

Aus der Poliklinik für Zahnärztliche Chirurgie und Aufnahme

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Jürgen Becker

Dreidimensionale Bewertung des krestalen Knochenlevels an
Titanimplantaten mit unterschiedlichen Insertionstiefen
und Abutment-Mikrostrukturen

- 3D-Analyse mittels Mikro-Computertomographie und Matlab –

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Inka Klitzsch
2019

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan/Dekanin: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter/in: Prof. Dr. med. dent. Frank Schwarz

Zweitgutachter/in: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Majeed Rana

Für Jan Philipp, meine Eltern und meinen Bruder, Lars.

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Becker, K., Klitzsch, I., Stauber, M., Schwarz, F., (2017),
Three-dimensional assessment of crestal bone levels at titanium implants with
different abutment microstructures and insertion depths using micro-computed
tomography. *Clinical Oral Implants Research*, 28(6), S.671–676. doi:
10.1111/clr.12860.

Zusammenfassung

Die Einheilung von Implantaten ist ein dreidimensionales Phänomen. Zweidimensionale histologische Analysemethoden können nur Teile dieses Integrationsprozesses widerspiegeln. Ziel dieser Arbeit war daher die Entwicklung einer neuen dreidimensionalen Mikro-Computertomographie (μ CT)-basierten Untersuchungsmethode mit einem standardisierten, computergestützten Analyseverfahren, das das periimplantäre Dehiszenzprofil vollständig quantifizieren kann. Mit der neuen Methode sollte der Einfluss der Abutment-Mikrostruktur und Insertionstiefe auf das krestale Knochenlevel (CBL) untersucht und mit einer vorherigen histologischen Arbeit, die an den gleichen Proben durchgeführt wurde, verglichen werden.

Jeweils $n=3$ Titan-Implantate mit *Platform-Switching* wurden in den dritten und vierten Quadranten von $n=6$ *Foxhound*-Hunden mit der Implantatschulter (IS) entweder epikrestal (0 mm), subkrestal (-) 1 mm) oder suprakrestal ((+) 1 mm) inseriert. Im *Split-Mouth-Design* wurden sie mit *machined* oder *micro-grooved Healing Abutments* verbunden. Nach 20 Wochen transgingivaler Einheilungszeit wurden 31 Proben zunächst mittels μ CT gescannt und im Anschluss histologisch aufbereitet. Die histologische Auswertung war Teil einer bereits zuvor veröffentlichten Studie. Gegenstand dieser Arbeit war es, das CBL als Distanz zwischen der Implantatschulter (IS) und dem koronalsten Knochen-Implantat-Kontakt (CBI) mittels μ CT und neu entwickelter Matlab-Skripte in der gesamten periimplantären Region zu ermitteln. Die hierüber erhaltenen Werte der bukkalen und oralen Region wurden schließlich gemittelt und ein Vergleich mit den IS-CBI-Werten der Histologie über Bland-Altman-Analysen vollzogen.

Die höchsten IS-CBI-Werte traten bukkal und oral auf. Es war eine deutliche Varianz und asymmetrische Verteilung der IS-CBI-Werte in der periimplantären Region erkennbar. Unter Berücksichtigung der ursprünglichen Insertionstiefe zeigten suprakrestal gesetzte Implantate beider Abumentypen überwiegend einen medianen Netto-Knochengewinn (*machined* Abutments bukkal 0,24 mm, oral 0,38 mm; *micro-grooved* Abutments bukkal 0,52 mm, oral 0,70 mm). Nur im unteren Bereich des 75 %-Quartils war ein medianer Netto-Knochenverlust erkennbar. Dieser war generell bei epikrestaler und subkrestaler Insertion erkennbar (epikrestal: *machined* Abutments bukkal (-)0,41 mm, oral (-)0,16 mm; *micro-grooved* Abutments bukkal (-)0,28 mm, oral (-)0,04 mm; subkrestal: *machined* Abutments bukkal (-)1,05 mm, oral (-)1,04 mm; *micro-grooved* Abutments bukkal (-)1,10 mm, oral (-)1,02 mm). Trotzdem war die bukkale und orale Dehiszenz bei epi- und subkrestaler Insertion geringer als die suprakrestaler Implantate. So war bei subkrestaler Insertion sogar eine knöcherne Bedeckung der Implantatschulter gegeben. Bland-Altman-Diagramme zeigten schließlich eine moderate Übereinstimmung der dreidimensionalen IS-CBI-Werte mit denen der Histologie. Die mittlere orale und bukkale Differenz betrug 0,80 mm und 0,15 mm, die kritische orale und bukkale Differenz 0,57 mm und 0,30 mm.

Die IS-CBI-Werte variierten je nach Schnittposition erheblich, sodass große Varianzen auch innerhalb der übergeordneten bukkalen und oralen Region identifiziert wurden. Da histologische Schnitte jeweils nur einen Wert wiedergeben, sollte diese Limitation zukünftig bei ihrer Interpretation berücksichtigt und nach Möglichkeit dreidimensionale Analysemethoden, wie das in der Arbeit vorgestellte Verfahren, als komplementäre Methode Anwendung finden. Dennoch konnten die Ergebnisse zum Einfluss der Abutment-Mikrostruktur sowie der Insertionstiefe auf das CBL aus der vorherigen histomorphometrischen Analyse mit der neuen dreidimensionalen Analysemethode im Wesentlichen bestätigt werden. Zusätzlich zeigten die 3D-Analysen, dass nur eine subkrestale Insertion zu einer vollständigen knöchernen Bedeckung der gesamten Implantatschulter führte. Deshalb sollte zum Schutz vor periimplantären Infektionen zukünftig eine leicht subkrestale Implantatinsertion in Betracht gezogen werden, auch wenn hier der zu erwartende Netto-Knochenverlust insgesamt höher ist.

Summary

The healing of the implant is a three-dimensional phenomenon. Two-dimensional histological analyses only reflect parts of this integration process. Thus, the aim of this preclinical study was to develop a new three-dimensional, micro-computed tomography (μ CT)-based method with computerized analysis, which may quantify the whole periimplant dehiscence profile. Therefore, the influence of the insertion depth and abutment microstructure on the crestal bone level (CBL) was investigated by this new method and its findings were compared with a previous histomorphometric study on the same samples.

N=3 titanium implants with platform-switching were inserted in the hemimandible of n=6 foxhounds with the implant shoulder located either epicrestal (0 mm), subcrestal (-)1 mm or supracrestal (+)1 mm. In split-mouth-design they were connected with machined or micro-grooved healing abutments. After 20 weeks of transgingival healing, 31 specimens were scanned by μ CT. Afterwards they were prepared for histology. The histomorphometric analysis was part of a previously published study. Main part of this thesis was to evaluate the complete periimplant CBL as distance between the implant shoulder (IS) and the most coronal bone-to-implant contact (CBI) by μ CT and newly developed Matlab-scripts. Then respective buccal and oral IS-CBI-values were averaged and compared with the findings of the previous histology by Bland-Altman-Plots.

Buccal and oral periimplant regions showed the highest IS-CBI-values. IS-CBI-values varied widely depending on the chosen region and showed an asymmetric periimplant distribution. Supracrestal insertion yielded a median net bone gain for both abutment types (machined abutments buccal 0,24 mm, oral 0,38 mm; micro-grooved abutments buccal 0,52 mm, oral 0,70 mm), but lower bounds of the 75 %-quartile showed net bone losses. Epicrestal and subcrestal insertion depths also experienced net bone losses (epicrestal: machined abutments buccal (-)0,41 mm, oral (-)0,16 mm; micro-grooved abutments buccal (-)0,28 mm, oral (-)0,04 mm; subcrestal: machined abutments buccal (-)1,05 mm, oral (-)1,04 mm; micro-grooved abutments buccal (-)1,10 mm, oral (-)1,02 mm). Nevertheless, their buccal and oral dehiscence was smaller compared to supracrestal positioning. Subcrestal positioning was even linked to a bony coverage of the implant shoulder. Bland-Altman-Plots demonstrated a moderate agreement between three-dimensional and histomorphometric IS-CBI-values. The mean oral and buccal differences were 0,80 mm and 0,15 mm, the critical oral and buccal differences were 0,57 mm and 0,30 mm.

IS-CBI-values varied considerably depending on the chosen cutting positing. Thus, even in the parent buccal and oral region an enormous variability was identified. As histological sections represent only one value, prospective, this limitation should be considered in their interpretation and three-dimensional methods, such as the process of this study, should be used more often as complementary method. Nevertheless, in accordance with the previous histology, this new three-dimensional approach was able to confirm the influence of the insertion depth and abutment microstructure on the CBL in general. In addition, the 3D-analysis showed that only a subcrestal positioning experienced a bony coverage of the overall implant shoulder. Therefore, to avoid periimplant infections, only subcrestal positioning of the implant shoulder should be recommended in the future, even though the total bone loss was higher with a subcrestal positioning.

Abkürzungsverzeichnis

kVp	<i>Kilovoltage Peak/ Spitzenspannung</i>
mm	Millimeter
ms	Millisekunden
μA	Mikroampere
μm	Mikrometer
BIC	<i>bone-to-implant contact/ Knochen-Implantat-Kontakt</i>
CBI	<i>most coronal bone-to-implant contact/</i> koronalster Knochen-Implantat-Kontakt
CBL	<i>crestal bone level/ krestales Knochenlevel</i>
Ia	Implantatachse
IS	Implantatschulter
IS-CBI	Strecke von der Implantatschulter bis zum koronalsten Knochen-Implantat-Kontakt
μCT	Mikro-Computertomographie
PMMA	Polymethylmethacrylat
Ra	<i>arithmetic mean height of a line</i> (Parameter der Oberflächenrauheit)
SRa	<i>arithmetic mean height</i> (Parameter der Oberflächenrauheit)
SRμCT	<i>Synchrotron-Radiation-Microcomputertomography</i>

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Hinführung zum Thema	1
1.2	Krestales Knochenlevel.....	3
1.2.1	Klinische Bedeutung des krestalen Knochenlevels	3
1.2.2	Einflussfaktoren auf das krestale Knochenlevel.....	4
1.2.2.1	Abutment-Mikrostruktur.....	6
1.2.2.2	Insertionstiefe.....	7
1.3	Untersuchungsmethoden der perimplantären Region	9
1.3.1	Allgemein	9
1.3.2	Histologie	10
1.3.3	Mikro-Computertomographie.....	11
1.3.3.1	Allgemein.....	11
1.3.3.2	Funktionsprinzipien	14
1.4	Ziele der Arbeit	19
2	Material und Methoden.....	20
2.1	Material	20
2.1.1	Tiere.....	20
2.1.2	Titanimplantate und Abutments	20
2.2	Methode.....	21
2.2.1	Studiendesign und Operationsprotokoll	21
2.2.2	Mikro-Computertomographie-Scans	22
2.2.3	Histologie und histologische Analyse	23
2.2.4	3D-Analyse - <i>Image Processing/ Image Analysis</i>	24
2.2.5	Statistik	31

3	Ergebnisse.....	32
3.1	Histologische Analyse.....	32
3.2	Mikro-Computertomographie-Analyse.....	32
3.2.1	<i>Image Processing</i>	33
3.2.2	Krestaler Knochenverlauf anhand der IS-CBI-Distanzen	35
3.2.2.1	Allgemein.....	35
3.2.2.2	Suprakrestale Gruppe.....	40
3.2.2.3	Subkrestale Gruppe.....	41
3.2.2.4	Epikrestale Gruppe	42
3.3	Vergleich Histologie und Mikro-Computertomographie.....	43
4	Diskussion	46
4.1	Diskussion der Einflussfaktoren auf das krestale Knochenlevel	46
4.2	Diskussion des Vergleichs Histologie und Mikro-Computertomographie	52
4.3	Diskussion des methodischen Vorgehens	57
4.4	Limitationen	61
4.5	Zusammenfassung und Schlussfolgerungen	63
5	Literaturverzeichnis	66

Danksagung

1 Einleitung

1.1 Hinführung zum Thema

Die moderne Implantologie findet ihre Anfänge in den Arbeiten Brånemarks und Schröders im 20. Jahrhundert (Schroeder *et al.*, 1976; Brånemark *et al.*, 1977). 1982 wurde sie von der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (DGZMK) als Therapieform in Deutschland akzeptiert. Heute werden in Deutschland über 1 Millionen Implantate pro Jahr gesetzt (Ritzert, 2018).

Für ihren Langzeiterfolg ist neben der Osseointegration auch der langfristige Erhalt gesunder, periimplantärer Gewebe erforderlich. Die Entdeckung des knöchernen Verbundes geht auf Brånemark zurück, der erstmals eine direkte knöcherne Integration des alloplastischen Materials Titan beschrieb und damit die Anfänge der dentalen Implantologie schuf. Brånemark prägte den Begriff der Osseointegration als „direkten strukturellen und funktionellen Verbund zwischen lebendigem Knochen und der Oberfläche eines enossalen Implantats auf lichtmikroskopischem Level“ (Brånemark, 1959, 1983). Die grundlegenden Mechanismen der Osseointegration und Phasen der Implantateinheilung sowie deren Einflussfaktoren wurden vielfach untersucht und gelten als weitestgehend verstanden. So wird die Implantatintegration als Resultat eines Wundheilungsprozesses verstanden, bei dem das Implantat als osteokonduktives Element eine Kontaktosteogenese fördert (Schenk und Buser, 1998; Götz, 2010).

Noch heute gilt das Ausmaß der Osseointegration als Kriterium der Sekundärstabilität eines Implantats und damit als einer der wichtigsten Faktoren des Langzeiterfolgs in der Implantattherapie. Studien zeigten hohe Implantat-Überlebensraten mit über 90 % bei Patienten, deren Implantation bereits 8 bis 15 Jahre zurücklag (Lindquist *et al.*, 1996; Buser *et al.*, 1997; Lambrecht *et al.*, 2003; Daubert *et al.*, 2015). Die in diesen Studien genannte Überlebensrate berücksichtigte jedoch keine biologischen Probleme. So blieben insbesondere periimplantäre Erkrankungen unberücksichtigt. Die Prävalenz solcher periimplantären Entzündungen ist allerdings hoch. Sie schwankt bei periimplantärer Mukositis zwischen 19-65 % und bei Periimplantitis zwischen 1-47 % (Derks und Tomasi, 2015). Um diesen Erkrankungen entgegen zu wirken, fehlt jedoch bisweilen ein universell-gültiges Therapiekonzept.

Initial nach der Implantation kommt es zu physiologischen Knochenumbauprozessen, die innerhalb des ersten Jahres nach Implantatinsertion

besonders stark ausgeprägt sind (Albrektsson *et al.*, 1986; Lee *et al.*, 2016). Die Gefahr dieser Umbauprozesse liegt in einer potenziellen Freilegung rauer Implantatanteile, die die Ansammlung eines Biofilms und infolge dessen eine Entzündung im periimplantären Weich- und Hartgewebe begünstigen könnten. Unterschiedliche Studien verwiesen bereits auf eine generell schnellere Progredienz mukosaler Erkrankungen an Implantaten (Lindhe *et al.*, 1992). In einer histologischen Studie am Hund förderten zudem vor allem raue Implantatoberflächen die Progression der Periimplantitis (Berglundh *et al.*, 2007a). So wurden raue Oberflächen sogar als potenzieller Risikofaktor für Periimplantitis bezeichnet (Lindhe und Meyle, 2008). Während früher überwiegend glatte, maschinerte Implantatoberflächen verwendet wurden, werden heute jedoch vermehrt gerade raue Implantatoberflächen je nach Indikation in unterschiedlichen Herstellungsverfahren, Oberflächendesigns und Rauheitsgraden implantiert (Shalabi *et al.*, 2006; Schwarz *et al.*, 2008; Wennerberg und Albrektsson, 2010). In Studien zeigte dabei eine rauere Implantatoberfläche eine wesentlich bessere Hartgewebsintegration (Buser *et al.*, 1991; Cochran, 1999; Shalabi *et al.*, 2006) sowie bessere Ergebnisse in schwierigen Situationen wie bei Rauchern, kurzen Implantaten (Balshe *et al.*, 2009), Knochenaugmentationen (Pinholt, 2003) und bei Sofortbelastung (Rocci *et al.*, 2013), welche dem genannten Periimplantitisrisiko gegenüber stehen.

Eine erfolgreiche Osseointegration allein kann heute somit nicht mehr Ziel der Implantattherapie sein. Als Kerngröße zur Osseointegration wurde der Knochen-Implantat-Kontakt (engl. *bone-to-implant contact* (BIC)) bereits vielfach untersucht (Buser *et al.*, 1991; Cochran *et al.*, 2009; Thiem *et al.*, 2019). Die Forschung fokussiert sich daher zunehmend auf weitere Einflussgrößen des Implantaterfolgs. Dabei gewinnt insbesondere der marginale Knochen an Bedeutung, um eine Dehiszenzbildung und Freilegung von Implantatanteilen im Rahmen physiologischer Knochenumbauprozesse zukünftig zu vermeiden (Emmerich, 2002; Schwarz *et al.*, 2014a; Al Amri, 2016). Neben diesen ästhetischen und pathophysiologischen Gründen des Forschungswandels sind auch klinische Aspekte zu beachten. So ist der Therapieverlauf beispielsweise radiologisch über das krestale Knochenlevel (engl. *crestal bone level* (CBL)) zu bewerten, ohne dafür Proben oder destruktive Untersuchungsmethoden anzuwenden. Bei diesen radiologischen Aufnahmen stehen fehlende marginale Knochenverluste für eine bestehende Osseo- und Weichgewebsintegration.

1.2 Krestales Knochenlevel

1.2.1 Klinische Bedeutung des krestalen Knochenlevels

Gesunde periimplantäre Gewebe garantieren langfristigen ästhetischen und klinischen Erfolg. Dieser Erfolg ist abhängig von der Osseointegration, dem krestalen Knochenabbau und deren zeitlicher Veränderung.

Der krestale Knochen ist definiert als der anatomisch am weitesten koronal liegende Anteil des periimplantären Hartgewebes, der über einen koronalen Referenzpunkt und den ersten, koronalsten BIC gemessen wird. Daraus ergibt sich der am weitesten koronal liegende Knochenkontakt (engl. *most coronal bone-to-implant contact* (CBI)) (Schwarz *et al.*, 2014a). Das krestale Knochenlevel (CBL) kann wichtige Informationen bezüglich des Verlaufs einer Implantattherapie liefern, indem es beispielsweise die Integration des Implantats anzeigt. Klinisch kann das CBL sowohl radiologisch als auch teils manuell über die Taschentiefe überprüft werden. Darüber hinaus verweisen ästhetische und pathophysiologische Gründe auf die Relevanz des CBL. So hängen der Weichgewebsverlauf und Erhalt der Papille von dem krestalen Knochniveau ab. Sie bestimmen die Ästhetik der Region. Ein Knochenverlust in diesem Bereich könnte zu Rezessionen, bis hin zu periimplantären Infektionen führen (Hermann *et al.*, 2007; Schwarz *et al.*, 2014b).

In den letzten Jahren wurden die krestalen Umbauvorgänge nach Implantatinsertion verstärkt untersucht. Periimplantärer Knochenabbau trete selbst bei erfolgreichen Implantatversorgungen auf. So kann zwar eine Periimplantitis definitionsgemäß zu Knochenabbau führen, nach Albrektsson *et al.* sind jedoch nicht nur Infektionen als Ursache für den CBL-Verlust relevant, sondern bestehe vielmehr ein multifaktorieller Hintergrund (Albrektsson *et al.*, 2013). Periimplantitis ist auch nach einer weiteren Studie von Albrektsson *et al.* nur ein sekundäres Problem. Der Knochenabbaumechanismus beruhe hiernach hauptsächlich auf einer Inflammation. Diese könne unterschiedliche, eben auch aseptische Ursachen haben. Beispiele sehen sie in Mikrofrakturen, Implantatdesigns, Implantationsorten, patientenspezifischen Konditionen und Fremdkörperreaktionen beispielsweise auf Zement (Albrektsson *et al.*, 2012).

Auch physiologisch tritt Knochenverlust initial nach einer Implantation auf. Dieser initiale Knochenverlust ist von dem im Laufe der Zeit auftretenden Knochenverlust zu unterscheiden. Der initiale Knochenverlust legt die Weichen für bakterielle Penetration

sowie Besiedlung und somit auch für eine mögliche Periimplantitis und fortschreitenden Knochenverlust über die Zeit. In unterschiedlichen Studien variierte das Ausmaß dieses initialen Knochenabbaus. Ein Knochenabbau von 1-1,5 mm initial im ersten Jahr und 0,2 mm pro Jahr im weiteren Verlauf wurde als Erfolg definiert (Adell *et al.*, 1981; Albrektsson *et al.*, 1986; Brogini *et al.*, 2003). Heute bleibt jedoch fraglich, ob diese Werte im Zeitalter des *Platform-Switchings* und weiteren Neuerungen immer noch tragbar sind (Albrektsson *et al.*, 2012).

1.2.2 Einflussfaktoren auf das krestale Knochenlevel

In mehreren präklinischen und klinischen Studien wurden Modifikationen des Implantatdesigns, der Implantatoberfläche und der Abutmentstrukturen sowie unterschiedliche Operationsprotokolle untersucht, um die krestalen Knochenremodellierungsprozesse nach Implantatinsertion zu limitieren. Mehrere grundsätzliche Einflussfaktoren auf das CBL und insbesondere auf die initiale Knochenresorption sind bekannt.

So beeinflussten in bisherigen Studien das Operationsprotokoll, beispielsweise im Sinne einer *Flapless-Surgery* (Maier, 2016), sowie die Implantatposition und hierbei insbesondere die interimplantäre Distanz, das CBL (Rodríguez-Ciurana *et al.*, 2009). Darüber hinaus wurde das CBL sowohl durch den Weichgewebsbiotyp als auch durch das spätere Weichgewebsmanagement beeinflusst (Berglundh *et al.*, 1991; Abrahamsson *et al.*, 1996; Linkevicius *et al.*, 2009). Implantate durchbrechen spätestens nach ihrer Freilegung den gingivalen Komplex, bestehend aus Bindegewebe und Gingivaepithel. Die Schutzfunktion des gingivalen Komplexes verliert daher seine Integrität und muss neu formiert werden. Die sich dabei neu einstellende biologische Breite ist die minimalste Dimension an Epithel und Bindegewebe, die nötig zu sein scheint, um eine stabile und schützende Barriere für den darunterliegenden Knochen zu gewährleisten (Berglundh und Lindhe, 1996; Cochran *et al.*, 1997). Durch die Wiederherstellung der biologischen Breite baute sich in Studien der ortsständige Knochen besonders in der initialen Phase nach der Implantation vermehrt um (Cochran *et al.*, 1997; Hermann *et al.*, 2001a). Demnach kann auch die Weichgewebsdicke das CBL beeinflussen (Cochran *et al.*, 1997; Linkevicius *et al.*, 2009). Wurde in einer Studie eine Weichgewebsdicke von mindestens 2 mm nicht erreicht, trat

Knochenverlust auf, um eben diese biologische Breite wiederherstellen zu können (Linkevicius *et al.*, 2009).

Auch der *Microgap* scheint die biologische Breite zu verletzen. Knochenresorptionen in Abhängigkeit von der Nähe des *Microgaps* zum krestalen Knochen sind die Folge (Hermann *et al.*, 2000; Brogгинi *et al.*, 2003). Ein *Microgap* ist der bei zweiteiligen Implantaten bisher unvermeidlich auftretende Spalt in der Implantat-Abutment-Verbindung. In Studien wiesen sowohl Stoß-zu-Stoß- als auch neuere konische Verbindungen solche Undichtigkeiten auf, die unter Belastung an Ausmaß zunahmen. Der Knochenabbau entstand in diesen Studien unabhängig von der Größe des *Microgaps* und sogar bei kleinstem *Microgap* (Hermann *et al.*, 2001b). Am *Microgap* trat dabei eine Entzündung auf, die gesundes periimplantäres Gewebe weiter nach apikal verlagerte und so eine Knochenresorption verursachte (Broggini *et al.*, 2003, 2006; Nevins *et al.*, 2010).

Aufgrund dieses starken Einflusses, den der *Microgap* in Studien auf das CBL hatte, wurde die Implantat-Abutment-Verbindung verstärkt untersucht und der *Microgap* zunehmend nach zentral verlegt. Mehrere Studien zeigten, dass sowohl das Weich- als auch das Hartgewebe durch diesen horizontalen Versatz, dem *Platform-Switching*, positiv beeinflusst wurden. So waren die CBL-Verluste in Studien mit *Platform-Switching* signifikant geringer als in anderen Studien (Vela-Nebot *et al.*, 2006; Canullo und Rasperini, 2007; Atieh *et al.*, 2010; Fickl *et al.*, 2010; Salamanca *et al.*, 2017). Diese Vorteile des *Platform-Switchings* konnten zumindest bei subkrestaler Implantatinsertion verzeichnet werden, wohingegen keine signifikant geringeren Knochenverluste bei epi- und suprakrestaler Insertion auftraten (Veis *et al.*, 2010). In weiteren Studien konnte das *Platform-Switching* die Ausdehnung der biologischen Breite reduzieren und darüber ebenfalls das CBL erhalten (Becker *et al.*, 2007, 2009; Atieh *et al.*, 2010).

Schließlich zeigten andere Studien, dass das CBL auch durch die Art des späteren Zahnersatzes, Knochenaugmentationen, die Region der Implantation, den Implantattyp sowie durch das Makro- und Mikrodesign des Implantats beeinflusst wurde (Hermann *et al.*, 2007; Schwarz *et al.*, 2008; Ozkan *et al.*, 2011; Knöfler *et al.*, 2016).

1.2.2.1 Abutment-Mikrostruktur

Auch suprakrestale Materialeigenschaften von Implantaten könnten das CBL beeinflussen. Als ein solcher suprakrestaler, transmukosaler Teil des Implantats beeinflussen Abutments vor allem die Weichgewebsformation.

Weber und Cochran zeigten bereits 1998, dass das umgebende Weichgewebe das Implantatlager ernährt und unterstrichen die Relevanz des Weichgewebsmanagements (Weber und Cochran, 1998). In einer anderen Studie konnte ein fester Verbund zwischen Abutment und Weichgewebe sogar krestale Knochenumbauvorgänge vermindern (Iglhaut *et al.*, 2013). Dabei beeinflussten heutige Abutmentmaterialien die Weichgewebsformation und den krestalen Knochen nur gering (Vigolo *et al.*, 2006; Linkevicius und Apse, 2008). Stattdessen war die Oberflächenmikrostruktur der Implantate und Abutments entscheidender.

Schon früh erkannte man, dass das Weichgewebe aus zwei Anteilen besteht: einem marginalen Anteil mit Epithel und einem apikalen Anteil mit faserreichem Bindegewebe (Berglundh *et al.*, 1991; Abrahamsson *et al.*, 1996). In Studien wies der bindegewebige Anteil beim Einsatz herkömmlicher Abutments mit maschinierter, glatter Oberfläche hauptsächlich parallele Fasern auf (Berglundh *et al.*, 2007b). Stattdessen fanden Schwarz *et al.* bei rauen Implantaten mehr horizontale Fasern (Schwarz *et al.*, 2015). Diese bei rauen Abutments verstärkt auftretenden perpendikularen Fasern dichteten das Implantat zur Mundhöhle ab (Nevins *et al.*, 2010; Iglhaut *et al.*, 2013). In den bisherigen Studien verbesserten *micro-grooved* Abutments somit die Weichgewebsanhaftung. (*Micro-grooved* Abutments sind eine spezielle Art rauer Abutments mit Mikrorillen in der Oberfläche.) Iglhaut *et al.* und Schwarz *et al.* konnten darüber hinaus einen Schutz des CBL durch den Einsatz von *micro-grooved* Abutments feststellen (Iglhaut *et al.*, 2013; Schwarz *et al.*, 2015). So waren maschinerte Abutments vom CBL durch eine nicht-mineralisierte Gewebsschicht getrennt, während *micro-grooved* Abutments an den krestalen Abutmentoberflächen im direkten Knochenkontakt standen (Iglhaut *et al.*, 2013). Auch Nevins *et al.* zeigten, dass *micro-grooved* Abutments das apikale Epithelwachstum reduzieren, das Weichgewebsattachment mit teils perpendikulären Fasern erhöhen und somit die Knochenresorption senken können (Nevins *et al.*, 2008, 2010).

Die genannten Studiendesigns berücksichtigten jedoch nicht die Manipulation über die Re- und Diskonnektion der Abutments. Das Lösen und Wiederaufsetzen der

Abutments ist heutzutage Therapiebestandteil, um das periimplantäre Weichgewebe zu prothetischen Zwecken optimal auszuformen. In Studien beeinflusste diese Re- und Diskonnektion den Epithelansatz nicht, führte aber zu einer verstärkten apikalen Ausdehnung der Bindegewebszone und daher zu Knochenresorptionen (Becker *et al.*, 2012; Iglhaut *et al.*, 2013; Rodríguez *et al.*, 2013). Bei *micro-grooved* Abutments war die Knochenresorption und Senkung der Weichgewebsanhaftung dabei noch stärker als bei maschinieren Abutments (Iglhaut *et al.*, 2013). Auch Molina *et al.* stellten in einer radiologischen Studie am Menschen eine signifikant erhöhte Knochenresorption bei Dis- und Rekonnektion von *Healing Abutments* fest (Molina *et al.*, 2017).

Raue Abutments, auch Zirkonoxid, erzielten in Studien also bessere Einheilungswerte, jedoch bei Manipulationen auch eine stärkere Weichgewebsschädigung (Becker *et al.*, 2012; Iglhaut *et al.*, 2013). Raue Abutments könnten daher als definitive Abutments vorteilhaft sein. Trotzdem sollten zukünftig für eine weitere Stellungnahme Studien, insbesondere solche mit dreidimensionalen Informationen, den Einfluss rauer Abutments untersuchen. So konnten im Tierversuch dreidimensionale Untersuchungen anhand der Mikro-Computertomographie (μ CT) bereits bei Mikrogewinden bis zum Implantathals verbesserte BIC-Werte im koronalen Knochen, insbesondere in der frühen Einheilungsphase, erkennen (Chang *et al.*, 2017). Raue Abutments könnten diesen Effekt womöglich ausweiten.

1.2.2.2 Insertionstiefe

In weiteren Studien hatte auch die Insertionstiefe einen direkten Einfluss auf die krestale Knochenhöhe im Rahmen der Osseointegration (Alonso-González *et al.*, 2012; Schwarz *et al.*, 2014a; Schwarz *et al.*, 2015).

Buser *et al.* betonten, dass nur bei korrekter räumlicher Implantation in allen drei Raumebenen das Hart- und Weichgewebe optimal stabilisiert sei (Buser *et al.*, 2005). In der Vertikalen wird heute eine sub- bis epikrestale Insertion zweiteiliger Implantate empfohlen, um die Freilegung rauer Implantatanteile oder Abutmentgrenzen zu vermeiden und genügend vertikale Dimension für ein gutes Emergenzprofil zu schaffen (Novaes *et al.*, 2009; Schwarz *et al.*, 2014a). In einem kürzlich durchgeführten *Review* konnte dabei eine subkrestale Implantatinsertion den krestalen Knochenumbau gegenüber einer epikrestalen Insertion reduzieren (Valles *et al.*, 2018). Darüber hinaus konnte in Studien die subkrestale Insertionsposition die knöcherne Bedeckung der

Implantatanteile erhalten. Epi- und suprakrestale Insertionen wiesen schon in der histologischen Analyse, der auch in der hier vorliegenden Arbeit verwendeten Proben, eher eine fehlende Knochenbedeckung auf (Schwarz *et al.*, 2015). Wurde hingegen die ursprüngliche Insertionstiefe berücksichtigt, zeigten vor allem subkrestal inserierte Implantate verstärkte Knochenresorptionen. Eine suprakrestale Insertion des *Microgap* reduzierte im Vergleich zur subkrestalen Insertion den Knochenabbau (Schwarz *et al.*, 2015). Gleiches zeigten auch Hermann *et al.* in ihrer Studie über den Einfluss des Implantathalses auf den krestalen Knochen (Hermann *et al.*, 2011).

Dabei muss allerdings zwischen komplett rauen Implantaten und solchen mit maschinierem Hals differenziert werden. Für Implantate mit maschinierem Hals sollte die oben genannte Insertionsempfehlung eingeschränkt betrachtet werden. So war in Studien die Grenze rau-maschinierter relevanter als der *Microgap* an sich. Der Knochen resorbierte genau bis zu dieser Grenze. Sowohl bei *one-piece*- als auch bei *two-piece*-Implantaten führte eine epikrestale Implantatinsertion zu der geringsten Knochenresorption. Die Insertionstiefe des Übergangs rau-maschinierter und die Ausdehnung des maschiniererten Teils bestimmte das CBL (Hermann *et al.*, 2000, 2011; Schwarz *et al.*, 2008; Schwarz *et al.*, 2014a). Darüber hinaus stellten Hänggi *et al.* fest, dass die Knochenresorption solcher Implantate umso geringer ausfiel, je kleiner der maschiniertere Anteil war (Hänggi *et al.*, 2005). Auch nach Lee *et al.* könnten eher raue Implantathälse langfristig den krestalen Knochen schützen (Lee *et al.*, 2016).

Bisher wurde trotz aller Studien keine therapeutische Methode gefunden, die allein imstande wäre, den CBL-Verlust effektiv zu minimieren. Zwar scheinen Untersuchungen mit *Platform-Switching* (Atieh *et al.*, 2010), lappenloser Operation (Maier, 2016) und subkrestaler Insertion (Alonso-González *et al.*, 2012) vielversprechend, allerdings variieren die Studienergebnisse sowohl in Bezug auf den Effekt der einzelnen Einflussparameter als auch in Bezug auf ihr Studiendesign.

Die heutigen Kenntnisse der periimplantären Knochenumbauprozesse und des periimplantären Knochenverlaufs beruhen hauptsächlich auf zweidimensionalen histologischen oder teils auch radiologischen Untersuchungen (Becker *et al.*, 2009; Veis *et al.*, 2010; Hermann *et al.*, 2011; Schwarz *et al.*, 2015). Dreidimensionale Untersuchungen der Einflussfaktoren auf das CBL fehlen. Diese könnten womöglich variierende Studienergebnisse erklären und neue Aspekte des periimplantären Lagers offenbaren.

1.3 Untersuchungsmethoden der periimplantären Region

1.3.1 Allgemein

In der Implantologie sind die Implantatstabilität und die Osseointegration Kernfaktoren für den Implantaterfolg. Diese werden beide über mechanische Eigenschaften des Knochen-Implantat-Kontakts (BIC) bestimmt. Klinisch relevanter könnte zukünftig das CBL sein, das im Gegensatz zum BIC auch *in-vivo* beispielsweise radiologisch oder über die Taschentiefe annäherungsweise bestimmt werden kann.

Grundsätzlich können jedoch viele Untersuchungsmethoden zur Beurteilung des periimplantären Gewebes angewendet werden. Dabei muss zwischen klinischen und präklinischen Methoden unterschieden werden.

Klinisch werden vor allem Röntgenstrahlen zur zweidimensionalen Darstellung im Sinne eines Orthopantomogramms (OPTG) oder Zahnfilms verwendet. Hierbei wird insbesondere die proximale Region abgebildet. Der aus ästhetischer Sicht relevante vestibuläre Knochenverlauf ist in der Regel nicht beurteilbar. Darüber hinaus kann das OPTG als Schichtprojektion zu Verzerrungen führen. Bei der Computertomographie (CT) werden Röntgenstrahlen hingegen zur dreidimensionalen Darstellung genutzt und somit die genannten Nachteile vermieden. Das CT hat jedoch bislang eine höhere Strahlenbelastung zur Folge.

Bisher untersuchten nur wenige radiologische Studien unterschiedliche Insertionstiefen und die Folgen auf das CBL (Veis *et al.*, 2010). Diese klinischen Studien variieren zwischen Zahnfilmen, OPTG und CT als Darstellungsmethode. Darüber hinaus wurde in neueren Studien die *in-vivo*-Mikro-Computertomographie an Nagetieren angewendet (Ejima *et al.*, 2012).

Präklinische bzw. *ex-vivo*-Studien sind meist histologische Untersuchungen. Neuere präklinische Studien wendeten aber auch dreidimensionale Verfahren wie die Mikro-Computertomographie (μ CT), die Nano-CT sowie die *Synchrotron-Radiation-Microcomputertomography* (SRuCT) an (Bernhardt *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2012).

Auch die bisherigen Informationen über krestale Knochenumbauprozesse entstammen meist der Histologie. Aktuell integrieren jedoch immer mehr Studien dreidimensionale Techniken, wie die μ CT, in ihr Studiendesign. Die μ CT liefert dabei schnelle und präzise Datensätze, die über eine automatische Auswertung durch ein Softwareprogramm unabhängig vom Betrachter vergleichbare Informationen generiert (Müller *et al.*, 1998).

1.3.2 Histologie

Die Histologie untersucht mikroskopische Gewebeschnitte anhand unterschiedlicher Aufbereitungs- und Färbemethoden. Sie kann mit der optischen, Laser- sowie der Elektronenmikroskopie ausgewertet werden.

Das traditionelle optische Lichtmikroskop wird am häufigsten genutzt. Die Bildvergrößerung in der Lichtmikroskopie ist von der Wellenlänge des Lichts abhängig. Die maximale Auflösung liegt bei 200 nm. Die Zellebene sowie die extrazelluläre Matrix sind darstellbar. Zu ihrer Untersuchung werden Proben entsprechend dem Untersuchungsgegenstand eingefärbt. Dafür sind Vorbereitungsmaßnahmen wie Fixierung, Dehydrierung, Einbettung und Schnitttechniken nötig. Je nach Probenmaterial werden spezielle Vorbereitungs- und Färbemethoden angewendet, die teils Zeitspannen von wenigen Wochen bis mehreren Monaten andauern (vergl. (Becker *et al.*, 2014). Gewebeproben können sowohl in Polymethylmethacrylat (PMMA) als auch konventionell in Paraffin eingebettet werden. Bei Hartgewebeproben erfordert eine Einbettung in Paraffin die Entkalkung des Knochens sowie die Entfernung des Implantats. Soll das Implantat erhalten bleiben, um die direkte Knochen-Implantat-Region zu bewerten, bleibt nur eine Einbettung in PMMA und die anschließende Anfertigung 5-10 µm dicker Schnitte entsprechend der Donath Technik (Donath und Breuner, 1982). Die Proben werden entweder in mesio-distaler oder wie häufiger in bucco-oraler Richtung geschnitten. Vor allem am Knochen-Implantat-*Interface* können dabei jedoch Artefakte entstehen.

Histologische Techniken sind nach wie vor einer der Goldstandards in der experimentellen Forschung. Sie geben verlässliche Informationen über lokale Knochenwerte, wie die Knochendichte und den BIC. Zudem können mittels der Histologie auch die Weichgewebsintegration und der Entzündungsprozess dargestellt werden. Überdies ist ein zentraler Vorteil die Darstellung des direkten Knochen-Implantat-*Interfaces*.

Ein zentraler Nachteil der Histologie ist hingegen die Limitierung auf zwei Dimensionen und der große Informationsverlust, der mit der Herstellung von Hartgewebshistologien verbunden ist. Die Hartgewebshistologie ermöglicht demzufolge keine weiteren Untersuchungen des übrigen Gewebes und ist sehr zeitaufwändig. Zu ihrer Untersuchung müssen die Versuchstiere getötet werden, sodass keine

Longitudinalstudien am selben Tier möglich sind (vergl. (Bernhardt *et al.*, 2012; Vandeweghe *et al.*, 2013; Becker *et al.*, 2015; Meagher *et al.*, 2018)).

Die bisherigen Kenntnisse über den Umbau des kristallinen Knochens nach Implantatinsertion stammen überwiegend aus der Histologie. In verschiedenen Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass eine zweidimensionale Technik nicht für ein umfassendes Verständnis der Mikroarchitektur von Knochen ausreicht (Dempster *et al.*, 2013). In einer Studie von Bernhardt *et al.* variierte die Knochenstruktur und der BIC je nach Schnittposition um 35 %. Es wären demnach mindestens 3-4 Schnitte pro Probe nötig, um repräsentative Informationen zum periimplantären Knochengewebe zu erhalten (Bernhardt *et al.*, 2012). Bei in PMMA eingebetteten Proben können jedoch maximal 1-2 Schnitte pro Probe erzielt werden.

1.3.3 Mikro-Computertomographie

1.3.3.1 Allgemein

Die Einheilung von Implantaten ist ein dreidimensionales Phänomen. Daher bleibt fraglich, wie repräsentativ bisherige Informationen aus zweidimensionalen Untersuchungen für die gesamte periimplantäre Situation sind. Um dies beurteilen zu können, werden neuere, dreidimensionale Untersuchungsmethoden benötigt.

Die Mikro-Computertomographie (μ CT) ist eine solche Methode, da mittels ihr, im Gegensatz zur Histologie, die gesamte dreidimensionale Knochenstruktur untersucht werden kann (Müller *et al.*, 1998). Sie ist ein dreidimensionales Bildgebungsverfahren, welches die innere Struktur von Objekten mit erhöhter, sehr feiner Auflösung darstellt. So erreichen μ CT-Scanner Auflösungen zwischen circa 5-30 μ m (Swain und Xue, 2009). Dabei können sowohl zweidimensionale Schnitte als auch eine dreidimensionale Darstellung der gesamten Probe ausgewertet werden (Becker *et al.*, 2015).

Die μ CT wurde erstmals in den frühen 90er Jahren in präklinischen Studien angewendet (Elliott und Dover, 1982). Zum ersten Mal waren eine deutlich bessere Auflösung und dabei gleichzeitig eine dreidimensionale Rekonstruktion möglich. Seither wird die μ CT stetig zunehmend in der Forschung verwendet (Schambach *et al.*, 2010). Heute werden mittels μ CT vor allem dreidimensionale Knochenparameter, wie die *trabecular thickness*, *trabecular number*, *trabecular separation*, *bone volume* sowie der *structur*

model index, die Knochendichte und der BIC untersucht (Bouxsein *et al.*, 2010; Vandeweghe *et al.*, 2013; Dias *et al.*, 2015).

Im Vergleich zur zeitaufwändigen, teuren und destruktiven Histologie ermöglicht die μ CT eine schnelle und automatische Analyse von Proben (Vandeweghe *et al.*, 2013). Sie ist nicht-destruktiv und kann mehrere verschiedene Untersuchungsmethoden pro Probe zulassen (Meagher *et al.*, 2018). So könnten die Proben beispielsweise im Anschluss noch histologisch aufbereitet werden. Darüber hinaus sind mittels μ CT Longitudinalstudien aufgrund einer *in-vivo*-Anwendung möglich. Somit kann beispielsweise die Knochenentwicklung und die Reaktion auf Medikamente untersucht werden (Bouxsein *et al.*, 2010). Zu beachten ist allerdings, dass durch die Atmung und den Herzschlag Bewegungsartefakte entstehen und *in-vivo*-Aufnahmen verzerrt werden könnten (Bouxsein *et al.*, 2010). Des Weiteren wirkte sich die erhöhte Strahlendosis in einer Longitudinalstudie negativ auf die Gesundheit und Untersuchungsparameter der Versuchstiere aus (Klinck *et al.*, 2008).

Die μ CT erzielte in Studien gute Kontraste in Knochen und Implantaten, hingegen eine schlechte Weichgewebstdarstellung (Schambach *et al.*, 2010). Außerdem konnten Probenanteile, die kleiner oder gleich der Pixelgröße waren, in einer Studie von Park *et al.* nicht detektiert werden. Sie wurden als Rauschen dargestellt und verfälschten die Peaks beim *Thresholding* (Park *et al.*, 2005). Überdies ist die μ CT kein direktes Bildgebungsverfahren, da die dreidimensionalen Bilder erst durch eine mathematische Rekonstruktion aus den Absorptionsspektren berechnet werden müssen. Die Bilder hängen von der Qualität der Röntgenstrahlen ab (Bernhardt *et al.*, 2012). So könnten je nach Zusammensetzung des Röntgenstrahls, vor allem bei konventionellen μ CT-Scannern mit unterschiedlichen Strahlenergien, in der direkten Umgebung der Implantate metallische Artefakte entstehen, die die spätere Auswertung verfälschen (Bernhardt *et al.*, 2004). Meagher *et al.* sahen einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß metallischer Artefakte und der Scanzeit, dem *Field of View*, dem Implantatmaterial und –durchmesser und insbesondere der Voxelgröße. Nur mit optimalen Scanparametern und neusten μ CT-Scannern könnten Artefakte signifikant minimiert werden. Um den wahren BIC der Probe zu erhalten, müsse allerdings weiterhin auf die Histologie zurückgegriffen werden (Meagher *et al.*, 2018).

Die bisherige Anwendung der μ CT in der Forschung bestätigt trotzdem eine gute Übereinstimmung zwischen μ CT und Histologie (Müller *et al.*, 1998; Park *et al.*, 2005; Thomsen *et al.*, 2005; Bernhardt *et al.*, 2012; Vandeweghe *et al.*, 2013). Kürzlich

wurde ein 2D-3D-Algorithmus entwickelt, mit dem die histologischen und die entsprechenden μ CT-Schnitte übereinandergelegt werden konnten. Auch hier waren der BIC und die Knochenregion vergleichbar (Becker *et al.*, 2015).

In Studien erwiesen sich Analysen mittels μ CT als schnelle und präzise Methode, die dreidimensionale Untersuchungsparameter auswerten kann und zudem nicht-destruktiv ist (Müller *et al.*, 1998). Bisher wird die μ CT trotzdem selten allein zum Auswerten von Proben genutzt. Sie wird vor allem ergänzend zu einer standardmäßig durchgeführten histomorphometrischen Untersuchung angewendet.

Nach Bouxsein *et al.* überschätze die μ CT, verglichen mit der Histologie, Analyseparameter. Dies sei falscher *Thresholding*-Werte, schlechter Auflösung, insbesondere in Bereichen kleiner Knochentrabecula, die unter der Voxelgröße liegen, sowie unterschiedlicher 3D-Analysemodelle geschuldet (Chappard *et al.*, 2005; Bouxsein *et al.*, 2010). Anhand der μ CT wurde vor allem die Knochenarchitektur und der BIC als Kriterium für die Osseointegration untersucht (Bernhardt *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2012; Becker *et al.*, 2015). Auch hier waren die BIC-Werte in der Histologie kleiner als die der μ CT. Die Abweichungen waren jedoch nicht signifikant (Park *et al.*, 2005; Bernhardt *et al.*, 2012).

In der Literatur sind immer mehr Studien mit μ CT-Untersuchungen zu finden. Die μ CT wird dabei vielfältig angewendet. Neben der Knochenstruktur wird beispielsweise auch der Wurzelkanal (Paqué *et al.*, 2010) oder die Cochlea (Ni *et al.*, 2017) untersucht. Analysen des CBL sind bisher selten. Auch Studien, die diese neue Untersuchungsmethode in ihrer Genauigkeit validieren, sind selten. Park *et al.* und Stadelmann *et al.* konnten eine gute Übereinstimmung des mittels μ CT gewonnenen BIC und dem BIC der Histologie finden (Park *et al.*, 2005; Stadelmann *et al.*, 2015). In anderen Studien wich die μ CT allerdings, wie oben bereits erwähnt, von der Histologie ab (Butz *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2012). Auch Bissinger *et al.* verglichen den histologischen und den mittels μ CT gewonnenen BIC an Knochen-Implantat-Proben. Sie konnten eine hohe Übereinstimmung in den Analyseparametern beider Methoden feststellen, zeigten allerdings auch, dass die μ CT teils erhöhte Werte nahe des Implantats aufwies (Bissinger *et al.*, 2017).

Folglich sind weitere Studien bezüglich der Genauigkeit der μ CT-Analysen nötig.

1.3.3.2 Funktionsprinzipien

Es folgt ein kurzer Überblick über die Funktionsweise der μ CT. Die folgenden Prinzipien wurden detailliert von Bouxsein *et al.* sowie von Stock ausgeführt (Stock, 2008; Bouxsein *et al.*, 2010). Dort wurden drei Schritte bei der Anwendung der μ CT unterschieden: *Image Acquisition*, *Image Processing*, *Image Analysis*.

Grundsätzlich entstehen μ CT-Bilder durch exponentielle Abschwächung der Röntgenstrahlen in Abhängigkeit von der Energie der Röntgenröhre und der Zusammensetzung der zu durchlaufenden Probe nach dem Lambert-Beer'schen Gesetz. Röntgenstrahlen selbst entstehen in der Röntgenröhre durch Beschleunigung und Abbremsen von Elektronen (Bremsstrahlung, abhängig vom Anodenmaterial) oder durch Zurückfallen von Elektronen auf niedrigere Energiestufen (charakteristische Strahlung, abhängig von der Röhrenstromstärke). Konventionelle μ CT-Scanner haben hierfür einen Mikrofokus als Quelle, der einen polychromatischen Strahl produziert. Diese Strahlung durchläuft die Probe aus unterschiedlichen Winkeln und wird durch das Probenmaterial abgeschwächt (vergl. (Bouxsein *et al.*, 2010)).

Typische μ CT-Scanner haben Röhrenenergien von 20-100 kVp. Ihre niedrig energetischen Strahlen (< 50 keV) werden abhängig von der Atomzahl des Probenmediums durch den photoelektrischen Effekt abgeschwächt. Die höher energetischen Strahlen (> 90 keV) werden hauptsächlich durch die Compton Streuung, proportional zur Dichte des Probenmaterials, abgeschwächt (Ritman, 2004).

Die Proben sind für den Scan in einem Scanmedium eingebettet. Unterschiedliche Medien gaben in Studien einen unterschiedlichen Kontrast und beeinflussten auch die Strahlenabschwächung (Nazarian *et al.*, 2008). So gab Luft den höchsten Kontrast. Der Kontrast von Polymethylmethacrylat (PMMA) war vergleichbar mit dem von Luft. In einer weiteren Studie überschritten sich die Abschwächungswerte von PMMA und Knochen. Die Autoren schlussfolgerten, dass dadurch die spätere Analyse wegen falschen *Thresholdings* erschwert werden könnte (Bernhardt *et al.*, 2004).

Nach der Passage einer Probe wird die verbliebene Intensität der abgeschwächten Strahlung schließlich mit einem CCD-Detektor Array aufgezeichnet. Dabei wird die Strahlung zunächst über einen Szintillator in Licht umgewandelt. Dieses Licht wird dann vom CCD-Detektor detektiert, amplifiziert und zur Rekonstruktion an einen Computer weitergeleitet. Die Rekonstruktion läuft in der Regel automatisch über eine *Modulation Transfer Function*. Ihre Hauptaufgabe ist aus den Projektionen des Scans

Querschnitte zu erstellen und über diese Querschnitte zur dritten Dimension zu gelangen. Kurz zusammengefasst wird dazu das Integral der linearen Abschwächungskoeffizienten aus unterschiedlichen Projektionen entweder über algebraische Rekonstruktion oder über *Back Projection* im Sinne des *Fourier Slice Theorems* ermittelt. Die so erhaltenen zweidimensionalen Querschnitte werden geordnet und fehlende Informationen schräger *slices* über Interpolation (*Nearest Neighbor Interpolation* oder *Trilinear Interpolation*) ergänzt (Kak und Slaney, 2001; Stock, 2008).

Dabei dienen Voxel der dreidimensionalen Darstellung. Sie sind das dreidimensionale Äquivalent eines Pixels. Je kleiner die Voxelgröße gewählt wird, desto besser wird die Auflösung, desto länger wird aber auch die Scandauer (Bouxsein *et al.*, 2010). Die Voxelgröße entschied in Studien insbesondere bei kleineren Strukturen über die Auflösung und Genauigkeit der Analyse (Müller *et al.*, 1996).

Die Querschnitte werden nicht immer fehlerfrei rekonstruiert. Durch unterschiedliche Einflüsse, wie der energieabhängigen Abschwächung oder Metallen im Strahlengang, können Artefakte entstehen. Typische Metallartefakte, die dreidimensionale Auswertungen verfälschen könnten, sind das Rauschen, das *Beam Hardening*, die Streuung und die *Partial Volume Effects* (Stock, 2008; Boas und Fleischmann, 2012).

Beim Rauschen entstehen helle und dunkle Streifen in Richtung der höchsten Abschwächung durch eine zu geringe Photonenzahl. Ein höherer Röhrenstrom oder die Kombination mehrerer Scans reduzieren hingegen das Rauschen (Stock, 2008; Bouxsein *et al.*, 2010; Boas und Fleischmann, 2012).

Das *Beam Hardening* und die Streuung führen zu dunklen Streifen um Objekte hoher Absorption. Die Absorption der Röntgenstrahlen ist energieabhängig. Das Spektrum eines polychromatischen Strahls verändert sich daher beim Durchlaufen der Probe, insbesondere bei dichten Objekten. Niedrig energetische Strahlen werden leichter absorbiert als höher energetische. So wertet die energieabhängige Absorption der Strahlen die mittleren Energien des Strahlenspektrums auf. Der erzeugte Metallartefakt, das *Beam Hardening*, kann durch iterative Methoden, Erhöhung der Stromstärke und Scannen mit unterschiedlichen Stromstärken reduziert werden (Stock, 2008; Bouxsein *et al.*, 2010; Boas und Fleischmann, 2012).

Die Streuung entsteht durch Richtungsänderung und Energieänderung der Photonen an Atomen des Materials ohne Absorption. Sowohl beim *Beam Hardening* als auch bei der Streuung kommen letztendlich weniger Photonen am Detektor an als erwartet, weshalb dunkle Streifen auf dem rekonstruierten Bild zu finden sind. Die Streustrahlung führt zu einer Verschlechterung des Bildkontrastes. Antistreugitter vermindern dies, indem sie nur direkte Strahlen das im Brennpunkt der Quelle positionierte Gitternetz passieren lassen, diffuse Strahlung hingegen absorbieren (Stock, 2008; Bouxsein *et al.*, 2010; Boas und Fleischmann, 2012).

Erhält ein Voxel Informationen unterschiedlich stark absorbierender Materialien, können *Partial Volume Effects* entstehen. Der direkte Übergang beider Materialien ist dann nicht erkennbar. Auch das Titan der Implantate absorbiert Röntgenstrahlung stärker als der umliegende Knochen. Entstehende *Partial Volume Effects* um das Implantat verfälschten in einer Studie von Butz *et al.* die Analyseparameter in näherer Umgebung des Implantats (Butz *et al.*, 2006).

Liu *et al.* konnten noch in 48 μm Distanz eine erhöhte Strahlenabschwächung feststellen (Liu *et al.*, 2012). Aufgrund der genannten Artefakte wird daher ein Abstand zum Implantat in der Auswertung dreidimensionaler Untersuchungen gefordert. So forderten Liu *et al.* bei einer Voxelgröße von 16 μm drei Voxel Abstand zur Implantatoberfläche (Liu *et al.*, 2012). Auch Becker *et al.* wendeten eine Maske mit drei Pixeln Abstand von der Implantatoberfläche und zwei Pixeln Abstand von der Implantatschulter an (Becker *et al.*, 2015). Nach Meagher *et al.* beeinflusse insbesondere die Voxelgröße das Ausmaß der metallischen Artefakte. Je kleiner die Voxelgröße gewählt werde, desto repräsentativer wären die erhobenen Daten. Neuste μCT -Scanner mit verbesserten Scanparametern und eine generelle Vereinheitlichung und Optimierung dieser Scanparameter konnten in ihrer Studie metallische Artefakte signifikant reduzieren (Meagher *et al.*, 2018).

Schließlich werden die rekonstruierten dreidimensionalen Datensätze anhand des *Image Processings* und der *Image Analysis* ausgewertet. Dazu werden die gewonnenen Bilder in einem ersten Schritt segmentiert. Ziel der Segmentierung ist es, Strukturen voneinander zu trennen und die entsprechenden Voxel zu klassifizieren. Das globale *Thresholding* ist das einfachste Segmentierungsverfahren. Kurz zusammengefasst segmentiert es das Bild über eine Schwellenwertbildung in ein meist binäres Bild. Der Schwellenwert isoliert die zu untersuchende Bildkomponente wie Knochen, indem alle

Werte über dem bestimmten Schwellenwert gleich 1 sowie alle Werte darunter gleich 0 oder umgekehrt gesetzt werden. Sollen mehrere Strukturen segmentiert werden, wie es bei Knochen-Implantat-Proben nötig ist (Segmentierung des Knochens sowie des Implantats), wird das Bild über zwei Schwellenwertbildungen (einen Schwellenwert für Knochen und einen für das Implantat) entsprechend in ein trinäres Bild segmentiert. Meist werden dabei nicht einzelne Werte, sondern Intervalle genutzt. Die eigentliche Aufgabe dieses Verfahrens liegt darin, den passenden *Thresholding*-Schwellenwert zur Segmentierung zu finden. Dieser wird anhand der Analyse eines Histogramms mit unterschiedlichen Peaks und Tälern gesucht und ist auch von dem Gewebekontrast des Bildes abhängig (vergl. (Al-amri *et al.*, 2010)). Das *Thresholding* ist einer der wichtigsten Schritte in der Bildbearbeitung. So waren in einer Studie von Rügsegger *et al.* alle folgenden Analysen von dem gesetzten *Thresholding* abhängig (Rügsegger *et al.*, 1996). Probleme beim *Thresholding* traten bei Proben in PMMA-Einbettung auf, bei denen das PMMA ähnliche Werte wie Knochen zeigte. Weiterhin war bei konventionellen μ CT-Scannern keine Normalverteilung gegeben, was das *Thresholding* anhand des Histogramms ebenfalls erschwerte. Ein fehlerhaftes *Thresholding* könnte letztlich die Analyseparameter verfälschen (Bernhardt *et al.*, 2004).

Eine detaillierte Darstellung des *Image Processings* ist den Ausführungen von Bouxsein *et al.* zu entnehmen (Bouxsein *et al.*, 2010). Hier wird auch die Anwendung von Filtern im Prozess des *Image Processings* beschrieben.

Nach Rekonstruktion der dreidimensionalen Datensätze werden die so erhaltenen Daten schließlich in ein Softwaresystem importiert. Dieses Softwareprogramm kann nach einem implementierten *Thresholding*-Verfahren Knochenparameter automatisch analysieren. Bisher wurden dazu in Studien konventionelle μ CT-Softwareprogramme genutzt. So benutzten Hsu *et al.* das Softwareprogramm Mimics (Hsu *et al.*, 2017). Auch Becker *et al.* verwendeten ein Softwareprogramm des entsprechenden μ CT-Scanners (Becker *et al.*, 2017b).

Aufgrund der Vielzahl unterschiedlicher μ CT-Systeme werden jedoch auch eine Vielzahl unterschiedlicher Softwareprogramme zur anschließenden Analyse angewendet. Dies könnte zu einer fehlenden Vergleichbarkeit der Studienergebnisse führen (Bouxsein *et al.*, 2010). Daher sollte das Ziel zukünftiger Forschung sein, zu einer Vereinheitlichung der Analysemethodik dreidimensionaler μ CT-Datensätze zu gelangen. Die automatische Analyse von μ CT-Datensätzen anhand bestimmter Matlab-Skripte, wie in der vorliegenden Arbeit, könnte diesem Ziel zukünftig entsprechen,

indem sie versucht die Methodik bei gleichbleibenden Scanparametern zu vereinheitlichen und Ergebnisse vergleichbarer zu machen.

Matlab der Firma MathWorks ist eine Software zur Datenerfassung, Datenanalyse und Datenauswertung, zur Lösung mathematischer Probleme, vorrangig numerisch anhand von Matrizen, sowie zur grafischen Darstellung. Die Software hat dafür ihre eigene Programmiersprache. In Skripten und Funktionen können ganze Programme mit unterschiedlichen Aufgaben erstellt werden. Matlab ist ein systemunabhängiges Verfahren. Durch das Erstellen eigener Skripte kann die Analyse der dreidimensionalen Datensätze optimal an das eigene Forschungsinteresse angepasst und unabhängig vom μ CT-Gerätehersteller bei allen μ CT-Studien vergleichbar angewendet werden.

Bisher liegen jedoch nur wenige Studien über die Anwendung der Matlab-Software zur Auswertung von μ CT-Datensätzen in der medizinischen Forschung vor (Becker *et al.*, 2015). Gelingt es nun zukünftig eine Vereinheitlichung der μ CT-Analyseparameter zu verwirklichen, sehen auch Park *et al.* in der μ CT eine sehr gute Untersuchungsmethode (Park *et al.*, 2005).

1.4 Ziele der Arbeit

Ziel dieser Arbeit war eine dreidimensionale Untersuchungsmethode zusammen mit einem standardisierten, computergestützten Analyseverfahren zu etablieren, das neue Einsichten in die periimplantäre Knochenmikrostruktur gewährt. Hierüber sollten die Nachteile zweidimensionaler histologischer Methoden ausgeglichen und zukünftig eine höhere Vergleichbarkeit für dreidimensionale Analysen erzielt werden.

Im Rahmen der Studie sollte dabei erstens der bereits aus einer zuvor im Rahmen einer histologischen Studie evaluierte Einfluss der Abutment-Mikrostruktur und Insertionstiefe auf den krestalen Knochenverlauf dreidimensional mittels Mikro-Computertomographie (μ CT) untersucht werden. Hierüber sollte die Repräsentativität der konventionellen Histologie für die gesamte periimplantäre Region eruiert werden. Weiterhin sollte zweitens die μ CT-Analyse allgemein sowie im speziellen ihre Auswertung mit spezifisch entwickelten Matlab-Skripten als neue Methode zur dreidimensionalen Untersuchung periimplantären Knochens bewertet werden. Dazu sollten drittens die mit dieser dreidimensionalen Methode gewonnenen Ergebnisse mit denen der vorherigen histologischen Studie verglichen werden. So konnten die Funktionstüchtigkeit dieser neuen Methode untersucht und etwaige neue Informationen, die über die Histologie hinausgehen, evaluiert werden.

2 Material und Methoden

Die vorliegende Arbeit ist Teilprojekt einer von Prof. Dr. Frank Schwarz geleiteten Studie. Das Operationsprotokoll und die histologischen Analysen wurden bereits veröffentlicht (Schwarz *et al.*, 2015). Eine Zusammenfassung des folgenden Material- und Methodenteils ist darüber hinaus in der im Zusammenhang mit dieser Dissertation erschienenen Veröffentlichung zu finden (Becker *et al.*, 2017a).

2.1 Material

2.1.1 Tiere

Eine Tierversuchsgenehmigung vom Landesamt für Natur und Verbraucherschutz, Recklinghausen, Deutschland lag bereits aus der vorhergehenden, histologischen Studie vor (Aktenzeichen: 87-51.04.2010.A288).

Die Studie wurde an sechs ausgewachsenen *Foxhound*-Hunden im Alter von 13 Monaten mit einem mittleren Gewicht von 35,6 +/- 3,1 kg durchgeführt. Die Tiere unterteilten sich in vier Männchen und zwei Weibchen. Sie hatten eine vollständige zweite Dentition und wurden einmal am Tag mit *soft food diet* sowie mit Wasser *ad libitum* gefüttert.

2.1.2 Titanimplantate und Abutments

In der Studie wurden Titanimplantate der Firma Camlog mit vollständig sandgestrahlter und säuregeätzter Oberfläche verwendet (Conelog Screw-Line Implantat, Camlog Biotechnologies AG, Basel, Schweiz). Diese hatten einen Durchmesser von 3,8 mm und eine Länge von 9,0 mm. Das Conelog Screw-Line Implantat ist ein 2011 eingeführtes, konisches, selbstschneidendes Schraubenimplantat mit konischer Innen-Verbindungsgeometrie und integriertem *Platform-Switching* sowie gestrahlter und säuregeätzter Promote Plus Oberfläche bis zur Implantatschulter. Die Implantatschulteroberfläche ist maschinert.

Als *Healing Abutment* wurden durchmesserreduzierte *wide-body* Titan-Abutments (Ti6Al4V) der Firma Camlog mit einer entweder *machined* (SRa = 0,21 µm, Ra = 0,20 µm) oder partiell (1,5 mm) *micro-grooved* (SRa = 4,33 µm, Ra = 4,36 µm)

Oberfläche genutzt. Diese Abutments hatten einen Durchmesser von 3,8 mm bei einer Höhe von 4,0 mm. Sie wurden mit einer horizontalen Differenz von circa 0,4 mm mit den Implantaten verbunden (*Platform-Switching*). Manipulationen wurden nicht vorgenommen.

2.2 Methode

2.2.1 Studiendesign und Operationsprotokoll

Alle operativen Eingriffe wurden von erfahrenen Chirurgen, Prof. Dr. Frank Schwarz, Dr. Ilja Mihatovic und Dr. Vladimir Golubovic, vorgenommen. Ihnen lag ein standardisiertes Anästhesie- und OP-Protokoll zu Grunde. Ihr operatives Vorgehen sowie das Studiendesign wurden bereits publiziert (Schwarz *et al.*, 2015). Hieraus kurz zusammengefasst, bestand die Studie aus drei experimentellen Phasen:

In einer ersten Phase wurden in jedem Quadranten der *Foxhound*-Hunde die ersten bis vierten Prämolaren sowie die ersten und zweiten Molaren mit minimal invasivem Vorgehen ohne Lappenbildung extrahiert. Bei Bedarf wurden die Wundränder über resorbierbare Nähte adaptiert.

Nach acht Wochen Heilungsphase wurden in einem zweiten Schritt $n = 3$ zweigeteilte Implantate in den dritten und vierten Quadranten implantiert. Dazu wurden eine Lappenpräparation, das Glätten des krestalen Knochens und eine Implantatbettpräparation mit Längenmarkierung vorgenommen. Die interimplantären Abstände betragen 10,0 mm, vestibulär und oral verblieb eine Knochendicke von mindestens 1,0 mm. Die Implantatschulter wurde dabei entweder suprakrestal ((+)1 mm), epikrestal oder subkrestal ((-)1 mm) gesetzt. Im *Split-Mouth-Design* wurden die Implantate schließlich mit *machined* oder partiell *micro-grooved* Abutments verbunden. Der Mukoperiostlappen wurde über resorbierbare Nähte readaptiert.

In einer dritten Phase folgte eine transmukosale Einheilungsphase von 20 Wochen. Abbildung 1 zeigt die Heilungsphase der auf unterschiedlichen Levels inserierten Implantate. In dieser Phase wurden die Implantate und der Restzahnbestand dreimal pro Woche mechanisch gereinigt.



Abb. 1: Klinisches Bild der Einheilungsphase

Klinisches Bild der Implantate auf von links nach rechts suprakrestalem, epikrestalem und subkrestalem Level. Transmukosale Einheilung mit *wide-body Healing Abutments*.

Die Abbildung wurde mit Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd aus der Veröffentlichung dieser Arbeit entnommen (Becker *et al.*, 2017a).

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

Im Anschluss an die 20-wöchige Einheilungsphase wurden die Tiere mit einer Überdosis Natrium Pentobarbital 3 % eingeschläfert, die oralen Gewebe durch Einführen von 10 %igem Formalin über die *Arteria Carotis* fixiert und Knochenblöcke der entsprechenden Implantatregionen zur Gewinnung der Proben entnommen. Die Knochenblöcke wurden in 10 %igem Formalin für 4-7 Tage fixiert.

Entsprechend des standardisierten Verfahrens zur Gewinnung nicht-dekalzifizierter Gewebeproben wurden die Proben anschließend mit einer aufsteigenden Alkohol- und Xylenreihe dehydriert. Dann wurden sie in Methylmethacrylat (MMA, Technovit 9100 NEU, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) eingebettet.

Die Polymerisation der Proben lief bei (-)4 °C und somit unter Ausschluss negativer Einflüsse auf die Polymerisationstemperatur für 20 Stunden ab. Die Probenaufbereitung wurde von drei Medizinisch-Technischen-Assistenten, Brigitte Hartig, Tina Hagen und Thomas Kaiser, übernommen.

2.2.2 Mikro-Computertomographie-Scans

Vor dem Anfertigen der histologischen Schnitte wurden 31 dieser Proben zufällig ausgewählt und im μ CT 100 (Scanco Medical AG, Brüttisellen, Schweiz) gescannt. Die Firma Scanco Medical AG führte die Scans der Proben durch. Die hieraus resultierenden dreidimensionalen Datensätze wurden zur Verfügung gestellt.

Die in Polymethylmethacrylat (PMMA) eingebetteten Knochen-Implantat-Proben wurden in dem kleinsten verfügbaren *sample-holder* vertikal eingespannt. Sein Durchmesser betrug 30 mm. Die Scans wurden senkrecht zur Implantatachse durchgeführt. Um ihre Scanparameter festzulegen, wurde ein *control-file* angelegt. Hierin setzten sich die Scanparameter aus einer Röhren-Peak-Energie von 90 kVp, einer hohen Intensität von 88 μ A zur Reduktion von Metallartefakten, einer *Integration Time* von 1200 ms und einem *Frame Averaging* von 2x zusammen. Die anhand dieser Einstellungen gewonnenen Daten wurden schließlich im dreidimensionalen Volumen mit einer Auflösung von 17,2 μ m rekonstruiert.

2.2.3 Histologie und histologische Analyse

Die Herstellung der histologischen Präparate sowie deren Auswertung gehören dem schon vorher veröffentlichten Teil der Studie an (Schwarz *et al.*, 2015). Sie waren nicht Teil der vorliegenden Arbeit.

Hieraus zusammengefasst wurden vestibulo-orale Schnitte mit einer diamantierten Bandsäge (Exakt, Apparatebau, Norderstedt, Deutschland) entlang der Implantatachse angefertigt. Dabei wurden jeweils zwei Präparate pro Implantat mit zunächst circa 300 μ m Dicke aus dem Zentrum der Implantate geschnitten, die mit *acrylic cement* (Technovit 7210 VLC, Heraeus Kulzer) auf silanisierte Glasobjektträger (Super Frost, Menzel GmbH, Braunschweig, Deutschland) übertragen wurden. Die so erhaltenen Präparate wurden bis auf circa 40 μ m Dicke weiter geschnitten und mit Toluidin-Blau gefärbt. Die histologischen Schnitte wurden schließlich mit einem binokularen Lichtmikroskop (Olympus BX50, Olympus) untersucht und auf eine *Colour CCD Camera* (Color View III, Olympus, Hamburg, Deutschland) übertragen. Ihre digitalen Bilder (Vergrößerungsfaktor x 200) wurden mit einem Softwareprogramm (Cell D, Soft Imaging System, Münster, Deutschland) ausgewertet. Dabei wurde, wie in Abbildung 2 gezeigt, unter anderem die IS-CBI-Distanz als Distanz zwischen der Implantatschulter (IS) und dem koronalsten Knochen-Implantat-Kontakt (CBI) manuell untersucht. Hierfür wurde eine vertikale Linie parallel zur Implantatachse zwischen IS und CBI gezogen und über diese die IS-CBI-Distanz gemessen.



Abb. 2: Histologisches Schnittpräparat (Originalvergrößerung x 250)

Histologisches Beispiel eines epikrestal inserierten Implantats mit *machined* Abutment. Der koronalste Knochen-Implantat-Kontakt (CBI) und die Implantatschulter (IS) sind in rot markiert.

Die Abbildung wurde mit Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd aus der Veröffentlichung dieser Arbeit entnommen (Becker *et al.*, 2017a).

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

2.2.4 3D-Analyse - *Image Processing/ Image Analysis*

Der methodische Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit war die dreidimensionale Analyse der mittels Mikro-Computertomographie (μ CT) gewonnenen Datensätze sowie der anschließende Vergleich der gewonnenen Daten mit der Histologie.

Die μ CT-Datensätze wurden mit Matlab (Matlab R2014b 64-bit, The Mathworks Inc. Massachusetts, USA) ausgewertet. Hiermit wurde jede einzelne Gewebeprobe in einer 360°-Rotation um die Implantatachse visualisiert und in 5°-Schritten die gesuchten IS-CBI-Distanzen automatisch erhoben.

Die Datensätze wurden zunächst über die von *Scanco Medical Switzerland* zur Verfügung gestellte Matlab-Funktion *Readaim* eingelesen. Das *Image Processing* und die *Image Analysis* wurden anhand weiterer Matlab-Skripte, die im Rahmen der Studie von Frau Dr. Kathrin Becker neu entwickelt wurden, durchgeführt. Die Skripte wurden erstmals in dieser Studie angewendet und benötigten mehrere manuelle Eingaben sowie visuelle Kontrollen.

Zuerst wurden die Datensätze mittels dieser Skripte automatisch über ein globales *Thresholding* anhand zuvor bestimmter *Thresholding*-Werte in trinäre Bilder transformiert. Die angewendeten *Thresholding*-Werte lagen für Knochen bei 3300 als unteren und 6500 als oberen Wert sowie bei 10000 für das Implantat.

Um die gesuchten IS-CBI-Distanzen erheben zu können, mussten anschließend folgende vier Schritte vollzogen werden: Identifikation der Implantatachse, Gewinnung der einzelnen respektiven *slices*, automatische Bestimmung der IS-CBI-Distanzen sowie Speicherung und Strukturierung der gewonnenen Daten.

Zur Identifikation der Implantatachse (Ia) wurden zunächst die Implantatränder und somit die Implantatposition anhand eines *Canny Edge Filters* bestimmt. Eine *Principal Component Analysis* wurde auf die grob gefundene Position angewendet, um aus den gefundenen Werten eine vorläufige Ia als einen entsprechenden Vektor zu bestimmen und das Implantat dementsprechend auszurichten. Beide Schritte waren in den Matlab-Skripten integriert und liefen automatisch ab. Die ermittelte, vorläufige Ia wurde Abbildung 3 entsprechend visualisiert.

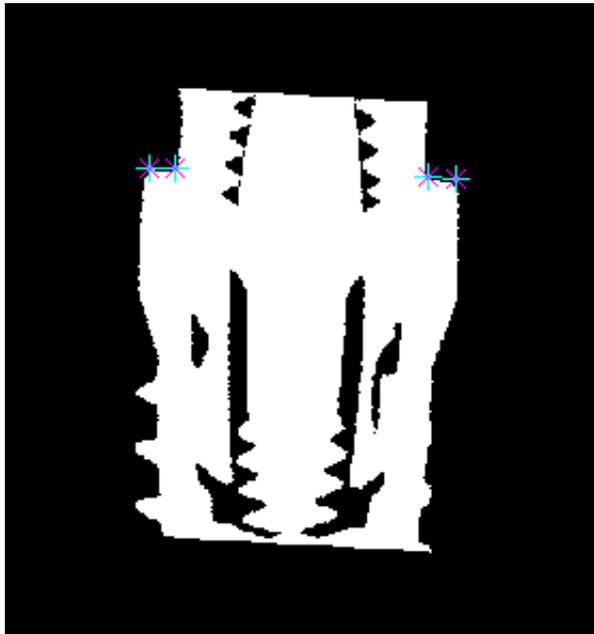


Abb. 3: Matlab-Illustration mit Implantat-Segmentation

Manuell gesetzte Kreuze auf der Implantatschulter sollten die computergestützte vorläufige Ausrichtung der Implantatachse über *Canny Edge Filter* und *Principal Component Analysis* optimieren.

Dieser Schritt wurde sechsmal wiederholt. Bei jedem Schritt wurde die Illustration der Implantatachse korrigiert.

So konnte die Sinngemäßheit der vorläufigen, automatischen Ausrichtung der I_a kontrolliert werden. Sechs Datensätze wurden aufgrund fehlerhafter Vorausrichtung erneut über die Funktion *Readaim* eingelesen. Der Fehler konnte dadurch behoben werden. Zur Optimierung der Implantatachsenbestimmung wurde schließlich anhand der Visualisierung der vorläufigen Implantatausrichtung manuell die Implantatschulter bestimmt. Hierfür wurden, wie in Abbildung 3 veranschaulicht, manuell jeweils zwei Kreuze pro Implantatschulter (links, rechts) gesetzt. Darüber konnten die Matlab-Skripte die vorläufige I_a wiederum automatisch korrigieren. Sie spannten dazu eine Ebene durch die manuell gesetzten Implantatschulterpunkte auf. Der zuvor mittels *Principal Component Analysis* bestimmte Vektor der I_a wurde dann orthogonal zu dieser Ebene ausgerichtet und damit die definitive I_a identifiziert. Um Fehler zu minimieren, wurde der manuelle Schritt mit Markierung der Implantatschulter jetzt wiederholt und die I_a erneut automatisch über die Matlab-Skripte korrigiert. Insgesamt wurden sechsmal manuelle Kreuze auf die mit jedem Schritt bereits etwas korrigierte Implantatachsen-Illustration gesetzt.

In einem zweiten Schritt wurden die einzelnen, respektiven Knochen-Implantat-*slices* der Probe erfasst. Dazu spannten die Matlab-Skripte einen Vektor (v) orthogonal zu der zuvor bestimmten Implantatachse (I_a) über das Kreuzprodukt auf (siehe Abbildung 4).

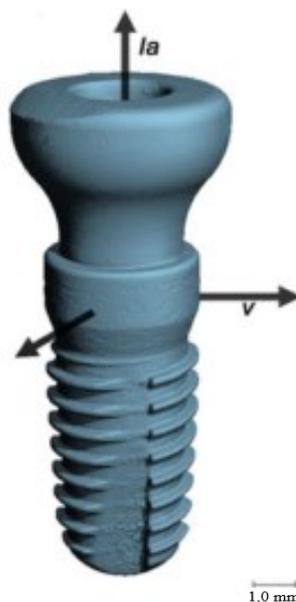


Abb. 4: Dreidimensionale μ CT-Darstellung eines Implantats

Illustration der Implantatachse (Ia) und des Vektors (v), der in 5°-Schritten um Ia rotiert wurde.

Die hierdurch aufgespannten Ebenen entsprachen den Knochen-Implantat-*slices* und dienten dem Errechnen der IS-CBI-Distanzen.

Die Abbildung wurde mit Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd aus der Veröffentlichung dieser Arbeit entnommen (Becker *et al.*, 2017a).

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

Dieser Vektor wurde anschließend in 5°-Schritten um die Implantatachse rotiert. Über trilineare Interpolation wurde dabei automatisch eine Serie von 72 *slices* ($360^\circ : 5^\circ = 72$) gewonnen, die jeweils von v und Ia aufgespannt wurden. Alle *slices* wurden aneinandergereiht visualisiert, sodass eine 360°-Visualisierung rund um das Implantat entstand.

Im dritten Schritt bestimmten die Matlab-Skripte schließlich automatisch die gesuchten IS-CBI-Distanzen jedes *slices*. Somit wurde für jede 5° rund um das Implantat ein IS-CBI-Wert ermittelt. Zur Minimierung des Einflusses möglicher Metallartefakte wurde auf jedes *slice* eine Maske um das Implantat mit zwei Voxeln Durchmesser und drei Voxeln Distanz zum Implantat gelegt. Die Distanz zum Implantat betrug somit 51,6-86,0 µm. Die Matlab-Skripte errechneten nun automatisch die Distanz zwischen der zuvor anhand der manuell gesetzten Kreuze bestimmten Implantatschulter und dem koronalsten Voxel, das als Knochen segmentiert wurde. Diese Distanz wurde als IS-CBI-Distanz angesehen. Schritt 3 wurde insgesamt 72 Mal ($360^\circ : 5^\circ = 72$ *slices*) an unterschiedlichen Positionen des Vektors (siehe Schritt 2) wiederholt und so die IS-CBI-Distanzen in der gesamten periimplantären Region gewonnen.

Über die Matlab-Skripte wurden diese Werte zunächst in Pixel errechnet. Diese in Pixel bestimmten Werte wurden schließlich anhand des Auflösungsfaktors von 0,0172 manuell in Millimeter umgerechnet.

Außerdem wurde, wie in Abbildung 5 dargestellt, während dieses ansonsten automatischen Schritts 3 eine 360°-Rotation rund um die Implantatachse durch Aneinanderreihen der ermittelten 72 *slices* visualisiert.

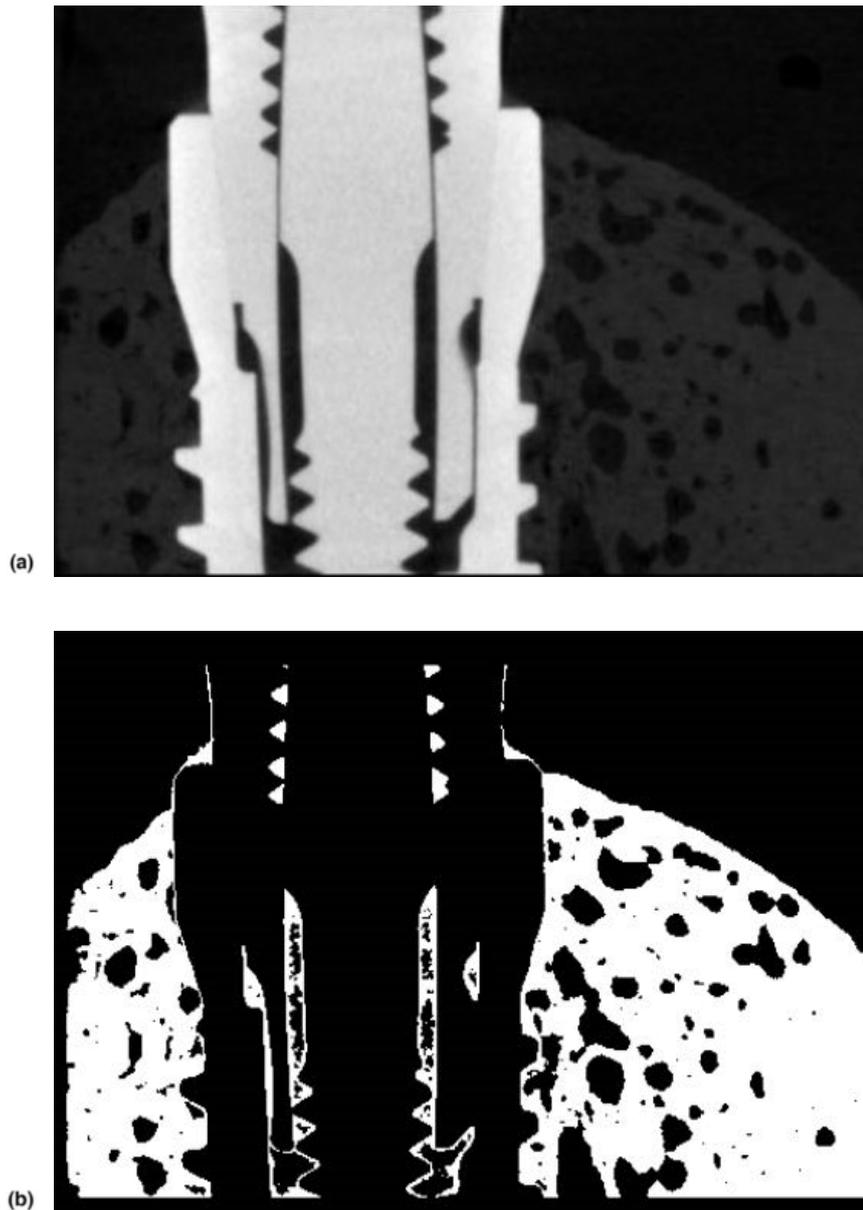


Abb. 5: Matlab-Illustration während der Errechnung der IS-CBI-Distanz

Zweidimensionale Matlab-Illustration eines der 72 *slices* während der 360°-Visualisierung eines subkrestal inserierten Implantats mit *micro-grooved* Abutment. Rechts vom Implantat ist jeweils die bukkale Region, links vom Implantat die orale Region dargestellt.

- a) Implantat und Knochen segmentiert
- b) nur Knochen segmentiert

Dabei wurde erneut, diesmal visuell, nach möglichen Fehlern bei der ansonsten automatischen Implantatausrichtung und IS-CBI-Distanz-Bestimmung gesucht. Nicht annähernd senkrecht stehende oder nicht zentral geschnittene Implantatdarstellungen wurden verworfen, die Datensätze komplett neu über *Readaim* eingelesen und die Ausrichtung wiederholt.

Ein separates Matlab-Skript diente der alleinigen Visualisierung der vorher ermittelten Knochen-Implantat-Schnittbilder ohne Berechnung jedweder Analyseparameter. Anhand dieses Skripts wurde die visuelle Kontrolle der Implantatausrichtung und Bewertung der periimplantären Knochenregion auch zu späteren Zeitpunkten wiederholt. Fehler in der Analyse wurden ermittelt sowie über neues Einlesen der Roh-Datensätze in die ursprünglichen Matlab-Skripte behoben.

Neben der Visualisierung des gesamten periimplantären Knochens stellten die Matlab-Skripte die IS-CBI-Werte nach fertiger 360°-Rotation letztlich auch anhand eines Graphens dar. Abbildung 6 zeigt den Graphen eines epikrestal inserierten Implantats mit einem *micro-grooved* Abutment.

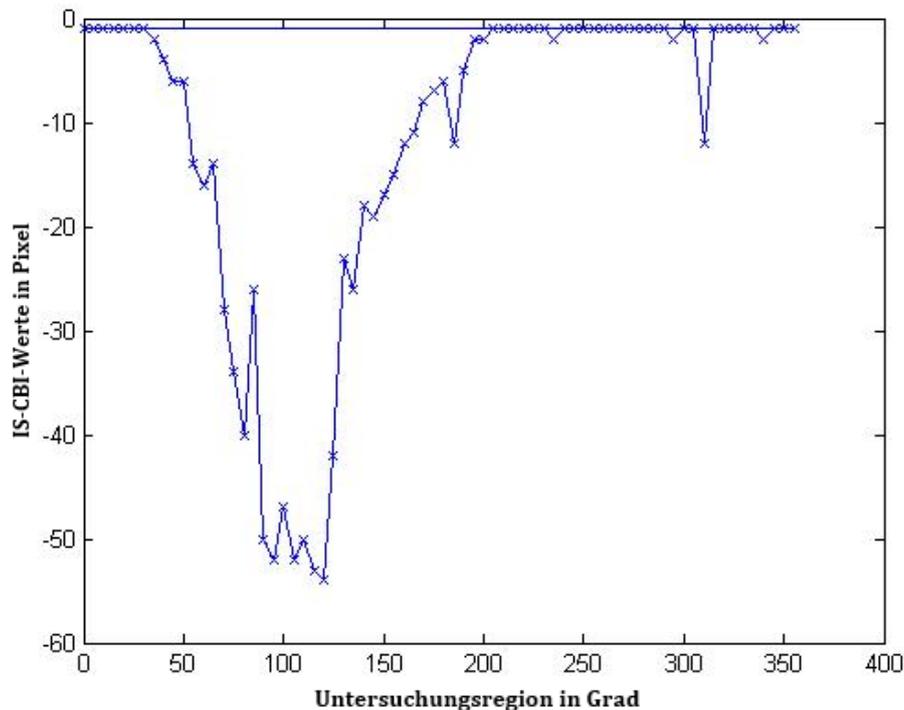


Abb. 6: Graphische Darstellung der IS-CBI-Werte in Matlab

Graph der IS-CBI-Werte eines epikrestal inserierten Implantats mit *micro-grooved* Abutment. Auf der x-Achse ist die Untersuchungsregion in Grad angegeben. Die y-Achse stellt den entsprechenden IS-CBI-Wert in Pixel dar. Um zu einer ISO-Einheit zu gelangen, wurden diese Werte im Anschluss mit dem Auflösungsfaktor 0,0172 in Millimeter umgerechnet. Jeder IS-CBI-Wert ist als Kreuz dargestellt.

In einem vierten Schritt wurden die gewonnenen Daten manuell gespeichert und strukturiert. Die in Schritt 3 automatisch bestimmten IS-CBI-Distanzen wurden dazu im CSV-Format exportiert und die Datensätze so sortiert, dass korrespondierende Positionen zwischen den verschiedenen Proben übereinstimmten. Dafür wurde bereits

während der 360°-Visualisierung in Schritt 2 die bukkale und orale Region jeder Probe individuell entsprechend dem Knochenverlauf visuell bestimmt. Daraus wurden die Werte für die approximalen Regionen errechnet. Zur Vergleichbarkeit wurden jetzt in Schritt 4 alle Werte der Mitte approximal vor der bukkalen Region als Nullwerte gesetzt und die gewonnenen IS-CBI-Distanzen aus Schritt 3 entsprechend verschoben, sodass (-)15-15° sowie 165-195° die approximalen Regionen, 15-165° die bukkale Region und 195-345° die orale repräsentierten (siehe Abbildung 7).

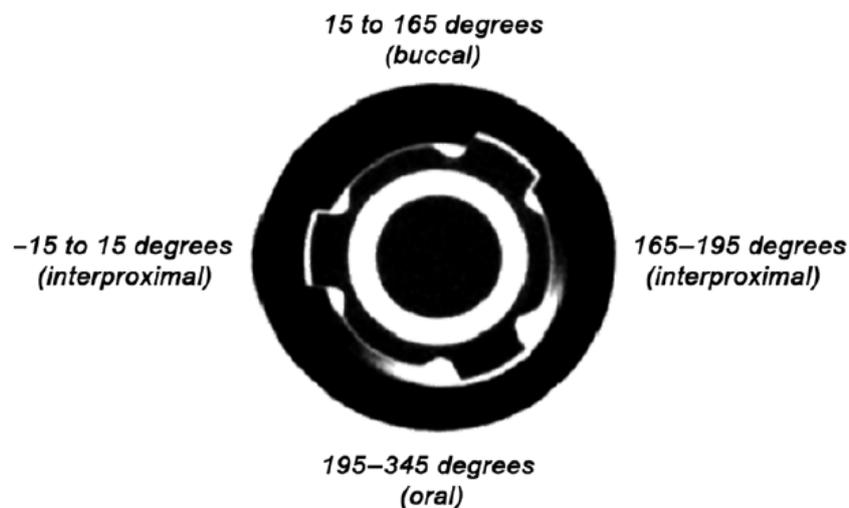


Abb. 7: Repräsentative Implantatregionen in Grad

Die Illustration zeigt die ermittelten Implantatregionen, die der Vektor (v) bei der Rotation beschrieb.

Die interproximalen Regionen lagen bei (-)15 bis 15° und 165 bis 195°, die bukkale Region bei 15-165°, die orale bei 195-345°.

Die Abbildung wurde mit Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd aus der Veröffentlichung dieser Arbeit entnommen (Becker *et al.*, 2017a).

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

Um die erhobenen Werte mit der Histologie vergleichen zu können, wurden erneut visuell repräsentative Intervalle der Mitte der bukkalen und oralen Region bestimmt und von den in diesen Intervallen liegenden IS-CBI-Werten der Mittelwert manuell errechnet. Die Intervalle wurden bukkal auf 50-110° und oral auf 250-310° festgelegt.

Die bis hierhin gewonnenen Werte beschrieben nur allgemein das krestale Knochenlevel (CBL) 20 Wochen *post implantationem*, berücksichtigten aber nicht den Netto-Knochenverlust oder -gewinn. Zu ihrer Berücksichtigung wurde die initiale Insertionstiefe zur IS-CBI-Distanz addiert. Für die initiale Insertionstiefe wurde, entsprechend der ursprünglichen Insertionstiefe in Millimeter, für die epikrestale

Gruppe der Wert 0, für die subkrestale Gruppe der Wert (-)1 und für die suprakrestale der Wert (+)1 verwendet.

Die Daten wurden entsprechend der beiden Abutmenttypen *machined* und *micro-grooved* sowie entsprechend der verschiedenen Insertionstiefen epi-, sub- und suprakrestal sortiert.

2.2.5 Statistik

Die Statistik wurde mit dem Softwareprogramm R (R Development Core Team, 2011) erhoben. Für jede Insertionstiefe und jeden Abutmenttyp wurden die oralen und bukkalen IS-CBI-Mittelwerte pro Tier und Seite zusammengefasst.

Der jeweilige Mittelwert, Standardabweichung, Median und die 25 %- und 75 %-Quartile wurden bestimmt. Die Quartile und der Median wurden darüber hinaus für alle 72 Positionen bzw. für die gesamten 360° um das Implantat bestimmt.

Die Histologie und die Mikro-Computertomographie (μ CT) wurden anhand von Bland-Altman-Analysen verglichen. Ein statistischer Vergleich der Gruppen untereinander wurde nicht vorgenommen. Dieser wurde bereits für die histologischen Werte publiziert (Schwarz *et al.*, 2015). Für die dreidimensionale Analyse bietet sich ein solcher statistischer Vergleich nicht an, da nur mit den Gesamtmittelwerten gearbeitet werden könnte. Die dreidimensionale Information ginge damit verloren und die Ergebnisse würden keine neuen Erkenntnisse gegenüber der bereits vorliegenden Histologie liefern. Daher wurde nur eine deskriptive Statistik erhoben.

3 Ergebnisse

Bis zu der Einschläferung der Tiere blieben ihre Gesundheit, ihr Verhalten und ihre Nahrungsaufnahme unauffällig. Es gab keine lokalen Komplikationen wie Wundinfektionen, Schwellungen oder Abszessbildungen (Schwarz *et al.*, 2015).

3.1 Histologische Analyse

Die Proben wurden bereits in einer vorherigen Studie histologisch untersucht. Die entsprechenden Ergebnisse dieser Studie wurden zur vergleichenden Analyse herangezogen (Schwarz *et al.*, 2015).

Zusammengefasst führte in dieser Studie die subkrestale Insertion der Implantate zu einem stärkeren Knochenverlust als eine epikrestale und suprakrestale Insertionstiefe. Stattdessen verzeichneten suprakrestal gesetzte Implantate sogar einen leichten Knochengewinn.

Trotz dieses Knochengewinns waren bei suprakrestaler sowie auch bei epikrestaler Implantatinsertion überwiegend freiliegende Implantathälse zu finden, während die subkrestale Implantatinsertion hingegen zu einer knöchernen Bedeckung der Implantatschulter führte.

Unter Berücksichtigung der Abutment-Mikrostruktur schützten vor allem *micro-grooved* Abutments das krestale Knochenlevel (CBL) und zeigten darüber hinaus eine bessere Weichgewebsanhaftung als *machined* Abutments.

3.2 Mikro-Computertomographie-Analyse

In der vorliegenden Arbeit wurden zur dreidimensionalen Bewertung des periimplantären krestalen Knochenlevels (CBL) selbige Gewebeproben anhand einer neuen Analysemethode mittels Mikro-Computertomographie (μ CT) und bestimmter Matlab-Skripte in einer 360°-Rotation visualisiert und in 5°-Schritten IS-CBI-Distanzen als Kriterium für das CBL automatisch erhoben.

3.2.1 Image Processing

Ein fehlerfreies *Image Processing* mit Schritten wie *Thresholding*, korrekter Implantatausrichtung und Artefaktminimierung anhand von Matlab-Skripten war Voraussetzung für diese im nächsten Schritt erfolgende Analyse des dreidimensionalen krestalen Knochenverlaufs über die IS-CBI-Distanzen.

Basis aller weiteren Schritte war somit zunächst ein erfolgreiches *Thresholding*. Dieses war in die Matlab-Skripte integriert und führte über die Auswahl bekannter und anhand von Histogrammen genau überprüfter *Thresholding*-Werte (3300-6500 für Knochen, 10000 für das Implantat) zu einer plausiblen Bildsegmentierung. So zeigt Abbildung 5 die erfolgreiche Segmentierung des Knochens und Implantats in ein trinäres Bild (a) sowie die Segmentierung des Knochens und restlichen Gewebes in ein binäres Bild (b).

Nach erfolgreicher Bildsegmentierung des Implantats musste dieses optimiert ausgerichtet werden, um periimplantäre Analysen auf gleichbleibender Höhe zirkulär um das Implantat zu ermöglichen. Fehler in der vorläufigen, automatischen Implantatausrichtung über *Canny Edge Filter* und *Principal Component Analysis* konnten über eine Visualisierung des segmentierten Implantats erkannt werden (siehe Abbildung 3). Die Matlab-Skripte und im Besonderen die *Principal Component Analysis*, die der Ermittlung des gesuchten Vektors der Implantatachse (Ia) diene, konnten die apikale und krestale Region der Proben nicht unterscheiden. So wurden die Implantate in ihrer ersten Annäherung teils seitenverkehrt visualisiert. Dem Funktionsprinzip der *Principal Component Analysis* geschuldet, entstanden auch Visualisierungen mit verzogenen, nicht zentral geschnittenen Implantaten. Die *Principal Component Analysis* soll umfangreiche Datensätze vereinfachen und strukturieren. Vereinfacht beschrieben, diene sie in dem vorliegenden Fall dazu, aus der Wolke gefundener Implantatpunkte einen möglichst zentralen Vektor zu ermitteln, der die vorläufige Ia repräsentieren sollte. Die Annäherung an diesen zentralen Vektor war in ihrem ersten Versuch jedoch nicht immer korrekt.

Beide genannten Fehler konnten auch aufgrund unterschiedlicher Anschnitte des Knochens in direkter Implantatumgebung bei ursprünglicher Gewinnung der Proben entstehen. Dadurch waren die apikale und krestale Region schwieriger zu differenzieren und die Datensätze zur Ermittlung der vorläufigen Ia mittels *Principal Component Analysis* verschoben.

Abbildung 8 zeigt eine solche fehlerhafte automatische Implantatausrichtung über die Matlab-Skripte.

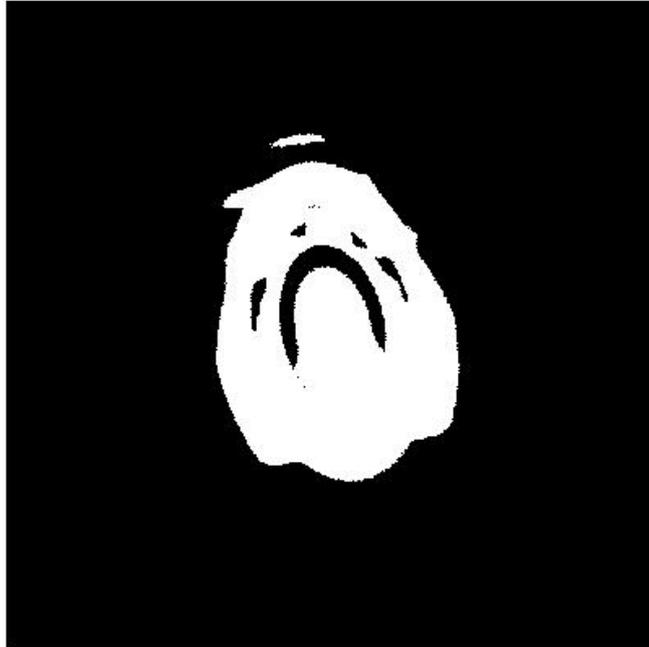


Abb. 8: Matlab-Illustration mit Implantat-Segmentierung

Fehler in der automatischen Implantatausrichtung über *Canny Edge Filter* und *Principal Component Analysis*. Das Implantat ist nicht zentral getroffen. Die krestale und apikale Region sind vertauscht.

Ein erneutes Einlesen der μ CT-Datensätze konnte die Fehler beheben. Die Feineinstellung der Implantatausrichtung erfolgte über manuelles Setzen von Kreuzen auf die Implantatschulter.

Den verzogenen und seitenverkehrten Implantatdarstellungen lagen jedoch keine eigentlichen Fehler zugrunde. Das möglicherweise seitenverkehrte Ausrichten der Datensätze war einkalkuliert und über ein neues Einlesen der Roh-Datensätze zu beheben. 6 von 31 Proben mussten erneut über *Readaim* eingelesen werden. Die *Principal Component Analysis* lief erneut ab und konnte bereits im zweiten Versuch eine korrekte Ermittlung der Ia bewerkstelligen. Mit diesem zweiten Einlesen der Datensätze erfolgte somit eine korrekte Ausrichtung der Ia noch vor Berechnung der IS-CBI-Distanzen.

Bis zu diesem Schritt lief die Implantatausrichtung noch automatisch ab. Über das manuelle Bestimmen der Implantatschulterpunkte sollten die Matlab-Schritte die bisherige Implantatvorausrichtung schließlich optimieren. Diese manuelle Angabe der Implantatschulter wurde mehrfach auf der bei jedem Schritt bereits etwas optimierten Implantatdarstellung durchgeführt. Anhand der jeweils neuen Implantatdarstellungen

war erkennbar, dass das manuelle Setzen von Kreuzen auf die Implantatschulter bei allen 31 Proben die vorläufige Ia und somit die Implantatausrichtung verbesserte. Auch die 360°-Visualisierung konnte dadurch verbessert werden.

Über eine Maske mit einer Distanz von drei Pixeln zur Implantatoberfläche und zwei Pixeln zur Implantatschulter konnten schließlich auch metallische Artefakte deutlich reduziert werden. So waren in den Visualisierungen der Datensätze keine Anzeichen von metallischen Artefakten offensichtlich zu erkennen. Demnach konnten die folgenden Analyseergebnisse ohne Vorbehalt bewertet werden.

3.2.2 Krestaler Knochenverlauf anhand der IS-CBI-Distanzen

3.2.2.1 Allgemein

Um den dreidimensionalen, periimplantären Knochenadaptationsprozess zu untersuchen, konnte anhand der Matlab-Skripte der IS-CBI-Verlauf als Äquivalent zum krestalen Knochenlevel (CBL) in 5°-Schritten um die Implantate für alle 31 Proben aufgezeichnet werden. Der so repräsentierte CBL-Verlauf jeder einzelnen Probe wurde zunächst sowohl während der Visualisierung als auch in dem von den Matlab-Skripten erzeugten Graphen sowie in der erzeugten Tabelle mit den explizit in Zahlen aufgeführten IS-CBI-Werten manuell auf seine Sinngemäßheit kontrolliert. Schließlich diente ein separates Matlab-Skript der alleinigen 360°-Visualisierung der über die Ursprungsskripte nach dem im vorherigen Kapitel genannten Prinzip errechneten IS-CBI-Werte. Mit jedem neuen Einlesen der μ CT-Datensätze über *Readaim* und die Ursprungsskripte in Matlab wurde die automatische Implantatausrichtung etwas verändert, sodass andere IS-CBI-Werte ermittelt wurden. Wie oben bereits erklärt, waren die Knochen-Implantat-Proben unterschiedlich angeschnitten, wodurch die der Implantatausrichtung dienenden *Principal Component Analysis* in jeder Berechnung leicht variierte. Das separate Skript arbeitete daher mit den bereits vorher ermittelten IS-CBI-Werten und Implantatausrichtungen und ermöglichte somit auch zu späteren Zeitpunkten eine erneute visuelle Kontrolle der Implantatausrichtung und Sinngemäßheit der Werte. Fehler in der Analyse konnten auch später ermittelt sowie über ein neues Einlesen der ursprünglichen Datensätze behoben werden. Nicht annähernd senkrecht stehende oder nicht zentral geschnittene Implantatdarstellungen wurden verworfen und die Datensätze noch einmal komplett neu über *Readaim*

eingelassen. Abbildung 9 zeigt eine solche fehlerhafte Ausrichtung einer Probe, die erst in der 360°-Visualisierung auffiel.

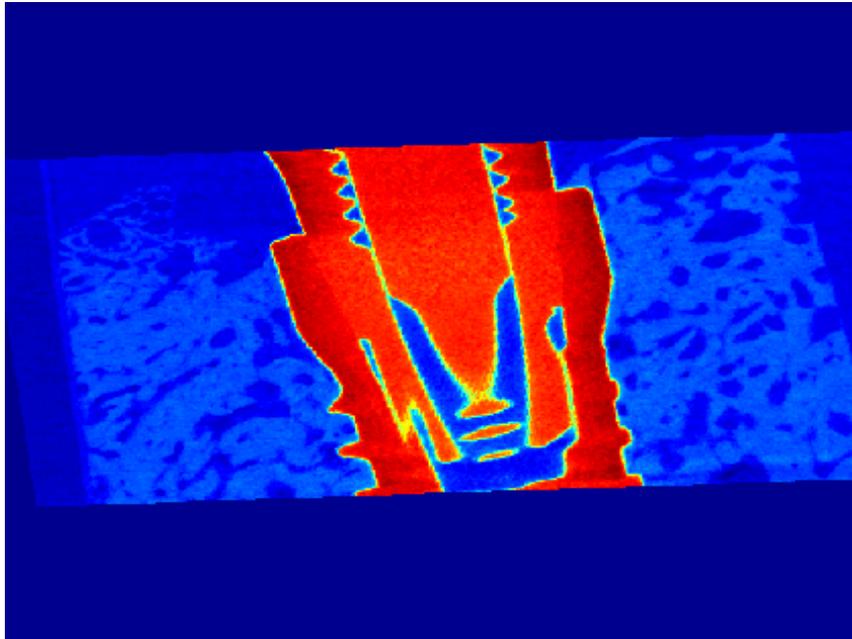


Abb. 9: Matlab-Illustration eines *slices* während der 360°-Visualisierung

Imagesc-Darstellung eines *slices* eines subkrestal inserierten Implantats mit *machined* Abutment während der 360°-Rotation.

Über ein separates Matlab-Skript konnten die vorher erhobenen IS-CBI-Werte und Visualisierungen wiederholt dargestellt werden. Die Illustration zeigt ein nicht zentral getroffenes und zudem schräg ausgerichtetes Implantat in der approximalen Region. Die vorher erhobenen IS-CBI-Werte wurden verworfen und neue Werte über erneutes Einlesen der μ CT-Datensätze gewonnen.

Nur 2 der 31 Proben mussten in diesem späten Schritt neu eingeleitet werden. Genau wie im ersten Schritt, der Optimierung der Implantatausrichtung, waren auch die nicht zentrierten Implantatdarstellungen während der 360°-Visualisierung kein eigentlicher Fehler, sondern ein einkalkuliertes Phänomen. Nach Korrektur beider Proben führte in diesem alleinigen μ CT/Matlab-Schritt keine der 31 Proben zu Bedenken bezüglich der Richtigkeit der Ausrichtung und Auswertung der Probenparameter. Nach Ausschluss möglicher Einflüsse über falsch ausgerichtete Datensätze konnte der dreidimensionale Einheilungsprozess der verschiedenen Versuchsgruppen schließlich ohne Bedenken bewertet werden. Abbildung 10 (a) und (b) zeigen den dreidimensionalen CBL-Verlauf für ein suprakrestal gesetztes Implantat,

Abbildung 10 (c) und (d) zeigen den CBL-Verlauf für ein subkrestal gesetztes Implantat.

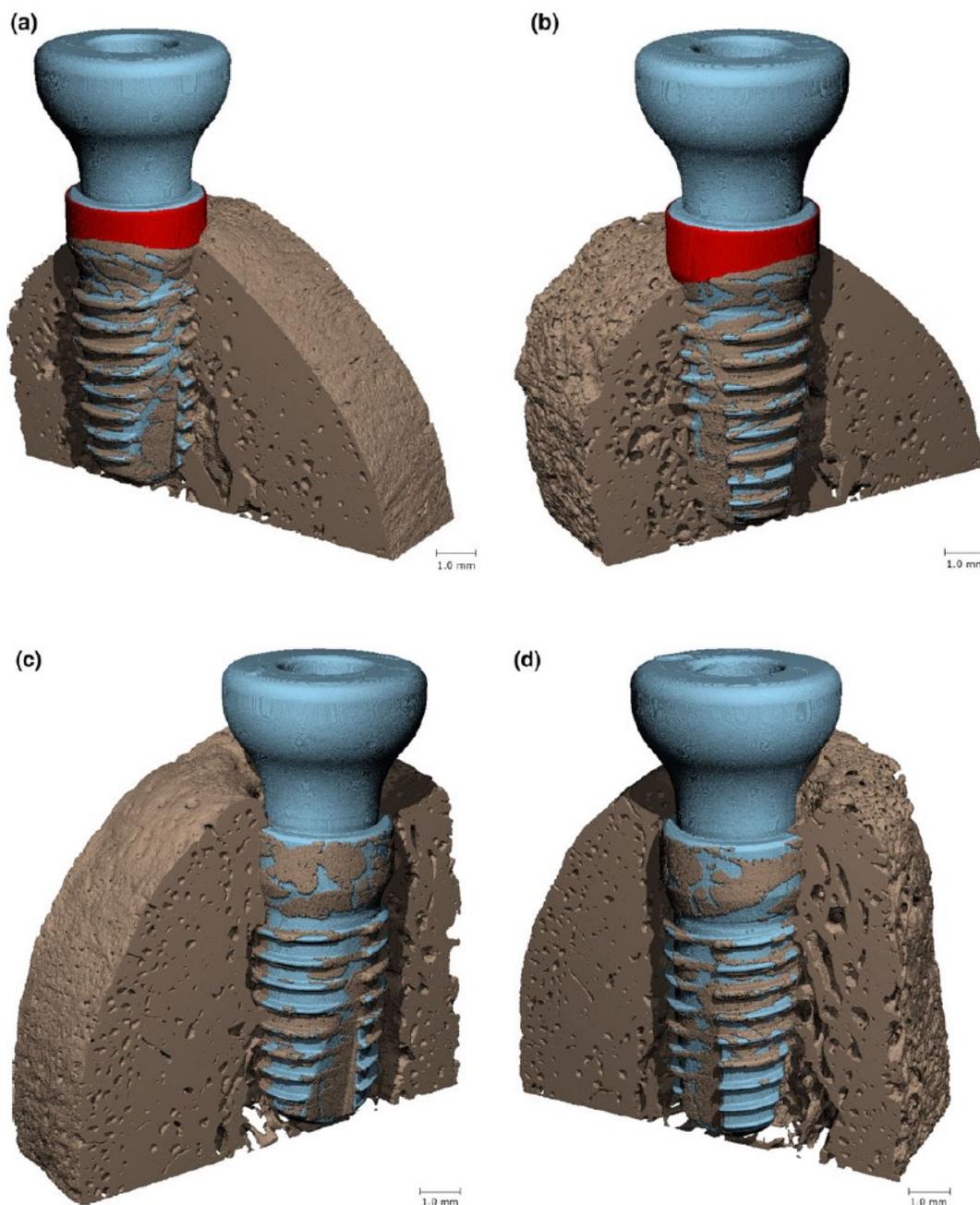


Abb. 10: Dreidimensionale μ CT-Darstellung der IS-CBI-Werte

Illustration der μ CT-Datensätze eines Implantats mit *micro-grooved Healing Abutment* aus bukkaler und oraler Sicht. Die IS-CBI-Distanzen sind rot dargestellt.

a) und b) supra-crestale Insertionstiefe

c) und d) sub-crestale Insertionstiefe

Die Abbildung wurde mit Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd aus der Veröffentlichung dieser Arbeit entnommen (Becker *et al.*, 2017a).

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

Aus diesen Aufzeichnungen ergaben sich die höchsten IS-CBI-Distanzen unabhängig von dem Abutmenttyp und der Insertionsstiefe bukkal und oral der Implantate. Dabei überwogen die bukkalen Verluste denen der oralen Region. Approximal waren die IS-CBI-Distanzen deutlich geringer.

Weiter ungeachtet der Insertionstiefe und Abutment-Mikrostruktur waren die IS-CBI-Werte asymmetrisch verteilt. Grafische Darstellungen der IS-CBI-Werte in Matlab verdeutlichten generell eine große Varianz der Ergebnisse in der periimplantären Region (siehe Abbildung 6). Die Werte zeigten außerdem eine große Streubreite innerhalb der einzelnen Gruppen mit dem Median nahe dem 75 %-Quartil.

Abhängig von der Insertionstiefe und der Abutment-Mikrostruktur war der ortsständige Knochen hingegen unterschiedlich ausgeprägt. Tabelle 1 sowie Abbildung 11 verdeutlichen die deskriptive Statistik der IS-CBI-Werte der unterschiedlichen Gruppen. Diese und die folgenden Ergebnisse sind auch der im Zusammenhang mit dieser Dissertation erschienenen Publikation zu entnehmen (Becker *et al.*, 2017a).

Statistik	N	Mittelwert	Standard Abweichung	Q _{0,25}	Median	Q _{0,75}
a) IS-CBI-Distanzen der <i>machined</i> Abutments (epikrestal)						
μCT (oral)	5	-0.17	0.11	-0.22	-0.16	-0.08
μCT (bukkal)	5	-0.34	0.12	-0.41	-0.41	-0.30
b) IS-CBI-Distanzen der <i>micro-grooved</i> Abutments (epikrestal)						
μCT (oral)	3	-0.09	0.09	-0.12	-0.04	-0.03
μCT (bukkal)	3	-0.38	0.30	-0.50	-0.28	-0.21
c) IS-CBI-Distanzen der <i>machined</i> Abutments (subkrestal)						
μCT (oral)	5	-0.09	0.10	-0.12	-0.04	-0.03
μCT (bukkal)	5	-0.18	0.29	-0.08	-0.05	-0.04
d) IS-CBI-Distanzen der <i>micro-grooved</i> Abutments (subkrestal)						
μCT (oral)	5	-0.08	0.13	-0.30	-0.02	-0.02
μCT (bukkal)	5	-0.26	0.27	-0.51	-0.10	0.0
e) IS-CBI-Distanzen der <i>machined</i> Abutments (suprakrestal)						
μCT (oral)	4	-0.63	0.52	-0.88	-0.62	-0.37
μCT (bukkal)	4	-0.81	0.75	-1.32	-0.76	-0.25
f) IS-CBI-Distanzen der <i>micro-grooved</i> Abutments (suprakrestal)						
μCT (oral)	4	-0.44	0.49	-0.65	-0.30	-0.09
μCT (bukkal)	4	-0.64	0.60	-0.90	-0.48	-0.21

Tabelle 1: Deskriptive Statistik der IS-CBI-Distanzen aus der μCT/Matlab pro Tier, Abutment-Mikrostruktur und Insertionstiefe

Die IS-CBI-Distanzen wurden in die jeweiligen Gruppen *machined* und *micro-grooved* Abutments sowie entsprechend der unterschiedlichen Insertionstiefen sub-, epi- und suprakrestal unterteilt. Angegeben sind die Anzahl N der Proben der jeweiligen Gruppe, der Mittelwert und Median, die Standardabweichung sowie die 25- und 75 %-Quartile (Q0,25, Q0,75). Die Angaben sind in mm.

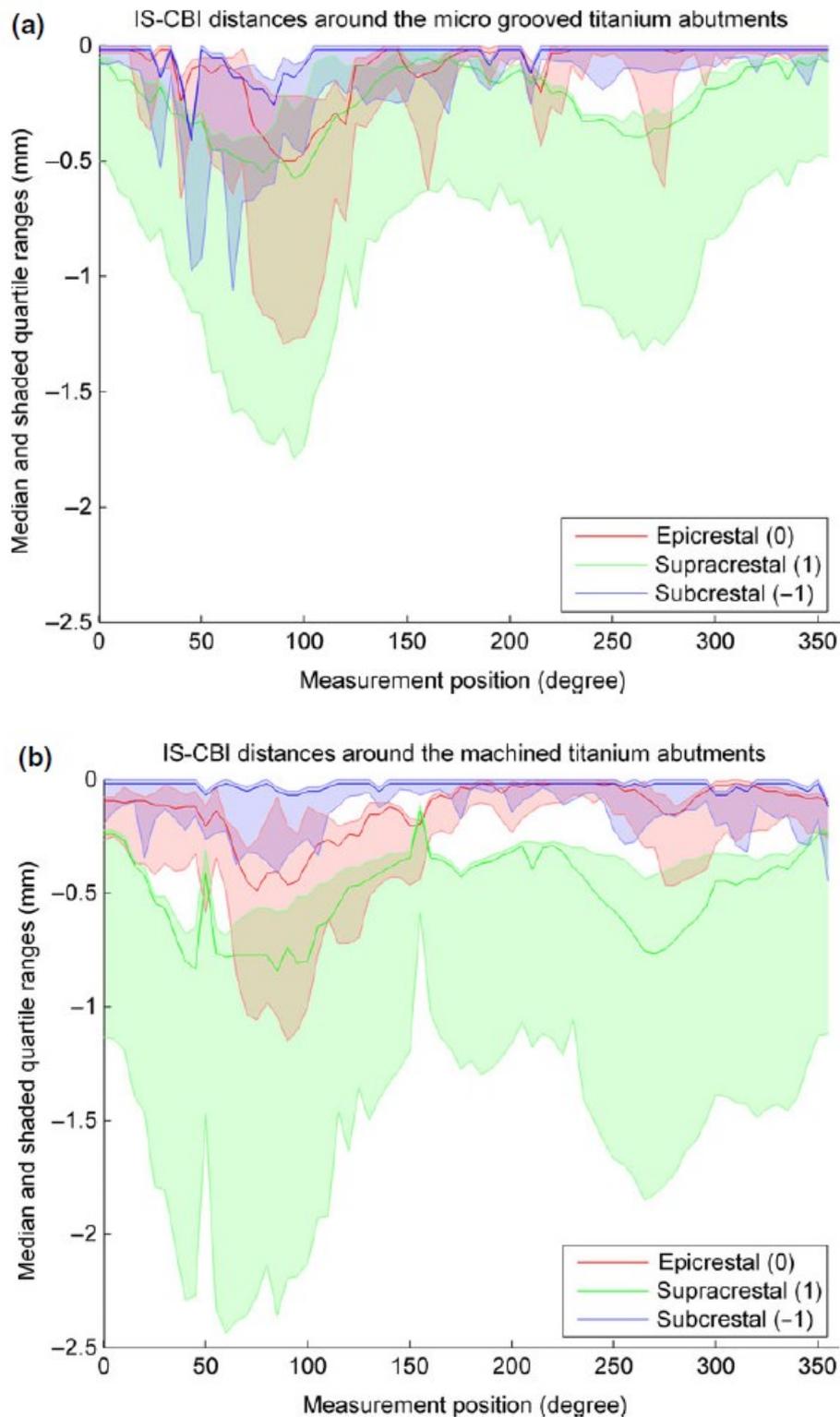


Abb. 11: Graphische Darstellung der deskriptiven Statistik der IS-CBI-Werte

Die Grafik zeigt den Median und die 25-75 %-Quartile der IS-CBI-Distanzen (mm) der unterschiedlichen Insertionstiefen, aufgeteilt in die Gruppen *micro-grooved Healing Abutments* (a) und *machined Healing Abutments* (b), in Abhängigkeit von der Region (*degree*).

Die unterschiedlichen Insertionstiefen sind als epikrestal (0, rot), suprakrestal ((+)1, grün) und subkrestal ((-)1, blau) gekennzeichnet. Die mittlere bukkale Region liegt bei 75°, die mittlere orale bei 275°. (-)15° bis 15° und 165° bis 195° repräsentieren die proximale Region.

Die Abbildung wurde mit Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd aus der Veröffentlichung dieser Arbeit entnommen (Becker *et al.*, 2017a).

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

Ein darüber hinaus gehender statistischer Vergleich der Gruppen untereinander wurde nicht vorgenommen. Für die dreidimensionale Analyse bietet sich dieser Vergleich nicht an, da nur mit Gesamtmittelwerten gearbeitet werden könnte. Hierdurch könnten dreidimensionale Informationen verloren gehen. Darüber hinaus wurde ein solcher Vergleich bereits für die histomorphometrischen Werte publiziert (Schwarz *et al.*, 2015).

Neben den reinen IS-CBI-Distanzen wurde auch der Netto-Knochenverlust oder -gewinn pro Abutment und Insertionstiefe untersucht. Dieser wurde unter Berücksichtigung der ursprünglichen Insertionstiefe bestimmt (IS-CBI + Insertionstiefe: (-)1 für subkrestale Insertion, (+)1 für suprakrestale Insertion, 0 für epikrestale Insertion).

3.2.2.2 Suprakrestale Gruppe

Wurde die ursprüngliche Insertionstiefe bei Bewertung des Medians der IS-CBI-Werte berücksichtigt (Summation der Insertionstiefe ((+)1 mm) zur ermittelten IS-CBI-Distanz 20 Wochen *post implantationem*), konnte für die suprakrestale Implantatposition ein Netto-Knochengewinn festgestellt werden. Dieser wurde bei beiden Abutmenttypen erkannt. Der mediane Netto-Knochengewinn war bukkal mit 0,24 mm ((-)0,76 mm + 1 mm) für die *machined* Abutmentgruppe kleiner als der Netto-Knochengewinn von 0,52 mm ((-)0,48 mm + 1 mm) der *micro-grooved* Abutmentgruppe. Oral waren die Ergebnisse vergleichbar. So zeigten sich oral ein Netto-Knochengewinn von 0,70 mm ((-)0,30 mm + 1 mm) für die *micro-grooved* Abutments sowie ein Netto-Knochengewinn von 0,38 mm ((-)0,62 mm + 1 mm) für die *machined* Abutments.

Trotzdem enthielt der Interquartilsabstand auch einzelne Proben mit suprakrestaler Insertion und einem Netto-Knochenverlust. In Abbildung 11 sind diese Proben bei Werten unter (-)1 zu finden.

Alle IS-CBI-Werte beider Abutmentgruppen waren negativ. So war kein suprakrestal gesetztes Implantat im koronalen Anteil von Knochen bedeckt. Wie in Abbildung 11 veranschaulicht, lagen die reinen IS-CBI-Werte beider suprakrestalen Gruppen alle unter denen der beiden anderen Insertionstiefen. Die Distanz zwischen der Implantatschulter und dem ersten Knochen-Implantat-Kontakt war in der suprakrestalen Gruppe somit zunächst am größten. Lediglich unter Berücksichtigung der ursprünglichen Insertionstiefe konnte der genannte Netto-Knochengewinn festgestellt werden. Außerdem streuten die IS-CBI-Werte innerhalb der suprakrestalen Gruppe stärker als bei beiden anderen Insertionstiefen. So waren bei beiden Abutmentarten Standardabweichungen sowohl bukkal als auch oral von über 0,5 mm zu verzeichnen. Auch die Interquartilsabstände waren stärker ausgeprägt als in den anderen Gruppen.

Beim Vergleich beider Abutmentarten fiel auf, dass die Gruppe der *micro-grooved* Abutments einen geringeren Interquartilsabstand sowie ein niedrigeres (weniger negativ) 25 %-Quartil aufwies. Sowohl der Median und der Mittelwert als auch die Quartile zeigten höhere (stärker negativ) IS-CBI-Werte in der *machined* Abutmentgruppe. Wurden die Mittelwerte beider Abutmentarten verglichen, konnten oral und bukkal circa 0,2 mm niedrigere IS-CBI-Werte und damit ein höher liegendes krestales Knochenlevel bei den *micro-grooved* Abutments festgestellt werden (siehe Tabelle 1).

Innerhalb der einzelnen Gruppe war die Streuung der Werte bei den *machined* Abutments stärker ausgeprägt.

3.2.2.3 Subkrestale Gruppe

Unter Berücksichtigung der ursprünglichen Insertionstiefe (Summation der Insertionstiefe ((-)1 mm) zur ermittelten IS-CBI-Distanz 20 Wochen *post implantationem*) wies die subkrestale Gruppe einen Netto-Knochenverlust bei beiden Abutmenttypen auf. Der mediane Netto-Knochenverlust war jedoch in der Gruppe der *micro-grooved* Abutments stärker ausgeprägt. Dieser lag bukkal bei (-)1,10 mm ((-)0,10 mm - 1 mm) für *micro-grooved* Abutments und (-)1,05 mm ((-)0,05 mm - 1 mm) für *machined* Abutments. Oral waren die Werte mit (-)1,02 mm

((-)0,02 mm - 1 mm) für *micro-grooved* und (-)1,04 mm ((-)0,04 mm - 1 mm) für *machined* Abutments vergleichbar. Wurde nicht der Median, sondern die Streuung der Proben beachtet, so fiel in der *micro-grooved* Abutmentgruppe ein stärkerer Interquartilsabstand bei höherem 25 %-Quartil auf. Wie in Abbildung 11 erkennbar, war der Knochenverlust der subkrestalen Implantate insbesondere bukkal stärker ausgeprägt, wenn diese mit *micro-grooved* Abutments versehen waren. Während die Mittelwerte oral noch vergleichbar waren, zeigte sich bukkal bei den *micro-grooved* Abutments mit einem IS-CBI-Mittelwert von (-)0,26 mm im Vergleich zu (-)0,18 mm bei den *machined* Abutments ein geringfügiger Unterschied.

Viele IS-CBI-Werte lagen um oder gleich Null und damit niedriger als die Werte der anderen Insertionstiefen (siehe Abbildung 11). Dies verdeutlicht eine krestale, knöcherne Bedeckung vornehmlich der subkrestalen Implantate. Der Knochen überragte in der subkrestalen Gruppe die Implantatschulter. In der visuellen 360°-Rotation konnte diese knöcherne Bedeckung der koronalen Implantatanteile erkannt werden.

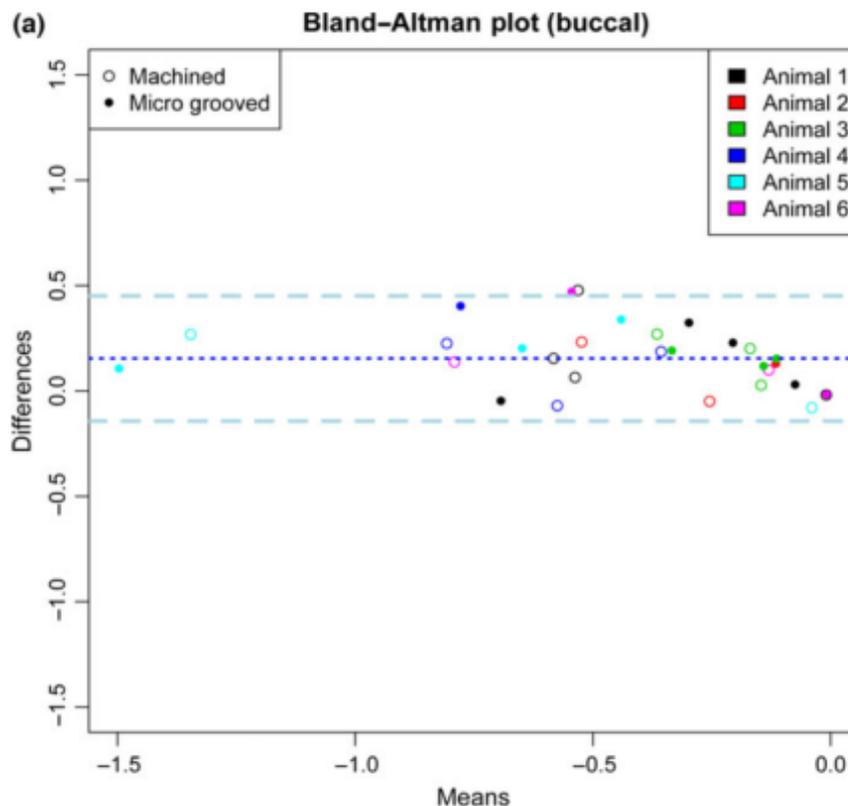
3.2.2.4 Epikrestale Gruppe

Auch in der epikrestalen Gruppe trat ein Netto-Knochenverlust unter Berücksichtigung der ursprünglichen Insertionstiefe (Summation der Insertionstiefe (0 mm) zur ermittelten IS-CBI-Distanz 20 Wochen *post implantationem*) auf. Dieser war bukkal am stärksten ausgeprägt. Der mediane Netto-Knochenverlust betrug bei den *machined* Abutments (-)0,41 mm bukkal und (-)0,16 mm oral. Die *micro-grooved* Abutments zeigten einen medianen Netto-Knochenverlust von (-)0,28 mm bukkal und (-)0,04 mm oral. Wie in Abbildung 11 ersichtlich, waren sowohl die Mediane der gesamten periimplantären Region als auch die Quartile beider Abutmentarten vergleichbar. Die IS-CBI-Werte wurden somit bei epikrestaler Insertion nicht eindeutig von der Abutment-Mikrostruktur beeinflusst.

Wie in der subkrestalen Gruppe konnten auch in der epikrestalen Gruppe bei Betrachtung der gesamten periimplantären Region IS-CBI-Werte nahe oder gleich Null erfasst werden. Folglich waren auch in der Visualisierung einige epikrestal gesetzte Implantate mit einer knöchernen Bedeckung bis oder sogar über die Implantatschulter zu finden. Diese knöcherne Bedeckung umfasste allerdings nur einzelne Abschnitte um das Implantat.

3.3 Vergleich Histologie und Mikro-Computertomographie

Um die Eignung der μ CT zusammen mit der neuen in Matlab implementierten Untersuchungsmethode des periimplantären Knochens zu bewerten, wurden die bukkalen und oralen Mittelwerte der IS-CBI-Distanzen der dreidimensionalen Analyse bestimmt und mit den Werten der Histologie verglichen. Dazu wurden Bland-Altman-Analysen genutzt (siehe Abbildung 12). Die mittlere orale und bukkale Differenz zwischen den Werten der konventionellen Histologie und den Werten der dreidimensionalen Analyse lagen bei 0,80 mm und 0,15 mm. Die kritische orale und bukkale Differenz betragen 0,57 mm und 0,30 mm.



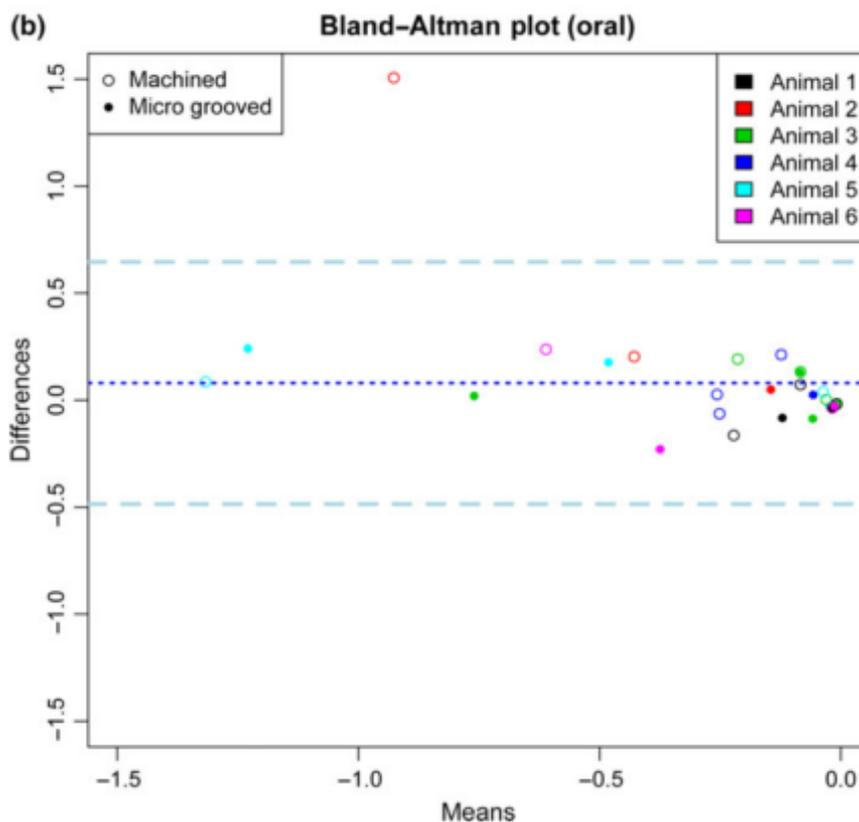


Abb. 12: Bland-Altman-Diagramm zum Vergleich μ CT-Daten vs. Histologie

Vergleich der über μ CT und Matlab-Skripte gewonnenen IS-CBI-Werte pro Tier und Abutment mit denen der Histologie. Die Werte desselben Tieres sind in der gleichen Farbe markiert. *Machined* Abutments sind als Kreise, *micro-grooved* Abutments als Punkte dargestellt. Die mittlere bukkale und orale Differenz sind als gestrichelte Linien in blau dargestellt und liegen bei 0.15 und 0.08 mm. Die kritische bukkale und orale Differenz betragen 0.30 und 0.57 mm und sind als hellblaue, dicker gestrichelte Linien markiert.

a) bukkale Werte

b) orale Werte

Die Abbildung wurde mit Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd aus der Veröffentlichung dieser Arbeit entnommen (Becker *et al.*, 2017a).

© 2016 John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd

Dabei verdeutlicht Abbildung 12, die Bland-Altman-Analyse, dass kein genereller Fehler in der neuen dreidimensionalen Analyseverfahren zu finden war. Lediglich die Streubreite der Werte war mit der neuen Methode stärker ausgeprägt.

Beim direkten Vergleich der IS-CBI-Werte wichen 11 der 31 Proben entweder oral oder bukkal um mehr als 0,2 mm ab. Bei einer der 31 Proben stimmten der orale IS-CBI-Wert mit dem bukkalen Wert der Histologie und der bukkale IS-CBI-Wert mit dem oralen Wert der Histologie überein. Dies ließ ein Vertauschen der oralen und bukkalen

Region entweder in den histologischen oder in der computergestützten, dreidimensionalen Methode vermuten. Zur Untersuchung dieser Abweichungen wurde die Zuordnung der periimplantären Regionen (bukkal, approximal, oral) aller 12 Proben zunächst über das separate Skript, das der Visualisierung der bereits erhobenen IS-CBI-Werte diente, kontrolliert. Schließlich wurden die Proben neu eingelesen und auch anhand der neuen Visualisierung, des neuen Graphens und der neuen Werte kontrolliert. Ein Fehler in der μ CT/Matlab-Auswertung konnte nicht gefunden werden.

4 Diskussion

4.1 Diskussion der Einflussfaktoren auf das krestale Knochenlevel

Jeder Implantatinsertion folgen krestale Knochenumbauprozesse unterschiedlichen Ausmaßes. Zur Untersuchung dieser Umbauprozesse im krestalen Knochen wurde eine neue Methode zur dreidimensionalen Analyse des periimplantären krestalen Knochenlevels (CBL) vorgestellt. Um ihre Eignung zur dreidimensionalen Bewertung des periimplantären Knochens zu überprüfen, wurde sie auf Knochen-Implantat-Proben einer bereits histologisch ausgewerteten Studie, die zusätzlich mittels Mikro-Computertomographie (μ CT) gescannt wurden, angewendet. Dabei wurde die Distanz zwischen der Implantatschulter (IS) und dem koronalsten Knochen-Implantat-Kontakt (CBI), die IS-CBI-Distanz, alle 5° und somit an 72 verschiedenen Positionen ($360^\circ : 5^\circ = 72$) rund um das Implantat der jeweiligen Knochen-Implantat-Proben bestimmt. Der so in der gesamten periimplantären Region ermittelte IS-CBI-Verlauf repräsentierte das gesuchte CBL. Dieses war von der Insertionstiefe, der Abutment-Mikrostruktur und insbesondere von der räumlichen Region abhängig.

Wurde der krestale Knochenverlauf zunächst unberücksichtigt dieser Abhängigkeiten betrachtet, entstanden grundsätzlich bukkal und oral stärkere Dehiszenzen im krestalen Knochenlevel als approximal. Die vestibuläre Region zeigte die stärkste Dehiszenz.

Dieser Knochenverlauf mit vestibulo-oral stärkeren Knochenresorptionen wurde auch nach allgemeinen Zahnextraktionen beschrieben (Petrokovski und Massler, 1967; Misawa *et al.*, 2016). So folge nach Araújo *et al.* einer Einzelzahnextraktion ein Remodellierungsprozess des umgebenden Alveolarknochens mit bukkal und oral stärkster Knochenresorption. Selbst eine Sofortimplantation konnte in ihrer Studie diese Remodellierungsprozesse bisher nicht signifikant reduzieren (Araújo *et al.*, 2005). In einer weiteren Studie führte auch die Implantatinsertion zu Remodellierungsprozessen mit Knochenverlust innerhalb des ersten Jahres (Broggini *et al.*, 2003). Der Knochenverlust war bei Fetner *et al.* unabhängig von der Insertionstiefe des Implantats ebenfalls bukkal am stärksten ausgeprägt (Fetner *et al.*, 2015).

Die vorliegende Studie sollte über diese allgemeine Reaktion des periimplantären, krestalen Knochens auf die Implantatinsertion hinaus den Einfluss der Insertionstiefe und der Abutment-Mikrostruktur auf die Remodellierungsprozesse und das dreidimensionale CBL untersuchen. Dazu wurden Implantate auf drei verschiedenen Tiefen (epikrestal, 1 mm subkrestal, 1 mm suprakrestal) inseriert und im *Split-Mouth-Verfahren* mit entweder *machined* oder *micro-grooved* Abutments verbunden.

Wurde zunächst nur die Variable der Insertionstiefe betrachtet, zeigte sich in der vorliegenden Arbeit bei jeder Tiefe ein anderer periimplantärer Knochenverlauf. Vor allem das vestibuläre CBL ist im Hinblick auf die Ästhetik bedeutsam. Implantate, die subkrestal inseriert wurden, wiesen in dieser Region überwiegend eine knöcherne Bedeckung der koronalen Implantatregion auf. Das CBL suprakrestal gesetzter Implantate war hingegen am niedrigsten und die Implantatschulter bei keiner der Proben von Knochen bedeckt.

Unter Berücksichtigung der ursprünglichen Insertionstiefe führte jedoch die suprakrestale Implantatinsertion zu einem medianen Netto-Knochengewinn bukkal von 0,52 mm bei *micro-grooved* und 0,24 mm bei *machined* Abutments. Eine epikrestale Implantatschulterposition führte zu einem geringen medianen Netto-Knochenverlust bukkal von 0,41 mm bei *machined* und 0,28 mm bei *micro-grooved* Abutments. Den stärksten medianen Netto-Knochenverlust zeigte die subkrestale Insertionstiefe mit 1,00-1,10 mm. Somit konnte ein Zusammenhang zwischen der Implantatinsertionstiefe und dem periimplantären CBL erkannt werden.

Diese Ergebnisse stehen im Einklang mit denen der vorherigen histologischen Untersuchung selbiger Proben. Auch hier führte die subkrestale Insertion der Implantate zu einem stärkeren Knochenverlust als die epikrestale und suprakrestale Insertionstiefe. Suprakrestal gesetzte Implantate verzeichneten hingegen ebenso einen leichten Knochengewinn (Schwarz *et al.*, 2015). Auch weitere Autoren erkannten diese Verbindung zwischen der Insertionstiefe und der auftretenden Knochenresorption (Broggini *et al.*, 2006; Cochran *et al.*, 2009). So wies die nach Implantation auftretende Entzündung bei unterschiedlichen Insertionstiefen vertikal unterschiedliche Distanzen zum krestalen Knochen auf und führte daher zu unterschiedlichen Resorptionen und zu einem unterschiedlichen krestalen Knochenverlauf. Den im Vergleich zur sub- und epikrestalen Implantatinsertion geringeren Knochenverlust bei suprakrestaler Insertion zeigten auch Hermann *et al.*. Dieser wurde ebenfalls auf eine größere Distanz zwischen

dem auftretenden Entzündungssaum und dem krestalen Knochen bei suprakrestaler Insertionstiefe zurückgeführt (Hermann *et al.*, 2000). Studien, die sowohl eine sub- und epikrestale als auch eine suprakrestale Insertionstiefe in einer Studie verglichen, sind jedoch selten. In einer histologischen Tierstudie untersuchten Cochran *et al.* mit einem ähnlichen Studiendesign wie das der vorliegenden Arbeit transgingival und subgingival einheilende Implantate auf drei unterschiedlichen Insertionstiefen mit *Platform-Switching*. Während keine Unterschiede zwischen der transgingivalen und subgingivalen Einheilung sowie keine Unterschiede im bestimmten Knochen-Implantat-Kontakt (BIC) und der Knochendichte erkennbar waren, zeigte die suprakrestale Insertionstiefe signifikant geringere Knochenverluste gegenüber beiden anderen Insertionstiefen. So kam es sogar zu 0,04-0,19 mm Knochengewinn bei 1 mm suprakrestaler Insertion (Cochran *et al.*, 2009). Dieser aus einer zweidimensionalen Analyse ermittelte Knochengewinn ist jedoch kleiner als die in unserer dreidimensionalen Untersuchung erhobenen bis zu 0,52 mm Netto-Knochengewinn. Daher bleibt fraglich, wie repräsentativ die konventionelle Histologie für die gesamte perimplantäre Region sein kann.

Entgegen der bisherigen Ausführungen sind in der Literatur von der hier vorliegenden Arbeit jedoch auch abweichende Ergebnisse zu finden. In einem Review von 2012 wurde ebenfalls für die suprakrestale Insertion die geringste Knochenresorption beschrieben. Die Unterschiede in der Resorption blieben hier allerdings ohne statistische Signifikanz (Alonso-González *et al.*, 2012). Fetner *et al.* verglichen subkrestal und epikrestal inserierte Implantate. In ihrer Studie wiesen subkrestal inserierte Implantate einen signifikant geringeren Knochenverlust auf und konnten den Knochen bis auf die Implantatschulter erhalten (Fetner *et al.*, 2015). Auch in einem kürzlich durchgeführten weiteren Review führten subkrestale Implantate zu weniger krestalem Knochenumbau als epikrestale Implantate (Valles *et al.*, 2018). Diese Ergebnisse widersprechen den in der vorliegenden und der vorausgehenden histologischen Arbeit erhobenen Daten, die den stärksten Netto-Knochenverlust bei einer subkrestalen Insertionstiefe verzeichneten (Schwarz *et al.*, 2015). Während jedoch sowohl bei Schwarz *et al.* als auch in der vorliegenden Arbeit die Knochenumbauprozesse unter Berücksichtigung der ursprünglichen Insertionstiefe bewertet wurden, betrachteten Fetner *et al.* sowie Valles *et al.* die knöchernen Verhältnisse ohne Berücksichtigung der Insertionstiefe (Fetner *et al.*, 2015; Valles *et al.*, 2018). Bei alleiniger Betrachtung der IS-CBI-Werte wiesen auch in der

vorliegenden Arbeit und ihrem vorhergehenden histologischen Teil subkrestal inserierte Implantate das höchste CBL auf und zeigten eine ausgeprägte knöcherne Bedeckung krestaler Implantatanteile (Schwarz *et al.*, 2015). Somit bestätigen letztlich selbst die Studien von Fetner *et al.* und Valles *et al.* die Ergebnisse unserer Arbeit.

Das Ausmaß dieser knöchernen Bedeckung krestaler Implantatanteile ist gerade aus klinischer Sicht wichtig. Daher wird grundsätzlich die sub- bis epikrestale Insertion wegen ästhetischen Vorteilen und der Vermeidung einer möglichen Freilegung rauer Implantatanteile klinisch bevorzugt (Pontes *et al.*, 2008; Alonso-González *et al.*, 2012). Auch Schwarz *et al.* kamen zu dem Schluss, dass vollständig strukturierte Implantate subkrestal zwar die höchsten Knochenverluste verzeichneten, trotzdem aber eine subkrestale Insertion für zweiteilige, vollständig raue Implantate wegen der knöchernen Bedeckung zu empfehlen sei (Schwarz *et al.*, 2014a). Wie aus der deskriptiven Statistik in Abbildung 11 ersichtlich, konnte ebenso in der vorliegenden Arbeit nur eine subkrestale Insertionstiefe IS-CBI-Werte nahe oder gleich Null erzielen und damit eine Knochenbedeckung der Implantatschulter aufweisen. Diese war auch in der 360°-Visualisierung der *slices* erkennbar. Die Ergebnisse stimmen mit vorherigen Studien überein, die ebenfalls eine Knochenbedeckung bis über die Implantatschulter nur bei subkrestal inserierten Implantaten zeigten (Weng *et al.*, 2008; Cochran *et al.*, 2009; Novaes *et al.*, 2009; Degidi *et al.*, 2011). Diese Knochenbedeckung der Implantatschulter war gleichermaßen in der vorausgehenden histologischen Untersuchung des Einflusses der Insertionstiefe und der Abutment-Mikrostruktur auf das krestale Knochenlevel ersichtlich (Schwarz *et al.*, 2015).

Obwohl mehrere Studien also den erhöhten Knochenverlust bei subkrestal inserierten Implantaten gezeigt haben und im Einklang mit den in dieser Arbeit erhobenen Werten stehen, sollte weiterhin eher eine sub- bis epikrestale Insertion angestrebt werden, um die knöcherne Bedeckung rauer Implantatanteile zu gewährleisten. Freiliegende Anteile könnten ansonsten die Plaqueanlagerung und somit eine Periimplantitis begünstigen. Trotzdem zeigte gerade die neue dreidimensionale Analyse, dass zum Teil erhebliche Anteile auch sub- und viel mehr noch epikrestal inserierter Implantate frei lagen. Bisherige zweidimensionale Studien erkannten diese freiliegenden Anteile nicht.

Neben der Insertionstiefe beeinflusste auch die Abutment-Mikrostruktur die krestalen Knochenumbauprozesse. Dieser Einfluss variierte je nach Insertionstiefe. So waren die IS-CBI-Werte der *machined* Abutments sowohl in der epi- als auch in der

suprakrestalen Gruppe tendenziell höher als die IS-CBI-Werte der *micro-grooved* Abutments. Während bei einer suprakrestalen Implantatinsertion *micro-grooved* Abutments somit einen geringeren Netto-Knochenverlust aufwiesen, zeigten sie hingegen bei subkrestaler Insertion stärkere bukkale Netto-Knochenverluste. Darüber hinaus war unabhängig von der Insertionstiefe eine größere Streuung der IS-CBI-Werte innerhalb der einzelnen Gruppen bei den *machined* Abutments erkennbar.

In der vorherigen histologischen Untersuchung der Proben konnten *micro-grooved* Abutments einen geringeren Knochenverlust bei epi- und subkrestaler Implantatinsertion erzielen. Darüber hinaus wurde das Weichgewebe durch die raue Oberfläche positiv beeinflusst (Schwarz *et al.*, 2015). Auch Nevins *et al.* zeigten den positiven Einfluss von *micro-grooved* Abutments, die in ihrer Studie mit perpendikularen, zum Implantat verlaufenden Fasern, besserem Bindegewebe-Implantat-Kontakt und weniger Knochenverlust versehen waren. Sie schlussfolgerten, dass eine höhere Rauheit der Abutments, durch die bessere Verbindung zwischen Bindegewebe und Implantat, die apikale Migration des Epithels verhindern und sogar negative Effekte des *Microgaps* bezüglich der Knochenresorption ausgleichen könnte (Nevins *et al.*, 2010). Iglhaut *et al.* bestätigten diesen Zusammenhang zwischen einer höheren Abutmentrauheit und einem folglich höheren Attachment (Iglhaut *et al.*, 2013). Manipulationen, wie das Herausdrehen der Abutments zu prothetischen Zwecken, führten jedoch in einer weiteren Studie zu einem Aufreißen dieses Attachments und schließlich zu veränderten Dimensionen sowohl im Weich- als auch im Hartgewebe (Becker *et al.*, 2012). Auch in der hier vorliegenden Arbeit waren beim Einsatz von *micro-grooved* Abutments starke Dehiszenzen zu erkennen, die in diesem Ausmaß in der vorherigen Histologie nicht beschrieben wurden.

Anders als in der konventionellen Histologie, die sich nur auf die Auswertung eines einzelnen Schnittes stützt, konnte die in dieser Arbeit angewandte dreidimensionale Analyseverfahren die gesamte periimplantäre Region bewerten. Erst durch eine solche dreidimensionale Analyse konnte die starke periimplantäre Streuung der Analyseparameter sowohl innerhalb der einzelnen Proben als auch innerhalb der Gruppen festgestellt werden. Die konventionelle Histologie verbirgt diese Information. Die vorliegende Arbeit zeigte vielmehr, dass periimplantäre Analyseparameter, wie in diesem Fall die IS-CBI-Distanzen, in der Regel nicht normalverteilt sind. Wie aus der deskriptiven Statistik in Abbildung 11 zu entnehmen, lag der Median nicht mittig der

Quartile. Eine für die gesamte periimplantäre Region repräsentative Statistik, basierend auf der konventionellen Histologie, scheint somit nicht möglich zu sein.

Ein zentraler Zugewinn dieser Arbeit ist folglich die Einsicht, dass die ermittelten IS-CBI-Werte in besonderem Maße von der Orientierung der Probe abhängig waren. So war eine hohe Varianz innerhalb der Werte derselben Probe zu verzeichnen. Diese bezog sich nicht nur auf Unterschiede im CBL-Verlauf zwischen den übergeordneten Regionen approximal, bukkal und oral. Selbst innerhalb der einzelnen Regionen führten nur 5-10° Unterschied zu teilweise starken Abweichungen im IS-CBI-Wert.

Auch in früheren Studien waren bereits andere Analyseparameter signifikant von dem gewählten Analyseort abhängig. Demnach variierten sowohl der Knochen-Implantat-Kontakt (BIC) als auch die generelle dreidimensionale Knochenarchitektur in Abhängigkeit von der gewählten Analyseposition (Wigianto *et al.*, 1997; Bernhardt *et al.*, 2004, 2012).

Die Position von histologischen Schnitten sollte daher zukünftig genau gewählt, hinterfragt und womöglich sogar mehrere Schnitte pro Probe gemittelt werden. So lieferten in einer Studie von Bernhardt *et al.* erst 3-4 Schnitte pro Probe auch in der zweidimensionalen Histologie repräsentative Ergebnisse für die gesamte dreidimensionale Region. Ein Vorteil der Histologie lag in der Bewertung auch nicht mineralisierten Knochens (Bernhardt *et al.*, 2012). Nach Parfitt *et al.* wurden bisherige dreidimensionale Informationen meistens aus mehreren zweidimensionalen, histologischen Schnitten abgeleitet. Dazu sei mit stereologischen Methoden und der Annahme, die Proben seien schichtweise identisch, gearbeitet worden (Parfitt *et al.*, 1987). Bernhardt *et al.* legten jedoch mehrere histologische Schnitte nebeneinander und zeigten, wie unterschiedlich die Knochenarchitektur der verschiedenen Schnitte war (Bernhardt *et al.*, 2012). Diese Abhängigkeit der Knochenparameter von der periimplantären Region unterstrichen sie auch in einer weiteren Analyse anhand eines SR μ CTs (Bernhardt *et al.*, 2004). Daher wird zukünftig das Etablieren einer neuen, dreidimensionalen Untersuchungsmethode periimplantären Knochens ohne stereologische Methode gefordert, die die Ergebnisse der konventionellen Histologie ergänzen kann.

4.2 Diskussion des Vergleichs Histologie und Mikro-Computertomographie

Im klinischen Alltag wird der Erfolg einer Implantattherapie vor allem anhand der Auswertung von Röntgenbildern beurteilt. Standardisierte Zahnfilmaufnahmen würden dabei den marginalen Knochen nahezu auf histologischem Level darstellen (Schwarz *et al.*, 2006). Röntgenaufnahmen können jedoch nur den approximalen Knochen abbilden. Der orale und vestibuläre Knochenverlauf überlagert sich und ist somit nicht beurteilbar. Gerade aus ästhetischer Sicht ist die vestibuläre Knochenregion allerdings bedeutsam.

Der periimplantäre Knochenverlauf wird daher präklinisch vor allem anhand der Hartgewebshistologie untersucht. Die Histologie kann je nach Schnittposition sowohl die mesio-distale als auch die vestibulo-orale Region bewerten. Sie kann dabei neben Knochen und Implantat auch die gesamte Weichgewebssituation in dem gleichen Präparat detailliert darstellen. Allerdings bedarf sie dafür eines sehr zeitaufwändigen und fehleranfälligen Herstellungsverfahrens, bei dem keine Garantie für ein Schnittpräparat, das das Implantat genau zentral schneidet, gegeben werden kann. Darüber hinaus kann die Histologie nur die gegebene Schnittposition analysieren. Die restliche Information aus der periimplantären Umgebung geht verloren (vergl. (Vandeweghe *et al.*, 2013; Becker *et al.*, 2015)). Gerade die dreidimensionale Analyse der periimplantären IS-CBI-Werte in dieser Arbeit zeigte jedoch die starke Varianz der Analyseparameter in der periimplantären Region, die die vorhergehende histologische Studie noch verdeckte (Schwarz *et al.*, 2015). Folglich ist zu diskutieren, wie repräsentativ bisherige histomorphometrische Analysen für die gesamte periimplantäre Region sein können.

Die Nachteile der konventionellen histologischen Auswertung versuchen dreidimensionale Untersuchungsmethoden auszugleichen. Sie könnten bisherige, variierende Studienergebnisse aus histologischen Untersuchungen erklären und neue Aspekte des periimplantären Lagers offenbaren. Die Mikro-Computertomographie (μ CT) kann dabei Details mit bis zu $0,5 \mu\text{m}$ -Auflösung darstellen und weist damit eine stark erhöhte Auflösung gegenüber konventioneller 3D-Technik, wie der konventionellen Computertomographie, auf. In früheren Studien konnte eine hohe Übereinstimmung histomorphometrischer und volumetrischer Untersuchungsparameter gefunden werden (Müller *et al.*, 1998; Thomsen *et al.*, 2005; Becker *et al.*, 2015).

Trotzdem wurde die μ CT als neue Untersuchungsmethode bisher nur in wenigen Studien validiert. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit ein Vergleich der konventionellen histologischen Analyse und der dreidimensionalen μ CT-Analyse selbiger Knochen-Implantat-Proben vollzogen. Um die μ CT-Ergebnisse mit denen der Histologie vergleichen zu können, wurden die Mittelwerte der oralen und bukkalen IS-CBI-Werte der dreidimensionalen Untersuchung bestimmt und Bland-Altman-Diagramme erstellt (siehe Abbildung 12).

Histologie und μ CT stimmten moderat überein. So lag die mittlere bukkale und orale Differenz bei 0,15 mm und 0,08 mm. Die kritische Differenz betrug bukkal 0,30 mm und oral 0,57 mm. Die mittlere Differenz ist ein Begriff der deskriptiven Statistik. Sie gibt an, wie stark Proben um den Mittelwert streuen und lag mit 0,15 mm bukkal und 0,08 mm oral nahe der Nulllinie. Damit zeigte sich, dass die Histologie den bukkalen und oralen Mittelwert aus der μ CT mit lediglich kleinen Fehlern widerspiegelte. Die dreidimensionale Untersuchungsmethode anhand der μ CT und der Matlab-Implementierung bestätigten daher ihre grundsätzliche Validität.

Dennoch war eine hohe kritische Differenz zu erkennen. Ein konstanter Fehler war jedoch nicht gegeben. Die kritische Differenz muss definitionsgemäß überschritten werden, damit eine Differenz zweier Werte signifikant ist. Liegt die absolute Differenz unter der kritischen Differenz, ist die Abweichung eher der generell möglichen Streuung geschuldet. Die hohe kritische Differenz in der vorliegenden Arbeit zeigte somit, dass mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit auch stärkere Abweichungen zwischen beiden Analysemethoden auftreten konnten, ohne von statistischer Signifikanz zu sein. Sie waren der starken Streuung der IS-CBI-Werte in der periimplantären Region geschuldet, die erst in der neuen dreidimensionalen Analyse unserer Arbeit erkennbar war. Auch innerhalb der einzelnen Gruppen konnte diese große Variabilität der Werte festgestellt werden. So zeigte zum Beispiel der Median der suprakrestalen Gruppe einen Netto-Knochengewinn, wohingegen im unteren Teil des 75 %-Quartils Proben mit einem Netto-Knochenverlust zu finden waren.

Folglich scheint die Histologie nicht repräsentativ für die gesamte bukkale und orale Region zu sein. So fanden auch Sennerby *et al.* in ihrer Studie heraus, dass die Histologie womöglich nicht die gesamte Information widerspiegelt (Sennerby *et al.*, 2001). Die hier vorliegende Arbeit bestätigte vielmehr die große Varianz der IS-CBI-Werte in den entsprechenden Regionen. Selbst innerhalb der relevanten Regionen

bukkal oder oral führten 5-10° Ortsunterschied zu Abweichungen in den IS-CBI-Distanzen. Dies führte zu dem Schluss, die IS-CBI-Distanz als eine signifikant ortsabhängige Größe zu definieren.

Auch ältere Studien erkannten bereits die Ortsabhängigkeit anderer Analyseparameter, wie des BICs (Wigianto *et al.*, 1997; Bernhardt *et al.*, 2012). Bernhardt *et al.* zeigten darüber hinaus die starke Variation der Knochenformation entlang der Implantatachse. Sie schlussfolgerten, dass eine anders gewählte Schnittposition in der Histologie mit den daraus errechneten Mittelwerten zu anderen, möglicherweise falschen Ergebnissen führen könnte (Bernhardt *et al.*, 2004). Trotzdem reichten in einer weiteren Studie auch in der zweidimensionalen Histologie 3-4 Schnittpräparate pro Probe aus, um repräsentative Ergebnisse für eine dreidimensionale Betrachtung zu erhalten (Bernhardt *et al.*, 2012). Die meisten Studienergebnisse basieren allerdings nur auf einem, in Ausnahmefällen auf zwei Schnittpräparaten pro Probe. Daher können die bisherigen histomorphometrischen Analysen kein umfassendes Verständnis der Analyseparameter schaffen und sind von der Schnittposition abhängig.

Aufgrund des sehr aufwändigen Herstellungsverfahrens histologischer Schnittpräparate, können außerdem Fehler, die der Präparat-Gewinnung geschuldet sind, nicht ausgeschlossen werden. So könnten beispielsweise Verzerrungen am Knochen-Implantat-*Interface* oder Schnittpräparate mit nicht zentral geschnittenen Implantaten entstehen, die verfälschte periimplantäre Analyseparameter nach sich ziehen könnten. Derartige Probleme sollten über die starke Ortsabhängigkeit periimplantärer Analyseparameter hinaus, insbesondere bei Studien mit nur einem histologischen Schnittpräparat als Referenz, bedacht werden.

Die hier neu vorgestellte dreidimensionale Methode ermöglichte hingegen eine Darstellung der gesamten, dreidimensionalen periimplantären Region und eine Mittelung der gewonnenen Daten, um repräsentativere Ergebnisse zu erhalten.

11 der 31 Proben wichen in den gemittelten IS-CBI-Werten der bukkalen und oralen Region um mehr als 0,2 mm von der Histologie ab. Letztlich führte vor allem die oben genannte starke Ortsabhängigkeit der Analyseparameter zu dieser Abweichung. Während die Histologie den IS-CBI-Wert nur aus einem einzigen Schnitt erhalten hat, wurden die repräsentativen IS-CBI-Werte bei der μ CT-Analyse aus 72 Schnitten gewonnen. Dabei zeigte die vorgestellte Methode, dass sich der Knochenverlauf in der gesamten periimplantären Region selbiger Probe immer wieder anders darstellte. Daher wäre auch eine Bestimmung eines allgemeinen Mittelwertes aus den dreidimensionalen

Ergebnissen ohne Nutzen. Die IS-CBI-Werte waren nicht normalverteilt. Mittelwerte würden somit den eigentlichen Zugewinn der neuen Methode verbergen und könnten, wie die konventionelle Histologie, nicht ausreichend repräsentativ sein.

Überdies stellte der Vergleich beider Methoden weitere Differenzen heraus. Während die vorherige histologische Untersuchung der Proben von einem Netto-Knochengewinn bei suprakrestaler Implantatinsertion und von einem Schutz des krestalen Knochens über *micro-grooved* Abutments sprach, konnte die neue dreidimensionale Methode dies nur bedingt bestätigen. So waren große Bereiche der krestalen Implantatoberfläche suprakrestal inserierter Implantate nicht von Knochen bedeckt und nicht die gesamte periimplantäre Region wies den in der histologischen Analyse identifizierten medianen Netto-Knochengewinn auf. Noch deutlicher war der Unterschied bei der Bewertung der *micro-grooved* Abutments, die eine starke Varianz der dreidimensionalen Analyseparameter verursachten. Je nach Insertionstiefe führten sie zu unterschiedlichen Ergebnissen, die kein abschließendes positives Statement, vergleichbar mit dem der vorherigen Histologie, zuließen.

Die vorliegende Arbeit zeigte somit, dass die konventionelle Histologie allein nicht mehr ausreichend sein kann, sondern ergänzender, dreidimensionaler Analysen wie der μ CT bedarf.

Trotzdem wird immer wieder auch die Repräsentativität der μ CT in Frage gestellt und in diesem Zusammenhang die Auswirkung metallischer Artefakte auf die Auswertung von μ CT-Analysen diskutiert. So wurde in einer früheren Studie beschrieben, dass Röntgenstrahlen, insbesondere beim Gebrauch eines konventionellen μ CT-Scanners mit stark absorbierendem Material wie Implantaten, energieabhängig abgeschwächt wurden (Bernhardt *et al.*, 2004). Metallische Artefakte, zu denen überdies die Streuung und das *Beam Hardening* zählen, führten hier zu höheren Werten in einer Implantatumgebung bis zu 200 μ m. Auch weitere Studien erhielten differierende Werte zwischen Histologie und μ CT. Zwar konnten Park *et al.* und Stadelmann *et al.* eine Übereinstimmung zwischen dem mit der Histologie bestimmten BIC und dem BIC der μ CT-Untersuchung finden (Park *et al.*, 2005; Stadelmann *et al.*, 2015), jedoch stellten Butz *et al.* sowie Liu *et al.* Abweichungen in der Knochenarchitektur und dem BIC zwischen beiden Methoden fest (Butz *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2012). Auch Meagher *et al.* begründeten diese Abweichung im BIC mit metallischen Artefakten in der näheren Implantatumgebung und zeigten, dass nur unter

optimalen Scanparametern der Einfluss metallischer Artefakte ausreichend reduziert wurde (Meagher *et al.*, 2018). In ihrer Studie führten eine Röhrenenergie von 90 kVp sowie eine Intensität von 88 μ A zu einer Reduktion metallischer Artefakte. Diese Werte wurden auch in der vorliegenden Arbeit angewendet und könnten das Ausmaß metallischer Artefakte somit reduziert haben. Metallische Artefakte entstehen besonders in näherer Umgebung des Implantats. In der Literatur wird daher ein Abstand zum Implantat in der Auswertung dreidimensionaler Untersuchungen gefordert. So konnten Liu *et al.* noch in 48 μ m Distanz eine erhöhte Strahlenabschwächung feststellen (Liu *et al.*, 2012). Auch Becker *et al.* wendeten eine Maske mit drei Pixeln Abstand von der Implantatoberfläche und zwei Pixeln Abstand von der Implantatschulter in ihrer Untersuchung der respektiven *slices* zwischen μ CT und Histologie an (Becker *et al.*, 2015). Über *Chamfer Matching* und *Simulated Annealing* konnten sie dann einen automatischen 2D-3D-Algorithmus entwickeln, der zur gegebenen Histologie die passende Ebene der μ CT-Datensätze selbiger Probe ermittelt.

Diese Maske diente auch in der hier vorliegenden Arbeit der Reduktion potenzieller Artefakte. Wie von Liu *et al.* gefordert, schloss die Maske die ersten drei Voxel um das Implantat von der Analyse aus (Liu *et al.*, 2012). Der Einfluss von Artefakten blieb in der vorliegenden Arbeit somit gering. So waren während der gesamten Visualisierung der Datensätze unter Verwendung der Matlab-Skripte diesbezüglich keine Auffälligkeiten ersichtlich. Zudem zeigt Abbildung 12, dass kein genereller Fehler der IS-CBI-Werte mit entweder zu hohen oder zu niedrigen Werten gegeben war, sondern lediglich eine starke Streuung der Werte vorlag. Auch die stärkeren Abweichungen der Werte von 11 der 31 Proben im Vergleich zur Histologie waren, wie oben dargelegt, eher ortsabhängigen Schwankungen der Analyseparameter geschuldet.

4.3 Diskussion des methodischen Vorgehens

In der hier vorliegenden Arbeit konnten über μ CT-Aufnahmen, zusammen mit ihrer Auswertung anhand spezifischer Matlab-Skripte, bei allen 31 Proben sowohl die Implantatachse als auch die linearen IS-CBI-Distanzen an 72 verschiedenen Regionen der Proben bestimmt werden. Die Ergebnisse wurden entsprechend der Regionen aufgezeichnet und in einzelnen Gruppen (supra-, epi-, subkrestal, *machined* Abutments, *micro-grooved* Abutments) zusammengefasst. In bisherigen Studien wurden die μ CT-Datensätze überwiegend mit einem dem Gerät zugehörigen Softwareprogramm ausgewertet (Becker *et al.*, 2017b). Die hier neu vorgestellte Methode der dreidimensionalen Auswertung anhand der in Matlab-Skripten implementierten Schritte des *Thresholdings*, der Implantatachsenbestimmung, der Reduzierung des Einflusses metallischer Artefakte sowie der Visualisierung der dreidimensionalen Datensätze und Errechnung der periimplantären IS-CBI-Distanzen erwies sich nun ebenfalls als funktionstüchtig. So bestätigte ein Vergleich der so gewonnenen IS-CBI-Werte mit denen der vorher durchgeführten histomorphometrischen Analyse die Validität der neuen Methodik.

Die Analyse der 31 Datensätze unterteilte sich in vier Hauptschritte: die Identifikation der Implantatachse, die Gewinnung der einzelnen *slices*, die Errechnung der IS-CBI-Distanzen als Referenz für das CBL sowie die Strukturierung der gewonnenen Daten. Zu ihrer Funktion benötigten die Matlab-Skripte dabei mehrere manuelle Eingaben und visuelle Kontrollen.

Ein wichtiger Schritt zur folgerichtigen Auswertung dreidimensionaler Datensätze ist die korrekte Segmentierung der gewonnenen Bilder in die für die Analyse wichtigen Bildbestandteile. Das einfachste Verfahren zur Segmentierung ist das *Thresholding*. Um den periimplantären krestalen Knochenverlauf der Proben bewerten zu können, mussten diese zunächst in trinäre, ausschließlich den Knochen und das Implantat darstellende Bilder segmentiert werden. Bernhard *et al.* stellten zuvor fest, dass *Thresholding*-Werte für Einbettmaterial und Knochen, insbesondere bei Polymethylmethacrylat (PMMA), überlappten und für konventionelle μ CT-Scanner beim *Thresholding* keine Normalverteilung vorlag. Dies führte zu einer schwierigen Segmentierung und zu möglichen Fehlern in der quantitativen Auswertung (Bernhardt *et al.*, 2004). Trotz der Einbettung unserer Proben in PMMA gelang die Segmentierung der μ CT-Datensätze in

trinäre Bilder in der vorliegenden Arbeit problemlos. So zeigte die Visualisierung der in den Folgeschritten ermittelten *slices* keine Anhaltspunkte für verzerrte Knochen-Implantat-Übergänge oder abrupte Knochenverläufe. Selbige *Thresholding*-Werte führten in einer Studie sogar zu einer derartig guten Segmentierung des Knochens der dreidimensionalen Datensätze, dass dieser bei Überlagerung mit dem entsprechenden histomorphometrischen Schnitt der Probe eine hohe Übereinstimmung zeigte (Becker *et al.*, 2015).

Nach der erfolgreichen Segmentierung wurde die Implantatachse bestimmt. Hierbei traten bei 6 der 31 Proben Probleme bei der automatischen Vorausrichtung der Implantatachse auf. So waren teils verzogene und seitenverkehrte Implantatdarstellungen zu erkennen. Diesen Darstellungen lagen jedoch keine eigentlichen Fehler zugrunde. Zur Vorausrichtung der Implantatachse wurde eine *Principal Component Analysis* angewendet, die aus der Wolke möglicher Implantatanteile einen zentralen Vektor annäherte. Der so ermittelte Vektor war jedoch ungerichtet. Das möglicherweise seitenverkehrte Ausrichten der Datensätze war somit einkalkuliert und dem Prinzip der *Principal Component Analysis* sowie teils angeschnittenen Implantat- und Knochenrändern bei der Gewinnung der dreidimensionalen Datensätze geschuldet. Über ein neues Einlesen der Roh-Datensätze war diese seitenverkehrte Ausrichtung zu beheben. So konnte die *Principal Component Analysis* erneut ablaufen und eine korrekte Ermittlung der Implantatachse bewerkstelligen. Die *Principal Component Analysis* berechnete einen Vektor, der möglichst zentral durch die gefundenen Pixel, die als Implantat segmentiert wurden, verlief und so die Implantatachse repräsentierte. Bei stark angeschnittenen Implantaten konnte diese Berechnung falsch ablaufen. Um derartige Probleme zu vermeiden, sollte zukünftig das gesamte Implantat samt des periimplantären Knochens gescannt werden. So könnte bei der Bestimmung der Implantatachse Zeit gespart werden.

Das gesuchte CBL wurde schließlich anhand der IS-CBI-Distanzen bewertet. Diese wurden an 72 verschiedenen Positionen rund um das Implantat als Distanz zwischen der Implantatschulter (IS) und dem koronalsten Knochen-Implantat-Kontakt (CBI) gemessen. Die Implantatschulter stellt dabei eine starke, wieder auffindbare Referenz dar. Sie diente auch in anderen Studien als Referenzpunkt (Cochran *et al.*, 2009; Veis *et al.*, 2010).

Um die ermittelten IS-CBI-Distanzen ortsabhängig bewerten zu können, musste die periimplantäre Region in die bukkale, orale und proximale Implantatregion eingeteilt

werden. Diese Einteilung wurde visuell anhand der Bewertung der 72 *slices* vorgenommen. Zukünftig wäre allerdings ein Markieren der bukkalen Region, die besondere ästhetische und klinische Relevanz hat, sinnvoller. Dafür könnte beispielsweise eine Titankugel oder ein ähnliches röntgenopakes, jedoch vom Knochen zu differenzierendes Objekt verwendet werden. So könnte der zeitaufwändige Schritt der visuellen Einteilung entfallen.

Die IS-CBI-Distanzen sollten senkrecht zur Implantatachse erhoben werden, um Verzerrungen zu vermeiden und sicher den kristalsten Knochenanteil zu bestimmen. So wurde auch in der in Matlab implementierten Methode ein Verfahren angewendet, um eine senkrecht zur Implantatachse ablaufende Analyse zu gewährleisten. Dazu wurde ein Vektor (v) bestimmt, der senkrecht auf die Implantatachse ausgerichtet und in 5°-Schritten um das Implantat rotiert wurde. Die Visualisierung der so ermittelten *slices* bestätigte die korrekte senkrechte Ausrichtung. Die Histologie kann eine solche senkrechte Analyse hingegen nicht immer garantieren. So müsste sie dafür zunächst einen zentralen Schnitt durch die Implantatachse gewährleisten, der aber gerade vor dem Hintergrund der aufwändigen Herstellungsmethode histologischer Schnittpräparate nicht immer möglich ist.

Immer wieder wird auch die negative Auswirkung metallischer Artefakte bei μ CT-Analysen diskutiert. Der Vergleich der Histologie und μ CT zeigte zum Teil starke Abweichungen zwischen den histologischen IS-CBI-Werten und den gemittelten IS-CBI-Werten der entsprechenden Regionen der dreidimensionalen Untersuchung. Neben der ortsabhängigen Varianz der Analyseparameter, die erst die dreidimensionale Untersuchungsmethode aufzeigte, könnte eine weitere Erklärung dieser Abweichung in der Probenauswertung liegen. Hier könnten einerseits Artefakte zu einer Verfälschung der Analyseparameter geführt haben. Artefakte treten jedoch vor allem in näherer Umgebung des Implantats auf und wurden aufgrund der Anwendung von Filtern und dem bei der Analyse berücksichtigten Abstand der untersuchten Parameter zum Implantat weitgehend reduziert. So zeigte auch die 3D-2D-Registrierung histologischer Schnittpräparate sowie der entsprechenden μ CT-Scans, dass die Areale zwischen der Implantatschulter und dem kristalsten Knochenlevel gut übereinstimmen. Probleme gab es nur weiter apikal am Implantat (Becker *et al.*, 2015). Andererseits wurden in der dreidimensionalen Auswertung positive IS-CBI-Distanzen gleich Null gesetzt. Knochen, der in den Proben über die Implantatschulter reichte, wurde somit nicht berücksichtigt. Dieser Schritt war sinnvoll, um zu analysieren, wie stark kristale

Implantatanteile von Knochen bedeckt waren und nicht anhand dieser positiven Knochenwerte freiliegende Implantathälse anderer Proben fälschlicherweise herauszumitteln. Vorherige histologische Studien haben diese positiven IS-CBI-Werte jedoch berücksichtigt und dadurch genau diese möglichen Dehiszenzen anderer Proben in der Gesamtaussage herausgemittelt (Cochran *et al.*, 2009; Schwarz *et al.*, 2015).

Letztlich führte die hier vorgestellte neue methodische Vorgehensweise zu einem Zugewinn wichtiger Informationen. Sie präsentierte die Streuung der Analyseparameter in der periimplantären Region. Mittelwerte sowie ein einzelner histologischer Schnitt verbergen diese Information. So hat die dreidimensionale Analyse der Proben gezeigt, dass Analyseparameter in der Regel nicht normalverteilt waren.

Darüber hinaus entsprach die neue Methodik dem 3-R-Prinzip des Tierschutzes, indem verglichen mit der destruktiven Histologie weniger Tiere für präklinische Studien zur Verfügung gestellt werden müssen.

4.4 Limitationen

Trotzdem wies die vorliegende Arbeit auch Limitationen auf.

So war die gewählte Probenanzahl mit 31 gescannten Proben relativ gering. Da sich diese 31 Proben auf sechs Untergruppen aufteilten, war die Probenanzahl pro Gruppe noch deutlich geringer. Schon einzelne Ausreißer in den Probenergebnissen könnten daher zu deutlichen Veränderungen in der Statistik führen. Bei der Auswahl der Probenanzahl stehen sich jedoch Fragen der Ethik und Statistik gegenüber. Zwar wäre eine größere Probenanzahl sinnvoll für eine repräsentativere Statistik gewesen, allerdings wäre dazu eine höhere Anzahl an Tieren geopfert worden. Außerdem war in einer früheren Metaanalyse zur Analyse anderer Einflussfaktoren auf die krestale Knochenresorption das Kriterium zur Berücksichtigung der jeweiligen Studie ein $n > 2$ pro Gruppe (Schwarz *et al.*, 2014). Dieses n kann auch die hier vorliegende Studie erfüllen.

Darüber hinaus setzten sich die einzelnen Studiengruppen aus unterschiedlichen Probenanzahlen zusammen. Bei einem so kleinen n zwischen 3 bis 5 Proben pro Gruppe, könnte dies zu Schwierigkeiten in der Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Gruppen untereinander führen. Grundsätzlich wurden aber vergleichbare n in den Gruppen verwendet. Außerdem wurde ein über die deskriptive Statistik hinausgehender Vergleich der Gruppen untereinander nicht angestrebt. Dieser wäre kein Zugewinn zu der bereits publizierten histologischen Vergleichsstudie selbiger Proben gewesen (Schwarz *et al.*, 2015).

Darüber hinaus blieben in der vorliegenden Arbeit weitere mögliche Einflussfaktoren auf die krestalen Knochenumbauprozesse, wie das *Platform-Switching* oder das Implantatsystem an sich, unberücksichtigt. Ihr genauer Einfluss auf das CBL blieb unbekannt. Zu deren Beurteilung wären Vergleichsgruppen ohne *Platform-Switching* und anderer Implantatsysteme nötig gewesen. Derartige Vergleichsgruppen wurden vernachlässigt, da sich sowohl das *Platform-Switching* als auch das in der vorliegenden Arbeit angewandte Conelog Implantatsystem in bisherigen Studien jeweils positiv auf das CBL auswirkten. So wurden durch *Platform-Switching*-Verbindungen der *Microgap* und der damit verbundene Stress, Mikrobewegungen und die Entzündung vom krestalen Knochen entfernt und dadurch die apikale Migration der biologischen Breite sowie der Knochenverlust reduziert (Lazzara und Porter, 2006; Atieh *et al.*, 2010). Auch die konische Verbindung der Conelog-Implantate erzielte in einer

klinischen Studie signifikant bessere CBL-Werte als Stoß-auf-Stoß-Verbindungen (Knöfler *et al.*, 2016). Die Promote Oberfläche bis zur Implantatschulter ohne maschinieren Anteil könnte den Knochenverlust in der vorliegenden Arbeit zusätzlich reduziert haben. So waren in einer anderen Studie bereits Promote Plus Oberflächen mit 0,4 mm maschiniertem Implantatthals solchen mit 1,6 mm maschiniertem Anteil deutlich überlegen (Schwarz *et al.*, 2008). Der Einfluss beider Parameter wurde somit schon hinreichend untersucht und als positiv bewertet. Er sollte nicht mehr Gegenstand der vorliegenden Arbeit sein.

Weiterhin wird immer wieder die Auswirkung metallischer Artefakte, wie der Streuung, des *Beam Hardening*s und der *Partial Volume Effects*, auf die Auswertung von μ CT-Analysen diskutiert. So könnten metallische Artefakte zu einer Verfälschung der Analyseparameter führen (Liu *et al.*, 2012; Meagher *et al.*, 2018). Bernhardt *et al.* gingen sogar so weit, konventionelle μ CT-Scanner für den Gebrauch von Gewebeproben mit hoher Absorption zu untersagen (Bernhardt *et al.*, 2012). Auch in der vorliegenden Arbeit ist der Einfluss möglicher Artefakte auf die erhobenen IS-CBI-Werte nicht auszuschließen. Metallische Artefakte treten vor allem in näherer Umgebung des Implantats auf. In der vorliegenden Arbeit wurde daher eine Exklusionszone bei Auswertung der IS-CBI-Werte beachtet. Durch diesen bei der Analyse berücksichtigen Abstand der untersuchten Parameter zum Implantat konnten Artefakte weitgehend reduziert werden.

Die Histologie kann Analyseparameter hingegen unmittelbar am Implantat bestimmen. Dieser Unterschied könnte die Vergleichbarkeit gewonnener Daten aus der Histologie und der μ CT in Frage stellen. Die hier angewendete Maske zur Wahrung der genannten Exklusionszone betrug jedoch nur drei Voxel Abstand vom Implantat. Knochenunterschiede in diesem Bereich sind unwahrscheinlich. Auch Meagher *et al.* erhoben in ihrer Studie trotz eines Abstandes zum Implantat in der Auswertung repräsentative Analyseergebnisse. Um den wahren BIC zu bestimmen, sollte ihnen zufolge jedoch nach wie vor auf die Histologie zurückgegriffen werden (Meagher *et al.*, 2018). Die μ CT sollte daher zukünftig als ergänzende, jedoch nicht als ersetzende Methode zusätzlich zu der konventionellen Histologie gesehen werden.

4.5 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

In einer kürzlich durchgeführten Studie wurde der Einfluss der Insertionstiefe und Abutment-Mikrostruktur auf das periimplantäre krestale Knochenlevel (CBL) histologisch untersucht (Schwarz *et al.*, 2015). Die Hartgewebshistologie kann sowohl das Weichgewebe als auch den Knochen und das Implantat detailliert darstellen. Ein zentraler Vorteil der konventionellen Histologie ist die Bewertung des direkten Knochen-Implantat-*Interfaces*. Allerdings unterliegt sie einer sehr zeitaufwändigen und fehleranfälligen Herstellungsmethode. Während die konventionelle Histologie auf die zweidimensionale Region des Schnittpräparats beschränkt ist, können dreidimensionale Analysemethoden auch die in bisherigen Studien unberücksichtigten periimplantären Regionen bewerten und neue Einsichten in jeglichen Bereichen der Forschung liefern. Bisherige Anwendungen der dreidimensionalen Mikro-Computertomographie (μ CT) in der Oralchirurgie dienten vor allem der Analyse des Knochen-Implantat-Kontakts (BIC) und der Knochenarchitektur. Hierbei wurden die μ CT-Datensätze überwiegend mit den Softwareprogrammen der μ CT-Gerätehersteller ausgewertet.

In der vorliegenden Arbeit wurde nach bestem Wissen der Autoren erstmals auch das krestale Knochenlevel dreidimensional anhand von μ CT-Aufnahmen untersucht. Dazu wurde eine neue Methode zur dreidimensionalen Auswertung der gewonnenen μ CT-Datensätze anhand einer Implementierung des *Image Processings* und der *Image Analysis* in Matlab angewendet. Diese neue Methode wurde auf Proben der oben genannten histologischen Studie angewendet, die noch vor ihrer histologischen Aufbereitung mittels μ CT gescannt worden waren. Sie bestimmte alle 5° und somit an 72 verschiedenen Positionen ($360^\circ : 5^\circ = 72$) rund um das Implantat der jeweiligen Knochen-Implantat-Proben die Distanz zwischen der Implantatschulter (IS) und dem koronalsten Knochen-Implantat-Kontakt (CBI), die IS-CBI-Distanz. Der so in der gesamten periimplantären Region ermittelte IS-CBI-Verlauf repräsentierte das gesuchte CBL. Dieses war von der Insertionstiefe, der Abutment-Mikrostruktur und insbesondere von der räumlichen Region abhängig.

Entsprechend der vorhergehenden Histologie führte in der vorliegenden Arbeit eine suprakrestale Insertion der Implantate zu einem medianen Netto-Knochengewinn, während eine subkrestale Insertionstiefe, verglichen mit der supra- und epikrestalen Implantatinsertion, den stärksten medianen Netto-Knochenverlust verzeichnete. Trotzdem war vor allem bei Proben mit subkrestaler Implantatinsertion die

Implantatschulter mit Knochen bedeckt. Diese Knochenbedeckung war bei epikrestal gesetzten Implantaten nur teilweise gegeben, bei suprakrestaler Insertion fehlte das krestale knöcherne Attachment im Bereich der Implantatschulter völlig. Gerade aus klinischer Sicht ist jedoch eine knöcherne Bedeckung krestaler Implantatanteile zur Vermeidung periimplantärer Infektionen relevant. Daher sollte zukünftig bei Insertionsempfehlungen bedacht werden, dass zwar nur eine suprakrestale Implantatinsertion krestale Knochenumbauprozesse minimieren konnte, die knöcherne Bedeckung krestaler Implantatanteile hingegen am besten mit einer subkrestalen Implantatinsertion zu erzielen war.

Auch die Abutment-Mikrostruktur beeinflusste den krestalen Knochen. Ihr Einfluss variierte je nach Insertionstiefe. So zeigten *micro-grooved* Abutments zum Teil starke Dehiszenzen je nach Insertionstiefe, die so in der vorherigen Histologie nicht beschrieben wurde. Der Histologie entsprechend, wiesen jedoch vor allem *machined* Abutments eine größere Streuung der IS-CBI-Werte innerhalb der einzelnen Gruppen sowie höhere IS-CBI-Werte und demnach einen stärkeren Knochenverlust auf. Folglich könnten zukünftig *micro-grooved* Abutments zum Schutz des krestalen Knochens zum Einsatz kommen. Für ein endgültiges Statement sollten jedoch weitere Studien folgen, die insbesondere Manipulationen, wie die routinemäßige Re- und Diskonnektion der Abutments in der Heilungsphase, berücksichtigen. Solche Manipulationen führten bereits in einer früheren Studie zu erhöhten Knochenresorptionen und könnten gerade bei rauen Abutments stärker ausfallen (Iglhaut *et al.*, 2013).

Ein zentraler Zugewinn dieser Arbeit war überdies die Einsicht, dass die ermittelten IS-CBI-Werte in besonderem Maße von der Orientierung der Probe abhängig waren. Erst durch die dreidimensionale Analyse konnte eine starke periimplantäre Streuung der Analyseparameter festgestellt werden. Sowohl innerhalb der Gruppen als auch innerhalb der einzelnen Proben war eine große Varianz der IS-CBI-Werte zu erkennen. In der übergeordneten bukkalen und oralen Region variierten die IS-CBI-Werte bei nur wenigen Grad Veränderung. Das krestale Knochenlevel war somit stark ortsabhängig. Eine auf der konventionellen Histologie basierende Statistik verbirgt diese Information. Die neue Analyse zeigte vielmehr, dass Analyseparameter in der periimplantären Region nicht normalverteilt sind. Bisherige histologische Studien sollten daher kritisch betrachtet werden. Schon eine kleine Änderung in der Schnittposition könnte zu großen Änderungen der Analyseparameter führen.

Die IS-CBI-Werte der vorherigen histologischen Analyse stimmten aufgrund dieser starken Varianz in der periimplantären Region nur moderat mit den dreidimensionalen Werten dieser Arbeit überein. Darüber hinaus zeigte die neue dreidimensionale Untersuchung, dass zum Teil erhebliche Anteile epikrestal inserierter Implantate nicht von Knochen bedeckt waren, während noch in der vorherigen histologischen Untersuchung selbiger Proben eine sub- bis epikrestale Insertionsposition empfohlen wurde. Daher sollte zukünftig die histologische Schnittposition kritisch ausgewählt und bestenfalls mehrere Schnitte pro Probe und Region zu einer Mittelung der gewonnenen Werte angefertigt werden.

Die μ CT sollte als komplementäre Methode für den Gewinn weiterer Informationen über den periimplantären Knochen genutzt werden. Als nicht-destruktive Methode ermöglicht die μ CT die Untersuchung unterschiedlicher Parameter an derselben Probe sowie weitere Untersuchungsmethoden, wie eine histologische Aufbereitung, im Anschluss. Nachteile der μ CT sind in der langen Scandauer, der hohen Strahlendosis für *in-vivo*-Analysen und insbesondere in metallischen Artefakten zu sehen, die eine Beurteilung des direkten Knochen-Implantat-*Interfaces* erschweren könnten. Artefakte treten vor allem in der näheren Implantatumgebung auf und könnten zu Verfälschungen der Analyseparameter führen. Zukünftig müssen daher neben der Berücksichtigung einer entsprechenden Exklusionszone um das Implantat eine weitere Artefaktminimierung und eine Vereinheitlichung der Analyseparameter angestrebt werden.

Die neue Herangehensweise mit einer Matlab-Implementierung zum automatischen *Image Processing* und *Image Analysis* könnte ein Schritt in Richtung dieser Vereinheitlichung sein und bestätigte in der Arbeit ihre Funktionstüchtigkeit. Sie könnte zukünftig als Alternative zu konventionellen Softwareprogrammen der μ CT-Gerätehersteller genutzt werden und zu einer besseren Vergleichbarkeit der Studienergebnisse führen. Das hier verwendete Skript wurde jedoch nur zur Analyse des krestalen Knochenverlaufs anhand der IS-CBI-Distanzen geschrieben. In weiteren Studien sollte das Skript daher überarbeitet werden und weitere Programme zur Analyse anderer Fragestellungen entwickelt werden.

5 Literaturverzeichnis

Abrahamsson, I., Berglundh, T., Wennström, J. & Lindhe, J. (1996) ‘The peri-implant hard and soft tissues at different implant systems. A comparative study in the dog.’, *Clinical Oral Implants Research*, 7(3), pp. 212–219. doi: 10.1034/j.1600-0501.1996.070303.x.

Adell, R., Lekholm, U., Rockler, B. & Brånemark, P. I. (1981) ‘A 15-year study of osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw.’, *International Journal of Oral Surgery*, 10(6), pp. 387–416. doi: 10.1016/S0300-9785(81)80077-4.

Al-amri, S. S., Kalyankar, N. V & Khamitkar, S. D. (2010) ‘Image Segmentation by Using Thershod Techniques’, *Journal of Computing*, 2(5), pp. 83–86.

Albrektsson, T., Buser, D. & Sennerby, L. (2012) ‘Crestal Bone Loss and Oral Implants’, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, 14(6), pp. 783–791. doi: 10.1111/cid.12013.

Albrektsson, T., Buser, D. & Sennerby, L. (2013) ‘On Crestal/ Marginal Bone Loss Around Dental Implants’, *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 33(1), pp. 9–11.

Albrektsson, T., Zarb, G., Worthington, P. & Eriksson, A. R. (1986) ‘The long-term efficacy of currently used dental implants: a review and proposed criteria of success.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. UNITED STATES, 1(1), pp. 11–25.

Alonso-González, R., Aloy-Prósper, A., Peñarrocha-Oltra, D., Peñarrocha-Diago, M. A. & Peñarrocha-Diago, M. (2012) ‘Marginal bone loss in relation to platform switching implant insertion depth: An update.’, *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 4(3), pp. e173-179. doi: 10.4317/jced.50743.

Al Amri, M. D. (2016) ‘Crestal bone loss around submerged and nonsubmerged dental implants: A systematic review.’, *The Journal of Prosthetic Dentistry*, 115(5), pp. 564-570. doi: 10.1016/j.prosdent.2015.11.002.

Araújo, M. G., Sukekava, F., Wennström, J. L. & Lindhe, J. (2005) ‘Ridge alterations following implant placement in fresh extraction sockets: An experimental study in the dog’, *Journal of Clinical Periodontology*, 32(6), pp. 645–652. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00726.x.

Atieh, M. A., Ibrahim, H. M. & Atieh, A. H. (2010) ‘Platform switching for marginal bone preservation around dental implants: a systematic review and meta-analysis.’, *The Journal of Periodontology*, 81(10), pp. 1350–1366. doi: 10.1902/jop.2010.100232.

Balshe, A. A., Assad, D. A., Eckert, S. E., Koka, S. & Weaver, A. L. (2009) ‘A retrospective study of the survival of smooth- and rough-surface dental implants.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(6), pp. 1113–1118.

Becker, J., Ferrari, D., Herten, M., Kirsch, A., Schaer, A. & Schwarz, F. (2007) ‘Influence of platform switching on crestal bone changes at non-submerged titanium implants: A histomorphometrical study in dogs’, *Journal of Clinical Periodontology*, 34(12), pp. 1089–1096. doi: 10.1111/j.1600-051X.2007.01155.x.

- Becker, J., Ferrari, D., Mihatovic, I., Sahn, N., Schaer, A. & Schwarz, F. (2009)** ‘Stability of crestal bone level at platform-switched non-submerged titanium implants: A histomorphometrical study in dogs’, *Journal of Clinical Periodontology*, 36(6), pp. 532–539. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01413.x.
- Becker, K. (2014)** ‘3D-2D registration of histological images with microCT volumes using Chamfer Matching and simulated annealing’ [Masterarbeit]. Göttingen: Universität.
- Becker, K., Drescher, D., Hönscheid, R., Golubovic, V., Mihatovic, I. & Schwarz, F. (2017b)** ‘Biomechanical, micro-computed tomographic and immunohistochemical analysis of early osseous integration at titanium implants placed following lateral ridge augmentation using extracted tooth roots’, *Clinical Oral Implants Research*, 28(3), pp. 334–340. doi: 10.1111/clr.12803.
- Becker, K., Klitzsch, I., Stauber, M. & Schwarz, F. (2017a)** ‘Three-dimensional assessment of crestal bone levels at titanium implants with different abutment microstructures and insertion depths using micro-computed tomography.’, *Clinical Oral Implants Research*, 28(6), pp. 671–676. doi: 10.1111/clr.12860.
- Becker, K., Mihatovic, I., Golubovic, V. & Schwarz, F. (2012)** ‘Impact of abutment material and dis-/re-connection on soft and hard tissue changes at implants with platform-switching’, *Journal of Clinical Periodontology*, 39(8), pp. 774–780. doi: 10.1111/j.1600-051X.2012.01911.x.
- Becker, K., Stauber, M., Schwarz, F. & Reißbarth, T. (2015)** ‘Automated 3D-2D registration of X-ray microcomputed tomography with histological sections for dental implants in bone using chamfer matching and simulated annealing’, *Computerized Medical Imaging and Graphics*, 44, pp. 62–68. doi: 10.1016/j.compmedimag.2015.04.005.
- Berglundh, T., Abrahamsson, I., Welander, M., Lang, N. P. & Lindhe, J. (2007b)** ‘Morphogenesis of the peri-implant mucosa: An experimental study in dogs’, *Clinical Oral Implants Research*, 18(1), pp. 1–8. doi: 10.1111/j.1600-0501.2006.01380.x.
- Berglundh, T., Gotfredsen, K., Zitzmann, N. U., Lang, N. P. & Lindhe, J. (2007a)** ‘Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface roughness: An experimental study in dogs’, *Clinical Oral Implants Research*, 18(5), pp. 655–661. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01397.x.
- Berglundh, T. & Lindhe, J. (1996)** ‘Dimension of the periimplant mucosa. Biological width revisited.’, *Journal of Clinical Periodontology*, 23(10), pp. 971–973. doi: 10.1111/j.1600-051X.1996.tb00520.x.
- Berglundh, T., Lindhe, J., Ericsson, I., Marinello, C. P., Liljenberg, B. & Thomsen, P. (1991)** ‘The soft tissue barrier at implants and teeth.’, *Clinical Oral Implants Research*, 2(2), pp. 81–90. doi: 10.1034/j.1600-0501.1991.020206.x.
- Bernhardt, R., Kuhlisch, E., Schulz, M. C., Eckelt, U. & Stadlinger, B. (2012)** ‘Comparison of bone-implant contact and bone-implant volume between 2D-histological sections and 3D-SR μ CT slices’, *European Cells and Materials*, 23, pp. 237–248. doi: 10.22203/eCM.v023a18.

- Bernhardt, R., Scharnweber, D., Müller, B., Thurner, P., Schliephake, H., Wyss, P., Beckmann, F., Goebels, J. & Worch, H. (2004)** ‘Comparison of microfocus- and synchrotron X-ray tomography for the analysis of osteointegration around Ti6Al4V implants.’, *European Cells and Materials*, 7, pp. 42–51. doi: vol007a05 [pii].
- Bissinger, O., Probst, F. A., Wolff, K.-D., Jeschke, A., Weitz, J., Deppe, H. & Kolk, A. (2017)** ‘Comparative 3D micro-CT and 2D histomorphometry analysis of dental implant osseointegration in the maxilla of minipigs.’, *Journal of Clinical Periodontology*. United States, 44(4), pp. 418–427. doi: 10.1111/jcpe.12693.
- Boas, F. E. & Fleischmann, D. (2012)** ‘CT artifacts: causes and reduction techniques’, *Imaging in Medicine*, 4(2), pp. 229–240. doi: 10.2217/iim.12.13.
- Bouxein, M. L., Boyd, S. K., Christiansen, B. A., Guldberg, R. E., Jepsen, K. J. & Müller, R. (2010)** ‘Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography.’, *Journal of Bone and Mineral Research*, 25(7), pp. 1468–1486. doi: 10.1002/jbmr.141.
- Brånemark, P. I. (1959)** ‘Vital microscopy of bone marrow in rabbit.’, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. England, 11(Supp 38), pp. 1–82.
- Brånemark, P. I. (1983)** ‘Osseointegration and its experimental background.’, *The Journal of Prosthetic Dentistry*. United States, 50(3), pp. 399–410.
- Brånemark, P. I., Hansson, B. O., Adell, R., Breine, U., Lindström, J., Hallén, O. & Ohman, A. (1977)** ‘Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period.’, *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery. Supplementum*. SWEDEN, 16, pp. 1–132.
- Broggini, N., McManus, L. M., Hermann, J. S., Medina, R., Schenk, R. K., Buser, D. & Cochran, D. L. (2006)** ‘Peri-implant inflammation defined by the implant-abutment interface.’, *Journal of Dental Research*, 85(5), pp. 473–478. doi: 10.1177/154405910608500515.
- Broggini, N., McManus, L. M., Hermann, J. S., Medina, R. U., Oates, T. W., Schenk, R. K., Buser, D., Mellonig, J. T. & Cochran, D. L. (2003)** ‘Persistent Acute Inflammation at the Implant-Abutment Interface’, *Journal of Dental Research*, 82(3), pp. 232–237.
- Buser, D., Martin, W. & Belser, U. (2005)** ‘Ästhetische Optimierung von implantatgetragenen Kronen und Brücken in der Oberkieferfront: Anatomische und chirurgische Aspekte’, *Implantologie*, 13(2), pp. 43–61.
- Buser, D., Mericske-Stern, R., Bernard, J.-P., Behneke, A., Behneke, N., Hirt H. P., Belser, U. C. & Lang, N. P. (1997)** ‘Long-term evaluation of non-submerged ITI implants. Part 1: 8-year life table analysis of a prospective multi-center study with 2359 implants.’, *Clinical Oral Implants Research*, 8(3), pp. 161–172.
- Buser, D., Schenk, R. K., Steinemann, S., Fiorellini, J. P., Fox, C. H. & Stich, H. (1991)** ‘Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs.’, *Journal of Biomedical Materials Research*, 25(7), pp. 889–902. doi: 10.1002/jbm.820250708.

- Butz, F., Ogawa, T., Chang, T.-L. & Nishimura, I. (2006)** ‘Three-dimensional bone-implant integration profiling using micro-computed tomography.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 21(5), pp. 687–695.
- Canullo, L. & Rasperini, G. (2007)** ‘Preservation of peri-implant soft and hard tissues using platform switching of implants placed in immediate extraction sockets: a proof-of-concept study with 12- to 36-month follow-up.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 22(6), pp. 995–1000.
- Chang, Y. Y., Kim, S. H., Park, K. O. & Yun, J. H. (2017)** ‘Effect of microthreads on coronal bone healing of narrow-diameter implants with reverse-tapered design in beagle dogs.’, *Clinical Oral Implants Research*, 28(12), pp. 1532–1542. doi: 10.1111/clr.13022.
- Chappard, D., Retailliau-Gaborit, N., Legrand, E., Baslé, M. F. & Audran, M. (2005)** ‘Comparison insight bone measurements by histomorphometry and μ CT.’, *Journal of Bone and Mineral Research*, 20(7), pp. 1177–1184. doi: 10.1359/JBMR.050205.
- Cochran, D. L. (1999)** ‘A Comparison of Endosseous Dental Implant Surfaces.’, *Journal of Periodontology*, 70(12), pp. 1523–1539.
- Cochran, D. L., Bosshardt, D. D., Grize, L., Higginbottom, F. L., Jones, A. A., Jung, R. E., Wieland, M. & Dard, M. (2009)** ‘Bone response to loaded implants with non-matching implant-abutment diameters in the canine mandible.’, *Journal of Periodontology*, 80(4), pp. 609–617. doi: 10.1902/jop.2009.080323.
- Cochran, D. L., Hermann, J. S., Schenk, R. K., Higginbottom, F. L. & Buser, D. (1997)** ‘Biologic Width Around Titanium Implants. A Histometric Analysis of the Implanto-Gingival Junction Around Unloaded and Loaded Nonsubmerged Implants in the Canine Mandible.’, *Journal of Periodontology*, 68(2), pp. 186–198.
- Daubert, D. M., Weinstein, B. F., Bordin, S., Leroux, B. G. & Flemming, T. F. (2015)** ‘Prevalence and Predictive Factors for Peri-Implant Disease and Implant Failure: A Cross-Sectional Analysis.’, *Journal of Periodontology*, 86(3), pp. 337–347. doi: 10.1902/jop.2014.140438.
- Degidi, M., Perrotti, V., Shibli, J. A., Novaes, A. B., Piattelli, A. & Iezzi, G. (2011)** ‘Equicrestal und Subcrestal Dental Implants: A Histologic and Histomorphometric Evaluation of Nine Retrieved Human Implants’, *Journal of Periodontology*, 82(5), pp. 708–715. doi: 10.1902/jop.2010.100450.
- Dempster, D. W., Compston, J. E., Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., Meunier, P. J., Ott, S. M., Recker, R. R. & Parfitt, A. M. (2013)** ‘Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: A 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee’, *Journal of Bone and Mineral Research*, 28(1), pp. 2–17. doi: 10.1002/jbmr.1805.
- Derks, J. & Tomasi, C. (2015)** ‘Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology’, *Journal of Clinical Periodontology*, 42(S16), pp. S158–S171. doi: 10.1111/jcpe.12334.
- Dias, D. R., Leles, C. R., Batista, A. C., Lindh, C. & Ribeiro-Rotta, R. F. (2015)** ‘Agreement between Histomorphometry and Microcomputed Tomography to Assess

Bone Microarchitecture of Dental Implant Sites.’, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*. United States, 17(4), pp. 732–741. doi: 10.1111/cid.12176.

Donath, K. & Breuner, G. (1982) ‘A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique.’, *Journal of Oral Pathology*. Denmark, 11(4), pp. 318–326.

Ejima, K., Omasa, S., Motoyoshi, M., Arai, Y., Kai, Y., Amemiya, T., Yamada, H., Honda, K. & Shimizu, N. (2012) ‘Influence of metal artifacts on in vivo micro-CT for orthodontic mini-implants.’, *Journal of Oral Science*. Japan, 54(1), pp. 55–59.

Elliott, J. C. & Dover, S. D. (1982) ‘X-ray microtomography.’, *Journal of Microscopy*. ENGLAND, 126(2), pp. 211–213.

Emmerich, D. (2002) ‘Biologie und Pathologie der Weich- und Hartgewebe um Titanimplantate: Eine histologische, histometrische und histomorphometrische Studie am Menschen’[Dissertation]. Freiburg: Universität.

Fetner, M., Fetner, A., Koutouzis, T., Clozza, E., Tovar, N., Sarendranath, A., Coelho, P. G., Neiva, K., Janal, M. N. & Neiva, R. (2015) ‘The Effects of Subcrestal Implant Placement on Crestal Bone Levels and Bone-to-Abutment Contact: A Microcomputed Tomographic and Histologic Study in Dogs.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. United States, 30(5), pp. 1068–1075.

Fickl, S., Zuhr, O., Stein, J. M. & Hürzeler, M. B. (2010) ‘Peri-implant bone level around implants with platform-switched abutments’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 25(3), pp. 577–581. doi: 10.1016/S0022-3913(10)60168-0.

Götz, W. (2010) ‘Biologische Grundlagen der Osseointegration - ein Update’, [Internet]. [zitiert am 03.09.2016]. URL.: <https://www.zwp-online.info/sites/default/files/ressources/dgzi2010osseointegrationneu.pdf>.

Hänggi, M. P., Hänggi, D. C., Schoolfield, J. D., Meyer, J., Cochran, D. L. & Hermann, J. S. (2005) ‘Crestal bone changes around titanium implants. Part I: A retrospective radiographic evaluation in humans comparing two non-submerged implant designs with different machined collar lengths.’, *The Journal of Periodontology*, 76(5), pp. 791–802. doi: 10.1902/jop.2005.76.5.791.

Hermann, F., Lerner, H. & Palti, A. (2007) ‘Factors influencing the preservation of the periimplant marginal bone.’, *Implant Dentistry*, 16(2), pp. 165–175. doi: 10.1097/ID.0b013e318065aa81.

Hermann, J. S., Buser, D., Schenk, R. K. & Cochran, D. L. (2000) ‘Crestal Bone Changes Around Titanium Implants. A Histometric Evaluation of Unloaded Non-Submerged and Submerged Implants in the Canine Mandible’, *Journal of Periodontology*, 71(9), pp. 1412–1424.

Hermann, J. S., Buser, D., Schenk, R. K., Schoolfield, J. D. & Cochran, D. L. (2001a) ‘Biologic Width around one- and two-piece titanium implants.’, *Clinical Oral Implants Research*, 12(6), pp. 559–571. doi: 10.1034/j.1600-0501.2001.120603.x.

Hermann, J. S., Jones, A. a, Bakaeen, L. G., Buser, D., Schoolfield, J. D. & Cochran, D. L. (2011) ‘Influence of a machined collar on crestal bone changes around titanium implants: a histometric study in the canine mandible.’, *Journal of*

Periodontology, 82(9), pp. 1329–1338. doi: 10.1902/jop.2011.090728.

Hermann, J. S., Schoolfield, J. D., Schenk, R. K., Buser, D. & Cochran, D. L. (2001b) ‘Influence of the Size of the Microgap on Crestal Bone Changes around Titanium Implants. A Histometric Evaluation of Unloaded non-submerged Implants in the Canine Mandible’, *Journal of Periodontology*, 72(10), pp. 1372–1383. doi: 10.1902/jop.2001.72.10.1372.

Hsu, J.-T., Wu, A. Y.-J., Fuh, L.-J. & Huang, H.-L. (2017) ‘Effects of implant length and 3D bone-to-implant contact on initial stabilities of dental implant: a microcomputed tomography study.’, *BMC Oral Health*. England, 17(1), p. 132. doi: 10.1186/s12903-017-0422-1.

Iglhaut, G., Becker, K., Golubovic, V., Schliephake, H. & Mihatovic, I. (2013) ‘The impact of dis-/reconnection of laser microgrooved and machined implant abutments on soft- and hard-tissue healing’, *Clinical Oral Implants Research*, 24(4), pp. 391–397. doi: 10.1111/clr.12040.

Kak, A. C. & Slaney, M. (2001) *Principles of Computerized Tomographic Imaging*. Society of Industrial and Applied Mathematics, 2001.

Klinck, R. J., Campbell, G. M. & Boyd, S. K. (2008) ‘Radiation effects on bone architecture in mice and rats resulting from in vivo micro-computed tomography scanning’, *Medical Engineering & Physics*, 30(7), pp. 888–895. doi: 10.1016/j.medengphy.2007.11.004.

Knöfler, Wostratzky & Schmenger (2016) ‘Einfluss verschiedener Implantattypen auf den periimplantären Knochenverlust – eine retrospektive radiologische Bewertung’, *Zeitschrift für Zahnärztliche Implantologie*, 32(2), pp. 114–128. doi: 10.3238/ZZI.2016.0114.

Lambrecht, J. T., Filippi, A., Künzel, A. R. & Schiel, H. J. (2003) ‘Long-term evaluation of submerged and nonsubmerged ITI solid-screw titanium implants: a 10-year life table analysis of 468 implants.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 18(6), pp. 826–834. doi: 10.1016/j.prosdent.2004.03.019.

Lazzara, R. J. & Porter, S. S. (2006) ‘Platform switching: a new concept in implant dentistry for controlling postrestorative crestal bone levels.’, *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 26(1), pp. 9–17.

Lee, S.-Y., Koak, J.-Y., Kim, S.-K., Rhyu, I.-C., Ku, Y., Heo, S.-J. & Han, C.-H. (2016) ‘A Long-Term Prospective Evaluation of Marginal Bone Level Change Around Different Implant Systems.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. United States, 31(3), pp. 657–664. doi: 10.11607/jomi.3932.

Lindhe, J., Berglundh, T., Ericsson, I., Liljenberg, B. & Marinello, C. (1992) ‘Experimental breakdown of peri-implant and periodontal tissues. A study in the beagle dog’, *Clinical Oral Implants Research*, 3(1), pp. 9–16. doi: 10.1034/j.1600-0501.1992.030102.x.

Lindhe, J. & Meyle, J. (2008) ‘Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology’, *Journal of Clinical Periodontology*, 35(SUPPL. 8), pp. 282–285. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01283.x.

- Lindquist, L. W., Carlsson, G. E. & Jemt, T. (1996)** ‘A prospective 15-year follow-up study of mandibular fixed prostheses supported by osseointegrated implants. Clinical results and marginal bone loss.’, *Clinical Oral Implants Research*, 7(4), pp. 329–336. doi: 10.1097/00008505-199700630-00015.
- Linkevicius, T. & Apse, P. (2008)** ‘Influence of abutment material on stability of peri-implant tissues: a systematic review.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 23(3), pp. 449–456. doi: 10.1016/S0022-3913(09)60012-3.
- Linkevicius, T., Apse, P., Grybauskas, S. & Puisys, A. (2009)** ‘The influence of soft tissue thickness on crestal bone changes around implants: a 1-year prospective controlled clinical trial.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 24(4), pp. 712–719.
- Liu, S., Broucek, J., Viridi, A. S. & Sumner, D. R. (2012)** ‘Limitations of using micro-computed tomography to predict bone-implant contact and mechanical fixation’, *Journal of Microscopy*, 245(1), pp. 34–42. doi: 10.1111/j.1365-2818.2011.03541.x.
- Maier, F.-M. (2016)** ‘Initial Crestal Bone Loss After Implant Placement with Flapped or Flapless Surgery-A Prospective Cohort Study.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. United States, 31(4), pp. 876–883. doi: 10.11607/jomi.4283.
- Meagher, M. J., Parwani, R. N., Viridi, A. S. & Sumner, D. R. (2018)** ‘Optimizing a micro-computed tomography-based surrogate measurement of bone-implant contact’, *Journal of Orthopaedic Research*, 36(3), pp. 979-986. doi: 10.1002/jor.23716.
- Misawa, M., Lindhe, J. & Araújo, M. G. (2016)** ‘The alveolar process following single-tooth extraction: A study of maxillary incisor and premolar sites in man’, *Clinical Oral Implants Research*, 27(7), pp. 884–889. doi: 10.1111/clr.12710.
- Molina, A., Sanz-Sánchez, I., Martín, C., Blanco, J. & Sanz, M. (2017)** ‘The effect of one-time abutment placement on interproximal bone levels and peri-implant soft tissues: a prospective randomized clinical trial’, *Clinical Oral Implants Research*, 28(4), pp. 443-452. doi: 10.1111/clr.12818.
- Müller, R., Van Campenhout, H., Van Damme, B., Van Der Perre, G., Dequeker, J., Hildebrand, T. & Rügsegger, P. (1998)** ‘Morphometric Analysis of Human Bone Biopsies: A Quantitative Structural Comparison of Histological Sections and Micro-computed Tomography’, *Bone*, 23(1), pp. 59–66.
- Müller, R., Koller, B., Hildebrand, T., Laib, A., Gianolini, S. & Rügsegger, P. (1996)** ‘Resolution dependency of microstructural properties of cancellous bone based on three-dimensional mu-tomography.’, *Technology and health care: official journal of the European Society for Engineering and Medicine*. NETHERLANDS, 4(1), pp. 113–119.
- Nazarian, A., Snyder, B. D., Zurakowski, D. & Müller, R. (2008)** ‘Quantitative micro-computed tomography: A non-invasive method to assess equivalent bone mineral density’, *Bone*, 43(2), pp. 302–311. doi: 10.1016/j.bone.2008.04.009.
- Nevins, M., Kim, D. M., Jun, S.-H., Guze, K., Schupbach, P. & Nevins, M. L. (2010)** ‘Histologic evidence of a connective tissue attachment to laser microgrooved abutments: a canine study.’, *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 30(3), pp. 245–255.

- Nevins, M., Nevins, M. L., Camelo, M., Boyesen, J. L. & Kim, D. M. (2008)** ‘Human histologic evidence of a connective tissue attachment to a dental implant.’, *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 28(2), pp. 111–121.
- Ni, Y., Dai, P., Dai, C. & Li, H. (2017)** ‘Cochlear implant-related three-dimensional characteristics determined by micro-computed tomography reconstruction.’, *Clinical Anatomy (New York, N.Y.)*. United States, 30(1), pp. 39–43. doi: 10.1002/ca.22770.
- Novaes, A. B., Barros, R. R. M., Muglia, V. A. & Borges, G. J. (2009)** ‘Influence of Interimplant Distances and Placement Depth on Papilla Formation and Crestal Resorption: A Clinical and Radiographic Study in Dogs’, *Journal of Oral Implantology*, 35(1), pp. 18–27.
- Ozkan, Y., Akoğlu, B. & Kulak-Ozkan, Y. (2011)** ‘Five-year treatment outcomes with four types of implants in the posterior maxilla and mandible in partially edentulous patients: a retrospective study.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. United States, 26(3), pp. 639–647.
- Paqué, F., Balmer, M., Attin, T. & Peters, O. A. (2010)** ‘Preparation of Oval-shaped Root Canals in Mandibular Molars Using Nickel-Titanium Rotary Instruments: A Micro-computed Tomography Study’, *Journal of Endodontics*, 36(4), pp. 703–707. doi: 10.1016/j.joen.2009.12.020.
- Parfitt, A. M., Drezner, M. K., Glorieux, F. H., Kanis, J. A., Malluche, H., Meunier, P. J., Ott, S. M. & Recker, R. R. (1987)** ‘Bone histomorphometry: standardization of nomenclature, symbols, and units. Report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee.’, *Journal of Bone and Mineral Research*. UNITED STATES, 2(6), pp. 595–610. doi: 10.1002/jbmr.5650020617.
- Park, Y.-S., Yi, K.-Y., Lee, I.-S. & Jung, Y.-C. (2005)** ‘Correlation between microtomography and histomorphometry for assessment of implant osseointegration.’, *Clinical Oral Implants Research*, 16(2), pp. 156–60. doi: 10.1111/j.1600-0501.2004.01083.x.
- Pietrokovski, J. & Massler, M. (1967)** ‘Alveolar ridge resorption following tooth extraction’, *Journal of Prosthetic Dentistry*, 17(1), pp. 21–7. doi: 10.1016/0022-3913(67)90046-7.
- Pinholt, E. M. (2003)** ‘Brånemark and ITI dental implants in the human bone-grafted maxilla: a comparative evaluation.’, *Clinical Oral Implants Research*, 14(5), pp. 584–592. doi: clr140508 [pii].
- Pontes, A. E., Ribeiro, F. S., Iezzi, G., Piattelli, A., Cirelli, J. A. & Marcantonio, E. Jr. (2008)** ‘Biologic width changes around loaded implants inserted in different levels in relation to crestal bone: Histometric evaluation in canine mandible’, *Clinical Oral Implants Research*, 19(5), pp. 483–490. doi: 10.1111/j.1600-0501.2007.01506.x.
- Ritman, E. L. (2004)** ‘Micro-Computed Tomography - Current Status and Developments’, *The Annual Review of Biomedical Engineering*, 6, pp. 185–208. doi: 10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140130.
- Ritzert, B. (2018)** ‘Zahnimplantate zunehmend erste Wahl: 1,3 Millionen werden in Deutschland pro Jahr eingepflanzt’, Deutsche Gesellschaft für Implantologie, [Internet]. [zitiert am 15.01.2019]. URL.: <https://idw-online.de/de/news707107>.

Rocci, A., Rocci, M., Rocci, C., Scoccia, A., Gargari, M., Martignoni, M., Gottlow, J. & Sennerby, L. (2013) ‘Immediate loading of Brånemark system TiUnite and machined-surface implants in the posterior mandible, part II: a randomized open-ended 9-year follow-up clinical trial.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. United States, 28(3), pp. 891–895. doi: 10.11607/jomi.2397.

Rodríguez-Ciurana, X., Vela-Nebot, X., Segalà-Torres, M., Calvo-Guirado, J. L., Cambra, J., Méndez-Blanco, V. & Tarnow, D. P. (2009) ‘The effect of interimplant distance on the height of the interimplant bone crest when using platform-switched implants.’, *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*. United States, 29(2), pp. 141–151.

Rodríguez, X., Vela, X., Méndez, V., Segalà, M., Calvo-Guirado, J. L. & Tarnow, D. P. (2013) ‘The effect of abutment dis/reconnections on peri-implant bone resorption: A radiologic study of platform-switched and non-platform-switched implants placed in animals’, *Clinical Oral Implants Research*, 24(3), pp. 305–311. doi: 10.1111/j.1600-0501.2011.02317.x.

Rüegsegger, P., Koller, B. & Müller, R. (1996) ‘A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture.’, *Calcified tissue international*, 58(1), pp. 24–29.

Salamanca, E., Lin, J. C., Tsai, C.-Y., Hsu, Y.-S., Huang, H.-M., Teng, N.-C., Wang, P. D., Feng, S.-W., Chen, M.-S. & Chang, W.-J. (2017) ‘Dental Implant Surrounding Marginal Bone Level Evaluation: Platform Switching versus Platform Matching-One-Year Retrospective Study’, *BioMed Research International*, 2017, pp. 1–8. doi: 10.1155/2017/7191534.

Schambach, S. J., Bag, S., Schilling, L., Groden, C. & Brockmann, M. A. (2010) ‘Application of micro-CT in small animal imaging.’, *Methods*, 50(1), pp. 2–13. doi: 10.1016/j.ymeth.2009.08.007.

Schenk, R. K. & Buser, D. (1998) ‘Osseointegration: A reality’, *Periodontology 2000*, 17(1), pp. 22–35. doi: 10.1111/j.1600-0757.1998.tb00120.x.

Schroeder, A., Pohler, O. & Sutter, F. (1976) ‘Gewebereaktion auf ein Titan-Hohlzylinderimplantat mit Titan-Spritzschichtoberfläche’, *Schweizer Monatsschrift für Zahnheilkunde*, 86, pp. 713–727.

Schwarz, F., Hegewald, A. & Becker, J. (2014a) ‘Impact of implant-abutment connection and positioning of the machined collar/microgap on crestal bone level changes: A systematic review’, *Clinical Oral Implants Research*, 25(4), pp. 417–425. doi: 10.1111/clr.12215.

Schwarz, F., Herten, M., Bieling, K. & Becker, J. (2008) ‘Crestal bone changes at nonsubmerged implants (Camlog) with different machined collar lengths: a histomorphometric pilot study in dogs.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 23(2), pp. 335–342.

Schwarz, F., Jepsen, S., Herten, M., Sager, M., Rothamel, D. & Becker, J. (2006) ‘Influence of different treatment approaches on non-submerged and submerged healing of ligature induced peri-implantitis lesions: An experimental study in dogs’, *Journal of Clinical Periodontology*, 33(8), pp. 584–595. doi: 10.1111/j.1600-051X.2006.00956.x.

- Schwarz, F., Mihatovic, I., Golubovic, V., Becker, J. & Sager, M. (2014b)** ‘Immunohistochemical characteristics of regenerated bone after surgical therapy of advanced ligature-induced peri-implantitis defects’, *Clinical Oral Investigations*, 18(6), pp. 1679–1686. doi: 10.1007/s00784-013-1138-5.
- Schwarz, F., Mihatovic, I., Golubovich, V., Schär, A., Sager, M. & Becker, J. (2015)** ‘Impact of abutment microstructure and insertion depth on crestal bone changes at nonsubmerged titanium implants with platform switch’, *Clinical Oral Implants Research*, 26(3), pp. 287–292. doi: 10.1111/clr.12478.
- Sennerby, L., Wennerberg, A. & Pasop, F. (2001)** ‘A new microtomographic technique for non-invasive evaluation of the bone structure around implants.’, *Clinical Oral Implants Research*, 12(1), pp. 91–94. doi: clr120112 [pii].
- Shalabi, M. M., Gortemaker, A., Van't Hof, M. A., Jansen, J. A. & Creugers, N. H. (2006)** ‘Implant Surface Roughness and Bone Healing: a Systematic Review’, *Journal of Dental Research*, 85(6), pp. 496–500. doi: 10.1177/154405910608500603.
- Stadelmann, V. A., Potapova, I., Camenisch, K., Nehrbass, D., Richards, R. G. & Moriarty, T. F. (2015)** ‘In vivo MicroCT monitoring of osteomyelitis in a rat model’, *BioMed Research International*, 2015. doi: 10.1155/2015/587857.
- Stock, S. R. (2008)** ‘MicroComputed Tomography: Methodology and Applications.’, Boca Raton, *CRC Press*.
- Swain, M. V. & Xue, J. (2009)** ‘State of the art of Micro-CT applications in dental research.’, *International Journal of Oral Science*, 1(4), pp. 177–188. doi: 10.4248/IJOS09031.
- Thiem, D. G., Adam, M., Ganz, C., Gerber, T. & Kämmerer, P. W. (2019)** ‘The implant surface and its role in affecting the dynamic processes of bone remodeling by means of distance osteogenesis: A comparative in vivo study.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. United States, 34(1), pp. 133-140. doi: 10.11607/jomi.6729.
- Thomsen, J. S., Laib, A., Koller, B., Prohaska, S., Mosekilde, L. & Gowin, W. (2005)** ‘Stereological measures of trabecular bone structure: comparison of 3D micro computed tomography with 2D histological sections in human proximal tibial bone biopsies.’, *Journal of Microscopy*. England, 218(Pt 2), pp. 171–179. doi: 10.1111/j.1365-2818.2005.01469.x.
- Valles, C., Rodríguez-Ciurana, X., Clementini, M., Baglivo, M., Paniagua, B. & Nart, J. (2018)** ‘Influence of subcrestal implant placement compared with equicrestal position on the peri-implant hard and soft tissues around platform-switched implants: a systematic review and meta-analysis.’, *Clinical Oral Investigations*. Germany, 22(2), pp. 555-570. doi: 10.1007/s00784-017-2301-1.
- Vandeweghe, S., Coelho, P. G., Vanhove, C., Wennerberg, A. & Jimbo, R. (2013)** ‘Utilizing micro-computed tomography to evaluate bone structure surrounding dental implants: a comparison with histomorphometry.’, *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*. United States, 101(7), pp. 1259–1266. doi: 10.1002/jbm.b.32938.

- Veis, A., Parissis, N., Tsirlis, A., Papadeli, C., Marinis, G. & Zogakis, A. (2010)** ‘Evaluation of peri-implant marginal bone loss using modified abutment connections at various crestal level placements.’, *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 30(6), pp. 609–617.
- Vela-Nebot, X., Rodríguez-Ciurana, X., Rodado-Alonso, C. & Segalà-Torres, M. (2006)** ‘Benefits of an implant platform modification technique to reduce crestal bone resorption.’, *Implant Dentistry*, 15(3), pp. 313–320. doi: 10.1097/01.id.0000226788.19742.32.
- Vigolo, P., Givani, A., Majzoub, Z. & Cordioli, G. (2006)** ‘A 4-year prospective study to assess peri-implant hard and soft tissues adjacent to titanium versus gold-alloy abutments in cemented single implant crowns’, *Journal of Prosthodontics*, 15(4), pp. 250–256. doi: 10.1111/j.1532-849X.2006.00114.x.
- Weber, H.-P. & Cochran, D. L. (1998)** ‘The soft tissue response to osseointegrated dental implants’, *Journal of Prosthetic Dentistry*, 79(1), pp. 79–89. doi: 10.1016/S0022-3913(98)70198-2.
- Weng, D., Nagata, M. J., Bell, M., Bosco, A. F., de Melo, L. G. & Richter, E.-J. (2008)** ‘Influence of microgap location and configuration on the periimplant bone morphology in submerged implants. An experimental study in dogs.’, *Clinical Oral Implants Research*. Denmark, 19(11), pp. 1141–1147. doi: 10.1111/j.1600-0501.2008.01564.x.
- Wennerberg, A. & Albrektsson, T. (2010)** ‘On implant surfaces: a review of current knowledge and opinions.’, *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. United States, 25(1), pp. 63–74.
- Wigianto, R., Ichikawa, T., Kanitani, H., Horiuchi, M., Matsumoto, N. & Ishizuka, H. (1997)** ‘Three-dimensional examination of bone structure around hydroxyapatite implants using digital image processing.’, *Journal of Biomedical Materials Research*. UNITED STATES, 34(2), pp. 177–182.

Danksagung

Meiner Familie und meinem Partner möchte ich sehr herzlich für ihre großartige Unterstützung in allen Belangen danken.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Professor Dr. Frank Schwarz, für meine wissenschaftliche Anleitung.

Weiterhin möchte ich Frau Dr. Kathrin Becker, M. Sc., danken, die mich mit der Programmierung eines spezifischen Matlab-Skriptes unterstützt hat. Dieses Skript ermöglichte die im Rahmen meiner Doktorarbeit durchgeführten dreidimensionalen Untersuchungen. Weiterhin hat sie mich beim Verfassen der Dissertationsschrift sowie bei allen technischen Schwierigkeiten und den statistischen Analysen stets unterstützt, wofür ich ebenfalls meinen Dank aussprechen möchte.

Zuletzt gilt mein besonderer Dank auch Herrn Martin Stauber, PhD, der 3D-Visualisierungen zu unserer Messmethode beigesteuert hat. Der Camlog Foundation, Basel, Schweiz danke ich für die Finanzierung der tierexperimentellen Untersuchungen und der μ CT-Scans.