe Festigkeit und Ermüdungsresistenz. Durch den Einsatz von α - bzw. β -Form unterstützenden Elementen können die Titanlegierungen in ihrer Struktur stabilisiert werden. Beispiele dafür sind Aluminium und Vanadium. [126,147,156] Eine in der Implantologie gebräuchliche Legierung des unedlen Metalls Titan ist Ti-6Al-4V, die neben Titan aus ca. 6 % Aluminium und 4 % Vanadium besteht. Daraus resultiert eine Verstärkung bei gleichzeitiger Gewichtsreduktion sowie Erhöhung der Korrosionsbeständigkeit. Die Legierung ist deutlich stabiler und weniger frakturanfällig unter okklusaler Belastung. [156]

2.2.3 Oberflächenbeschaffenheit

Diverse Publikationen zeigten, dass die Beschaffenheit der Oberfläche eines Implantats direkten Einfluss auf eine erfolgreiche knöcherne Einheilung hat. [149,221] Für eine präzisere Beschreibung der Oberflächenstruktur klassifizierten Mittelmeier *et al.* (1997) die Oberflächen nach [141]:

- Makrostrukturen, welche dem Zweck der Oberflächenvergrößerung sowie Krafteinleitung vom Implantat in den Knochen dienen (Oberflächenformen $>2000 \mu\text{m}$)
- Mesostrukturen, welche eine poröse Architektur aufweisen und somit das Einwachsen spongioser Knochenanteile fördern (Durchmesser von $100 \mu\text{m}$ bis $2000 \mu\text{m}$)
- Mikrostrukturen, welche der Erhöhung der Scherfestigkeit dienen (Oberflächenvergrößerungen mit einem Durchmesser $<100 \mu\text{m}$)

In der dentalen Implantologie ist der Prozess der Oberflächenoptimierung ein sehr dynamischer Prozess. Derzeit kommen für die Oberflächenstrukturierung verschiedene

Techniken zum Einsatz von additiven Verfahren (z. B. Calciumphosphatbeschichtung, Aufsintern von Metallnetzwerken) über abrasive Verfahren (Säure- und Laserbehandlung) bis hin zu mikrostrukturierten Oberflächen. [229]

Der Grund für den positiven Wirkungsmechanismus der Mikrotopografie auf die Osseointegration konnte bisher nicht vollständig geklärt werden. Jedoch zeigten Zinger *et al.* (2004) in ihren *in vitro* Experimenten, dass Zellen auf nanoporösen Oxidoberflächen die vorhandenen Kavitäten zum Einwachsen nutzten und dreidimensionale Strukturen ausbildeten. [232] Allerdings werden derzeit in der Literatur unterschiedliche Parameter für eine optimale Zelladhäsion bzw. Osseointegration diskutiert. [94,146,208]

Eine These besagt, dass die Oberflächenstruktur adsorbierende Proteine und die periimplantäre Zellaktivität bzw. Genexpressionen beeinflusst. [52,178] So wiesen Martin *et al.* (1995) in ihrer Studie nach, dass eine raue Oberflächenbeschaffenheit die Zellverteilung und -proliferation, die Produktion von Proteinen und Wachstumsfaktoren (u. a. alkalische Phosphatase) sowie die Differenzierung knochenbildender Zellen *in vitro* fördert. Jedoch zeigte sich, dass dieses Phänomen bei Zunahme der Rauigkeit auch stagniert bzw. advers sein kann. [131,144]

Eine weitere Erklärung für die Bedeutung der Oberflächenbeschaffenheit veranschaulichte Davies in seinen Publikationen von 1996 und 1998: Nach der Traumatisierung des Knochengewebes durch das Einbringen eines Implantats haftet sich Fibrin in Abhängigkeit von der Oberflächenbeschaffenheit am Implantat an. Die Fibrinanlagerung ist in Bereichen mit einer ausgeprägten Struktur wirkungsvoller als an glatten Oberflächen. Die dadurch entstehende Leitstruktur aus Fibrin erleichtert die Migration von Stromazellen und Osteoblasten. Allerdings trennen sich aufgrund einer Kontraktion der Fäden hierbei die Fibrinfäden von der Oberfläche. [52,53] Raue Oberflächen begünstigen die Verbindung zwischen Fibrinnetz und Implantat, die knochenbildenden Zellen können entlang des Fibringerüsts bis auf die Oberfläche wandern. Humane Osteoblasten scheinen sensibler auf die Topografie eines Implantats als auf die Ausprägung der Rauigkeit zu reagieren. [144,170,201]

2.3 Osseointegration

Der Ersatz von Zähnen durch alloplastisches Material geht schon viele Jahrhunderte zurück, jedoch erzielte den ersten großen Durchbruch 1969 Brånemark als er in tierexperimentellen

Studien die Reaktionsabläufe zwischen Titan und Hart- bzw. Weichgewebe untersuchte. Infolgedessen wurde in den 1970ern der Begriff der Osseointegration definiert. Dieser beschreibt den „direkten funktionellen und strukturellen Verbund zwischen organisiertem, lebendem Knochengewebe und der Oberfläche eines belasteten Implantats“. [30,31,99] 1998 erklärten Schenck et Buser, dass die Einheilungsprozesse bei der enossalen Implantation denen einer knöchernen Frakturheilung entsprechen. Jedoch besteht der wesentliche Unterschied darin, dass hier vitales auf avitales Gewebe trifft. [183]

Die entscheidende Voraussetzung für eine suffiziente Verankerung eines Fremdkörpers im Knochen ist die Verwendung eines biokompatiblen Materials wie beispielsweise Titan. Aufgrund verschiedener Parameter wie die Makro- und Mikrostruktur wird eine kontrollierte Übertragung der auftretenden Scher-, Druck- und Zugkräfte gewährleistet. [159]

2.3.1 Zelluläre Abläufe bei der Osseointegration

Die Osseointegration gilt als eine der stabilsten Varianten der dauerhaft anhaltenden Verbindung zwischen Knochen und Implantat. Man spricht auch von einer funktionellen Ankylose. [186]

Die ossäre Einheilung wird, wie die primäre Frakturheilung, angeregt durch eine Traumatisierung des Knochengewebes; hier durch die Insertion des Implantats in den Knochen hervorgerufen. Dabei unterliegt der Ablauf immer den gleichen Stadien [53,183]:

- die Verbindung der Implantatoberfläche mit dem umgebenden Knochen (osteophyllische Phase, osteokonduktive Phase)
- die Anpassung des Knochens auf die auftretende Belastung (osteoadaptive Phase)
- die Anpassung der Knochenstruktur auf die auftretende Belastung

Die verschiedenen Phasen der Einheilung, die zur Osseointegration des Implantats führen, lassen sich wie folgt zusammenfassen: Bei der Insertion des Implantats bildet sich an der Oberfläche aufgrund einer einsetzenden Einblutung ein Blutkoagel aus. Über Chemotaxis migrieren Osteoprogenitorzellen aus dem Knochenmark sowie dem Periost und differenzieren sich zu Osteoblastenvorläuferzellen bzw. Osteoblasten. Ferner lagern sich entlang des sich organisierenden Fibrins Proteasen, Kollagenfasern sowie die Präosteoblasten an. Das Koagel wird mithilfe aktivierender Faktoren, wie beispielsweise Interleukin-1, Bone Morphogenetic Proteins (BMPs) oder Prostaglandinen, durch die einwandernden Zellen umgebaut und strukturiert. [7,54,132].

Die parallel ablaufenden Resorptions- und Aufbauprozesse an der Implantatoberfläche werden durch die migrierten Osteoblasten bzw. Osteoklasten im periimplantären Spalt gelenkt. Es kommt zur Abscheidung einer extrazellulären Matrix in den Spaltraum. Durch die Sekretion der nicht kollagenen Proteine Osteopontin und Knochensialoprotein wird der Kristallisationsprozess durch die Anlagerung von Calciumphosphatkomplexen eingeleitet. Das erste Knochengewebe, welches gebildet wird, bezeichnet man als Geflechtknochen. [7,134,168] In der Spätphase formiert sich der Geflechtknochen infolge von mechanischen Belastungen innerhalb von ungefähr 8 Wochen zu lamellar strukturiertem Knochen. Somit wird das Implantat dauerhaft in die mechanischen Belastungsanforderungen des Knochens eingebunden. [82,183] Das letzte Stadium der Implantateinheilung wird bestimmt durch das *bone remodeling*. Hierbei adaptiert sich die Knochenstruktur an die auftretenden Kräfte durch simultan ablaufende Umbauprozesse. Dieser Vorgang beginnt ungefähr im 3. Monat nach Implantatinsertion und erreicht nach einigen Wochen sein Maximum. Trotz Minderung der Knochenumbauaktivitäten im weiteren Ablauf bleibt das *bone remodeling* lebenslang aktiv. [116,183]

Bei einem osseointegrierten Implantat fehlen die Desmodontalfasern, welche für die faserige Aufhängung des Zahnes in seiner Alveole verantwortlich sind, vollständig. Das knöcherne Implantatlager mit seinem kaum vaskularisierten Gewebe ist somit im Gegensatz zum gefäßhaltigen Desmodont des Zahnes zu keiner suffizienten Immunantwort fähig. [175]

2.3.2 Kontakt- und Distanzosteogenese

Im Jahr 1980 beschrieben Osborn und Newesley die Bildung von Knochengewebe direkt auf der Implantatoberfläche. [154,155] Hierbei unterschieden sie zwei grundlegende Prinzipien, die Kontaktosteogenese und die Distanzosteogenese.

Sowohl bei der Distanz- als auch bei der Kontaktosteogenese wird während der Insertion eines Implantats die Knochenkontinuität verletzt. Das hat zur Folge, dass sich ein Hämatom ausbildet. Die dabei freigesetzten Entzündungsmediatoren führen, wie bereits beschrieben, zur Migration von pluripotenten Stammzellen. Diese differenzieren sich u. a. zu Osteoblasten und Stromazellen aus, die freigesetzten Zytokine und Wachstumsfaktoren fördern zudem die Angiogenese, Zelldifferenzierung und Zellinfiltration im periimplantären Bereich. [45,116]

Bei der Distanzosteogenese wird neuer Knochen ausgehend vom Knochenlager aufgebaut, d. h. es erfolgt ein appositionelles Wachstum an der dem Implantat zugewandten Seite des

umliegenden Knochens. [29] Die neu gebildete Matrix wird zwischen der Knochenoberfläche und dem Implantat sezerniert. Bei fortschreitender Osteogenese breitet sich die Matrix bis zum Implantat aus (zentripetales Wachstum). Es erfolgt somit keine Bildung von neuem Knochengewebe auf dem Implantat, sondern dieses wird vielmehr von neuem Knochen umgeben. [54,77]

Bei der Kontaktosteogenese wandern die migrierten Progenitorzellen bis auf die Oberfläche des Implantats und erst dort differenzieren sie sich zu Osteoblasten, welche die extrazelluläre Matrix synthetisieren. Die Synthese von Knochenmatrix erfolgt in diesem Fall von der Implantatoberfläche aus (zentrifugales Knochenwachstum). Diese mineralisiert und es entwickelt sich neuer Knochen. [54,77,133] Hierfür wurde auch der Begriff der De-Novo-Knochenbildung von Davies 1998 etabliert. Vermutlich laufen bei jeder enossalen Implantateinheilung die Distanz- und Kontaktosteogenese nebeneinander ab. [53]

2.3.3 Knochen-Implantat-Kontakt

Bei dentalen Implantaten handelt es sich definitionsgemäß um Langzeitimplantate, das bedeutet, dass sie dauerhaft - im Idealfall bis zum Tod des Patienten - den gestellten Anforderungen entsprechen sollten. [35] Hierbei ist die Ausbildung eines suffizienten Kontakts zwischen Knochen und Implantat die Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche und stabile Osseointegration. [66] Eine verbesserte knöcherne Einheilung bzw. Stabilität korreliert mit der prozentualen Zunahme des Knochen-Implantat-Kontakts (Bone Implant Contact, BIC). [56,182] Demgemäß berichteten Garetto *et al.* (1995), dass mit Werten von bereits 25 % Knochen-Implantat-Kontakt klinisch eine suffiziente Stabilität zu beobachten war. [73]

Der Knochen-Implantat-Kontakt wird, wie bereits beschrieben, maßgeblich durch die Mikrostrukturierung und Modifizierung der Implantatoberfläche bestimmt. Buser *et al.* konnten bereits 1991 beispielhaft eine signifikant höhere Knochenkontaktrate bei säuregeätzten und sandgestrahlten SLA-Oberflächen gegenüber maschinieren Oberflächen bei Titanimplantaten (BIC von 50 %-60 % vs. BIC von 20 %-25 %) belegen. [36] Dementsprechend ist es das Ziel vieler Untersuchungen, die Qualität des Interfaces so zu beeinflussen, dass ein höherer Knochen-Implantat-Kontakt in kürzerer Zeit erreicht werden kann. [149,221] Das Knochen-Implantat-Interface ist zwar charakteristisch, variiert jedoch histopathologisch in Bezug auf die zelluläre Zusammensetzung und den Aufbau der Matrix, selbst an einem einzelnen Implantat. [34] Eine mögliche Erklärung für die Ungleichheiten der Morphologie könnte das Vorliegen unterschiedlicher Stadien des Interfaceremodellings sein.

[73,153] Da die knochenbildenden Zellen sich nur indirekt über extrazelluläre Glykoproteine an die Implantatoberfläche anlagern können, bildet sich eine amorphe Schicht aus. [153] Die Hypothese von Davies aus dem Jahre 1996 besagt, dass es sich um eine granuläre, afibrilläre Zone aus Calcium, Phosphor und Sulfat handelt. Diese kalzifizierte, afibrilläre Schicht ist der Ursprung für die Knochenbildung und entspricht den Kittlinien (Cement lines). [52] Nach Albrektsson *et al.* handelt es sich hierbei jedoch um eine unmineralisierte, kollagenhaltige Fasermatrix, die während der Osteogenese mineralisiert wird. [8] In den Bereichen der initialen Knochenbildung wurden Kollagenfasern, amorphes Material und Osteoblasten identifiziert. [195] Die Breite der Schicht differiert in der Literatur zwischen Werten von 100 nm bis 2000 nm. Sie entsteht nach der Implantation auf der Oberfläche der bekannten Implantatwerkstoffe, da nach der Insertion eines jeden Implantats sich zwischen Implantatoberfläche und angrenzenden Knochen ein Grenzraum ausbildet. [8] Nach Sekretion der Proteine Osteopontin und Knochensialoprotein folgt an deren Bindungsstellen die Kalzifizierung sowie die Entstehung von dreidimensionalen kristallinen Strukturen. In dieses Gefüge lagern sich kollagene Fasern ein, die selbst wiederum in Calcium eingebettet sind. [52] Diverse experimentelle Studien beschrieben, dass die kalzifizierte Matrix in direktem Kontakt zum Implantat nachweisbar ist; nur wenige Zellen waren in dem Interface erkennbar. [19,194] Somit wird der Kontakt eines Implantats mit dem umgebenden Knochen durch die Ausformung einer Apatitschicht getriggert.

2.3.4 Stabilitätsgrade bei der Implantatinsertion

Die Stabilitätsgrade eines dentalen Implantats im knöchernen Lager lassen sich in zwei verschiedene Phasen unterteilen, das Stadium der Primär- bzw. der Sekundärstabilität.

Ein klinisch funktionelles Implantat muss einerseits den direkt bei der Mastikation einwirkenden Kräften und andererseits den unter okklusal-funktioneller Belastung hervorgerufenen Mikrobewegungen im Knochen widerstehen. [162] Mikrobewegungen können bei zunehmender Amplitude zu einer fibrösen Einheilung des Implantats führen und folglich eine suffiziente Osseointegration hemmen. [161] Daher ist eine stabile Position unmittelbar nach der Insertion evident für eine erfolgreiche ossäre Einheilung. [69,96] Hierfür wurden die Begriffe der Primär- und Sekundärstabilität definiert: Die Primärstabilität wird durch mechanische Retention bei der Implantatinsertion erreicht und entsteht durch Klemmwirkung, Reibung und Presspassung. In diesem Stadium hat die Einheilung noch nicht begonnen. Die Primärstabilität resultiert weitestgehend aus der Wechselwirkung des

Makrodesigns des Implantats mit dem Volumen und der Dichte des periimplantären Knochens. [137,174]

Die Knochenquantität wird post extractionem aufgrund periostal-osteoklastischer Abbaumechanismen am Kieferknochen vermindert. Die physiologische Höhenminderung des Alveolarkamms beträgt etwa 2 mm pro Jahr. [207] Die Resorptionsprozesse erreichen das Maximum nach 3 Monaten, verringern sich aber deutlich im Verlauf von 6 Monaten. Nach etwa 2 Jahren stabilisiert sich die Knochenangebotssituation. [184] Das Resorptionsausmaß des zahnlosen Kiefers kann anhand radiologischer und klinischer Parameter klassifiziert werden – von vollständigem Alveolarkamm bis zur extremen Resorption des Basalbogens. [103] Bezüglich der Knochenqualität erfolgt die Differenzierung des Kieferknochens anhand seiner Dichte in vier Klassen nach Lekholm et Zarb (Typ I – Typ IV). [9] Diese basieren auf dem Verhältnis von kortikalen zu spongiösen Knochenanteilen. Die Umwandlung der Knochenbeschaffenheit beruht, mit Ausnahme von pathologischen Veränderungen, auf den osteoporotischen Mechanismen mit fortschreitendem Alter. Grund ist die hormonal bedingte Osteoblasteninsuffizienz und die daraus resultierende physiologische Abnahme der Spongiosadichte. Charakteristische Merkmale sind der Rückgang der Kortikalis von innen nach außen sowie des Wachstums der Markraumanteile mit Untergang der Trabekelstruktur und Reduktion des roten Knochenmarks bei synchroner Zunahme der Fettmarkanteile. [169,216]

Unter der Sekundärstabilität versteht man das definitive Einwachsen des Implantats in den Kieferknochen. Nach vier bis sechs Monaten kann bei stadiengerechter Einheilung von einer erfolgreichen Osseointegration ausgegangen werden. Sie ist die Grundvoraussetzung für eine dauerhafte kaufunktionelle Belastung des Implantats. [200]

Die funktionelle Stabilität, auch als Tertiärstabilität oder Gesamtstabilität bezeichnet, wird aus den Parametern der Primär- und Sekundärstabilität bestimmt. [78]

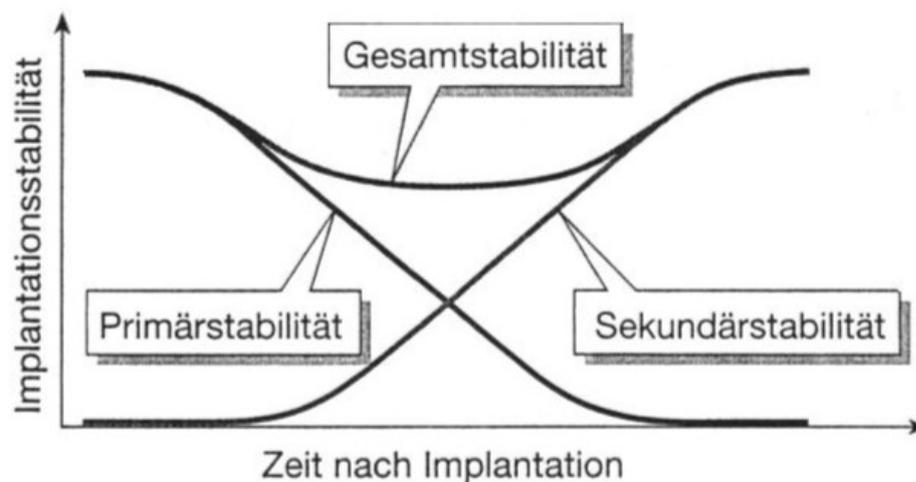


Abb. 1: Schematischer Verlauf der Primär- und Sekundärstabilität in Abhängigkeit von der Zeit [112]

Zur quantitativen Evaluation der Implantatstabilität zum Zeitpunkt der Insertion bzw. zum Zeitpunkt der Freilegung haben sich in den letzten Jahren unterschiedliche Methoden etabliert. Die biometrischen, invasiven Verfahren wie Auszug-, Ausdruck- und Ausdrehversuche finden Anwendung in tierexperimentellen Studien, da es aufgrund der Destruktion des Implantatlagers keine Indikation in der Klinik gibt. Im Bereich der non invasiven Techniken finden in der Literatur u. a. die Periotestmessung und die Resonanzfrequenzanalyse (siehe 3.4) Erwähnung, deren Vorteil in ihrer Reproduzierbarkeit und einfachen Ausführung liegt. Allerdings sind die Messungen vom Behandler stark beeinflussbar. [16,137] Die Messung des Drehmoments bei Insertion ist eine klinische, invasive Methode, die bereits während der Implantation zum Einsatz kommen kann und sich gut in die chirurgische Implantation integrieren lässt. [86]

2.4 Funktionalisierung von Implantatoberflächen

Wie bereits in Abschnitt 2.2.3 beschrieben, ist die Beschaffenheit der Implantatoberfläche ein manipulierbarer Parameter für die Steuerung der Osseointegration. [107,217] In der Forschung zur Funktionalisation der Oberfläche werden diverse Ansätze verfolgt, zum einen die Entwicklung bestimmter Oberflächenstrukturen und zum anderen die physikochemische bzw. biochemische Oberflächenmodifizierung.

2.4.1 Methoden zur Modifikation der Oberflächenrauheit

Die dreidimensionalen Eigenschaften der Oberfläche beeinflussen die Mechanismen der Adhäsion, Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten und haben eine wesentliche

Wirkung auf die Expression von osteogenen Regulatoren. [32,185] Jedoch erhöht sich bei zunehmendem Rauheitsgrad die Gefahr der Ausbildung eines Biofilms oder einer Periimplantitis. [197,228] Daher ist dieser Faktor limitiert.

In den letzten Jahren etablierten sich unterschiedliche Verfahren zur Erzeugung einer aufgerauten Oberfläche:

Sandstrahlen

Bei dieser Methode wird die Oberfläche mit beschleunigten Partikeln (meist Al_2O_3 - oder TiO_2 -Partikel) beschossen. Hierbei verformt sich die Fläche mechanisch. Je nach Partikelgröße können so Oberflächen mit unterschiedlichen Unebenheiten gestaltet werden. [57] Verbleiben jedoch viele Partikel als Reste auf der Oberfläche, kann dies einen negativen Effekt auf die Langzeitstabilität haben. [171,187]

Säureätzttechnik

Hierbei wird die Oberfläche des Implantats mit Säure (u. a. H_2SO_4 , HNO_3) behandelt, wodurch sogenannte micro pits mit einem Durchmesser von $0,5\ \mu m$ - $2\ \mu m$ auf der Titanoberfläche entstehen. [119]

Titan-Plasma-Spray-Verfahren (TPS)

Argongas wird durch eine anodische Düse gepresst. Reines Titanpulver wird durch das entstandene Argonplasma gesprüht und aufgrund der hohen Temperatur des Plasmas an die Oberfläche angeschmolzen. Das Pulver trifft mit einer hohen kinetischen Energie auf die zu beschichtende Fläche auf und kühlt ab; es erfolgt eine dauerhafte Fixierung. Die Oberfläche kann dabei um das 15-fache vergrößert werden. [57] Jedoch wurde in der Literatur von abgelösten Titanpartikeln berichtet, die im umgebenden Gewebe nachgewiesen werden konnten. [206]

2.4.2 Beschichtung mit Hydroxylapatit/ Calciumphosphat

Die Beschichtung von Materialien, bereits bei ultradünnen Schichten im Nanometerbereich, kann zu einer Maskierung der Eigenschaften des Trägers führen. Durch die Modifikation der Oberflächenzusammensetzung bzw. der Oberflächenchemie von Materialien ist eine effizientere Osseointegration denkbar. [61]

Eine Möglichkeit zur Beschichtung ist die Anwendung von Hydroxylapatit (HA) bzw. Calciumphosphat, da Calciumphosphate eine hohe Affinität zu Proteinen und

Wachstumsfaktoren aufweisen. [47,227] Ein Nachteil der Calciumphosphatbeschichtungen ist die komplizierte Erzeugung von phasenreinen Schichten. Die Komposition verschiedener Phasen kann zu einer Veränderung des Löslichkeitsproduktes und somit zum Ablösen einzelner Partikel führen. Daraus kann letztendlich sogar das Versagen eines Implantats resultieren. [62,104] Eine bewährte Methode zur Erzeugung von Hydroxylapatitschichten ist das HA-Plasmaspray. Beschichtungen mit Hydroxylapatit werden in Hinsicht ihres klinischen Werts dennoch kritisch diskutiert trotz ihrer nachgewiesenen Vorteile in der Knochenreaktion. Sie erwiesen sich als anfälliger für eine bakterielle Besiedlung (Infektionen) in den Marginalbereichen, zeigten eine geringere biologische Stabilität auf und es konnte kein signifikanter Vorteil im Vergleich zu Titanimplantaten beobachtet werden. [123]

2.4.3 Wachstumsfaktoren

Ein aktueller Ansatzpunkt zur Modifikation der Oberfläche ist der Einsatz von Wachstumsfaktoren, wie das Bone Morphogenetic Protein (BMP). Es gehört der Transforming Growth Factor Beta Superfamilie an. [223] Sowohl die Knochenneubildung als auch die Knochenregeneration werden durch die Wirkung des BMPs gesteuert. Die Verwendung von BMPs soll u. a. die Osteoinduktion stimulieren. [93,125] Inwiefern eine Trägersubstanz bei der BMP-Applikation (sog. *Biocoating*) entscheidend für die biologische Aktivität ist, wird in der Literatur kontrovers diskutiert. So sehen Gao *et al.* die Verwendung eines Carriers als Voraussetzung für eine biologische Aktivität von Wachstumsfaktoren. [72] Zudem wird durch das Biocoating die Immobilisierung des Proteins erreicht, um so eine ektope Knochenbildung zu vermeiden. [100,212]

2.4.4 Hydrophilie von dentalen Implantaten

Die freie Oberflächenenergie beschreibt die Gesamtenergie einer Festkörperoberfläche entsprechend der auftretenden Oberflächenspannung bei Flüssigkeiten. Materialien mit hoher freier Oberflächenenergie und -polarität, die sich der Oberflächenspannung von Wasser annähern, zeigen eine gute Biokompatibilität sowie Wasserbenetzbarkeit. [172,213,214]

Durch eine Erhöhung der Oberflächenenergie verspricht man sich, die Osseointegration zu beschleunigen, indem die Affinität von Proteinen für die Implantatoberfläche erhöht werden soll. [58] Im Allgemeinen wird die Benetzbarkeit durch den Kontaktwinkel zwischen der Tangentialen des Wassertropfens und der Oberfläche eines Festkörpers quantifiziert. [76] Der Ablauf des Proteincoatings ist nicht vollständig geklärt. Es besteht die These, dass über nicht kovalente Bindungen (z. B. Wasserstoffbrücken, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen) die

Bindung der Matrixproteine (z. B. Fibronectin) erfolgt. Dafür sind jedoch entsprechende Interaktionspartner auf der Implantatseite notwendig. Je stärker die Wechselwirkung, desto günstiger erscheint das Adhäsionsverhalten der Proteine. Histologische Untersuchungen belegen, dass der Biofilm auf Oberflächen mit hoher Energie dicker ist als bei niedriger Energie. Durch eine Konditionierung des Implantats scheint es somit zu einer gesteigerten Ausbildung derartiger Interaktionspartner auf der Implantatoberfläche zu kommen. [42,55,114] Eine erhöhte Oberflächenenergie stellt sich makroskopisch als Phänomen der schnelleren Benetzbarkeit dar; das Material wird hydrophiler. [5,85]

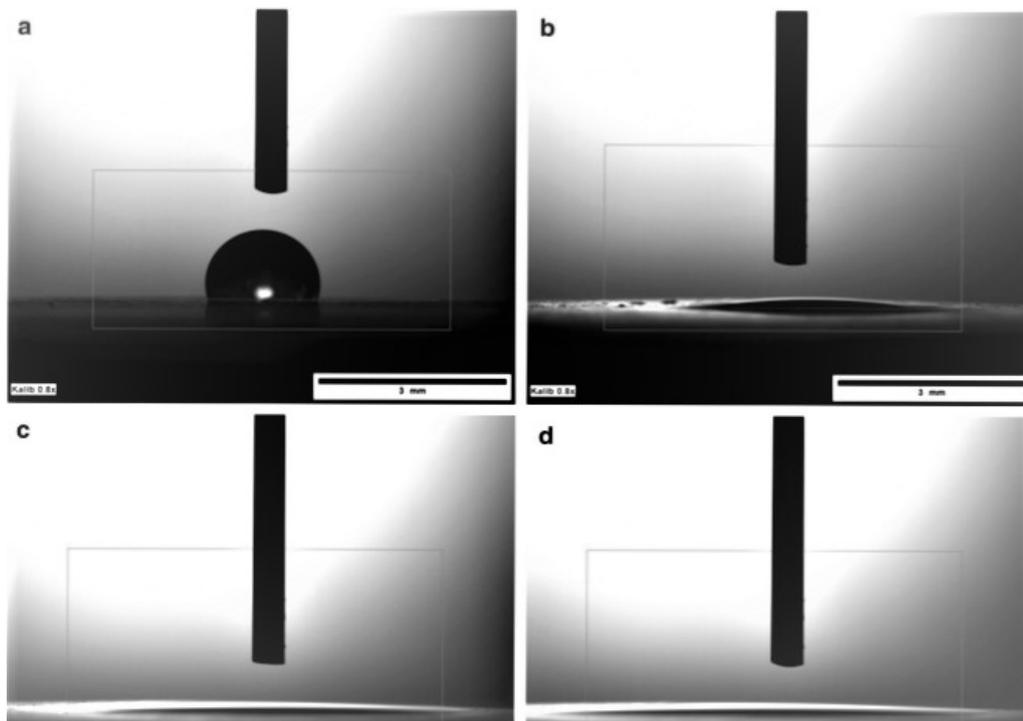


Abb. 2: Oberflächenbenetzbarkeit von Titanoberflächen (a) unbehandelt (b) nach 12 Minuten UV-Oberflächenaktivierung, (c) nach 12 Minuten O₂-Plasmaoberflächenaktivierung bzw. (d) nach Ar-Kaltplasmaoberflächenaktivierung [85]

Ein Beispiel sind chemisch modulierte Titandioxidoberflächen, d. h. die Implantatoberflächen werden hinsichtlich freier Oberflächenenergie bzw. Benetzbarkeit modifiziert. Die reine TiO₂-Oberfläche ist hydrophil. Da die Implantate nach Fertigstellung jedoch der normalen Atmosphäre ausgesetzt werden, bildet sich aufgrund der Adsorption organischer Kohlenstoffketten aus der Atmosphäre eine hydrophobe Oberfläche aus. [17] Aus diesem Grund sind einige Implantathersteller dazu übergegangen, ihre Implantate unter Schutzgas zu verpacken, um Kontaminationen aus der Raumluft zu vermeiden. Allerdings ist der Inhalt trotz steriler Verpackungen nicht vollständig luftdicht, sodass es zu einer erneuten Belastung der Implantate kommen kann. [188]

Durch eine Hydrophilisierung von Titanoberflächen konnte in vielen Studien eine gesteigerte initiale Osseointegration u. a. mit erhöhter Beteiligung von BMP-2 assoziierten Zellen nachgewiesen werden. [211] Andere Studien kamen zu gegenteiligen Ergebnissen. [43]

Methoden zur Änderung der physikochemischen Eigenschaften und Aktivierung von Implantatoberflächen sind u. a. die UV-Photofunktionalisation oder die Kaltplasmabehandlung [10,49]:

UV-Photofunktionalisation

Mithilfe von kurzweiligem UV-Licht können Oberflächen modifiziert werden, da die hochenergetischen UV-Photonen beim Auftreffen auf die Materialoberfläche molekulare Verbindungen aufbrechen. Die geöffneten Bindungsstellen sind reaktiv und bestrebt, unverzüglich einen chemisch stabilen Zustand zu erreichen. [67,79] In Bezug auf die Implantatoberfläche bedeutet das, dass sie eine höhere polare Eigenschaft annehmen, was sich sowohl auf den Kontaktwinkel bei der Oberflächenbenetzbarkeit als auch allgemein auf die Oberflächenenergie auswirkt. [150] Iwasa *et al.* zeigten 2011, dass UV-behandelte Titanoberflächen elektropositiv geladen sind im Gegensatz zu den UV-unbehandelten elektronegativen Titanoberflächen. [98] Dieses UV-induzierte elektrostatische Merkmal reguliert u. a. die Proteinadsorption von Titanoberflächen. Adhäsionsprozesse können somit effektiver erfolgen. [18] Der genaue Ablauf- bzw. Wirkungsmechanismus ist jedoch derzeit noch unbekannt.

Plasmaaktivierung

Die Anwendungsfelder von physikalischem Plasma in der Medizin finden sich u. a. in der biologischen Kontamination, der therapeutischen Wundbehandlung chronischer und infizierter Wunden sowie der Modifikation von Materialoberflächen. Der Einsatz der plasmabasierten Oberflächenmodifikation wird bereits seit den 1960ern zur Optimierung von biorelevanten Medizinprodukten angewendet. [138]

Plasma ist ein ionisiertes Gas: durch die Energiezufuhr werden Elektronen aus Atomen bzw. Molekülen eines sich im gasförmigen Aggregatzustand befindlichen Stoffes herausgelöst, sodass eine teilweise oder vollständige Ionisation von Teilchen resultiert. Daraus ergibt sich eine höhere Reaktivität des Gases. Die Energiezufuhr erfolgt in Form von Wärme oder elektrischen Feldern. Die Parameter, die die Plasmazusammensetzung definieren, sind das zugrundeliegende Gas oder Gasgemisch, Druckverhältnisse bei der Erzeugung des Plasmas sowie die Art der Energiezufuhr. [102]

Implantatoberflächen weisen trotz steriler Verpackung eine Kontamination mit organischen Verbindungen auf, sobald sie Luft ausgesetzt sind. Infolgedessen besitzen annähernd alle Implantatoberflächen hydrophobe Eigenschaften. [188] Die Oberflächeneigenschaften wie Benetzbarkeit und Oberflächenenergie von Metallwerkstoffen können jedoch durch den Einsatz von Plasma spezifisch beeinflusst werden. Studien von Duske *et al.* (2012) wiesen nach, dass die bessere Benetzbarkeit von Werkstoffoberflächen wiederum einen positiven Effekt auf die Adhäsion und die Migration und Proliferation von knochenbildenden Zellen *in vitro* haben können. [63]

3. Materialien und Methoden

3.1 Studiendesign

Der Tierversuch wurde bei der Freien und Hansestadt Hamburg - Behörde für Gesundheit und Verbraucherschutz - beantragt und genehmigt (Gz.: V1305 / 591-00.33).

Vor Beginn der Versuchsreihe wurden 6 Landschweine in die Tierversuchshaltung des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf überführt. Die Landschweine wurden randomisiert in 3 Gruppen aus je 2 Tieren unterteilt; die erste Gruppe wurde nach 2 Wochen, die zweite nach 4 Wochen und die dritte nach 8 Wochen euthanasiert. Nach zweiwöchiger Eingewöhnungsphase wurden jedem Tier in Intubationsnarkose 9 dentale Titanimplantate in die Kalotte inseriert. Die Verteilung der Implantate erfolgte nach einem randomisierten Muster, wobei bei jedem Tier 3 nicht oberflächenfunktionalisierte, 3 über 12 Minuten UV-oberflächenaktivierte sowie 3 über 12 Minuten kaltplasmaoberflächenaktivierte Implantate eingebracht wurden. Somit wurden entsprechend der Versuchsanordnung insgesamt 54 Implantate inseriert. Nach der Euthanasierung wurden die Kalotten aus dem Schädelknochen mit einem Meißel herausgelöst und in 4%iger Formaldehydlösung (Grimm GmbH, Torgelow, Deutschland) gelagert. (Abb.3)

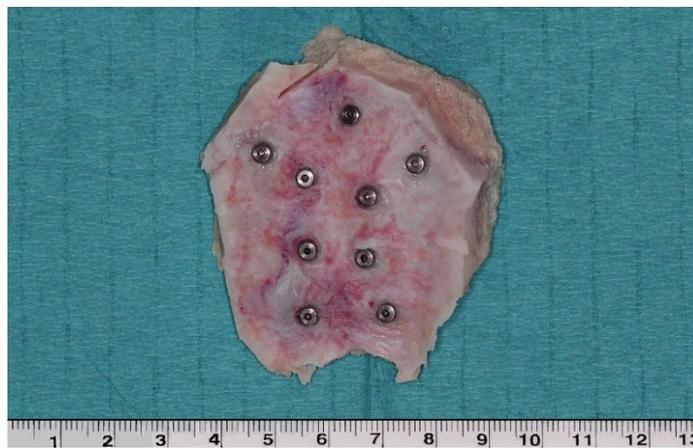


Abb. 3: entnommene Schädelkalotte nach 4 Wochen Implantatstandzeit

Die Implantatstabilität wurde über eine Resonanzfrequenzanalyse bei jedem Implantat intraoperativ unmittelbar nach der Insertion und nach Euthanasierung *ex vivo* bestimmt. Nach konventioneller Röntgenuntersuchung (Faxitron X-ray, Faxitron Xray Corp., Wheeling Illinois, USA) und Mikro-Computertomografie (μ -CT 40, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz) zur Kontrolle und Beurteilung der Einheilung wurden die entnommenen Kalotten der

histomorphometrischen Analyse zugeführt. Tabelle 1 zeigt die Einteilung der Tiere und Implantatpositionen.

Tiernummer	Oberflächenaktivierung									Implantatstandzeit
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
6	P	K	UV	K	UV	K	P	UV	P	2 Wochen
5	K	P	UV	P	UV	P	K	UV	K	2 Wochen
1	K	P	UV	UV	P	P	K	K	UV	4 Wochen
2	P	K	UV	K	UV	K	P	UV	P	4 Wochen
3	UV	K	UV	P	UV	K	K	P	P	8 Wochen
4	UV	UV	UV	K	K	K	P	P	P	8 Wochen

Tab. 1: Einteilung der Schweine sowie die jeweiligen Implantatpositionen: K - Kontrolle/ P - Plasmaoberflächenaktivierung/ UV – Ultraviolettflächenaktivierung

3.2 Verwendete Implantate

Die für die Studie verwendeten Implantate Camlog® SCREW-LINE Implantat Promote® plus wurden von der Firma Altatec GmbH (Altatec GmbH, Wimsheim, Deutschland) hergestellt. Hierbei handelt es sich um konische Schraubenimplantate mit einem selbstschneidenden Gewinde und einem glatt gedrehten Implantathalsanteil von 0,4 mm Höhe. Die Konizität beträgt in Abhängigkeit der Implantatlänge bzw. des -durchmessers zwischen 3°-9°. Das Implantat besteht aus Reintitan Grad 4. Die gestrahlte, säuregeätzte Oberfläche ist moderat rau. [38,39] In der vorliegenden Arbeit wurden Implantate mit einer Länge von 7 mm und einem Durchmesser von 3,8 mm verwendet.

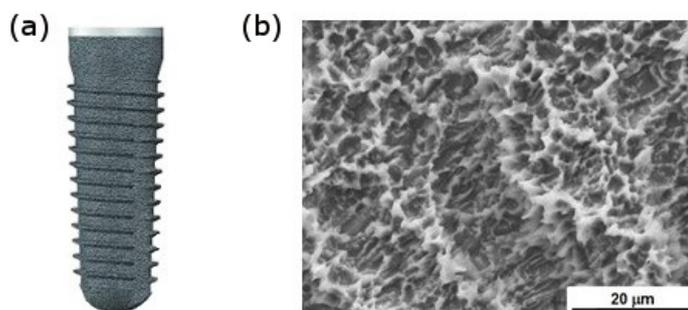


Abb. 4: (a) Camlog® SCREW-LINE Implantat Promote® plus (b) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Promote®-Oberfläche (5000-fache Vergrößerung) [38,39]

3.3 Oberflächenmodifikation

Die Funktionalisierung der Oberfläche von Titan mit UV-Licht bzw. Argonkaltplasma soll einer schnelleren und besseren ossären Einheilung dienen. Studien zeigten in der jüngeren Vergangenheit, dass diese Verfahren *in vivo* zu einer deutlichen Steigerung des Knochen-Implantat-Kontakts führen können. [140,202]

UV-Photofunktionalisation

In der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt 18 Implantate über 12 Minuten unmittelbar vor der Insertion mit UV-Licht in einem UV-Lichtofen (TheraBeam[®] Super Osseo, Ushio Inc., Tokio, Japan) vorbehandelt und entsprechend des randomisierten Musters eingebracht. Der UV-Lichtofen arbeitet mit verschiedenen Spektren und einer Intensität von ca. 0.05 mW/cm² ($\lambda=360$ nm) bzw. 2 mW/cm² ($\lambda=250$ nm).

Plasmaaktivierung

Im Rahmen dieser Dissertation wurden 18 Implantate 12 Minuten im Plasmaofen Yocto III (Diener Electronic GmbH, Jettingen, Deutschland) vorbehandelt und unmittelbar inseriert. Es wurde Kaltplasma mit Argongas unter 24 W und -0,5 mbar generiert.

3.4 Resonanzfrequenzanalyse

Die Analyse der Implantatstabilität erfolgte mithilfe des RFA-Messgerätes OSTELL[®] ISQ (OSTELL Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden). Hierbei handelt es sich um eine schnelle und nicht invasive Methode zur Quantifizierung der Implantatstabilität. [230]

Nach Einbringen des Implantats in den Knochen wird über einen Messwandler, dem Transducer (SmartPeg, OSTELL Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden), der direkt mit dem Implantat verschraubt wird, ein Impuls von dem Gerät in das Implantat weitergeleitet. In Abhängigkeit des Ausmaßes des Knochen-Implantat-Kontakts sowie der Dichte des periimplantären Knochens erfolgt eine Änderung der applizierten Frequenz. Diese kann wiederum über den Transducer als Resonanzamplitude detektiert werden. Ermöglicht wird diese Transformation der Energien, da im Messwandler zwei Piezoelemente angeordnet sind, die den eingehenden elektrischen Impuls des Gerätes in eine mechanische Schwingung bzw. die Frequenzänderung im Implantat in einen elektrischen Wert umwandeln.

Die Impulsantwort des Induktionsreizes des Implantats wird durch das Messgerät registriert und als numerischer Messwert, dem Implantatstabilitätsquotienten (ISQ), angegeben. Der

dimensionslose ISQ-Wert wird auf einer Skala von 1 bis 100 dargestellt, wobei die Relation zum Resonanzfrequenzwert linear ist. [176] Die Resonanzfrequenz wird maßgeblich durch die Parameter der Materialrigidität des Implantats, der Beschaffenheit der Knochen-Implantat-Oberfläche sowie der Stabilität des periimplantären Gewebes beeinflusst. Da es sich bei der Steifigkeit des Implantats um eine feste Größe handelt, reflektiert eine Änderung der Resonanzfrequenz bzw. des ISQ-Wertes einen Rückgang oder eine Erhöhung der Knochen-Implantat-Kontaktfläche bzw. der Knochendichte. [137] Somit kann die Messung des Implantatstabilitätsquotienten zur Bestimmung der primären Stabilität bei Implantatinsertion, während der Einheilung oder bei Freilegung genutzt werden. Das Ausmaß der Osseointegration ist somit quantifizierbar.

In der Versuchsanordnung dieser Dissertation wurde mittels Resonanzfrequenzanalyse der ISQ-Wert direkt nach Implantatinsertion in die Schweinekalotte ermittelt (n=54). Nach 2, 4 bzw. 8 Wochen erfolgte die Euthanasie der Tiere, die Entnahme der Kalotten und die erneute Bestimmung des ISQ-Werts jedes Implantats (jeweils n=18 unterteilt in 3 Subgruppen). Es wurde dreifach gemessen und der Mittelwert aus den Mehrfachmessungen berechnet.

3.5 Tierversuch

Der Tierversuch erfolgte von Januar 2017 bis März 2017 in der Versuchstierhaltung des Universitätsklinikums Eppendorf gemäß den tierärztlichen Richtlinien und des Tierversuchsantrages. 6 Deutsche Landschweine wurden aus einem landwirtschaftlichen Betrieb aus der unmittelbaren Umgebung von Hamburg umgesiedelt und gemeinsam in Boxen gehalten. Sie erhielten eine ad libitum Fütterung mit artgerechtem Futter und Wasser. 14 Tage vor Beginn der Versuchsreihe wurden die Tiere zur Akklimatisierung in die Versuchstierhaltung überführt.

3.5.1 Operationsvorbereitung und Narkoseüberwachung

Der Gesundheitszustand sowie die Narkose wurden durch die Tierärztin der Versuchstierhaltung des Universitätsklinikums Eppendorf überwacht bzw. durchgeführt.

Es erfolgte für die Allgemeinanästhesie die Sedierung der Tiere mit 4 mg/kg Körpergewicht Azaperon (Stresnil[®], Jansen, Bad Homburg, Deutschland). Anschließend wurden die Tiere mit jeweils 10 mg/kg Ketamin (HVW Bremer Pharma, Warburg, Deutschland) und 0,5 mg/kg Midazolam (Hameln-Pharma Plus, Hameln, Deutschland) intramuskulär narkotisiert. Die Intubation erfolgte unter Sicht endotracheal mit einem Miller-Laryngoskop Gr. 4 und einem Standardtubus mit 6-7 mm Durchmesser (Portex, Kent, England). Über ein automatisches

Narkosegerät (Zeus Dräger, Draeger Medical Systems Inc., Telford, USA) wurde mit Isofluran (Forene[®], Abbott GmbH, Wiesbaden, Deutschland) (66 % N₂O, 32 % O₂ und 2 % Isofluran, Atemvolumen von 400ml, Atemfrequenz von 20 Atemzügen pro Minute) die Anästhesie körperrgewichtsadaptiert aufrechterhalten. Zur Infektionsprophylaxe erhielten die Schweine intraoperativ eine intravenöse Injektion von 10 mg/kg Körpergewicht Enrofloxacin (10%Baytril, Bayer, Leverkusen, Deutschland). Um die empfindlichen Bindehäute sowie die Cornea der Augen während der Operation vor dem Austrocknen zu schützen, erfolgte die Applikation von Bepanthen[®]-Augensalbe (Roche Pharma AG, Grenzach, Deutschland). Zur Kontrolle der Vitalparameter während der Narkose diente eine Pulsoxymetrie sowie eine EKG-Ableitung. (Infinity Delta, Draeger Medical Systems, Inc., Telford, USA) Die Dokumentation wurde mithilfe eines standardisierten Anästhesieprotokolls durchgeführt. Die Tiere erhielten zur Stabilisierung des Kreislaufes Ringer-Lactat-Lösung (BRAUN, Melsungen, Deutschland). Nach Lagerung der Versuchstiere in Bauchlage und Desinfektion des Operationsfeldes mit Betaisodona[®]-Lösung (BRAUN, Melsungen, Deutschland) erfolgte die Insertion der Implantate unter aseptischen Bedingungen. Die Dauer der Operation betrug pro Versuchstier ca. 60 Minuten.

3.5.2 Operationsablauf

Vor der Inzision im Frontalbereich der Kopfhaut erfolgte die Gabe von 10ml des Lokalanästhetikums Ultracain in die Schwarte (Ultracain D-S forte, Hoechst GmbH, Frankfurt, Deutschland). Über einen ca. 12 cm messenden sagittalen Schnitt wurde das Os calvarium subperiostal freipräpariert und nach Markierung der korrekten Position mithilfe einer Pilotbohrung die Implantatinsertionsstellen unter ständiger Wasserkühlung mit steriler Kochsalzlösung (BRAUN, Melsungen, Deutschland) anhand der Vorgaben des Herstellers aufbereitet. Die Implantate wurden primärstabil in die vorgebohrten Implantatlöcher mit einem maximalen Eindrehmoment von 45 Ncm nach einem randomisierten Muster (siehe 3.1) inseriert.

Der chirurgische Wundverschluss erfolgte nach Implantatinsertion mit Vicryl[®] 2.0 (Ethicon Co., Norderstedt, Deutschland) für das Periost und das subkutane Gewebe sowie Seralene[®] 2.0 (Serag-Wiessner GmbH, Naila, Deutschland) für die Haut über den Implantaten in mehreren Schichten. Die Wunden wurden mit einem atmungsaktiven Aluminiumsprühverband (Dechra Veterinary Products, Aulendorf, Deutschland) anschließend versorgt. Vor Beendigung des chirurgischen Eingriffs erhielten die Versuchstiere noch

intraoperativ 4 mg/kg/KG Rimadyl Carprofen (Pfizer, Berlin, Deutschland) intramuskulär zur Analgesie.

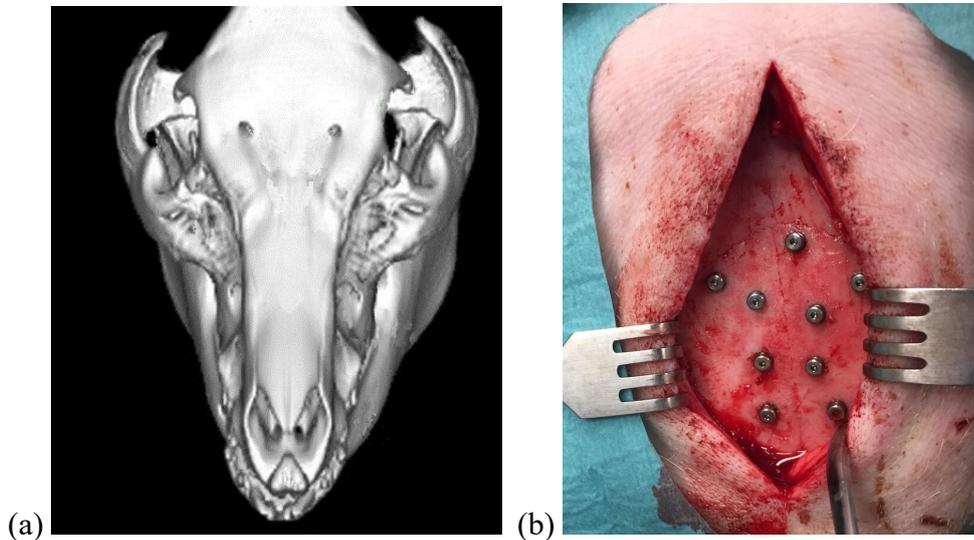


Abb. 5: (a) CT-Darstellung des Ossis calvariae [196] (b) Operationssitus nach Insertion der 9 Implantate

3.5.3 Postoperative Versorgung der Tiere

Zur antibiotischen Prophylaxe sowie Schmerztherapie wurde die intramuskuläre Gabe von Carprofen und Enrofloxacin für 7 Tage postoperativ fortgeführt. Bei der täglichen Visite wurde der Zustand der Wunden auf Entzündungszeichen überprüft. Über das Trink- und Fressverhalten der Tiere erfolgte die Beurteilung des allgemeinen Gesundheitszustandes. Das Körpergewicht wurde regelmäßig kontrolliert und dokumentiert. Die Tiere wurden post operationem gemeinschaftlich in ihren gewohnten Boxen gehalten.

3.5.4 Euthanasie und Probenentnahme

Nach einer Einheilzeit von 2, 4 bzw. 8 Wochen wurden die Versuchstiere euthanasiert. Hierfür wurden sie zunächst durch die intramuskuläre Injektion von Ketamin und Dormicum sediert und im Anschluss durch die intravenöse Gabe von T-61 (Embutramid/ Mebezonium/ Tetracain) (MSD, Kenilworth, USA) in der Dosierung von 6ml pro 50 kg Körpergewicht euthanasiert. Über einen erneuten Sagittalschnitt wurde das Os calvarium erneut dargestellt. Die Entnahme des Ossis calvariae erfolgte mithilfe von Hammer und Meißel. Es zeigten sich eine stadiengerechte Wundheilung und keine klinischen Auffälligkeiten. Die Präparate wurden zur Konservierung in 4 %iger Formaldehydlösung (Otto Fischar GmbH, Saarbrücken,

Deutschland) bei 4 °C gelagert und nach Messung des ISQs der histologischen Aufarbeitung und der radiologischen Untersuchung zugeführt.

3.6 Probenbearbeitung für die histologische Untersuchung

3.6.1 Herstellung der Präparate

Die Herstellung der Schliffe mithilfe der Trenn-Dünnschliff-Technik nach Donath sowie die histologische Färbung erfolgte im Institut für Osteologie und Biomechanik des Universitätsklinikums Eppendorf.

Das Verfahren der Trenn-Dünnschliff-Technik wurde 1987 durch Prof. Donath entwickelt. Hierbei können nicht schneidbare Gewebe, wie beispielsweise Knochen oder Zahnschmelz, für histologische Untersuchungen bis zu einer Schichtdicke von 10µm präpariert werden. Dadurch ist ebenfalls die Untersuchung von Implantat-Knochen-Grenzflächen lichtmikroskopisch aber auch mikroradiografisch oder fluoreszenzmikroskopisch möglich. [59]

Vorbereitung der Knochenpräparate für die Fixation

Zur Anfertigung der Schliffe erfolgte mithilfe einer Diamantbandsäge (EXAKT 310 CP mit EXAKT Diamanttrennband 0,3 mm D64, EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) die Entnahme der zu untersuchenden Implantate mit anliegendem Knochengewebe aus der Kalotte, sodass ca. 15 × 15 × 8 mm messende Präparate entstanden. Im Anschluss wurden diese konventionell (Faxitron X-ray, Faxitron Xray Corp., Wheeling Illinois, USA) sowie im µ-CT (µ-CT 40, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz) geröntgt und in Kunststoff eingebettet.

Vor der Einbettung der Präparate wurden diese mit einer 3,5%igen Formaldehydlösung gespült und im Einbettautomat (Autotechnicon, Bavimed GmbH, Birkenau, Deutschland) in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70 %, 80 %, 90 %, 96 %, 100 %iges Ethanol) (Geyer GmbH, Hamburg, Deutschland) über 96 Stunden bei Raumtemperatur entwässert.

Infiltration

Zur Durchführung der Kunststoffinfiltration wurden die Knochenblöcke mit einem Gemisch aus hochreinem Ethanol und Technovit® 7200 VLC (Kulzer, Wehrheim, Deutschland), einem lighthärtenden Einkomponentenkunststoff auf Methacrylatbasis, nach folgendem Schema in einem aufsteigenden Technovit : Alkohol Verhältnis eingebettet:

- 30 % Technovit® 7200 : 70 % abs. Ethanol für 6 Stunden

- 50 % Technovit® 7200 : 50 % abs. Ethanol für 8 Stunden
- 70 % Technovit® 7200 : 30 % abs. Ethanol für 8 Stunden
- 100 % Technovit® 7200 und 1 % BPO für 12 Stunden
- 100 % Technovit® 7200 und 1 % BPO für 24 Stunden

Danach wurden die Proben für eine Woche im Kühlschrank gelagert.

Polymerisation und Einbettung

Die mit Kunststoff infiltrierte Präparate wurden in kleine Plastikschälchen gelegt und vollständig mit Technovit® 7200 VLC (Kulzer, Wehrheim, Deutschland) bedeckt. Nach der Positionierung der Einbetterschälchen in den Kammern des Einbettgerätes erfolgte anschließend die zweiphasige Polymerisation durch Exposition der Präparate mit Licht der Wellenlängen 400-500 nm zur Aushärtung des Kunststoffes:

Phase 1: Vorpolymerisierung mit Gelblicht zur Einleitung der Polymerisation und Aushärtung des Einbettkunststoffes für 2 Stunden

Phase 2: Auspolymerisierung des in die Proben infiltrierte Kunststoffes mit Blaulicht für 8 Stunden bei einer Polymerisationstemperatur von weniger als 40 °C

Die Aushärtung fand im Exakt Polymerisationsgerät 520 (Exakt-Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) statt. Nach Ausbettung des Methacrylatblocks mit den darin enthaltenen Knochen-Implantat-Proben wurde dieser auf dem Mikroschleifsystem (EXAKT400 CS Tellerschleifgerät, EXAKT-Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) und Nassschleifpapier der Körnung P500 (Hermes Abrasives Ltd., Virginia Beach, USA) beschliffen und geglättet, um eine ebene Fläche des Probenblocks in der gewünschten Ebene zu erhalten und alle relevanten Strukturen auf der Schliifffläche darzustellen. Der so bearbeitete Kunststoffgewebblock wurde nun mit dem Präzisionskleber Technovit® 7210 VLC auf einem Objektträger (Diaplan, Norderstedt, Deutschland) mithilfe einer Präzisionsklebepresse (EXAKT-Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) fixiert. Die Polymerisationsdauer unter Blaulicht betrug 30 Minuten. Der Plexiglasobjektträger mit dem fixierten Gewebblock wurde nun im Mikroschleifsystem Vakuum fixiert, um die Unterseite des Probenblocks planparallel zur Oberseite zu schleifen. Anschließend erfolgte die Fixierung eines zweiten Objektträgers mit Technovit® 7210 VLC auf der Unterseite nach dem gleichen Verfahren. Danach wurden am Trennschleifsystem (EXAKT 310 CP mit EXAKT Diamanttrennband 0,1 mm D64, EXAKT-Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) 300 µm dicke, planparallele Objektscheiben

abgesägt, die dann wiederum am Mikroschleifsystem auf die gewünschte Dicke von 80-100 μm geschliffen und poliert (Körnung 1200/2500/4000 Silicon-Carbide Papier, Allied High Tech Products Inc., Rancho Dominguez, USA) wurden.

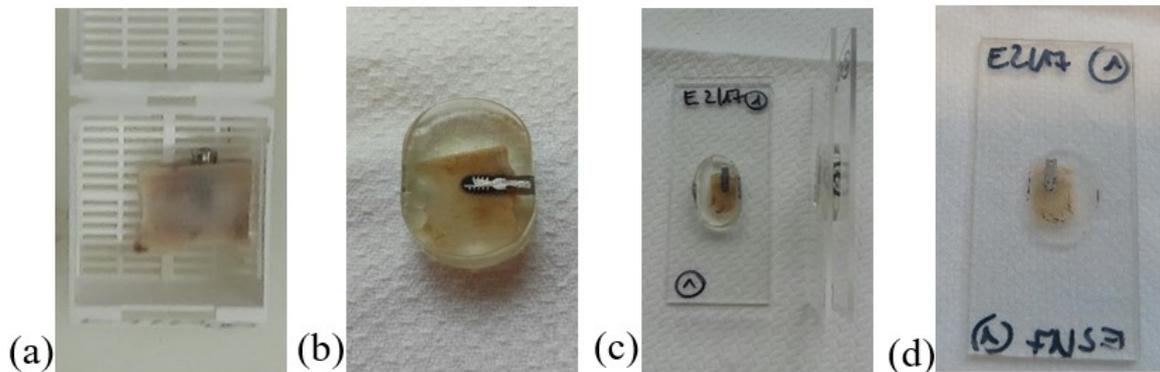


Abb. 6: (a) Implantate mit anliegendem Knochengewebe aus der Kalotte im Einbettgeschälchen (b) ausgebetteter Methacrylatblock (c) zwischen zwei Objektträgern fixierter Methacrylatblock (d) 300 μm dickes, planparalleles Präparat

Toluidinblaufärbung

Bei der Toluidinblaufärbung handelt es sich um eine metachromatische Färbung. Die Intensität der bei der Färbung entstehenden Blautöne richtet sich nach der Elektronendichte des Materials.

Für die Toluidinblaufärbung wurden die Dünnschliffpräparate 10 Minuten in 10%igem H_2O_2 kontinuierlich geschwenkt und danach unter fließendem, kaltem Wasser gespült. Nach der Trocknung der Präparate wurden diese für 30 Minuten in Toluidinblaulösung getaucht und anschließend die überschüssige Farbe unter Leitungswasser abgespült. Nach 24 Stunden Trocknungszeit erfolgte das Eindecken der Dünnschliffpräparate mit Technovit® 7200 für 30 Minuten unter Blaulicht. In der lichtmikroskopischen Untersuchung stellte sich mineralisiertes Hartgewebe ungefärbt bis blassblau dar.

3.7 Fotodokumentation und Auswertung der Schliffe

Das Ziel der Auswertung war die Berechnung und Darstellung des gesamten Knochen-Implantat-Kontakts (Bone Implant Contact, BIC) sowie der Knochenfläche innerhalb der retentiven Anteile bzw. der Einheilkammern (Bone Area Fraction Occupancy, BAFO). [75] Der BIC bildet eine kritische Determinante für das Langzeitüberleben eines Implantats. Ermittelt wird hierbei der Anteil der Implantatoberfläche, der direkt an den mineralisierten Knochen ohne dazwischenliegendes Bindegewebe angelagert ist. [203]

Schlüsselt man prozentual die Fläche innerhalb der retentiven Bereiche eines Implantats, die von Knochen eingenommen wird, zur retentiven Gesamtfläche auf, erhält man die Bone Area Fraction Occupancy (BAFO). (Abb.8) [121]

Hierfür wurde die Gesamtstrecke des Implantatquerschnittes bzw. die Fläche der retentiven Anteile sowie der knochenbedeckte Anteil farblich markiert und gemessen. (Abb.7) Die fertigen Schliffe wurden durch ein Lichtmikroskop (Axio Scope.A1, Carl Zeiss AG Oberkochen, Deutschland) mit einer Mikroskopkamera (Olympus DP 72, Tokio, Japan) untersucht. Die Beurteilung der berechneten Parameter erfolgte unter Zuhilfenahme der OsteoMeasure XP 3.2.1.1 Software (Osteometrics, Atlanta, USA).

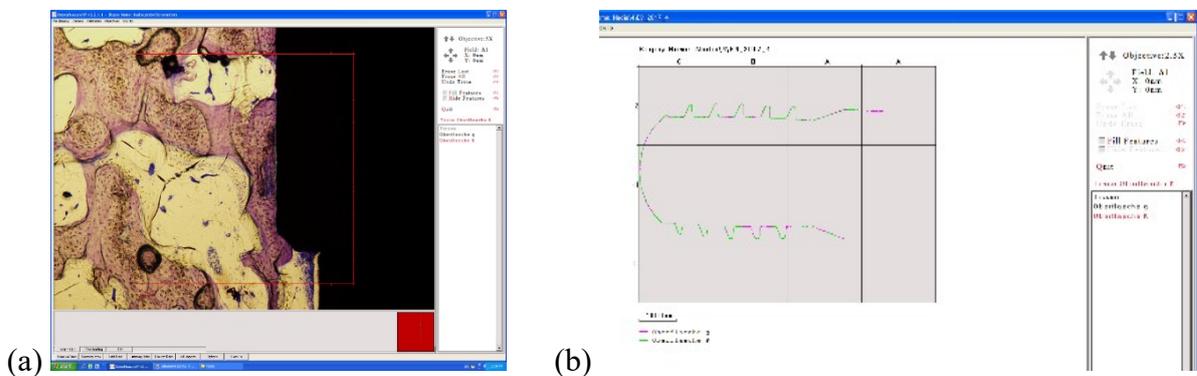


Abb. 7: Osteomeasuresoftware zur histomorphometrischen Auswertung des Knochen-Implantat-Kontakts (BIC)

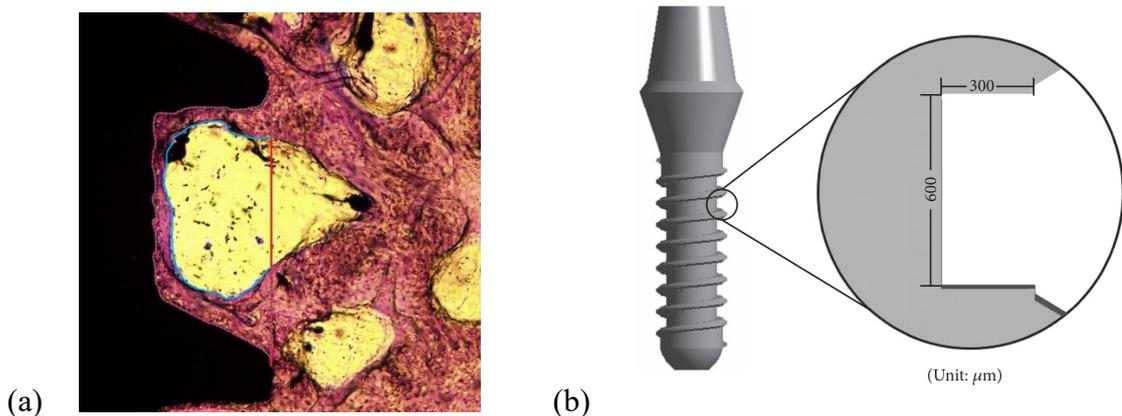


Abb. 8: (a) BAFO: prozentualer Anteil des Knochens [Fläche innerhalb der blauen/gestrichelten Markierung] in der Einheilkammer [Fläche innerhalb der roten/gestrichelten Markierung] (5-fache Vergrößerung) (b) schematische Darstellung einer Einheilkammer/ retentiver Bereich [120]

3.8 Statistische Auswertung

Die deskriptive Datenerhebung erfolgte zur weiteren Analyse mit dem Tabellenkalkulationsprogramm Excel (Microsoft, Redmond, USA). Zur statistischen Auswertung diente das Statistikprogramm SPSS (Version 24 IBM, Armonk, USA). Die Ergebnisse des Knochen-Implantat-Kontakts sowie des Knochenanteils in den retentiven Anteilen (BAFO) wurden mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf Normalverteilung getestet. Für die Überprüfung der Signifikanz erfolgte die Anwendung des t-Tests. Im Rahmen einer einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung wurden die unterschiedlich oberflächenaktivierten Implantate in Bezug auf ihre ISQ-Werte verglichen und auf signifikante Unterschiede untersucht. Des Weiteren wurde mithilfe des Korrelationskoeffizienten nach Pearson auf einen linearen Zusammenhang zwischen BIC bzw. BAFO und Implantatstabilität geprüft. Ein Ergebnis von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen.

4. Ergebnisse

4.1 Tierexperimentelle Ergebnisse

Der Verlauf aller Operationen war komplikationsfrei, keines der Hausschweine zeigte intra- bzw. postoperativ auffällige Befunde, die auf eine lokale oder systemische Beeinträchtigung hindeuteten. Sowohl der chirurgische Zugang als auch die Insertion der Implantate erwiesen sich als unkompliziert und alle Implantate konnten nach einem vorher festgelegten Schema und unter Beachtung der Herstellervorschriften eingebracht werden. Um das Risiko postoperativer Entzündungen oder Dehiscenzen zu minimieren, wurden die Tiere bis zur Euthanasie in Zweierboxen gehalten. Alle Versuchstiere konnten bereits kurze Zeit nach der Operation wieder aufstehen und begannen sogleich Futter und Wasser aufzunehmen. Während der Heilungsphase traten keinerlei Wundheilungsstörungen, Dehiscenzen, Implantatverluste oder anderweitige Komplikationen auf. Die Tiere legten stetig an Gewicht zu. Auch im Beobachtungszeitraum bis zur Tötung zeigten sich keine Auffälligkeiten. Die Auswertung aller Ergebnisse der 6 Tiere war somit möglich. Die Opferung von je 2 Tieren konnte somit planmäßig nach 2, 4 und 8 Wochen postoperativ erfolgen.

Tiernummer	Gewicht		Standzeit
	OP-Tag	Tag der Euthanasierung	
6	75,0 kg	85,5 kg	2 Wochen
5	74,0 kg	84,0 kg	2 Wochen
1	73,5 kg	92,5 kg	4 Wochen
2	75,0 kg	91,5 kg	4 Wochen
3	74,5 kg	105,5 kg	8 Wochen
4	76,0 kg	108,5 kg	8 Wochen

Tab. 2: Gewichtstabelle der Versuchstiere

4.2 Makroskopische und radiologische Auswertung

Bei der Adspektion der Kalotten post mortem zeigten makroskopisch alle Knochen eine intakte Oberfläche. Jedoch kam es bei Entnahme der Kalotte bei 2 Versuchstieren (Nr. 1 und 2) zu einer Fraktur entlang der Sutura interfrontalis. Die Frakturlinie befand sich jedoch über 5 mm entfernt von den einzelnen Implantaten, sodass die Fraktur keinen Einfluss auf die weitere Aufarbeitung der Schiffe hatte.

Des Weiteren waren keine Anzeichen von Entzündungen oder Osteolysen nachweisbar. Die Implantate waren makroskopisch suffizient im Knochen inseriert. Zum Teil waren die Distanzhülsen der Implantate von Knochengewebe überwachsen. (Abb.9)

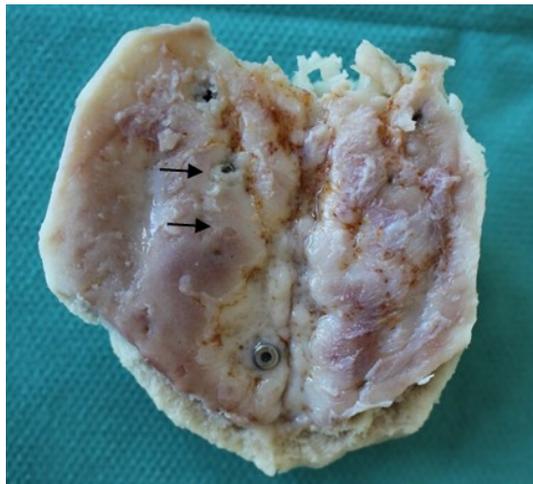


Abb. 9: Detailaufnahme der Kalotte eines Versuchstieres nach Entnahme, Blick auf die äußere Kortikalis; die Distanzhülsen der Implantate sind teilweise bzw. vollständig mit Knochen überwachsen (mit Pfeilen markiert)

In der konventionellen röntgenologischen Kontrolle nach Kalottenentnahme zeigte sich eine hervorragende radiologische Osseointegration von 50 der 54 Implantate. (Abb.11) Vier der Implantate wurden teilweise in den Sinus frontalis inseriert. Die Auswertung des BIC- bzw. BAFO-Wertes wurde bei diesen Implantaten unter Vorbehalt vorgenommen. Alle Implantate wiesen eine suffiziente Integration in den Knochen auf, die sich in den Mikro-Computertomografieaufnahmen bestätigte. (Abb.10) Es ließen sich keine periimplantären Osteolysezonen oder sonstige Auffälligkeiten nachweisen. Weder implantatnahe Fissuren noch Frakturlinien waren auf den Aufnahmen sichtbar. (Abb.11)

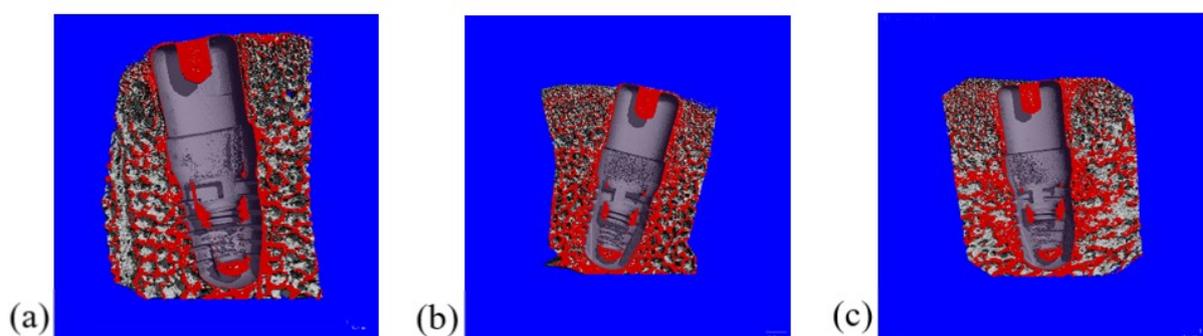
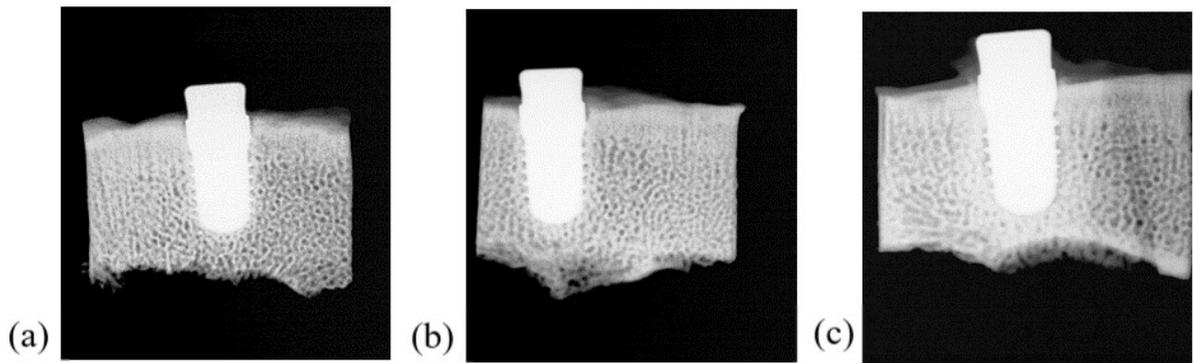
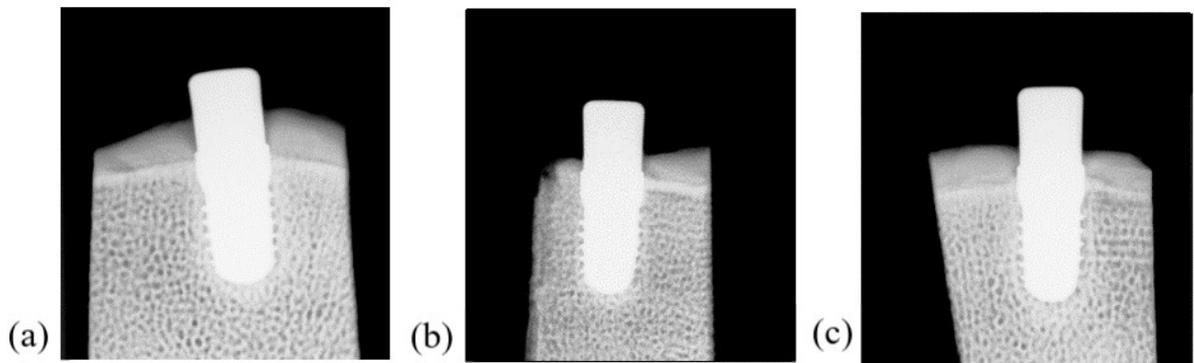


Abb. 10: 3D-Darstellung von Mikro-Computertomografieaufnahmen entnommener Präparate 8 Wochen nach Implantation (a) nativ (b) Kaltplasmaaktivierung (c) UV-Photofunktionalisation

Entnahme nach 2 Wochen



Entnahme nach 4 Wochen



Entnahme nach 8 Wochen

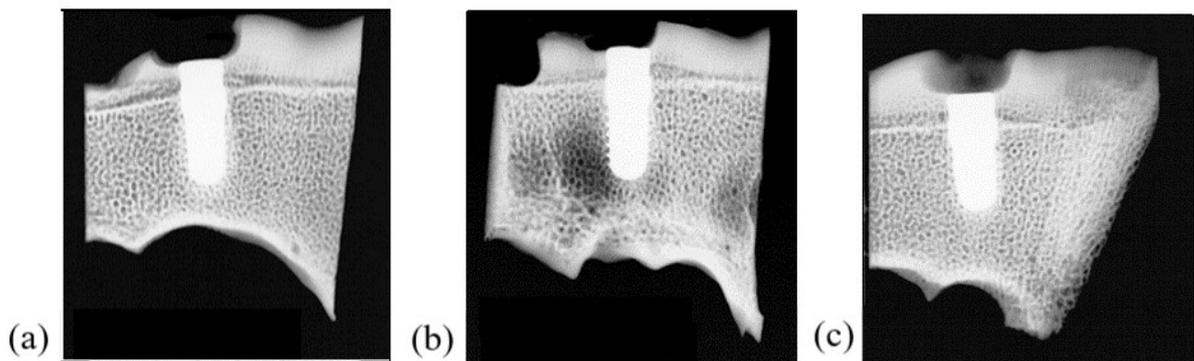


Abb. 11: Beispiele der konventionellen röntgenologischen Kontrolle von Sägezuschnitten jeweils 2, 4 und 8 Wochen nach der Implantatinsertion: (a) nativ (b) Kaltplasmaaktivierung (c) UV-Photofunktionalisation

4.3 Auswertung der Resonanzfrequenzanalyse

Bei der Betrachtung der Implantatstabilität zum Zeitpunkt der Insertion, der sogenannten Primärstabilität, gemessen als ISQ-Wert mithilfe der Resonanzfrequenzanalyse, ergaben sich für alle Implantate unmittelbar nach der Insertion (n=54) folgende Ergebnisse: Der ISQ-Median der unbehandelten Implantate lag bei 94,8 (unteres/oberes Quartil: 87,4/96,2), der UV-oberflächenfunktionalisierten Implantate bei 92,8 (89,0/96,3) und der kaltplasmaoberflächenfunktionalisierten Implantate bei 95,8 (94,5/96,7). Alle Implantate wiesen einen ISQ-Wert von mehr als 62,0 auf. Zwischen den vor- bzw. unbehandelten Implantaten gab es keinen signifikanten Unterschied bezüglich der Resonanzfrequenzanalyse zur Primärstabilität.

Die Auswertung der klinisch stabilen Implantate der Untersuchungsgruppe 1 (n=18), in der die Standzeit der Versuchstiere 2 Wochen betrug, ergab, dass kein Implantat bei der Freilegung einen ISQ-Wert unter 68,3 aufwies. Jedoch zeigte sich im Vergleich der Medianwerte zum Zeitpunkt der Insertion ein initialer Stabilitätsverlust durch eine deutliche Verringerung der ISQ-Werte. Der mediane ISQ-Wert der Implantate, die mit Kaltplasma bzw. UV-Licht vorbehandelt wurden, betrug 77,2 (74,8/79,6) bzw. 76,3 (74,3/77,8). Die Messung der nativen Implantate ergab im Durchschnitt 76,2 (71,8/77,5); auch hier konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Implantatgruppen festgestellt werden.

Die medianen ISQ-Werte nach 4 Wochen (Untersuchungsgruppe 2, n=18) lagen weiterhin deutlich unter den Ergebnissen direkt nach Insertion: bei den nativ inserierten Implantaten bei 77,5 (74,4/78,8), bei den kaltplasmaoberflächenfunktionalisierten bei 80,0 (77,4/81,4) und bei den UV-oberflächenaktivierten Implantaten bei 79,0 (77,5/80,3) ohne signifikanten Unterschied zwischen den Medianwerten. In dieser Untersuchungsgruppe unterschritt keines der Implantate einen Wert von 71,7.

In der 3. Untersuchungsgruppe (n=18) mit der längsten Standzeit der Versuchstiere von 8 Wochen zeigte sich eine deutliche Erhöhung der Stabilität anhand der ISQ-Messergebnisse von im Mittel 12,3 während der 4. und 8. Woche: Auch hier ergab sich eine annähernd gleiche Verteilung der ISQ-Werte ohne signifikanten Unterschied in den drei Gruppen. Der ISQ-Medianwert der nativ verwendeten Implantate lag bei 94,8 (86,6/98,0). In der UV-vorbehandelten Implantatgruppe ermittelten wir einen durchschnittlichen Wert von 90,7 (81,8/96,9), annähernd dem Wert der kaltplasmavorbehandelten Implantate von 89,8 (80,2/97,8).

Aus den Werten und der Darstellung (Abb.12) ist ersichtlich, dass in allen Implantatgruppen im zeitlichen Verlauf ein signifikanter Verlust der Stabilität nach 2 Wochen bzw. 4 Wochen auftrat ($p < 0,03$), die Werte der Resonanzfrequenzanalyse sich zum Ende des Experiments nach 8 Wochen jedoch wieder dem Ausgangsniveau annäherten. Zudem zeigte sich bei den nativen Implantaten in der 2. und 4. Woche eine inhomogenere Verteilung der ISQ-Werte als bei den oberflächenaktivierten.

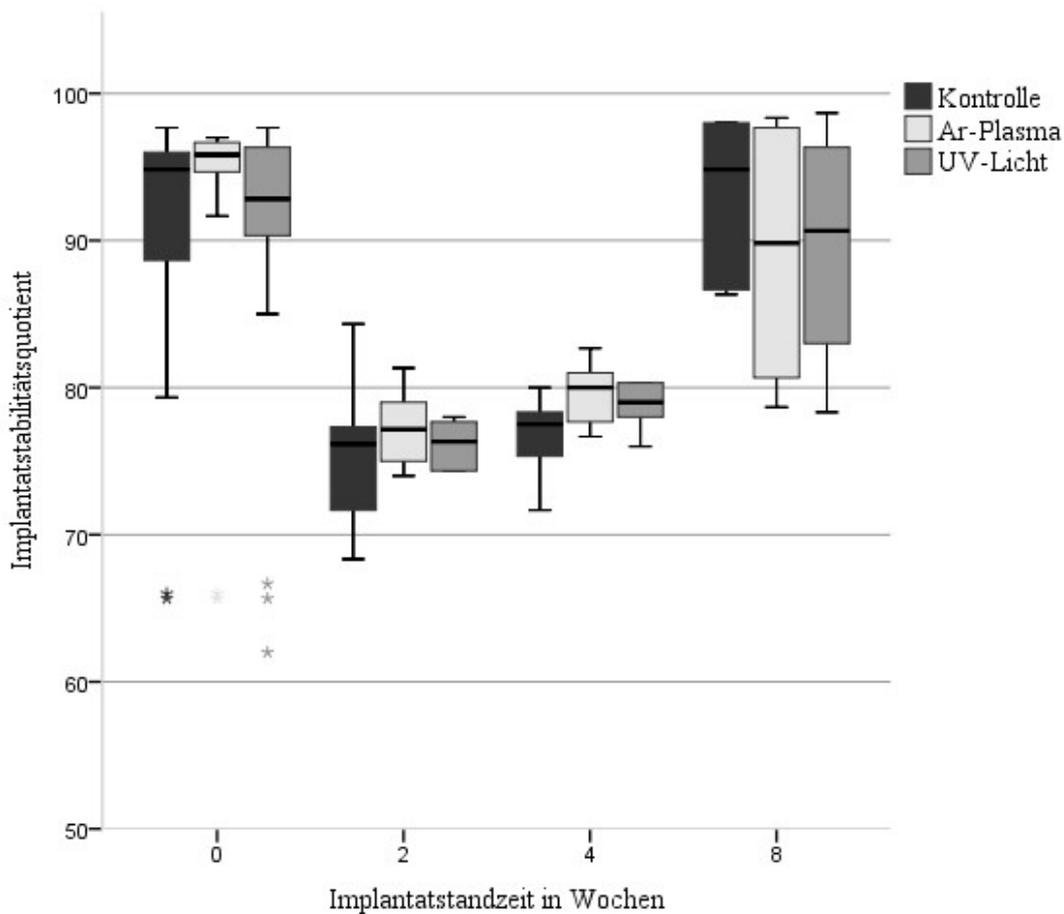


Abb. 12: Darstellung der ISQ-Werte der Implantate zum Zeitpunkt der Insertion ($n=54$) sowie zum Zeitpunkt der Untersuchung *ex vivo* 2, 4 und 8 Wochen nach Implantation (jeweils $n=18$) ; Box: Interquartilbereich; obere und untere Grenze der Box: 75 % und 25 % Quartil ($p < 0,05$ vs. Kontrolle; ANOVA-Test)

Implantatstandzeit	Oberflächenaktivierung	Anzahl	Mittelwerte±SD	min./max.
0 Wochen	nativ	18	90,4 ± 10,2	65,7/97,7
	UV	18	88,8 ± 11,5	62,0/97,7
	Plasma	18	92,41 ± 9,8	65,67/97,0
2 Wochen	nativ	6	75,7 ± 5,5	68,3/84,3
	UV	6	76,2 ± 1,6	74,3/78,0
	Plasma	6	77,3 ± 2,8	74,0/81,3
4 Wochen	nativ	6	76,7 ± 3,0	71,7/80,0
	UV	6	78,8 ± 1,6	76,0/80,3
	Plasma	6	79,7 ± 2,2	76,7/82,7
8 Wochen	nativ	6	93,1 ± 5,4	86,3/98,0
	UV	6	89,6 ± 8,0	78,3/98,7
	Plasma	6	89,2 ± 8,3	78,7/98,3

Tab. 3: Zusammenfassung aller ISQ-Werte nach Implantatgruppierung. max.: maximaler Wert; min.: minimaler Wert; MW: Mittelwert; SD: Standardabweichung

4.4 Histologische Auswertung

4.4.1 Qualitative Beurteilung der histologischen Schliffe

Bei der mikroskopischen Einschätzung der Präparate konnte eine sehr gute Osseointegration und suffiziente Knochenneubildung an allen Implantatoberflächen festgestellt werden. Eine Fremdkörperreaktion wurde nicht beobachtet.

Aufgrund der Materialhärte von Titanimplantaten erfolgte die Aufarbeitung der Präparate mithilfe der Trenn-Dünnschliff-Technik. Hierbei kamen unter anderem die EXAKT Sägeeinheit, die keinen Führungsschlitten besitzt, sowie die EXAKT Schleifeinheit zum Einsatz. Die Einstellung einer Parallelität des eingebetteten Implantats zum Objektträger erfolgte mit bloßem Auge und mikroskopischer Kontrolle, sodass einige Präparate nicht ganz korrekt im Längsschnitt getroffen wurden. Dementsprechend wurden die Messungen des BICs in unterschiedlichen Bereichen der Implantate vorgenommen. (Abb.13)

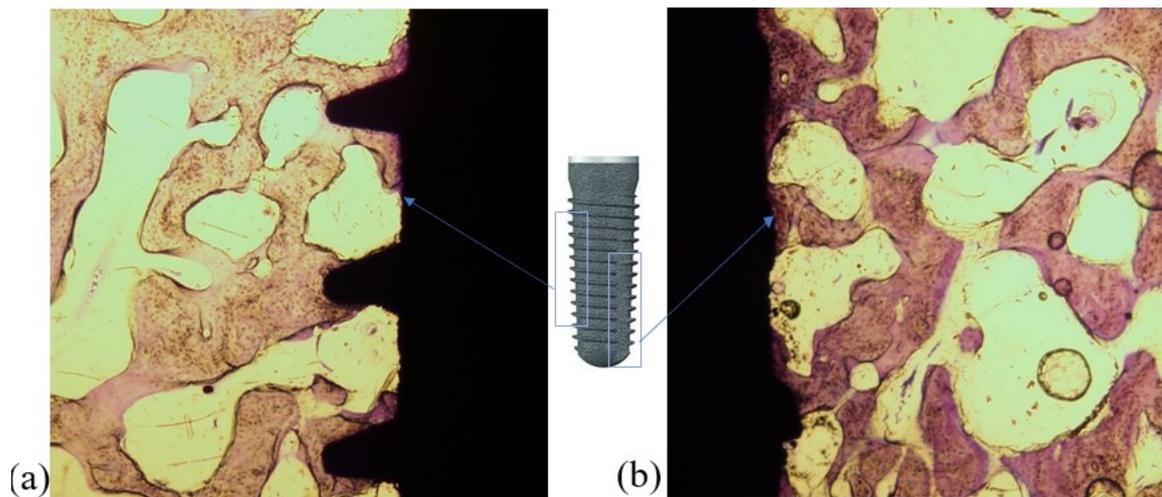


Abb. 13: Darstellung zweier mikroskopischer Bildausschnitte im Längsanschliff im (a) Gewindebereich des Implantats und (b) in der Gewindeaussparung (5-fache Vergrößerung)

Des Weiteren geht die Aufarbeitung der Probelöcke mit einem hohen Materialverlust einher, ein zweiter Anschliff der Präparate ist daher meist nicht mehr möglich gewesen.

Durch den hohen Kraftaufwand, der beim Sägevorgang bei diesen harten Materialien notwendig war, löste sich in einem Fall das Implantat leicht aus der Knochenverbindung aus. Dieses zeigte sich während der mikroskopischen Beurteilung durch einen Artefaktsaum am Übergang vom Knochen zum Implantat. Der Schliff konnte nicht verwendet werden, da wegen der Verlagerung des Implantats, das in Kunststoff eingebettete Knochengewebe nicht vollständig erhalten werden konnte. Die Rekonstruktion des Knochen-Implantat-Interfaces war somit nicht möglich. (Abb.14)

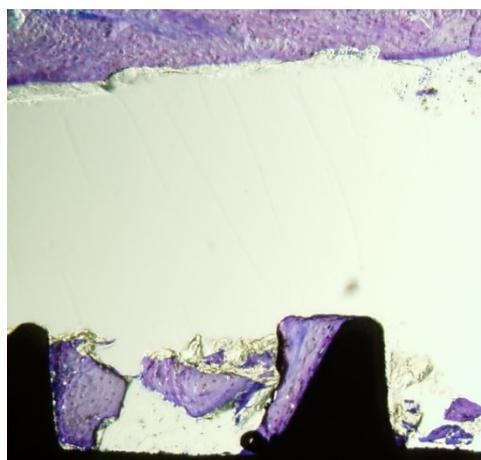


Abb. 14: Ablösung des Implantats von in Kunststoff eingebetteten Knochengewebe während der Herstellung des Schliffpräparates (5-fache Vergrößerung)

Ferner wurden 4 der 54 Implantate teilweise in den Sinus frontalis inseriert. Folglich war nicht für die gesamte Oberfläche der Implantate die Voraussetzung der Osseointegration gegeben. Zwar erfolgte die Auswertung unter Vorbehalt, jedoch konnten die Schliffe verwendet werden, da trotz der teilweisen Insertion in den Sinus frontalis, die osseointegrierte Oberfläche identifiziert und ausgewertet werden konnte. (Abb.15)



Abb. 15: mikroskopische Darstellung eines teilweise im Sinus frontalis inserierten Implantats (1,25-fache Vergrößerung)

4.4.2 Quantitative Auswertung der histologischen Schliffe

Auswertung des Knochen-Implantat-Kontakts (BIC)

Nach der Auswertung der Ergebnisse zeigte sich, dass bereits nach 2 Wochen bei allen Implantaten, ungeachtet ihrer Oberflächenaktivierung, hohe BIC-Wert von über 64 % nachweisbar waren. Im zeitlichen Verlauf kam es in allen Gruppen zu einem stetigen Zuwachs des Knochen-Implantat-Kontakts. Die oberflächenfunktionalisierten Implantate, insbesondere die kaltplasmabehandelten, waren den nativen zu jedem Zeitpunkt im Vorteil. Jedoch zeigte sich keine statistische Signifikanz zwischen den kaltplasmavorbehandelten und UV-bestrahlten Implantaten. Da laut Pontes *et al.* 2014 Werte von mindestens 50 % Knochen-Implantat-Kontakt für eine aussichtsreiche Implantation erzielt werden sollten, sind somit alle Implantate der Versuchsreihe als suffizient osseointegriert zu werten. [164]

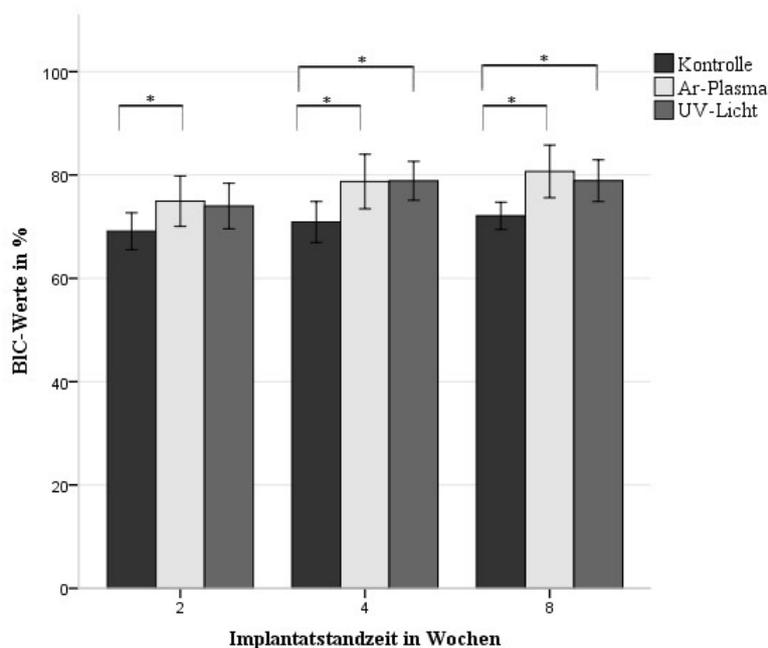


Abb. 16: Mittelwerte (mit SD) des Knochen-Implantat-Kontakts der nativen und der mit UV- bzw. Argonkaltplasma oberflächenaktivierten Implantate nach 2, 4 und 8 Wochen (* $p < 0,05$ vs. Kontrolle; t-Test)

Die für die oberflächenfunktionalisierten und nicht oberflächenbehandelten Implantate gemessenen Werte nach 2 Wochen zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen der nativen und kaltplasmavorbehandelten Gruppe bezüglich des BICs. Den geringsten Knochen-Implantat-Kontakt wiesen mit $69,1 \% \pm 3,6 \%$ die Oberflächen der Kontrollgruppe auf. Bei den funktionalisierten Oberflächen konnten höhere BIC-Werte von $74,9 \% \pm 4,9 \%$ bei Kaltplasma bzw. von $74,0 \% \pm 4,4 \%$ in der Gruppe UV-Licht beobachtet werden.

Nach 4 Wochen zeigten sich signifikant höhere BIC-Werte bei den oberflächenfunktionalisierten Implantaten im Vergleich zu den nativen Implantaten wiederum ohne Unterschiede zwischen den Gruppen UV-Licht und Kaltplasma. Die mit UV-Licht behandelten Implantate wiesen einen durchschnittlichen BIC-Wert von $78,9 \% \pm 3,8 \%$, die mit Kaltplasma aktivierten Implantate von $78,7 \% \pm 5,3 \%$ auf. Im Gegensatz dazu wurde bei den nativ verwendeten Implantaten ein Wert von $70,9 \% \pm 4,0 \%$ ermittelt.

Nach 8 Wochen wiesen die nativen Titanimplantate ebenfalls signifikant geringere Anteile von Knochen an der Kontaktfläche zum Implantat auf als die funktionalisierten Implantate. (nativ: $72,1 \% \pm 2,6 \%$, Kaltplasma: $80,7 \% \pm 5,1 \%$, UV-Licht: $78,9 \% \pm 4,0 \%$).

	2 Wochen	4 Wochen	8 Wochen
UV/nativ	0,062	0,005	0,008
Plasma/nativ	0,040	0,016	0,004
UV/Kaltplasma	0,734	0,959	0,540

Tab. 4: BIC Signifikanztabelle t-Test; $p < 0,05$ gilt als signifikant

Auswertung des Knochenanteils in den retentiven Anteilen (BAFO)

Bei der Beurteilung des BAFO-Wertes zeigte sich eine weite Streuung mit Werten zwischen 27 % und 89 % der mit Knochen bedeckten Fläche im Bereich der retentiven Areale. Dennoch wiesen die nativen sowie oberflächenaktivierten Implantate einen tendenziellen Anstieg im zeitlichen Verlauf auf. Ein Vorteil der Oberflächenaktivierung konnte bei den kaltplasmaaktivierten Implantaten gegenüber den nativen Implantaten nach 8 Wochen aufgezeigt werden.

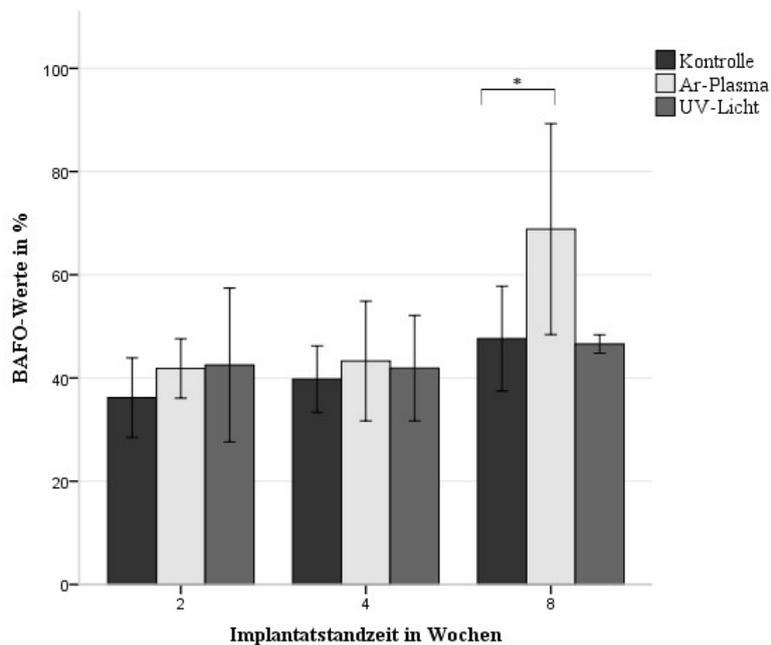


Abb. 17: Anteil der Knochenfläche innerhalb der retentiven Anteile (BAFO) zum Zeitpunkt der Euthanasie nach 2, 4 und 8 Wochen Einheilung; Mittelwerte (mit SD) nativen vs. UV- bzw. Argonkaltplasmaoberflächenaktiviert (* $p < 0,05$ vs. Kontrolle; t-Test)

In der Gruppe der Implantate, die zwei Wochen nach der Implantation ausgewertet wurden (Untersuchungsgruppe 1), ergab die Auswertung der nativ verwendeten Implantate bezüglich des BAFOs einen prozentualen Anteil von $36,2 \% \pm 7,7 \%$. Der prozentuale Anteil bei den

UV-funktionalisierten Implantatoberflächen lag bei $42,5 \% \pm 14,9 \%$ und bei den kaltplasmaoberflächenfunktionalisierten Implantaten bei $41,9 \% \pm 5,8 \%$. Zwischen den einzelnen Werten konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden.

Die durchschnittlichen BAFO-Werte der Implantate 4 Wochen nach Insertion (Untersuchungsgruppe 2, n=18) lagen leicht über denen der Untersuchungsgruppe 1. Es zeigte sich eine tendenzielle Erhöhung der retentiven osseointegrierten Fläche bei den kaltplasmafunktionalisierten Implantaten (Plasma: $43,3 \% \pm 11,6 \%$) sowie bei den nativen Implantaten ($39,8 \% \pm 6,4 \%$), bei den UV-Licht-aktivierten ergab sich eine Stagnation der Werte ($41,9 \% \pm 10,2 \%$). Signifikanzen waren nicht erkennbar.

In der 3. Untersuchungsgruppe (8 Wochen nach Insertion, n=17) zeigte sich, dass die kaltplasmaoberflächenaktivierten Implantate ($68,8 \% \pm 20,4 \%$) im Vergleich zu den nativen ($47,6 \% \pm 10,2 \%$) und den mit UV-Licht oberflächenfunktionalisierten Implantaten ($46,6 \% \pm 1,8 \%$) die höchsten Werte aufwiesen. Hierbei konnte ein signifikanter Unterschied zwischen den plasmaaktivierten und nativen Implantaten aufgezeigt werden.

Korrelation und Verlaufsbeurteilung der ISQ-, BIC- bzw. BAFO-Werte

Bei der Beurteilung der Korrelation zwischen der Implantatstabilität (ISQ-Wert) und dem Ausmaß der Osseointegration zeigte sich, dass die ISQ-Werte nicht mit den Ergebnissen des BICs oder der BAFO korrelieren. (Abb.18)

Bei der Betrachtung der Messvariablen der unterschiedlichen funktionalisierten bzw. nativen Implantatoberflächen über den Versuchszeitraum wurde ersichtlich, dass alle Oberflächen bezüglich ihrer Implantatstabilitätsquotientenwerte nach einem anfänglichen postoperativen Rückgang einen signifikanten Zuwachs (zwischen 4. und 8. Woche) aufwiesen ($p < 0,03$). (Abb.12) Ein entsprechender Anstieg spiegelte sich auch bei der Auswertung des BAFO-Wertes (zwischen 2. und 8. Woche) ($p < 0,014$) jedoch nicht im Knochen-Implantat-Kontakt wider. Hier konnte keine Signifikanz aufgezeigt werden.

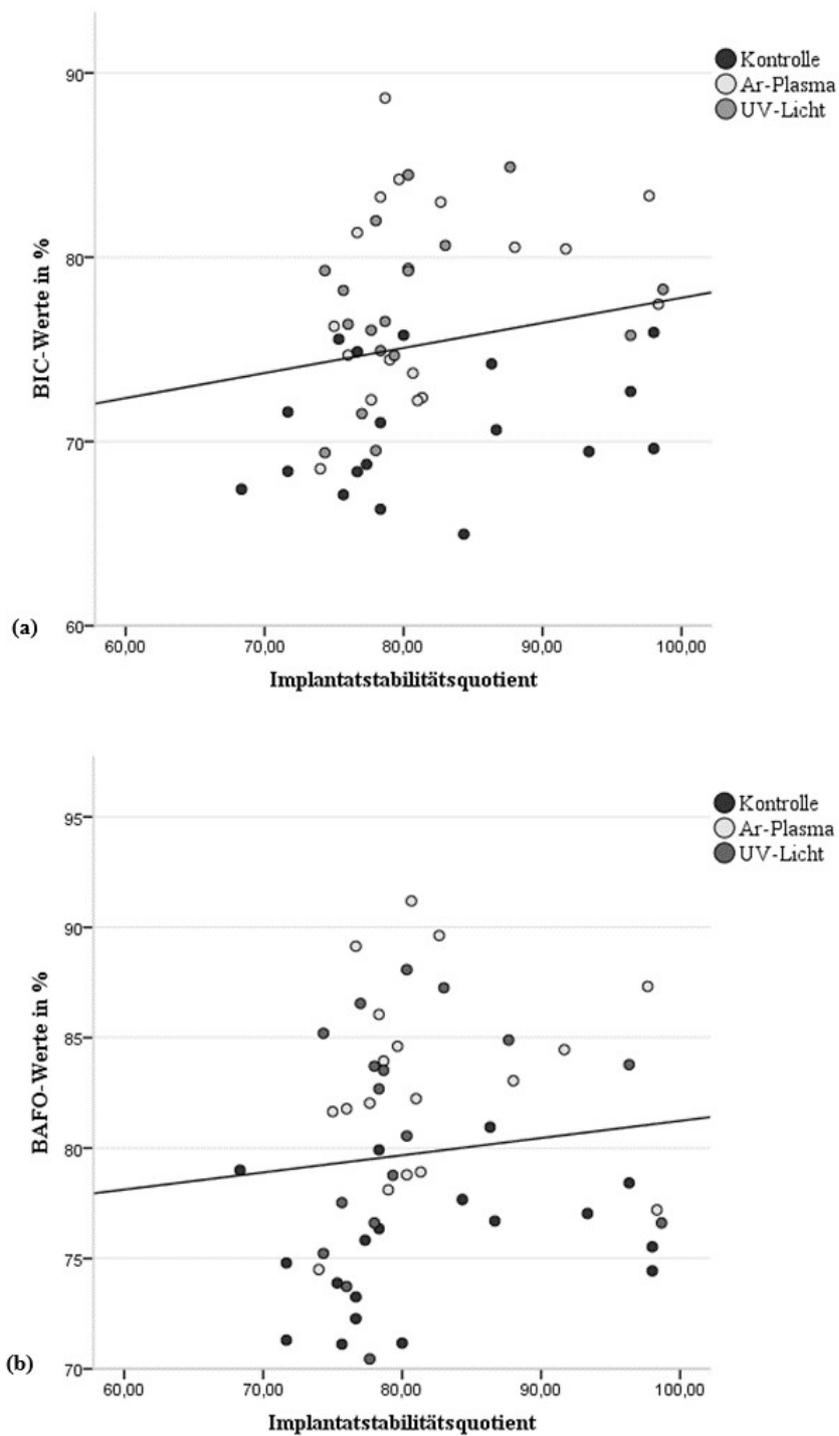


Abb. 18: Darstellung der Korrelation zwischen (a) BIC und ISQ (b) BAFO und ISQ

5. Diskussion

Der Verlust von Zähnen bedingt durch kariöse Zerstörung, Parodontalerkrankungen, Traumata, maligne Erkrankungen oder auch die fehlende Anlage von Zähnen stellt für viele Patienten neben der ästhetischen Beeinträchtigung meist auch ein funktionelles Problem dar. In der jüngeren Vergangenheit zeigte sich bei der Rehabilitation von lückenhaften oder zahnlosen Gebissituationen die Tendenz von der klassischen Prothetik hin zu Implantologie. Durch den Nachweis der Osseointegration von Titan in den 60er Jahren durch P.I. Brånemark erfolgte der entscheidende Durchbruch in der oralen Implantologie. In den 80er Jahren forschten die dominierenden Arbeitsgruppen um Brånemark bzw. Schroeder unabhängig voneinander nach einer geeigneten Modifikation der Implantatoberfläche, um eine Optimierung der Osseointegration zu ermöglichen. Dadurch etablierte sich in den folgenden Jahren die glatte, maschinerte Oberfläche, die von Brånemark *et al.* entwickelt wurden, wohingegen Schroeder *et al.* zur Titan-Plasma-Spray-Technik tendierten, welche eine raue und mikroporöse Oberfläche erzeugte. In den 90er Jahren kam es jedoch durch die Einführung mikrostrukturierter Titanimplantate zu einem grundlegenden Wandel bezüglich der Oberflächenbeschaffenheit. Diese neuen sandgestrahlten und säuregeätzten Implantate wiesen eine moderat raue Oberfläche auf, die sich in vielen Studien den klassischen Implantaten überlegen zeigten. [37]

Die Einführung und Entwicklung neuer Verfahren, die eine Optimierung und Beschleunigung der Einheilung von dentalen Implantaten in den Alveolarknochen ermöglichen, sind jedoch weiterhin von unmittelbarem wissenschaftlichen Interesse. Techniken wie die Funktionalisierung von Titanoberflächen durch UV-Bestrahlung oder durch Kaltplasmabehandlung sind gegenwärtig vielversprechende Ansätze. [13,63] *In vitro* konnte bereits nachgewiesen werden, dass diese Methoden einen Vorteil in Bezug auf Zelladhäsionsprozesse und Zellproliferation an Titanoberflächen aufweisen können und auch *in vivo* eine suffiziente Osseointegration bewirken können. [4,40,46,85,97] Jedoch wurde eine vergleichende Untersuchung beider Verfahren bezüglich ihrer Effektivität zur Beschleunigung der Einheilung von Titanimplantaten nach Oberflächenaktivierung *in vivo* bisher noch nicht durchgeführt.

Ziel dieser Arbeit war es daher, mithilfe eines intraindividuellen Vergleichs am Versuchsmodell Landschwein den Einfluss einer Funktionalisierung der Implantatoberflächen durch Kaltplasma beziehungsweise UV-Bestrahlung auf die Osseointegration dentaler Implantate zu untersuchen.

5.1 Tiermodell

Bei der Entwicklung neuer oder modifizierter Materialien in der Endoprothetik oder dentaler Implantatwerkstoffe sind experimentelle Untersuchungen zur Beurteilung der Biokompatibilität, der mechanischen Stabilität oder auch des Langzeitverhaltens *in vivo* obligat.

Henningsen *et al.*, auf deren Untersuchungen sich die vorliegende Arbeit begründet, wiesen 2018 an osteoblastenähnlichen murinen Zellen nach, dass UV-, bzw. plasmafunktionalisierte Titanoberflächen die Konditionen zur Anlagerung der Zellen verbessern und bewerteten zudem die Zytotoxizität und Zellproliferation. [85] Jedoch können *in vitro* Modelle niemals die Komplexität bezüglich der Mikroarchitektur und Funktion eines Gewebes oder das Zusammenspiel unterschiedlicher Gewebe widerspiegeln. Mithilfe von *in vitro* Gewebekulturen oder *in vitro* Organkulturen soll diese Problematik zwar minimiert werden, jedoch sind hier die kurze Lebensdauer des Gewebes, fehlende Vaskularisation oder auch die mangelnde Induktion einer Gewebeantwort durch Triggersubstanzen limitierende Faktoren, um die erhaltenen Daten mit hinreichend hoher Wahrscheinlichkeit auf den Menschen übertragen zu können. [163]

Ein entscheidender Faktor für *in vivo* Versuche in der Endoprothetik und für dentale Implantate ist die Abwesenheit jeglicher Belastung in Knochenzellkulturen, welche grundlegend für funktionelle Regulationsprozesse des Knochengewebes im Menschen sind. [209]

Vor diesem Hintergrund zeigt sich, dass für die experimentelle Erforschung der Knochenregeneration Tierversuche unverzichtbar sind. Darüber hinaus ermöglicht das Tiermodell häufig eine histologische Aufarbeitung, sodass klinische und histologische bzw. histomorphometrische Daten ausgewertet und verglichen werden können. Die anatomische und physiologische Verwandtschaft einer bestimmten Tierart bildet hierbei die Bedingung zur Übertragbarkeit von Ergebnissen aus Experimenten am Tier auf den Menschen. [3]

Obwohl Tierversuche nur eingeschränkt standardisierbar sind, sollten bei der Wahl des Versuchstieres dennoch unterschiedliche Gesichtspunkte Berücksichtigung finden: Entsprechend dem Studiendesign müssen charakteristische Merkmale wie Größe, Form und Festigkeit des Knochens den Maßgaben der zu untersuchenden Parametern genügen. [130] Der Einsatz von kleineren Tierarten, wie beispielsweise von Kaninchen, war zum einen aufgrund der eingeschränkten Größenverhältnisse, zum anderen wegen der geringen

Knochenfestigkeit und der deutlich rascher ablaufenden Knochenumbaurate im Vergleich zu der des Menschen für die vorliegende Studie nicht geeignet. [215] Die Dauer eines Remodelingzyklus korreliert mit der Körpergröße einer Spezies. Dementsprechend benötigen Kleinsäuger beispielsweise ca. 4 Wochen, der Mensch dagegen bis zu 5-6 Monate für den kontinuierlichen Erneuerungszyklus. Dies ist somit ein Argument gegen den Vergleich von Kleintiermodellen mit dem Menschen. [65] Eine qualitative und quantitative Bewertung des Ausmaßes der Osseointegration der oberflächenfunktionalisierten Implantate wäre somit bei diesen Tierspezies nicht sinnvoll gewesen.

In der vorliegenden Dissertation wurde die Kalotte des etablierten Tiermodells „Hausschwein“ gewählt, da neben des geschützten OP-Situs und der unkomplizierten postoperativen Wundkontrolle die Qualität des Knochens, auch bezüglich des Verhältnisses zwischen trabekulärem und kortikalem Knochen, den Vergleich mit dem menschlichen Unterkieferknochen weitgehend zulässt. [3,105,192]. Ferner erfolgte die Wahl des Modells auch unter Berücksichtigung ethischer Aspekte aufgrund der Einsparung von Versuchstieren durch die Möglichkeit der Insertion von 9 Implantaten pro Kalotte.

In der Literatur wird beschrieben, dass der porcine Knochen und die Knochenregenerationsrate vergleichbar der des humanen Knochens sind. [160] So berichteten Štebáček *et al.* (2010), dass die Knochenregeneration von Schweinen mit einer Rate von 1,2-1,5 mm/Tag annähernd der des Menschen mit 1,0-1,5 mm/Tag beträgt. Die Knochenregeneration von Hunden, eines der am häufigsten genutzten Versuchstiere in der orthopädischen und dentalen Implantatforschung, wird dagegen mit 1,5-2,0 mm/Tag angegeben. [196] Die Körpergröße des Hausschweins ermöglicht es zudem, auf humanchirurgische Operationstechniken zurückzugreifen und somit bereits etablierte und reproduzierbare Verfahren, Protokolle, Instrumente und Implantate einzusetzen.

5.2 Limitationen

Das in der Studie verwendete Implantatmaterial ist seit Jahrzehnten etabliert und hinreichend *in vitro* sowie in klinischen Studien untersucht. [68] Bei der Insertion in die Kalotte wurde nach dem vorgegebenen Operationsprotokoll vorgegangen und dementsprechend während der Bohrung unter ständiger Kühlung mit einer Salzlösung gearbeitet, um eine Überwärmung während der Präparation des Implantatlagers zu vermeiden. Dieses soll wirksam Osteonekrosen verhindern. [218] Bei der Übertragung der experimentellen Ergebnisse in den klinischen Alltag ist kritisch zu bewerten, dass es sich bei der Insertion von Implantaten in

den humanen Ober- bzw. Unterkiefer in der Regel um einen voroperierten OP-Situs also ggf. kompromittierten Knochen handeln kann. Dessen funktionelle Umbauprozesse werden maßgeblich durch Entzündungsprozesse, Extraktionen aber auch systemischen Faktoren wie beispielsweise Alter, Medikamenteneinnahme oder Erkrankungen (z. B. Diabetes mellitus) beeinflusst. [70] Des Weiteren wurde in dieser Arbeit auf eine Beurteilung der Knochenqualität der Schweinekalotte verzichtet. Zwar gibt es in der Literatur verschiedene Hinweise auf die Abhängigkeit der Implantatprognose und der Primärstabilität eines Implantates von der Knochenstruktur, jedoch lag der Fokus in der vorliegenden Studie in der Beurteilung der Dynamik des Osseointegrationsprozesses nach Funktionalisation. [173]. Ferner wurde bei Analyse der Ergebnisse von der Annahme ausgegangen, dass die Implantate isoliert reagieren, auch wenn sie im selben Knochen inseriert wurden.

Bezüglich des Stellenwertes der Resonanzfrequenzanalyse, die sich zwar in den letzten Jahren zu einer in der Implantologie etablierten Methode entwickelt hat, gibt es weiterhin kontroverse Diskussionen in der Literatur. [81] So ist sie sensitiv gegenüber Änderungen der Implantatstabilität und weist zudem eine hohe Reproduzierbarkeit sowie Reliabilität auf. [87] Dennoch zeigten Satwalekar *et al.* Einschränkungen bei der Beurteilung der Primärstabilität, da diese nach Implantatdurchmesser, Oberfläche oder auch Implantatdesign variieren kann. [179] Weiterhin ist zu bedenken, dass die Ergebnisse dieser Methode nur indirekt Rückschluss auf das Implantat-Knochen-Interface ermöglichen und somit keine histologische oder histomorphometrische Evaluation der Vorgänge ersetzen. Das bestätigt sich in der fehlenden Korrelation zwischen ISQ-Wert und Knochen-Implantat-Kontakt in der vorliegenden Arbeit. Eine Einschätzung des Osseointegrationsgrads über den ISQ ist somit im Rahmen des vorliegenden Studienmodells nur begrenzt möglich. Derzeit stehen noch andere Techniken zur Bestimmung der Implantatstabilität zur Verfügung, wie die Periotesttechnik oder die Messung des Insertions- bzw. des Ausdrehmoments. Mit Ausnahme der Periotesttechnik ermöglichen diese Methoden keine longitudinale Datenerhebung der Implantatstabilität und eine parallele histologische Auswertung des Knochen-Implantat-Kontakts. Zwischen den Methoden besteht nur eine begrenzte Vergleichbarkeit und zudem weisen alle Techniken Defizite auf. So schildern u. a. Bilhan *et al.* und weitere Autoren, dass aufgrund der geringen Sensitivität und Auflösung des Periotestverfahrens sowie wegen benutzerabhängiger Faktoren lediglich eine eingeschränkte Aussagekraft besteht. [24,148,179] Die Messung des Insertionstorques kann reliabel die Knochenqualität des Knochenlagers zum Zeitpunkt der Insertion beschreiben, wird jedoch maßgeblich durch die Dichte des kortikalen Knochens im Bereich des Implantathalses sowie der chirurgischen

Technik beeinflusst. [127,200] Zudem können mit diesem Verfahren weder die Bestimmung der Sekundärstabilität noch die Erhebung von Verlaufsdaten bezüglich der Stabilitätsänderung erfolgen, weshalb es keine Verwendung in dieser Studie fand. [200]

Die Evaluation der Osseointegration mithilfe der radiologischen Bildgebung ist eine anerkannte non invasive Technik, die zudem eine reliable und valide Methode zum Erkennen von periimplantären Knochendefekten darstellt. Des Weiteren kann sie zu jedem Zeitpunkt des Heilungsprozesses angewandt werden. [51] Vidor *et al.* berichteten von einer Übereinstimmung von mehr als 0,8 (Kendalls Konkordanzkoeffizient) bezüglich Spezifität und Sensitivität bei der Befundung des Implantat-Knochen-Interfaces durch unterschiedliche Untersucher. [210] Die Bewertung der Osseointegration mithilfe der Röntgenaufnahme ist somit ein klinisch erprobtes und zuverlässiges Verfahren. Methoden, wie die digitale Volumentomografie oder die Computertomografie weisen trotz der besseren Beurteilung von Knochendefekten aufgrund der dreidimensionalen Darstellung eine vergleichbare Sensitivität und Spezifität auf. Durch das Auftreten von Metallartefakten und Rauschen kann jedoch der Nachweis von Osteolysen um dentale Implantate eingeschränkt sein. [25,115] Als limitierende Faktoren bei der konventionellen radiologischen Bildgebung sind die geringe Auflösung oder die Zweidimensionalität dieser Technik zu berücksichtigen, die dadurch nur eine eingeschränkte Quantifizierung des Knochenverlustes oder der Knochendichte erlauben. Eine Knochendemineralsation kann erst ab 40 % erfasst werden. [127]

Die Beurteilung und Auswertung der Osseointegration erfolgte postmortal durch konventionelle Lichtmikroskopie. Sie gestattet mithilfe von Übersichtsfärbungen wie der Toluidinblaufärbung und computergestützten histomorphometrischen Analysen, Aussagen über Knochenumbauprozesse zu tätigen. Die Histomorphometrie ist Standard in Tiermodellstudien, die sich z. B. mit Knochenneubildung befassen. [142] Dennoch weist die histologische Analyse durch die zweidimensionale Auswertung Begrenzungen auf. Die Übertragung der dreidimensionalen Materie auf die zweidimensionalen histologischen Schliffpräparate kann zu einer Verzerrung des Ergebnisses führen. Ein histologischer Schliff erfasst gewöhnlich nur einen Ausschnitt des zu analysierenden Gewebes. Aufgrund des hohen Materialabtrags bei der Aufarbeitung der Probelöcke durch die Trenn-Dünnschliff-Technik war ein zweiter Anschliff der Präparate meist nicht möglich, sodass die Validität jeder Messung somit von der Repräsentativität der zu untersuchenden Auswertungsregionen und der Homogenität des Gewebes abhängt. [224]

Abgesehen von den Limitationen, die mit der histologischen Aufarbeitung bzw. histomorphometrischen Auswertung assoziiert sind, können auch Fehler aufgrund der Individualität der Versuchstiere auftreten. Da die Studie mit kleinen Versuchsgruppen durchgeführt wurde, fallen individuelle Unterschiede stärker ins Gewicht. [84] Siehe hierzu auch die Standardabweichungen der statistischen Ergebnisse in Abbildung 16 und 17. Problematisch am Versuchsmodell des Hausschweines an sich sind die schnelle Wachstumsrate und das hohe Körpergewicht adulter Tiere, welche die Handhabung mitunter schwierig gestalten können. [215] In der vorliegenden Studie legten die Tiere teilweise über 30 % ihres Ausgangsgewichts während der 8-wöchigen Haltung zu. Folglich sind die Ergebnisse der Studie immer von den im Körper ablaufenden Prozesse und den damit im Zusammenhang stehenden individuellen Eigenschaften eines Lebewesens abhängig.

5.3 Resonanzfrequenzanalyse

Ziel der Resonanzfrequenzanalyse (RFA) ist es, anhand der elektrischen Messung einer impulsgesteuerten Auslenkung des Implantats, Rückschlüsse auf dessen Stabilität und somit bedingt auch auf den Grad des knöchernen Heilungsprozesses ziehen zu können. [136] In den vorliegenden Untersuchungen konnten zwar eine initiale Verringerung und ein erneuter Anstieg der Implantatstabilität im zeitlichen Verlauf verzeichnet werden, jedoch zeigte sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den nativen bzw. vorbehandelten Implantaten.

Der zentrale Stellenwert der Implantatstabilität fußt auf der Erkenntnis, dass durch eine nicht suffiziente Stabilität zum Zeitpunkt der Insertion Mikrobewegungen des Implantats im weiteren Heilungsverlauf maximiert sowie eine fibröse Einheilung begünstigt werden können. [168] Daher ist der Wunsch des Implantologen nach einer non invasiven und im klinischen Alltag anwendbaren Technik, die Aussagen über die Stabilität und im besten Fall sogar Rückschlüsse auf das Osseointegrationsverhalten ermöglicht, umso verständlicher. Dadurch könnten nicht nur Angaben zur Implantatprognose, sondern ggf. auch zum idealen Belastungszeitpunkt gemacht werden, der im Rahmen des Patientenkomforts einen immer größeren Stellenwert einnimmt.

Die Implantatstabilität kann unterschieden werden in die Primärstabilität, die Sekundärstabilität und in die funktionelle Stabilität (siehe 2.3.4 bzw. Abb.1): Die Primärstabilität beruht auf der Knochenqualität, dem Implantatdesign und der daraus resultierenden Klemmpassung. So fanden Lai *et al.* bei ITI-SLA-Implantate signifikant

höhere ISQ-Werte in Typ-I-Knochen als in Typ-IV-Knochen. [117] Weitere Studien belegten zudem einen Einfluss von Geschlecht, Implantatdurchmesser und der Implantatlokalisierung auf die Primärstabilität bzw. den ISQ. [91,157] Die Sekundärstabilität spiegelt dagegen die biologische Retention des enossalen Implantates nach Osseointegration wider, basierend auf der mechanischen Verzahnung zwischen der Implantatoberfläche und dem Knochen, dem Remodeling an der Implantat-Knochen-Grenze sowie der umgebenden Knochendichte. [137] Der Begriff der biologischen Stabilität wird daher synonym zur sekundären Stabilität verwendet. Sie ist mittels RFA lediglich nach Abschluss der Osseointegration annähernd messbar, da sich erfahrungsgemäß zu diesem Zeitpunkt die Sekundärstabilität der funktionellen Stabilität angleicht (siehe Abb.1). [112] Eine direkte Messung der Osseointegration mithilfe der Resonanzfrequenzanalyse ist, belegt durch diverse Studien, nicht möglich. [128] Weder Dagher *et al.* im Jahre 2017 noch Abrahamsson *et al.* im Jahre 2009 konnten in ihren Tierversuchen eine Korrelation zwischen der RFA und dem BIC nachweisen. [2,48] Auch in den vorliegenden Untersuchungen bestätigte sich ein solcher Zusammenhang nicht: der primäre Stabilitätsverlust, nachvollziehbar durch abnehmende Werte in der Resonanzfrequenzanalyse, konnte bei der Auswertung des Knochen-Implantat-Kontakts nicht korreliert werden. Im Gegensatz dazu steht die Veröffentlichung von Scarano *et al.*, in deren Studie nach einem Beobachtungszeitraum von 6 Monaten von einer direkten Beziehung des BICs und des Implantatstabilitätsquotienten berichtet wird. Jedoch handelte es sich hierbei um eine retrospektive, klinische Studie, die die Korrelation zwischen den beiden Parametern anhand von explantierten Implantaten untersuchte. Gründe für die Entfernung der Implantate waren Nervenpathologien, psychologischer Stress, Fehlstellungen oder Schwierigkeiten bei der prothetischen Versorgung. [181]

Hierdurch stellt sich die Frage nach der Reliabilität von Ergebnissen der Resonanzfrequenzanalyse für die Beurteilung der Osseointegration. Zwar konnte in experimentellen Studien aufgezeigt werden, dass Frequenzanalysen einen Rückschluss auf die Qualität des umgebenden Gewebes bzw. auf Knochenabbauprozesse erlauben, dennoch wird in zahlreichen klinischen Studien bezweifelt, dass die RFA zum Zeitpunkt der Insertion als verlässlicher prognostischer Faktor genutzt werden kann. [92,108,113,204] Entscheidend für eine vorhersagende Einschätzung sind laut Aparicio *et al.* Verlaufsmessungen, um die Werte im Kontext zu betrachten. [12] Besonders Einzelmessungen nach Insertion können keine Beurteilung über eine zu erwartende erfolgreiche Implantation erlauben, da zu viele

Determinanten Einfluss auf den ISQ-Wert nehmen und somit keine Vergleichbarkeit vorliegt. [14,15,113]

In der vorliegenden Studie zeigten alle Implantate einen ISQ-Wert von mehr als 62 bei Insertion und im Verlauf klinisch, radiologisch sowie histomorphologisch eine suffiziente Osseointegration ohne Anhalt auf einen vertikalen Knochenabbau, periimplantäre Radioluzenz oder eine Implantatlockerung. [6,158] Aufgrund fehlender vergleichbarer Studien, bei denen unter ähnlichen Versuchsbedingungen implantiert wurde, ist eine Einordnung der Ergebnisse jedoch nur sehr eingeschränkt möglich. In der Literatur wird von Werten im Bereich zwischen 57 und 82 für eine erfolgreiche Implantation in der Klinik berichtet. [21,44]

Hinsichtlich der Verlaufsbeurteilung der Osseointegration konnte ein Bezug zwischen den Resonanzfrequenzanalyseergebnissen und den ablaufenden Stadien beobachtet werden: analog zu den Ergebnissen in dieser Studie war ein Implantatstabilitätsverlust in diversen Studien nach 3-4 Wochen bzw. ein Anstieg im weiteren Verlauf zu verzeichnen. [83,151,189] Dieser physiologische Verlust der Implantatstabilität lässt sich histologisch durch die parallel ablaufenden Resorptions- und Aufbauprozesse an der Implantatoberfläche, gesteuert durch die migrierten Osteoblasten bzw. Osteoklasten im periimplantären Spalt, erklären. [168] Suzuki *et al.* beschrieben in ihrer klinischen Studie, dass der nach 3 Wochen post implantationem auftretende Stabilitätsverlust bei UV-oberflächenaktivierten Implantaten nicht nachweisbar war; eine Beobachtung, die sich in unserer Untersuchung nicht verifizieren ließ. [198] Im Kontrast zu der in der Literatur dargestellten forcierten Stabilitätszunahme nach Photofunktionalisation konnte in den Ergebnissen dieser Arbeit kein signifikanter Unterschied zwischen den nativen und oberflächenaktivierten Implantaten dargestellt werden. Von ähnlichen Beobachtungen berichteten Mehl *et al.*, die in ihren Tierstudien ebenfalls keinen signifikanten Effekt auf die Implantatstabilität von dentalen Titanimplantaten nach UV-Photofunktionalisation nachweisen konnten. [135] In klinischen Studien dagegen wurde beschrieben, dass die Photofunktionalisierung von Implantaten einen Vorteil bezüglich Stabilitätswachs bzw. Osseointegration, insbesondere im kompromittierten Knochen, erzielen kann. Diese Diskrepanz zu den vorliegenden Ergebnissen lässt sich möglicherweise damit erklären, dass dieses Phänomen besonders bei initial niedriger Primärstabilität (ISQ<70) evident war. [70,71,111] Bezüglich der Resonanzanalyse bei kaltplasmaaktivierten Implantaten ist dagegen keine Literatur verfügbar.

In der vorliegenden Untersuchung war der Verlauf der Werte der Resonanzfrequenzanalyse nicht kongruent zum Verlauf der Ergebnisse der BIC- bzw. BAFO-Messungen. Eine Determination des Osseointegrationsverhaltens über den ISQ erscheint im Rahmen des angewandten Studiensettings nur sehr eingeschränkt möglich. Allerdings könnte die Resonanzfrequenzanalyse diesbezüglich als möglicher valider Verlaufsparemeter Anwendung finden. Eine eindeutige Quantifizierung und Beurteilung der Knochendichte, der morphologischen Beschaffenheit des Implantatlagers oder auch des Osseointegrationsverhaltens nach Implantation kann derzeit jedoch ausschließlich durch histomorphometrische Techniken erfolgen.

Auffallend war, dass in der vorliegenden Untersuchung bereits die Primärstabilität der inserierten Implantate hohe Werte aufwies und somit deutlich über den in der Literatur angegebenen Ergebnissen lag, unabhängig in welchen anatomischen Strukturen implantiert wurde. [71,135] Grund für diese Diskrepanz könnte die Knochendichte im Halsbereich der Implantate sein, da diese gemäß Ito *et al.* einen entscheidenden Einfluss auf den Implantatstabilitätsquotienten zu haben scheint. Eine Korrelation zwischen RFA und BIC im Implantathalsbereich ist hier eher gegeben als beim Implantatkörper. Dementsprechend reflektiert die Resonanzfrequenzanalyse weniger den Knochen-Implantat-Kontakt, sondern vielmehr die mechanische Stärke als Ausdruck der Kombination aus BIC und Knochendichte. [95] Dieses könnte auch die Erklärung sein, warum die ISQ-Werte, der teilweise im Sinus frontalis inserierten Implantate, keine Abweichungen zu den vollständig inserierten aufweisen.

5.4 Beurteilung der radiologischen Befunde

In der radiologischen Analyse ließen sich weder bei den unbehandelten noch bei den oberflächenaktivierten Titanimplantaten periimplantäre Osteolysesäume nachweisen. Gleiche Beobachtungen machten Funato *et al.* in ihrer klinischen Fallstudie aus dem Jahre 2013. In einem Beobachtungszeitraum von über einem Jahr wiesen sie eine radiologisch suffiziente Osseointegration von photofunktionalisierten Implantaten im kompromittierten Knochen nach. [70] Mikro-Computertomografieuntersuchungen von photofunktionalisierten Titanimplantaten, die in den Femur einer Ratte inseriert wurden, beschrieben nach 12 und 24 Tagen eine höhere Knochenneubildung als native Implantate. [89] Diese Beobachtungen konnten von Ueno *et al.* in ihren Studien bestätigt werden. [205] Keine der Studien berichtete

von periimplantären Osteolysezonen aufgrund einer UV-Oberflächenaktivierung von Titanimplantaten.

Bei der Untersuchung von mit Argonkaltplasma behandelten Implantaten im Mini-Schwein erschien das umgebende Knochengewebe radiologisch homogen und zeigte eine Knochendichte vergleichbar mit der in der Kontrollgruppe. Auch hier gab es keinen Anhalt für eine periimplantäre Resorption. [145]

In der vorliegenden Arbeit erfolgte zwar keine radiologische Quantifizierung, dennoch ließ sich röntgenologisch, analog zu den beschriebenen Studien, in jeder Implantatgruppe eine homogene Radioluzenz nachweisen.

5.5 Histologische und histomorphometrische Beurteilung

5.5.1 Beurteilung der histologischen Untersuchungen

Es konnte gezeigt werden, dass bei der Insertion der Implantate in die Kalotte zu allen Untersuchungszeitpunkten unabhängig von der Vorbehandlung der Implantate eine direkte Anlagerung von Knochen an die Implantatoberfläche erfolgte. Die qualitative histologische Analyse des Osseointegrationsverhaltens von nativen gegenüber von funktionalisierten Titanimplantaten ergab eine ungestörte Knochenneubildung ohne Anhalt auf fibröse Abkapselungen oder entzündlichen Vorgängen. Auch in diversen anderen Publikationen wird von einer regelrechten Osseointegration an oberflächenbestrahlten und nicht bestrahlten Titanimplantatoberflächen berichtet. So wiesen Yamauchi *et al.* eine suffiziente ossäre Integration von Titanimplantaten nach UV-Bestrahlung im Femur einer Ratte nach. [226] Analoges zeigten Giro *et al.* nach Behandlung von Implantaten mit Kaltplasma. [75]

Bei der lichtmikroskopischen Evaluation der Schliffe ist zu berücksichtigen, dass diese nur eine punktuelle Bewertung des Knochen-Implantat-Kontakts zulässt mit der Beurteilung, ob Knochen oder Weichgewebe an die Implantatoberfläche angelagert wurde. In einer Studie von Ohyama *et al.* aus dem Jahre 2017 konnte anhand einer Finite Element Analyse gezeigt werden, dass die Photofunktionalisation von Oberflächen sogar eine Reduktion des periimplantären Stresses bewirken kann und darüber eine schnellere und bessere Osseointegration ermöglicht werden könnte. [152] In der vorliegenden Arbeit konnte dieser Einfluss weder qualitativ noch quantitativ bewertet werden, da bei allen Implantaten eine hohe Primärstabilität nach Insertion (siehe 4.3) erzielt wurde und keinerlei Belastung während

der Osseointegration auftrat - Faktoren, die einer fibrösen Einheilung verstärkend entgegenarbeiten.

Wie bereits in 4.4.1 beschrieben, wurden 4 Implantate partiell in den Sinus frontalis inseriert. Diese Implantate zeigten jedoch klinisch als auch in der RFA sowie bei der Messung des BICs an den Knochenanlagerungsstellen eine suffiziente Integration auf. Im Bereich des im Sinus frontalis inserierten Anteils zeigte sich keine Knochenneubildung. Analog zu Zhong *et al.* konnte hier, trotz teilweisen Einbringens in den Sinus und Perforation der Membran, weder eine Beeinträchtigung der Osseointegration, des Knochen-Implantat-Kontakts im knöchernen Anteil noch eine entzündliche Reaktion des Sinus verzeichnet werden. [231]

5.5.2 Beurteilung des Knochen-Implantat-Kontakts

Angesichts verschiedener Publikationen, die beinhalten, dass eine Funktionalisation von Titanoberflächen zur einer Änderung der Oberflächenenergie sowie zu einer forcierten Osseointegration führen kann, wurde der Einfluss von UV-Licht Bestrahlung und Kaltplasma auf den Knochen-Implantat-Kontakt untersucht. [41,167]

In der durchgeführten Untersuchung wiesen die funktionalisierten Implantate bereits nach 2 Wochen einen höheren Knochen-Implantat-Kontakt auf als die nativen mit einer statistischen Signifikanz zwischen den nativen und kaltplasmavorbehandelten Implantaten. Auffallend war, dass der BIC in allen Gruppen schon initial nach 2 Wochen hohe Werte aufzeigte (zwischen 69,1 % und 74,9 %). In der Literatur wird *in vivo* nach kurzer Standzeit von deutlich niedrigeren Werten berichtet: Hirakawa *et al.* erreichten in ihrer Studie BIC-Werte im Hund Unterkiefer nach 2 Wochen von 29 % (Kontrolle) im Vergleich zu 43 % (nach 24 Stunden UVA-Bestrahlung) und Sawase *et al.* erzielten nach 2 Wochen Einheilung nach vergleichbarer Vorbehandlung der Implantate 28 % BIC in der Testgruppe versus 18 % in der Kontrolle im Kaninchenmodell. [88,180] Auch in den nachfolgenden Untersuchungszeitpunkten nach 4 und 8 Wochen lagen die Ergebnisse in der vorliegenden Studie, ungeachtet der Oberflächenbehandlung, höher als in vielen anderen Publikationen. Chen *et al.* sahen nach 4 bzw. 8 Wochen in einem Kaninchenmodell BIC-Werte zwischen 40 % und 50 % (keine Oberflächenaktivierung). [44] Hirakawa *et al.* berichteten von einem Knochen-Implantat-Kontakt von ca. 31 % (Kontrolle) bzw. 39 % (nach 24 Stunden UVA-Bestrahlung) im Hundmodell nach 4 Wochen Einheilung und Coelho *et al.* beschrieben ebenfalls im Hundmodell Werte zwischen 30 % und 40 % nach 3 Wochen bei

Kontrollimplantaten und bei den mit Argon-NTP behandelten Testimplantaten (60 Sekunden, KinPenTM). [44,46,88]

Entsprechend unserer Beobachtungen wurden zumindest in einem Rattenmodell vergleichbare Werte, ähnlich denen aus der vorliegenden Studie, nach 4 Wochen erzielt: zwischen 62 % (Kontrolle) und 81 % (nach 15 Minuten UV-Bestrahlung). [226]

Dieser breite Varianzbereich lässt sich am ehesten auf die unterschiedlichen Tiermodelle und Studiensettings zurückführen. In den verschiedenen Untersuchungen wurde, unabhängig von der Vorbehandlung der Implantate, mit diversen Tiermodellen (Schwein, Ratte, Hund) sowie unterschiedlichen Implantatdesigns bezüglich Länge und Durchmesser oder Lokalisation der Implantate bzw. Knochenqualität gearbeitet, was zu einer eingeschränkten Vergleichbarkeit der Werte führt. [110]

Analog zu unseren Untersuchungen zeigte sich auch in den Studien von Coelho *et al.* (nativ vs. Argonkaltplasma funktionalisierte Titanimplantate) bzw. Yamauchi *et al.* (native vs. UV-funktionalisierte Titanimplantate) ein kontinuierlicher Anstieg des Knochen-Implantat-Kontakts im zeitlichen Verlauf von 3 bzw. 4 Wochen, wobei die oberflächenaktivierten Implantate gegenüber den nativen Implantaten bezüglich des BICs zu jedem Untersuchungszeitpunkt führend waren. [46,226]

Kontrovers dazu blieben bei Hirakawa *et al.* die Werte der Kontroll- sowie die Testgruppe (24 Stunden UVA-Bestrahlung) in ihrem Hundemodell dagegen nach 4 Wochen gegenüber 2 Wochen annähernd stabil. [88] Eine weitere Diskrepanz stellte sich zudem bei der Signifikanz der Unterschiede dar: Weder Hirakawa *et al.* noch Yamauchi *et al.* konnten, obwohl nach 2 Wochen ein signifikanter Vorteil bei den photofunktionalisierten Oberflächen bezüglich des BICs bestand, diesen nach 4 Wochen, im Gegensatz zu den Ergebnissen dieser Untersuchung, noch nachweisen. [88,226] Bei Coelho *et al.* bildeten sich, ähnlich zu den vorliegenden Ergebnissen, signifikante Unterschiede zwischen den nativen und kaltplasmafunktionalisierten ab der 3. Woche heraus. [46] In einer Untersuchung von Guastaldi *et al.*, in der am Hundemodell der Einfluss von Kaltplasma (Argon-NTP vs. Kontrolle) auf die Osseointegration untersucht wurde, war zwar bezüglich des Knochen-Implantat-Kontakts, widersprüchlich zu dieser Studie, kein signifikanter Unterschied zwischen nativen und vorbehandelten Implantaten nach 2 Wochen erfassbar. Dennoch war der Ausdrehwiderstand der funktionalisierten Implantate signifikant höher als bei nicht funktionalisierten Implantaten. [80]

In der Auswertung der mit Argonkaltplasma behandelten Oberflächen in dieser Studie konnte analog zu den photofunktionalisierten Oberflächen eine signifikante kontinuierliche Steigerung des BICs im Vergleich zu den unbehandelten Implantaten über 2, 4 bzw. 8 Wochen nachgewiesen werden. Ein signifikanter Unterschied bezüglich des BICs gegenüber den UV-bestrahlten Implantaten war jedoch nicht ermittelbar. Zudem zeigte sich bei diesen Implantaten ebenfalls initial ein hoher Knochen-Implantat-Kontakt bereits nach 2 Wochen. Teixeira *et al.* berichteten in ihrer Studie nach der Behandlung von aluminiumbestrahlten und säuregeätzten Titanoberflächen mit Argonkaltplasma (20 Sekunden oder 60 Sekunden) im Hundemodell von einer signifikanten Steigerung des Ausdrehmoments über einen Zeitraum von 4 Wochen, was als eine Stimulation der Osseointegration gewertet wurde. [202] Eine genauere Quantifizierung der Einflüsse auf die dynamischen Parameter des Knochenwachstums aufgrund von Oberflächenfunktionalisation mit Argonkaltplasma erfolgte in weiteren Studien durch eine histomorphometrische Aufarbeitung. Canullo *et al.* untersuchten in einem Hundemodell die Knochenwachstumsrate sowie das Remodelingverhalten an kaltplasmaaktivierten Zirkonimplantaten (Argon-NTP für 12 Minuten) über einen Gesamtzeitraum von 2 Monaten. Zwar wiesen sie nach 4 Wochen einen um ca. 10 % niedrigeren BIC nach als den in der vorliegenden Studie, jedoch konnte gleichermaßen ein signifikanter Unterschied des Knochen-Implantat-Kontakts nach 8 Wochen aufgezeigt werden. [41] Shon *et al.* zeigten in einem Kaninchenmodell bei Zirkonimplantaten ebenfalls eine signifikante Zunahme des Knochen-Implantat-Kontakts nach einer 60 Sekunden andauernden Heliumkaltplasmabehandlung nach einer Einheilungsdauer von 4 Wochen im Vergleich zu den nativen Zirkonimplantaten. Allerdings war bezüglich des Ausdrehmoments kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen nachweisbar im Gegensatz zu den Ergebnissen der Studie von Teixeira *et al.* [190,202] Auch hier lag der BIC nach 4 Wochen bei 70 % und somit wiederum ca. 10 % unter den Werten aus dieser Studie. In Bezug auf Titanimplantate registrierten weiterhin sowohl Giro *et al.* als auch Danna *et al.* osseointegrationsfördernde Effekte einer Argonkaltplasmabehandlung im Hundemodell. [50,75]

In Bezug auf die Oberflächenaktivierung mittels Argonkaltplasma oder der UV-Behandlung scheint in der vorliegenden Arbeit keine Methode der anderen überlegen zu sein. Es zeichnete sich zu keinem Zeitpunkt ein signifikanter Vorteil bei der Osseointegration der funktionalisierten Implantate ab.

Grundlage für die vorliegenden Untersuchungen sind die Beobachtung „des biologischen Alters“ von Titanoberflächen und des damit einhergehenden restriktiven Osseointegrationsverhaltens von dentalen Implantaten. [18] Hori *et al.* berichteten in ihren Untersuchungen von 2010, dass die zeitabhängige Herabsetzung der Bioaktivität von Titan aufgrund einer Änderung des Ausprägungsgrads der Hydrophilie, Dezimierung der Proteinadsorption sowie des Zellattachments von humanen Osteoblasten entstehe. Titanplättchen, die länger als 4 Wochen in einem atmosphärischen Milieu gelagert wurden, wiesen im Verhältnis zu neuen Titanplättchen eine Reduktion der Proteinadsorption und Zellanlagerung bzw. -migration um mehr als 50 % auf und somit ein eingeschränktes Osseointegrationsverhalten. [90] Ursächlich scheint dafür die fortschreitende Akkumulation von organischen Molekülen aus der Umgebung als ein unvermeidbarer physikochemischer Prozess zu sein. Dieser Vorgang der Degradierung der Titanoberfläche ist jedoch mithilfe von Photo- bzw. Kaltplasmafunktionalisierung reversibel. Eine Funktionalisation der Titanoberfläche mit ultraviolettem Licht entfernt Hydrocarbonverbindungen und regeneriert die Hydrophilie. [18] Diese Beobachtungen decken sich mit zahlreichen *in vitro* Experimenten, in denen ein Nutzen der UV-Funktionalisierung in der frühen ossären Heilungsphase hinsichtlich der Steigerung der Zellmigration, der Proteinadsorption und des Zellattachments nachzuweisen war. [97,124,199] Entsprechend der Photofunktionalisation gilt auch die Plasmaaktivierung als weiterer Ansatz zur Erhöhung der Oberflächenenergie, der Reduktion von produktionsbedingten Oberflächenverschmutzungen und somit der Erzeugung bioaktiver Titanoberflächen. So beschrieben Aronson *et al.* (1997), dass es sich bei der Plasmaaktivierung um eine reproduzierbare Methode zur Entfernung von Kohlenstoffverbindungen handle. [13] Das gesteigerte osteokonduktive Potenzial nach UV-Photofunktionalisation oder Kaltplasmaaktivierung basiert somit u. a. auf einer Modifikation der Oberflächenchemie bzw. -energie. In Hinblick auf die Ergebnisse dieser Studie scheint dieses Phänomen nicht nur *in vitro*, sondern auch *in vivo* Vorteile bei dem Osseointegrationsverhalten von Titanimplantaten zu bringen.

5.5.3 Beurteilung des Knochenanteils in den retentiven Anteilen

Bei der qualitativen histologischen Analyse der BAFO-Werte zeigte sich zu allen untersuchten Zeitpunkten eine Knochenbildung in den Gewindeelemente der Implantate. Eine suffiziente Knochenneubildung war in den retentiven Anteilen bis zum Boden des Gewindes nachzuweisen. Knochengewebe breitete sich vom umgebenden Gewebe genauso wie vom Grund aus. Entzündliche Reaktionen waren nicht nachweisbar.

Nach 2 Wochen ergaben sich initial BAFO-Werte zwischen 36 % und 43 %. Damit lagen die Ergebnisse ähnlich denen in der Literatur. Hier wird von einem Knochenanteil, ungeachtet der Oberflächenaktivierung, zwischen 20 % bis 30 % nach 2 Wochen berichtet. [177] Guastaldi *et al.* konnten zudem einen signifikanten Vorteil der mit Argonplasma aktivierten Titanoberfläche gegenüber der Kontrollgruppe in ihren *in vivo* Versuchen am Hundemodell nachweisen. [80] Ähnliches zeigten Coelho *et al.* sowie Giro *et al.* nach einer Implantatstandzeit von 3 Wochen. [46,75] Eine Beobachtung, die sich in der vorliegenden Untersuchung nicht bestätigen ließ. Die in der Literatur nach 4 Wochen publizierten Werte erreichten Anteile bis zu 70 %. [50,193] Damit lagen sie über denen in der vorliegenden Arbeit. Hier stagnierte der Anteil der Knochenfläche bei der Betrachtung des Zeitraums der ersten 4 Wochen. Diese Entwicklung war bei den BIC-Werten nicht zu verzeichnen. Es gab weder einen signifikanten Unterschied zwischen den funktionalisierten Implantaten noch zu den nativen Implantaten bezüglich des BAFO-Wertes.

Erst in der Gruppe nach 8 Wochen zeichnete sich ein Anstieg der Knochenfläche in den retentiven Bereichen ab mit einem signifikanten Unterschied zwischen den nativen und kaltplasmafunktionalisierten Implantaten. Danna *et al.* konnten zwar über einen Beobachtungszeitraum von 6 Wochen auch einen tendenziellen höheren Anstieg von Knochen in den Gewindeelementen in ihrem Hundemodell aufzeigen aber ohne signifikanten Vorteil der kaltplasmaaktivierten Titanimplantaten gegenüber der Kontrollgruppe. [50] Entgegen der Beobachtung in dieser Studie wiesen Soares *et al.* eine Korrelation zwischen den BIC- bzw. BAFO-Wert und der Implantatstabilität nach. [193]

Zudem scheint die Form sowie die Dimension der Einheilkammer einen entscheidenden Stellenwert in Bezug auf den Knochenkontakt in den retentiven Anteilen einzunehmen. Die Einheilkammer ist definiert als die Zone zwischen zwei benachbarten Windungen. (siehe Abb.8) [120] In diesem Bereich besteht primär nach der Implantation kein Kontakt zwischen Knochen und Implantatoberfläche. Somit ist dieser Raum für die Primärstabilität unwesentlich. Infolge der Verletzung der Knochenkontinuität bildet sich jedoch ein Hämatom als Basis für die Bildung von Geflechtknochen aus. [120] Innerhalb der ersten 2 Woche formiert sich der Geflechtknochen, der sich nach 4 Wochen in lamellären Knochen umwandelt. Mit fortschreitender Mineralisation erhöht sich die Stabilität des Implantats und die Einheilkammer erhöht somit effektiv die Integration. Somit liegt die Bedeutung dieser Areale in der Ausbildung der Sekundärstabilität. [1] Obwohl nach der Implantation an der Grenzfläche zum Implantat kontinuierlich Knochenresorption und Remodeling erfolgen,

bildet sich in den Einheilkammern stetig frischer Knochen, was zu einer suffizienten Gesamtstabilität führt. [20] Das erklärt eventuell auch die Beobachtung in dieser Studie, dass ein signifikanter Anstieg der ISQ- sowie BAFO-Werte zu verzeichnen war, dagegen nicht bei den BIC-Ergebnissen, die bereits in der zweiten Woche sehr hoch waren. Interessanterweise berichteten Marin *et al.* in ihrer Studie aus dem Jahre 2010, dass die Gestaltung der Einheilkammer zwar signifikanten Einfluss auf den BIC-Wert aufwies, jedoch nicht wie erwartet auf den BAFO-Wert. [129] Da in Studien selten Angaben zum Design der Einheilkammern gemacht werden, könnte neben den unterschiedlichen Tiermodellen auch dieses ursächlich für die stark abweichenden Werte in der Literatur sein.

5.6 Schlussfolgerung

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass durch eine 12-minütige Oberflächenaktivierung von handelsüblichen moderat rauen Titanimplantaten durch UV-Photofunktionalisierung oder Kaltplasmaaktivierung eine Verbesserung der Osseointegration über einen Zeitraum von bis zu 8 Wochen möglich ist. Dieses ließ sich jedoch nur histomorphometrisch und nicht über die Ergebnisse der Radiofrequenzanalyse nachweisen. In der histologischen Untersuchung wurde sowohl für die nativen als auch für die funktionalisierten Implantate eine suffiziente direkte Knochenanlagerung an die Implantatoberfläche beobachtet. Zu den Untersuchungszeitpunkten von 4 und 8 Wochen zeigte sich ein statistisch signifikanter Vorteil bezüglich des Knochen-Implantat-Kontakts für die funktionalisierten Proben ohne Signifikanz zwischen den Verfahren. Die Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass oberflächenaktivierte Titanimplantate mit einer moderaten mikrorauen Oberfläche eine höhere osseointegrative Kapazität besitzen als nicht funktionalisierte Titanimplantate.

Beide Techniken sind praxisnah unkompliziert anwendbar und könnten zu einer möglichen schnelleren kaufunktionellen Belastung der Implantate und ggf. sogar zu einer sichereren Sofortbelastungsmöglichkeit führen. Eine weitere Indikation, die durch klinische Studien zu verifizieren wäre, ist der Einsatz im kompromittierten Knochen. Systemische Erkrankungen (z. B. Diabetes mellitus), die Einnahme antiresorptiver Präparate oder auch medikamentös-induzierte oder altersbedingte Osteoporose können im Zeitalter des demografischen Wandels eine zunehmende Problematik sein, um entsprechende Patienten adäquat zu therapieren – auch über Implantate. Die beispielsweise mit dergleichen Krankheiten einhergehende Minderperfusion des Knochens oder reduzierten Umbauprozesse bei traumatischen Reizen

können bisweilen Kontraindikationen für eine Rehabilitation darstellen. Der Wunsch nach einer solchen Versorgung besteht beim Patienten dennoch. Eine Oberflächenfunktionalisation von Titanimplantaten könnte daher nicht nur den Patientenkomfort dank einer rascheren möglichen Versorgung über die Unterstützung der Osseointegration erhöhen, sondern auch im kompromittierten Knochen einen prognostisch günstigeren Verlauf ermöglichen. Eine Überprüfung durch weitere *in vivo* Studien sowie in klinischen Studien ist deshalb erforderlich.

6. Zusammenfassung

Obwohl seit der Entdeckung der Osseointegration in den letzten Jahrzehnten viel auf dem Gebiet der dentalen Implantologie geforscht wurde, ist das Phänomen der Osseointegration noch immer der entscheidende Parameter bei der Einheilung und dem Langzeitüberleben eines dentalen Implantats. Durch die physikochemische Modifikation der Oberfläche von Titanimplantaten mithilfe von UV-Oberflächenfunktionalisierung oder Kaltplasmaaktivierung können die Interaktion von Proteinen und Zellen an der Knochen-Implantat-Grenzfläche beeinflusst und die Osseointegration gefördert werden. In der vorliegenden Arbeit wurden 54 Implantate, von denen jeweils 18 durch UV-Licht oder Kaltplasma (NTP) oberflächenfunktionalisiert wurden, in die Schädelkalotte von 6 Landschweinen inseriert (je 3 einer Gruppe pro Schwein). Nach einem Zeitraum von 2, 4 und 8 Wochen wurde jeweils 2 Tiere geopfert und die Implantate radiologisch und histomorphometrisch hinsichtlich des Knochen-Implantat-Kontakts (BIC) und der Knochenfläche in den retentiven Bereichen (BAFO) untersucht. Zudem erfolgte intraoperativ und bei Opferung eine Analyse der Implantatstabilität über die Resonanzfrequenzanalyse.

Es konnte gezeigt werden, dass neben einem hohen initialen Knochen-Implantat-Kontakt nach 2 Wochen in allen 3 Gruppen im Vergleich zu den nativen Implantaten die UV-oberflächenfunktionalisierten und NTP-behandelten Implantate zu jedem Messzeitpunkt einen höheren Knochen-Implantat-Kontakt aufwiesen. In Hinsicht auf die retentiven Elemente zeigte sich bei den kaltplasmaaktivierten Implantaten tendenziell ein signifikanter Zuwachs der Knochenfläche über die 8 Wochen, bei den mit UV-Licht behandelten Implantaten konnte analog zu den nativen lediglich eine tendenzielle Steigerung beobachtet werden. Bei der Betrachtung des ISQ-Wertes zur Beurteilung der Implantatstabilität war nach einem initialen Stabilitätsverlust ein stetiger Zuwachs des Implantatstabilitätsquotienten in der Resonanzfrequenzanalyse über die Zeit ohne signifikante Unterschiede zwischen den Testgruppen erkennbar.

Bei allen Titanimplantaten lag zu jedem Zeitpunkt der Studie eine suffiziente Osseointegration vor. Allerdings erscheint die Osseointegration histomorphometrisch von oberflächenfunktionalisierten Implantaten der von nicht funktionalisierten überlegen zu sein. Dieses konnte jedoch in den retentiven Anteilen nur bedingt beobachtet werden. Bei der indirekten Messung der Implantatstabilität mithilfe der Resonanzfrequenzanalyse konnte ein positiver Einfluss der Oberflächenaktivierung nicht nachgewiesen werden.

7. Summary

Despite extensive research in the field of dental implantology in recent decades, since its discovery, the phenomenon of osseointegration has remained the decisive parameter for the healing and long-term survival of dental implants. Using UV functionalization or non-thermal plasma activation to modify the physiochemistry of the surface of titanium implants, the interaction between the proteins and cells at the bone-implant interface can be influenced and osseointegration promoted. In this study, 54 implants, 18 of which had each been subjected to UV light or non-thermal plasma (NTP) functionalization, were implanted into the cranium of 6 domestic pigs (3 of each group per pig). Two animals were sacrificed after periods of 2, 4, and 8 weeks, and radiological and histomorphometric examination of the implants was carried out, focusing on the bone implant contact (BIC) and the bone area fraction occupancy (BAFO). In addition, both intraoperatively and during the sacrificing of the animals, an implant stability analysis was performed using resonance frequency analysis.

It was possible to show that, alongside a high initial level of bone-implant contact after 2 weeks in all 3 groups, when compared to the native implants, the implants which had been subjected to UV functionalization and NTP treatment showed higher levels of bone implant contact at all times of measurement. Regarding the retentive elements, the cold plasma activated implants tended to show a significant bone surface increase over the course of the 8 weeks, whereas the implants which had been exposed to UV light showed a tendential increase analogous to that of the native implants. When reviewing the Implant Stability Quotient value to determine the implant stability, the initial loss of stability was followed by a continuous increase of the ISQ in the resonance frequency analysis for the duration with no significant differences found between the test groups.

All titanium implants showed sufficient levels of osseointegration at all times during the study. However, the osseointegration histomorphometry of surface-functionalized implants does appear to be superior to that of non-functionalized implants. However, this could only be observed to a limited extent in the retentive areas. It was not possible to demonstrate the positive influence of surface activation when indirectly measuring implant stability using resonance frequency analysis

8. Literatur

1. Abrahamsson I, Berglundh T, Linder E et al (2004) Early bone formation adjacent to rough and turned endosseous implant surfaces. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res* 15(4): 381–392
2. Abrahamsson I, Linder E, Lang N P (2009) Implant stability in relation to osseointegration. *Clin Oral Implants Res* 20(3): 313–318
3. Aerssens J, Boonen S, Lowet G et al (1998) Interspecies differences in bone composition, density, and quality. *Endocrinology* 139(2): 663–670
4. Aita H, Hori N, Takeuchi M et al (2009) The effect of ultraviolet functionalization of titanium on integration with bone. *Biomaterials* 30(6): 1015–1025
5. Al Qahtani M S A, Wu Y, Spintzyk S et al (2015) UV-A and UV-C light induced hydrophilization of dental implants. *Dent Mater* 31(8): e157-67
6. Albrektsson T, Zarb G, Worthington P et al (1986) The long-term efficacy of currently used dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1(1): 11–25
7. Albrektsson T, Johansson C (2001) Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration. *Eur Spine J* 10 Suppl 2: S96-101
8. Albrektsson T O, Johansson C B, Sennerby L (1994) Biological aspects of implant dentistry: osseointegration. *Periodontol* 2000 4: 58–73
9. Alghamdi H S (2018) Methods to Improve Osseointegration of Dental Implants in Low Quality (Type-IV) Bone. *J Funct Biomater* 9(1)
10. Altmann B, Kohal R-J, Steinberg T et al (2013) Distinct cell functions of osteoblasts on UV-functionalized titanium- and zirconia-based implant materials are modulated by surface topography. *Tissue Eng Part C Methods* 19(11): 850–863
11. Ananth H, Kundapur V, Mohammed H S et al (2015) A Review on Biomaterials in Dental Implantology. *Int J Biomed Sci* 11(3): 113–120
12. Aparicio C, Lang N P, Rangert B (2006) Validity and clinical significance of biomechanical testing of implant/bone interface. *Clin Oral Implants Res* 17 Suppl 2: 2–7
13. Aronsson B O, Lausmaa J, Kasemo B (1997) Glow discharge plasma treatment for surface cleaning and modification of metallic biomaterials. *J Biomed Mater Res* 35(1): 49–73
14. Atieh M A, Alsabeeha N H M, Payne A G T (2012) Can resonance frequency analysis predict failure risk of immediately loaded implants? *Int J Prosthodont* 25(4): 326–339
15. Atieh M A, Alsabeeha N H M, Payne A G T et al (2014) The prognostic accuracy of resonance frequency analysis in predicting failure risk of immediately restored implants. *Clin Oral Implants Res* 25(1): 29–35
16. Atsumi M, Park S-H, Wang H-L (2007) Methods used to assess implant stability. *Int J Oral Maxillofac Implants* 22(5): 743–754
17. Att W, Hori N, Iwasa F et al (2009) The effect of UV-photofunctionalization on the time-related bioactivity of titanium and chromium-cobalt alloys. *Biomaterials* 30(26): 4268–4276
18. Att W, Ogawa T (2012) Biological aging of implant surfaces and their restoration with ultraviolet light treatment: a novel understanding of osseointegration. *Int J Oral Maxillofac Implants* 27(4): 753–761

19. Bagambisa F B, Kappert H F, Schilli W (1994) Cellular and molecular biological events at the implant interface. *J Craniomaxillofac Surg* 22(1): 12–17
20. Baires-Campos F-E, Jimbo R, Bonfante E-A et al (2015) Drilling dimension effects in early stages of osseointegration and implant stability in a canine model. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 20(4): e471-9
21. Baltayan S, Pi-Anfruns J, Aghaloo T et al (2016) The Predictive Value of Resonance Frequency Analysis Measurements in the Surgical Placement and Loading of Endosseous Implants. *J Oral Maxillofac Surg* 74(6): 1145–1152
22. Bar-Shavit Z (2007) The osteoclast: a multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell. *J Cell Biochem* 102(5): 1130–1139
23. Bergmann C, Stumpf A, Hrsg. *Dental Ceramics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg. 9-13
24. Bilhan H, Cilingir A, Bural C et al (2015) The Evaluation of the Reliability of Periotest for Implant Stability Measurements. *J Oral Implantol* 41(4): e90-5
25. Bohner L O L, Mukai E, Oderich E et al (2017) Comparative analysis of imaging techniques for diagnostic accuracy of peri-implant bone defects. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 124(4): 432-440.e5
26. Bonewald L F (2007) Osteocytes as dynamic multifunctional cells. *Ann N Y Acad Sci* 1116: 281–290
27. Bosshardt D D, Chappuis V, Buser D (2017) Osseointegration of titanium, titanium alloy and zirconia dental implants: current knowledge and open questions. *Periodontol 2000* 73(1): 22–40
28. Bostrom M P (1998) Expression of bone morphogenetic proteins in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res* (355 Suppl): S116-23
29. Botticelli D, Berglundh T, Buser D et al (2003) Appositional bone formation in marginal defects at implants. *Clin Oral Implants Res* 14(1): 1–9
30. Brånemark P I, Adell R, Breine U et al (1969) Intra-osseous anchorage of dental prostheses. I. Experimental studies. *Scand J Plast Reconstr Surg* 3(2): 81–100
31. Brånemark P I, Hansson B O, Adell R et al (1977) Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scand J Plast Reconstr Surg Suppl* 16: 1–132
32. Brett P M, Harle J, Salih V et al (2004) Roughness response genes in osteoblasts. *Bone* 35(1): 124–133
33. Browne M, Gregson P J (1994) Surface modification of titanium alloy implants. *Biomaterials* 15(11): 894–898
34. Brunski J B (1992) Biomechanical factors affecting the bone-dental implant interface. *Clin Mater* 10(3): 153–201
35. Bundesgesetz (Neubekanntmachung 7.August 2002 (BGBl: I S. 3146)) Gesetz über Medizinproduktegesetz
36. Buser D, Schenk R K, Steinemann S et al (1991) Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs. *J Biomed Mater Res* 25(7): 889–902
37. Buser D, Sennerby L, Bruyn H de (2017) Modern implant dentistry based on osseointegration. *Periodontol 2000* 73(1): 7–21

38. Camlog Allgemeine Systeminformationen zum Camlog Implantatsystem, Basel. 4-38
39. Camlog CAMLOG Arbeitsanleitung Planung der Implantatposition, Basel. 1-36
40. Canullo L, Penarrocha D, Micarelli C et al (2013) Hard tissue response to argon plasma cleaning/sterilisation of customised titanium abutments versus 5-second steam cleaning. *Eur J Oral Implantol* 6(3): 251–260
41. Canullo L, Tallarico M, Botticelli D et al (2018) Hard and soft tissue changes around implants activated using plasma of argon. *Clin Oral Implants Res* 29(4): 389–395
42. Carlos Nelson Elias, Hrsg. *Implant Dentistry*. InTech. 321-363
43. Carlsson L V, Alberktsson T, Berman C (1989) Bone response to plasma-cleaned titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 4(3): 199–204
44. Chen H-H, Lai W-Y, Chee T-J et al (2017) Monitoring the Changes of Material Properties at Bone-Implant Interface during the Healing Process In Vivo. *Biomed Res Int* 2017: 1945607
45. Choi J-Y, Sim J-H, Yeo I-S L (2017) Characteristics of contact and distance osteogenesis around modified implant surfaces in rabbit tibiae. *J Periodontal Implant Sci* 47(3): 182–192
46. Coelho P G, Giro G, Teixeira H S et al (2012) Argon-based atmospheric pressure plasma enhances early bone response to rough titanium surfaces. *J Biomed Mater Res A* 100(7): 1901–1906
47. Cook S D, Thomas K A, Kay J F et al (1988) Hydroxyapatite-coated titanium for orthopedic implant applications. *Clin Orthop Relat Res* (232): 225–243
48. Dagher M, Mokbel N, Jabbour G et al (2014) Resonance frequency analysis, insertion torque, and bone to implant contact of 4 implant surfaces. *Implant Dent* 23(6): 672–678
49. Danna N R, Beutel B G, Tovar N et al (2015) Assessment of Atmospheric Pressure Plasma Treatment for Implant Osseointegration. *Biomed Res Int* 2015: 761718
50. Danna N R, Beutel B G, Tovar N et al (2015) Assessment of Atmospheric Pressure Plasma Treatment for Implant Osseointegration. *Biomed Res Int* 2015: 761718
51. Dave M, Davies J, Wilson R et al (2013) A comparison of cone beam computed tomography and conventional periapical radiography at detecting peri-implant bone defects. *Clin Oral Implants Res* 24(6): 671–678
52. Davies J E (1996) In vitro modeling of the bone/implant interface. *Anat Rec* 245(2): 426–445
53. Davies J E (1998) Mechanisms of endosseous integration. *Int J Prosthodont* 11(5): 391–401
54. Davies J E (2003) Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ* 67(8): 932–949
55. Decuzzi P, Ferrari M (2010) Modulating cellular adhesion through nanotopography. *Biomaterials* 31(1): 173–179
56. Degidi M, Perrotti V, Piattelli A et al (2010) Mineralized bone-implant contact and implant stability quotient in 16 human implants retrieved after early healing periods: a histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 25(1): 45–48
57. Dinkelacker W (2014) *Implantatprothetik*, 1. Aufl. Georg Thieme Verlag KG, s.l. 27-35

58. Dohan Ehrenfest D M, Coelho P G, Kang B-S et al (2010) Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography. *Trends Biotechnol* 28(4): 198–206
59. Donath K (1988) Die Trenn-Dünnschliff-Technik zur Herstellung histologischer Präparate von nicht schneidbaren Geweben und Materialien. *Der Präparator* 34: 197–206
60. Drenckhahn D Z W (1994) Benninghoff Anatomie, 15. Aufl. Urban & Fischer Verlag, München. 145-159
61. Ducheyne P, Healy K E (1988) The effect of plasma-sprayed calcium phosphate ceramic coatings on the metal ion release from porous titanium and cobalt-chromium alloys. *J Biomed Mater Res* 22(12): 1137–1163
62. Ducheyne P, Radin S, King L (1993) The effect of calcium phosphate ceramic composition and structure on in vitro behavior. I. Dissolution. *J Biomed Mater Res* 27(1): 25–34
63. Duske K, Koban I, Kindel E et al (2012) Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals. *J Clin Periodontol* 39(4): 400–407
64. Effah E A, Bianco P D, Ducheyne P (1995) Crystal structure of the surface oxide layer on titanium and its changes arising from immersion. *J Biomed Mater Res* 29(1): 73–80
65. Engelhardt W v, Breves G, Aurich C, Hrsg. Physiologie der Haustiere, 3. Aufl. Enke, Stuttgart. S. 655
66. Feller L, Chandran R, Khammissa R A G et al (2014) Osseointegration: biological events in relation to characteristics of the implant surface. *SADJ* 69(3): 112, 114-7
67. Fercher A F (1992) Medizinische Physik. Springer Vienna, Vienna, s.l. 963-724
68. Franchini I, Capelli M, Fumagalli L et al (2011) Multicenter retrospective analysis of 201 consecutively placed camlog dental implants. *Int J Periodontics Restorative Dent* 31(3): 255–263
69. Friberg B, Sennerby L, Linden B et al (1999) Stability measurements of one-stage Brånemark implants during healing in mandibles. A clinical resonance frequency analysis study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 28(4): 266–272
70. Funato A, Ogawa T (2013) Photofunctionalized dental implants: a case series in compromised bone. *Int J Oral Maxillofac Implants* 28(6): 1589–1601
71. Funato A, Yamada M, Ogawa T (2013) Success rate, healing time, and implant stability of photofunctionalized dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 28(5): 1261–1271
72. Gao T J, Lindholm T S, Marttinen A et al (1993) Bone inductive potential and dose-dependent response of bovine bone morphogenetic protein combined with type IV collagen carrier. *Ann Chir Gynaecol Suppl* 207: 77–84
73. Garetto L P, Chen J, Parr J A et al (1995) Remodeling dynamics of bone supporting rigidly fixed titanium implants: a histomorphometric comparison in four species including humans. *Implant Dent* 4(4): 235–243
74. Gibbesch B, Elssner G, Petzow G (1990) Microstructure of interface regions and mechanical properties of Ti/Al₂O₃ and Ti-alloy/Al₂O₃ joints for dental implants. *Clin Mater* 5(2-4): 177–189
75. Giro G, Tovar N, Witek L et al (2013) Osseointegration assessment of chairside argon-based nonthermal plasma-treated Ca-P coated dental implants. *J Biomed Mater Res A* 101(1): 98–103

76. Gittens R A, Scheideler L, Rupp F et al (2014) A review on the wettability of dental implant surfaces II. *Acta Biomater* 10(7): 2907–2918
77. Gradinger R, Gollwitzer H (2006) *Ossäre Integration*. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Berlin, Heidelberg. s.27-28
78. Grogard N, Verleye G, Mavreas D et al (2017) Updated secondary implant stability data of two dental implant systems. A retrospective cohort study. *J Clin Exp Dent* 9(9): e1121-e1128
79. Gruijl F R de, van der Leun J C (2000) Environment and health. *CMAJ* 163(7): 851–855
80. Guastaldi F P S, Yoo D, Marin C et al (2013) Plasma treatment maintains surface energy of the implant surface and enhances osseointegration. *Int J Biomater* 2013: 354125
81. Gupta R K, Padmanabhan T V (2011) Resonance frequency analysis. *Indian J Dent Res* 22(4): 567–573
82. Haga M, Fujii N, Nozawa-Inoue K et al (2009) Detailed process of bone remodeling after achievement of osseointegration in a rat implantation model. *Anat Rec (Hoboken)* 292(1): 38–47
83. Han J, Lulic M, Lang N P (2010) Factors influencing resonance frequency analysis assessed by Osstell mentor during implant tissue integration. *Clin Oral Implants Res* 21(6): 605–611
84. Hartman E H M, Pikkemaat J A, Vehof J W M et al (2002) In vivo magnetic resonance imaging explorative study of ectopic bone formation in the rat. *Tissue Eng* 8(6): 1029–1036
85. Henningsen A, Smeets R, Hartjen P et al (2018) Photofunctionalization and non-thermal plasma activation of titanium surfaces. *Clin Oral Investig* 22(2): 1045–1054
86. Herekar M, Sethi M, Ahmad T et al (2014) A correlation between bone (B), insertion torque (IT), and implant stability (S). *J Prosthet Dent* 112(4): 805–810
87. Herrero-Climent M, Santos-García R, Jaramillo-Santos R et al (2013) Assessment of Osstell ISQ's reliability for implant stability measurement. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 18(6): e877-82
88. Hirakawa Y, Jimbo R, Shibata Y et al (2013) Accelerated bone formation on photo-induced hydrophilic titanium implants: an experimental study in the dog mandible. *Clin Oral Implants Res* 24 Suppl A100: 139–144
89. Hirota M, Ikeda T, Tabuchi M et al (2017) Effects of Ultraviolet Photofunctionalization on Bone Augmentation and Integration Capabilities of Titanium Mesh and Implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 32(1): 52–62
90. Hori N, Ueno T, Suzuki T et al (2010) Ultraviolet light treatment for the restoration of age-related degradation of titanium bioactivity. *Int J Oral Maxillofac Implants* 25(1): 49–62
91. Horwitz J, Zuabi O, Peled M (2003) Resonance frequency analysis in immediate loading of dental implants. *Refuat Hapeh Vehashinayim* (1993) 20(3): 80-8, 104
92. Huang H M, Pan L C, Lee S Y et al (2000) Assessing the implant/bone interface by using natural frequency analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 90(3): 285–291
93. Hunziker E B, Enggist L, Küffer A et al (2012) Osseointegration: the slow delivery of BMP-2 enhances osteoinductivity. *Bone* 51(1): 98–106

94. Itälä A I, Ylänen H O, Ekholm C et al (2001) Pore diameter of more than 100 microm is not requisite for bone ingrowth in rabbits. *J Biomed Mater Res* 58(6): 679–683
95. Ito Y, Sato D, Yoneda S et al (2008) Relevance of resonance frequency analysis to evaluate dental implant stability. *Clin Oral Implants Res* 19(1): 9–14
96. Ivanoff C J, Sennerby L, Lekholm U (1996) Influence of mono- and bicortical anchorage on the integration of titanium implants. A study in the rabbit tibia. *Int J Oral Maxillofac Surg* 25(3): 229–235
97. Iwasa F, Hori N, Ueno T et al (2010) Enhancement of osteoblast adhesion to UV-photofunctionalized titanium via an electrostatic mechanism. *Biomaterials* 31(10): 2717–2727
98. Iwasa F, Tsukimura N, Sugita Y et al (2011) TiO₂ micro-nano-hybrid surface to alleviate biological aging of UV-photofunctionalized titanium. *Int J Nanomedicine* 6: 1327–1341
99. Jayesh R S, Dhinakarsamy V (2015) Osseointegration. *J Pharm Bioallied Sci* 7(Suppl 1): S226-9
100. Jennissen H P (2002) Accelerated and improved osteointegration of implants biocoated with bone morphogenetic protein 2 (BMP-2). *Ann N Y Acad Sci* 961: 139–142
101. Jerosch J, Bader A, Uhr G (2002) *Knochen*, 1. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart. 10–19
102. Jiang W, Tang J, Wang Y et al (2014) Characterization of argon direct-current glow discharge with a longitudinal electric field applied at ambient air. *Sci Rep* 4: 6323
103. Juodzbaly G, Kubilius M (2013) Clinical and radiological classification of the jawbone anatomy in endosseous dental implant treatment. *J Oral Maxillofac Res* 4(2): e2
104. Kamitakahara M, Ohtsuki C, Miyazaki T (2008) Review paper. *J Biomater Appl* 23(3): 197–212
105. Kantarci A, Hasturk H, van Dyke T E (2015) Animal models for periodontal regeneration and peri-implant responses. *Periodontol* 2000 68(1): 66–82
106. Kasemo B (1983) Biocompatibility of titanium implants: surface science aspects. *J Prosthet Dent* 49(6): 832–837
107. Kim M-J, Kim C-W, Lim Y-J et al (2006) Microrough titanium surface affects biologic response in MG63 osteoblast-like cells. *J Biomed Mater Res A* 79(4): 1023–1032
108. Kim S J, Ribeiro A L V L, Atlas A M et al (2015) Resonance frequency analysis as a predictor of early implant failure in the partially edentulous posterior maxilla following immediate nonfunctional loading or delayed loading with single unit restorations. *Clin Oral Implants Res* 26(2): 183–190
109. Kim T I, Han J H, Lee I S et al (1997) New titanium alloys for biomaterials: a study of mechanical and corrosion properties and cytotoxicity. *Biomed Mater Eng* 7(4): 253–263
110. Kim Y-H, Choi N-R, Kim Y-D (2017) The factors that influence postoperative stability of the dental implants in posterior edentulous maxilla. *Maxillofac Plast Reconstr Surg* 39(1): 2
111. Kitajima H, Ogawa T (2016) The Use of Photofunctionalized Implants for Low or Extremely Low Primary Stability Cases. *Int J Oral Maxillofac Implants* 31(2): 439–447
112. Koeck B, Ackermann K L, Haunfelder D et al, Hrsg. *Implantologie*, 2. Aufl. Urban & Fischer, München. 75

113. Krafft T, Graef F, Karl M (2015) Osstell Resonance Frequency Measurement Values as a Prognostic Factor in Implant Dentistry. *J Oral Implantol* 41(4): e133-7
114. Kripparamanan R, Aswath P, Zhou A et al (2006) Nanotopography: cellular responses to nanostructured materials. *J Nanosci Nanotechnol* 6(7): 1905–1919
115. Kühl S, Zürcher S, Zitzmann N U et al (2016) Detection of peri-implant bone defects with different radiographic techniques - a human cadaver study. *Clin Oral Implants Res* 27(5): 529–534
116. Kuzyk P R, Schemitsch E H (2011) The basic science of peri-implant bone healing. *Indian J Orthop* 45(2): 108–115
117. Lai H-C, Zhang Z-Y, Wang F et al (2008) Resonance frequency analysis of stability on ITI implants with osteotome sinus floor elevation technique without grafting. *Clin Oral Implants Res* 19(5): 469–475
118. Larsson C, Thomsen P, Lausmaa J et al (1994) Bone response to surface modified titanium implants: studies on electropolished implants with different oxide thicknesses and morphology. *Biomaterials* 15(13): 1062–1074
119. Le Guéhennec L, Soueidan A, Layrolle P et al (2007) Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration. *Dent Mater* 23(7): 844–854
120. Lee H-C, Tsai P-I, Huang C-C et al (2017) Numerical Method for the Design of Healing Chamber in Additive-Manufactured Dental Implants. *Biomed Res Int* 2017: 1970680
121. Leonard G, Coelho P, Polyzois I et al (2009) A study of the bone healing kinetics of plateau versus screw root design titanium dental implants. *Clin Oral Implants Res* 20(3): 232–239
122. Linkhart T A, Mohan S, Baylink D J (1996) Growth factors for bone growth and repair: IGF, TGF beta and BMP. *Bone* 19(1 Suppl): 1S-12S
123. Lin X, Groot K de, Wang D et al (2015) A review paper on biomimetic calcium phosphate coatings. *Open Biomed Eng J* 9: 56–64
124. Li S, Ni J, Liu X et al (2012) Surface characteristics and biocompatibility of sandblasted and acid-etched titanium surface modified by ultraviolet irradiation. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater* 100(6): 1587–1598
125. Liu Y, Enggist L, Kuffer A F et al (2007) The influence of BMP-2 and its mode of delivery on the osteoconductivity of implant surfaces during the early phase of osseointegration. *Biomaterials* 28(16): 2677–2686
126. Long M, Rack H J (1998) Titanium alloys in total joint replacement--a materials science perspective. *Biomaterials* 19(18): 1621–1639
127. Mall N, Dhanasekar B, Aparna I N (2011) Validation of implant stability. *Indian J Dent Res* 22(3): 462–467
128. Manresa C, Bosch M, Echeverría J J (2014) The comparison between implant stability quotient and bone-implant contact revisited. *Clin Oral Implants Res* 25(11): 1213–1221
129. Marin C, Granato R, Suzuki M et al (2010) Histomorphologic and histomorphometric evaluation of various endosseous implant healing chamber configurations at early implantation times. *Clin Oral Implants Res* 21(6): 577–583
130. Martini L, Fini M, Giavaresi G et al (2001) Sheep model in orthopedic research. *Comp Med* 51(4): 292–299

131. Martin J Y, Schwartz Z, Hummert T W et al (1995) Effect of titanium surface roughness on proliferation, differentiation, and protein synthesis of human osteoblast-like cells (MG63). *J Biomed Mater Res* 29(3): 389–401
132. Marx R E, Garg A K (1998) Bone structure, metabolism, and physiology: its impact on dental implantology. *Implant Dent* 7(4): 267–276
133. Matsuo M, Nakamura T, Kishi Y et al (1999) Microvascular changes after placement of titanium implants: scanning electron microscopy observations of machined and titanium plasma-sprayed implants in dogs. *J Periodontol* 70(11): 1330–1338
134. McKee M D, Nanci A (1996) Osteopontin at mineralized tissue interfaces in bone, teeth, and osseointegrated implants: ultrastructural distribution and implications for mineralized tissue formation, turnover, and repair. *Microsc Res Tech* 33(2): 141–164
135. Mehl C, Kern M, Neumann F et al (2018) Effect of ultraviolet photofunctionalization of dental titanium implants on osseointegration. *J Zhejiang Univ Sci B* 19(7): 525–534
136. Meredith N, Alleyne D, Cawley P (1996) Quantitative determination of the stability of the implant-tissue interface using resonance frequency analysis. *Clin Oral Implants Res* 7(3): 261–267
137. Meredith N (1998) Assessment of implant stability as a prognostic determinant. *Int J Prosthodont* 11(5): 491–501
138. Metelmann H-R, Woedtke T v, Weltmann K-D, Hrsg. *Plasmamedizin*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, s.l. 99-107
139. Meyers S R, Khoo X, Huang X et al (2009) The development of peptide-based interfacial biomaterials for generating biological functionality on the surface of bioinert materials. *Biomaterials* 30(3): 277–286
140. Minamikawa H, Ikeda T, Att W et al (2014) Photofunctionalization increases the bioactivity and osteoconductivity of the titanium alloy Ti6Al4V. *J Biomed Mater Res A* 102(10): 3618–3630
141. Mittelmeier W, Grunwald I, Schäfer R et al (1997) Zementlose Endoprothesenverankerung mittels trabekulären, dreidimensional interkonnektierenden Oberflächenstrukturen. *Orthopade* 26(2): 117–124
142. Morikawa S, Sato A, Ezaki T (2018) A simple, one-step polychromatic staining method for epoxy-embedded semithin tissue sections. *Microscopy (Oxf)* 67(6): 331–344
143. Mosekilde L (2000) Age-related changes in bone mass, structure, and strength--effects of loading. *Z Rheumatol* 59 Suppl 1: 1–9
144. Mustafa K, Wennerberg A, Wroblewski J et al (2001) Determining optimal surface roughness of TiO(2) blasted titanium implant material for attachment, proliferation and differentiation of cells derived from human mandibular alveolar bone. *Clin Oral Implants Res* 12(5): 515–525
145. Naujokat H, Harder S, Schulz L Y et al (2019) Surface conditioning with cold argon plasma and its effect on the osseointegration of dental implants in miniature pigs. *J Craniomaxillofac Surg* 47(3): 484–490
146. Nguyen H Q, Deporter D A, Pilliar R M et al (2004) The effect of sol-gel-formed calcium phosphate coatings on bone ingrowth and osteoconductivity of porous-surfaced Ti alloy implants. *Biomaterials* 25(5): 865–876

147. Niinomi M, Liu Y, Nakai M et al (2016) Biomedical titanium alloys with Young's moduli close to that of cortical bone. *Regen Biomater* 3(3): 173–185
148. Nkenke E, Hahn M, Weinzierl K et al (2003) Implant stability and histomorphometry. *Clin Oral Implants Res* 14(5): 601–609
149. Novaes A B, Souza S L S, Oliveira P T de et al (2002) Histomorphometric analysis of the bone-implant contact obtained with 4 different implant surface treatments placed side by side in the dog mandible. *Int J Oral Maxillofac Implants* 17(3): 377–383
150. Ogawa T (2014) Ultraviolet photofunctionalization of titanium implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 29(1): e95-102
151. Oh J-S, Kim S-G, Lim S-C et al (2009) A comparative study of two noninvasive techniques to evaluate implant stability. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 107(4): 513–518
152. Ohyama T, Yasuda H, Shibuya N et al (2017) Three-dimensional finite element analysis of the effects of implant diameter and photofunctionalization on peri-implant stress. *J Oral Sci* 59(2): 273–278
153. Okamatsu K, Kido H, Sato A et al (2007) Ultrastructure of the interface between titanium and surrounding tissue in rat tibiae--a comparison study on titanium-coated and -uncoated plastic implants. *Clin Implant Dent Relat Res* 9(2): 100–111
154. Osborn J F, Newesley H (1980) Dynamic aspects of the implant-bone interface.”, Heimke G, ed *Dental Implants: materials and systems*. Carl Hanser Verlag, München. 111-123
155. Osborn J F (1979) Biowerkstoffe und ihre Anwendung bei Implantaten. *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 89(11): 1138–1139
156. Osman R B, Swain M V (2015) A Critical Review of Dental Implant Materials with an Emphasis on Titanium versus Zirconia. *Materials (Basel)* 8(3): 932–958
157. Ostman P-O, Hellman M, Wendelhag I et al (2006) Resonance frequency analysis measurements of implants at placement surgery. *Int J Prosthodont* 19(1): 77-83; discussion 84
158. Papaspyridakos P, Chen C-J, Singh M et al (2012) Success criteria in implant dentistry. *J Dent Res* 91(3): 242–248
159. Parithimarkalaignan S, Padmanabhan T V (2013) Osseointegration. *J Indian Prosthodont Soc* 13(1): 2–6
160. Pearce A I, Richards R G, Milz S et al (2007) Animal models for implant biomaterial research in bone. *Eur Cell Mater* 13: 1–10
161. Pilliar R M, Lee J M, Maniopoulos C (1986) Observations on the effect of movement on bone ingrowth into porous-surfaced implants. *Clin Orthop Relat Res* (208): 108–113
162. Pilliar R M (1991) Quantitative evaluation of the effect of movement at a porous coated implant-bone interface *The bone-biomaterial interface*. Toronto: University of Toronto Press 1991;380-7. *The bone-biomaterial interface*: 380–387
163. Pizzoferrato A, Ciapetti G, Stea S et al (1994) Cell culture methods for testing biocompatibility. *Clin Mater* 15(3): 173–190
164. Pontes A E F, Ribeiro F S, Iezzi G et al (2014) Bone-implant contact around crestal and subcrestal dental implants submitted to immediate and conventional loading. *ScientificWorldJournal* 2014: 606947

165. Prakasam M, Locs J, Salma-Ancane K et al (2017) Biodegradable Materials and Metallic Implants-A Review. *J Funct Biomater* 8(4)
166. Prideaux M, Findlay D M, Atkins G J (2016) Osteocytes: The master cells in bone remodelling. *Curr Opin Pharmacol* 28: 24–30
167. Pyo S-W, Park Y B, Moon H S et al (2013) Photofunctionalization enhances bone-implant contact, dynamics of interfacial osteogenesis, marginal bone seal, and removal torque value of implants. *Implant Dent* 22(6): 666–675
168. Raghavendra S, Wood M C, Taylor T D (2005) Early wound healing around endosseous implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20(3): 425–431
169. Raisz L G (2005) Pathogenesis of osteoporosis: concepts, conflicts, and prospects. *J Clin Invest* 115(12): 3318–3325
170. Ramires P A, Wennerberg A, Johansson C B et al (2003) Biological behavior of sol-gel coated dental implants. *J Mater Sci Mater Med* 14(6): 539–545
171. Ruger M, Gensior T J, Herren C et al (2010) The removal of Al₂O₃ particles from grit-blasted titanium implant surfaces: effects on biocompatibility, osseointegration and interface strength in vivo. *Acta Biomater* 6(7): 2852–2861
172. Rupp F, Gittens R A, Scheideler L et al (2014) A review on the wettability of dental implant surfaces I: theoretical and experimental aspects. *Acta Biomater* 10(7): 2894–2906
173. Saadoun A P, Le Gall M (1994) Les cles de la russite en implantologie osteointegree. *Int J Dent Symp* 2(1): 6–11
174. Sakka S, Coulthard P (2009) Bone quality: a reality for the process of osseointegration. *Implant Dent* 18(6): 480–485
175. Sanchez-Garcas M A, Gay-Escoda C (2004) Periimplantitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 9 Suppl: 69-74; 63-9
176. Sander F M, Schwenzer N, Ehrenfeld M (2011) *Kieferorthopadie*, 2. Aufl. Georg Thieme Verlag KG, s.l. 355
177. Sartoretto S C, Alves A T N N, Resende R F B et al (2015) Early osseointegration driven by the surface chemistry and wettability of dental implants. *J Appl Oral Sci* 23(3): 279–287
178. Saruwatari L, Aita H, Butz F et al (2005) Osteoblasts generate harder, stiffer, and more delamination-resistant mineralized tissue on titanium than on polystyrene, associated with distinct tissue micro- and ultrastructure. *J Bone Miner Res* 20(11): 2002–2016
179. Satwalekar P, Nalla S, Reddy R et al (2015) Clinical evaluation of osseointegration using resonance frequency analysis. *J Indian Prosthodont Soc* 15(3): 192–199
180. Sawase T, Jimbo R, Baba K et al (2008) Photo-induced hydrophilicity enhances initial cell behavior and early bone apposition. *Clin Oral Implants Res* 19(5): 491–496
181. Scarano A, Degidi M, Iezzi G et al (2006) Correlation between implant stability quotient and bone-implant contact. *Clin Implant Dent Relat Res* 8(4): 218–222
182. Scarano A, Degidi M, Iezzi G et al (2006) Correlation between implant stability quotient and bone-implant contact: a retrospective histological and histomorphometrical study of seven titanium implants retrieved from humans. *Clin Implant Dent Relat Res* 8(4): 218–222
183. Schenk R K, Buser D (1998) Osseointegration: a reality. *Periodontol* 2000 17: 22–35

184. Schmidlin P R, Jung R E, Schug J (2004) Alveolarkammprävention nach Zahnextraktion--eine Literaturübersicht. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 114(4): 328–336
185. Schneider G B, Perinpanayagam H, Clegg M et al (2003) Implant surface roughness affects osteoblast gene expression. *J Dent Res* 82(5): 372–376
186. Schroeder A, van der Zypen E, Stich H et al (1981) The reactions of bone, connective tissue, and epithelium to endosteal implants with titanium-sprayed surfaces. *J Maxillofac Surg* 9(1): 15–25
187. Schuh A, Holzwarth U, Kachler W et al (2004) Oberflächenuntersuchungen an Al₂O₃-raugestrahlten Titanimplantaten in der Hüftendoprothetik. *Orthopade* 33(8): 905–910
188. Schwartz Z, Nasazky E, Boyan B D (2005) Surface microtopography regulates osteointegration: the role of implant surface microtopography in osteointegration. *Alpha Omegan* 98(2): 9–19
189. Shokri M, Daraeighadikolaei A (2013) Measurement of primary and secondary stability of dental implants by resonance frequency analysis method in mandible. *Int J Dent* 2013: 506968
190. Shon W-J, Chung S H, Kim H-K et al (2014) Peri-implant bone formation of non-thermal atmospheric pressure plasma-treated zirconia implants with different surface roughness in rabbit tibiae. *Clin Oral Implants Res* 25(5): 573–579
191. Sims N A, Walsh N C (2012) Intercellular cross-talk among bone cells: new factors and pathways. *Curr Osteoporos Rep* 10(2): 109–117
192. Smeets R, Henningsen A, Heuberger R et al (2018) Influence of UV irradiation and cold atmospheric pressure plasma on zirconia surfaces. *Int J Oral Maxillofac Implants*
193. Soares P B F, Moura C C G, Claudino M et al (2015) Influence of Implant Surfaces on Osseointegration. *Braz Dent J* 26(5): 451–457
194. Stefflik D E, McKinney R V, Sisk A L et al (1990) Ultrastructural investigations of the bone and fibrous connective tissue interface with endosteal dental implants. *Scanning Microsc* 4(4): 1039-47; discussion on 1047-8
195. Stefflik D E, Corpe R S, Lake F T et al (1998) Ultrastructural analyses of the attachment (bonding) zone between bone and implanted biomaterials. *J Biomed Mater Res* 39(4): 611–620
196. Štembírek J, Kyllar M, Putnová I et al (2012) The pig as an experimental model for clinical craniofacial research. *Lab Anim* 46(4): 269–279
197. Subramani K, Jung R E, Molenberg A et al (2009) Biofilm on dental implants: a review of the literature. *Int J Oral Maxillofac Implants* 24(4): 616–626
198. Suzuki S, Kobayashi H, Ogawa T (2013) Implant stability change and osseointegration speed of immediately loaded photofunctionalized implants. *Implant Dent* 22(5): 481–490
199. Suzuki T, Hori N, Att W et al (2009) Ultraviolet treatment overcomes time-related degrading bioactivity of titanium. *Tissue Eng Part A* 15(12): 3679–3688
200. Swami V, Vijayaraghavan V, Swami V (2016) Current trends to measure implant stability. *J Indian Prosthodont Soc* 16(2): 124–130
201. Takeuchi K, Saruwatari L, Nakamura H K et al (2005) Enhanced intrinsic biomechanical properties of osteoblastic mineralized tissue on roughened titanium surface. *J Biomed Mater Res A* 72(3): 296–305

202. Teixeira H S, Marin C, Witek L et al (2012) Assessment of a chair-side argon-based non-thermal plasma treatment on the surface characteristics and integration of dental implants with textured surfaces. *J Mech Behav Biomed Mater* 9: 45–49
203. Trisi P, Lazzara R, Rao W et al (2002) Bone-implant contact and bone quality. *Int J Periodontics Restorative Dent* 22(6): 535–545
204. Turkyilmaz I, Sennerby L, Yilmaz B et al (2009) Influence of defect depth on resonance frequency analysis and insertion torque values for implants placed in fresh extraction sockets. *Clin Implant Dent Relat Res* 11(1): 52–58
205. Ueno T, Yamada M, Suzuki T et al (2010) Enhancement of bone-titanium integration profile with UV-photofunctionalized titanium in a gap healing model. *Biomaterials* 31(7): 1546–1557
206. Urban R M, Jacobs J J, Tomlinson M J et al (2000) Dissemination of wear particles to the liver, spleen, and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement. *J Bone Joint Surg Am* 82(4): 457–476
207. van der Weijden F, Dell'Acqua F, Slot D E (2009) Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans. *J Clin Periodontol* 36(12): 1048–1058
208. Vasconcellos L M R d, Leite D O, Oliveira F N d et al (2010) Evaluation of bone ingrowth into porous titanium implant: histomorphometric analysis in rabbits. *Braz Oral Res* 24(4): 399–405
209. Vico L, Chappard D, Alexandre C et al (1987) Etude histologique quantitative de la masse et des activités cellulaires osseuses après un décubitus de 120 jours. Essai de protocoles préventifs. *Ann Biol Clin (Paris)* 45(2): 145–151
210. Vidor M M, Liedke G S, Vizzotto M B et al (2017) Imaging evaluating of the implant/bone interface-an in vitro radiographic study. *Dentomaxillofac Radiol* 46(5): 20160296
211. Vlacic-Zischke J, Hamlet S M, Friis T et al (2011) The influence of surface microroughness and hydrophilicity of titanium on the up-regulation of TGF β /BMP signalling in osteoblasts. *Biomaterials* 32(3): 665–671
212. Voggenreiter G, Hartl K, Assenmacher S, Chatzinikolaidou M, Rumpf HM, Jennissen HP Assesment of the Biological Activity of Chemically Immobilized rhBMP-2 on Titanium surfaces in vivo. *Materialwiss. Werkstofftech.* 2001(32): 942–948
213. Vogler E A (1998) Structure and reactivity of water at biomaterial surfaces. *Adv Colloid Interface Sci* 74: 69–117
214. Vogler E A (1999) Water and the acute biological response to surfaces. *J Biomater Sci Polym Ed* 10(10): 1015–1045
215. Wancket L M (2015) Animal Models for Evaluation of Bone Implants and Devices. *Vet Pathol* 52(5): 842–850
216. Wang C, Meng H, Wang X et al (2016) Differentiation of Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells in Osteoblasts and Adipocytes and its Role in Treatment of Osteoporosis. *Med Sci Monit* 22: 226–233
217. Wang G, Liu X, Zreiqat H et al (2011) Enhanced effects of nano-scale topography on the bioactivity and osteoblast behaviors of micron rough ZrO₂ coatings. *Colloids Surf B Biointerfaces* 86(2): 267–274

218. Watanabe F, Tawada Y, Komatsu S et al (1992) Heat distribution in bone during preparation of implant sites. *Int J Oral Maxillofac Implants* 7(2): 212–219
219. Weiner S W H D (1998) The material bone: Structure mechanical function relations. *Ann Rev Mat Sci* (28): 271–298
220. Welsch U, Deller U, Kummer W (2014) *Lehrbuch Histologie*, 4. Aufl. Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH, München. 122-135
221. Wennerberg A, Albrektsson T, Andersson B et al (1995) A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies. *Clin Oral Implants Res* 6(1): 24–30
222. Wise D L (2000) *Orthopedic, dental, and bone graft applications*. Humana Press, Totowa, NJ. S. 70
223. Wozney J M, Rosen V, Celeste A J et al (1988) Novel regulators of bone formation. *Science* 242(4885): 1528–1534
224. Xiang Y, Yingling V R, Malique R et al (2007) Comparative assessment of bone mass and structure using texture-based and histomorphometric analyses. *Bone* 40(2): 544–552
225. Yamagiwa H, Endo N (2009) Bone fracture and the healing mechanisms. Histological aspect of fracture healing. Primary and secondary healing. *Clin Calcium* 19(5): 627–633
226. Yamauchi R, Itabashi T, Wada K et al (2017) Photofunctionalised Ti6Al4V implants enhance early phase osseointegration. *Bone Joint Res* 6(5): 331–336
227. Yang Y, Kim K-H, Ong J L (2005) A review on calcium phosphate coatings produced using a sputtering process--an alternative to plasma spraying. *Biomaterials* 26(3): 327–337
228. Yeo I-S, Kim H-Y, Lim K S et al (2012) Implant surface factors and bacterial adhesion: a review of the literature. *Int J Artif Organs* 35(10): 762–772
229. Yeo I-S (2014) Reality of dental implant surface modification. *Open Biomed Eng J* 8: 114–119
230. Zanetti E M, Pascoletti G, Cali M et al (2018) Clinical Assessment of Dental Implant Stability During Follow-Up. *Biosensors (Basel)* 8(3)
231. Zhong W, Chen B, Liang X et al (2013) Experimental study on penetration of dental implants into the maxillary sinus in different depths. *J Appl Oral Sci* 21(6): 560–566
232. Zinger O, Anselme K, Denzer A et al (2004) Time-dependent morphology and adhesion of osteoblastic cells on titanium model surfaces featuring scale-resolved topography. *Biomaterials* 25(14): 2695–2711

9. Anhang

9.1 **Abbildungsverzeichnis**

- Abb. 1: Schematischer Verlauf der Primär- und Sekundärstabilität in Abhängigkeit von der Zeit [113]
- Abb. 2: Oberflächenbenetzbarkeit von Titanoberflächen (a) unbehandelt (b) nach 12 Minuten UV-Oberflächenaktivierung, (c) nach 12 Minuten O₂-Plasmaoberflächenaktivierung bzw. (d) nach Ar-Kaltplasmaoberflächenaktivierung [86]
- Abb. 3: entnommene Schädelkalotte nach 4 Wochen Implantatstandzeit
- Abb. 4: (a) Camlog® SCREW-LINE Implantat Promote® plus
(b) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Promote®-Oberfläche (5000-fache Vergrößerung) [39, 40]
- Abb. 5: (a) CT-Darstellung des Osis calvariae [200] (b) Operationssitus nach Insertion der 9 Implantate
- Abb. 6: (a) Implantate mit anliegendem Knochengewebe aus der Kalotte im Einbettenschälchen (b) ausgebetteter Methacrylatblock (c) zwischen zwei Objektträgern fixierter Methacrylatblock (d) 300 µm dickes, planparalleles Präparat
- Abb. 7: Osteomeasuresoftware zur histomorphometrischen Auswertung des Knochen-Implantat-Kontakts (BIC)
- Abb. 8: (a) BAFO: prozentualer Anteil des Knochens [Fläche innerhalb der blauen/gestrichelten Markierung] in der Einheilkammer [Fläche innerhalb der roten/gestrichelten Markierung] (5-fache Vergrößerung) (b) schematische Darstellung einer Einheilkammer/ retentiver Bereich [121]
- Abb. 9: Detailaufnahme der Kalotte eines Versuchstieres nach Entnahme, Blick auf die äußere Kortikalis; die Distanzhülsen der Implantate sind teilweise bzw. vollständig mit Knochen überwachsen (mit Pfeilen markiert)
- Abb. 10: 3D-Darstellung von Mikro-Computertomografieaufnahmen entnommener Präparate 8 Wochen nach Implantation
- Abb. 11: Beispiele der konventionellen röntgenologischen Kontrolle von Sägezuschnitten jeweils 2, 4 und 8 Wochen nach der Implantatinsertion: (a) nativ (b) Kaltplasmaaktivierung (c) UV-Photofunktionalisation
- Abb. 12: Darstellung der ISQ-Werte der Implantate zum Zeitpunkt der Insertion (n=54) sowie zum Zeitpunkt der Untersuchung *ex vivo* 2, 4 und 8 Wochen nach

Implantation (jeweils n=18) ; Box: Interquartilbereich; obere und untere Grenze der Box: 75 % und 25 % Quartil (p< 0,05 vs. Kontrolle; ANOVA-Test)

Abb. 13: Darstellung zweier mikroskopischer Bildausschnitte im Längsanschliff im (a) Gewindebereich des Implantats und (b) in der Gewindeaussparung (5-fache Vergrößerung)

Abb. 14: Ablösung des Implantats von in Kunststoff eingebetteten Knochengewebe während der Herstellung des Schliffpräparates (5-fache Vergrößerung)

Abb. 15: mikroskopische Darstellung eines teilweise im Sinus frontalis inserierten Implantats (1,25-fache Vergrößerung)

Abb. 16: Mittelwerte (mit SD) des Knochen-Implantat-Kontakts der nativen und der mit UV- bzw. Argonkaltplasma oberflächenaktivierten Implantate nach 2, 4 und 8 Wochen (* p< 0,05 vs. Kontrolle; t-Test)

Abb. 17: Anteil der Knochenfläche innerhalb der retentiven Anteile (BAFO) zum Zeitpunkt der Euthanasie nach 2, 4 und 8 Wochen Einheilung; Mittelwerte (mit SD) nativen vs. UV- bzw. Argonkaltplasmaoberflächenaktiviert (* p< 0,05 vs. Kontrolle; t-Test)

Abb. 18: Darstellung der Korrelation zwischen (a) BIC und ISQ (b) BAFO und ISQ

9.2 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Einteilung der Schweine sowie die jeweiligen Implantatpositionen: K - Kontrolle/ P - Plasmaoberflächenaktivierung/ UV – Ultraviolettoberflächenaktivierung

Tab. 2: Gewichtstabelle der Versuchstiere

Tab. 3: Zusammenfassung aller ISQ-Werte nach Implantatgruppierung. max.: maximaler Wert; min.: minimaler Wert; MW: Mittelwert; SD: Standardabweichung

Tab. 4: BIC Signifikanztabelle t-Test; p<0,05 gilt als signifikant

9.3 Abkürzungsverzeichnis

Al	Aluminium
BAFO	Bone Area Fraction Occupancy
BIC	Bone Implant Contact
BMP	Bone Morphogenetic Protein
FGF	Fibroblasten-Wachstumsfaktoren
HA	Hydroxylapatit

IGF	Insulin like Growth Factor
ISQ	Implantatstabilitätsquotienten
ITI	International Team of Implantology
max.	Maximum
min.	Minimum
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
n	Anzahl
NTP	Non-thermal-plasma/ Kaltplasma
PGE	Prostaglandin E2
PMMA	Polymethylmethacrylat
RFA	Resonanzfrequenzanalyse
SD	standard deviation/ Standardabweichung
SLA	Sandblasting with Large grit followed by Acid etching
TGF- β	Transforming Growth Factor β
Ti	Titan
TPS	Titan-Plasma-Spray
UV	ultraviolett
V	Vanadium
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
μ -CT	Mikro-Computertomografie
μ m	Mikrometer

9.4 Bezugsquellenverzeichnis

Geräte:

Basismonitoring: Infinity Delta, Draeger Medical Systems, Inc., Telford, USA

Diamantbandsäge: EXAKT 310 CP mit EXAKT Diamanttrennband 0,1/0,3mm D64,
EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland

Gewebeeinbettautomat: Autotechnicon, Bavimed GmbH, Birkenau, Deutschland

Lichtmikroskop: Axio Scope.A1, Carl Zeiss AG Oberkochen, Deutschland

Mikro-Computertomograf: μ -CT 40, Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz

Mikroschleifsystem: EXAKT 400 CS Tellerschleifgerät, EXAKT Apparatebau, Norderstedt,
Deutschland

Mikroskopkamera: Olympus DP 72, Tokio, Japan

Narkosegerät: Zeus Dräger, Draeger Medical Systems Inc., Telford, USA

Plasmaofen: Yocto III, Diener Electronic GmbH, Jettingen, Deutschland

Polymerisationsgerät: EXAKT 520, EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland

Präzisionsklebepresse: EXAKT Vakuumklebepresse 401 EXAKT Apparatebau, Norderstedt,
Deutschland

RFA-Messgerät: OSTELL® ISQ, Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden

Röntengerät: Faxitron x-ray, Faxitron Xray Corp., Wheeling Illinois, USA

Sicherheitswerkbank: WALDNER Holding GmbH & Co. KG, Wangen, Deutschland

Trennschleifsystem: EXAKT 310 CP mit EXAKT Diamanttrennband 0,1mm D64,
EXAKT Apparatebau, Norderstedt, Deutschland

UV-Lichtofen: TheraBeam® Super Osseo, Ushio Inc., Tokio, Japan

Wiegeschüttler: Duomax 1030, Heidolph Instruments GmbH & Co.KG, Schwabach,
Deutschland

Software:

OsteoMeasure XP 3.2.1.1 Software, Osteometrics, Atlanta, USA

Statistikprogramm SPSS, Version 24 IBM, Armonk, USA

Tabellenkalkulationsprogramm Excel, Microsoft, Redmond, USA

Materialien:

Aluminiumsprühverband, Dechra Veterinary Products, Aulendorf, Deutschland

Camlog Chirurgie-Set, Altatec GmbH, Wimsheim, Deutschland

Camlog SCREW-LINE Implantat Promote® plus, Altatec GmbH, Wimsheim, Deutschland

CutaseptF, Bode Chemie, Hamburg, Deutschland

Nassschleifpapier der Körnung P500, Hermes Abrasives Ltd., Virginia Beach, USA

Objektträger, Diaplus, Norderstedt, Deutschland

Schleifpapier (Körnung 1200/2500/4000) Silicon-Carbide Papier, Allied High Tech Products
Inc., Rancho Dominguez, USA

Seralene® 2.0, Serag-Wiessner GmbH, Naila, Deutschland

SmartPeg, OSTELL Integration Diagnostics, Göteborg, Schweden

Standardtubus, 6-7mm Durchmesser, Portex, Kent, England

Technovit® 7200 VLC, Kulzer, Wehrheim, Deutschland

Technovit® 7210 VLC, Kulzer, Wehrheim, Deutschland

Vicryl® 2.0, Ethicon Co., Norderstedt, Deutschland

Medikamente:

Azaperon: Stresnil[®], Jansen, Bad Homburg, Deutschland
Bepanthen[®]-Augensalbe: Roche Pharma AG, Grenzach, Deutschland
Enrofloxacin: Baytril 10%, Bayer, Leverkusen, Deutschland
Isofluran: Forene[®], Abott GmbH, Wiesbaden, Deutschland
Ketamin: HVW Bremer Pharma, Warburg, Deutschland
Midazolam: Hameln-Pharma Plus, Hameln, Deutschland
Rimadyl Carprofen: Pfizer, Berlin, Deutschland
Ringer-Lactat-Lösung: BRAUN, Melsungen, Deutschland
T-61 (Embutramid/ Mebezonium/ Tetracain): MSD, Kenilworth, USA
Ultracain D-S forte: Hoechst GmbH, Frankfurt, Deutschland

Chemikalien/Lösungen:

Benzoylperoxid: Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland
Betaisodona-Lösung: BRAUN, Melsungen, Deutschland
Ethanol: Geyer GmbH, Hamburg, Deutschland
3,5%ige/ 4%ige Formaldehydlösung: Grimm GmbH, Torgelow, Deutschland
4 %ige Formaldehydlösung: Otto Fischar GmbH, Saarbrücken, Deutschland
Kochsalzlösung, BRAUN, Melsungen, Deutschland
Toluidinblau O: Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, USA
Toluidinblaufärbelösung: 32,7 mM Toluidinblau O ad H₂O pH 4,5
Wasserstoffperoxid (30% Lösung): Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

10. Danksagung

Ich möchte mich herzlich bei all denen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben. Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. Dr. Smeets für die Bereitstellung des Themas und die Möglichkeit, an seinem Institut diese interessante Arbeit durchzuführen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Dr. Anders Henningsen für seine ausgezeichnete wissenschaftliche Betreuung und die Zeit, die er sich genommen hat, um viele konstruktive Anregungen zu geben und die Arbeit durchzusehen. Er war stets verfügbar und trug wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Weiterer Dank gilt Frau Dr. Dr. Clarissa Precht für ihre tatkräftige Unterstützung während der praktischen Durchführung und hilfreichen fachlichen Beratung bei der Anfertigung der Arbeit.

Besonders erwähnenswert ist die hervorragende Hilfeleistung, die ich durch die Mitarbeiter des Instituts für Osteologie und Biomechanik erfahren durfte und die mir tatkräftig geholfen haben. Ein persönlicher Dank gilt Herrn Dr. Hahn und Frau Elke Leicht für ihr Engagement.

Ich möchte den Mitarbeitern der Forschungstierhaltung für die stete Hilfsbereitschaft und nette Atmosphäre danken.

Meinen Freunden danke ich für ihre Unterstützung und ihr Interesse an meiner Arbeit. Zum Schluss möchte ich mich bei meiner Mutter für die vielfältige Hilfe beim Erstellen dieser Arbeit sowie beim Korrekturlesen herzlich bedanken.

Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

12. Eidesstattliche Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: