



**TECHNISCHE
UNIVERSITÄT
DRESDEN**

Analyse der knöchernen Einheilung von
Biomaterialien mit der
Magnetresonanztomographie

DISSERTATION

zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt

der Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften
der Technischen Universität Dresden

von

Dipl. Lebensmittelchemikerin Cindy Elschner, geb. Trautmann

geboren am 26.06.1982 in Pirna

Die Dissertation wurde in der Zeit von 04/2010 bis 02/2016
im Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V. angefertigt.

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. Manfred Stamm
Prof. Dr. rer. nat. Michael Gelinsky

Eingereicht am: 24.03.2016
Tag der Verteidigung 10.06.2016

DANKSAGUNG

Es ist nicht das Wissen, sondern das Lernen,
nicht das Besitzen, sondern das Erwerben,
nicht das Dasein, sondern das Hinkommen,
was den größten Genuss gewährt.

Carl Friedrich Gauß (1777 – 1855),
deutscher Mathematiker, Astronom und Physiker



An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen herzlich bedanken, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Mein besonderer Dank gilt Herrn *Prof. Dr. Manfred Stamm* und Herrn *Dr. Ulrich Scheler*, die mir die Möglichkeit, Unterstützung und den Freiraum gegeben haben, dieses spannende, wissenschaftliche Thema am Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V. (IPF) zu bearbeiten. Herzlichen Dank auch an Herrn *Prof. Dr. Michael Gelinsky* für die freundliche Übernahme des zweiten Gutachtens.

Ohne die angenehme Atmosphäre durch meine Kollegen des IPF aus der Abteilung »Polyelektrolyte und Dispersionen«, bei denen ich immer mit Fragen auftauchen durfte und die vor allem jederzeit bereit waren, bei Problemen im Labor zu helfen, wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Danke vielmals an Herrn *Bodo Vieweg*, Frau *Brigitte Wiesner*, Frau *Birgit Urban*, Frau *Dr. Anastasia Vyalikh*, Herrn *Dr. Uwe Lappan*, Frau *Ute Böhme* und Herrn *Torsten Mähr*. Den Kollegen der Mittagsrunde danke ich außerdem für die kreative (und jeden Tag immer wieder pünktliche) Ablenkung.

Während meiner Zeit als Promotionsstudentin habe ich das interdisziplinäre Arbeiten sehr schätzen gelernt. Der Großteil der in der Arbeit dargestellten Ergebnisse beruht auf der wissenschaftlichen Zusammenarbeit mit Kollegen, Kooperationspartnern und auch Freunden.

Zu allererst seien Frau *Dr. med. dent. Paula Korn* und Herrn *Dr. med. dent. Matthias C. Schulz* für die sehr freundschaftliche und erfolgreiche Zusammenarbeit bei den beiden tierexperimentellen Studien gedankt. Vor diesem Hintergrund darf nicht vergessen werden, dass die Messergebnisse der Histologie auf der unermüdlichen (Labor-)Arbeit durch Frau *Diana Jünger* und *Maria Hauptstock* beruhen.

Für statistische Fragestellungen durfte ich mich stets an Frau *Ursula Range* wenden. Das war eine enorm wichtige Unterstützung für mich.

Vielen Dank außerdem an Frau *Dr. Ute Hempel*, *Dr. Carolin Noack* und *Carolin Preißler*. Sie haben mich während einer »Lab-Rotation« bei der Durchführung von Zellversuchen freundlich und geduldig unterstützt und waren eine unheimliche Hilfe bei der Anfertigung der gemeinsamen, wissenschaftlichen Veröffentlichung. Außerdem konnte ich Ute das in der Arbeit untersuchte Titan-Plättchen aus ihrem Laborschrank stibitzen.

Die Beschichtung der Folien aus Polyetheretherketon (PEEK) und deren Messung des spezifischen Widerstandes wurde von Herrn *Dr. Andreas Krause* vorgenommen. Vielen Dank für die Zeit, die Du dafür investiert hast, Andreas. Da die Messungen manchmal schwierig waren, wurden die Ergebnisse freundlicherweise durch Herrn *Dr. Chris Elschner* und *Dr. Sylvio Schubert* nochmals verifiziert. Lieber Chris, vielen Dank für diese Möglichkeit.

Einige analytische Arbeiten wurden netterweise von Kollegen des IPF übernommen. Herr *Holger Scheibner* bestimmte die Haftfestigkeit von Titan auf den PEEK-Folien und Frau *Marina Oelmann* führte die Experimente zur Bestimmung der Kontaktwinkel durch.

Die Kunststoff-Folien selbst wurden kostenlos von der *Evonik Industries AG* (Werk Röhm, Darmstadt) als Mustersendung zur Verfügung gestellt. Für die Beschichtung der Folien mit Titan diente ein Edelstahlgeflecht als Schablone, welches mir ebenfalls als Mustersendung von der *Franz Eckert GmbH* (Waldkirch) unbürokratisch zugesandt wurde.

Mein Dank gilt der institutseigenen Werkstatt unter der Leitung von *Dirk Zimmerhäckel*, wo das Zahnimplantat aus PEEK in Handarbeit angefertigt wurde und Frau *Tina Angermann* aus der Bibliothek. Zahlreiche Veröffentlichungen wurden in meinem Auftrag von ihr recherchiert und zur Verfügung gestellt. Vielen Dank ebenfalls an Frau *Elvira Winterstein*, die freundlicherweise den Druck übernommen hat.

Diese Arbeit wäre nicht möglich gewesen durch externe, finanzielle Unterstützung. Mein größter Dank gilt daher der *Sächsischen Aufbaubank*, die mir ein Stipendium des *Europäischen Sozialfonds* genehmigte. Außerdem danke ich ausdrücklich der *TU Dresden* für das gewährte Stipendium im Rahmen des *Nachwuchsforscherinnen-Programms*, dem *IPF* für die Zwischenfinanzierung und dem *Transregio TRR 67* für die finanzielle Unterstützung während meiner Anfangszeit. Besonderer Dank gilt den zahlreichen Unterstützern bei der Bewerbung um Stipendien: *Dr. Ulrich Scheler*, *Prof. Dr. Manfred Stamm*, *Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Günter Lauer*, *Prof. Dr. med. habil. Dr. med. dent. Uwe Eckelt*, *Prof. Dr. habil. Dieter Scharnweber*, *Prof. Dr. med. Stefan Rammelt*, *Dr. med. dent. Matthias C. Schulz* und *Dr. med. dent. Paula Korn*.

Als Mitglied der Graduiertenakademie des TRR 67 durfte ich an sämtlichen Modulen für Doktoranden teilnehmen. Die dort erworbenen Kenntnisse über den Forschungsbereich der Biomaterialien waren die Grundlage meiner wissenschaftlichen Arbeit. Außerdem konnte ich so die Kontakte zu Ute, Carolin, Paula und Matthias knüpfen.

Ein besonderes Dankeschön möchte ich an dieser Stelle Frau *Stephanie Johné* aussprechen. Meinen englischsprachigen Veröffentlichungen hat sie immer den letzten, sprachlichen Schliff gegeben. Danke, Steffi!

Neben meinen beiden wissenschaftlichen Betreuern haben viele, fleißige Korrekturleser meine Arbeit durchgeschaut. Ohne deren akribische Arbeit steckte die Dissertation wahrscheinlich noch voller Tippfehler. Vielen, vielen Dank an *Chris* (vor allem für deine kritische Korrektur des theoretischen Teils), *Sindy*, *Sabine*, *Paula* und *Andreas*.

Mein größter Dank gebührt meiner Familie und meinen Freunden. Vor allem meine beiden kleinen Mädels Elea und Elise zeigen mir immer wieder auf's Neue, dass auch noch Tausend andere und in jedem Fall mindestens genauso wichtige Dinge neben der Forschungsarbeit existieren.

Lieber Chris, meine lieben beiden Mädels – schön, dass es Euch gibt!

KURZFASSUNG

Die Analyse von Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen basiert derzeit hauptsächlich auf histologischen Techniken. Der invasive Charakter der histologischen Präparation lässt allerdings keine Untersuchung am lebenden Tier zu. Dadurch ist es nicht möglich, den Prozess der Implantateinheilung wiederholt an einem Tier zu beobachten. Die Folgen sind eine hohe Anzahl aufzuwendender Versuchstiere und eine Vergrößerung der Messunsicherheit infolge der gestiegenen biologischen Variabilität. Nicht-invasive, bildgebende Verfahren spielen daher eine zunehmende Rolle für die Entwicklung neuer Biomaterialien. Während die Computertomographie (CT) häufig zur Untersuchung der knöchernen Implantateinheilung verwendet wird, hat sich die Nutzung der Magnetresonanztomographie (MRT) für diese Fragestellungen bisher nicht etabliert.

Bei der Magnetresonanztomographie handelt es sich, analog zur Computertomographie, um ein bildgebendes Verfahren zur nicht-invasiven Erzeugung digitaler Schnittbilder. Im Gegensatz zur CT, die das Hartgewebe abbildet, wird bei der MRT das Weichgewebe detektiert, wobei keine ionisierende Strahlung verwendet wird. Der große Vorteil der MRT gegenüber anderen bildgebenden Methoden besteht darin, dass es möglich ist, das Weichgewebe auf den Schnittbildern anhand verschiedener Kontraste darzustellen. Zusätzlich können MR-spezifische Parameter quantifiziert werden, die einen direkten Rückschluss auf die Struktur zulassen. Mit diesen Kennzahlen ist es möglich, Veränderungen im Weichgewebe analysieren.

Das Ziel der Arbeit war es deshalb, die Eignung und mögliche Anwendungen der Magnetresonanztomographie (MRT) zur Analyse der Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen zu erörtern. Für die Untersuchungen wurde ein NMR-Spektrometer inklusive Imaging-Zubehör verwendet.

Die Dissertationsarbeit beinhaltete sowohl die Untersuchung verschiedener Materialsysteme hinsichtlich ihrer Eignung für die MRT und deren Biokompatibilität, als auch die Analyse der knöchernen Einheilung ausgewählter Biomaterialien. Diese umfasste Aussagen zur Darstellbarkeit und Abgrenzbarkeit von Strukturen und beinhaltete auch quantitativ gewonnene Messparameter. Die Ergebnisse wurden stets im Vergleich mit der Histologie diskutiert.

In der Arbeit konnte dargestellt werden, dass die Überprüfung der Eignung des zu untersuchenden Materials für die MRT vor der Analytik erfolgen muss. Es wurde demonstriert, dass Metalle erheblich mit dem MR-System wechselwirken können, was in der Konsequenz zu drastischen Störungen der Bildqualität führt. Diese Effekte waren stark von den ausgewählten Messparametern abhängig. Als ein MRT-geeignetes Verbundmaterial wurde Titan-beschichtetes Polyetheretherketon (PEEK/Ti) vorgeschlagen. Die Beschichtung mit Titan führte zu einer signifikant verbesserten Biokompatibilität des Kunststoffes.

Die erfolgreiche Analyse der knöchernen Einheilung mit der Magnetresonanztomographie wurde im Rahmen von zwei tierexperimentellen Studien an verschiedenen Biomaterialien gezeigt (die Analyse erfolgte *ex vivo*). Die Untersuchung der knöchernen Integration eines Zahnimplantates aus PEEK/Ti hatte das Ziel, die Darstellbarkeit des Implantates und knöcherner Strukturen mit der Magnetresonanztomographie zu evaluieren. Außerdem wurde ebenfalls gezeigt, dass es anhand der MRT-Schnittbilder möglich ist, quantitative Messgrößen zur Beschreibung des Einheilprozesses zu gewinnen. Aufgrund der geringen Versuchstierzahl wurde jedoch eine breite Streuung der Messdaten festgestellt. Allerdings besitzt die Studie durch die Untersuchung eines Zahnimplantates aus Polyetheretherketon/Titan mit der MRT nicht nur Neuheitswert in der Biomaterialforschung, sondern schlägt gleichzeitig eine Brücke zur klinischen, dentalen Implantologie.

Die Bewertung der Darstellbarkeit knöcherner Strukturen und der verwendeten (teils tissue-engineerten) Knochenersatzmaterialien mit MRT und Histologie und des klinischen Erfolges derselben bildeten einen Schwerpunkt der zweiten tierexperimentellen Studie (die Analyse erfolgte *ex vivo*). Es war möglich, mit beiden bildgebenden Verfahren zu zeigen, dass sich die verwendeten Knochenersatzmaterialien nicht für die vorgesehene Anwendung eigneten.

Die Beurteilung der Übereinstimmung der quantitativ gewonnenen Parameter beider Analysenmethoden bildete den Abschluss der Arbeit. Es wurde festgestellt, dass zwischen den Messdaten stets ein systematischer Unterschied bestand. Nachweislich war dieser aber weniger das Resultat der ungleichen lateralen Auflösungen oder der unterschiedlichen Darstellbarkeit von Gewebestrukturen der beiden Verfahren, sondern konnte auf den Einfluss der Analyse verschiedener Schichtebenen und individueller Unterschiede bei der digitalen Quantifizierung der auswertenden Personen zurückgeführt werden.

ABSTRACT

Currently, histological techniques are used to analyse implant-tissue-interactions. However, these methods are destructive and do not allow for the investigation of living animals. Therefore, it is not possible to study the integration of biomaterials repeatedly with one animal, resulting in a large number of animals and an increase of biological variability. Non-invasive imaging techniques have gained interest in the field of biomaterials. Whereas Computed Tomography (CT) was often used to evaluate the osseous integration, the assessment using Magnetic Resonance Imaging (MRI) has not been established, yet.

MRI is a non-invasive medical imaging method that detects soft tissue. In contrast to CT the method does not require individuals to be exposed to radiation. The most important benefit of MRI is the possibility to acquire different soft tissue contrasts *in situ* because the various tissues have different signal intensities on MR images that can be altered by using different experimental parameters. Furthermore, it is possible to gain MR-specific properties that allow conclusions to the tissue structure.

Thus, the objective of the doctoral thesis has been to investigate the suitability of MRI for the use in biomaterial research and to show potential areas of application. The examinations were performed using a laboratory NMR-spectrometer inclusive imaging accessory.

The thesis included an evaluation of the MR compatibility of different materials and their biocompatibility and an analysis of the in-growth of chosen biomaterials into bone. For that, the detection and identification of tissue structures and biomaterials was investigated with both, MRI and histology. Additionally, quantitative parameters were acquired and their comparability was assessed.

It was clearly demonstrated, that metals interacted with the MR system and provoked large image distortions. These effects were strongly dependent on experimental parameters chosen. Polyetheretherketone with titanium coating (PEEK/Ti) was investigated and has been found to be MR safe. Above all, it was demonstrated that the biocompatibility of the polymer was significantly enhanced by coating with titanium.

Within two animal studies the successful analysis of the osseous healing of different biomaterials with MRI was presented. To demonstrate the visibility of bony structures and biomaterials a dental implant made of PEEK/Ti was analysed. The ability to measure quantitative data in analogy to histomorphometry was shown, ditto. A large variation of the values was detected due to the limited number of animals used for the pilot study.

Evaluating the displayability of bone and (to some extent tissue engineered) bone substitutes and assessing the clinical success of these materials was one main focus of the second animal study. Both, MRI and histological analysis could undeniably illustrate that all of the bone substitutes were not suitable for the chosen application. The thesis was completed with the determination of the agreement of quantitative values from both analysing methods. It was concluded that all values gained from the animal study were significantly different. It was proven that the chosen slice position and the image interpretation with two evaluators had a larger share to disagreement than the different lateral resolution of MRI and histological images or the diverging displayability of bone and bone substitutes.

By investigating a MR suitable dental PEEK implant the doctoral thesis fulfils the criteria of novelty in biomaterial research. Moreover, it forges links between preclinical research and dental implantology.

I. INHALTSVERZEICHNIS

DANKSAGUNG.....	I
KURZFASSUNG.....	III
ABSTRACT.....	V
I. INHALTSVERZEICHNIS.....	VII
II. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	IX
1 Einleitung und Zielstellung	1
1.1. Wissenschaftlicher Hintergrund.....	1
1.2. Zielstellung	3
1.3. Zum Aufbau der Arbeit.....	3
2 Theoretischer Hintergrund	4
2.1. Biologie des Knochens.....	5
2.2. Biomaterialien.....	10
2.3. Biokompatibilität	20
2.4. Bildgebende Verfahren in der präklinischen Biomaterialforschung	23
3 Analyse der Wechselwirkungen zwischen Material und MR-System	57
3.1. Vorbetrachtungen zu den untersuchten Materialien.....	57
3.2. Materialien und Methoden	58
3.3. Ergebnisse und Diskussion der Materialcharakterisierung	62
3.4. Der Einfluss der Experimentalparameter auf die Artefaktgröße bei der MR-Bildgebung	64
3.5. Zusammenfassung der Experimente zu metallinduzierten Artefakten und Diskussion	73
4 Evaluation in vitro-Biokompatibilität von PEEK und PEEK/Ti.....	75
4.1. Vorbemerkungen zu den Versuchen	75
4.2. Materialien und Methoden	76
4.3. Ergebnisse und Diskussion	82
4.4. Zusammenfassung der Experimente zur <i>in vitro</i> -Bio-kompatibilität von PEEK und PEEK/Ti-Verbänden und Diskussion.....	87
5 Untersuchung der Osseointegration eines Zahnwurzelimplantates aus PEEK/Ti.....	90
5.1. Vorbemerkungen zur tierexperimentellen Studie.....	90
5.2. Materialien und Methoden	91
5.3. Ergebnisse und Diskussion	97
5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse zur Osseointegration dentaler PEEK/Ti-Implantate und Diskussion	104
6 Untersuchung der ossären Integration tissue-engineerter Knochenersatzmaterialien und methodischer Vergleich.....	110
6.1. Vorbemerkungen zur Studie	111
6.2. Materialien und Methoden	113
6.3. Ergebnisse und Diskussion des klinischen Erfolges	122
6.4. Methodischer Vergleich der quantifizierten Ergebnisse aus MRT und Histologie	137
6.5. Diskussion zum methodischen Vergleich zwischen MRT und Histologie	146
7 Zusammenfassung der Arbeit und Ausblick	151
7.1. Zusammenfassung.....	151
7.2. Ausblick	154
7.3. Schlussfolgerung.....	156

8	Anhang	157
8.1.	Zum Aufbau eines NMR-Spektrometers und eines Magnetresonanztomographen	157
8.2.	Vorversuche für die MRT-Bildgebung	159
8.3.	Box-Plots.....	163
8.4.	Anhang zum Kapitel 5	164
8.5.	Anhang zum Kapitel 6	172
III.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	211
IV.	TABELLENVERZEICHNIS.....	213
V.	VERZEICHNIS WISSENSCHAFTLICHER VERÖFFENTLICHUNGEN.....	215
VI.	LITERATURVERZEICHNIS.....	217
VII.	VERSICHERUNG.....	233

II. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ACP	engl. Amorphous calcium phosphate = amorphes Calciumphosphat
ADC	engl. Analog-digital-converter = Analog-Digital-Konverter
ALP	alkalische Phosphatase
ANOVA	engl. Analysis of variance = Varianzanalyse
ASC	engl. Adipose-derived stem cell = adipöse mesenchymale Stammzelle
ASTM	American Society for Testing and Materials
B ₀	statisches, magnetisches Grundfeld; Feldstärke
B ₁	hochfrequentes elektromagnetisches Wechselfeld zur Spinanregung
BA	Bland-Altman
BCP	Bicalciumphosphat
BIC	engl. Bone-implant contact = Knochen-Implantat Kontakt
BMP	engl. Bone morphogenic protein = knochenbildendes Protein
BMU	engl. Basic multicellular units = mehrzellige Grundeinheit zum Knochen-Remodelling
BSA	bovines Serumalbumin
BV	engl. Bone volume = prozentualer Knochenanteil
BW	engl. Band width = spektrale Breite des geformten Pulses
β-TCP	beta-Tricalciumphosphat
Ca/P	Calcium/Phosphat
CFR	engl. Carbon fibre-reinforced = Kohlefaser-verstärkt
CPMG	Carr-Purcell-Meiboom-Gill-Sequenz, zur Bestimmung der T ₂ -Relaxationszeit
CS	Calciumsulfat
CT	Computertomographie
Cu	Kupfer
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol
DAPI	4',6-Diamidino-2-phenylindol
DCPD	Dicalciumphosphat-Dihydrat, Brushit
DNA	engl. Deoxyribonucleic acid = Desoxyribonukleinsäure
DVT	Digitale Volumentomographie
DW	engl. Dwell time = Abtastzeit des FID
ECRI	Emergency Care Research Institute
ELISA	engl. Enzyme-linked immunosorbent assay = Enzymimmunoassay
ESB	European Society for Biomaterials
FID	engl. Free induction decay = freier Induktionszerfall
FV	engl. Fatty tissue volume = prozentualer Fettgewebsanteil
GFR	engl. Glass fibre-reinforced = Glasfaser-verstärkt
GRE	Gradienten-Echo
HAp	Hydroxylapatit
HF	Hochfrequenz
hMSC	humane mesenchymale Stromazelle; wenn nicht anders vermerkt, handelt es sich um Stromazellen des Knochenmarkes
HRP	engl. horseradish peroxidase = Meerrettich-Peroxidase
IF	Immunfluoreszenz

IL	Interleukin
KI	Konfidenzintervall
KOS	Koordinatensystem
LKG	Lippen-Kiefer-Gaumen
M	makroskopische Magnetisierung
M_0	Grundzustand der makroskopischen Magnetisierung
MCPM	Monocalciumphosphat-Monohydrat
Med	Median
μ CT	Mikro-Computertomographie
MKG	Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
MR	Magnetresonanz
MRT	Magnetresonanztomographie
MSC	mesenchymale Stromazelle; wenn nicht anders vermerkt, handelt es sich um Stroma-zellen des Knochenmarkes
MTP	Mikrotiterplatte
MTS	3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium
MW	Mittelwert
M_{xy}	Quermagnetisierung
NMR	engl. Nuclear Magnetic Resonance = magnetische Kernresonanz
OCP	Octacalciumphosphat
ODP	o-Phenylendiamin
OV	engl. Osteoid volume = prozentualer Osteoidanteil
P	Phosphat
PBS	engl. phosphate buffered saline = phosphatgepufferte Salzlösung
PCL	Polycaprolacton
PD	Protonendichte
PDLSC	engl. Periodontal ligament stem cell = Stammzellen des Parodontalligaments
PEEK	Polyetheretherketon
PEEK/Ti	Titan-beschichtetes Polyetheretherketon
PFA	Paraformaldehyd
PFM	Polyfluorochrome Sequenzmarkierung
PGE ₂	Prostaglandin E ₂
PLGA	Polylactidglycolid
PLLA	Poly-L-Lactid
PMMA	Polymethylmethacrylat
PVE	engl. Partial volume effect = Partialvolumeneffekt
qMRT	quantitative Magnetresonanztomographie
ROI	engl. Region of interest = Analysenregion
SE	Spin-Echo
SEM	engl. Standard error of the mean = Standardfehler
SR μ CT	Mikro-Computertomographie mit monochromatischer Synchrotron-Strahlung
SRV	Signal-Rausch-Verhältnis
Stabw	Standardabweichung
SV	engl. Soft tissue volume = prozentualer Weichgewebsanteil
SWH	engl. Spectral width in Hz = spektrale Breite

SWIFT	Sweep Imaging with Fourier Transform
T ₁	Spin-Gitter-Relaxationszeit
T ₂	Spin-Spin-Relaxationszeit
TCPS	engl. Tissue culture polystyrene = Zellkultur-Polystyrol
TE	engl. Echo time = Echo-Zeit
Ti	Titan
TiAlV	Titan-Aluminium-Vanadium
TR	engl. Repetition time = Wiederholzeit
TCP-PHB	Tricalciumphosphat-Polyhydroxybutyrat
UKD	Universitätsklinikum »Carl Gustav Carus« Dresden
UTE	Ultra short echo time
VarK	Variationskoeffizient
ZTE	Zero echo time

1 EINLEITUNG UND ZIELSTELLUNG

1.1. Wissenschaftlicher Hintergrund

Der Ersatz von biologischen Geweben mit Hilfe von Implantaten ist seit Jahrtausenden bekannt. So handelt es sich beim wohl ältesten in Westeuropa entdeckten Zahnimplantat um einen Eisenstift. Dieser trug wahrscheinlich eine Krone aus Knochen oder Holz und wurde im französischen Le Chêne in einem 2300 Jahre alten Grab einer jungen Keltin gefunden¹. Bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts wurden verschiedenste natürliche Materialien, vor allem Knochen, Elfenbein, Holz, aber auch Metalle als Implantatmaterial verwendet. Erst ab den 1960er Jahren begann die gezielte Erforschung mechanischer Gewebeeigenschaften (insbesondere von Knochen) und potentieller Biomaterialien, sowie von von Material-Gewebe-Wechselwirkungen, um die Entwicklung implantierbarer Materialien für den Gewebeersatz voranzutreiben². Diese Materialien, die therapeutischen Zwecken dienen und mit dem lebenden Organismus interagieren, werden in der Medizin und den Lebenswissenschaften als *Biomaterialien* bezeichnet³ (siehe dazu das Kapitel 2.2, S. 10ff).

Sowohl die Biomaterialien selbst, als auch deren zu erfüllende Aufgaben haben sich in den vergangenen 50 Jahren drastisch verändert. Während das Ziel früherer Biomaterialien der reine Ersatz biologischer Gewebe und Funktionen war, welcher durch permanente Implantate aus möglichst inerten Materialien mit geeigneten mechanischen Eigenschaften erreicht werden sollte, geht die Entwicklung heute dahin, eine vollständige Regeneration von Geweben und Organfunktionen zu erzielen⁴. Der Begriff des Biomaterials ist deswegen sehr weit gefasst und beinhaltet eine Fülle anorganischer und organischer Materialien, sowohl einzeln als auch in Kombination miteinander, aber auch Systeme mit pharmazeutischer Aktivität oder solche, die lebensfähige Zellen enthalten³. Der zuletzt aufgeführte Ansatz ist die Grundlage des Tissue Engineering (vgl. Kapitel 2.2.4.3, S. 19ff).

Der Bedarf an neuen Biomaterialien ist groß und ergibt sich zu einem wesentlichen Anteil aus der demographischen Entwicklung. Die längere Lebenserwartung führt beispielsweise dazu, dass mehr Menschen ein Alter erreichen, in dem sie zur Aufrechterhaltung einer gewissen Lebensqualität auf Implantate angewiesen sind (z.B. Zahnersatz). Zusätzlich müssen Implantate bei einem durchschnittlich höheren Lebensalter der Menschen länger halten, sollen also weniger verschleißanfällig sein⁵. Infolge der demographischen Entwicklung steigt außerdem die Anzahl an Patienten, die ein Implantat benötigen, aber eine verminderte Fähigkeit zur Knochenregeneration aufweisen (aufgrund einer Osteoporose, Strahlentherapie, Diabetes mellitus, aber auch durch die dauerhafte Medikamenteneinnahme)⁶⁻⁸.

Für die Entwicklung neuer Materialien sind Untersuchungen am biologischen System unverzichtbar, um Wechselwirkungen zwischen Biomaterial und biologischer Umgebung zu analysieren (der Begriff der *Biokompatibilität* wird im Kapitel 2.3, S. 20f diskutiert). Das komplexe Zusammenwirken verschiedenster Zelltypen bei der Implantateinheilung, der Einfluss physiologischer Belastung auf den sich bildenden Knochen und die Wirkung mechanischer Kräfte auf das Implantat können nicht *in vitro* evaluiert werden (der Prozess der knöchernen Implantateinheilung wird im Kapitel 2.2.2, S. 11ff beschrieben). Deshalb sind zur abschließenden Bewertung eines Materials hinsichtlich seiner Biokompatibilität und Eignung für eine spezielle Anwendung stets Untersuchungen der Situation *in vivo*, also im Rahmen eines Tierversuches, erforderlich⁹.

Die Beurteilung der Biokompatibilität und Eignung eines Implantates beruht in den überwiegenden Fällen auf der histologischen Auswertung¹⁰⁻¹². Für diese werden wenige Mikrometer dünne, das Implantat enthaltende, speziell gefärbte Gewebeschnitte angefertigt und lichtmikroskopisch untersucht (eine detaillierte Beschreibung der histologischen Präparation wurde in Kapitel 2.4.1, S. 23ff gegeben).

Aufgrund der Auflösung im sub-Mikrometerbereich und der zahlreichen Färbemöglichkeiten eignen sich die histologischen Präparate zur Identifikation verschiedener Zelltypen und zur Gewinnung quantitativer Daten, die zur Beschreibung der Knochenregeneration dienen und die Analyse der Implantat-Gewebe-Grenzschicht zulassen.

Die histologische Präparation ist allerdings invasiv und eignet sich aus diesem Grund nicht für die Untersuchung am lebenden Tier. Dadurch ist es nicht möglich, die Implantateinheilung über einen längeren Zeitraum und wiederholt an einem Tier zu beobachten und zu analysieren. Die Folgen sind eine hohe Anzahl aufzuwendender Versuchstiere und eine Vergrößerung der Messunsicherheit aufgrund der gestiegenen biologischen Variabilität¹³. Unterschiedliche Erfolgsraten der untersuchten Biomaterialien werden so möglicherweise nicht identifiziert, da die breite Streuung der mittleren Messwerte keine statistisch signifikanten Ergebnisse erkennen lassen.

Bildgebende Verfahren, die eine nicht-invasive Untersuchung der Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen ermöglichen, sind die Computertomographie (CT) und die Magnetresonanztomographie (MRT). Während die CT, die ein Schichtaufnahmeverfahren auf Grundlage der Schwächung von Röntgenstrahlung darstellt (vgl. Kapitel 2.4.2, S. 26ff), relativ häufig zur Untersuchung der Integration von Biomaterialien in den Knochen verwendet wird^{10,11,14}, hat sich die Nutzung der MRT für diese Fragestellungen bisher nicht etabliert.

Bei der Magnetresonanztomographie handelt es sich, analog zur Computertomographie, um ein Verfahren zur nicht-invasiven Erzeugung digitaler Schnittbilder. Im Gegensatz zur CT, die das Hartgewebe abbildet, wird bei der MRT das Weichgewebe detektiert. Auf Grundlage eines starken, statischen Magnetfeldes sowie eines hochfrequenten magnetischen Wechselfeldes werden (im Falle der medizinischen Bildgebung) Protonenspins angeregt. Detektierbar sind jedoch nur ausreichend bewegliche Protonen, weshalb mit der MRT die Protonenspins des unmineralisierten Weichgewebes und des Fettgewebes, nicht aber von Hartgewebe gemessen werden (die Hintergründe der Signalerzeugung und Aufnahme digitaler Schnittbilder sind im Kapitel 2.4.3, S. 29ff beschrieben). Der große Vorteil der MRT gegenüber anderen bildgebenden Methoden besteht darin, dass es möglich ist, das Weichgewebe auf den Schnittbildern anhand verschiedener Kontraste darzustellen (vgl. dazu die Abb. 19, S. 48). Beispielsweise kann Knochenmark sehr gut identifiziert werden¹⁵, welches zu trabekulären Knochenstrukturen einen starken Kontrast liefert^{16,17}. Zusätzlich lassen sich MR-spezifische Parameter quantifizieren, die einen direkten Rückschluss auf die Beweglichkeit der Protonen zulassen (in der vorliegenden Arbeit werden die beiden Relaxationszeiten T_1 und T_2 beschrieben, siehe das Kapitel 2.4.3.2, S. 36ff). Mit diesen Kennzahlen können Veränderungen im Weichgewebe, etwa durch den zunehmenden Grad der Mineralisation, analysiert werden¹⁸.

In der präklinischen Forschung wurde die Magnetresonanztomographie zur Beschreibung der knöchernen Einheilung von Implantaten bisher kaum verwendet. Die Hintergründe sind die fehlende direkte Darstellbarkeit von Knochen (mit MRT-Standardmethoden), auftretende Bildstörungen durch metallische Materialien¹⁹ und die vergleichsweise hohen Kosten¹³. Dass sich mit der MRT auch in den Knochen implantierte Biomaterialien darstellen lassen, demonstrierten *Kłodowski et al.* in ihrer Veröffentlichung aus dem Jahr 2014²⁰. Die Autorengruppe bildete ein in den Röhrenknochen eingesetztes Implantat aus Polylactid/Hydroxylapatit anhand von MRT- und μ CT-Schnittbildern ab und zeigte außerdem verschiedene Kontrastmöglichkeiten der MRT-Schnittbilder auf.

Arbeiten, die einen methodischen Vergleich zwischen bildgebenden Verfahren thematisieren, sind für die Entwicklung und Etablierung nicht-invasiver Methoden wichtig. Es wurden sehr gute Übersichtsarbeiten zur Beschreibung bildgebender Verfahren für die präklinische Forschung publiziert^{10,11,13}. Allerdings existieren nur wenige Studien, die eine Analyse der Vergleichbarkeit quantifizierter Parameter durchführten^{21,22}.

Da die histologische Auswertung den Goldstandard zur Untersuchung von Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen darstellt, sind Studien, die einen Vergleich zur Histologie durchführen und dazu auch quantitative Messparameter analysieren, essentiell.

1.2. Zielstellung

Die Arbeiten von *Vande Berg et al.*¹⁶ und *Wehrli*²³ zeigten die Möglichkeiten der Darstellung knöcherner Strukturen mit der Magnetresonanztomographie auf. Vor diesem Hintergrund sollte es also prinzipiell möglich sein, die knöcherne Einheilung von Biomaterialien mit der MRT zu analysieren.

Die Zielstellung der Arbeit war folglich, die Eignung und mögliche Anwendungen zur »Analytik der Einheilung von Biomaterialien in Hartgewebe mit der Magnetresonanztomographie« herauszuarbeiten.

Die Dissertationsarbeit enthält deshalb eine Betrachtung notwendiger Materialeigenschaften von geeigneten Implantaten und den Einfluss von Experimentalparametern auf Wechselwirkungen zwischen Material und MR-System. Die Analyse der knöchernen Implantateinheilung mit der MRT sollte sowohl qualitativ, mit Aussagen zur Darstellbarkeit und Abgrenzbarkeit von Strukturen, als auch über die Erhebung quantitativer Parameter erfolgen.

Ähnliche Studien sind der Autorin nicht bekannt. Deshalb wurde es zusätzlich notwendig, die Vergleichbarkeit der quantitativ gewonnenen Messgrößen aus MRT und Histologie zu beurteilen.

1.3. Zum Aufbau der Arbeit

Die experimentellen Arbeiten ordnen sich zwei thematischen Schwerpunkten zu, die wiederum jeweils aus zwei Ergebniskapiteln bestehen.

Untersuchung verschiedener Materialsysteme hinsichtlich ihrer Eignung für die Magnetresonanztomographie und zur Biokompatibilität

Kap. 3
(S. 57ff)

Analyse der Wechselwirkungen zwischen Material und MR-System

Kap. 4
(S. 75ff)

Evaluation der *in vitro*-Biokompatibilität von PEEK und PEEK/Ti

Analyse der knöchernen Einheilung verschiedener Biomaterialien mit der Magnetresonanztomographie im Vergleich mit den Ergebnissen aus der Histologie

Kap. 5
(S. 90ff)

Untersuchung der Osseointegration eines Zahnwurzelimplantates aus PEEK/Ti

Kap 6
(S. 110ff)

Untersuchung der ossären Integration tissue-engineerter Knochenersatzmaterialien und methodischer Vergleich

2 THEORETISCHER HINTERGRUND

2.1. BIOLOGIE DES KNOCHENS.....	5
2.1.1. Struktureller Aufbau des Knochens	5
2.1.2. Knochenzellen.....	7
2.1.2.1. Osteoblasten	8
2.1.2.2. Osteocyten	9
2.1.2.3. Osteoclasten	9
2.1.2.4. »Bone lining cells« (Saumzellen)	9
2.1.3. Primärer und sekundärer Knochen	9
2.1.4. Knochenumbau (Remodelling)	10
2.2. BIOMATERIALIEN.....	10
2.2.1. Was sind Biomaterialien?	10
2.2.2. Knöcherne Implantateinheilung – ossäre Integration.....	11
2.2.3. Biomaterialien für Dentalimplantate	13
2.2.3.1. Titan	13
2.2.3.2. Keramiken	13
2.2.3.3. Polyetheretherketon (PEEK)	14
2.2.4. Knochenersatz.....	17
2.2.4.1. Anwendungsgebiete von Knochenersatzmaterialien in der Zahnmedizin	17
2.2.4.2. Allgemeine Übersicht	17
2.2.4.3. »Knochen-Tissue-Engineering«	19
2.3. BIOKOMPATIBILITÄT.....	20
2.3.1. Beurteilung der Biokompatibilität <i>in vitro</i>	21
2.3.1.1. Bestimmung der Zellmorphologie	21
2.3.1.2. Bestimmung der Zellviabilität	21
2.3.1.3. Bestimmung des Differenzierungsgrades	22
2.3.2. Beurteilung der Biokompatibilität <i>in vivo</i>	22
2.4. BILDGEBENDE VERFAHREN IN DER PRÄKLINISCHEN BIOMATERIALFORSCHUNG.....	23
2.4.1. Histologie	23
2.4.1.1. Grundlagen der histologischen Technik: Präparation von Hartgewebs-proben	23
2.4.1.2. Histomorphometrie	24
2.4.1.3. Polyfluorochrome Sequenzmarkierung	24
2.4.1.4. Histologie zur Evaluation der knöchernen Einheilung	25
2.4.2. Röntgen-basierte bildgebende Methoden.....	26
2.4.2.1. Grundprinzipien der Computertomographie	27
2.4.2.2. Hounsfield-Skala	28
2.4.2.3. μ CT zur Evaluation der knöchernen Einheilung	28
2.4.3. Kernresonanz und Magnetresonanztomographie	29
2.4.3.1. Physikalische Grundlagen der magnetischen Kernresonanz	29
2.4.3.2. Relaxationsprozesse	36
2.4.3.3. Chemische Verschiebung	39
2.4.3.4. Grundlagen der Magnetresonanztomographie	40
2.4.3.5. Das Spin-Echo-Experiment und Bildkontrast	46
2.4.3.6. MR-Bildgebung und Knochen	49
2.4.3.7. MRT zur Evaluation der knöchernen Einheilung	50
2.4.3.8. Wechselwirkungen von Metallen bei MR-Experimenten	51
2.4.4. Sicherheitsaspekte – Die Bewertung der MRT-Sicherheit.....	55

2.1. Biologie des Knochens

2.1.1. Struktureller Aufbau des Knochens

Als Knochen (lat.: *Os*, Plural *Ossa*) wird das harte, skelettbildende Stützgewebe der Wirbeltiere bezeichnet. Neben der Stützfunktion dienen die Knochen zum Schutz innerer Organe, ermöglichen gemeinsam mit den Muskeln die Bewegung und besitzen zudem zahlreiche metabolische Funktionen. Die Größe variiert zwischen nur millimetergroßen Gehörknöchelchen bis zu meterlangen Bein- und Rippenknochen großer Wirbeltiere. Bei einer Dichte von nur rund 1,5 g/cm³ gehört Knochen zu den härtesten natürlichen Materialien²⁴.

Aus materialwissenschaftlicher Sicht ist der Knochen ein streng hierarchisch aufgebautes Nanokomposit, bestehend aus einem anorganischen und einem organischen Anteil. Zusammen mit Dentin, dem Wurzelzement der Zähne und dem Geweih von Rotwild gehört der Knochen zu einer gemeinsamen Gruppe biologischer Komposite²⁵. Das Verhältnis von anorganischer, mineralischer Phase zu organischem Anteil beträgt für Knochen etwa 65 % zu 25 %, die restlichen 10 % entfallen auf Wasser^{25,26i}. Dabei ist die genaue Zusammensetzung keinesfalls konstant, sondern variiert zwischen den verschiedenen Spezies, zwischen verschiedenen Knochen eines Individuums und ebenso zeitlich innerhalb einzelner Knochen²⁵. *Weiner & Wagner* klassifizierten sieben Stufen der strukturellen Hierarchie²⁷, die in Abb. 1 zusammengefasst dargestellt sind.

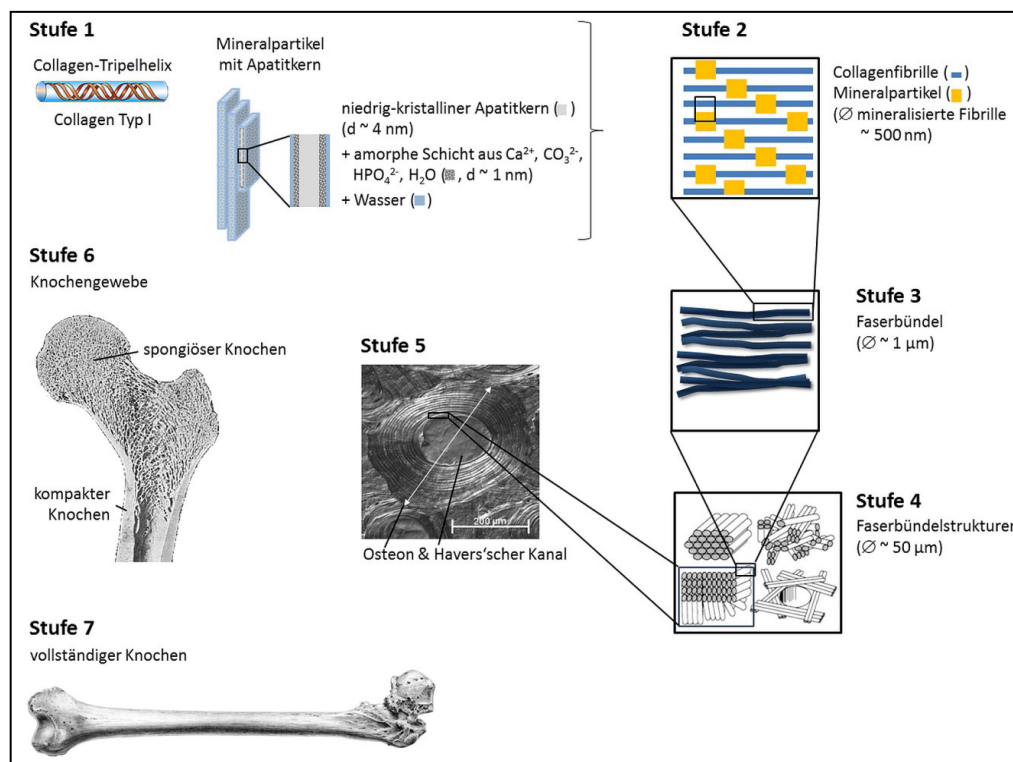


Abb. 1 Darstellung der sieben Hierarchiestufen des Knochens, nach^{24,27,28,31–34}.

Die *Stufe 1* beinhaltet die Hauptkomponenten: Collagen und nicht-collagene Proteine, Mineralpartikel mit Apatitkernen²⁸ und Wasser. Mit einem Anteil von rund 90 % besteht der organische Anteil des Knochens hauptsächlich aus Collagen, im Wesentlichen Typ I. Zu geringen Anteilen kommen zudem Collagene der Typen III, IV, XI und XIII vor²⁹. Die organische Collagenmatrix bildet das Gerüst, in das sich die anorganischen Apatitkristalle einlagern, und trägt aufgrund seiner elastischen Eigenschaften substantiell zur hohen Bruchzähigkeit des Knochens bei.

ⁱ Gewichtsprozent²⁶.

Die nicht-collagenen Proteine lassen sich in vier Gruppen einteilen: Proteoglykane (z.B. Aggrecan, Syndecan), multiadhese Glykoproteine (z.B. Fibronectin, Osteonectin, Osteopontin, Sialoprotein I & II), knochen-spezifische, Vitamin K-abhängige Proteine (z.B. Osteocalcin, Protein S, Matix-Gla-Protein), sowie Wachstumsfaktoren und Cytokine (z.B. IGFs, BMPs, IL-1, IL-6). Diese Proteine sind für Knochenstoffwechsel, -wachstum und -remodellierung essentiell^{29,30}.

Die Deposition der anorganischen Mineralpartikel erfolgt zuerst im intrafibrillären Raum der Collagen-I-Fibrillen²⁴ und anschließend interfibrillär, also zwischen den Fibrillen²⁶. Die Gruppe um *Nassif & Azais* wies 2013 nach, dass es sich hierbei nicht um reine Knochenapatitkristalle handelt, wie in den Übersichtsartikeln von *Weiner & Wagner* 1998 und *Olszta et. al* beschrieben^{26,27}, sondern dass die plättchenförmigen Apatitkristalle von einer hydrophilen, amorphen Calciumphosphatschicht (ACP) umschlossen werden. Das Verhältnis von Apatitkern zu ACP wird mit 55 % zu 45 % angegeben²⁸. Als Knochenapatit wird die carbonatreiche Form des Hydroxylapatits bezeichnet (mineralogisch auch als Dahllit), die zu einem gewissen Teil auch Natrium und Magnesium enthält (Tab. 1).

Tab. 1 Zusammensetzung und Strukturparameter von Knochen (mit Knochenapatit als mineralische Phase) und Hydroxylapatit^{25,26,34}.

	Knochen	Hydroxylapatit (HAp)
anorganische Phase [Gew.%]	~ 65	100
organische Phase [Gew.%]	~ 25	-
Wasser [Gew.%]	~ 10	-
E-Modul [GPa]	~ 0,34 – 13,80	10
Zugfestigkeit [MPa]	~ 150	100
	Knochenapatit (Dahllit)	
Ca/P-Verhältnis	1,40 – 1,60	1,67
typische Kristallgrößen [nm]	50 x 25 x 4	200 - 600
Kristallisationsgrad (HAp = 100)	33 - 37	100
Löslichkeit bei 25 °C [g/l]	~ 0,0094	~ 0,0003

Im Vergleich zum reinen Hydroxylapatit (HAp) weist Dahllit eine niedrigere Kristallinität auf. Diese resultiert aus möglichen Fehlstellen der Gitterplätze einzelner Ca^{2+} - oder OH^- -Ionen bzw. der Substitution derselben durch Metallionen wie z.B. Mg^{2+} , Na^+ oder K^+ bzw. CO_3^{2-} , F^- oder Cl^- . Die Phosphatgruppe kann ebenfalls durch Anionen ausgetauscht werden³⁵. Das Ca/P-Verhältnis von Knochenapatit ist im Vergleich zum HAp niedriger (vgl. Tab. 1)^{26,34}, woraus eine höhere Löslichkeit des Minerals in Wasser resultiert³⁶. Wie bereits erwähnt, handelt es sich bei den Mineralpartikeln um ein zweiphasiges System, wobei sich auf der Oberfläche des nanokristallinen Dahllits eine stark hydrophile ACP-ähnliche Schicht befindet. Diese besteht hauptsächlich aus HPO_4^{2-} , CO_3^{2-} , Ca^{2+} und H_2O und ist zusätzlich von einer Hydrathülle umgeben, die essentiell für die Nahordnung der Partikel ist. Die Hydrathüllen bewirken die geordnete Aggregation sowohl der organischen Collagenmatrix und der nicht-collagenen extrazellulären Matrix als auch der anorganischen Partikel^{24,28}. Die geringe Größe und somit aber große spezifische Oberfläche in Kombination mit einer niedrigen Kristallinität verleihen dem biogenen Apatit die für zahlreiche metabolische Prozesse notwendige Reaktivität^{25,26}.

Mit einem Anteil von rund 10 % ist Wasser eine wesentliche Komponente des Knochens. Die Rolle des Wassers für die strukturelle Ordnung der Mineralpartikel entlang der Collagenfibrillen wurde bereits erwähnt. Es wird angenommen, dass die mineralischen Nanopartikel durch Kapillarkräfte, die aus der dünnen, sowohl die Plättchen umgebenden als auch aus der zu den organischen Komponenten gehörigen Hydrathülle resultieren, geordnet aneinander haften^{24,28}. Ein großer Anteil des Wassers befindet sich zudem in den Havers'schen Kanälen und im lakuno-kanalikulären Netzwerk. Dieser Wasseranteil verleiht dem

Knochen seine einzigartigen visko-elastischen Eigenschaften. Ist dieser verringert, wie es im Alter der Fall ist, reduziert sich ebenfalls die Zugfestigkeit des Knochens³⁷.

Darüber hinaus ist das Wasser das Transportmedium für Ionen und Nährstoffe und spielt eine entscheidende Rolle bei der Weiterleitung mechanischer Stimuli (*Mechanotransduktion*). Mechanische Belastungen des Knochens verursachen innerhalb der Kanälchen des lakuno-kanalikulären Netzwerkes geringe Flüssigkeitsverschiebungen³⁸, die wiederum Organellen (die *Primärzilien*) in der Zellmembran von Osteocyten (siehe auch 2.1.2) stimulieren und nachfolgend intrazelluläre Signale induzieren^{39,40}.

Die mineralisierte Collagenfibrille ist der Grundbaustein des Knochens und entspricht nach *Wagner & Weiner* der *Stufe 2* in der strukturellen Hierarchie. Mineralisierte Collagenfibrillen bilden stets Faserbündel aus parallel angeordneten Fibrillen (*Stufe 3*). Wie bereits beschrieben, wirken die Kapillarkräfte der dünnen Hydrathüllen als molekularer »Klebstoff«.

Die Faserbündel selbst können sich in verschiedenen Struktureinheiten anordnen (*Stufe 4*). Die vier häufigsten Anordnungen sind in Abb. 1 (*Stufe 4*, rechts unten) schematisch dargestellt. Im humanen Knochen kommen die ungeordnete Form (Abb. 1, *Stufe 4*, rechts oben, als »*woven bone*« bzw. *Geflechtknochen* bezeichnet) und die einer Sperrholzplatte ähnlichen Anordnung (Abb. 1, *Stufe 4*, unten links, farbig hervorgehoben, als *lamellarer Knochen* bezeichnet) vor. Der Geflechtknochen ist die Knochenform des embryonalen Skelettes und zudem der erste Knochen, der nach einer Fraktur oder einem chirurgischem Trauma gebildet wird. Im Zuge des Remodellierungsprozesses des Knochens wird dieser relativ schnell in die lamellare Form umgebaut. Diese ist dadurch gekennzeichnet, dass die einzelnen Faserbündel schichtweise und um etwa jeweils 30° versetzt angeordnet sind, wobei sich die Schichtdicken der Einzelschichten unterscheiden. Diese Strukturanisotropie ist für die hohe Bruchzähigkeit des Knochens mitverantwortlich, da richtungsgebundene mechanische Stresseinwirkungen über das gesamte Material abgefangen werden können. Fünf Schichten bilden jeweils eine Struktureinheit²⁷, eine Lamelle.³⁰

Die Osteone (*Stufe 5*) sind die funktionellen Grundbausteine des reifen, kompakten Knochens und werden aus 5 bis 20 konzentrisch geschichteten Knochenlamellen, die um einen zentralen Kanal (*Havers'scher Kanal*) angeordnet sind, gebildet. Der Havers'sche Kanal mit einem Durchmesser von mindestens 20 µm beherbergt einzelne Kapillaren, Nervenfasern und eine dünne Bindegewebsschicht. Osteone sind kreisförmig oder oval und besitzen einen Durchmesser von durchschnittlich 100 µm bis 400 µm. Benachbarte Havers'sche Kanäle werden durch die Volkmann-Kanäle verbunden.

Der kompakte Knochen (auch als *Kompakta* oder *Substantia compacta* bezeichnet) macht einen Anteil von etwa 80 % der Knochenmasse des Skelettes aus. Die übrigen 20 % entfallen auf die schwammförmige Form des Knochens (*Spongiosa*), die, im Gegensatz zur Kompakta, ein dreidimensionales Netzwerk aus sich überschneidenden, gebogenen Knochenbälkchen (den *Trabekeln*) darstellt (die makroskopische Unterteilung des Knochens in Kompakta und Spongiosa entspricht der *Stufe 6* der Hierarchie). Die Spongiosa befindet sich im Inneren der Knochen und wird nach außen hin von der Kompakta begrenzt. Die Hohlräume zwischen den Trabekeln sind mit Knochenmark ausgefüllt. Der Aufbau der Knochenbälkchen erfolgt ebenfalls lamellenartig, wobei die Lamellenanordnung ähnlich dem Sperrholz in Form von aufeinanderliegenden Platten erfolgt. Die maximale Größe der Trabekel ist auf etwa 200-300 µm begrenzt, da innerhalb der Bälkchen keine Gefäße verlaufen und die Ernährung somit per Diffusion vom angrenzenden Markraum stattfinden muss. Die Anordnung der Trabekel erfolgt in Richtung der Zug- und Biegespannung des Knochens⁴¹. Die letzte Hierarchiestufe (*Stufe 7*) umfasst den ganzen Knochen, wie in Abb. 1 mit einem Femur beispielhaft dargestellt wurde.

2.1.2. Knochenzellen

Alle Knochen bestehen aus Knochenzellen und der sie umgebenden mineralisierten Bindegewebssubstanz. Nachfolgend werden die Eigenschaften der Knochenzellen und deren Funktionen kurz umrissen. Es können zwei Abstammungslinien unterschieden werden: Zellen mit der Abstammung von mesenchymalen Stromazellen (Osteoblasten, Osteocyten und »Bone lining cells«) und die Osteoclasten, die hämatopoetischen Ursprungs sind.

2.1.2.1. OSTEOBLASTEN

Osteoblasten (Abb. 2A) stammen von mesenchymalen Stromazellen ab (mesenchymal stromal cells, MSCⁱⁱ) und sind verantwortlich für den Aufbau von Knochengewebe (*Osteogenese*). Die Differenzierung aus den MSC erfolgt über die Zwischenstufe der Osteoblasten-Vorläuferzellen (Osteoprogenitor-Zellen). Die Mineralisierung des Knochens beginnt, wenn das Löslichkeitsprodukt für Calciumphosphat überschritten wird. Der mehrstufige Mineralisierungsprozess geht mit einer Erhöhung der lokalen Ca^{2+} und PO_4^{3-} -Konzentration einher. Im frühen Differenzierungsstadium sezernieren die Osteoblasten organische Grundsubstanz (Osteoid, welches die collagenen als auch die nicht-collagenen Proteine umfasst). Osteocalcin und die Sialoproteine binden extrazelluläres Ca^{2+} und erhöhen somit die lokale Calciumkonzentration. Dieses ist gleichzeitig der Stimulus für die Osteoblasten-Vorläuferzellen, die Aktivität an alkalischer Phosphatase (ALP) zu erhöhen (für Mineralisation wichtiges Enzym, da es Phosphorsäureester hydrolysiert). Durch Abschnürung von kleinen, zellmembranhüllten Zytoplasmabläschen entstehen die sogenannten Matrixvesikel, die ALP und Pyrophosphat enthalten (ca. 50-200 nm im Durchmesser). In deren Inneren kommt es unter Beteiligung calciumbindender Proteine (Osteocalcin, Sialoproteine) zu einer ausreichenden Anreicherung der Ionen und Ausbildung von Nukleationskeimen, die in der anschließenden Fällung von amorphem Calciumphosphat oder eines Calciumphosphatkristallites resultiert^{29,43}. Dieser Prozess beginnt etwa 10 Tage nach der Deposition von Osteoid⁴⁴. Die wachsenden Kristalle führen schließlich zum Platzen der Membranvesikel und einer Anlagerung der freien Kristallite an die Collagenfibrillen.

Im Rahmen der Bestimmung der *in vitro*-Biokompatibilität von Materialien mit potentiellm Knochenkontakt wurden humane mesenchymale Stromazellen (hMSC) verwendet und osteogen differenziert. Die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase und der Mineralakkumulation dienen als wichtige Differenzierungsmaker (siehe auch Kap. 2.3.1 und 4.3.2).

Zudem stellt die Besiedlung osteogener MSC auf biodegradierbaren Substraten aktuell den am häufigsten verwendeten Ansatz des »Knochen-Tissue-Engineering« dar⁴⁵ (vgl. dazu Kap. 2.2.4.3, S. 19).

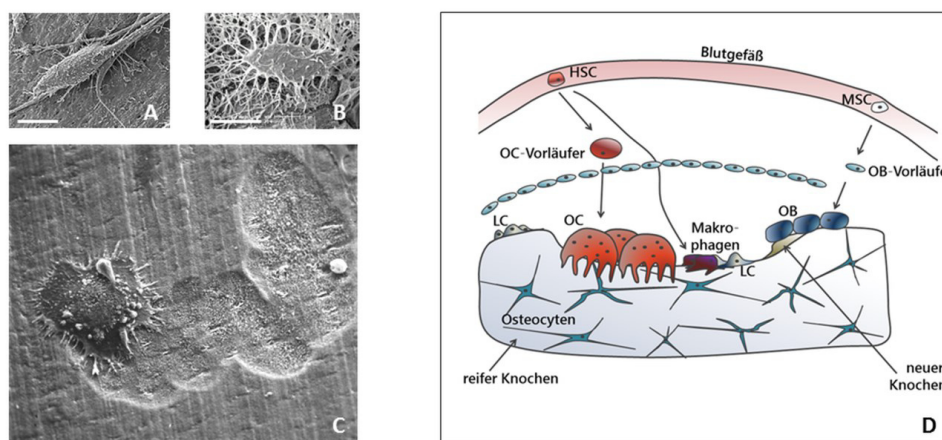


Abb. 2 Knochenzellen (A-C; Rasterelektronenmikroskopie) und schematische Darstellung einer Zelleinheit während des Knochenumbaus (D). **(A)** Osteoblast auf porzinem Knochenersatzmaterial, Maßstabsbalken: 10 μm ⁴⁸. **(B)** Osteocyt-Canalculi-System, Maßstabsbalken: 10 μm ⁴⁹. **(C)** Aktiver Osteoclast in Resorptionslakune⁵⁰. **(D)** Die lebenslangen Auf- und Abbauprozesse (Remodelling) des Knochens finden in anatomisch diskreten Einheiten, den sogenannten »basic multicellular units« (BMUs) statt. Zwei Zell-Linien sind im Remodelling-Prozess beteiligt: die knochenresorbierenden Osteoclasten (OC) und Makrophagen, die aus hämatopoetischen Stammzellen (HSC) hervorgehen und die Osteoblasten (OB), Osteocyten und Lining cells (LC), die sich aus mesenchymalen Stromazellen (MSC) differenzieren. Die BMU wird von einem Schirm von OB-Vorläuferzellen abgegrenzt^{47,51}.

ⁱⁱ Die Abkürzung MSC wird in der Literatur synonym für die Begriffe »mesenchymale Stammzelle« und »mesenchymale Stromazelle« verwendet. Dieses suggeriert fälschlicherweise, dass es sich um ein und dieselbe Art von Stammzellen handelt. Allerdings erfüllen die »mesenchymalen Stromazellen« nicht die klassischen Stammzellkriterien. »Mesenchymale Stromazellen« sind eine heterogene Zellpopulation aus adulten Stammzellen und Subpopulationen von Progenitorzellen mit unterschiedlichem Differenzierungspotential. Sie sind multipotent (Differenzierung in Osteoblasten, Chondrozyten oder Adipozyten möglich) und adhären unter Standardkulturbedingungen an Plastik. Mesenchymale Stromazellen exprimieren die Oberflächenantigene CD105, CD73 und CD90, zahlreiche Antigene allerdings nicht (eine detaillierte Übersicht geben *Fekete et al.*⁴²).

2.1.2.2. OSTEOCYTEN

Etwa 10 % der Osteoblasten verbleiben als wenig stoffwechselaktive Osteocyten in kleinen Höhlen (Lakunen) der Knochenmatrix⁴⁴. Sie besitzen eine ovale Form und stehen über lange, dünne Fortsätze miteinander, mit Osteoblasten oder den Endothelzellen der Havers'schen Kanäle in Verbindung (Abb. 2B). Die Fortsätze verlaufen in bis zu 300 nm feinen Kanälchen (*Canaliculi*, oder *lakuno-kanalikuläres Netzwerk*), die die Knochenmatrix unterbrechen⁴⁶. Osteocyten spielen eine wesentliche Rolle bei der Regulierung des Knochenumbaus, da sie mechanische Belastungen über Druckänderungen des lakuno-kanalikulären Netzwerkes über Primärzilien der Zellmembran registrieren (*Mechanotransduktion*) und interzellulär Signale weiterleiten³⁸. Mechanische Stimuli ändern nicht nur die Gen-Expression sondern auch deren apoptotische Mechanismen²⁹.

2.1.2.3. OSTEOCLASTEN

Osteoclasten (Abb. 2C) sind große, mehrkernige, bewegliche Zellen mit einem Durchmesser von rund 100 µm und für die Resorption des Knochens verantwortlich. Sie entstammen durch die Fusion hämatopoetischer, mononukleärer Vorläuferzellen und somit aus derselben Entwicklungsreihe, die zur Entstehung von Makrophagen und neutrophilen Granulozyten (beides Immunzellen) führt²⁹. Die Differenzierung und Fusion von Monocyten zu Osteoclasten wird durch zahlreiche Cytokineⁱⁱⁱ beeinflusst⁴⁷. Der Knochenaufbau durch die Osteoblasten und die Resorption des Knochens durch die Osteoclasten sind eng miteinander gekoppelt. Zur Resorption haften die Osteoclasten auf der Oberfläche und bilden einen ringförmigen, streng abgegrenzten Resorptionsbereich (*Howship Lakune*), wobei die Zelle zur Knochensubstanz hin einen büstenartigen Resorptionssaum ausbildet (*»ruffled border«*). Die Resorption erfolgt zunächst über die lokale Absenkung des pH-Wertes (Carboanhydrase und ATP-abhängige Protonenpumpe) auf etwa 4,5. Die azide Umgebung führt zum Abbau und der Freisetzung der anorganischen Matrix zu löslichen Calcium- und Phosphat-Ionen und Wasser in die intrazelluläre Flüssigkeit. Die Ausscheidung verschiedener Hydrolasen und Phosphatasen durch die Osteoclasten bewirkt die nachfolgende Degradation der organischen Matrix. Die Abbaurate von bis zu 100 µm pro Tag entspricht der Syntheseleistung von bis zu 100 Osteoclasten^{29,30,34}.

2.1.2.4. »BONE LINING CELLS« (SAUMZELLEN)

Bereiche des Knochens, in denen kein Umbau stattfindet, werden von den sogenannten *»Bone lining cells«* (Saumzellen) bedeckt. Die endostalen *»lining cells«* lagern dabei dicht auf der äußeren Knochenoberfläche; periostale *»lining cells«* grenzen die Kompakta zum Markraum hin ab. Sie ragen mit dünnen, langen Fortsätzen in die *Canaliculi* hinein und können so mit den Osteocyten kommunizieren. Die Saumzellen besitzen regulatorische Funktionen in der Calcium- und Phosphathomöostase und unterstützen die Osteocyten bei der Versorgung mit Nährstoffen²⁹.

2.1.3. Primärer und sekundärer Knochen

Die erste (primäre) Form des Knochens ist der Geflechtknochen (*»woven bone«*). Die Entstehung erfolgt entweder durch direkte (*desmale*) oder durch indirekte (*chondrale*) Knochenbildung (*Ossifikation*). Der Geflechtknochen ist die Form des embryonalen Knochens. Im Rahmen einer Knochenbruchheilung, nach chirurgischen Traumen und in den Bereichen des aktiven Knochenumbaus wird ebenfalls zuerst der Geflechtknochen gebildet. Dieser ist durch eine ungeordnete Struktur der Collagenmatrix, einer höheren Dichte an organischer Grundsubstanz und durch eine größere Osteocytenanzahl charakterisiert²⁹. Die Mineralisationsrate für den primären Geflechtknochen ist dabei rund viermal höher als die Bildung des reifen, lamellaren Knochens⁴⁶.

ⁱⁱⁱ Cytokine sind eine heterogene Gruppe von Proteinen, die das Wachstum und die Differenzierung von Zellen beeinflussen. Sie wirken über einen membranständigen Rezeptor und können von mehreren Zelltypen produziert werden.

Aufgrund der ungeordneten Matrix (Abb. 1, Stufe 4, rechts oben) weist der primäre Knochen eine geringe Stabilität auf und wird nach und nach durch den sekundären (lamellaren) Knochen ersetzt. Während die primäre Mineralisation sehr schnell, innerhalb weniger Tage erfolgt, ist die sekundäre Mineralisation ein langsamer und schrittweiser Prozess, der mehrere Jahre andauern kann⁵².

2.1.4. Knochenumbau (Remodelling)

Knochen ist ein dynamisches Gewebe, welches einem ständigen, regulierten Auf- und Abbau durch die Knochenzellen unterliegt (als *Remodelling* bezeichnet). Der Prozess des Knochenumbaus (vom primären zum sekundären Knochen) findet während des Wachstums, aber auch bei der Heilung von Mikrofrakturen und Knochenbrüchen statt und dient zudem der Aufrechterhaltung der Calcium- und Phosphathomöostase. Eine erst in der jüngsten Zeit diskutierte Rolle des Knochens ist die weitreichende Bedeutung der Knochenzellen für endokrine (d.h. das Hormonsystem beeinflussende) Prozesse⁴⁷.

Remodelling beginnt beim Menschen im Alter von etwa einem Jahr und dauert das ganze Leben an³⁴. Dieser Prozess führt zu einer jährlichen Erneuerung von 5 % des kortikalen Knochens und etwa 20 % der spongiosen Knochens⁵³. Der Remodelling-Zyklus umfasst eine Serie streng regulierter Phasen, die auf der Wechselwirkung der in Kap. 2.1.2 (S. 7ff) beschriebenen Knochenzellen beruht. Die Organisation der Zellen verläuft in anatomisch diskreten Einheiten, den sogenannten »basic multicellular units« (*BMUs*, siehe Abb. 2D). Vereinfacht dargestellt bauen mehrere Osteoclasten den Knochen entweder in Form von Resorptionslakunen im spongiosen Knochen oder als Erosionskanäle in der Kompakta ab. Daraufhin schließt sich eine Gruppe mononuklearer Zellen an (Saumzellen und Makrophagen), die die Resorptionsflächen glätten, indem sie die entmineralisierte Matrix beseitigen. In der Folge synthetisieren die Osteoblasten schrittweise die neue Knochenmatrix. Während die Resorptionsphase nur drei Wochen andauert, vollzieht sich der Aufbau der neuen Knochenmatrix über einen Zeitraum von drei bis vier Monaten⁵¹.

2.2. Biomaterialien

2.2.1. Was sind Biomaterialien?

Materialien, die therapeutischen Zwecken dienen und mit dem lebenden Organismus interagieren, werden in der Medizin und den Lebenswissenschaften als Biomaterialien bezeichnet^{iv}. Die gezielte Erforschung mechanischer Gewebeeigenschaften (insbesondere von Knochen) und potentieller Biomaterialien, sowie von Material-Gewebe-Wechselwirkungen findet erst seit den 1960er Jahren statt². Seitdem hat sich die Biomaterialforschung dynamisch entwickelt. Stand in den 1960er und 1970er Jahren noch der reine Gewebe- oder Organersatz mit möglichst inerten Materialien im Vordergrund (Biomaterialien der ersten Generation), so richtete sich der Fokus ab den 1980er Jahren zunehmend auf bioaktive Materialien, die die physiologische Integration in das Gewebe bewusst beeinflussen (Biomaterialien der zweiten Generation)²; ein heute noch aktuelles Forschungsfeld, vor allem, um die Lebensdauer permanenter Implantate zu erhöhen und somit an die demografische Entwicklung anzupassen. Die gegenwärtige Entwicklung verfolgt aber zunehmend nicht mehr nur den reinen Ersatz, sondern die Reparatur von Gewebeschäden durch die Stimulation spezifischer Zellreaktionen im atomaren Maßstab (Biomaterialien der dritten und vierten Generation)⁴.

Der Begriff des Biomaterials unterliegt daher einer ständigen Anpassung und beinhaltet heute Materialien und Substanzen, die innerhalb der ersten Definition der *Europäischen Gesellschaft für Biomaterialien* (European Society for Biomaterials, ESB) von 1986 nicht mit erfasst wurden⁵⁵. Der aktuelle Begriff muss die zahlreichen neuen Entwicklungen in der Medizin, wie das Tissue Engineering⁵⁶⁻⁵⁸, Systeme zur

^{iv} Zur Bezeichnung des Begriffes »Biomaterial« existieren zwei Ansätze. In der Medizin und den Lebenswissenschaften wird ein Biomaterial wie obig beschrieben verstanden. Der zweite Ansatz impliziert unter einem Biomaterial ein Material mit biologischem Hintergrund. Beim Autobauer *Ford* gibt es beispielsweise eine Forschungsgruppe, die sich der Entwicklung bio-basierter Kunststoffe widmet^{3,54}.

kontrollierten Medikamentenfreisetzung⁵⁹, Zell- und Gentherapie^{60,61} und Biosensoren⁶² ebenfalls mit berücksichtigen. Die Definition von *Williams* aus dem Jahre 2009 ist daher sehr allgemein gehalten³:

»A biomaterial is a substance that has been engineered to take a form which, alone or as part of a complex system, is used to direct, by control of interactions with components of living systems, the course of any therapeutic or diagnostic procedure, in human or veterinary medicine.«

Das notwendige Kriterium für alle Materialien im direkten Gewebekontakt ist deren ausgewiesene Biokompatibilität (siehe dazu Kap. 2.3, S. 20ff).

2.2.2. Knöcherne Implantateinheilung - ossäre Integration

Die Frakturheilung von Knochen und die knöcherne Implantateinheilung sind vergleichbare Prozesse. Die Implantateinheilung verläuft streng chronologisch und wird in vier Phasen unterteilt: (1) *Hämostase*, (2) *Entzündung*, (3) *Proliferation* und (4) *Remodelling*³⁹. Einen Überblick über den zeitlichen Verlauf der frühen Material-Gewebe-Wechselwirkungen gibt die Abb. 3.

Die Hämostase^v (Abb. 3-1) beginnt unmittelbar nach der Implantatinserion (dem chirurgischen Trauma) mit einer Gefäßverengung und gleichzeitig mit der Freisetzung zahlreicher Wachstumsfaktoren, Cytokinen, niedermolekularen Substanzen aus dem Serum verletzter Blutgefäße und aggregierten Thrombozyten. Es bildet sich ein Blutpfropf aus polymerisierten Fibrinogen (dem Fibrin) und extrazellulären Matrixproteinen^{39,65}. Gleichzeitig kommt es an der Oberfläche des Implantates zur Adsorption von Wasser und freien Ionen und nachfolgend innerhalb von Mikro- bis Millisekunden zu einer unkontrollierten Proteinadsorption^{64,66}.

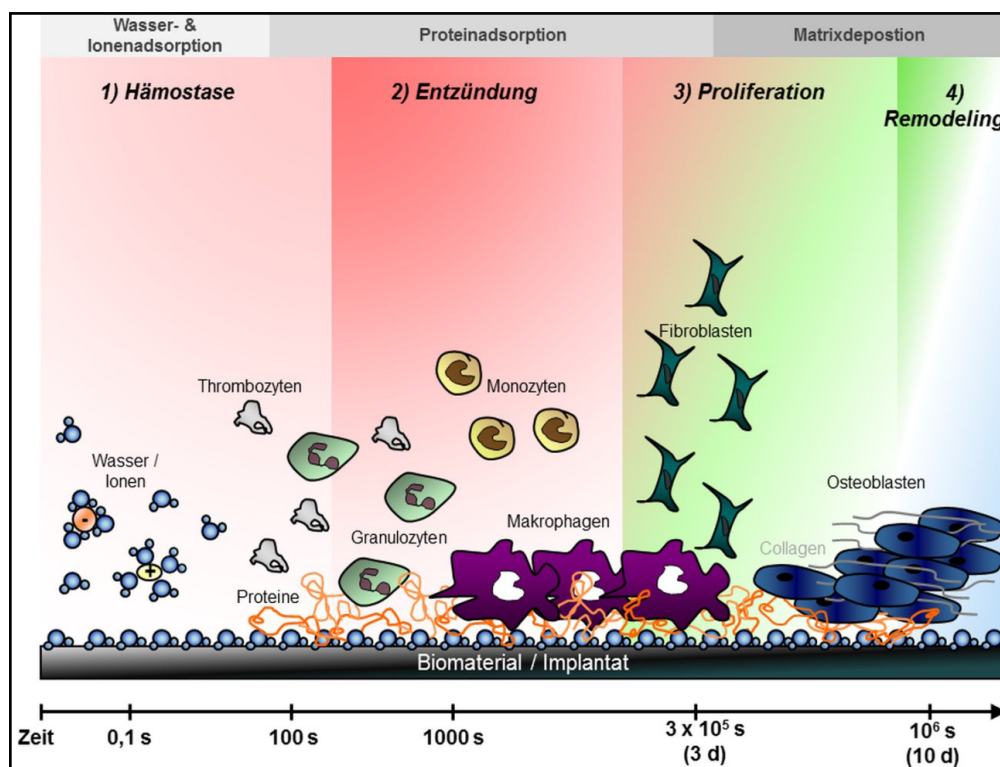


Abb. 3 Darstellung des zeitlichen Verlaufes früher Implantat-Gewebe-Interaktionen. Analog zur Weichgewebsheilung verläuft die knöcherne Implantateinheilung streng chronologisch in den vier Phasen »Hämostase«, »Entzündung«, »Proliferation« und »Remodelling«, nach^{63,64}.

^v Unter dem Begriff Hämostase werden sämtliche Prozesse zusammengefasst, die für die Beendigung einer Blutung verantwortlich sind.

Bereits nach rund zehn Minuten setzt die Entzündungsphase (Abb. 3-2) ein, die mehrere Tage andauert. Im Gegensatz zur Hämostase wird während der entzündlichen Phase die Gefäßpermeabilität erhöht. Die Thrombozyten und die inflammatorischen Zellen (Granulozyten, Makrophagen, Lymphozyten) dominieren hier und leiten die Reparatur ein. Die Granulozyten bauen einerseits durch sezernierte Proteasen abgestorbenes Gewebe ab und töten Bakterien über reaktive Radikale; andererseits erreichen sie durch die Freisetzung entzündungsfördernder Cytokine die Rekrutierung weiterer Granulozyten und der Makrophagen. Diese eliminieren sowohl die getöteten Bakterien als auch die freien Gewebetrümmer und leiten mit der Sezernierung angiogener und fibrogener Wachstumsfaktoren die proliferative Phase ein. In Gegenwart von Bakterien produzieren sie hingegen weiterhin proinflammatorische Cytokine und verlängern die Entzündungsphase. Die Rolle der Lymphozyten im Reparaturprozess ist nicht eindeutig definiert. Möglicherweise setzen sie Cytokine zur Rekrutierung von Fibroblasten frei und säubern die Wunde von alten Granulozyten³⁹.

Ab dem dritten Tag nach der Implantatinsertion erfolgt während der proliferativen Phase (Abb. 3-3) die Migration und Proliferation von Fibroblasten vom Wundrand her. Diese bauen die bestehende Fibrinmatrix durch Matrixmetalloproteinasen ab und synthetisieren extrazelluläre Matrixproteine wie Collagen und Elastin. Die Neubildung von Blutgefäßen (*Angiogenese*) wird durch den Wachstumsfaktor VEGF^{vi} stimuliert, indem er als Mitogen für Endothelzellen fungiert und die Differenzierung von Perizyten in Endothelvorläuferzellen induziert^{39,67}. Die Endothelzellen bilden durch Proliferation verdichtete Gruppen und organisieren sich zu röhrenförmigen Strängen. Die neu entstandenen Blutgefäße stellen die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen sicher und sind somit die Grundvoraussetzung für die Neubildung von Knochen. Das nun bestehende Gewebe aus extrazellulärer Matrix, Fibroblasten und kleinen Kapillären wird als »*Granulationsgewebe*« bezeichnet. Ab diesem Zeitpunkt beginnt die Migration von Knochenvorläuferzellen, die sich an extrazelluläre Proteine wie Fibronectin anheften. *Terheyden et al.* führen an, dass sich die Osteoprogenitor-Zellen vermutlich aus den Perizyten^{vii} der kleinsten Blutgefäße differenzieren³⁹. Die Knochenneubildung geht mit der Produktion von Osteoid einher und setzt sich mit der Mineralisierung der organischen Matrix durch Osteoblasten fort (vgl. Kap. 2.1.2.1, S. 8). Der erste gebildete Knochen ist der Geflechtknochen (vgl. Kap. 2.1.3, S. 9), der das Implantat zunehmend stabilisiert.

Mit dem Abbau des Geflechtknochens durch Osteoclasten beginnt die Remodellierungsphase (Abb. 1-4), die etwa ab dem siebenten Tag nach der Implantation stattfindet und mehrere Jahre andauern kann. Ziel des Prozesses ist der Umbau des mechanisch wenig stabilen Geflechtknochens in die lamellare Knochenstruktur (vgl. dazu Kap. 2.1, S. 5ff). Es entsteht ein neues, dreidimensionales, nach dem *Wolffschen Gesetz*^{viii} belastungsorientiert angeordnetes Trabekelnetz um das Implantat³⁹.

Das Ergebnis des knöchernen Heilungsprozesses wird als »*ossäre Integration*« (in der zahnärztlichen Implantologie gemeinhin als »*Osseointegration*«) bezeichnet. Der Begriff der Osseointegration wurde in den 1970er Jahren von *Brånemark* als direkter, struktureller und funktioneller Verbund zwischen vitalem Lagerknochen und der Implantatoberfläche definiert⁷¹. Verläuft der Heilungsprozess jedoch unzureichend, kommt es zur Ausbildung einer nicht-mineralisierten, mehrere Hundert Mikrometer breiten Bindegewebsschicht um das Implantat. Neben der daraus resultierenden geringeren Stabilität kann es, aufgrund fehlender Vaskularisierung, zu einem erschwerten Transport von Stoffwechselmetaboliten kommen, der einen potentiellen Infektionsherd darstellt⁶⁴.

Beim Prozess der Osseointegration wird zwischen *Distanz-* und *Kontaktosteogenese* unterschieden. Im Falle der Distanzosteogenese geht die Knochenneubildung vom Lagerknochen aus. Die osteogenen Zellen stammen ausschließlich vom alten Knochen ab und im Verlauf der Heilung wächst der neue Knochen an das Implantat heran.

^{vi} VEGF... Vascular Endothelial Growth Factor, Sezernierung durch Makrophagen

^{vii} Perizyten haben ihren Ursprung in mesenchymalen Stromazellen, sind wenig differenziert und bilden mit den Endothelzellen die Blutkapillaren. Es ist nachgewiesen, dass sich die Perizyten zu Osteoblasten, Chondrozyten, Adipozyten, glatte Gefäßmuskulzellen und Skelettmuskulzellen differenzieren können^{68,69}.

^{viii} *Julius Wolff* beschrieb 1892 das »Gesetz der Transformation der Knochen«. Nach diesem Gesetz wird der Knochen belastungsorientiert, und sich den äußeren Kräften anpassend, aufgebaut⁷⁰.

Im Gegensatz dazu beginnt die Neubildung von Knochen bei der Kontaktosteogenese direkt am Implantat. Hierfür müssen Knochenvorläuferzellen aktiv zur Implantatoberfläche migrieren, zu Osteoblasten differenzieren und extrazelluläre Matrix synthetisieren. Die Osteogenese beginnt folglich vom Implantat in Richtung des alten Lagerknochens. Idealerweise erfolgen beide Prozesse parallel^{72,73}.

2.2.3. Biomaterialien für Dentalimplantate

2.2.3.1. TITAN

Zahnimplantate (Dentalimplantate), als Träger des Zahnersatzes, werden in den Kieferknochen eingesetzt und übernehmen dort die Funktion einer künstlichen Zahnwurzel. Das am häufigsten verwendete Implantatsystem ist das *enossale* (im Knochen befindliche), zweiteilige, rotationssymmetrische Schraubimplantat (*Brånemark-Implantat*) aus Titan^{74,75}. Reines Titan wird seit etwa 30 Jahren als Implantatmaterial verwendet und weist im gesunden Knochen sehr hohe Langzeiterfolgsraten von über 97 % auf^{76,77}. Das Material verfügt über eine hervorragende Biokompatibilität, ist belastbar und korrosionsbeständig. Die hohe chemische Resistenz resultiert aus der sich spontan bildenden, amorphen Oxidschicht auf der Oberfläche des Metalls (Passivierung). Da die Oxidschicht weniger reaktiv als das reine Titan ist und mit $2,5 \cdot 10^{-11} \text{ mol} \cdot \text{l}^{-1}$ eine sehr geringe Löslichkeit aufweist, trägt sie ebenfalls maßgeblich zur hohen Biokompatibilität bei^{78,79}.

Trotz der hohen Erfolgsraten von Titanimplantaten werden zunehmend weitere Materialien für die Anwendung in der dentalen Implantologie diskutiert. Hintergründe sind potentielle Unverträglichkeiten auf Titan aufgrund der möglichen Freisetzung von Metallionen^{78,80} und Implantatverluste durch den »*stress shielding effect*« (siehe auch Kap. 2.2.3.3, S. 14ff), da Titan im Vergleich zu Knochen und Zähnen ein deutlich höheres Elastizitätsmodul aufweist (E-Module: Titan ~ 105 GPa; Knochen ~ 10 -30 GPa; Zahnschmelz ~ 80 GPa; Dentin ~ 20 GPa)^{78,81}. Zudem kann die graue Farbe bei Patienten mit einem dünnen periimplantärem Weichgewebe ästhetische Probleme verursachen, wenn im Bereich der oberen Frontzähne die dunkle Farbe des Metalls durch das Weichgewebe hindurchscheint. In dem Fall wird häufig eine metallfreie Versorgung gewünscht^{76,82}.

Nachteilig wirkt sich außerdem die Ausbildung von metall-induzierten Artefakten durch bestehende Titanimplantate in der bildgebenden Diagnostik aus, die die Planung weiterer Zahnimplantate und die Beurteilung der Einheilung in den Knochen verhindern können (siehe Kap. 2.4.3.8, S. 51ff)⁸³.

2.2.3.2. KERAMIKEN

Aufgrund genannter nachteiliger Aspekte von Titan wird die Nutzung metallfreier Implantate, z.B. in Form von keramischen Materialien, zunehmend von den Patienten nachgefragt^{84,85}. Prinzipiell ist die Verwendung von Keramiken für Dentalimplantate nicht neu. Bereits seit den 1960er Jahren werden Keramiken (Silikate oder Aluminiumsilikate) zur Verblendung von Metallen genutzt⁸⁶. Die ersten Vollkeramik-Implantate wurden aus Aluminiumoxid⁸⁷ hergestellt, waren aber aufgrund ihrer geringen Biegefestigkeit und der großen Härte anfällig für Frakturen⁸⁵. Seit etwa 15 Jahren sind Keramik-Implantate aus Zirkondioxid (ZrO_2) auf dem Markt erhältlich.

Partiell Yttrium-stabilisiertes ZrO_2 (Zirkonia) weist eine hohe Biegefestigkeit und Härte auf. Der Elastizitätsmodul ist jedoch mit rund 210 GPa sogar noch höher als der des Titans. ZrO_2 -Implantate sind bezüglich ihrer Biokompatibilität mit Titan vergleichbar und ermöglichen aufgrund ihrer weißen Farbe sehr ästhetische Ergebnisse^{85,88}. Zirkonoxid weist eine geringe Leitfähigkeit auf, ist leicht diamagnetisch und besitzt eine hohe Elektronendichte^{89,90}. Daher ist das Material zwar kompatibel zur Magnetresonanztomographie, verursacht aber in der Computertomographie Bildartefakte⁹¹.

Verglichen mit Titanimplantaten sind die Erfolgsraten aber niedriger⁹². Aufgrund (noch) fehlender Langzeituntersuchungen wird in mehreren Studien aktuell keine Empfehlung für den routinemäßigen Einsatz für ZrO_2 -Implantate gegeben^{85,86,93}.

2.2.3.3. POLYETHERETHERKETON (PEEK)

Der Kunststoff Polyetheretherketon (PEEK) wird für die Anwendung als Implantatmaterial zunehmend als Alternative zum Titan diskutiert. Gründe dafür sind die ausgeprägte chemische und thermische Stabilität, geringe Wasseraufnahme, niedrige Dichte und seine Biokompatibilität⁹⁴. Im Gegensatz zum klassischen Implantatmaterial Titan besitzt PEEK einen dem Knochen ähnlichen Elastizitätsmodul ($E \sim 4$ GPa) und ist kompatibel zu bildgebenden Methoden, wie Magnetresonanztomographie und Computertomographie⁹⁵.

PEEK ist ein aromatisches Polymer, wobei die Phenylen-Reste alternierend über Ether- und Keto-Gruppen verknüpft sind (Abb. 4). Die Ether- und Keto-Gruppen nehmen die »para«-Position ein, woraus eine planare Zick-Zack-Konformation resultiert. Die relativ steifen Polymerketten können lamellare Kristallite bilden (Dicke der Lamellen: 50-60 Å), die sich unter geeigneten Bedingungen sphärolitisch organisieren⁹⁶.

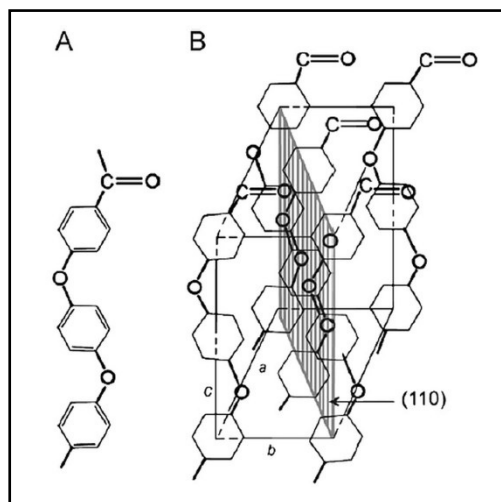


Abb. 4 Chemische Struktur von Polyetheretherketon (PEEK) ist $-\phi-O-\phi-O-\phi-CO-\phi-$ (ϕ = para-disubstituierte Phenylengruppe). (A) Kettenkonformation des Moleküls und (B) orthorhombische Einheitszelle für PEEK. Die Abbildung ist aus Kurtz *et al.*⁹⁵ entnommen.

Der kristalline Anteil ist von mehreren Variablen abhängig, wie der Prozessierungstemperatur und -dauer, der Abkühlrate und den Bedingungen der nachträglichen Wärmebehandlung. Üblicherweise erfolgt die Kristallisation aus der Schmelze knapp oberhalb der Glasübergangstemperatur von rund 143 °C und erreicht Kristallinitätsgrade von 30-35 %^{95,97}. Die mechanischen Eigenschaften sind eng mit dem Kristallinitätsgrad verknüpft. Prinzipiell führt eine Erhöhung der Kristallinität zu einer höheren Härte, Zugfestigkeit und einem höheren Elastizitätsmodul. Gleichzeitig wird das Material spröder, Bruchspannung und Bruchdehnung nehmen ab⁹⁸. Die physikalischen Eigenschaften von PEEK im Vergleich zum Titan sind in Tab. 2 zusammengefasst.

Aufgrund seiner Temperaturbeständigkeit wurde PEEK zu Beginn der 1980er Jahre ursprünglich in der Elektro-, Automobil- und Luftfahrtindustrie verwendet⁹⁵. Die Nutzung des Materials im medizinischen Bereich, insbesondere für Implantate im Gebiet der Orthopädie oder Traumatologie ist noch relativ neu. Erst 1998 wurde PEEK für die Langzeitimplantation zugelassen¹⁰³. Aktuell hat sich PEEK im Bereich der Wirbelsäulenimplantate etabliert, setzt sich aber zunehmend bei der Rekonstruktion großflächiger und komplexer Schädeldefekte und Kieferdefekte durch^{104,105}. Die Gründe sind neben der Möglichkeit zur individuellen Fertigung der Kunststoffimplantate durch CNC-Frästechnik aus einem PEEK-Block, Spritzgießen¹⁰⁶ oder durch 3D-Druck¹⁰⁷ auch das niedrige Gewicht und die geringe Wärmeleitfähigkeit des Materials, die sich positiv auf den Tragekomfort für den Patienten auswirken¹⁰⁶⁻¹⁰⁸.

Seit etwa drei Jahren wird PEEK zudem verstärkt als Alternative zu Titan und ZrO_2 in der Zahnmedizin diskutiert. Der Kunststoff kann sowohl für herausnehmbare als auch für festsitzende prothetische Implantate verwendet werden. Die große Flexibilität bei der Fertigung und die helle Farbe erweisen sich für Dentalimplantate als ebenfalls günstig¹⁰⁹⁻¹¹¹. Zudem könnte der Kunststoff eine kostengünstige Alternative zu Titan darstellen^{112,113}. Dentale PEEK-(basierte) Implantate sind kommerziell erhältlich (Produkt und Hersteller: PEEK-Optima von Invibio Ltd., UK; VESTAKEEP PEEK der Evonik Industries AG, Essen,

Deutschland; BioHPP der Bredent GmbH & Co. KG, Senden, Germany), werden aber, aufgrund der geringen Anzahl präklinischer und klinischer Studien, bisher selten in der Zahnmedizin verwendet.

So wurden *in vitro* vor allem Untersuchungen zu mechanischen Eigenschaften von Zahnimplantaten aus PEEK vorgenommen^{114–118}. Im Fokus der Studien ist überwiegend die Verteilung der Druckbelastung innerhalb der Implantate und auf das umliegende Gewebe. Von metallischen Implantaten ist seit langem bekannt, dass diese - aufgrund der hohen Steifigkeit - einen Großteil der mechanischen Belastung übernehmen und den umliegenden Knochen entlasten. Das Resultat ist die Resorption des umliegenden Knochens durch die fehlende Beanspruchung (Inaktivitätsatopie) und wird allgemein als »*stress shielding effect*« bezeichnet^{114,119,120}.

Tab. 2 Physikalische Eigenschaften von Titan und PEEK im Vergleich. Die Daten wurden aus folgenden Quellen entnommen:^{81,95,97,99–102}

Eigenschaft	Titan	PEEK
Dichte [g cm^{-3}]	4,54	1,26-1,40
Schmelztemperatur [$^{\circ}\text{C}$]	1668	335-343
Glasübergangstemperatur [$^{\circ}\text{C}$]	-	137-152
Elastizitätsmodul, 23 $^{\circ}\text{C}$ [GPa]	105	3,7-4,0
Zugfestigkeit, 23 $^{\circ}\text{C}$ [MPa]	785	92
Dauerfestigkeit, bei 10^7 Zyklen [MPa]	290	~ 65
Scherfestigkeit [MPa]	380	55
Elektrischer Widerstand [$\Omega \text{ cm}$]	$5,5 \cdot 10^{-5}$	$4,9 \cdot 10^{16}$
Wärmeleitfähigkeit [$\text{W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$]	19,2	0,25
Magnetische Suszeptibilität [$\cdot 10^6$]	182	~ 0

Sarot *et al.* simulierten (Finite-Elemente-Methode) die Belastungsverteilung im Inneren von Titanimplantaten und (carbonfaserverstärkten) PEEK-Implantaten (CFR-PEEK)^{ix}, die sich jedoch bei den Titanimplantaten als homogener herausstellte¹¹⁴. Lee *et al.* führten Ermüdungsversuche durch und überprüften die statische Druckfestigkeit an CFR-PEEK- und glasfaserverstärkten- (GFR)^x PEEK-Prüfkörpern und verglichen dann die Ergebnisse mit einem Prüfkörper aus Titan. Die Druckfestigkeit eines 4-mm-Prüfkörpers war im Vergleich zum Titanmodell für GFR-PEEK rund 7,5-mal und für das CFR-PEEK rund 4-mal kleiner^{xi}. Der Ermüdungsversuch für GFR-PEEK zeigte eine Belastungsgrenze von 310 N (bei allerdings nur $5 \cdot 10^6$ Lastwechseln) und entsprach knapp der minimalen Anforderung für die Dauerfestigkeit für Zahnimplantate von 300 N¹¹⁵. Allerdings weisen die PEEK-basierten Kompositmaterialien, wie die bei Lee *et al.* untersuchten, im Vergleich zum reinen PEEK eine deutlich höhere Zugfestigkeit auf. Green¹²¹ gibt für CFR-PEEK-OPTIMA^{xii}, welches einen Anteil an kurzen Kohlenstofffasern von 30 % aufweist und so dem CFR-PEEK von Lee *et al.* entspricht, eine Zugfestigkeit von rund 240 MPa an, die im Vergleich zum reinen PEEK-OPTIMA, mit einer Reißfestigkeit von 100 MPa, signifikant höher ausfällt. Da die Materialkenngrößen des reinen PEEK, v.a. Zug-, Scher- und Dauerfestigkeit deutlich unterhalb der Werte des Titans liegen, ist es wahrscheinlich, dass der ungefüllte Kunststoff den mechanischen Anforderungen für Zahnimplantate nicht gewachsen ist (Tab. 2).

^{ix} CFR... carbon fibre-reinforced. Durch die Carbonfaserverstärkung (30 % bei Sarot *et al.*) wird das Elastizitätsmodul von PEEK auf 17,4 GPa angehoben.

^x GFR... glass fibre-reinforced, Elastizitätsmodul = 12 GPa.

^{xi} statische Druckfestigkeiten der 4-mm²-Prüfkörper: Ti = 1935 N, CFR-PEEK = 463 N, GFR-PEEK = 256 N, aus¹¹⁵.

^{xii} PEEK-OPTIMA ist die Produktbezeichnung für PEEK der Firma Invisio Ltd. (Lancashire, UK).

Mehrere Studien beschäftigten sich mit Möglichkeiten zur Modifizierung der PEEK-Oberflächen. Ein Schwerpunkt ist die Verbesserung der Haftung zur Fixierung implantatgetragener Kronen¹²² mittels Implantatzement (meist Zwei-Komponentensystem auf Methacrylatbasis, siehe^{123,124}). Unbehandeltes PEEK weist eine sehr glatte, hydrophobe Oberfläche auf, die ungünstig für die Verwendung von Implantatzement ist. Die Autoren schlagen übereinstimmend ein Aufrauen der Oberfläche durch eine Säurebehandlung und/oder Pulverstrahlen auf, um adäquate Haftungsfestigkeiten zu erreichen^{116,123–125}.

Unabhängig von der Anwendung des Kunststoffes für Dentalimplantate wurden zahlreiche Studien veröffentlicht, die Modifizierungen des Polymers zur Verbesserung der Biokompatibilität evaluierten¹²⁶. Aufgrund der hohen chemischen Stabilität und seiner hydrophoben Oberfläche ist PEEK bioinert, d.h. es setzt zwar keine toxischen Substanzen frei¹²⁷, zeigt aber im Vergleich zu Titan *in vitro* eine geringere Zellaadhäsion¹²⁸. Aus *in vivo*-Studien ist zudem bekannt, dass PEEK-Implantate keinen bzw. kaum direkten Knochen-Implantat-Kontakt ausbilden und Implantate aus PEEK häufig von einer Bindegewebskapsel umschlossen sind¹²⁹. Diese Einheilung birgt die Gefahr von Implantatverlust und Infektionen, da ein solches von Bindegewebe umschlossenes Implantat wegen der fehlenden Vaskularisierung vom Immunsystem weitgehend abgekapselt ist und so Infektionen begünstigt werden.

Eine Verbesserung der osteogenen Eigenschaften durch die Modifikation der PEEK-Oberfläche war daher das Ziel zahlreicher wissenschaftlicher Arbeiten. Dazu können vier prinzipielle Möglichkeiten unterschieden werden: das Aufrauen der Oberfläche durch physikalische Behandlung (z.B. durch O₂-Plasma-Behandlung¹³⁰), chemische Modifikation (Einbringen funktioneller Gruppen, z.B. Sulfonierung mit konz. H₂SO₄¹³¹), Beschichtung der PEEK-Oberfläche (z.B. die Titanisierung¹³² oder mit HAp¹³³) und die Herstellung von Komposit-Materialien (z.B. PEEK-HAp-Komposit¹³⁴).

Für den klinischen Einsatz zugelassen sind Ti-beschichtete Bandscheibenimplantate aus PEEK (*Medtronic Inc.*, Pressemitteilung vom 20.10.2014¹³⁵), Bandscheibenimplantate aus »PEEK-Optima® HA Enhanced«, einem Kompositmaterial bestehend aus PEEK und HAp (*Invibio Biomaterial Solutions*, Pressemitteilung vom 17.12.2014¹³⁶) und »BioHPP«, ebenfalls ein Komposit aus PEEK und einem »keramischen Füllstoff«^{xiii}, als Implantatwerkstoff für den Zahnersatz (*bredent GmbH & Co. KG*, Produktinformation¹³⁷)

In vivo-Studien speziell zu dentalen PEEK-Implantaten wurden bisher nur wenige publiziert. Die erste Arbeit erschien bereits 1995 von *Cook & Rust-Dawicki*, die die Osseointegration eines unbeschichteten und eines Ti-beschichteten PEEK-Implantates miteinander verglichen¹³⁸. Der Knochen-Implantat-Kontakt war bei den Titan-beschichteten Dentalimplantaten signifikant höher als im unbeschichteten Fall. Einschränkend muss aber erwähnt werden, dass die Implantate nicht in den Kieferknochen, sondern in den Femur (Oberschenkelknochen) gesetzt wurden. Da PEEK-Implantate innerhalb der Zahnmedizin ein sehr neues Thema sind, wurden noch keine Langzeiterfolgskurven publiziert. Die wissenschaftliche Literatur beschränkt sich bisher nur auf Einzelfallstudien an Patienten^{109,111–113,139–141}.

In der vorliegenden Arbeit wird der Einheilungsprozess von dentalen Ti-beschichteten PEEK-Implantaten erstmals am Großtiermodell untersucht (siehe Kap. 5, S. 90ff).

^{xiii} Detaillierte Angaben zum keramischen Füllstoff werden nicht vom Hersteller bekanntgegeben.

2.2.4. Knochenersatz

2.2.4.1. ANWENDUNGSGEBIETE VON KNOCHENERSATZMATERIALIEN IN DER ZAHNMEDIZIN

Knochenersatz nimmt in der Zahnmedizin einen hohen Stellenwert ein. Die Anwendungsgebiete sind vielfältig und in Tab. 3 zusammengefasst.

Tab. 3 Übersicht über die Indikationen für Knochenersatz in der Zahnmedizin, aus^{142,143}.

Fachbereich	Anwendungsgebiet
Implantologie	- vertikaler oder horizontaler Knochenaufbau im Bereich des Ober- oder Unterkiefers (Kieferaugmentation ^{xiv} ; Sinuslift ^{xv}) - Versorgung periimplantärer Defekte - Alveolarkamm-Prophylaxe (auch Socket-Preservation-Technik) nach Zahnextraktion ^{xvi}
Oralchirurgie	- Augmentation von Zysten Hohlräumen ^{xvii} - und operationsbedingten Gewebsdefekten (z.B. nach Tumorresektion) - Augmentation von Defekten nach Wurzelspitzenresektionen
Parodontologie	- Augmentation von Parodontaltaschen
MKG-Chirurgie	- Rekonstruktion von Kieferdefekten (z.B. Behandlung von Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten im Rahmen einer <i>Kieferspaltosteoplastik</i> , siehe dazu das Kap. 6)

2.2.4.2. ALLGEMEINE ÜBERSICHT

Als Knochenersatz wird ein implantierbares Material bezeichnet, welches die Knochenheilung osteoinduktiv^{xviii}, osteokonduktiv^{xix} und/oder osteogen^{xx} fördert. Dieser dient zum Auffüllen knöcherner Defekte (häufigste Entstehung durch Trauma oder Tumor, seltener durch Osteitis^{xxi}), um die mechanische Belastbarkeit des Knochens wiederherzustellen¹⁴⁸. Die Auswahl des geeigneten Knochenersatzes unterliegt zahlreichen Faktoren wie der Defektgröße, Gewebektivität, benötigtes Volumen und erforderliche Form des Materials, Handhabung, zu erwartende Kosten, möglichen Komplikationen und ethischen Aspekten¹⁴⁹. Zur

^{xiv} Unter Kieferaugmentation wird der Wiederaufbau von abgebautem Kieferknochen durch Eigenknochen oder Fremdmaterial verstanden, insbesondere um ausreichend Knochenangebot zu schaffen, damit eine Zahnprothese auf dem Kieferkamm stabilisiert werden oder ein Zahnimplantat eingesetzt werden kann. Verfahren der Augmentation werden auch in der Parodontologie angewandt, um durch Parodontitis abgebauten Alveolarknochen wieder aufzubauen¹⁴⁴.

^{xv} Der Sinuslift ist eine spezielle Operationsmethode zum Kieferaufbau im Oberkiefer-Seitenzahnbereich. Es erfolgt eine Verdickung des knöchernen Bodens der Kieferhöhle mit einem Knochenersatzmaterial¹⁴⁵.

^{xvi} Die sog. Alveolarkamm-Prophylaxe verhindert den nach einer Extraktion (Zahntfernung) ansonsten unvermeidlich ablaufenden Knochenabbau. Unmittelbar im Anschluss an die Extraktion wird die leere Alveole (knöchernes Zahnfach) mit einem Knochenersatz gefüllt. Auf diese Weise wird eine Resorption des Knochens vermieden. Nach einer Einheilungsphase von etwa drei bis fünf Monaten kann in dem augmentierten Areal ein Implantat gesetzt werden^{146,147}.

^{xvii} Eine Kieferzyste ist ein mit Flüssigkeit gefüllter Hohlraum des Ober- oder Unterkiefers.

^{xviii} osteoinduktiv... bezeichnet die Fähigkeit eines Materials, die Knochenneubildung durch Stimulierung der Differenzierung knochenbildender Zellen im Lagergewebe zu fördern (osteoinduktive Proteine, z. B. bone morphogenetic proteins (BMP); osteoinduktive Implantate, z.B. demineralisierter allogener Knochen).

^{xix} osteokonduktiv... Förderung der Knochenneubildung durch das Bereithalten einer geeigneten Leitstruktur, in welche das umgebende Knochengewebe einwachsen kann

^{xx} osteogen... Osteogenese ist die Fähigkeit, Knochen zu bilden. Dieser Prozess bedarf das Vorhandensein lebender knochenbildender Zellen (diese sind im frischen, autogenen Knochen und im Knochenmark vorhanden).

^{xxi} Als Osteitis bezeichnet man eine Entzündung des Knochens.

Klassifizierung der Knochenersatzmaterialien sind in der Literatur verschiedene Systeme gebräuchlich (Tab. 4 und Tab. 5)¹⁵⁰.

Tab. 4 Übersicht über in der Literatur gebräuchliche Klassifizierungssysteme für den Knochenersatz, Tabelle nach *Rentsch et al.*¹⁵⁰.

Klassifikationssystem	Einteilung
I Klassifikation nach Herkunft	autologe, allogene, xeneogene Knochentransplantate und alloplastische Knochenersatzmaterialien (vgl. Tab. 5)
II Klassifikation nach der Vitalität	Unterscheidung zwischen Knochentransplantat (Knochengewebe mit vitalen knochenbildenden Zellen) und Knochenersatzmaterial (avitale Materialien)
III Klassifikation nach der biologischen Wertigkeit	Unterscheidung zwischen osteoinduktiven ^{xviii} , osteokonduktiven ^{xix} und osteogenen ^{xx} Materialien
IV Klassifikation nach der Zusammensetzung	Unterscheidung zwischen (a) organischen, biologischen; (b) organischen, synthetischen; (c) anorganischen, biologischen und (d) anorganischen, synthetischen Materialien und (e) Kompositen ^{xxii}

Tab. 5 Einteilung des Knochenersatzes nach Herkunft, Tabelle nach *Rentsch et al.*¹⁵⁰.

Begriff	Definition
autologes (auch autogenes) Knochentransplantat	eigener Spenderknochen; Verpflanzung innerhalb desselben Individuums
allogenes (auch homologes) Knochentransplantat	Spenderknochen eines anderen Individuums der selben Spezies
xenogenes (auch heterologes) Knochentransplantat	Spenderknochen eines Individuums einer anderen Spezies (Spenderknochen tierischen Ursprungs)
alloplastisches Knochenersatzmaterial	vollsynthetische Herstellung eines Biomaterials bzw. ausgiebige physikalische oder chemische Bearbeitung allogener oder xenogener Gewebe

Bei der Behandlung von Knochendefekten sowohl in der Unfallchirurgie und Orthopädie als auch im zahnmedizinischen Bereich stellen autologe Knochentransplantate den Goldstandard dar¹⁵⁰⁻¹⁵². Die Vorteile des autologen Knochenersatzes sind die herausragenden biologischen Eigenschaften des Materials (osteo-gene Eigenschaften durch das Vorhandensein lebender Zellen, zudem osteoinduktiv wirkende Matrixproteine und Bereitstellung osteokonduktiver Knochenmatrix)¹⁵⁰. Verschiedene körpereigene Knochentransplantate können zum Einsatz kommen, wobei die Defektgröße und dessen Lokalisation entscheidend sind^{150,152}. Es sind jedoch eine Vielzahl von Nachteilen autologer Knochentransplantate bekannt. Neben der begrenzten Verfügbarkeit muss mit der Entnahme körpereigenen Knochens eine zusätzliche bzw. eine erweiterte Operation mit dadurch verlängerter Narkosedauer in Kauf genommen werden. Die auftretenden möglichen Komplikationen, wie anhaltende Schmerzen, Hämatombildung oder Infektionen im Bereich der Entnahmestelle sind stark von der Lokalisation derselben abhängig^{148,150}. Ferner stellt der Einsatz autologen Knochenersatzes eine relativ teure Intervention dar¹⁵¹.

^{xxii} *Rentsch et al.* führen die Kompositmaterialien als eigene Klasse, um zu unterscheiden, ob es sich um Materialkomposite (z.B. HAp-Collagenkomposite) oder um Biokomposite (z.B. Kombination osteokonduktiver Materialien mit Wachstumsfaktoren) handelt¹⁵⁰.

Allogener, xenogener oder alloplastischer Knochenersatz dient zunehmend als Alternative zum körpereigenen Knochentransplantat. Neben der nachgewiesenen Biokompatibilität sollten die Materialien eine hohe Bioaktivität besitzen (d.h. möglichst osteogene, osteoinduktive und osteokonduktive Eigenschaften aufweisen) und über eine ausreichende mechanische Stabilität verfügen. Eine Krankheitsübertragung durch das Material (z.B. Übertragung viraler Infektionskrankheiten wie AIDS und Hepatitis C) muss ausgeschlossen sein^{148,151}. Das Ziel ist die Schaffung einer Knochenneubildung durch das Aufwachsen vitaler Knochenzellen, die mit einem direkten Knochenverbund, also der Osseointegration, einhergeht (vgl. Kap. 2.2.2, S. 11ff).

Poröse Materialien mit möglichst interkonnektierenden Poren sind günstig für die Neubildung von Knochen, um eine durchgängige Vaskularisierung^{xxiii} des Defektes zu erhalten. Porengrößen von über 100 µm fördern die Vaskularisierung, während kleinere Poren dem An- und Einwachsen von mineralisiertem Gewebe und der Absorption von extrazellulärer Flüssigkeit dienen¹⁵³. Idealerweise wird das Knochenersatzmaterial von vitalem, ortständigem Knochen ersetzt; das Material dient nur als temporärer Platzhalter. Die Voraussetzung dafür ist die Fähigkeit des Materials zur Biodegradation. Grundsätzlich sollten Sterilisation, Lagerung und intraoperative Bearbeitung einfach und die Applikation sicher und reproduzierbar möglich sein¹⁴⁸.

In der Vergangenheit wurden eine Vielzahl an Materialien wie Edelstahl, Titan, Gold, Aluminium, Zelluloid, Methylmethacrylat-Harze, Polyethylen, Silikone und Hydroxylapatitkeramiken für die Anwendung als Knochenersatz getestet. Aufgrund der begrenzten Fähigkeiten einiger Materialien zur Osseointegration, grundsätzlich aber in Folge deren limitierten Vaskularisierbarkeit und Biodegradation *in vivo* führten die »reinen« Materialien oft zu Komplikationen, wie pathologischen Veränderungen im umgebenden Knochen in Folge von »stress shielding«, zu Brüchen aufgrund ungenügender mechanischer Festigkeit oder auch zu Entzündungsreaktionen mit Vernarbung und Infektionen. Diese Schwierigkeiten führten zur Entwicklung zellbasierter Methoden zur Hartgewebsregeneration, dem »Tissue-Engineering«^{154,155}.

2.2.4.3. »KNOCHEN-TISSUE-ENGINEERING«

Unter dem Begriff »Knochen-Tissue-Engineering« wird der zellbasierte Ansatz zur Knochenregeneration bezeichnet. Ziel ist die Verstärkung der Osteogenese an der Defektstelle und der möglichst vollständige Ersatz des Biomaterials durch körpereigenen Knochen infolge der Verwendung von bioresorbierbaren, mit lebenden autologen Zellen (*in vitro*) besiedelten Implantaten (sog. *Konstrukte*). Die klassische Verwendung eines alloplastischen Trägersystems (*Scaffold*) für die Kultivierung der Zellen ist derzeit die beliebteste Herangehensweise⁴⁵ und berücksichtigt die folgenden fünf Grundannahmen¹⁵⁶:

- 1) Vitale Zellen benötigen ein festes Substrat für Adhäsion und Proliferation.
- 2) Gewebe-Konstrukte müssen eine organ-spezifische Form aufweisen; dafür ist ein festes Träger-system notwendig.
- 3) Das Scaffold dient nicht allein als Substrat für die Zelladhäsion, sondern weist sowohl osteokonduktive als auch osteoinduktive Eigenschaften auf.
- 4) Eine poröse Struktur des Trägermaterials ermöglicht die optimale Zellbesiedlung, zudem die Viabilität und Vaskularisierung des Konstruktes.
- 5) Die ursprünglichen mechanischen Eigenschaften des Konstruktes werden nach erfolgter Biodegradation des Trägermaterials durch das neugebildete (Knochen-)Gewebe beibehalten.

Die Auswahl potentieller Trägermaterialien für das Knochen-Tissue-Engineering ist groß. Deren Eignung wird im Wesentlichen durch die bestehenden Materialeigenschaften (Biokompatibilität, mechanische Festigkeit, Oberflächenstruktur, Degradationsrate) und der Architektur der Scaffolds (Porosität, Poren-Interkonnektivität, Porengrößen, Oberflächen-Volumenverhältnis) bestimmt. Die am häufigsten verwendeten Trägermaterialien für das Knochen-Tissue-Engineering sind β -Tricalciumphosphat (β -TCP), Hydroxylapatit (HAp), Bicalciumphosphat (BCP), Octacalciumphosphat (OCP) und Calciumsulfat (CS), aber

^{xxiii} Als Vaskularisierung wird der Prozess der Neubildung kleiner Blutgefäße bezeichnet. Diese dienen dem Transfer von Nährstoffen und Zytokinen.

auch Polymere wie Polyactidglycolid (PLGA), Polycaprolacton (PCL), Poly-L-Lactid (PLLA), Collagen, Chitosan oder Keramiken wie Bioglas und Kompositmaterialien^{157,158}.

Für das Knochen-Tissue-Engineering werden mesenchymale Stromazellen verwendet. Die Quellen mesenchymaler Stromazellen (MSCs) sind vielfältig (z.B. aus Knochenmark, Fettgewebe (ASCs), Periost^{xxiv}, Sehnen, Nabelschnurblut, Plazenta, Haut, Parodontalligament^{xxv}) und mitverantwortlich für den heterogenen Charakter des MSCs. Die Auswahl der Quelle zur Gewinnung der MSCs ist von der Zugänglichkeit und Anzahl verfügbarer Zellen innerhalb der Quelle abhängig^{56,154,159}. Obwohl es keinen einheitlichen Marker gibt, der die Stromazelle eindeutig identifiziert^{56,159}, zeigen die MSCs, ungeachtet der Tatsache, dass sie aus verschiedenen Quellen isoliert wurden, eine Reihe gemeinsamer Eigenschaften: die fibroblastenähnliche^{xxvi} Struktur in der Zellkultur, Plastikadhärenz, beträchtliche Proliferationsfähigkeit, multipotente Differenzierbarkeit und gemeinsame Oberflächenmarker (eine umfangreichen Überblick geben *Orbay et al.*¹⁵⁹ und *Fekete et al.*⁴²).

Im Sinne des Tissue-Engineering erfolgt der Einsatz der MSCs auf zwei möglichen Wegen: entweder das Trägermaterial wird direkt vor der Implantation mit den MSCs besiedelt und die Proliferation und Differenzierung geschieht dann *in vivo* (diese Methode wird als in-situ Tissue Engineering bezeichnet); oder die Besiedlung des Scaffolds mit den MSCs findet wenige Wochen vor der Implantation statt, wobei die osteogene Differenzierung und Züchtung von neuem Knochengewebe *in vitro*^{xxvii} erfolgt⁵⁶.

2.3. Biokompatibilität

Der Begriff der *Biokompatibilität* beschreibt die Verträglichkeit zwischen einem technischen und einem biologischen System¹⁶⁰. Die chemische Zusammensetzung muss grundsätzlich so sein, dass eine Freisetzung von Substanzen in toxischen Konzentrationen, die Entzündungsreaktionen, Fremdkörperreaktionen, Nekrosen oder Allergien nach sich ziehen könnten oder die karzinogen wirken, ausgeschlossen wird¹⁶⁰. Das Material muss zudem eine exzellente Stabilität gegenüber Degradationserscheinungen aufweisen (z.B. Korrosionsbeständigkeit bei Metallen und Stabilität gegenüber mechanischem Abrieb), es sei denn, es handelt sich um einen gewünschten chemischen Abbau im Falle bioresorbierbarer Polymere (z.B. resorbierbare Nahtmaterialien aus Polyglycolid)¹⁶¹. Ferner ist die Strukturkompatibilität ein wesentliches Kriterium. Die mechanische Stabilität des Materials stimmt im optimalen Fall mit der des Empfängergewebes überein. Bei Implantaten im direkten Kontakt zu Knochen ist ein dem Knochen ähnliches Elastizitätsmodul erwünscht, um unphysiologische Knochenresorption (*»stress shielding«*) zu vermeiden¹⁶².

Die Evaluierung der Biokompatibilität und der mechanischen Stabilität von potentiellen Implantatmaterialien ist eine notwendige Grundbedingung, bevor es zum klinischen Einsatz kommen kann und wird üblicherweise wie folgt durchgeführt: (1) Evaluierung der chemischen und mechanischen Eigenschaften des Materials, (2) *in vitro*-Tests der Materialien mit isolierten Zellen, Geweben oder Organen, (3) *in vivo*-Studien an geeigneten Tiermodellen und (4) klinische Studien am Menschen als letzte Teststufe¹⁶⁰. Zur Beurteilung von Biomaterialien hinsichtlich der Verträglichkeit mit biologischen Systemen existieren zahlreiche standardisierte Testverfahren¹⁶³.

^{xxiv} Als Periost bezeichnet man eine dünne Gewebeschicht, welche die Außenfläche aller Knochen überzieht.

^{xxv} Das Parodontalligament ist das Bindegewebe, das den Zahn im Knochen des Zahnfaches (Alveole) befestigt.

^{xxvi} Fibroblasten sind die Zellen des Bindegewebes. Sie weisen viele irreguläre zytoplasmatische Fortsätze auf.

^{xxvii} Es ist aber auch möglich, die MSCs nur zu expandieren. Die Differenzierung in Osteoblasten erfolgt dann *in vivo* (vgl. Kap. 6.2.2, S. 127).

2.3.1. Beurteilung der Biokompatibilität *in vitro*

Anhand von *in vitro*-Systemen (isolierte Zellen, Organ- oder Organschnittkulturen) können Wechselwirkungen von Materialien oder Substanzen mit einem definierten biologischen Modell in einer kontrollierten, künstlichen Umgebung untersucht werden. Ein Material ist *in vitro* biokompatibel, wenn dieses oder seine Abbauprodukte nicht zum Tod der verwendeten Zellen oder zur Beeinträchtigung zellulärer Funktionen führen. Dabei ist keine allgemeingültige Vorgehensweise zur Überprüfung aller Biomaterialien festgeschrieben. Die Auswahl geeigneter Tests und des Modellsystems ist vom Material und seiner potentiellen Anwendung abhängig¹⁶⁴. Für Materialien mit Knochenkontakt werden primäre osteogen differenzierbare Zellen oder osteoblasten-ähnliche Zell-Linien verwendet^{xxviii,165}. *In vitro*-Studien zur Biokompatibilität beinhalten in der Regel Untersuchungen zur Zellmorphologie, Zellproliferation und zum Differenzierungsgrad. Je nach Fragestellung können weitere standardisierte Testverfahren angewendet werden¹⁶⁴.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde die *in vitro*-Biokompatibilität PEEK-basierter Folien untersucht (siehe Kap. 4, S. 75ff).

2.3.1.1. BESTIMMUNG DER ZELLMORPHOLOGIE

Die mikroskopische Untersuchung der Morphologie und Größe adhärenter Zellen auf Materialoberflächen erlaubt eine schnelle erste Beurteilung der Eignung der Materialien für den Zellkontakt. Dazu werden in der Regel (konfokale) Lichtmikroskopie oder die Rasterelektronenmikroskopie (REM) verwendet. Die Lokalisierung von zellulären und Matrixproteinen erfolgt durch spezifische Immunfluoreszenzfärbungen (z.B. Darstellung des Zytoskelettes mit der Färbung des Strukturproteins Aktin mit dem grünen AlexaFluor-488 Phalloidin)⁴⁴, wie in Kap. 4.2.2.8 (S. 80) beschrieben.

2.3.1.2. BESTIMMUNG DER ZELLVIABILITÄT

Screening-Methoden zur Bestimmung der Zellviabilität (auch als *Lebendzellzahl* bezeichnet) sind weit verbreitet und dienen als Indikator für die Toxizität des zu testenden Substrates. Die Bestimmung der Anzahl adhärenter Zellen kann sowohl anhand direkter als auch indirekter Methoden erfolgen. Zu den direkten Methoden gehört das Zählen suspendierter Zellen in einer Zählkammer (Zählkammer nach Neubauer) oder in der Zellkulturschale. Eine Unterscheidung avitaler von vitalen Zellen ist durch die Zugabe von Trypanblau möglich. Während der Farbstoff von vitalen Zellen mit einer intakten Zellmembran nicht aufgenommen wird, dringt Trypanblau durch die (defekte) Zellmembran abgestorbener Zellen ein und färbt diese tiefblau. Zudem kann die Zellzahl über die spezifische Färbung des Zellkernes bestimmt werden (Färbung mit Methyleneblau oder 4',6-Diamidin-2-phenylindol = DAPI)^{xxix}. Die Nutzung eines auf der Messung der elektrischen Leitfähigkeit beruhenden Partikelmessgerätes (*Coulter-Counter*) erlaubt das automatisierte Zählen von Zellen.

Desweiteren kann die Anzahl der Zellen anhand indirekter Methoden bestimmt werden. Diese Methoden beruhen auf der Bestimmung des DNA-Gehaltes (z.B. Quantifizierung mit fluoreszierendem PicoGreen, immunhistochemischer Test mit 5'-Bromo-2'-deoxyuridin = BrdU oder Bestimmung mit radioaktivem [³H]-Thymidin), des Proteingehaltes (z.B. über die Biuret-Reaktion oder Komplexbildung mit Coomassie-Brilliant-Blau nach Bradford), sowie anhand enzymatischer Tests zur Messung metabolischer Aktivitäten (Zellzahlbestimmung über die Lactatdehydrogenase oder Aktivität vitaler Mitochondrien mit Tetrazolium-Farbstoffen: MTT oder MTS^{xxx}). Der MTS-Test wird überwiegend für die Quantifizierung von Zellwachstumsraten (Proliferationsrate) genutzt, da dieser nur vitale Zellen erfasst¹⁶⁶.

^{xxviii} Primäre Zellen, wie hMSC, werden direkt aus Geweben oder Organen gewonnen, während Zell-Linien jene Zellen sind, die durch mehrfache Subkultivierung von Primärzellen abstammen¹⁶⁰. Für die Simulierung von Knochenkontakt werden mesenchymale Stromazellen verwendet, die *in vitro* in Osteoblasten differenziert werden.

^{xxix} Diese Methode funktioniert nur bei Zellen, die einen Zellkern besitzen (nicht bei Erythrozyten, da diese kernlos, und nicht bei Osteoclasten, da diese mehrkernige Riesenzellen sind).

^{xxx} MTS = 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde der indirekte MTS-Test durchgeführt. Eine detaillierte Beschreibung befindet sich in Kap. 4.2.2.4 (S. 77).

2.3.1.3. BESTIMMUNG DES DIFFERENZIERUNGSGRADES

Potentielle Biomaterialien müssen die Differenzierung mesenchymaler Stromazellen (und im Falle der *in vivo*-Applikation von Materialien die Differenzierung spezifischer Vorläuferzellen aus dem umgebenden Wirtsgewebe) erlauben. Oberflächeneigenschaften wie die chemische Zusammensetzung, Oberflächenmorphologie (insbesondere im nanoskalischen Bereich), Oberflächenenergie und Elastizitätsmodul des Materials üben einen signifikanten Einfluss auf die Zelladhäsion und Proliferation und damit auch auf deren Fähigkeit zur Differenzierung aus¹⁶⁷. Die Induktion der Differenzierung von Stromazellen in einen definierten Zelltyp wird durch Wachstumsfaktoren und Hormone erreicht, die im Falle der Osteoblasten-Differenzierung als osteogene Faktoren bezeichnet werden. Als solche sind z.B. Dexamethason, β -Glycerophosphat, L-Ascorbinsäure, Parathyroid-Hormon und das Bone morphogenetic protein-6 (BMP-6) zu nennen⁵⁶.

Die frühe Differenzierung der MSC in Osteoblasten wird durch die Produktion der alkalischen Phosphatase (ALP) angezeigt und ist nach einer Kultivierungszeit der Zellen von etwa acht Tagen nachweisbar. Reife Osteoblasten sind nach etwa drei Wochen in Kultur in der Lage, mineralische Matrix abzuscheiden. Die Quantifizierung des Calcium- und Phosphatgehaltes, sowie deren molares Verhältnis zueinander sind ein Indikator für eine vollständige Differenzierung und das Vorhandensein eines biokompatiblen Materials (vgl. dazu die Kap. 4.2.2.5 und 4.2.2.6, S. 78ff).

2.3.2. Beurteilung der Biokompatibilität *in vivo*

Erweist sich ein Material *in vitro* als biokompatibel, müssen die Wechselwirkungen des Materials auf das Empfängergewebe *in vivo* untersucht werden. Die alleinige Erfassung von *in vitro*-Daten ist nicht ausreichend, da diese Experimente einen (stark vereinfachten) Idealfall darstellen, welcher die Komplexität des Zusammenwirkens verschiedener Zelltypen in Organen oder Gewebeverbänden nicht widerspiegelt. Zudem ist es so nicht möglich, physiologische Belastungen zu simulieren, die insbesondere bei der Osteogenese einen bedeutenden Faktor darstellen (Ausbildung der Knochenstruktur nach dem *Wolffschen Gesetz*). Ferner erfolgen vielschichtige Gewebereaktionen (z.B. Entzündungen, allergische Reaktionen), die durch ein implantiertes Material induziert werden, über einen Zeitraum von mehreren Monaten bis Jahren. Isolierte Zellen und Gewebe können, aufgrund des nicht vorhandenen Immunsystems und fehlender Entgiftungs- und Ausscheidungsmöglichkeiten, nur über kürzere Zeiträume in Kultur gehalten werden und sind daher nicht in der Lage, Langzeitwechselwirkungen vorherzusagen¹⁶⁰.

Die Anwendung von Tiermodellen ermöglicht die Beurteilung komplexer Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen unter physiologischen Belastungsbedingungen als Langzeitversuch. Zudem kann die Integration der Biomaterialien sowohl in gesundes Gewebe als auch unter pathologischen Bedingungen (z.B. osteoporotischer Knochen) begutachtet werden⁹.

Im Rahmen tierexperimenteller Untersuchungen wird das zu überprüfende Material entweder auf die Haut aufgebracht oder in das Zielgewebe implantiert, um Material-Gewebe-Interaktionen zu analysieren¹⁶⁰. Knochen-Implantat-Wechselwirkungen werden am häufigsten an Kaninchen, aber auch an Hunden, Ratten, Schafen, Ziegen oder Schweinen untersucht¹². Im Rahmen einer tierexperimentellen Studie werden die Osseointegration des Implantates, Änderungen der Gewebemorphologie, entzündliche Prozesse und mögliche Abrieb-, Deformations- oder Korrosionserscheinungen des implantierten Materials erfasst. Die überwiegende Anzahl tierexperimenteller Studien nutzt histologische Methoden zur Evaluierung der Biokompatibilität¹².

2.4. Bildgebende Verfahren in der präklinischen Biomaterialforschung

2.4.1. Histologie

Mittels histologischer Techniken werden mikrometerdünne, gefärbte Gewebeschnitte mikroskopisch untersucht. Die Histologie ist die Standardmethode in der Biomaterialforschung und erlaubt die Aufnahme hochauflöser Abbildungen zur Beurteilung der Morphologie von Implantat und Gewebe, der Grenzschicht zwischen Implantat und Implantatlager und zellulärer Veränderungen^{12,168}. Es existieren zahlreiche Färbemethoden, die zur Beantwortung spezifischer Fragestellungen verwendet werden können.

2.4.1.1. GRUNDLAGEN DER HISTOLOGISCHEN TECHNIK: PRÄPARATION VON HARTGEWEBS-PROBEN

Das Ziel histologischer Präparation ist die Anfertigung dünner, gefärbter, mikroskopischer Schliffe. Im Gegensatz zu Weichgeweben erfordern harte Gewebe wie kortikaler Knochen, Zähne (insbesondere, wenn diese mit Füllungen oder Kronen versorgt wurden) und Implantate aus metallischen oder keramischen Materialien eine spezielle histologische Aufarbeitung, da die Härte des Materials die Präparation von Paraffinschnitten^{xxx} nicht zulässt. Reine Knochen- oder Zahnproben können auch nach Herauslösen eingelagerter Kalksalze (Entkalkung) für Paraffinschnitte aufgearbeitet werden.



Abb. 5 Darstellung der Arbeitsschritte zur Anfertigung gefärbter Dünnschliffe, nach^{169,171,173}.

Für die Anfertigung histologischer Präparate extrem harter Materialien hat sich die *Trenn-Dünnschliff-Technik nach K. Donath* durchgesetzt^{170,171}. Grundlage der Methode ist die Einbettung der Gewebe oder Materialien in Kunststoff. Das Gewebe wird zuerst mit einer flüssigen, niedermolekularen Kunststofflösung (Methylmethacrylatlösung) durchdrungen. Der Polymerisationsprozess wird anschließend mit Hilfe eines

^{xxx} Paraffin ist das gebräuchlichste Einbettmittel. Es wird bis zum Schmelzpunkt erwärmt und durchdringt das zu untersuchende Gewebe vollständig¹⁶⁹.

Katalysatorsystems^{xxxii} gestartet und härtet nach Ende des Vorgangs zu Polymethylmethacrylat aus. Aus dem so entstandenen Kunststoffblock werden am Sägemikrotom Dünnschnitte hergestellt, die darauffolgend geschliffen und poliert werden, um Dünnschliffe mit Schichtdicken von unter 30 µm zu erhalten (*Trenn-Dünnschliff-Technik*, Abb. 5)¹⁶⁹. Aufgrund des invasiven Charakters v.a. durch den Prozess des Schleifens und Polierens können pro Gewebeprobe nur wenige Dünnschliffe gewonnen werden, die zudem einen relativ großen Abstand voneinander aufweisen.

Es existieren zahlreiche histologische Färbemethoden zum Nachweis und zur Differenzierung von Geweben, Zellen und einzelner Zellorganellen mit einer Vielzahl verwendeter Farbstoffe. Der Mechanismus der Farbstoffanbindung an eine spezielle Komponente hängt vom einzelnen Farbstoff ab und kann durch Ausbildung einer kovalenten Bindung eine chemische Reaktion darstellen, aber auch auf elektrostatischen Wechselwirkungen beruhen. Die Intensität der Färbung wird folglich von der Art der funktionellen Gruppen des Farbstoffes und der resultierenden elektrischen Ladung, des pH-Wertes bei der Färbung, seiner Löslichkeit in verschiedenen Lösungsmitteln, der Molekülgröße und der Architektur der Gewebestrukturen und der damit zusammenhängenden Diffusionsgeschwindigkeit der Partikel bestimmt. Von entscheidender Bedeutung ist zudem die Färbedauer. Die Präparation und Anwendung histologischer Färbemethoden wurden empirisch ermittelt¹⁶⁹.

Für Bindegewebe eignen sich die sogenannten Trichromfärbungen. Die *Masson-Goldner-Trichrom-Färbung* erlaubt die differenzierte Darstellung von Knochen, neugebildetem Knochengewebe und nicht mineralisiertem Osteoid, und eignet sich daher besonders für die Analyse der Implantateinheilung¹⁷⁴. Die Gewebefärbung erfolgt in einem mehrstufigen Prozess und ist zeitaufwändig^{169,175}. Im Falle der Masson-Goldner-Trichrom-Färbung ist das Färberesultat das Folgende: die Kernfärbung ist braun-schwarz, Cytoplasma und Muskulatur sind rot, Erythrocyten sind orange, Osteoid ist rot-orange und Knochen wird blaugrün angefärbt.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden sowohl histologische Präparate^{xxxiii} als auch Schnittbilder aus der Magnetresonanztomographie zur Beurteilung der Osseointegration herangezogen. Ein weiterer Schwerpunkt lag auf der Untersuchung der Vergleichbarkeit der aus beiden Methoden gewonnenen Daten (siehe Kap. 5, S. 90ff und Kap. 6, S. 110ff).

2.4.1.2. HISTOMORPHOMETRIE

Die Gewinnung quantitativer Kennwerte aus den zweidimensionalen mikroskopischen Abbildungen der gefärbten, histologischen Schnittpräparate wird als »*Histomorphometrie*« bezeichnet. Mittels manueller oder automatisierter digitaler Bildanalyse können Flächen- oder Längenparameter von Gewebestrukturen, Distanzen und Mengen (ausgewählte Zelltypen, Partikel u.a.), aber auch kinetische Parameter (z.B. Mineraldepositionsrate, Knochenresorptionsrate) bestimmt werden^{176,177}. Quantitative histologische Messgrößen werden zur Beschreibung der Knochenarchitektur und zur Analyse der Osseointegration von Implantatmaterialien genutzt. Gebräuchlich sind die Angabe des *Knochenvolumens*, des *Knochen-Implantat-Kontaktes*, des *Osteoidvolumens* und der *verbliebenen Defektbreite*^{21,177,178}.

2.4.1.3. POLYFLUOROCHROME SEQUENZMARKIERUNG

Zeitlich gestaffelte histologische Untersuchungen geben wenig Auskunft über dynamische Prozesse, wie das Remodelling. Die Markierung des Knochens mit Fluoreszenzfarbstoffen ermöglicht die Untersuchung dynamischer Knochenwachstums- und Umbauprozesse über eine definierte Zeitperiode. Die Verabreichung der Fluorochrome erfolgt während des Untersuchungszeitraumes oral oder per Injektion am lebenden Tier. Während des aktiven Knochenwachstums, d.h. der Anreicherung von Knochenapatit, werden die Fluorochrome angelagert und wandern bei fortwährender Ossifikation in die Tiefe. Erfolgt zeitlich versetzt eine erneute Markierung, entstehen Fluoreszenzbanden, aus deren Abstand auf die Dynamik des

^{xxxii} Dibenzoylperoxid und N,N,3,5-Tetramethylanilin¹⁷².

^{xxxiii} Die histologischen Schliffpräparate wurden von D. Jünger (Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universitätsklinikum »Carl Gustav Carus«) hergestellt. Die Anfertigung und Auswertung der mikroskopischen Aufnahmen erfolgte ebenfalls durch die Kooperationspartner.

Knochenwachstums geschlossen werden kann. Gebräuchliche Fluoreszenzfarbstoffe sind Calceingrün, Calceinblau, Alizarinkomplexon, Xylenolorange und Tetracycline, wie Doxycyclin. Der Bindungsmechanismus ist nicht ausreichend bekannt. Da es sich aber um Komplexbildner handelt, wird die Komplexbildung von Ca^{2+} -Ionen des Knochenapatits vermutet^{168,179}.

Anhand der polyfluorochromen Sequenzmarkierung (PFM) kann die Wachstumsrichtung von neu gebildetem Knochen bestimmt werden¹⁸⁰. Knochenumbauprozesse sind durch feine, gezackte Banden (sog. Resorptionssaum) und durch gezackten Abbau bereits vorhandener Banden sichtbar¹⁶⁸. Darstellungen fluoreszenzmarkierter knöcherner Strukturen befinden sich in Kap. 6.3.2.3 (Abb. 56, S. 127).

2.4.1.4. HISTOLOGIE ZUR EVALUATION DER KNÖCHERNEN EINHEILUNG

Derzeit stellen histologische Methoden den Goldstandard zur Analyse von Knochen und der ossären Integration von Biomaterialien dar^{10,181}. Aufgrund der mikroskopischen Auflösung im sub-Mikrometerbereich eignen sich die histologischen Dünnschliffe zur Identifikation verschiedener Zell- und Gewebetypen und morphologischer Veränderungen derselben, sowie zur Gewinnung zahlreicher quantitativer Daten, die zur detaillierten Beschreibung der Knochenarchitektur dienen (eine ausführliche Darstellung histologisch bestimmbarer Kennwerte geben *Dempster et al.*¹⁷⁷). Zudem werden histologische Untersuchungen im Besonderen zur Analyse der Implantat-Gewebe-Grenzschicht, der Detektion von mechanischer Deformationen von Implantatmaterialien und möglicher Abriebpartikel (z.B. Metallose) und induzierter Fremdkörperreaktionen (Aufreten von inflammatorischen Zellen, Ausbildung eines Fremdkörpergranulationsgewebes, Gewebsnekrose, vgl. dazu Kap. 2.2.2, S. 11ff)) herangezogen¹⁶⁸.

Allerdings sind histologische Techniken destruktiv und führen insbesondere bei der Hartgewebspräparation zu signifikanten Informationsverlusten infolge der unvermeidlichen Abstände zwischen den aufeinanderfolgenden Schichten¹⁸². Zudem ist die Präparation von Hartgewebsproben aufwändig und langwierig (Dauer der Aufarbeitung pro Hartgewebsprobe etwa 18 Tage¹⁷³, ohne analytische Auswertung), weshalb sich die histologischen Techniken für Knochen nicht zur schnellen Diagnostik und aufgrund der Invasivität nicht für die Analytik *in vivo* eignen.

Das ist für die adäquate Beurteilung der Biokompatibilität neuer Materialien nachteilig. Mit histologischen Methoden ist es nicht möglich, den Prozess der knöchernen Einheilung über verschiedene Analysenzeitpunkte an einem Individuum zu untersuchen (keine Längsschnittstudien). Die aufwändige Präparation, insbesondere die Prozesse der Fixierung und Entwässerung, führen zudem zu einer Veränderung des (Weich-)Gewebes. So kann eine Schrumpfung des Gewebes von bis zu 20 % auftreten¹⁸³. Es ist außerdem fraglich, ob die wenigen Schliffpräparate, die aufgrund des Substanzverlustes während der Präparation pro Gewebeprobe zur Verfügung stehen und zweidimensionale Abbildungen sind, tatsächlich die gesamte dreidimensionale Situation realistisch widerspiegeln¹⁸⁴. *Bernhardt et al.* wiesen zwar anhand von dreidimensionalen Daten aus Synchrotron-basierter Mikro-Computertomographie nach, dass die Osseointegration der Materialien anhand von drei bis vier histologischen Schnitten ausreichend genau beschrieben werden kann²¹. Allerdings wurde die Integration des verwendeten Dentalimplantates zu einem relativ späten Zeitpunkt, nach acht Wochen, bestimmt. Sowohl die histologischen als auch die computertomographischen Abbildungen deuten auf eine homogene ossäre Situation hin¹⁴. Allerdings ist es denkbar, dass die (zufällig) gewählte Schichtrichtung bei der histologischen Auswertung einen Einfluss auf das Analyseergebnis hat. Das gilt besonders in der frühen Einheilphase, die durch eine sehr heterogene Gewebeverteilung gekennzeichnet ist. Hier wirkt sich aus, dass durch den Materialverlust bei Anwendung der Trenn-Dünnschliff-Technik nur wenige histologische Schnitte zur Verfügung stehen. Die beschriebene Problematik ist in Abb. 6 skizziert.

Studienergebnisse, die die knöcherne Einheilung von Biomaterialien am Tiermodell beschreiben, weisen häufig sehr breite Varianzen der quantifizierten Parameter auf¹⁸⁵. Diese resultieren aus den individuellen, biologischen Schwankungen der Einzeltiere^{13,21}, der limitierten Anzahl auswertbarer histologischer Schnittebenen¹⁴ und systematischen Fehlern der Experimentatoren bei der Bildanalyse¹².

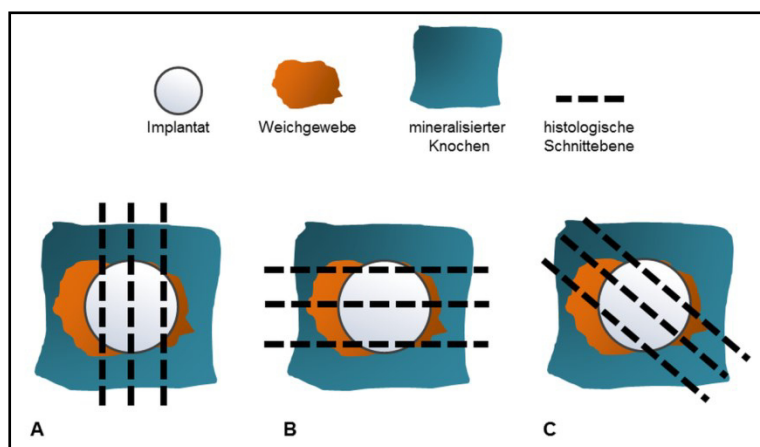


Abb. 6 Skizze einer theoretischen Gewebeprobe mit Implantat und heterogener Verteilung des Weichgewebes und des Knochens um das Implantat. (A) Diese Schnitte würden auf ein hohes Knochenvolumen und BIC schließen lassen. (B) Mit diesen Schnitten würden ein hoher Weichgewebsanteil und geringer BIC diagnostiziert werden, und (C) hier würde eine heterogene Verteilung des Knochen- und Weichgewebsvolumens festgestellt werden.

Die Erforschung und Entwicklung nicht-invasiver bildgebender Verfahren zur Untersuchung der Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen als Alternative zu histologischen Techniken ist für die Entwicklung neuer Biomaterialien von essentieller Bedeutung^{10,11,13}. Nicht-invasive Verfahren haben das Potential, den Vorgang die knöcherne Integration über mehrere Zeitpunkte an *einem* Individuum zu verfolgen und so die biologische Variabilität der Analyseergebnisse und zusätzlich die aufzuwendende Anzahl an Versuchstieren pro Studie zu verringern¹³. Außerdem wäre mit der Auswertung dreidimensionaler Datensätze eine exaktere Beschreibung und Darstellung der Integration der Implantatmaterialien möglich¹⁰. Für die Erzeugung hochaufgelöster digitaler Schnittbilder sind die Röntgen-basierten tomographischen Methoden (Computertomographie, digitale Volumetomographie) und die Magnetresonanztomographie von Relevanz.

Hintergrund der Arbeit war die Beurteilung der ossären Integration von Biomaterialien mit der Magnetresonanztomographie. Da die Röntgen-basierten bildgebenden Methoden in der Arbeit häufig mit erwähnt werden, soll an dieser Stelle ein kurzer methodischer Überblick erfolgen. Detaillierte Beschreibungen zur Röntgen-basierten Bildgebung finden sich in den Lehrbüchern von *Kalender*¹⁸⁶ und *Bushberg et al.*¹⁸⁷.

2.4.2. Röntgen-basierte bildgebende Methoden

Die Röntgen-basierte Bildgebung, vor allem die Tomographie (*Computertomographie*, CT), findet in präklinischen Studien (am Tiermodell) zur Evaluation von Knochengewebe zahlreiche Anwendungen. Für Tiermodelle werden überwiegend die Mikro-CT (μ CT) und seltener Mikro-CT mit monochromatischer Synchrotron-Strahlung (SR μ CT) oder die Mini-CT verwendet. Sie unterscheiden sich von herkömmlichen klinischen Scannern in der Größe des Systems und des Messfeldes, der Energiedosis und damit verbunden in der Ortsauflösung^{xxxiv}. Generell sind CT-Aufnahmen durch eine hervorragende Auflösung für mineralisierten Knochen, aber mit einem schwachen Weichgewebektrast gekennzeichnet. Aufgrund der hohen Auflösung zeigen sich Schichtaufnahmen knöcherner Strukturen aus μ CT und SR μ CT sehr detailreich, ermöglichen die dreidimensionale Darstellung und eignen sich zur Quantifizierung morphologischer Kenndaten, die denen aus Histomorphometrie entsprechen, sowie zur Analyse der Knochenqualität (z.B. Identifikation von Mikrofissuren) und Knochendichte, Frakturheilung und, nach Kontrastmittelgabe, zur Darstellung des vaskulären Systems^{11,21,190}. Im Fall von Knochenersatzmaterialien, die eine ähnliche Röntgenabsorption wie Knochen aufweisen, wird die Differenzierung zwischen Knochen und Ersatzmaterial oder Transplantat allerdings erschwert, da kaum Kontrastunterschiede auf den Schnittbildern auftreten. Diese ist insbesondere bei Materialien der Fall, die auf Grundlage von Calciumphosphat beruhen (vgl. Kap.2.2.4.3, S. 19).

^{xxxiv} Ortsauflösungen: klin. CT... > 450 μ m; Mini-CT... 100-450 μ m; μ CT... 5-100 μ m; SR μ CT... 1 μ m; Energiedosen: klin. CT... < 50mGy; Mini-CT... ~10-500 mGy; μ CT... > 1 Gy; SR μ CT... < 5 Gy^{184,188,189}.

2.4.2.1. GRUNDPRINZIPIEN DER COMPUTERTOMOGRAPHIE

Die Computertomographie (CT) ist ein Röntgen-Schichtaufnahmeverfahren und basiert prinzipiell auf der Röntgenprojektion. Bei der klassischen »Röntgen«-Aufnahme wird die Schwächung der Röntgenstrahlung durch die Gewebe des zu untersuchenden Körper(teils) auf einem Empfänger, traditionell dem Röntgenfilm, aufgezeichnet. Heute wird die konventionelle Röntgentechnik zunehmend durch die digitale Radiographie ersetzt. Das Ergebnis ist die zweidimensionale Darstellung der Verteilung der Strahlenintensität des gesamten durchstrahlten Gewebes, also ein Überlagerungsbild aller Strukturen entlang des Aufnahme-Strahles. Der Kontrast im Röntgenbild wird durch Strukturen mit hohen Schwächungswerten wie Knochen und Dickenunterschiede dominiert.

Im Unterschied zum klassischen Röntgenbild werden bei der CT digital eine Serie von Projektionen erzeugt, aus denen zweidimensionale, überlagerungsfreie Schnittbilder rekonstruiert werden. Das Grundprinzip der CT stellt die Bestimmung der räumlichen Verteilung des Röntgen-Absorptionskoeffizienten (auch als Schwächungskoeffizient bezeichnet) $\mu(x, y, z, E, t)$ dar. Der Schwächungskoeffizient ist sowohl von der räumlichen Verteilung der Elektronendichte des Individuums (x, y, z) , als auch von der Energie der Röntgenstrahlung (E) abhängig. Eine zeitliche Abhängigkeit (t) von μ kann sich zudem durch Kontrastmittelgabe oder physiologische Prozesse ergeben. Eine einfache Darstellung des Messprinzips ist in Abb. 7 skizziert.

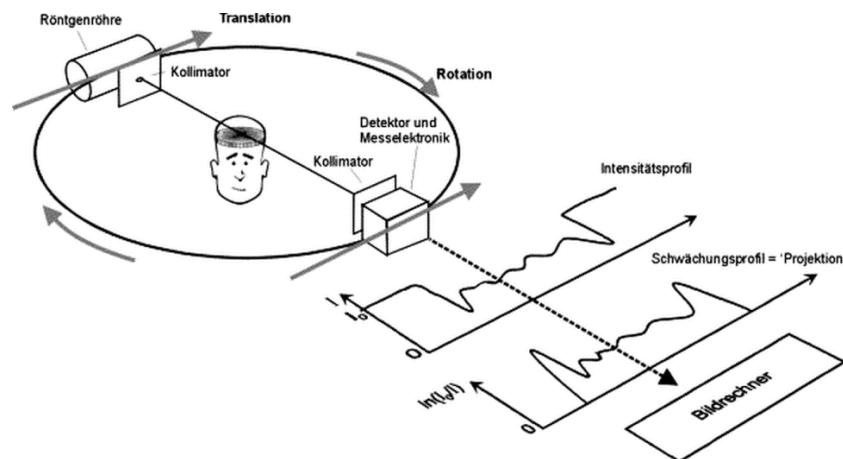


Abb. 7 Grundprinzip der Computertomographie. Im einfachsten Fall wird das Objekt mit einem Nadelstrahl linear abgetastet und sowohl Detektor als auch Strahlquelle nach jeder Messung etwas verschoben (Translation). Aus dem Intensitätsprofil wird das Schwächungsprofil berechnet. Anschließend wird die Anordnung um einen kleinen Winkel verschoben und der Messvorgang beginnt erneut. Auf diesem Prinzip beruhen die CT-Scanner der ersten Generation (sog. Translations-Rotations-Scanner). Die heute am gebräuchlichsten CT-Geräte verwenden eine Fächer- oder Kegelstrahlgeometrie der Röntgenstrahlung; Abbildung aus¹⁸⁶.

Die von der Strahlenquelle^{xxxv} ausgehende Röntgenstrahlung mit der Anfangsintensität I_0 durchdringt das Individuum mit örtlich variierendem Absorptionskoeffizienten. Die durch das Objekt geschwächte Röntgenstrahlung^{xxxvi} wird vom gegenüberliegenden Detektor registriert. Das Intensitätsprofil einer Richtung ergibt sich aus der Messung mehrerer paralleler Strahlen oder der Anwendung der Fächer- oder Kegelstrahlgeometrie. Durch Logarithmierung des Verhältnisses der ungeschwächten Intensität und der hinter dem Objekt gemessenen geschwächten Intensität wird das Schwächungsprofil (auch als *Projektion* bezeichnet, die die Radontransformierte darstellt) berechnet. Nach *Johann Radon* kann die Verteilung des Schwächungskoeffizienten $\mu(x, y)$ durch eine endliche Anzahl an Projektionen über einen Winkelbereich von mindestens 180° ausreichend bestimmt werden. Zur Erzeugung einer vollständigen Schichtaufnahme

^{xxxv} Als Strahlenquellen kommen hauptsächlich Transmissionsröhren, seltener herkömmliche Röntgenröhren mit rotierender Telleranode, zum Einsatz.

^{xxxvi} Die Röntgenschwächung ist abhängig von der Materiedichte, Materiedicke, Ordnungszahl und Photonenenergie. Die Absorption erhöht sich proportional zur 3. Potenz der Wellenlänge und der Ordnungszahl, außerdem proportional zur Dichte und Dicke des Materials.

werden Schwächungsprofile der durchstrahlten Schicht aus verschiedenen Abtastwinkeln, mit bis zu 3000 Projektionen über eine vollständige 360°-Rotation, erzeugt. Die Gesamtheit der Projektionen der durchstrahlten Schicht wird als *Sinogramm* bezeichnet, aus dem nachfolgend das zweidimensionale Schichtbild rekonstruiert wird.

Für die Bildrekonstruktion in der CT existieren mehrere Algorithmen. Die Rekonstruktion durch Faltung und Rückprojektion (*gefilterte Rückprojektion*) ist das gebräuchlichste Verfahren^{xxxvii}. Bei der einfachen Rückprojektion werden die (radialen) Projektionsdaten nach 1D-Fouriertransformation auf ein kartesisches Raster interpoliert. Die Verteilung des Schwächungskoeffizienten $\mu(x,y)$ ergibt sich aus der anschließenden inversen 2D-Fouriertransformation der interpolierten Daten. Diese Rekonstruktion ergibt allerdings ein unscharfes Schichtbild. Die Rückprojektion mit vorangegangener Faltung hebt die Unschärfe auf. Der Faltungskern (Filterfunktion) ist im Wesentlichen ein Hochpassfilter, der die niedrigen Frequenzen herausfiltert und so zu einer Schärfung der Schnittbilder führt. Der Eindruck des rekonstruierten Bildes ist maßgeblich von der verwendeten Filterfunktion abhängig^{186,187,191}.

2.4.2.2. HOUNSFIELD-SKALA

Die räumliche Verteilung der Schwächungskoeffizienten $\mu(x,y)$ wird in einer relativen Skala in Bezug auf die Schwächung bei Wasser angegeben. Die CT-Werte berechnen sich in Hounsfield-Einheiten (HU... *Hounsfield units*)¹⁹². Für ein beliebiges Gewebe gilt:

$$CT - Wert [HU] = 1000 \times \frac{\mu - \mu_{Wasser}}{\mu_{Wasser}} \quad (2-1)$$

Mit den Hounsfield-Einheiten wird die Abweichung vom CT-Wert des Wassers angegeben. Wasser hat definitionsgemäß den Wert von 0 HU und Luft, als nichtabsorbierendes Medium, -1000 HU. Die CT-Werte ausgewählter Gewebe und Materialien sind in Abb. 8 dargestellt.

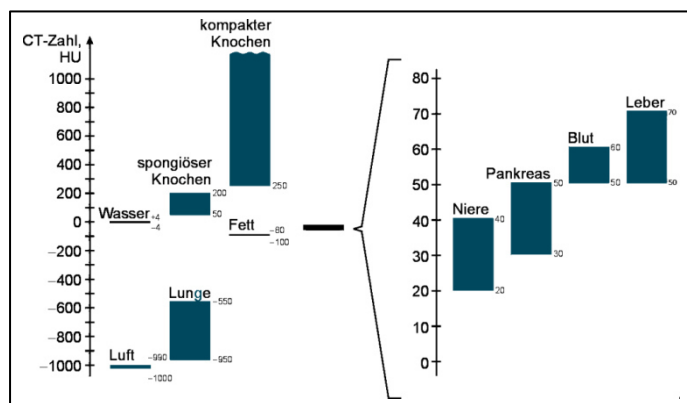


Abb. 8 Hounsfield-Skala verschiedener Gewebe und Organe. Die CT-Werte geben den linearen Schwächungskoeffizienten relativ zum Wasser an. Die Hounsfield-Skala ist nach oben offen. Stark absorbierende Materialien wie Metalle oder Keramiken besitzen CT-Werte von deutlich über 1000 HU; aus¹⁸⁶, modifiziert.

2.4.2.3. μ CT ZUR EVALUATION DER KNÖPCHERNEN EINHEILUNG

Neben histologischen Techniken kommt zur Untersuchung der knöchernen Integration von Biomaterialien vor allem die μ CT zur Anwendung. Die wesentlichen Vorteile der μ CT sind deren hohe räumliche und die in alle drei Dimensionen isotrope Auflösung von bis zu 5 μ m, die vor allem detaillierte morphologische Abbildungen des Knochens und die dreidimensionale Rekonstruktion der Schichtbilder ermöglichen. Weitere Vorteile der Methode sind die kurze Scanzeit (typischerweise 20 s bis 30 min), welche die Bildgebung *in vivo* zulassen¹⁸⁶. Durch die Kombination von monochromatischer Synchrotron-Röntgenstrahlung und Tomographie (SR μ CT) werden Ortauflösungen im sub- μ m-Bereich und erheblich kürzere Aufnahmezeiten erreicht¹⁹⁴. Durch die hohe Strahlungsintensität, die limitierte Verfügbarkeit der Synchrotron-Quellen und

^{xxxvii} Daneben können iterative Rekonstruktionsverfahren genutzt werden. Die Rekonstruktion von CT-Schichtaufnahmen aus der Kegelstrahlsymmetrie der Röntgenstrahlung erfolgt auf Basis des Feldkamp-Algorithmus. Bei diesem werden die gesamten Volumendaten simultan berechnet.

die hohen Kosten eignet sich die SR μ CT praktisch nicht für präklinische Routineuntersuchungen *in vivo*, sondern wird für ausgewählte *ex vivo*-Studien genutzt. Die μ CT und SR μ CT werden zur Analyse der Knochenqualität und zur Evaluation der Osseointegration zahlreicher Biomaterialien genutzt^{10,11,14,184,195}.

Allerdings können gering absorbierende Materialien wie nichtmineralisierte biologische Gewebe und Polymere kaum dargestellt werden, da die geringen Unterschiede der Elektronendichten nur einen unzureichenden Kontrast zwischen den Materialien generieren und diese zudem in Gegenwart stark absorbierender Materialien (wie Knochen, Zähne, Metallimplantate) nicht abgebildet werden, also »röntgentransparent« sind. Problematisch sind zudem der geringe Kontrastunterschied bei Materialien, die eine ähnliche Röntgenabsorption wie Knochen darstellen (z.B. HAP, TCP) und das Auftreten von Bildstörungen (sog. Artefakte) bei sehr stark absorbierenden Implantaten, wie metallische Gegenstände oder Zirkonoxid^{196,197}.

Der wesentliche Nachteil der Röntgen-basierten Bildgebung ist die notwendige Strahlenexposition der Individuen. Im Vergleich zur klassischen Röntgenprojektion ist die CT zudem mit einer signifikant höheren Belastung mit ionisierender Strahlung verbunden^{xxxviii,198}, wobei die Dosis für eine gegebene Objektgröße umgekehrt proportional mit der vierten Potenz der Ortsauflösung steigt. Das bedeutet, dass ein Anstieg der Auflösung von 500 μ m auf 250 μ m mit einer 16fachen und von 500 μ m auf 100 μ m mit einer 625fachen Strahlenbelastung einhergeht, um denselben Kontrast zu erreichen¹⁸⁶. Für die Bildgebung an (kleinen) Versuchstieren ist die bessere Auflösung aber notwendig, da die anatomischen Strukturen in Labortieren kleiner sind als beim Menschen. Verglichen mit CT-Untersuchungen am Menschen werden Labortiere einer 10-30fachen effektiven Dosis ausgesetzt was 100-200 mSv pro Untersuchung entspricht¹⁸⁶. Insbesondere bei Verlaufsstudien an ein und demselben Tier ist die Begrenzung der Strahlenbelastung notwendig, da auch bei wiederholter Anwendung subletaler Dosen Strahlenschäden auftreten können, die möglicherweise experimentelle Resultate überlagern. So werden in der Literatur durch Röntgenstrahlung induzierte Veränderungen in Tumor- und Knochenwachstum und der Hämatopoese beschrieben^{11,188}.

2.4.3. Kernresonanz und Magnetresonanztomographie

2.4.3.1. PHYSIKALISCHE GRUNDLAGEN DER MAGNETISCHEN KERNRESONANZ

Die *Magnetresonanztomographie* (MRT; engl. *Magnetic Resonance Imaging, MRI*; auch NMR-Tomographie) ist ein bildgebendes Verfahren, welches auf Grundlage der Kernmagnetresonanz (NMR; engl. *Nuclear Magnetic Resonance*) beruht. Mit Hilfe der MRT werden nicht-invasiv Schnittbilder der erzeugt, die die Protonenverteilung der untersuchten Individuen abbilden. Im Gegensatz zur Computertomographie wird keine ionisierende Strahlung genutzt.

Die Grundlagen der kernmagnetischen Resonanz (NMR) und der tomographischen MR-Bildgebung werden nachfolgend beschrieben, wobei erwähnt sei, dass nur die wichtigsten Aspekte zusammengefasst wurden¹⁹⁹⁻²⁰⁹.

Die Wechselwirkung der Kerne im Magnetfeld

Die meisten Atomkerne besitzen in ihrem Grundzustand einen von Null verschiedenen Eigendrehimpuls P und damit ein magnetisches Moment. Dieser ist gequantelt und wird beschrieben als:

$$P = \sqrt{I(I + 1)}\hbar \quad (2-2)$$

Hierbei ist \hbar das reduzierte Plancksche Wirkungsquantum (mit $\hbar = h/2\pi$, $h = 6,626 \cdot 10^{-34} \text{Js}$). Der Eigendrehimpuls P wird als *Kernspin* und die halb- oder ganzzahlige Zahl I als Kernspinquantenzahl bezeichnet.

^{xxxviii} Beispiel: Eine konventionelle Röntgenaufnahme des Thorax ist mit einer effektiven Dosis von 0,02-0,04 mSv, die CT-Aufnahme des Thorax mit 4,2-6,7 mSv verbunden. Im Jahr 2011 verursachten die CT-Untersuchungen (die einen Anteil von 9 % der gesamten Röntgenmaßnahmen darstellten) einen Anteil an der kollektiven Dosis von 63 %¹⁹⁸.

Für Protonen gilt $I = 1/2$. Die Komponente in Richtung des angelegten Feldes ist:

$$P_z = m \hbar \quad (2-3)$$

Per Konvention zeigt das äußere Magnetfeld in z-Richtung. Die Richtungsquantenzahl m nimmt genau $2I + 1$ Werte an. Mit dem Kernspin P ist über das isotopenspezifische gyromagnetische Verhältnis γ ein magnetisches Moment μ verknüpft^{xxxix}. Der Drehimpuls P und magnetische Moment μ sind einander proportional:

$$\mu = \gamma P \quad (2-4)$$

Prinzipiell sind für NMR-Experimente alle Kerne mit $I \neq 0$ geeignet. Dabei handelt es sich um Atomkerne, die eine ungerade Anzahl an Protonen und/oder Neutronen besitzen (die sog. ug-, gu- oder uu-Kerne). Für MRT-Experimente werden fast ausschließlich Wasserstoffatome ^1H (mit $I = 1/2$) genutzt, da sie die größte natürliche Häufigkeit in biologischen Geweben und von allen stabilen Isotopen das größte gyromagnetische Verhältnis γ besitzen und folglich die größte Nachweisempfindlichkeit in (N)MR-Experimenten besitzen. Im Folgenden sind stets Protonen (^1H) gemeint, wenn die Vorgänge der Hochfrequenz-Anregung auf das Spinsystem erläutert werden.

Während im magnetfeldfreien Raum alle Orientierungen des magnetischen Moments μ energetisch gleichwertig sind, kommt es in Gegenwart eines externen, statischen, homogenen Magnetfeldes (B_0) zu einer Aufspaltung in genau $m = (2I + 1)$ äquidistante Spinzustände (der *Kern-Zeemann-Effekt*) in Richtung des statischen Magnetfeldes B_0 . Für Protonenspins existieren demnach zwei Energiezustände: die parallele und antiparallele Orientierung ($m = +1/2, m = -1/2$).

Für einen Kern mit $(2I + 1)$ Spinzuständen ergeben sich ebensoviele Energiezustände (*Kern-Zeemann-Niveaus*) mit einem Energiebeitrag von

$$E = -\gamma m \hbar B_0 \quad (2-5)$$

Die Energiedifferenz ΔE zweier benachbarter Energieniveaus beträgt folglich:

$$\Delta E = \gamma \hbar B_0 \quad (2-6)$$

Die Besetzung der einzelnen Energieniveaus erfolgt nach der Boltzmann-Verteilung. Im gegebenen Fall seien N_β die Anzahl der Kerne im energiereichen Niveau (antiparallel zu B_0) und N_α die Kerne im energieärmeren Niveau (parallel zu B_0). Für das Verhältnis der Besetzungszahlen gilt:

$$\frac{N_{\beta,(m=-1/2)}}{N_{\alpha,(m=+1/2)}} = e^{-\frac{\Delta E}{k_B T}} \approx 1 - \frac{\Delta E}{k_B T} = 1 - \frac{\gamma \hbar B_0}{k_B T} \quad (2-7)$$

(mit der Boltzmann-Konstante $k_B = 1,380658 \cdot 10^{-23} \text{ J K}^{-1}$)

Da die ΔE im Vergleich zur mittleren thermischen Energie $k_B T$ klein ist, wird der energieärmere Zustand (parallele Orientierung) geringfügig stärker besetzt als der energiehöhere Zustand. Der Besetzungsüberschuss für ^1H beträgt bei einer Temperatur von 293 K für $B_0(7,05 \text{ T}) = 0,005 \%$ und steigert sich für $B_0(11,7 \text{ T})$ auf $0,008 \%$ ^{xl}. Aus den Gleichungen (2-6) und (2-7) wird deutlich, dass je höher das statische Magnetfeld B_0 , je größer das gyromagnetische Verhältnis γ und je tiefer die Temperatur T ist, desto

^{xxxix} Die Drehung eines elektrisch geladenen Teilchens wird als Gyration bezeichnet (von griech. *Gyros* = Kreis).

^{xl} Magnetische Feldstärken für konventionelle NMR-Spektrometer. $B_0 = 7,05 \text{ T}$ entsprechen einem 300-MHz-Gerät, $B_0 = 11,7 \text{ T}$ entsprechen dem 500-MHz-Gerät (Frequenzangabe gibt die Larmorfrequenz für Protonen an)²¹⁰.

größere Besetzungsunterschiede resultieren. Aus dem Überschuss an parallel zu B_0 ausgerichteten kernmagnetischen Momenten μ ergibt sich aufgrund der hohen Anzahl an Protonenspins ein makroskopisch messbares magnetisches Moment M_0 in Richtung des B_0 -Feldes (vgl. Abb. 9B).

$$M_0 = \frac{1}{V} \sum_{i=1}^N \mu_i \quad (2-8)$$

Die makroskopische Magnetisierung M_0 ist die vektorielle Summe aller magnetischen Kernmomente μ , die aufgrund des inhärenten Eigendrehimpulses mit der Präzessions- oder *Larmor-Frequenz* ω_0 in einem Winkel von $54,7^\circ$ (parallele Ausrichtung) und $125,3^\circ$ (anti-parallele Ausrichtung) zwischen Magnetfeldachse und Dipolmomentsvektor (Abb. 9A) um die z-Achse des Magnetfeldes präzedieren. Die Stärke des magnetischen Momentes M_0 beträgt wenige μ -Tesla (μ T) und kann jede beliebige Orientierung einnehmen.

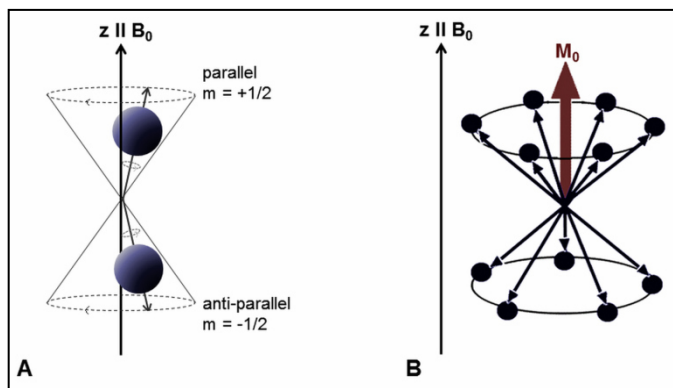


Abb. 9 (A) Präzessionsbewegung zweier magnetischer Momente um die Feldrichtung eines statischen Magnetfeldes. Diese erfolgt aufgrund des inhärenten Eigendrehimpulses der Kernspins (»atomarer Kreisel«). Aufgrund der Zeemann-Aufspaltung kommen für Protonen zwei Energiezustände vor. **(B)** Die Besetzung der beiden möglichen Energieniveaus erfolgt nach der Boltzmann-Verteilung. Der energetisch günstigere Zustand (parallel zu B_0) ist geringfügig stärker besetzt als der höherenergetische Zustand (anti-parallel zu B_0), so dass sich eine makroskopisch messbare Magnetisierung M_0 ausbildet; aus^{201,209}, modifiziert.

Die Bewegungsgleichungen für die Einzelkomponenten der Larmor-Präzession sind die Folgenden:

$$\frac{dM_x}{dt} = -\omega_0 M_y \quad (2-9)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \omega_0 M_x \quad (2-10)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = 0 \quad (2-11)$$

Die zwei gekoppelten Bewegungsgleichungen für die transversalen Komponenten besitzen die allgemeine Lösung:

$$M_x(t) = M_{xy,0} \cos(\omega_0 t - \varphi) \quad (2-12)$$

$$M_y(t) = M_{xy,0} \sin(\omega_0 t - \varphi) \quad (2-13)$$

Die Amplitude M_{xy} und die Phase φ werden durch die Anfangsbedingungen bestimmt. Die z-Komponente der Larmor-Präzession ist konstant:

$$M_z(t) = M_{z,0} = M_0 \quad (2-14)$$

Die Larmor-Frequenz ist allein vom statischen Magnetfeld B_0 abhängig.

$$\boldsymbol{\omega}_0 = \gamma \mathbf{B}_0 \quad (2-15)$$

Wechselwirkung mit dem elektromagnetischen Wechselfeld - Resonanz

Übergänge zwischen den Energieniveaus können durch ein zusätzliches, zeitabhängiges *elektromagnetisches Hochfrequenzfeld (HF)* induziert werden, das mit dem magnetischen Moment in Wechselwirkung, also in Resonanz, tritt. Stimmt die Frequenz eines magnetischen Hochfrequenzfeldes ω_{HF} mit der Larmorfrequenz der präzedierenden Spins ω_0 überein (*Resonanzbedingung*), dann wird somit das thermische Gleichgewicht der Kernmagnetisierung im homogenen Magnetfeld \mathbf{B}_0 gestört und die makroskopische Magnetisierung \mathbf{M}_0 gedreht. Die Auslenkung der makroskopischen Magnetisierung \mathbf{M}_0 wird durch ein magnetisches Hochfrequenzfeld \mathbf{B}_1 mit der Frequenz $\omega_1 = \omega_0$ induziert, das genau senkrecht zur Richtung des statischen Magnetfeldes \mathbf{B}_0 eingestrahlt wird. Die Transmission des \mathbf{B}_1 -Feldes erfolgt durch eine HF-Spule (ein sog. HF-Resonator), in dem eine Wechselspannung angelegt wird. Der resultierende Wechselstrom erzeugt ein oszillierendes Wechselfeld mit der Frequenz ω_1 . Die Änderung der Besetzungszahlen $N_{\alpha(+1/2)}$ und $N_{\beta(-1/2)}$ bewirkt eine Veränderung der messbaren Magnetisierung \mathbf{M} .

Die Dynamik der Magnetisierung des Spin-Systems kann klassisch auf Basis der Bloch-Gleichungen beschrieben werden. Die fundamentalen Bloch'schen Gleichungen sollen hier nicht hergeleitet werden. Sie lauten für eine Magnetisierung \mathbf{M} in einem Magnetfeld \mathbf{B} mit $B_x \ll B_z$ und $B_y \ll B_z$ ^{199,211}.

$$\frac{d\mathbf{M}}{dt} = \gamma \mathbf{M} \times \mathbf{B} = \gamma \begin{bmatrix} M_x & B_x & \mathbf{i} \\ M_y & B_y & \mathbf{j} \\ M_z & B_z & \mathbf{k} \end{bmatrix} = \gamma \begin{bmatrix} (M_y B_z - M_z B_y) \mathbf{i} \\ (M_z B_x - M_x B_z) \mathbf{j} \\ (M_x B_y - M_y B_x) \mathbf{k} \end{bmatrix} \quad (2-16)$$

Das Kreuzprodukt beschreibt die Präzession der Magnetisierung um die Richtung von \mathbf{B} , bei der sich die Amplitude der Magnetisierung nicht ändert. Wie bereits erläutert, findet die Präzessionsbewegung mit der Larmor-Frequenz statt. Das Magnetfeld \mathbf{B} setzt sich nun aus den Komponenten \mathbf{B}_0 und der transversalen Komponente \mathbf{B}_1 zusammen. Für \mathbf{B} gilt im kartesischen Raum:

$$B_x = B_1 \cos \omega t \quad (2-17)$$

$$B_y = B_1 \sin \omega t \quad (2-18)$$

$$B_z = B_0 \quad (2-19)$$

Die Einzelkomponenten der Bloch-Gleichungen (2-16) mit Berücksichtigung von B_0 und B_1 stellen sich wie folgt dar:

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma(M_y B_0 - M_z B_1 \sin \omega t) \quad (2-20)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma(M_z B_1 \cos \omega t - M_x B_0) \quad (2-21)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma(M_x B_1 \sin \omega t - M_y B_1 \cos \omega t) \quad (2-22)$$

Die Bloch'schen Gleichungen erklären die Präzessionsbewegung der Magnetisierung während der HF-Anregung, können aber auch zur Beschreibung des phänomenologischen Prozesses des Rückkehrens in den Grundzustand \mathbf{M}_0 mit einbezogen werden. So ist das Spinsystem nach der HF-Anregung bestrebt, den Gleichgewichtszustand \mathbf{M}_0 wieder einzunehmen. Dieser Vorgang wird als Relaxation bezeichnet.

Es handelt sich um den zeitgleichen Ablauf zweier Relaxationsphänomene, die durch die Relaxationszeiten T_1 und T_2 charakterisiert werden. Die Bloch'schen Gleichungen (2-20) bis (2-22) erweitern sich darum wie folgt:

$$\frac{dM_x}{dt} = \gamma(M_y B_0 - M_z B_1 \sin \omega t) - \frac{M_x}{T_2} \quad (2-23)$$

$$\frac{dM_y}{dt} = \gamma(M_z B_1 \cos \omega t - M_x B_0) - \frac{M_y}{T_2} \quad (2-24)$$

$$\frac{dM_z}{dt} = \gamma(M_x B_1 \sin \omega t - M_y B_1 \cos \omega t) - \frac{M_z - M_0}{T_1} \quad (2-25)$$

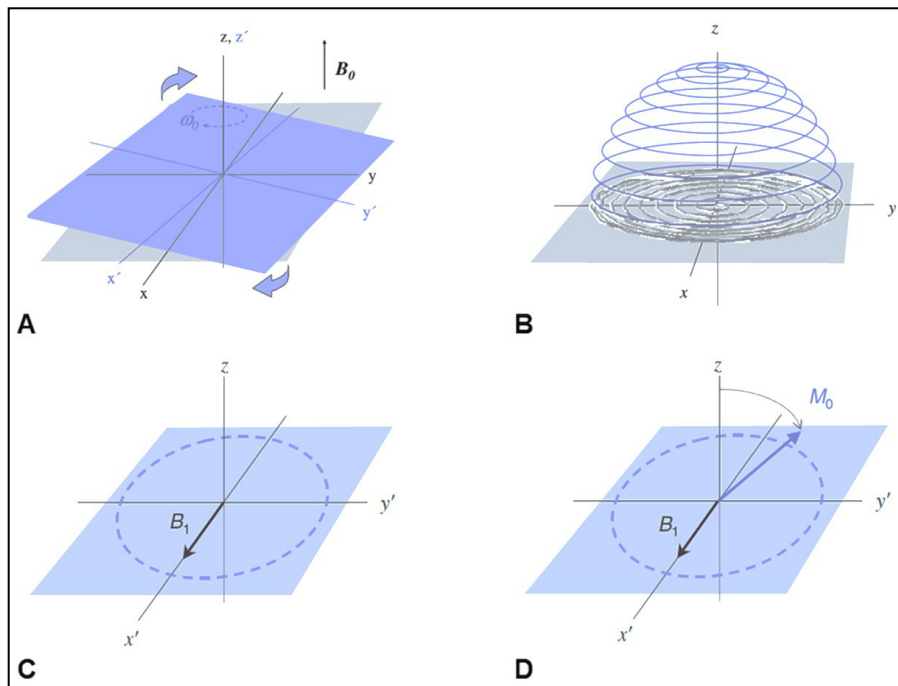


Abb. 10 (A) Das rotierende Koordinatensystem (x', y', z') dreht sich mit der Larmorfrequenz ω_0 um B_0 . (B) Im ortsfesten Koordinatensystem bewegt sich M nach 90° -Anregung durch B_1 schraubenlinienförmig auf der Oberfläche einer Kugel. Die Bewegung ist das Resultat der Kombination der Präzession von M um B_0 und der schnelleren Präzessionsbewegung derselben um B_1 mit der Frequenz ω_1 . (C) Da sich die x' - y' -Ebene des rotierenden Koordinatensystems synchron mit dem Hochfrequenzfeld bewegt, ist die Orientierung und der Betrag des B_1 -Vektors konstant. Üblicherweise wird die Lage des rotierenden Koordinatensystems so gewählt, dass der B_1 -Vektor in x' -Richtung zeigt. (D) M präzediert so lange um B_1 , bis das magnetische Hochfrequenzfeld abgeschaltet wird; aus¹⁹⁹.

Die Komponenten M_x und M_y unterliegen sowohl der Relaxation als auch der schnellen Larmorpräzession. Makroskopisch gesehen beschreibt die Magnetisierung M nach Auslenkung aus dem Gleichgewichtszustand im ortsfesten Koordinatensystem (x, y, z) eine Spiralspur auf einer Kugeloberfläche um B_0 (Abb. 10B).

Die Zeitabhängigkeit des transversalen Magnetfeldes B_1 (also die Präzession um die z -Achse) entfällt bei Transformation des Laborkoordinatensystems in ein rotierendes Koordinatensystem (KOS) (x', y', z'), welches sich mit der rotierenden Komponente des HF-Feldes und der Frequenz ω_{rot} um die z -Achse dreht (Abb. 10A, C und D). Die Bewegungsgleichungen für das rotierende Bezugssystem (gekennzeichnet durch \sim) ergeben sich zu:

$$\left(\frac{d\tilde{\mathbf{M}}}{dt}\right) = \gamma(\mathbf{M} \times \mathbf{B}_{eff}) - \begin{pmatrix} \frac{M_x}{T_2} \\ \frac{M_y}{T_2} \\ \frac{M_z - M_0}{T_1} \end{pmatrix} \quad (2-26)$$

Mit einem im rotierenden Koordinatensystem effektiv wirkenden Magnetfeld \mathbf{B}_{eff} :

$$\mathbf{B}_{eff} = \begin{pmatrix} B_x \\ B_y \\ \frac{\omega - \omega_0}{\gamma} \end{pmatrix} \quad (2-27)$$

Bei der Einstrahlung eines magnetischen Wechselfeldes mit der Larmor-Frequenz ω_0 senkrecht zur z-Richtung ist \mathbf{B}_{eff} mit B_1 identisch und die Magnetisierung \mathbf{M} präzediert um B_1 . Damit ergeben sich die Bloch'schen Gleichungen im rotierenden Bezugssystem zu²⁰⁰:

$$\frac{d\tilde{M}_x}{dt} = -\Omega\tilde{M}_y - \frac{\tilde{M}_x}{T_2} \quad (2-28)$$

$$\frac{d\tilde{M}_y}{dt} = \Omega\tilde{M}_x - \gamma B_1\tilde{M}_z - \frac{\tilde{M}_y}{T_2} \quad (2-29)$$

$$\frac{d\tilde{M}_z}{dt} = \gamma B_1\tilde{M}_y - \frac{\tilde{M}_z - M_0}{T_1} \quad (2-30)$$

(mit einer Resonanzabweichung (»Offset«) $\Omega = \Delta\omega = \omega_0 - \omega_{rot}$)

\mathbf{M}_0 ist die Gleichgewichtsmagnetisierung, die sich nach Abschalten des HF-Feldes und Abklingen der T_1 -Relaxation (siehe nachfolgendes Kapitel, S. 36ff) einstellt.

Bei (N)MR-Experimenten wird in der Regel das Impulsverfahren verwendet. Das bedeutet, dass das B_1 -Feld nur für eine definierte Zeit t_p (die Pulslänge) eingeschaltet wird. Die Abfolge solcher Pulse wird als Pulssequenz (oder Pulsprogramm) bezeichnet. Für den Rotationswinkel α der Auslenkung von M_0 (häufig auch Flip-Winkel genannt) gilt der folgende Zusammenhang:

$$\alpha = \gamma B_1 t_p \quad (2-31)$$

Wird die Pulslänge von B_1 gerade so gewählt, dass sich die Magnetisierung \mathbf{M} im rotierenden Bezugssystem um den Winkel $\alpha = 90^\circ$ in die x' - y' -Ebene dreht, so spricht man von einem 90° - oder $(\pi/2)$ -Puls. Diese Rotation wird als Anregung bezeichnet. Im Vergleich zum statischen Feld \mathbf{B}_0 ist das magnetische Wechselfeld \mathbf{B}_1 schwach. Aus Gleichung (2-31) lässt sich errechnen, dass das Magnetfeld \mathbf{B}_1 nur rund 0,6 mT betragen muss, um einen 90° -Puls mit einer Pulslänge von 10 μs zu produzieren.

Es ist hilfreich, die Magnetisierung \mathbf{M} in die Komponenten *Längsmagnetisierung* M_z (parallel zur Achse des statischen Feldes B_0) und *Quermagnetisierung* M_{xy} (senkrecht zu B_0) zu zerlegen. Wie bereits erwähnt, wird bei einer Auslenkung der Magnetisierung \mathbf{M}_0 um 90° von Anregung gesprochen ($M_z \neq M_0$, $M_{xy} \neq 0$). Durch die Wechselwirkung der hochfrequenten Pulse mit dem Spinsystem werden so lange Übergänge zwischen den beiden Energiezuständen erlaubt, bis die Besetzungszahlen, im Falle von 90° -Pulsen, identisch sind. Wird die Pulsdauer so ausgewählt, dass eine Drehung der Magnetisierung \mathbf{M}_0 um $\alpha = 180^\circ$ resultiert (man spricht von einem 180° - oder π -Puls), hat das eine Invertierung der Besetzungszahlen zur Folge^{xli}. Darüber hinaus führt der 90° -Puls bei den magnetischen Momenten der Probe zu einer

^{xli} Das detektierbare Signal ergibt sich allerdings nur aus dem Anteil der der Protonenspins, die sich phasensynchron in der xy-Ebene befinden, also der Quermagnetisierung. Die Invertierung der Magnetisierung ergibt folglich (ersteinmal) kein Signal.

Phasensynchronisation, die zu einer Ausbildung einer makroskopischen Quermagnetisierung M_{xy} führt. Diese stimmt mit dem Betrag nach mit der Gleichgewichtsmagnetisierung M_0 überein.

Signalerzeugung, freier Induktionszerfall und Spektrum

Die präzedierende Quermagnetisierung M_{xy} erzeugt in der HF-Spule gemäß dem Faraday'schen Induktionsgesetz eine schwache Wechselfspannung mit der Larmorfrequenz ω_0 . Die Präzession führt also zu einer messbaren Induktionsspannung $S(t)$ in der Probenspule. Als Folge der *Spin-Spin-Relaxation* (siehe S. 38) zerfällt das Signal mit T_2^* und hat die Form einer gedämpften Schwingung. Dieser wird als *freier Induktionszerfall* (engl. »Free Induction Decay« = FID) bezeichnet (Abb. 11A).

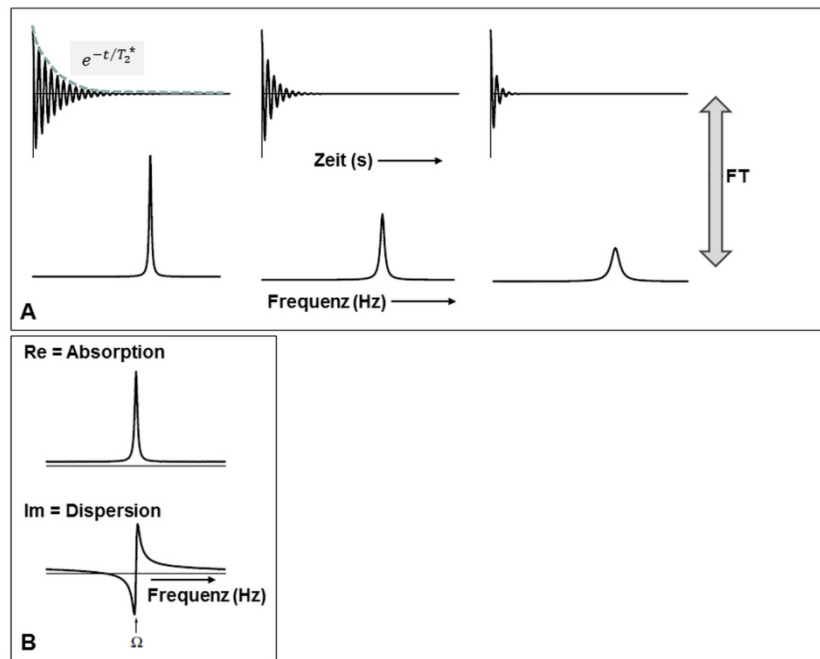


Abb. 11 (A) Das FID entspricht dem Spektrum in der Zeitdomäne. Mittels Fourier-Transformation wird das Signal in seine Frequenzdomäne, dem eigentlichen Spektrum, umgerechnet. Das NMR-Signal ist eine Lorentz-Kurve, dessen Amplitude zur makroskopischen Quermagnetisierung M_{xy} proportional ist. Die Linienbreite wird durch T_2^* determiniert. **(B)** Das Spektrum besitzt einen Realteil (Absorptionssignal) und einen Imaginärteil (Dispersionssignal). Während die Absorptionslinie (die konventionell das NMR-Spektrum darstellt) immer positiv ist, besteht die Dispersionslinie stets aus einem positiven und einem negativen Teil, aus²¹², modifiziert.

Die Signalintensität ist proportional zur Größe der makroskopischen Quermagnetisierung M_{xy} (d.h. der phasensynchronen Spins) und besteht im rotierenden KOS aus den beiden transversalen Komponenten²¹²:

$$S_x(t) = S_0 \cos \Omega t \quad (2-32)$$

$$S_y(t) = S_0 \sin \Omega t \quad (2-33)$$

Beide Komponenten werden mit einem phasempfindlichen Detektor aufgezeichnet und getrennt abgespeichert. Daraus wird ein komplexes Signal durch Addition der Komponente des ersten Detektors A und der mit i multiplizierten Komponente des zweiten Detektors abgespeichert.

Der 180°-Puls ist Bestandteil der sog. »Inversion-Recovery-Sequenz«. Diese kann zur Bestimmung der T_1 -Relaxationszeit genutzt werden (vgl. Kap. 2.4.3.2, S. 37).

Das komplexe Signal hat nun die folgende Form:

$$\begin{aligned} S(t) &= S_x(t) + i S_y(t) \\ &= S_0 \cos \Omega t + i S_0 \sin \Omega t \\ &= S_0 e^{i \Omega t} \end{aligned} \quad (2-34)$$

Wie erwähnt, besitzt das Signal die Form einer gedämpften Schwingung aufgrund von T_2^* .

$$S(t) = S_0 e^{i \Omega t} e^{-\frac{t}{T_2^*}} \quad (2-35)$$

Daraus folgt, dass das Signal $S(t)$ umso schneller zerfällt, je kürzer T_2^* ist. Das zeitabhängige Signal $S(t)$ wird mit der Fourier-Transformation (FT, mit \mathcal{F} wird die Fourier-Transformierte gekennzeichnet) in das Frequenzspektrum $G(\omega)$ transformiert. Die Variablen t und ω bilden ein Fourier-Paar.

$$G(\omega) = \int_0^{\infty} S(t) e^{-i \Omega t} dt \quad (2-36)$$

Die komplexe Funktion $G(\omega)$ (das (N)MR-Spektrum) besteht aus einem Realteil, der das Absorptionssignal darstellt, und einem Imaginärteil, dem Dispersionsteil des Spektrums. Die Absorptionslinie besitzt bei exponentiellem Abfall die Form einer Lorentz-Kurve (Abb. 11B).

$$G(\omega) = \frac{T_2^*}{1 + (2\pi T_2^*)^2 \cdot (\omega - \omega_0)^2} \quad (2-37)$$

Die Halbwertsbreite $b_{1/2}$ der Absorptionslinie bzw. der Abstand der Wendepunkte der Dispersionslinie ist durch T_2^* gegeben²¹³.

$$b_{1/2} = \Delta\nu = \frac{1}{\pi T_2^*} \quad (2-38)$$

Die exemplarischen NMR-Spektren weisen genau ein Signal auf (z.B. von H₂O). Folglich sind die detektierten Spins chemisch äquivalent. Anhand eines NMR-Spektrums lassen sich Aussagen zur chemischen Zusammensetzung *des gesamten untersuchten Volumens* treffen (siehe dazu auch Abb. 14A, S. 41).

2.4.3.2. RELAXATIONSPROZESSE

Mit den Bloch'schen Gleichungen (2-23) bis (2-25) auf S. 33 wurde die Relaxation bereits eingeführt. Hintergrund der Prozesse ist die Wechselwirkung der Spins mit der atomaren Umgebung. So erzeugen die einen Kern umgebenden Atomkerne oder ungepaarte Elektronen ein lokales magnetisches Zusatzfeld B_{lok} , das infolge der Brown'schen Molekularbewegung zeitlich fluktuiert. Für Protonen mit $I = 1/2$ ist der wichtigste Wechselwirkungsmechanismus die Dipol-Dipol-Wechselwirkung. Die lokal fluktuiierenden Zusatzfelder B_{lok} führen bei passenden Frequenzkomponenten zu Übergängen zwischen den Zeemann-Niveaus und somit zur Relaxation. Zur Beschreibung des Prozesses wird zwischen zwei sich überlagernden Vorgängen unterschieden:

- ▶ Rückkehr der Längsmagnetisierung zu $M_z = M_0$, charakterisiert durch die *Spin-Gitter-Relaxationszeit* T_1 (siehe auch S. 38).
- ▶ Zerfall der Quermagnetisierung zu $M_{xy} = 0$ (bedeutet den Verlust der Phasenkohärenz), charakterisiert durch die *Spin-Spin-Relaxationszeit* T_2 (siehe auch S. 38).

Ein Maß für die Zeitabhängigkeit der Brown'schen Molekularbewegung ist die Korrelationszeit^{xliii} τ_c . Je kürzer τ_c also ist, desto schneller bewegen sich die Kerne.

Die magnetischen Wechselwirkungen der veränderlichen Zusatzfelder können, aufgrund der statistischen Bewegung der Kerne, in guter Näherung durch eine zeitunabhängige Autokorrelationsfunktion $G(\tau)$ beschrieben werden:

$$G(\tau) = G_0 e^{-\frac{|\tau|}{\tau_c}} \quad (2-39)$$

Die Fourier-Transformierte \mathcal{F} der Autokorrelationsfunktion gibt das Frequenzspektrum der oszillierenden Magnetfelder wieder und wird als *spektrale Dichtefunktion* $J(\omega)$ bezeichnet (Abb. 12A).

$$J(\omega) = \int_{-\infty}^{\infty} G(\tau) e^{-i\omega\tau} d\tau = \frac{2 G_0 \tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} \approx \frac{\tau_c}{1 + \omega^2 \tau_c^2} \quad (2-40)$$

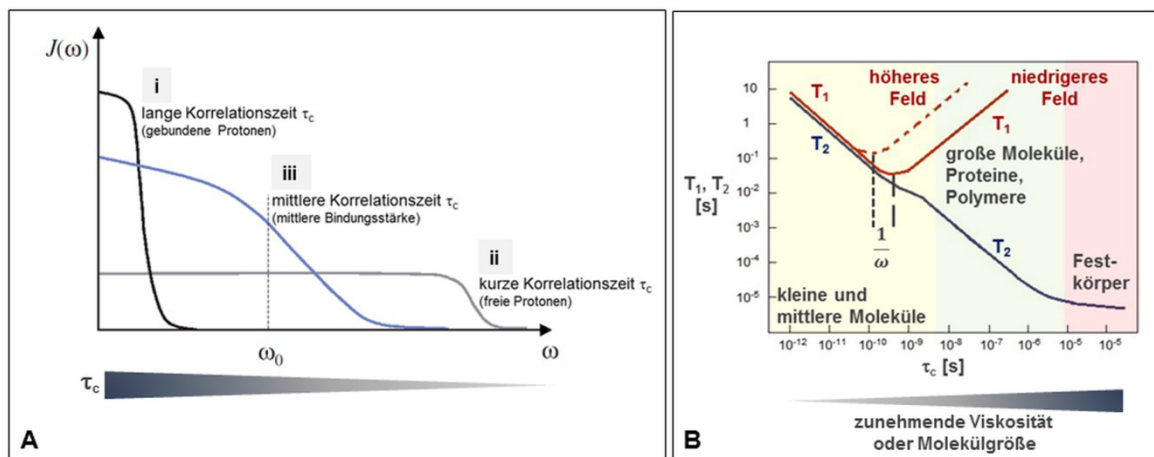


Abb. 12 (A) Spektrale Dichteverteilung $J(\omega)$ für drei Substanzen mit verschiedenen Korrelationszeiten τ_c . (i) In Festkörpern sind die Protonen fest gebunden und in ihrer Beweglichkeit stark eingeschränkt. Die Atome bzw. Moleküle einer Probe bewegen sich sehr langsam. Die Korrelationszeit τ_c ist folglich hoch und die Intensität höherfrequenter Bewegungskomponenten niedrig. Es gilt $\omega\tau_c \gg 1$. (ii) In Flüssigkeiten bewegen sich Atome und Moleküle sehr rasch. Die spektrale Verteilungsfunktion $J(\omega)$ beschreibt eine breite Verteilung der Frequenzkomponenten und weist einen großen Anteil an höherfrequenten Komponenten auf. Es gilt $\omega\tau_c \ll 1$. (iii) Die spektrale Dichteverteilung $J(\omega)$ für eine Substanz, bei der sich die Protonen mit mittlerer Geschwindigkeit bewegen. Bei der Larmorfrequenz ω_0 ist die Intensität $J(\omega)$ verglichen mit (i) und (ii) hoch. Es gilt $\omega\tau_c \approx 1$; nach¹⁹⁹, modifiziert. **(B)** Die Relaxationskonstanten T_1 und T_2 als Funktion der Korrelationszeit τ_c . Die effektivste T_1 -Relaxation findet bei Molekülen mittlerer Größe statt. Je höher die Larmorfrequenz ω_0 , desto niedriger werden die optimalen Korrelationszeiten (nach der Beziehung $\tau_c = 1/\omega_0$). T_2 nimmt mit zunehmender Molekülgröße und/oder Viskosität beständig ab, nach²⁰¹, modifiziert.

Die spektrale Dichtefunktion $J(\omega)$ gibt also die Häufigkeit wieder, mit der die Kerne mit ihrer Korrelationszeit τ_c fluktuierende Magnetfelder B_{lok} mit der Kreisfrequenz ω erzeugen. Für kugelförmige Moleküle kann die Näherung der Gl. (2-40) für die spektrale Dichtefunktion angenommen werden. Den quantitativen Zusammenhang zwischen der Korrelationszeit τ_c , der spektralen Dichtefunktion und den Relaxationskonstanten T_1 und T_2 beschreiben die Solomon-Bloembergen-Gleichungen²¹⁵.

$$\frac{1}{T_1} = \frac{6}{20} \cdot \frac{\hbar^2 \gamma^4}{r^6} \cdot \left[\frac{\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{4\tau_c}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right] \quad (2-41)$$

^{xliii} Die Korrelationszeit τ_c ist eine Funktion der Phase (Festkörper, Flüssigkeiten) und beschreibt die Zeit, in die Moleküle oder Molekülgruppen in beliebiger Richtung um den planaren Winkel von 1 Radiant rotieren ($1 \text{ rad} = 57,3^\circ$)²¹⁴.

$$\frac{1}{T_2} = \frac{3}{20} \cdot \frac{\hbar^2 \gamma^4}{r^6} \cdot \left[3\tau_c + \frac{5\tau_c}{1 + \omega_0^2 \tau_c^2} + \frac{2\tau_c}{1 + 4\omega_0^2 \tau_c^2} \right] \quad (2-42)$$

Der Term vor den Klammern ist ein Maß für die Stärke der dipolaren Wechselwirkung der Kerne, wobei eine starke umgekehrte Abhängigkeit zum Abstand der Kerne besteht. In den Klammern befinden sich die gewichteten Summen der spektralen Dichtefunktion $J(\omega)$ verschiedener Frequenzen.

Für Relaxationsprozesse gilt, dass, in Analogie zur Absorption, für die effizienteste Relaxation die Resonanzbedingung $\omega = \omega_0$ erfüllt sein muss. D.h. je höher der Anteil der Frequenzkomponenten des fluktuierenden Feldes B_{lok} in der Nähe der Larmorfrequenz ω_0 ist, desto mehr Übergänge in den energieärmeren Zustand finden pro Zeiteinheit statt, bis die Boltzmann-Verteilung des Gleichgewichtes wieder erreicht wird. Die spektralen Dichtefunktionen $J(\omega)$ sind in Abb. 12A exemplarisch für drei Substanzen mit verschiedenen τ_c abgebildet. Die Abb. 12B beschreibt die Zusammenhänge zwischen der Korrelationszeit τ_c , den Relaxationskonstanten T_1 und T_2 und der Feldstärke B_0 . Daraus geht hervor, dass die beiden Relaxationszeiten T_1 und T_2 substanz- und gewebespezifische Parameter sind. Sie bilden die Grundlage für den hervorragenden Weichgewebekontrast bei der Magnetresonanztomographie. Es gilt dabei stets, dass $T_1 > T_2$. Beide Relaxationsprozesse werden nachfolgend näher beschrieben.

Spin-Gitter-Relaxation (T_1 -Relaxation)

Als T_1 -Relaxation wird der Prozess des Rückkehrens der makroskopischen Magnetisierung des angeregten Zustandes $M_z \neq M_0$, $M_{xy} \neq 0$ in den Gleichgewichtszustand ($M_{xy} = 0$, $M_z = M_0$) verstanden (Abb. 13A). Der phänomenologische Term für die T_1 -Relaxation wurde bereits mit den Bloch-Gleichungen eingeführt (Gl. (2-25), S. 33). Die T_1 -Relaxation kann als Reaktion erster Ordnung beschrieben werden:

$$M_z(t) = M_{z,0} \left(1 - e^{-\frac{t}{T_1}} \right) \quad (2-43)$$

Als Relaxationszeit T_1 wird die Zeit angegeben, in der die Längsmagnetisierung M_z nach der Anregung mit einem 90° -Puls genau $(1 - 1/e)$, also rund 63% seiner Gleichgewichtsmagnetisierung M_0 zurück erreicht hat. Bis zur vollständigen Rückkehr zu M_0 verstreicht die fünffache T_1 -Zeit.

$$t_{M_0} = 5 \cdot T_1 \quad (2-44)$$

Wie im vorangegangenen Abschnitt beschrieben, übt die Korrelationszeit τ_c einen entscheidenden Einfluss auf T_1 aus. Übergänge in den niedrigenergetischen Zustand $N_{\alpha,(m=+1/2)}$ finden immer dann statt, wenn sich die Frequenz ω der oszillierenden Felder B_{lok} in der Nähe der Larmor-Frequenz ω_0 ^{xliii} befindet. Durch den Übergang in den niedrigenergetischen Zustand findet ein Energietransfer zwischen den Kernen und ihrer Umgebung, dem »Gitter«, statt.

Spin-Spin-Relaxation

Das Vorhandensein fluktuierender magnetischer Zusatzfelder B_{lok} trägt außerdem zum Prozess der Spin-Spin-Relaxation (auch *transversale Relaxation* genannt) bei. Wie im Grundlagenkapitel zur magnetischen Kernresonanz beschrieben, führt die Anregung des Spinsystems durch einen HF-Impuls zu einer messbaren makroskopischen Magnetisierung $M_{xy} \neq 0$. Zudem kommt es zur Phasenkohärenz. Im Hinblick auf die spektrale Dichteverteilung $J(\omega)$ wird die transversale Relaxation im Wesentlichen durch spektrale Komponenten mit geringer Frequenz (also quasistatische Frequenzanteile) und der Larmorfrequenz determiniert, da sich aus diesen Frequenzanteilen unkorrelierte Schwankungen ergeben. Die präzedierenden magnetischen Momente der Probe verlieren dadurch ihre Phasenkohärenz – die transversale Magnetisierung zerfällt ($M_{xy} \rightarrow 0$, vgl. Abb. 13B). Die schnell fluktuierenden Komponenten heben sich im zeitlichen Mittel

^{xliii} bzw. $2\omega_0$.

auf und leisten keinen Beitrag zur transversalen Relaxation. Da es hierbei zu keinen Übergängen zwischen den Energieniveaus kommt, bleibt der Betrag der Längsmagnetisierung M_z unbeeinflusst.

Die transversale Relaxation ist eine Reaktion erster Ordnung und wird mit einer abfallenden Exponentialfunktion beschrieben.

Die Zeitkonstante T_2 beschreibt dabei die Zeit, in der die Quermagnetisierung M_{xy} auf $(1/e)$, also auf rund 37% ihres ursprünglichen Wertes abgefallen ist.

$$M_{xy}(t) = M_{xy,0} e^{-\frac{t}{T_2}} \quad (2-45)$$

Wie bereits erläutert, trägt nur der Anteil der Quermagnetisierung M_{xy} zum Signal bei. Unter realen Bedingungen beeinflussen nicht nur die fluktuierenden lokalen Magnetfelder M_L die transversale Relaxation, sondern auch technisch bedingte räumliche Inhomogenitäten des statischen Grundfeldes B_0 sowie Suszeptibilitätsunterschiede^{xliv} an Grenzflächen. Die resultierende *effektive Relaxationszeit* T_2^* ist immer kleiner als die substanzspezifische Relaxationszeit T_2 , da sich beide Effekte überlagern^{xlv}. Die effektive Relaxationszeit T_2^* bestimmt die Linienbreite der Lorentz-Kurve (vgl. Gl. (2-38), S. 36).

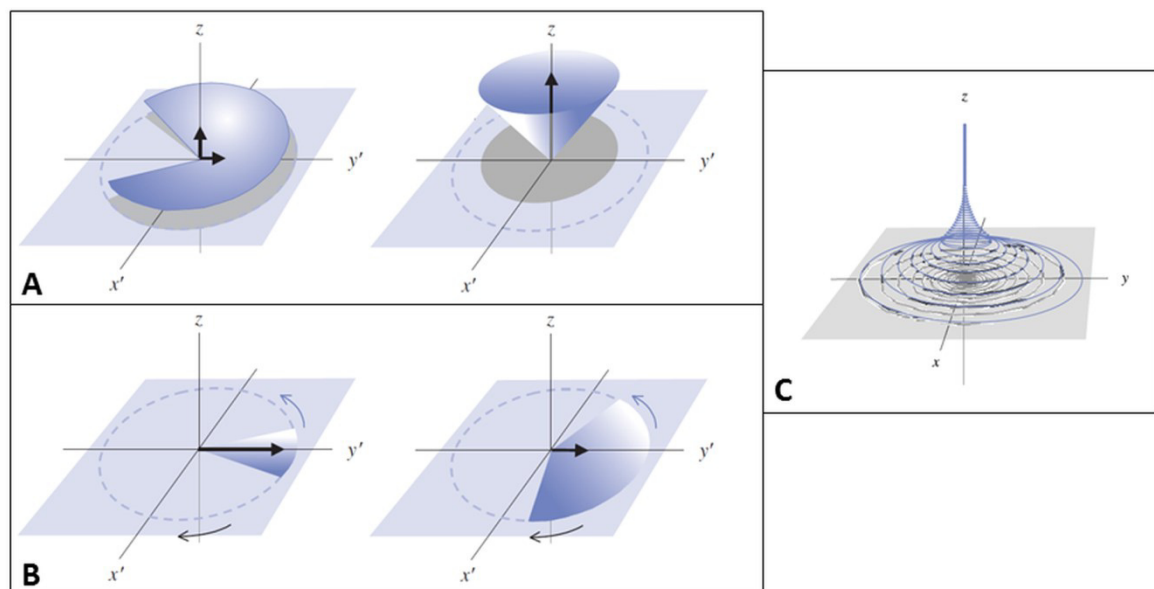


Abb. 13 (A) Bei Betrachtung des rotierenden Koordinatensystems erscheint die z-Komponente der makroskopischen Magnetisierung M_z im Laufe des Prozesses der T_1 -Relaxation wie ein sich schließender Schirm. (B) Aufgrund der T_2 -Relaxation kommt es zum Verlust der Phasenkohärenz der transversalen Komponenten. Die transversale Relaxation erfolgt deutlich schneller als die Longitudinale. (C) Betrachtung der Relaxationsprozesse vom ortsfesten Koordinatensystem. Die makroskopische Magnetisierung M bewegt sich schraubenlinienförmig in den Gleichgewichtszustand $M_z = M_0$ und $M_{xy} = 0$ zurück.

2.4.3.3. CHEMISCHE VERSCHIEBUNG

Die Larmor-Frequenz eines Kerns ist nach Gl. (2-15) proportional zum Magnetfeld \mathbf{B} am Ort des Kerns. Ist der Atomkern Bestandteil eines Moleküls, dann wird das äußere Magnetfeld \mathbf{B}_0 durch ein Zusatzfeld \mathbf{B}' abgeschwächt, welches sich durch die Wechselwirkung der elektronischen Umgebung des Kerns

^{xliv} Die magnetische Suszeptibilität χ ist eine materialabhängige Größe, die die Magnetisierbarkeit von Materie in einem externen Magnetfeld angibt. Der Wertebereich reicht von -1 bis unendlich. Siehe dazu auch Kap. 2.4.3.8, S. 57ff).

^{xlv} Der Einfluss technisch bedingter Inhomogenitäten des statischen Grundfeldes B_0 lässt sich durch die Wahl Spin-Echo-basierter Sequenzen (SE, CPMG) reduzieren (siehe S. 47).

ergibt. Das effektive Feld am Ort des jeweiligen Kernes B_{eff} ergibt sich dann in Analogie zu Gl. (2-15, S. 32) wie folgt:

$$B_{eff} = B_0 - B' = (1 - \sigma)B_0 \quad (2-46)$$

Die Resonanzbedingung lautet nun:

$$\omega = \gamma(1 - \sigma)B_0 = \gamma B_{eff} \quad (2-47)$$

Die Größe σ ist die *Abschirmkonstante* und liegt in der Größenordnung von 10^{-4} bis 10^{-6} . Die Verschiebung der Resonanzfrequenz wird in der NMR-Spektroskopie relativ zu einer Standardsubstanz (meist Tetramethylsilan, TMS) angegeben. Damit wird die Abschirmkonstante σ in die geräteunabhängige und dimensionslose *chemische Verschiebung* δ normiert und kann in ppm (parts per million = 10^{-6}) und Hz (dann als $\Delta\nu$) angegeben werden.

$$\delta = \frac{\omega - \omega_R}{\omega_0} \cdot 10^{-6} = (\sigma_R - \sigma) \cdot 10^{-6} \quad (2-48)$$

$$\delta[ppm] = \frac{\Delta\nu[Hz]}{\omega_0[MHz]} \quad (2-49)$$

In der NMR-Spektroskopie bildet die chemische Verschiebung der Kerne in den funktionellen Gruppen die Basis der Strukturaufklärung organischer Verbindungen. Aufgrund der großen Häufigkeit der Wasser- und Fettprotonen sind nur diese Komponenten bei der medizinischen MR-Bildgebung von Bedeutung. Die Differenz der chemischen Verschiebung zwischen Wasser und Fettprotonen (hauptsächlich die Methylen- gruppen) beträgt ca. 3,5 ppm und kann zu Artefakten führen (sog. »chemical shift artifacts«)^{xlvi}. Aufgrund der im Vergleich zum Wasser geringen Konzentration gelöster Komponenten (z.B. Stoffwechselmetabolite) spielen diese in der Bildgebung keine Rolle.

2.4.3.4. GRUNDLAGEN DER MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE

Um die Informationen der NMR-Signale für die tomographische Bildgebung nutzen zu können, müssen die Signale $S(t)$ ortsabhängig gemacht werden. Die »Verschlüsselung« des Herkunftsortes beruht auf der Tatsache, dass die Larmorfrequenz ω_0 proportional zur Magnetfeldstärke B_0 ist. Wird nun das homogene Grundfeld B_0 durch magnetische Zusatzfelder G mit einer definierten Ortsabhängigkeit überlagert, so wird die Larmorfrequenz des Kernresonanzsignals eine Funktion des Ortes. Liegt z.B. die Richtung des Gradienten gerade in x-Richtung, dann entspricht das

$$B(x) = B_0 + xG_x \quad (2-50)$$

Die Resonanzfrequenz wird folglich ortsabhängig mit

$$\omega(x, y, z) = \omega_0 + g_x x \quad (2-51)$$

wobei $\omega_0 = \gamma B_0$ und $g_x = \gamma G_x$ sind (Abb. 14B).

^{xlvi} Die »chemical shift artifacts« entstehen an Grenzflächen mit unterschiedlichem H₂O- und Fettanteil. Im MRT-Schnittbild erscheinen die Signale in Frequenzkodierichtung (vgl. S. 43) zueinander verschoben. Der Effekt lässt sich durch die Auswahl einer großen spektralen Breite SWH (vgl. Kap. 3.4.3) verringern²⁰⁸. Bei einer Anregungsfrequenz von 300,13 MHz (bei $B_0 = 7,05$ T) und einer Differenz der chemischen Verschiebung zwischen Fett und Wasser von 3,5 ppm muss mit mindestens 1051 Hz/Px gemessen werden (siehe Gl. (2-49), das entspricht einer spektralen Breite SWH von 200.000 Hz bei 512 Px in Frequenzkodierichtung), um den »chemical shift artefakt« zu vermeiden.

Für die tomographische Bildgebung werden folglich drei magnetische Gradientenfelder $x \cdot G_x$, $y \cdot G_y$ und $z \cdot G_z$ geschaltet, deren Feldstärke linear von der jeweiligen Ortskoordinate (x , y oder z) abhängt. Die Feldstärke der Gradientenfelder G muss größer sein als lokale Feldänderungen, sind aber im Vergleich zum statischen Feld B_0 schwach und werden in Millitesla pro Meter ($mT \cdot m^{-1}$) angegeben. Typische Werte^{xlvii} liegen zwischen 1 und 10 $m \cdot Tm^{-1}$. In der Magnetresonanztomographie dienen die Gradientenfelder für die selektive Anregung der Kernspins in einer definierten Schicht sowie für die Ortskodierung innerhalb des Messobjektes (Schicht oder Volumen). Alle drei Gradientenfelder können sowohl der Schichtselektion als auch der Ortskodierung dienen. Konventionell wird $x \cdot G_x$ als der Frequenzkodiergradient, $y \cdot G_y$ als der Phasenkodiergradient und $z \cdot G_z$ als Schichtselektionsgradient bezeichnet^{xlviii} (siehe nachfolgende drei Abschnitte).

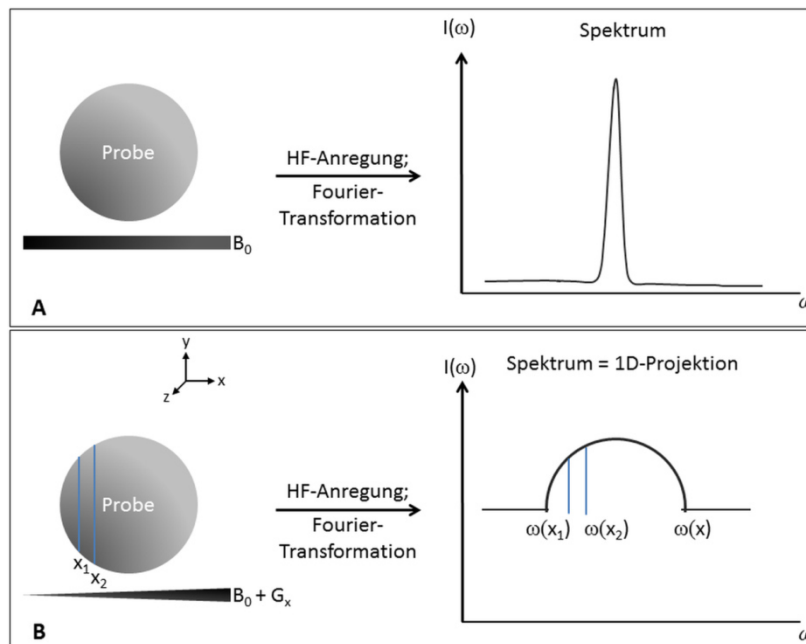


Abb. 14 (A) Typisches NMR-Experiment. Das statische Magnetfeld B_0 ist über die gesamte Probe homogen. Das resultierende Kernresonanzsignal entstammt aus der gesamten Probe und enthält keine räumliche Information. **(B)** Wird hingegen durch Überlagerung des B_0 -Feldes mit einem schwachen Zusatzfeld ein ansteigendes (und somit inhomogenes) statisches Feld erzeugt, ändern sich die korrespondierenden Larmorfrequenzen entlang der Feldrichtung (hier $B_0 + G_x$). Es resultiert eine eindimensionale Projektion der Spindichte des Objektes in Richtung des Gradienten; nach^{201,216}.

Schichtselektion

Durch eine schichtselektive Anregung wird das in der Empfangsspule induzierte MR-Signal auf zwei Dimensionen (die xy -Ebene mit der Schichtdicke Δz) reduziert. Die selektive Anregung einer definierten Schicht wird dadurch erreicht, dass dem homogenen Grundfeld B_0 ein Gradientenfeld (der Schichtauswahlgradient $z \cdot G_z$) senkrecht zur Schichtebene überlagert wird. Die Überlagerung führt zu variierenden Larmorfrequenzen entlang der Richtung des Gradienten. Die Auswahl der gewünschten Schicht wird dann über die entsprechende Verschiebung der Frequenz des selektiven HF-Pulses erreicht. Nur in der gewünschten Schicht, die durch ein bestimmtes Frequenzintervall Gl. (2-52) charakterisiert wird, ist die Resonanzbedingung erfüllt (Abb. 15). Die Position der Schicht und die Schichtdicke Δz werden mit der Bandbreite des (selektiven) HF-Pulses Δf (= Breite der Frequenzverteilung, in der die Resonanzbedingung erfüllt ist) und damit durch die Pulsdauer τ_p und der Gradientenstärke G_z festgelegt.

^{xlvii} Das für diese Arbeit genutzte Gradientensystem besitzt eine Feldstärke von maximal 1.0 Tm^{-1} .

^{xlviii} Die tatsächliche Richtung für Frequenz-, Phasen- und Schichtkodierung ist in MRT-Experimenten variabel wählbar.

$$\Delta f = f_1 - f_0 = \frac{1}{t_p} \quad (2-52)$$

$$\Delta z = \frac{2\pi}{\gamma} \cdot \frac{\Delta f}{G_z} = \frac{2\pi}{\gamma} \cdot \frac{1}{\tau_p G_z} \quad (2-53)$$

Nach den Gleichungen (2-52) und (2-53) können Position und Schichtdicke von Δz frei gewählt werden (Abb. 15). Es gilt, dass längere Pulse (und damit schmalere Bandbreiten) und höhere Gradientenstärken zu schmalen Schichten führen. Um ein rechteckiges Schichtprofil zu erreichen, ist eine Amplitudenmodulation des HF-Pulses entsprechend der Funktion $\sin(t)/t$ (sinc-Funktion) notwendig, da die Fourier-Transformierte allein dieser Funktion eine Rechteckfunktion darstellt. Dadurch werden die Spins im Inneren dieses Rechtecks (dieser Schicht) vollständig angeregt. In der Praxis kommen aber zahlreiche weitere Schichtprofile vor (z.B. in Form einer Gauss-Funktion, siehe dazu *Pohmann*²⁰⁴).

Nach der selektiven Anregung einer Schicht muss das Kernresonanzsignal der einzelnen Volumenelemente (*Voxel*) in diesem Teilvolumen räumlich kodiert werden. Die Ortskodierung erfolgt mit der *Frequenz- und Phasenkodierung* und wird nachfolgend erläutert.

Frequenzkodierung

Das Prinzip der Frequenzkodierung ist in Abb. 14B und in Abb. 16A skizziert. Das statische Grundfeld \mathbf{B}_0 wird während der Datenakquisition des FID's mit einem Gradientenfeld G_x (*Auslesegradient*, engl. *read direction*) überlagert, so ist die Resonanzbedingung nun eine Funktion des Ortes (Gl. (2-54):

$$\omega(x) = \frac{\gamma}{2\pi} \cdot (B_0 + xG_x) \quad (2-54)$$

Das bedeutet, dass alle Kerne in der Spalte senkrecht des Auslesegradienten das gleiche magnetische Feld spüren und somit alle die gleiche Resonanzfrequenz $\omega(x)$ besitzen. Die räumliche Information *in dieser Spalte* ist somit in Form der Resonanzfrequenz kodiert.

Das Signal in Gegenwart des Frequenzkodiergradienten ist eine Projektion der Spindichte $\rho(x)$ in Richtung des Gradienten, also die eindimensionale räumliche Verteilung der angeregten Kerne. Während der Frequenzkodierung wird das FID-Signal $S(t)$ in diskreten Schritten Δt (Abtastintervall, sog. »*dwell time*«) über einen begrenzten Zeitraum t_{AQ} abgetastet und digitalisiert (Abb. 16A). Für die Aufnahme der Daten aus einer Signalerfassung (eine Zeile, hier in x-Richtung) steht somit eine begrenzte Anzahl $M = t_{AQ}/\Delta t$ von Messwerten zur Verfügung. Das Signal eines infinitesimalen Volumenbereiches $\partial S(t)$ ist sowohl von der Spindichte $\rho(x)$ als auch von T_2^* abhängig¹⁹⁹:

$$\partial S(t) = \rho(x) \cdot e^{-\frac{t}{T_2^*}} \cdot e^{i\gamma x G_x t} dx \quad (2-55)$$

Die maximal erreichbare Ortsauflösung Δx in Frequenzkodierrichtung wird durch die Gradientenstärke G_x und T_2^* (also der Linienbreite $b_{1/2}$) determiniert^{213,217}:

$$\Delta x = \frac{2\pi \cdot b_{1/2}}{\gamma G_x} = \frac{2\pi}{\gamma G_x} \cdot \frac{1}{\pi T_2^*} = \frac{2}{\gamma G_x T_2^*} \quad (2-56)$$

Folglich wird die Ortsauflösung umso größer, je größer die Gradientenstärke in Frequenzkodierrichtung ist. Aufgrund von Suszeptibilitätseffekten, Feldinhomogenitäten und der chemischen Verschiebung wird die

theoretische Auflösung nicht erreicht. Deshalb muss die Gradientenstärke groß genug sein, um v.a. den Einfluss der chemischen Verschiebung aufzuheben^{xlix}.

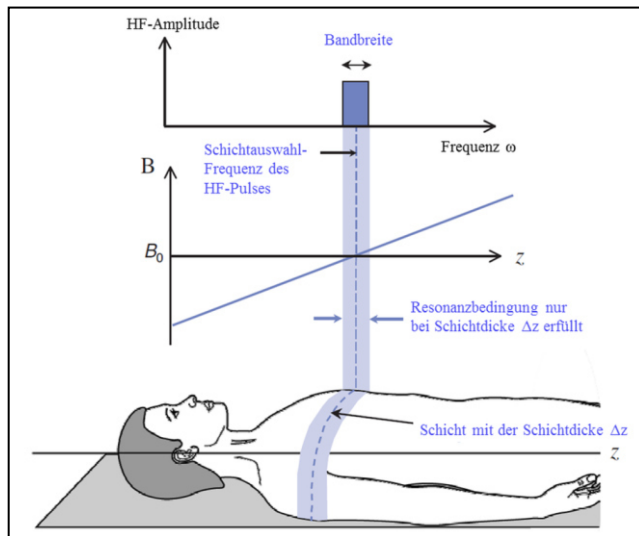


Abb. 15 Schichtselektion durch Einstrahlung eines HF-Pulses mit definierter Bandbreite und Frequenz. Die Resonanzbedingung ist nur in einer Schicht erfüllt; aus¹⁹⁹ modifiziert.

Phasenkodierung

Während mit der Schichtselektion die Ortsabhängigkeit in z-Richtung (Auswahl einer Schicht) und mit der Frequenzkodierung die Ortsabhängigkeit in x-Richtung (Auswahl einer Spalte in der definierten Schicht) beschrieben wird, wird mit der Phasenkodierung die Ortsabhängigkeit in y-Richtung (also einer Zeile in der ausgewählten Schicht) erreicht. Bei MR-Experimenten ist zum Zeitpunkt der Signalerfassung die Ortsinformation nicht nur, wie bereits beschrieben, über die Frequenz $\omega(x)$, sondern zusätzlich noch über den jeweiligen Phasenwinkel $\varphi_y(x)$ kodiert.

Für die Herstellung einer Ortsabhängigkeit des Phasenwinkels der transversalen Magnetisierung in der ausgewählten Schicht wird zwischen HF-Anregung und Signalerfassung ein Gradientenfeld einer Dauer von \mathcal{T} zugeschaltet und die Gradientenstärke im nächsten Phasenkodierschritt äquidistant um ΔG_y erhöht. Dadurch präzedieren die Spins an Position x zwar alle mit derselben Larmor-Frequenz (vgl. Gl. (2-54)), jedoch mit einem ortsabhängigen Phasenwinkel $\varphi_y(x)$ (vgl. Abb. 16B). Gl. (2-57) gibt die Phasenverschiebung für ein Voxel an der Position (x, y) an:

$$\Delta\varphi(t) = \omega_0 t + \gamma x G_x t + \gamma y G_y \mathcal{T} \quad (2-57)$$

Das phasenabhängige Signal für einen infinitesimalen Volumenbereich bei Anwendung beider Gradienten (xG_x und yG_y) erweitert sich nun zu (vgl. Gl. (2-62))¹⁹⁹:

$$\delta S(t) = \rho(x, y) \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \cdot e^{i\gamma x G_x t} \cdot e^{i\gamma y G_y \mathcal{T}} dx dy \quad (2-58)$$

Um den vollständigen Datensatz einer Schicht mit hinreichender Auflösung zu erfassen, muss das Signal M -mal mit dem Abtastintervall Δt aufgezeichnet werden und die Pulssequenz N -mal mit einer äquidistanten Phasenverschiebung wiederholt werden. Die maximal erreichbare Auflösung in Phasenkodierichtung ist nicht von der Linienbreite abhängig, wie beim Frequenzkodierschritt, sondern von der Höhe des Phasenkodierschrittes ΔG_y und seiner Schaltdauer \mathcal{T} .

^{xlix} Anderenfalls können Bildstörungen auftreten. Der sog. »chemical shift artifact« tritt an Grenzflächen zum Fettgewebe auf. Siehe dazu auch die Fußnote^{xlvi}, S. 42.

$$\Delta y = \frac{2\pi}{\gamma \Delta G_y N T} \tag{2-59}$$

Hinsichtlich der benötigten Zeit, um eine Spindichteprojektion in der jeweiligen Richtung (wie in Abb. 14B skizziert) zu erhalten, unterscheiden sich die Frequenz- und Phasenkodierung erheblich. Während bei der Frequenzkodierung nur ein Sequenzdurchgang erforderlich ist, muss die Sequenz für die Projektion in der Phasenrichtung N -mal wiederholt werden. Bei der Berechnung der benötigten gesamten Aufnahmezeit eines Schnittbildes ist die Anzahl der aufzuzeichnenden Phasenkodierschritte der geschwindigkeitsbestimmende Faktor.

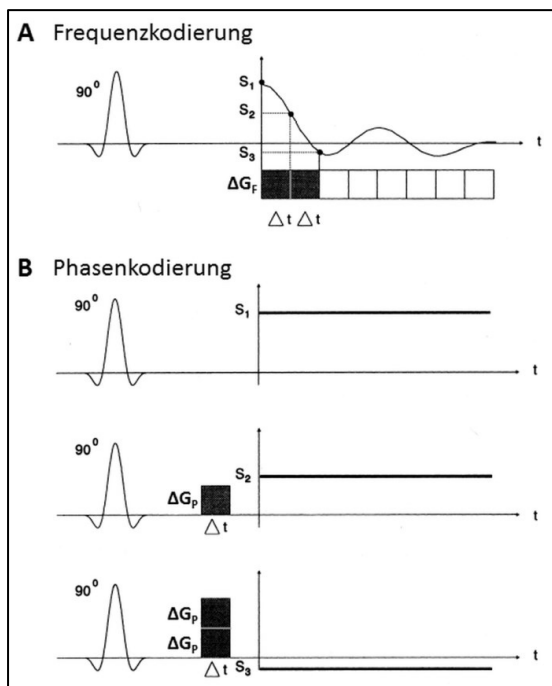


Abb. 16 Vergleich zwischen Frequenz- und Phasenkodierung. Prinzipiell beeinflusst die Quermagnetisierung aller Voxel im angeregten Volumen die Amplitude des Kernresonanzsignals. Die Ortsinformation ist in der jeweiligen Phasendifferenz kodiert, die sich unter dem Einfluss des Phasenkodiergradienten G_P bis zum Zeitpunkt der Signalerfassung ausgebildet hat. **(A)** Das Kernresonanzsignal wird bei der Frequenzkodierung in Anwesenheit eines konstanten Gradientenfeldes im äquidistanten Abtastintervall Δt (dwell time) aufgezeichnet. **(B)** Der Phasenkodiergradient G_P wird vor der Signalerfassung für eine feste Zeitdauer t_x eingeschaltet. Sein Betrag erhöht sich nach jedem Sequenzdurchgang äquidistant um den Betrag ΔG_P . Um den vollständigen Datensatz zu erfassen muss die Sequenz y -mal wiederholt werden; aus²⁰¹.

k-Raum (Rohdatenmatrix)

Die ortskodierten MR-Signale werden digital in einer Matrix, dem sog. *k-Raum* abgelegt. Dieser ist der Ortsfrequenz-Raum der Spindichteverteilung ρ und ist somit die Fourier-Transformierte des Schnittbildes (also der örtlichen Verteilung der Quermagnetisierung M_{xy}). Der Übergang von k-Raum zum Ortsraum erfolgt durch eine inverse Fourier-Transformation \mathcal{F}^{-1} . Definitionsgemäß sind:

$$k_x = \frac{\gamma}{2\pi} G_x \Delta t M \tag{2-60}$$

$$k_y = \frac{\gamma}{2\pi} \Delta G_y N T \tag{2-61}$$

Dabei bilden k_x und x , sowie k_y und y jeweils ein Fourier-Paar (wie zuvor die Zeit t und die Frequenz ω). Das gesamte Signal der xy -Ebene ergibt sich nach Anwendung des k-Raum-Formalismus zu¹⁹⁹:

$$S(M, N) = \int_{k_x} \int_{k_y} \rho(x, y) \cdot e^{-\frac{t}{T_2}} \cdot e^{i2\pi x k_x} \cdot e^{i2\pi y k_y} dx dy \tag{2-62}$$

Und damit folgt:

$$\rho(x, y) = \mathcal{F}^{-1}[S(k_x, k_y)] \quad (2-63)$$

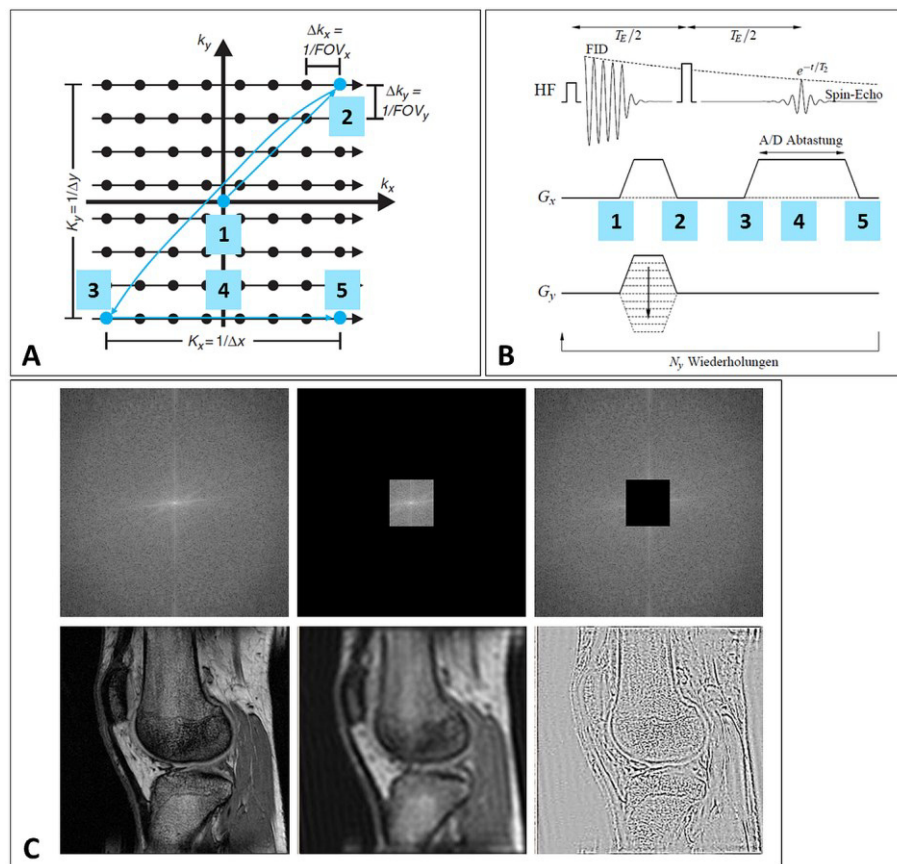


Abb. 17 (A) Die ortskodierten Kernresonanzsignale ergeben nach dem MRT-Experiment noch kein Schnittbild, sondern befinden sich in der zweidimensionalen Rohdatenmatrix, dem k -Raum. Dieser ist mit diskreten Ortsfrequenzen gefüllt. Die Intervalle in Frequenzrichtung Δk_x sind bei konventioneller k -Raum-Trajektorie äquidistant, ebenso die Intervalle in Phasenrichtung Δk_y . Die niedrigen Ortsfrequenzen befinden sich dabei im Zentrum und nehmen in ihrem Betrag radial zu den Rändern hin zu. Die k -Raum-Trajektorie für eine Spin-Echo-Sequenz ist blau markiert. (B) Vereinfachtes Schema einer Spin-Echo-Sequenz. Nach dem HF-Puls befindet man sich im Zentrum des k -Raumes (1). Der 180° -Puls (2) rephasiert die Magnetisierung (3) und führt zu einem Echo (4). Im k -Raum bewirkt dieser eine Spiegelung am Ursprung. Für eine Bildmatrix von $M_x \times N_y$ muss das Experiment N mal mit verschiedenen Phasenkodiergradientenstärken wiederholt werden. (C) Die Rekonstruktion des korrespondierenden Schnittbildes erfolgt durch die zweidimensionale inverse Fourier-Transformation. *Linke Spalte*: gesamter k -Raum und das zugehörige Schnittbild, eine Aufnahme des Kniegelenkes. *Mittlere Spalte*: mit einem Tiefpassfilter werden die hohen Frequenzen abgeschnitten. Das resultierende Schnittbild enthält die Kontrastinformationen, verliert aber die Details und erscheint »weichgezeichnet«. *Rechte Spalte*: mit einem Hochpassfilter werden alle niedrigen Frequenzen entfernt. Das resultierende Bild enthält zwar Detail- und Kanteninformationen, verliert aber seinen Kontrast, aus^{204,206,218}.

Während des MRT-Experimentes (Abb. 17B) wird der k -Raum durch die Aufnahme des Signals $S(t)$ und nachfolgender Analog-Digital-Wandlung gefüllt (abgetastet). Dabei können die einzelnen Punkte des k -Raumes unterschiedlich gefüllt werden (hierbei wird von k -Raum-Trajektorien gesprochen). Die klassische k -Raum-Trajektorie ist kartesisch und beginnt mit der Erfassung einer Fourier-Zeile N bei maximaler Phasenkodiergradientenamplitude in äquidistanten Schritten Δk_x . Die darauf folgenden Zeilen werden mit äquidistant verminderten Amplituden Δk_y akquiriert (Abb. 17A). Um eine Bildmatrix von $M_x \times N_y$ zu erhalten, müssen bei der beschriebenen linearen Trajektorie ebenso viele Punkte im k -Raum abgetastet werden. Der k -Raum ist in vier Quadranten unterteilt und hat im Zentrum die Frequenz $\omega = 0$, wobei die Frequenzen radial zu den Grenzen hin zunehmen. Abb. 17C (linke Spalte) stellt den k -Raum und das zugehörige Schnittbild nach der inversen FT dar.

Bei der konventionellen k-Raum-Trajektorie werden alle Punkte kartesisch akquiriert. Prinzipiell existieren zahlreiche Varianten, den k-Raum abzutasten. So kann, um schnellere Messungen zu ermöglichen, der k-Raum partiell abgetastet werden. Zudem sind weitere k-Raum-Trajektorien möglich (z.B. spiralförmige, quadratische oder radiale Verläufe)²¹⁹.

Jeder Punkt des k-Raumes enthält Informationen über das gesamte Schnittbild. Während die Koordinaten im Zentrum (niedrige Ortsfrequenzen) das Signal-Rausch-Verhältnis bestimmen und Kontrastinformationen enthalten (Abb. 17C, mittlere Spalte), sind in den höheren Ortsfrequenzen die Kanten- und Detailinformationen verschlüsselt (Abb. 17C, rechte Spalte).

2.4.3.5. DAS SPIN-ECHO-EXPERIMENT UND BILDKONTRAST

Prinzipiell wird in jedem MRT-Experiment das Kernresonanzsignal beobachtet, dass von der rotierenden Quermagnetisierung M_{xy} in der Empfangsspule induziert wird. Die Erzeugung eines messbaren Signals erfolgt durch eine definierte zeitliche Abfolge der HF-Pulse und Gradientenfelder, die durch die gewählte *Pulssequenz* vorgegeben ist. Es existiert eine große Anzahl an verschiedenen Pulssequenzen, die jedoch auf zwei Basis-Sequenzen beruhen: der Spin-Echo (SE)- oder der Gradienten-Echo (GRE)-Sequenz. Im Folgenden wird nur auf die *Spin-Echo (SE)-Sequenz* (Abb. 18) eingegangen, da diese die Grundlage aller MR-Experimente der vorliegenden Arbeit darstellt.

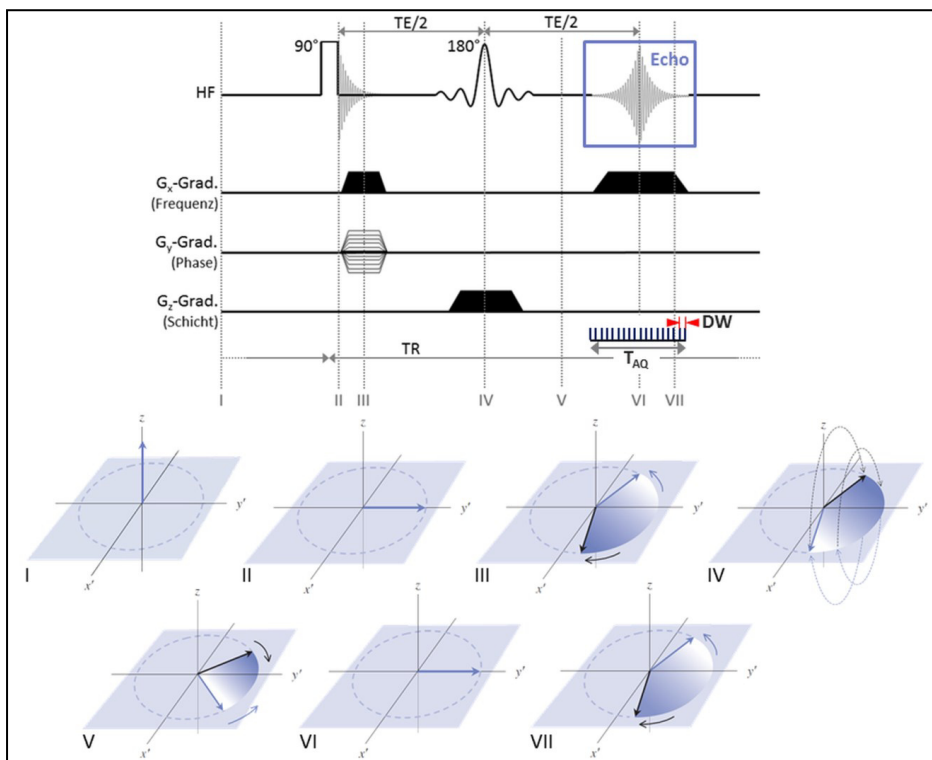


Abb. 18 Pulsschema einer klassischen Spin-Echo-Sequenz (*»imsesshs«*-Sequenz, aus Topspin 2.1, Bruker BioSpin, Rheinstetten, Deutschland). Die HF-Anregung erfolgt mit einem harten 90°-Puls; das Echo wird mit einem geformten 180°-Puls (hier: sinc-Form) erzeugt. Die Wirkung der Spin-Echo-Sequenz an verschiedenen Zeitpunkten der Sequenz auf die Magnetisierungskomponenten ist unter dem Pulsschema dargestellt (I – VII). (I) Gleichgewichtszustand, keine Magnetisierung in der xy-Ebene; (II) nach dem 90°-Puls, Ausbildung der transversalen Magnetisierung M_{xy} , Spinsystem in Phase; (III) Abklingen des FID durch Dephasierung mit T_2^* ; (IV) 180°-Puls bewirkt »Umkehr« des Spinsystems; (V) die schnellen Komponenten laufen nun den Langsamen hinterher; es kommt zunehmend zum Signalaufbau; (VI) zum Zeitpunkt der vollständigen Rephasierung der Magnetisierungskomponenten erreicht das Signal ein Maximum (= Spin-Echo); (VII) Zerfall der transversalen Magnetisierung M_{xy} . TE... Echozeit, TR... Wiederholzeit (= Zeit zwischen zwei 90°-Pulsen); T_{AQ} ... Dauer der Signalaquisition; DW... dwell time¹; nach^{199,220}.

¹ $DW = \Delta t = T_{AQ}/N_x = 1/SWH$ mit N_x ... Anzahl der Pixel in Lesekodierichtung und SWH ... spektrale Breite.

Spin-Echo-Sequenz

Die Spin-Echo-Sequenz ist eine klassische Methode für die MR-Bildgebung. Die Pulssequenz ist in Abb. 18 dargestellt und entspricht dem $\{90^\circ - \tau - 180^\circ - \tau - AQ\}$ -Schema. Die Anregung erfolgt mit einem 90° -HF-Puls. Aufgrund fluktuierender lokaler Magnetfelder und durch gerätetechnisch bedingte Magnetfeldinhomogenitäten des statischen Magnetfeldes B_0 kommt es rasch zu einer Auffächerung der Magnetisierungskomponenten in der xy -Ebene (= Dephasierung) und folglich zu einem Signalabfall mit der Zeitkonstante T_2^* (vgl. Relaxationsprozesse, S. 36ff). Die SE-Sequenz (nach *Erwin Hahn*, 1950) nutzt die Tatsache aus, dass die Dephasierung der Quermagnetisierung M_{xy} aufgrund zeitlich konstanter, technisch bedingter Magnetfeldinhomogenitäten reversibel ist, während die lokal fluktuierenden Magnetfelder einen irreversiblen Einfluss ausüben. Die Kompensation der statischen Magnetfeldinhomogenitäten wird durch das Einstrahlen eines 180° -Pulses nach der Zeit τ erreicht. Durch den 180° -Refokussierungspuls wird die Verteilung des Spinsystems invertiert. Das bedeutet, dass die schnelleren Komponenten den langsameren Spins hinterher laufen. Bis zur Zeit T_E (der Echozeit) kommt es zu einem erneuten Signalaufbau und bis schließlich ein Maximum erreicht, das *Spin-Echo*. Der 180° -Puls bewirkt somit die Rephasierung der Quermagnetisierung M_{xy} . Die Amplitude des Spin-Echos ist aufgrund der rephasierenden Wirkung des 180° -Pulses von den statischen Magnetfeldinhomogenitäten und Suszeptibilitätseffekten unabhängig.

Bildkontrast

Hängt der Bildkontrast bei der Computertomographie hauptsächlich von der Elektronendichte ab (vgl. Kap. 2.4.2, S. 26ff), so kann der Charakter des MR-Schnittbildes durch zahlreiche Einflussgrößen variiert werden. Dabei existiert eine starke Abhängigkeit von Kontrast, Rauschen und Auflösung. Der Kontrast wird dabei wie folgt definiert¹⁹⁹:

$$K = \frac{S_A - S_B}{S_A + S_B} \quad (2-64)$$

Hierbei sind S_A und S_B die Signalintensitäten zweier Gewebe. Diese sind dabei abhängig vom Rauschen. Der Kontrast eines MR-Schnittbildes wird somit einerseits durch die Wahl der Experimentalparameter (Wiederholzeit T_R ; Echozeit T_E ; Pulssequenz; Pixelgröße; Gradientenstärke G_x, G_y, G_z ; Grundfeld B_0 ; bei GRE-Sequenz Flipwinkel α) und andererseits durch die intrinsischen Gewebeeigenschaften (Protonendichte ρ ; Relaxationszeiten T_1 und T_2 ; chemische Verschiebung δ ; Feldhomogenität, die zur effektiven Relaxationszeit T_2^* führt; Fluss und Bewegung sowie durch Kontrastmittelaufnahme) beeinflusst²²¹.

So führt eine große Pixelgröße aufgrund der vergrößerten Protonendichte ρ zu einer höheren Signalintensität und eines geringeren Rauschens und so zu einem guten Kontrast. Mit großen Pixelgrößen muss allerdings eine Verringerung der Auflösung Δx und Δy in Kauf genommen werden. Nach Gleichung (2-56) ist die Auflösung Δx neben T_2^* von der Gradientenstärke G_x abhängig. Eine höhere Gradientenstärke G_x führt zu einer höheren Auflösung, einer höheren spektralen Breite SWH (siehe Fußnote¹ und Abb. 18) und kürzeren Echozeiten T_E , allerdings auch zu einem verschlechterten Signal-Rausch-Verhältnisⁱⁱ. Die gängigste Beeinflussung des Bildkontrastes erfolgt durch die Variation der Wiederholzeit T_R und der Echozeit T_E (Abb. 18 und Abb. 19). Die Abhängigkeit der Signalintensität S_{SE} eines Voxels von den Gewebe- und Sequenzparametern bei der Spin-Echo-Sequenz lässt sich näherungsweise wie folgt beschreiben¹⁹⁹:

$$S_{SE} = \rho \cdot \left(1 - e^{-\frac{T_R}{T_1}}\right) \cdot e^{-\frac{T_E}{T_2}} \quad (2-65)$$

Aus Gl. (2-65) lassen sich drei für den Bildkontrast unabhängige Faktoren bestimmen:

ⁱⁱ $R \approx \frac{\sqrt{SWH}}{\sqrt{NS \cdot N_x \cdot N_y}}$ mit N_x als Anzahl der Frequenzkodierschritte, N_y als Anzahl der Phasenkodierschritte, sowie NS als Anzahl der Wiederholungen der Sequenz.

- (I) ρ -ABHÄNGIGKEIT: Die Signalintensität ist direkt proportional zur »Protonendichte«. Wie bereits im Unterkapitel zu Relaxationsprozessen (S. 36ff) und aus Abb. 12 hervorgeht, tragen nur mobile Protonen zum detektierbaren Kernresonanzsignal bei. Das sind im Wesentlichen die Protonen des freien Wassers und die Methylenprotonen der Fettsäuren.
- (II) T_1 -ABHÄNGIGKEIT: Gl. (2-65) gibt den direkten Zusammenhang zwischen T_1 und T_R wieder. Die Auswahl der Wiederholzeit T_R bestimmt, wieviel Zeit den Magnetisierungs-komponenten M gegeben wird, um nach der vorangegangenen HF-Anregung zu relaxieren. Je länger T_R gewählt wird, desto mehr Längsmagnetisierung M_z steht für die nächste HF-Anregung zur Verfügung. Bei Auswahl kurzer T_R haben nur Gewebe mit kurzem T_1 genügend Zeit für die longitudinale Relaxation und geben nach einer erneuten Anregung ein starkes MR-Signal.
- (III) T_2 -ABHÄNGIGKEIT: Die Auswahl der Echozeit T_E , also der Zeitspanne, die zwischen Anregung bis zur Aufzeichnung des Kernresonanzsignals vergeht, steht nach Gl. (2-65) im direkten Zusammenhang zu T_2 . Der Signalverlust ist umso größer, je größer T_E wird. Das bedeutet, dass bewegliche Protonen, dadurch, dass deren FID langsam abfällt (und sie folglich ein langes T_2 besitzen) auch bei langen Echozeiten noch ein starkes Signal erzeugen. Im Gegensatz dazu fällt das Kernresonanzsignal bei stark gebundenen Protonen (z.B. im Knochen) sehr schnell ab. Ihr FID-Signal ist zum Zeitpunkt der Datenakquisition selbst bei kurzen Echozeiten schon auf null abgeklungen.

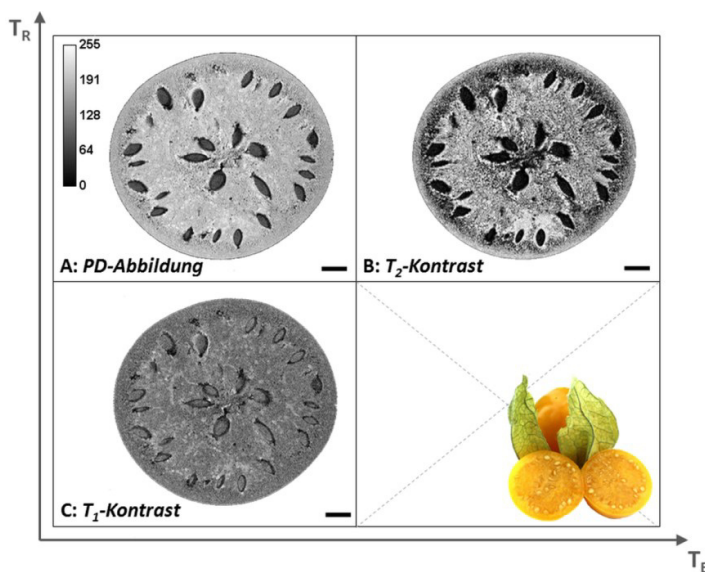


Abb. 19 Schnittbilder einer Physalis (eigene Messungen), Maßstabsbalken: 2 mm. **(A)** Protonendichte-Abbildung mit $T_R/T_E = 3000 \text{ ms}/4 \text{ ms}$. Je heller der Grauwert, desto höher die Anzahl angeregter Protonen. Die Kerne (dunkel) enthalten entweder nur eine geringe Anzahl an Protonen oder deren Protonen sind in ihrer Mobilität eingeschränkt. **(B)** T_2 -Wichtung mit $T_R/T_E = 5000 \text{ ms}/20 \text{ ms}$. Je heller der Grauwert, desto größer die Anzahl mobiler Protonen, hier: freies Wasser. Es wird deutlich, dass die Protonen im Zentrum mobiler sind, als die in der Schale gebundenen. **(C)** T_1 -Wichtung mit $T_R/T_E = 600 \text{ ms}/4 \text{ ms}$. T_1 -gewichtete Bilder eignen sich zur Identifikation von Fett, da dieses eine sehr kurzes T_1 besitzt (vgl. Tab. 6). Je heller der Grauwert im T_1 -gewichteten Bild, desto höher der Anteil an Fett. Erwartungsgemäß enthalten Physalis wenig Fett. Allerdings ist erkennbar, dass die Kerne zu einem gewissen Teil aus Fett bestehen. Foto der Physalis aus²²².

Die Variation der Aufnahmeparameter T_R und T_E wird als *Wichtung* bezeichnet. Wird die Wiederholzeit T_R kurz gewählt, so wird von T_1 -Wichtung gesprochen. Bei Auswahl einer langen Echozeit T_E werden T_2 -gewichtete Bilder erhalten. Unterschiede in der Protonendichte ρ werden durch lange Wiederholzeiten $T_R \gg T_1$ und kurze Echozeiten $T_E \ll T_2$ dargestellt. Der Einfluss verschiedener Wichtungen auf den Bildkontrast ist in Abb. 19 gegenübergestellt.

Aus den gewichteten Bildern können die Gewebeparameter T_1 und T_2 nicht quantitativ bestimmt werden. Sie geben aber qualitativ über die intrinsischen Kennzahlen ρ , T_1 und T_2 Auskunft, wobei die gewählten Sequenzparameter T_R und T_E bzw. die Wichtung für die Einschätzung bekannt sein müssen. Die quantitative Bestimmung der Relaxationszeiten zur Charakterisierung der Gewebe ist relativ aufwendig und erfolgt aus der Akquisition mehrerer Schnittbilder mit variierenden Aufnahmeparametern.

Die Bestimmung von T_1 kann mit der *Inversion-Recovery-Sequenz*^{lii} erfolgen. Dabei handelt es sich im Prinzip um eine SE-Sequenz mit einem vorgeschaltetem 180° -Puls. T_2 wird in der Regel mit der *Carr-Purcell-Meiboom-Gill-(CPMG-)Sequenz* bestimmt. Hier werden nach dem 90° -Puls mehrere 180° -Pulse geschaltet, wobei die Amplitude des FID exponentiell entsprechend T_2^* abklingt²²³. Die T_1 - und T_2 -Werte ausgewählter Gewebe bei 1,5 T und 3,0 T sind in Tab. 6 aufgeführt.

Tab. 6 T_1 - und T_2 -Werte ausgewählter Gewebe bei 1,5 T und 3,0 T. Während T_1 mit ansteigendem statischen Feld B_0 zunimmt, führt ein wachsendes Grundfeld bei T_2 in der Regel zu abnehmenden Werten, aus^{208,223,224}.

	1,5 T	3,0 T	1,5 T	3,0 T
	T_1 [ms]	T_1 [ms]	T_2 [ms]	T_2 [ms]
Skelettmuskel	1130 ± 92	1420 ± 38	35 ± 4	32 ± 2
Herzmuskel	1030 ± 34	1471 ± 31	40 ± 6	47 ± 11
Knorpel	1060 ± 155	1240 ± 107	42 ± 7	37 ± 4
Fettgewebe, subkutan	288 ± 8	371 ± 8	165 ± 6	133 ± 4
Fettgewebe, Knochenmark	288 ± 5	365 ± 9	165 ± 5	133 ± 6
Blut	1441 ± 120	1932 ± 85	290 ± 30	275 ± 50
Synovialflüssigkeit ^{liii}	2850 ± 279	3620 ± 320	1210 ± 140	767 ± 50
Liquor	> 4000		> 2000	

2.4.3.6. MR-BILDGEBUNG UND KNOCHEN

Obwohl im Knochen 10-15 % Wasser enthalten ist, kann mit konventionellen MR-Sequenzen kein Kernresonanzsignal detektiert werden²³³. Wie in Kap. 2.1.1 diskutiert, kommt Wasser im Knochen an verschiedenen Orten und mit unterschiedlichen Bindungsstärken vor.

Dass an die anorganischen Mineralpartikel gebundene Wasser (mit etwa 35 mg H₂O/g Mineral) weist die geringste Mobilität (und damit ein sehr kurzes T_2) auf und erzeugt kein mit der MRT detektierbares Kernresonanzsignal³⁷.

Der größte Anteil des Wassers ist an Collagen gebunden. Darauf weisen die Ergebnisse für T_1 hin, welches mit 140 ms bis 260 ms bei 1,5 T bzw. mit 400 ms bei 3 T deutlich niedrigere Werte aufweist, als freies Wasser (vgl. Tab. 6, S. 49). Eine derartig kurzes T_1 ist Indikator für eine effektive longitudinale Relaxation des an Collagen gebundenen Wassers²³⁴.

Die Fraktion mit der höchsten Mobilität stellt das H₂O dar, welches sich in den Poren der mineralisierten Matrix befindet, den Havers'schen Kanälen und dem lakuno-kanalikulären Netzwerk, wo es eine essentielle Rolle als Medium für den Ionen- und Nährstofftransport und für die Weiterleitung mechanischer Belastungen spielt. Die Beweglichkeit der Wassermoleküle hängt hier im Wesentlichen vom Abstand zur

^{lii} Weitere Methode: Saturation-Recovery-Sequenz.

^{liii} Synovialflüssigkeit = »Gelenkschmiere«, viskose Flüssigkeit in echten Gelenken

Porenwand ab und ist insbesondere im lakuno-kanalikulären System mit Porendurchmessern von weniger als 1 μm eingeschränkt.

Die transversale Relaxation geht umso schneller vonstatten (damit wird T_2 kleiner), je größer das Oberflächen-Volumen-Verhältnis (folglich umso kleiner die Poren) sind, da dies zu verstärkten Wechselwirkungen des Wassers mit der Oberfläche führt³⁷. Die Bestimmung von T_2 des H_2O -Anteils im Knochen zeigt mehrere Komponenten (und damit Bindungszustände), die Werte von rund 60 μs bis zu einigen hundert Millisekunden annehmen²³⁴. Der durchschnittliche Wert bewegt sich allerdings im Bereich von 250-500 μs . Diese Werte sind zu kurz, um mit den konventionellen Methoden der MRT detektiert zu werden, da bei Beginn der Datenakquisition das FID bereits vollständig zerfallen ist¹⁷.

Für die Detektion von Geweben mit extrem kurzen T_2 wurden in den letzten Jahren spezielle Bildgebungssequenzen entwickelt. Diese nutzen halbe HF-Pulse oder füllen den k-Raum radial^{liv} und beginnen schon wenige μs nach der HF-Anregung mit der Signalaufnahme²³³. Die bisher am besten untersuchten Methoden sind »Ultra Short Echo time« (UTE), »Zero Echo time« (ZTE) und »Sweep Imaging with Fourier Transform« (SWIFT). Mit diesen Methoden können Gewebe mit sehr kurzem T_2 wie Knochen, aber auch Dentin direkt abgebildet werden²³⁵⁻²³⁷.

Eine interessante Möglichkeit zur direkten Bildgebung von Knochen und Zähnen stellten *Wu et al.* vor. Diese detektierten den Phosphat-Anteil des Knochens bzw. der Zähne direkt über ^{31}P -MRT-Bildgebung^{238,239}.

Die Collagen-Komponente des Knochens könnte zusätzlich anhand der Festkörper-NMR-Bildgebung (mit ^{13}C MAS imaging) detektiert werden. *Scheler et al.* demonstrierten das Prinzip der Festkörper-NMR-Bildgebung an Polyethylen²⁴⁰ und ^{13}C -markiertem Glycin²⁴¹.

Da es sich bei den speziellen, für Materialien mit kurzen T_2 -Zeiten entwickelten Sequenzen nicht um Standardmethoden handelt, sind diese aktuell nicht breit verfügbar. Der Fokus der vorliegenden Arbeit lag deshalb auf der Nutzung konventioneller Techniken.

2.4.3.7. MRT ZUR EVALUATION DER KNÖCHERNEN EINHEILUNG

Zur Untersuchung von Knochen und der ossären Integration von Biomaterialien werden überwiegend histologische oder röntgen-basierte Methoden genutzt. Hauptgrund ist im Wesentlichen, dass eine direkte Abbildung des Knochens mit konventionellen MRT-Techniken nicht möglich ist. Aufgrund des destruktiven Charakters histologischer Methoden und der damit verbundenen Nachteile (vgl. Kap. 2.4.1, S. 23ff) ist die Suche nach alternativen bildgebenden Methoden zur Untersuchung der knöchernen Einheilung ein Schwerpunktthema der Biomaterialforschung^{10,11,13}.

Angesichts des exzellenten Weichgewebskontrastes und der zahlreichen Möglichkeiten, diesen zu variieren und so zur Differenzierung verschiedener Gewebe zu nutzen, können mit der MRT nicht-invasiv und ohne Nutzung ionisierender Strahlung sehr wertvolle Informationen gewonnen werden, die den Röntgen-basierten Techniken schwer zugänglich sind.

Zunächst ist es prinzipiell möglich, knöcherne Strukturen indirekt, also über das umgebende Weichgewebe und enthaltene Knochenmark abzubilden^{23,233,242}. Zudem lassen sich entzündliche Prozesse, Ödeme und Knochenzysten mit T_2 -gewichteten Bildern identifizieren^{243,244}. Für die Darstellung von Knochenmark eignen sich T_1 -gewichtete Bilder, die zudem die Abbildung trabekulärer Strukturen ermöglichen²⁴². Veränderungen der Signalintensitäten der T_1 -gewichteten Bilder des Knochenmarks deuten auf pathologische Geschehen hin. Ödeme oder Myelofibrosen^{lv} zum Beispiel äußern sich hier in reduzierten Signalintensitäten¹⁵.

^{liv}Die konventionellen Sequenzen, wie SE und GRE, füllen den k-Raum kartesisch, also zeilenweise. Bei radialer k-Raum-Trajektorie liegen die Messdaten auf Geraden durch den Ursprung und werden entweder mit dem Projektions-Rekonstruktions-Verfahren (bekannt aus CT, auch als Rückprojektion bezeichnet) oder mit einem »gridding« der Daten in ein kartesisches Koordinatensystem und nachfolgender klassischer 2D-FT zum Schnittbild rekonstruiert²¹⁹.

^{lv}Bei der Myelofibrose wird das rote (blutbildende) Knochenmark zunehmend durch Bindegewebe ersetzt. Ein geringerer Fettanteil führt zu einem längeren T_1 , was zu einer geringeren Signalintensität in T_1 -gewichteten Bildern führt.

Insbesondere für die Untersuchung tissue-engineerter Konstrukte werden zunehmend MRT-Studien veröffentlicht. *Potter et al.* nutzten unter anderem MRT-Parameterbilder^{lvi} (insbesondere T_2 -, Fett- und ρ -Bilder) um tissue-engineerte Fingergelenke zu untersuchen und zwischen neugebildetem Knochen, Fettgewebe und dem Biomaterial zu unterscheiden²⁴⁵. *Kempe et al.* analysierten am Maus-Modell die Bildung von injizierbaren PLGA-Implantaten mit einer SE-Sequenz *in situ* und demonstrierten ferner die Möglichkeit zum Monitoring biodegradierbarer Implantate aus PLGA/PEG über einen Zeitraum von 49 Tagen²⁴⁶. Mehrere Autorengruppen konnten zudem die Neubildung mineralisierter Matrix *in vitro* zeigen. *Hong et al.* analysierten überdies die Entwicklung der Gewebe mit zunehmenden Mineralisierungsgrad anhand T_1 und T_2 ^{18,247,248}. Wie zu erwarten, nimmt die Mobilität der freien H_2O -Moleküle auf den Konstrukten mit zunehmenden Mineralisierungsgrad ab, erkennbar sowohl in abnehmenden T_1 - als auch T_2 -Werten.

In der zahnmedizinischen Forschung spielt die MRT bisher praktisch keine Rolle. Die überwiegende Anzahl der präklinischen Studien wird mit histologischen Techniken ausgewertet¹². Hintergründe sind die fehlende direkte Darstellbarkeit knöcherner Strukturen anhand konventioneller Methoden, die lange Etablierung Röntgen-basierter Techniken in der Zahnmedizin, Störungen der Bildqualität bei Metallen (siehe dazu nachfolgendes Kap. 2.4.3.8), als auch die vergleichsweise hohen Kosten der MR-Bildgebung.

Es wurden bisher zwar einige Arbeiten publiziert, die die MR-Bildgebung an Zähnen oder des Zahnhalteapparates an sich demonstrieren^{236,249–253}. Allerdings wurde bisher nur eine Arbeit veröffentlicht, in der die MRT in Bezug auf Dentalimplantate verwendet wurde.

So verglichen *Duttenhoefer et al.* die Bildqualität von MRT- und CT-Bildern bei der Darstellung von Titan- und Zirkon-Implantaten *in vitro*²⁵⁴. Sie demonstrierten, dass eine (indirekte) Darstellung des Zahnimplantates aus Zirkonoxid im Kiefer auch mit einer konventionellen (Turbo-Spin-Echo-)Sequenz möglich ist. Zudem wurde die Ausprägung der durch die Titanimplantate hervorgerufenen Bildstörungen (*Metal-artefakte*) quantifiziert. Die Ursachen und Ausprägungen metallinduzierter Bildartefakte werden im nachfolgenden Kapitel erläutert.

2.4.3.8. WECHSELWIRKUNGEN VON METALLEN BEI MR-EXPERIMENTEN

Problematik materialinduzierter Wechselwirkungen bei der medizinischen Bildgebung

Metallische Materialien verursachen sowohl in der Magnetresonanztomographie als auch in der Computertomographie mitunter erhebliche Störungen der Bildqualität (sog. *Artefakte*). Diese können so stark ausgeprägt sein, dass sie die Diagnostik unmöglich machen²⁵⁵. Zudem kann es zu lokaler Erwärmung des Metallimplantates kommen²⁵⁶. Kritisch ist außerdem, dass ferromagnetische Objekte in das statische Magnetfeld B_0 hineingezogen werden (der sog. Projektil-Effekt). Durch die enorme Anziehungskraft kommen Personen, die sich innerhalb der Flugbahn des Objektes befinden, ernsthaft zu Schaden. So berichtet das »Emergency Care Research Institute (ECRI)« von einem tödlichen Unfall, der sich durch eine umherfliegende Sauerstoff-Flasche ereignete²⁵⁷. Bei Patienten mit ferromagnetischen Implantaten kann es, durch die vom statischen Magnetfeld B_0 induzierten Kräfte, zum Verlust der Implantate kommen²⁵⁸. Die Problematik metallischer Materialien bei MRT-Untersuchungen ist für zahlreiche Materialien und Implantate dokumentiert (Tab. 7).

^{lvi} Parameterbilder werden aus einer Serie einzelner Schnittbilder gewonnen. Der gewünschte Parameter, z.B. die T_2 -Relaxationszeit, wird anschließend Pixel für Pixel berechnet und im Parameterbild dargestellt. Anders als bei gewichteten Schnittbildern kann die Kennzahl so direkt aus der Abbildung entnommen werden. Diese Methode erlaubt detaillierte Rückschlüsse auf den Vorgang der Einheilung, ist aber sehr zeitaufwändig und daher kaum für *in vivo*-Studien geeignet.

Tab. 7 Metallinduzierte Artefakte sind, aufgrund der vielfältigen Nutzung metallischer Implantate, ein häufiges Problem bei der medizinischen Bildgebung. Die Tabelle gibt einen Überblick über dokumentierte Metallartefakte und Wechselwirkungen (Auswahl).

Metallinduzierte Artefakte durch	Publikationen
▶ Zahnimplantate, Stegprothesen, Brackets	<i>Duttenhoefer et al.</i> ²⁵⁴ , <i>Eggers et al.</i> ²⁵⁹
▶ metallische Zahnfüllungen und Kronen	<i>Sinkiewicz</i> ²⁵⁸ , <i>Klinke et al.</i> ²⁵⁵ , <i>Costa et al.</i> ²⁶⁰ , <i>Tymofiyeva et al.</i> ²⁵¹
▶ orthopädische Implantate ^{lvii}	<i>Ganapathi et al.</i> ²⁶¹ , <i>Zou et al.</i> ²⁶²
▶ Stents	<i>Bartels et al.</i> ²⁶³ , <i>Reinhardt et al.</i> ²⁶⁴
▶ Aneurysma-Clips	<i>Burtscher et al.</i> ²⁶⁵ , <i>Lauer et al.</i> ²⁶⁶
▶ Herzschrittmacher & Kardioverter-Defibrillatoren	<i>van der Graaf et al.</i> ²⁶⁷ , <i>Gold et al.</i> ²⁶⁸
▶ Cochlea-Implantate ^{lviii}	<i>Kim et al.</i> ²⁶⁹
▶ (permanente) Kosmetika und Tattoos	<i>Tope & Shellock</i> ²⁷⁰ , <i>Escher & Shellock</i> ²⁷¹

Ursachen metallinduzierter Artefakte in der MRT

Die Ursachen metallinduzierter Artefakte unterscheiden sich grundlegend für MRT und CT. Nachfolgend soll die Artefaktenstehung für die MRT erläutert werden. Bildstörungen während CT-Experimenten und deren Hintergründe sind ausführlich in den Veröffentlichungen von *Pauwels et al.*¹⁹⁶ und *Boas & Fleischmann*¹⁹⁷ beschrieben.

Die Entstehung metallinduzierter Artefakte in der MRT ist grundsätzlich von zwei Faktoren abhängig: der *magnetischen Suszeptibilität* des Materials und seiner *elektrischen Leitfähigkeit*.

Die magnetische Suszeptibilität χ ist eine dimensionslose Materialkonstante, die den Grad der Magnetisierung eines Materials in Gegenwart eines externen Magnetfeldes angibt. Die magnetische Suszeptibilität pro Volumeneinheit X ist als das Verhältnis der Magnetisierung M zur Feldstärke H definiert:

$$\chi = \frac{M}{H} \quad (2-66)$$

Materialien mit negativer magnetischer Suszeptibilität χ sind diamagnetisch, ist χ positiv, so ist die Substanz paramagnetisch. Die Kenntnis darüber ist in der Magnetresonanztomographie essentiell. Biologisches Gewebe ist diamagnetisch mit einer magnetischen Suszeptibilität im Bereich von $\chi = (-7,0 \text{ bis } -11,0) \cdot 10^{-6}$. Da metallische Implantatmaterialien magnetische Suszeptibilitäten von $(+100 < \chi_{\text{Metall}} < +6700) \cdot 10^{-6}$ aufweisen, kommt es zu einer Störung des statischen Magnetfeldes B_0 an der Gewebe-Implantat-Grenzfläche. Es resultieren Feldinhomogenitäten, deren Stärke, Ausdehnung und Lage von der Form des Implantates und seiner Ausrichtung im B_0 -Feld, aber auch von der verwendeten Pulssequenz abhängig sind^{19,90}. Die Homogenität des statischen Feldes B_0 beeinflusst die Verteilung der Larmorfrequenzen ω_0 (vgl. Kap. 2.4.3.1, S. 29ff). Kommt es zu Magnetfeldinhomogenitäten, präzedieren die Spins innerhalb der Voxel an der Grenzfläche von biologischem Gewebe zu Implantat mit unterschiedlichen Larmorfrequenzen, was zu einer schnelleren Dephasierung und kürzeren T_2^* führt. Suszeptibilitätseffekte sind proportional zu B_0 und kommen daher bei höheren Grundfeldern stärker zum Tragen. Insbesondere bei Gradienten-Echo-Sequenzen treten infolge von Suszeptibilitätsunterschieden Signalverluste auf. Spin-Echo-

^{lvii} im Wesentlichen Schrauben, Platten, Nägel zur Frakturfixierung; Hüftprothesen, Schulterprothesen, Wirbelsäulenimplantate.

^{lviii} implantierte Hörprothese.

Sequenzen sind aufgrund des 180°-Refokussierungspulses gegenüber Magnetfeldinhomogenitäten stabiler^{19,272,273}. Signalverluste können aber insbesondere bei langen Echo-Zeiten auch hier auftreten²⁷⁴.

Zusätzlich werden die Gradientenfelder G mit dem verzerrten statischen Grundfeld B_0 überlagert, woraus sich, aufgrund der gestörten Linearität, Fehler bei der Ortskodierung ergeben. Diese werden bei der FT in das Schnittbild übertragen. Im Falle der Schichtselektion führt das veränderte Gesamtfeld bei HF-Anregung zu veränderten Schichtdicken und verschobenen Schichtlagen. Die Überlagerung des verzerrten Grundfeldes mit dem Lesegradienten führt zu typischen Bildartefakten. In Bereichen eines lokal zu flachen Gradienten wird das Signal hyperintens dargestellt und der Objektbereich verkleinert. Bereiche mit Gradientenüberhöhung erscheinen intensitätsarm und vergrößert. Die Phasenkodierung bleibt unbeeinflusst, da die Grundfeldinhomogenität alle Gradientenstufen gleichermaßen überlagert, und nur die relative Phase zwischen zwei k -Raum-Zeilen entscheidend ist^{19,273}.

Bei leitfähigen, paramagnetischen Materialien werden die Suszeptibilitätsartefakte darüber hinaus durch HF-induzierte Artefakte überlagert. Das hochfrequente B_1 -Feld erzeugt nach dem Faraday'schen Induktionsgesetz eine Spannung und damit Ströme in leitfähigen Materialien wie metallischen Implantaten. Im Falle von flächigen oder räumlichen Objekten werden so Ringströme erzeugt, die als Wirbelströme bezeichnet werden²⁷⁵.

Aufgrund des Skin-Effektes^{lix} fließen die Wirbelströme nur an der Oberfläche der Metallobjekte²⁷⁷. Nach der Lenz'schen Regel sind die induzierten Wirbelströme so gerichtet, dass sie dem angelegtem B_1 -Feld entgegenwirken: $B_{1,ind} = -B_1$ (Abb. 20A).

Dieser HF-Effekt ist frequenzabhängig, d.h. je höher die Larmorfrequenz ω_0 (und damit je größer das statische Feld B_0), desto stärker ist der induzierte Strom I_{Eddy} . Zudem ist I_{Eddy} mit der elektrischen Leitfähigkeit σ des Materials zunehmend. Nahe der Wirbelströme dominiert das entgegengesetzte Magnetfeld $B_{1,ind}$ die Charakteristik des HF-Feldes. In einer sich anschließenden Übergangszone nimmt der Einfluss von $B_{1,ind}$ allmählich ab. Das Ausmaß der vom HF-induzierten Wirbelstrom beeinflussten Fläche ist wiederum von der Stromstärke und somit von der Leitfähigkeit des Materials und der Frequenz des HF-Feldes abhängig²⁷⁸. Da HF-induzierte Wirbelströme die Homogenität des applizierten B_1 -Feldes verändern, sind verringerte oder erhöhte Amplituden des HF-Feldes die Folge, die wiederum in veränderten Flip-Winkeln resultieren²⁸¹. Die HF-Wechselwirkung ist dann im MR-Schnittbild als drastische Bildstörung sichtbar. HF-Artefakte sind als großflächige Signalauslöschungen erkennbar. Zusätzlich treten an den Kanten der metallischen Objekte häufig Bereiche mit erhöhter Signalintensität auf (Abb. 20B). Die Ausprägung ist unabhängig von der Richtung der Frequenz- und Phasenkodierung, wird jedoch von der Form des Objektes und seiner Ausrichtung zum statischen Feld B_0 beeinflusst^{266,282}.

Im Falle von Ringstrukturen (z.B. Stents, Aneurysma-Clips) führen induzierte Ringströme zu einer Abschirmung des umschlossenen Bereichs, da im Inneren der Ringstrukturen ebenso $B_{1,ind} = -B_1$ gilt. Dieser Effekt ist besonders groß, wenn die Objekte senkrecht zu B_0 und parallel zu B_1 orientiert sind²⁸². Zusätzlich werden Bereiche im Inneren von Ringstrukturen nur mit verminderten Kippwinkeln α angeregt. Dadurch ergibt sich eine verringerte Signalintensität in der metallisch umschlossenen Querschnittsfläche, während das Signal nahe der Ringoberfläche verstärkt wird. Sind allerdings die Bedingungen für eine HF-Resonanz erfüllt, können metallische Ringstrukturen induktiv koppeln, was zu einer Kippwinkel- und Signalverstärkung für den Innenbereich und so zu einer verbesserten Darstellbarkeit führt^{19,283}.

Wirbelströme in metallischen Implantaten können außerdem durch das schnelle An- und Ausschalten der Gradientenfelder erzeugt werden, die ebenfalls die obig beschriebenen Artefakte erzeugen können. Diese induzierten Ströme nehmen grundsätzlich mit der Steilheit der Gradienten und deren Anstiegsgeschwindigkeit (engl. »slew rate«), sowie der elektrischen Leitfähigkeit des Materials zu und fallen umso langsamer ab, je leitfähiger das Material ist. Artefakte durch zeitlich variierende Gradientenfelder entstehen

^{lix} Der Skin-Effekt bewirkt eine Stromverdrängung in von höherfrequentem Wechselstrom durchflossenen elektrischen Leitern. Durch diesen ist die Stromdichte im Inneren eines Leiters geringer als in den äußeren Bereichen. Hintergrund ist, dass sich um einen von Wechselstrom durchflossenen Leiter ein Magnetfeld bildet. Dieses induziert im Inneren des Leiters Wirbelströme, die dem Erzeugerstrom entgegengesetzt sind. Das Resultat ist, dass der Strom hauptsächlich an der Oberfläche des Leiters fließt. Die Eindringtiefe des Stromes ist von Frequenz, Permeabilität und elektrischer Leitfähigkeit abhängig²⁷⁶.

zudem eher in größeren Objekten (wie Hüftprothesen) als in kleinen Metallimplantaten (wie Aneurysma-Clips). Eine theoretische Vorhersage der Artefaktgrößen durch HF-Anregung, Gradientenschaltung und Suszeptibilitätseffekte ist aufgrund der Komplexität der sich überlagernden Einflussgrößen (Materialeigenschaften, Messparameter, Position im Spektrometer) schwer möglich²⁸⁰.

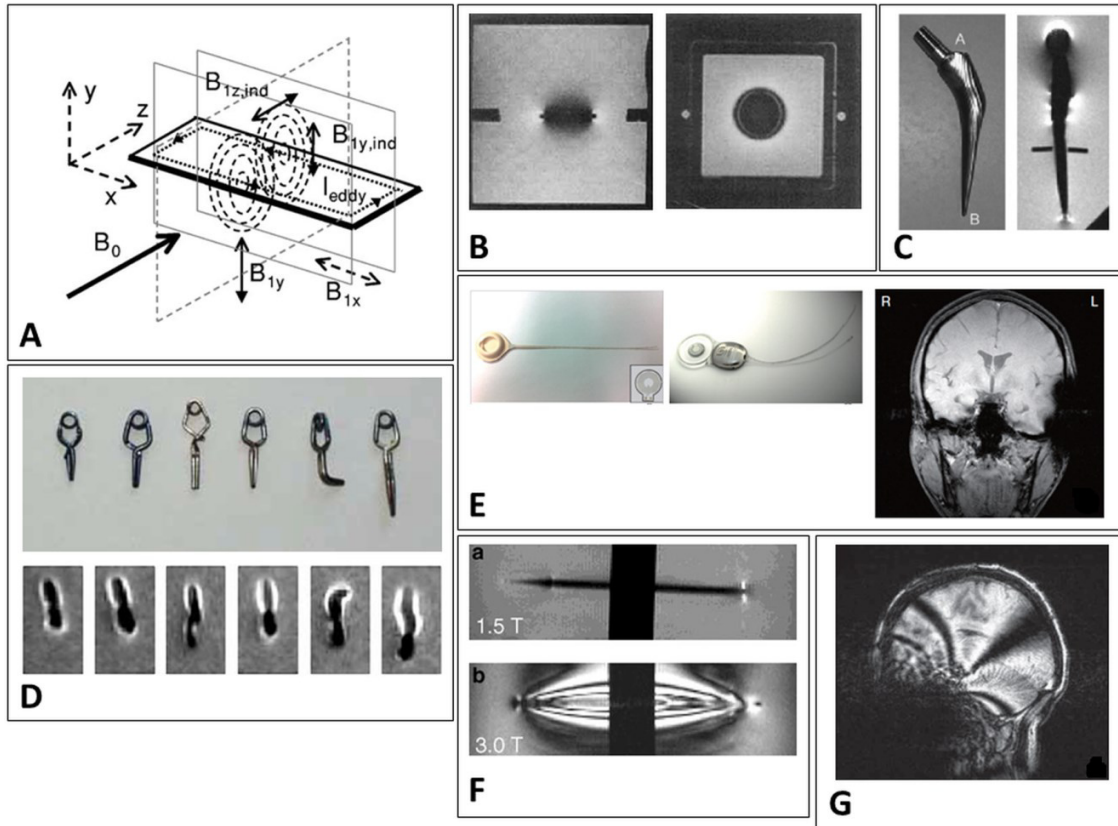


Abb. 20 (A) Induktion von Wirbelströmen in einem Kupferblech. Das durch den Wirbelstrom I_{Eddy} induzierte Magnetfeld $B_{1,ind}$ wirkt dem applizierten HF-Feld B_1 entgegen²⁷⁸. (B) Links, Längsschnitt durch einen Kupferring in 0,4 mM $MnCl_2$ -Lsg bei 1,5 T. Es treten typische HF-Artefakte auf mit vollständiger Signalauslöschung im Zentrum und hyperintensiven Bereichen an den Kanten. Rechts, Querschnitt durch den Kupferring. Die vom Metall umschlossene Fläche wird vom HF-Feld abgeschirmt und nicht abgebildet²⁷⁹. (C) Foto (links) und MRT-Schnittbild (rechts, bei 1,5 T) einer Hüftprothese aus Ti²⁸⁰. (D) Foto (oben) und MRT-Schnittbilder (unten, bei 1,5 T) sechs kommerzieller Aneurysma-Clips aus Ti²⁶⁶. (E) Photographien zweier Cochlea-Implantate, links aus Kunststoff, rechts aus einem metallischen Werkstoff (Nurobiosys Nuvoc-A01); ganz rechts, koronares MRT-Bild (bei 3 T) eines Patienten mit beiden Hörprothesen (Blickrichtung von vorn). Auf der linken Seite des Kopfes (in Abb. rechts, metallischer Werkstoff) ist ein deutliches Metallartefakt erkennbar²⁶⁹. (F) HF-Resonanz-Effekte einer Al-Nadel einer Länge von 13 cm im H_2O -Bad bei zwei unterschiedlichen Feldstärken. Bei $B_0 = 3T$ wirkt die Al-Nadel als $\lambda/2$ -Dipol-Antenne, wobei der induzierte Strom zu deutlichen Bildartefakten führt. Bei $B_0 = 1,5T$ tritt der Resonanzeffekt erst bei größeren Strukturen auf (siehe dazu Gl. 2-67), das HF-induzierte Artefakt fällt deutlich kleiner aus²⁷⁴. (G) Drastisches HF-Artefakt durch kieferorthopädische Brackets, sagittales MRT-Bild des Kopfes²⁶⁰.

Insbesondere längliche Objekten mit einem großen Aspektverhältnis, wie Nadeln oder Drähte (z.B. bei Kardioverter-Defibrillatoren und Hirnschrittmachern²⁸⁴), können mit dem zum B_1 -Feld korrelierten elektrischen Feld E_1 koppeln und HF-Wellen und elektrische Ströme aufnehmen (Wirkung als HF-Antennen). Dabei gilt, dass eine HF-Kopplung wahrscheinlich wird, wenn die Länge des Objektes der Wellenlänge des hochfrequenten elektrischen Feldes in Wasser entspricht²⁷⁷:

$$\lambda_{H_2O} = \frac{\lambda_{Vakuum}}{\sqrt{\epsilon_{r,H_2O}}} \approx \frac{\lambda_{Vakuum}}{9} \quad (2-67^{ix})$$

^{ix} mit $\lambda_{Vakuum} = c/f$; $c = 299792458 \text{ ms}^{-1}$ und $f = \omega_0$; und der Permittivität $\epsilon_{r,H_2O} = 80,1^{285}$.

Aus Gleichung (2-67) wird deutlich, dass, je höher die Larmorfrequenz ω_0 wird, desto kleinere Objekte mit dem HF-Feld koppeln, da höheren Frequenzen mit kürzeren Wellenlängen λ einhergehen (z.B. $B_0 = 1,5 T$; $\omega_{1,5T} = 63,86 MHz \leftrightarrow \lambda_{H_2O, 63.86 MHz} \approx 53 cm$; für das verwendete NMR-Spektrometer gilt: $B_0 = 7,05 T$; $\omega_{7,05T} = 300,13 MHz \leftrightarrow \lambda_{H_2O, 300.15MHz} \approx 11 cm$). Resonanzeffekte wirken sich einerseits drastisch auf die Bildqualität aus und erscheinen als oszillierende Signalintensitäten um das Metallobjekt (Abb. 20F)²⁷⁴. Die Kopplung mit B_1 kann außerdem zu intensiver Erwärmung führen. Insbesondere an Grenzflächen mit hohen Unterschieden in der elektrischen Impedanz können hohe induzierte Ströme U_{ind} und folglich eine starke Erwärmung auftreten. Das trifft vor allem auf die Spitzen langer Objekte, wie Nadeln oder Drähte zu^{266,284}.




In der Literatur wurden Temperaturanstiege durch MRT-Untersuchungen in der Umgebung leitfähiger Materialien von bis zu 48°C berichtet²⁸⁶, die zu schweren Gewebeschäden führten²⁸⁷. Diese sind das Resultat aus HF-Kopplung und wirbelstrominduzierter Erwärmung und zeigen eine deutliche Positionsabhängigkeit^{284,286}.

Vor dem Hintergrund unerwünschter Erwärmungseffekte infolge von MRT-Untersuchungen und drastischer Wechselwirkungen ferromagnetischer Materialien mit dem statischen Grundfeld B_0 , aber auch durch die Beeinträchtigung der Auswertbarkeit von MR-Schnittbildern durch metallinduzierte Bildartefakte kommt der Entwicklung MR-tauglicher Materialien eine große Bedeutung zu²⁸⁴.

2.4.4. Sicherheitsaspekte - Die Bewertung der MRT-Sicherheit

Die Bewertung der Wechselwirkungen von Instrumenten und Implantaten im Rahmen von MRT-Untersuchungen ist von enormer Wichtigkeit. Die Sicherheitsbewertung von Biomaterialien und (sich in der Nähe von (N)MR-Spektrometern befindlichen) Instrumenten betrachtet die Induktion von Bildartefakten, Wechselwirkungen durch die vom statischen Magnetfeld B_0 hervorgerufene Anziehungskräfte und Erhitzung über HF-Kopplung.

Tab. 8 Eignungsklassen für Biomaterialien und Instrumente nach ASTM-Norm F2503 - 13²⁸⁸.

Klassifizierung	Beschreibung
»MRT-tauglich«  <small>MR safe</small>	Als MRT-sicher werden alle Objekte bezeichnet, von denen keine negativen Wechselwirkungen innerhalb aller MR-Umgebungen (d.h. innerhalb des Messraumes und bei MR-Experimenten) ausgehen. »MRT-sichere« Materialien sind nicht elektrisch leitfähig, nicht metallisch und nicht magnetisch (z.B. Objekte aus PEEK).
»bedingt MR-tauglich«  <small>conditionally MR safe</small>	Materialien werden als »bedingt MR-tauglich« klassifiziert, wenn von ihnen unter definierten Bedingungen keine Gefahr für Personen (oder Labortiere) ausgeht. Die in Klammern aufgeführten experimentellen Bedingungen (Feldstärke B_0 , Gradientenstärke dB/dt , Frequenz des HF-Feldes B_1 und die spezifische Absorptionsrate SAR^{lxi}) müssen mit angegeben werden
»MRT-untauglich«  <small>MR unsafe</small>	Als »MR-untauglich« gelten alle Materialien, die eine potentielle Gefahr in allen MR-Umgebungen darstellen. Das betrifft vor allem ferromagnetische Materialien, da diese im statischen Magnetfeld B_0 beschleunigt werden.

^{lxi} Spezifische Absorptionsrate $SAR...$ ist die im Körper pro Masse und Zeit absorbierte Energie (SAR in $W \cdot kg^{-1}$).

Die aktuelle Terminologie zur Bewertung der MRT-Sicherheit von Implantatmaterialien und Instrumenten erfolgte nach der Norm²⁸⁸ der US-Amerikanischen »*American Society for Testing and Materials (ASTM) International*« (Tab. 8):

In manchen Fachbüchern und Publikationen wird auch die Einteilung in »*MRT-kompatibel*« (unterteilt in eine Kompatibilität der ersten und der zweiten Ordnung) und »*MRT-inkompatibel*« unterschieden^{90,207}. Da die Kompatibilität zur MR-Bildgebung aber hier allein von der magnetischen Suszeptibilität abhängig gemacht wird und es zu häufigen falschen Zuordnungen gekommen ist, soll diese Klassifizierung nach Ansicht der »*Food and Drug Administration (FDA)*« nicht mehr verwendet werden^{289,290}.

3 ANALYSE DER WECHSELWIRKUNGEN ZWISCHEN MATERIAL UND MR-SYSTEM

3.1. VORBETRACHTUNGEN ZU DEN UNTERSUCHTEN MATERIALIEN.....	57
3.2. MATERIALIEN UND METHODEN.....	58
3.2.1. PEEK-Folien	58
3.2.2. Beschichtung der PEEK-Folien	58
3.2.3. Materialcharakterisierung	59
3.2.3.1. Lichtmikroskopie	59
3.2.3.2. Bestimmung der Haftfestigkeit	59
3.2.3.3. Kontaktwinkelmessungen	59
3.2.3.4. Bestimmung des spezifischen Widerstandes	59
3.2.4. MR-Bildgebung: Metallartefakte	60
3.2.4.1. Metallobjekte & Probenvorbereitung	60
3.2.4.2. Experimentalparameter für die MR-Bildgebung	60
3.2.5. MRT-Quantifizierung: Vermessung der Artefaktgrößen	61
3.3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION DER MATERIALCHARAKTERISIERUNG.....	62
3.4. DER EINFLUSS DER EXPERIMENTALPARAMETER AUF DIE ARTEFAKTGRÖßE BEI DER MR-BILDGEBUNG.....	64
3.4.1. Variation der Objektposition zur HF-Feldrichtung	64
3.4.2. Der Einfluss der Echozeit (T_E).....	67
3.4.3. Der Einfluss weiterer Experimentalparameter	68
3.4.4. Der Einfluss der Titanisierung (PEEK/Ti)	72
3.5. ZUSAMMENFASSUNG DER EXPERIMENTE ZU METALLINDUZIERTEN ARTEFAKTEN UND DISKUSSION.....	73

3.1. Vorbetrachtungen zu den untersuchten Materialien

Wie im Kapitel 2.4.3.8, S. 51ff erörtert, führen zu einem Suszeptibilitätseffekte und zum anderen hohe elektrische Leitfähigkeiten zu Bildstörungen in MR-Schnittbildern. Das Ausmaß der Metallartefakte hängt außerdem wesentlich von den verwendeten Experimentalparametern ab^{19,261,280}. In der vorliegenden Arbeit wurde daher untersucht, welche Parameter den größten Einfluss auf die Artefaktausbildung haben und aus den Ergebnissen geeignete experimentelle Bedingungen für die MR-Bildgebung abgeleitet. Für die separate Analyse von HF- und Suszeptibilitätseffekten bei MR-Bildartefakten eignen sich insbesondere die Materialien Titan und Kupfer. Beide Metalle sind elektrisch leitfähig. Cu weist aber eine signifikant höhere Leitfähigkeit σ als Ti auf. Obwohl sich Cu nicht als Biomaterial eignet, ist die Auswahl dieses Metalls zur Untersuchung der Bildstörungen günstig, da dessen magnetische Suszeptibilität in etwa der von Wasser und damit biologischen Geweben entspricht⁹⁰. Es kommt somit bei der Bildgebung von Cu-Objekten zu keinen Suszeptibilitätsartefakten, sondern nur zu Störungen, die aufgrund der elektrischen Leitfähigkeit des Materials erzeugt werden. Ti ist ein paramagnetisches Material und weist eine deutlich höhere magnetische Suszeptibilität als Wasser auf (vgl. Tab. 10, S. 63). Bei MR-Experimenten kommt es aufgrund des Paramagnetismus und der elektrischen Leitfähigkeit zu sich überlagernden Effekten.

Da hohe elektrische Leitfähigkeiten σ die Erzeugung metallinduzierter Artefakte begünstigen, sollte deren Verringerung zu kleineren Bildstörungen führen. Aus der Literatur ist bekannt, dass der elektrische Widerstand \mathcal{R} dünner Metallschichten mit abnehmender Schichtdicke d stark zunimmt²⁹¹. Mit der Verwendung einer dünnen Metallschicht auf einem biokompatiblen, nicht-leitfähigen Material sollten theoretisch

kleinere Artefakte entstehen. Zudem wiesen *Camacho et al.* bereits 1995 darauf hin, dass eine Artefaktreduktion durch die gezielte Unterbrechung des Leitungspfades möglich ist²⁷⁹. Aufgrund der zunehmenden Bedeutung des Kunststoffes PEEK für medizinische Anwendungen (siehe Kapitel 2.2.3, Polyetheretherketon (PEEK), S. 14ff) wurde dieser als Substrat für die Metallschicht verwendet. Wie im theoretischen Teil der Arbeit beschrieben, ergibt sich aufgrund der chemischen Inertheit des Materials die Notwendigkeit, dessen Biokompatibilität zu optimieren¹²⁶. Durch eine Beschichtung von PEEK mit Ti (*Zimmermann et al.* sprechen von »Titanisierung«) konnten *Han et al.*¹³² und *Zimmermann et al.*²⁹² eine deutliche Verbesserung gegenüber des unbehandelten Kunststoffes nachweisen.

Diese Überlegungen führten zur Untersuchung des Materialsystems PEEK/Ti, wobei zwei verschiedene Schichten untersucht wurden. Als Schichtdicke für die Titanisierung der PEEK-Folien wurden 50 nm verwendet. Diese Schichtdicke wurde gewählt, da davon ausgegangen werden kann, dass die komplette Oberfläche der PEEK-Folien gleichmäßig bedeckt ist. Daneben ist eine solche Schicht ausreichend dünn, so dass sich der starre Charakter des Ti sich noch nicht auswirkt und die mechanische Flexibilität des Polymers erhalten bleibt²⁹². Während eine homogene Beschichtung eine noch messbare Leitfähigkeit aufweisen müsste, sollte die strukturierte PEEK/Ti-Folie ein elektrischer Isolator sein, da ein Stromfluss nur innerhalb der μm -kleinen Ti-Flächen stattfinden kann (vgl. Kap. 3.2.2 und Kap. 3.3, S. 62ff).

In Kapitel 3 wurden deshalb experimentelle Parameter ermittelt, um die Artefaktausdehnung geringstmöglich zu halten. Ferner wurden die Materialeigenschaften und die Kompatibilität beider PEEK/Ti-Verbünde zur MR-Bildgebung untersucht.

3.2. Materialien und Methoden

3.2.1. PEEK-Folien

Die Folien aus Polyetheretherketon wurden freundlicherweise von der *Evonik Industries AG* (Werk Röhme, Darmstadt) als Mustersendung zur Verfügung gestellt. Es handelte sich um fünf A4-Bögen VESTAKEEP 0FH80 mit 100 μm Dicke.

3.2.2. Beschichtung der PEEK-Folien

Die Beschichtung der Kunststoff-Folien mit Titan erfolgte durch Herrn Dr. Andreas Krause (NaMLab gGmbH, Dresden). Zwei verschiedene Beschichtungen wurden hergestellt: eine homogene Titanschicht und die Beschichtung mit rechteckigen Titanflächen. Die Dicke der Titanschicht betrug für beide Varianten 50 nm. Folglich resultierten zwei PEEK/Ti-Verbundmaterialien.

Die Beschichtung erfolgte mittels *Elektronenstrahlverdampfung*. Dafür wurden kreisförmige Folienstücke in der Vakuumkammer fixiert. Die Herstellung der strukturierten Oberfläche erfolgte nach Befestigung eines Edeldrahtgeflechtes (Filtergitter aus Edelstahl, V2A-50/28, Maschenweite: 50 μm , Drahtdurchmesser: 28 μm , Franz Eckert GmbH, Waldkirch^{lxii}) auf der Folie, welches als Maske diente. Es resultierten nahezu quadratische Ti-Flächen mit einer Kantenlänge von 50 μm . Die Größe der Zwischenräume entsprach der Gitterbreite von 28 μm . Die Gerätebezeichnungen und Experimentalparameter sind nachfolgend aufgeführt.

Vakuum-Kammer:	Einzelanfertigung, Bestec GmbH, Berlin
	→ Basisdruck: $5 \cdot 10^{-5}$ Pa
	→ Beschichtungsdruck: $6 \cdot 10^{-4}$ Pa
	→ Beschichtungsrate: 0,15-0,20 nm/s
	→ Substrat-Temperatur: 20°C

^{lxii} Das Filtergitter wurde von der Franz Eckert GmbH freundlicherweise als Mustersendung zur Verfügung gestellt.

Verdampferanlage: (Elektronenstrahlverdampfung)	EV-M06, Ferrotec GmbH, Unterensingen → Beschleunigungsspannung: 7 kV → Strahlstrom: 65 mA
Aufdampfmaterial:	Titan-Rohling, Alfa Aesar GmbH & Co KG, Karlsruhe → Reinheit: 99,995%

3.2.3. Materialcharakterisierung

3.2.3.1. LICHTMIKROSKOPIE

Die Oberflächenstrukturen wurden durch die Autorin lichtmikroskopisch untersucht (Nano Station II, Surface Imaging Systems GmbH, Herzogenrath; mit kamPro04 CCD-Kamera, EHD[®] Imaging GmbH, Damme).

3.2.3.2. BESTIMMUNG DER HAFTFESTIGKEIT

Die Bindungsstärke der Titan-Schicht auf der PEEK-Folie wurde qualitativ mit zwei Stirnabzugstests (*orthogonal pull off*) untersucht²⁹². Es wurden Tesa-Klebefolie und ein Cyanoacrylatkleber (Loctite 407, Henkel AG & Co. KGaA, Düsseldorf) verwendet. Die Experimente wurden von Holger Scheibner (IPF, Dresden) durchgeführt.

3.2.3.3. KONTAKTWINKELMESSUNGEN

Die Bestimmung der Kontaktwinkels θ wurde durch Marina Oelmann (IPF, Dresden) über die Methode des »sitzenden Tropfens« (*sessile drop method*) mit destilliertem Wasser vorgenommen. Die Tropfenkonturanalyse erfolgte anhand einer CCD-Kamera und dem »drop shape analyzer« von Krüss (Krüss GmbH, Hamburg).

3.2.3.4. BESTIMMUNG DES SPEZIFISCHEN WIDERSTANDES

Die Bestimmung des spezifischen Widerstandes ρ der Schichten erfolgte durch Dr. Andreas Krause (NaMLab GmbH, Dresden) aus einer *Vierpunktmessung* über die Bestimmung des Flächenwiderstandes R_{\square} . Der spezifische Widerstand berechnet sich dann aus der Schichtdicke d :

$$\rho = R_{\square} \cdot d \quad (3-1)$$

Die Verifizierung der Ergebnisse fand durch eine zweite, unabhängige Messung durch Sylvio Schubert und Dr. Chris Elschner (beide TU Dresden, Institut für Angewandte Photophysik, IAPP) statt. Die Gerätebezeichnungen und Experimentalparameter sind nachfolgend aufgeführt.

NaMLab gGmbH	Spitzenmessplatz:	System PM5, Süss MicroTec AG, Garching
	Digitalmultimeter:	2400 SourceMeter & 2700 Multimeter, Keithley Instruments Inc., Cleveland, USA
TU Dresden, IAPP	Spitzenmessplatz:	S-302 Four Point Probe, Gilroy, CA
	Digitalmultimeter:	2400 SourceMeter, Keithley Instruments Inc., Cleveland, USA

3.2.4. MR-Bildgebung: Metallartefakte

3.2.4.1. METALLOBJEKTE & PROBENVORBEREITUNG

Zur Bestimmung des Einflusses der Experimentalparameter auf die Artefaktgrößen bei der MR-Bildgebung wurden ein Kupfer-Plättchen und ein Titan-Plättchen verwendet.

Der Einfluss sowohl der Beschichtung als auch der Oberflächenstruktur auf die Darstellbarkeit von Metallartefakten wurde anhand der beiden PEEK/Ti-Verbundmaterialien analysiert. Als Kontrolle diente die unbeschichtete PEEK-Folie. Die untersuchten Proben sind in Tab. 9 aufgelistet:

Tab. 9 Übersicht über die im Kapitel 3 untersuchten Objekte.

Nr.	Probe	Länge [mm]	Breite [mm]	Dicke [mm]
1	Ti-Plättchen	6	6	0,1
2	Cu-Plättchen	6	6	0,2
3	PEEK/Ti, homogen	8	6	0,1
4	PEEK/Ti, strukturiert	25	14	0,1
5	PEEK-Folie	17	32	0,1

Vor den MR-Experimenten wurden die Proben in einer Kunststoff-Halterung fixiert und in einem passenden NMR-Röhrchen platziert. Die Proben wurden dann in eine verdünnte CuSO_4 -Lsg^{lxiii} eingetaucht ($c = 0,5 \text{ g} \cdot \text{l}^{-1}$). Glasstäbe verhinderten das Aufschwimmen der Kunststoff-Halterungen.

3.2.4.2. EXPERIMENTALPARAMETER FÜR DIE MR-BILDGEBUNG

Die Experimente wurden im IPF an einem NMR-Spektrometer mit kommerziell erhältlichem »microimaging assessor« durch die Autorin durchgeführt. Die exakten Gerätebezeichnungen und Experimentalparameter sind nachfolgend aufgeführt.

NMR-Spektrometer:	Bruker Avance 300 MHz, Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten → Feldstärke: 7,05 T → Protonenfrequenz: 300,13 MHz → mit linear polarisierten HF-Spulen ($^1\text{H}/^{19}\text{F}$ -Birdcage-Spulen; Durchmesser: 15 mm & 20 mm
»microimaging assessor«:	Micro2.5-Gradientensystem, Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten → drei orthogonale Gradientenfelder → Gradientenstärke: max. 1 T/m
Geräte-Software:	Topspin 2.1, Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten

Allgemeine Imaging-Parameter	
Sequenz:	»imsens« (Spin-Echo-Multi-Slice)
Schichtanzahl:	8
Schichtdicke:	250 μm
spektrale Breite (SWH):	250 000 Hz
Matrixgröße:	512 x 128 Px
Wiederholzeit (T_R):	850 ms

^{lxiii} Eine verd. CuSO_4 -Lsg hat ein zum reinen H_2O deutlich geringeres T_1 , was eine schnellere Messung durch die Anwendung kürzerer Relaxationszeiten ermöglicht. Die T_1 -Zeit der verwendeten CuSO_4 -Lsg wurde in Vorversuchen zu 85 ms bestimmt.

Zwischenschichtabstand:	250 μm	Echozeit (T_E):	4 ms
Messfeld (field of view, FOV):	axial, 15 x 15 mm longitudinal, 20 x 20 mm	Gradientenspezifikation: (ramp time / rise time)	0,16 ms / 0,20 ms

Variation einzelner Experimentalparameter

- 1 Variation der Objektpositionen zur HF-Feldrichtung
- 2 Variation von T_E : 3-30 ms
- 3 Vertauschen der Lese- und der Phasenkodierrichtung
- 4 Einfluss der Pixelauflösung
- 5 Variation von SWH: 100 000-800 000 Hz
- 6 Variation der ramp / rise times 0,16 ms / 0,20 ms - 0,25 ms / 0,31 ms
- 7 Einfluss der Ti-Beschichtung auf PEEK

3.2.5. MRT-Quantifizierung: Vermessung der Artefaktgrößen

Die Bearbeitung der Bilder und Vermessung der Artefaktgrößen wurde in Matlab[®], Version R2012a (Mathworks, Natick, US) mit Hilfe eigener Scripte vorgenommen. Die Artefaktgrößen wurden als Flächen vermessen. Die Vorgehensweise ist in Abb. 21 erläutert.

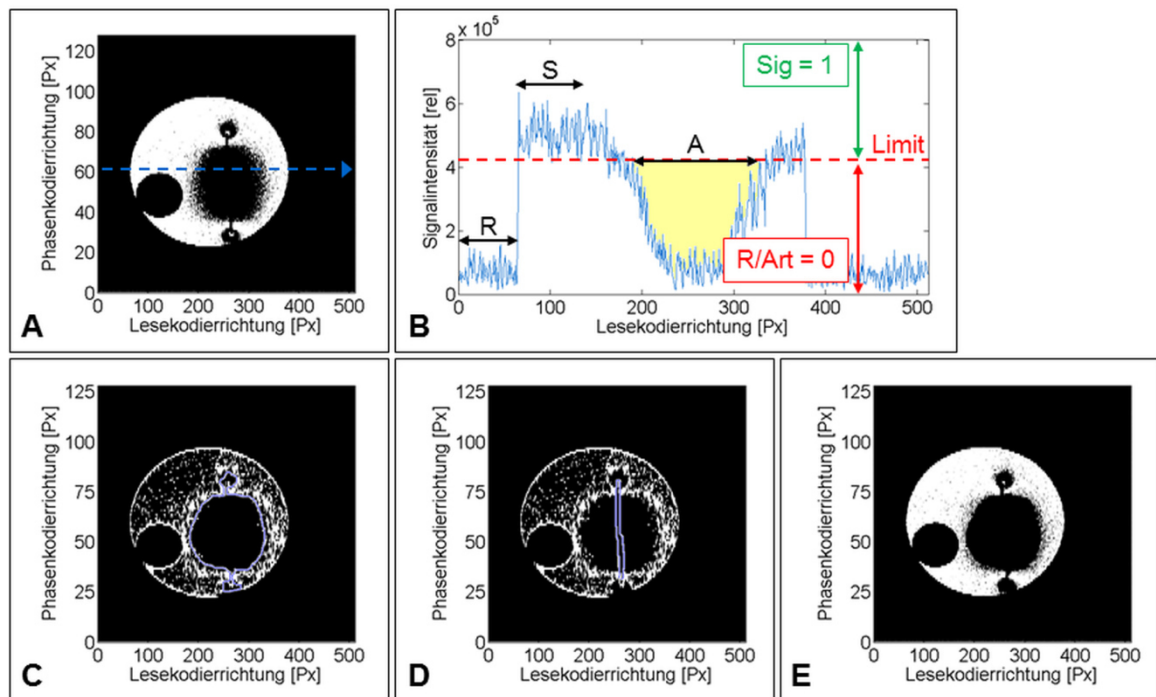


Abb. 21 Vermessung der durch das Metall verursachten Artefaktfläche (beispielhaft hier für Ti). **(A)** Originalbild. Das Metallplättchen steht senkrecht zur Lesekodierrichtung und ist von einem großflächigen Artefakt umgeben. Entlang des blau gestrichelten Pfeiles wird ein Intensitätsprofil (in B) erstellt. **(B)** Intensitätsprofil. Aus den Durchschnittswerten des Signalbereiches (S) und des Rauschens (R) wird das Limit bestimmt. Alle Pixel unterhalb des Limits zählen als Rauschen bzw. als Artefakt (R/Art) und werden mit einem Wert von »0« definiert. Die Pixel oberhalb des Limits (Sig) werden per Definition auf »1« gesetzt. Der Artefaktbereich (A) wurde gelb markiert. **(C)** Kantengefiltertes Binärbild. Der gesamte Artefaktbereich wurde blau markiert und beinhaltet noch die Fläche des Metallobjektes. **(D)** Kantengefiltertes Binärbild. Das Metallobjekt wurde blau markiert und wird anschließend von der in (C) bestimmten Fläche abgezogen. **(E)** Originalbild mit ausgeschnittenem Artefakt - der berechneten Artefaktfläche.

Anhand eines zentral durch das Artefakt verlaufenden Intensitätsprofils wurden die mittleren Signal- und Rauschintensitäten bestimmt. Das Limit berechnete sich aus der Differenz der beiden Intensitäten. Vor der Eingrenzung des Artefaktbereiches wurde jeweils ein Binärbild berechnet. Alle Signalwerte oberhalb des Limits wurden auf »1« gesetzt, alle Werte darunter auf »0«. Die Anwendung eines Kantensfilters^{lxiv} ermöglichte die genauere Eingrenzung des durch das Artefakt beeinflussten Bereiches. In einem ersten Schritt wurde die gesamte Fläche (sichtbar als eine von weißen Pixels begrenzte Fläche, siehe Abb. 21C) markiert. Die genaue Fläche des Artefaktes wurde aus der Differenz der Gesamtfläche und der Fläche des Metallobjektes bestimmt.

Aufgrund von Suszeptibilitäts- und HF-Effekten werden die Metallobjekte zu groß dargestellt. Die genaue Querschnittfläche der Objekte wird durch Division der in Abb. 21D markierten Fläche mit einem Korrekturfaktor bestimmt. Dieser wurde für Cu mit 1,15 und für Ti mit 1,8 festgelegt, wodurch sich eine durchschnittliche Querschnittsfläche von 1,2 mm für Cu und 0,6 mm für Ti ergab (siehe auch Kap. 3.4.1, S 64ff). Die für das Metallobjekt zu groß bestimmte Fläche wurde dem Artefakt zugeordnet. Die Quantifizierung der Flächen erfolgte stets als Doppelbestimmung.

3.3. Ergebnisse und Diskussion der Materialcharakterisierung

Die Oberflächenstruktur der PEEK/Ti-Folien wurde lichtmikroskopisch untersucht. Eine weitergehende Charakterisierung erfolgte durch die Analyse der Haftfestigkeit, der Bestimmung des spezifischen Widerstandes ρ und des Kontaktwinkels θ . Die Ergebnisse der Materialcharakterisierung wurden bereits veröffentlicht²⁹³.

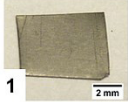
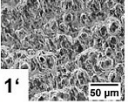
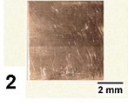
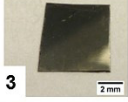
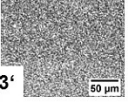
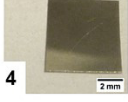
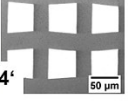

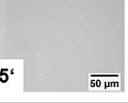

	<i>Fotographie</i>	<i>lichtmikroskopische Abbildung</i>
Ti		
Cu		
PEEK/Ti, homogen		
PEEK/Ti, strukturiert		
PEEK		
PEEK/Ti, homogen		

Abb. 22 Übersicht der Untersuchungsobjekte: fotografische und lichtmikroskopische Aufnahmen. Die Ziffern am linken Bildrand entsprechen den Proben aus Tab. 9 (S. 60). Es wurden zwei verschiedene Beschichtungen auf PEEK untersucht (Proben 3/3' und 4/4'). Für die strukturierte Oberfläche wurde die Ti/Schicht als nahezu quadratische, aber separate Flächen auf den Kunststoff aufgedampft (4'). Die Ti-Schicht ist dünn genug, um die mechanische Flexibilität des Kunststoffes zu erhalten (untere Darstellung).

^{lxiv} Es wurde der »Roberts-Operator« genutzt.

In Abb. 22 sind die untersuchten Objekte gegenübergestellt. Die PEEK/Ti-Folien mit der unstrukturierten Oberfläche zeigten einen metallischen Glanz und wiesen lichtmikroskopisch eine homogene Metallschicht auf (Abb. 22_3/3'). Die PEEK/Ti-Verbünde mit der strukturierten Oberfläche unterschieden sich optisch von den unstrukturierten Folien. Sie zeigten einen schwächeren metallischen Glanz, da die Farbe der PEEK-Folie durch das semitransparente Gitter sichtbar war. Lichtmikroskopisch waren die nahezu quadratischen Ti-Flächen gut darstellbar.

Die Ti-Beschichtung haftete stark auf dem Kunststoff. Die plastische Verformung beider Verbundmaterialien führte nicht zu einer Delaminierung der einzelnen Schichten (Abb. 22, unten). Mit beiden verwendeten Stirnabzugstests (Tesa-Klebefilm und mit dem Cyanoacrylat-Kleber) konnte die Beschichtung nicht vom Substrat getrennt werden. Vielmehr wurde der Kunststoff selbst beim pull-off-Test mit Cyanoacrylat-Kleber zerstört. Wenngleich eine stabile Haftfestigkeit festgestellt wurde, war es dennoch leicht möglich, die Beschichtung mit spitzen Gegenständen (z.B. mit einer Pinzette) zu beschädigen. Dieses Verhalten muss vor allem bei Implantaten, die besonderen mechanischen Belastungen durch Reibung ausgesetzt sind, berücksichtigt werden.

Die Benetzbarkeit der Proben wurde über die Kontaktwinkel Θ bestimmt. Die unbeschichtete PEEK-Folie ist mit einem Randwinkel von $\Theta_{PEEK} = 83,0 \pm 0,2^\circ$ hydrophob. Während die strukturierte Ti-Beschichtung nicht zu einer Veränderung des Kontaktwinkels führte, wies die homogene Schicht mit $\Theta_{PEEK/Ti,hom} = 76,9 \pm 1,1^\circ$ einen etwas geringeren Wert auf. Die durch die Beschichtung verbesserte Benetzbarkeit erreichte aber nicht die Hydrophilie des untersuchten Titanplättchens (mit $\Theta_{Ti} = 67,1 \pm 1,1^\circ$, Abb. 24).

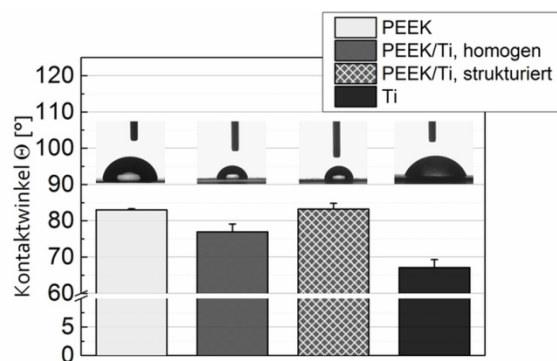


Abb. 23 Ergebnisse der Kontaktwinkelbestimmung. Die unbeschichtete PEEK-Folie und die strukturierte PEEK/Ti-Folie weisen die gleichen Kontaktwinkel auf. Die homogene Beschichtung mit Ti führt zwar zu niedrigeren Werten; das reine Ti-Plättchen zeigte sich aber noch deutlich hydrophiler.

Die Ergebnisse der Widerstandsmessungen der beiden Ti-Schichten sind in Tab. 10 aufgeführt. Deutlich wird, dass die homogene Ti-Schicht im Vergleich zum reinen Ti eine signifikant geringere, aber dennoch messbare Leitfähigkeit aufweist.

Tab. 10 Gegenüberstellung des spez. Widerstandes ρ und der magn. Suszeptibilität χ der untersuchten Objekte.

Objekt	Spez. Widerstand ρ [$10^{-8} \Omega m$]	Magn. Suszeptibilität χ [10^{-6}]
Ti	39 ²⁸⁵	182 ⁹⁰
Cu	1,54 ²⁸⁵	-9,63 ⁹⁰
PEEK/Ti, homogen	449 ± 29	n.b.
PEEK/Ti, strukturiert	∞	n.b.
PEEK	10 ^{21 294}	~0 ¹⁰¹

n.b. ... nicht bekannt

Erwartungsgemäß erwies sich die strukturierte Ti-Oberfläche als elektrisch nicht leitfähig. Bei MR-Experimenten sollte sich folglich bei der strukturierten Oberfläche kein HF-induzierter Artefakt ausbilden. Aufgrund der, wenn auch geringen, Leitfähigkeit der homogenen Ti-Schicht ist eine Induktion von Wirbelströmen in der Schicht und damit das Vorhandensein eines HF-induzierten Artefaktes denkbar. Der Effekt der magnetischen Suszeptibilität dünner Ti-Schichten auf die Ausbildung von Artefakten bei der MR-Bildgebung ist nicht aus der Literatur bekannt.

3.4. Der Einfluss der Experimentalparameter auf die Artefaktgröße bei der MR-Bildgebung

3.4.1. Variation der Objektposition zur HF-Feldrichtung

Zur Erzeugung des elektromagnetischen Hochfrequenzfeldes B_1 wurde ein linear polarisierter HF-Resonator (eine Spule mit einer sog. *Birdcage*-Struktur, Abb. 24) verwendet. Die Richtung des HF-Feldes in der Spule ist quer zur Zylinderachse definiert. Wie eingangs beschrieben, erzeugen die HF-Pulse in leitfähigen Materialien sog. Wirbelströme, deren korrespondierendes Magnetfeld $B_{1,ind}$ dem angelegten B_1 -Feld entgegenwirkt²⁷⁸. Die Wirbelströme I_{Eddy} bilden sich dabei senkrecht zur HF-Feldrichtung und aufgrund des Skin-Effektes nur an der Oberfläche der Metallobjekte aus. Daraus folgt eine konkrete Richtungsabhängigkeit der induzierten Stromstärken, da die Metallfläche zur Wirbelstromgenerierung bei senkrechter Ausrichtung des Objektes zum HF-Feld größer ist, als in der parallelen Position (Abb. 24B). In senkrechter Ausrichtung werden somit stärkere Wirbelströme induziert.

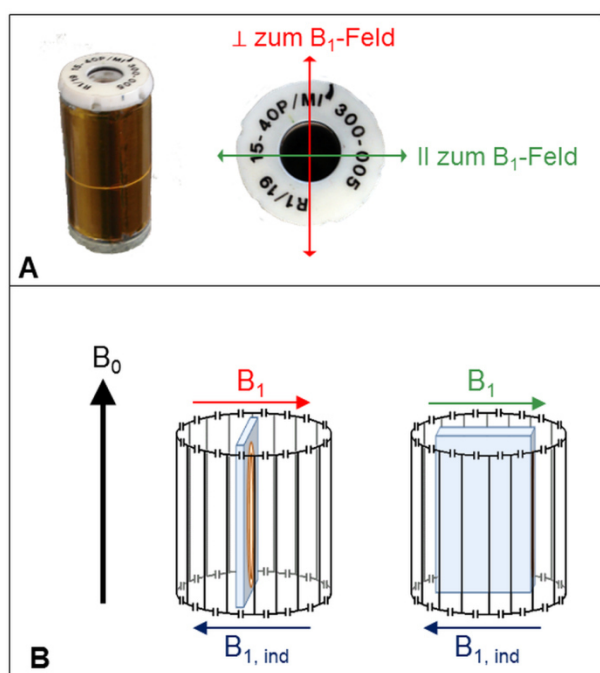


Abb. 24 Zur Erzeugung des elektromagnetischen Hochfrequenzfeldes werden HF-Spulen genutzt. (A) Abgebildet ist eine in der Arbeit verwendete Birdcage-Spule mit linear polarisierter HF-Feldrichtung. (B) Bei flächigen Metallobjekten hat deren Ausrichtung zum HF-Feld eine direkte Auswirkung auf die Entstehung der Wirbelströme. Befindet sich das Metallobjekt genau senkrecht zum HF-Feld, dann werden die Wirbelströme (in orange dargestellt) auf der großen Fläche erzeugt. Bei der zum HF-Feld parallelen Objektausrichtung entstehen die Wirbelströme nur auf der schmalen, zum HF-Feld gerichteten Fläche.

Wie in Abb. 25 am Beispiel Cu dargestellt, ist die Positionsabhängigkeit der Wirbelstromausbildung direkt mit der Größe der Bildartefakte verbunden. Aufgrund der zum Wasser ähnlichen magnetischen Suszeptibilität des Kupfers handelt es sich tatsächlich nur um die durch das hochfrequente Wechselfeld induzierten Effekte. So zeigte sich in zum B_1 -Feld senkrechter Position des Cu-Plättchens eine großflächige Signalauslöschung rund um das Metallobjekt. Aufgrund der Symmetrie des Metall-Plättchens erscheint die Bildstörung symmetrisch. Dies ist eine direkte Folge der HF-induzierten Wirbelströme I_{Eddy} und deren korrespondierendem Magnetfeld: $B_{1,ind} = -B_1$, welches zu einer vollständigen Abschirmung im Zentrum

des Metallobjektes führt. Wie in *Graf et al.* erläutert, dominiert das induzierte Magnetfeld $B_{1,ind}$ den Bereich im Zentrum, wobei der Einfluss in einer angrenzenden Übergangszone allmählich abnimmt^{278,281}. Dieser Effekt ist in den in Abb. 25 gezeigten Intensitätsprofilen (Abb. 25, P1-P4) sichtbar und zeigt sich am deutlichsten im Profil P2, welches die Signalintensitäten durch den maximalen HF-Artefakt abbildet. Auffällig sind außerdem die an den Kanten sichtbaren Effekte. Hier traten örtliche Signalerhöhungen (*hyperintense* Bereiche) auf, die klar von niedrigintensen (*hypointensen*) Regionen umgrenzt sind. Ein graduelles Ansteigen der Signalintensitäten war auch hier erkennbar (Abb. 25, P1).

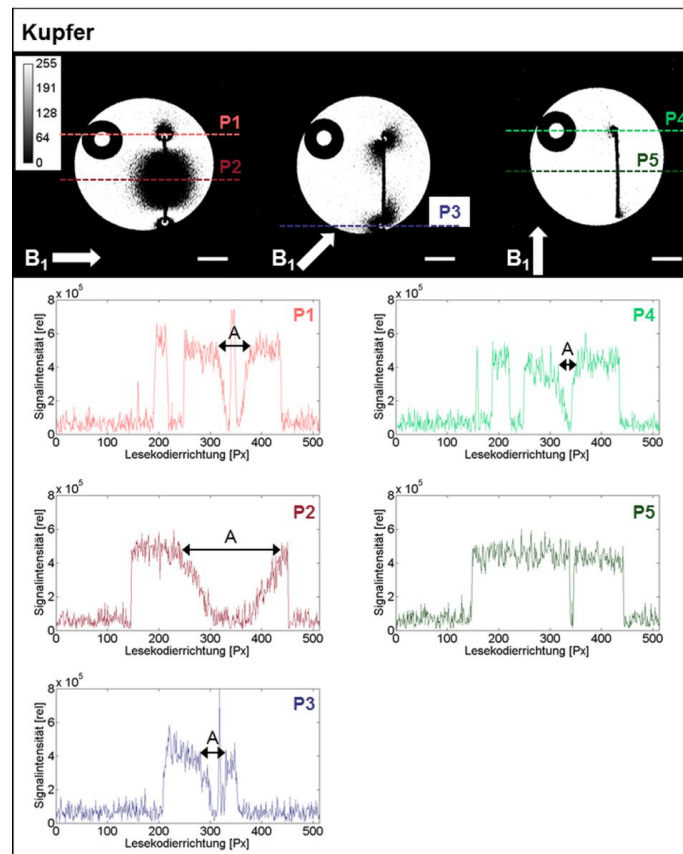


Abb. 25 Positionsabhängigkeit des HF-induzierten Artefaktes bei Cu; MR-Schnittbilder (oben) und fünf ausgewählte Intensitätsprofile entlang der gestrichelten Linien (unten). »A« kennzeichnet den Bildartefakt. *Objekt \perp B_1* (oben links): Artefakt wird maximal. Rund um das Metallplättchen ist ein breiter Bereich ohne Signal detektierbar. Die Signalintensität steigt graduell wieder bis zum Maximum an (P2). Im Bereich der Kanten werden die hyperintensiven Bereiche von einem breiten hypointensen Ring begrenzt (P1). *Objekt um 45° zu B_1 verdreht* (oben mitte): asymmetrischer Artefakt, der sich vor allem an den Kanten zeigt. Ein kleiner hyperintenser Bereich wird asymmetrisch von einer breiten niedrigintensiven Region umgeben (P3). *Objekt $\parallel B_1$* (oben rechts): Artefakt erreicht minimale Größe. Während an den Kanten noch der kugelförmige Schatten erkennbar ist (P4), wird zentral um das Cu-Plättchen kein Artefakt generiert (P5). Maßstabsbalken: 2,0 mm.

Das Auftreten der Kantenartefakte unterschied sich aber von den in *Camacho et al.*, *Graf et al.* und *Vahae et al.* gezeigten Effekten. Bei diesen zeigten sich im Falle eines Längsschnittes eines Cu-Ringes bzw. eines Cu-Plättchens hauptsächlich hyperintense Signalintensitäten rund um die Kanten^{278,279,281}. Möglich ist, dass sich die HF-Artefakte bei unterschiedlichen Feldstärken B_0 unterscheiden. In beiden Arbeiten wurden Geräte mit deutlich niedrigerer Feldstärke^{kv} verwendet, weshalb eine hundertprozentige Vergleichbarkeit der Artefakte offensichtlich nicht gegeben ist. Es ist denkbar, dass die relativ großen Signalauslösungen an den Kanten auf die höhere HF-Frequenz und damit die stärkeren Wirbelströme zurückzuführen sind²⁷⁸.

Wurde das Metallobjekt um einen Winkel von $0 < \alpha < 90^\circ$ zum B_1 -Feld verdreht, resultierte ein auf beiden Seiten des Cu-Plättchens auftretendes, jedoch asymmetrisch erscheinendes Artefakt. Der Durchmesser der Bildstörung verkleinerte sich im Verhältnis zum Maximalartefakt (Abb. 25, oben mitte und P3). Die wirkungsvollste Reduktion des HF-induzierten Artefaktes wurde erreicht, indem das Cu-Plättchen genau parallel zum HF-Feld positioniert wurde. In diesem Grenzfall konnte es aufgrund des Skin-Effektes nur zu einer Wirbelstromausbildung entlang der 0,2 mm schmalen Kanten kommen. Der niedrigere induzierte

^{kv} *Camacho et al.* und *Graf et al.* arbeiteten mit 1,5 T (= 64-MHz)-Geräten.

Strom I_{Eddy} steht in direkter Korrelation zu der verringerten Größe der Bildstörung. Ein sichtbares Artefakt tritt in der parallelen Position nur an den Kanten auf, während die Dicke des Cu-Plättchens im Zentrum mit 0,23 mm nahezu korrekt bestimmt wurde. Das Ergebnis entspricht einem Fehler von 15 %. Dieser geht bei der Quantifizierung der Artefaktgrößen als Korrekturfaktor für Cu mit einem Wert von 1,15 ein, wie in Kap. 3.2.5 (S. 61) beschrieben. Die Einflussbereiche der Metallplättchen in Abhängigkeit seiner Position zum B_1 -Feld sind in Tab. 11 zusammengefasst.

Zusätzlich zum Cu-Plättchen wurde die Positionsabhängigkeit von Artefakten bei MR-Experimenten mit einem Ti-Plättchen untersucht. Analog zum Cu-Plättchen wurde das Ti-Plättchen jeweils senkrecht, um 45° verdreht und parallel zum hochfrequenten Wechselfeld ausgerichtet. Generell zeigte sich beim Ti eine zum Cu sehr ähnliche Ausprägung der Bildstörungen (Abb. 26).

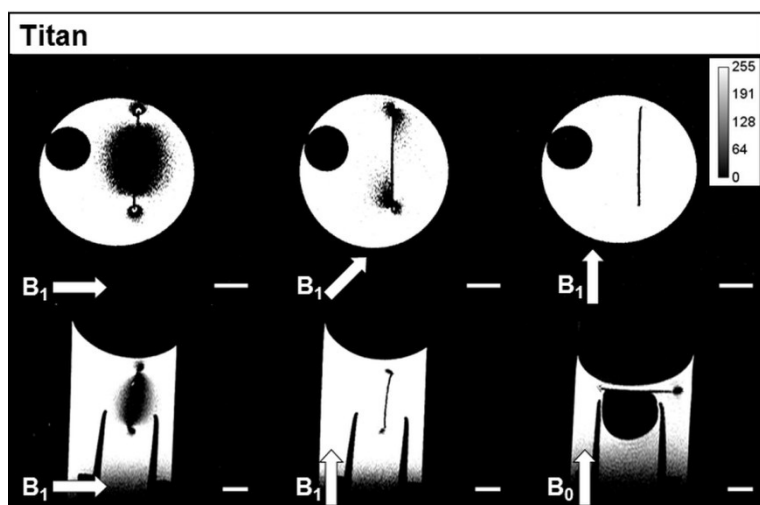


Abb. 26 Positionsabhängigkeit der Bildstörung bei Ti. Obere Reihe: axiale Schnittbilder in Abhängigkeit von B_1 ; untere Reihe: longitudinale Schnittbilder in Abhängigkeit von B_1 und B_0 . Trotz sich überlagernder HF- und Suszeptibilitätseffekte zeigte sich beim Ti-Plättchen ein zum Cu sehr ähnliches Verhalten. Maßstabsbalken: 2,0 mm.

Die maximale Artefaktgröße wurde in der senkrechten Position erreicht. In der parallelen Ausrichtung war optisch keine Bildstörung erkennbar (jedoch wurde das Objekt zu breit dargestellt). Die HF-induzierten Wirbelströme wirkten sich sowohl auf die axialen als auch auf die longitudinalen Schnittbilder aus. Bei letzteren war in der parallelen Position ein leichter Kanteneffekt sichtbar, der sich durch zwei kugelförmige Signalauslöschungen zeigte. Interessant stellte sich der Bildartefakt in der zu B_0 senkrechten Ausrichtung dar (Abb. 26, unten rechts). In dieser Position zeigte sich die Signalauslöschung nur auf einer Seite des Plättchens.

Die Breite des Ti-Plättchens wurde in der parallelen Position mit 0,18 mm bestimmt^{lxvi}. Verglichen mit der Originalbreite von 0,1 mm entspricht der Fehler hier 80 %. Da aus den vorangegangenen Experimenten mit dem Cu-Plättchen (Cu $\parallel B_1$) deutlich wurde, dass es sich nur bei den Kanteneffekten um HF-induzierte Artefakte handelt, kommt folglich beim Ti der Effekt der magnetischen Suszeptibilität zum Tragen. Bei der zum B_1 -Feld parallelen Ausrichtung des Metallplättchens ist das durch die Suszeptibilitätsunterschiede verursachte Artefakt somit subtiler und nicht auf den ersten Blick erkennbar. Ausgehend von diesem Ergebnis wurde für die nachfolgende Flächenquantifizierung für Ti ein Korrekturfaktor von 1,8 genutzt.

In Tab. 11 sind die Resultate der Artefaktquantifizierung für Cu und Ti positionsabhängig gegenübergestellt. Es wird deutlich, dass die durch die beiden Metallplättchen beeinflussten Flächen ähnliche Größen aufwiesen. Allerdings unterschieden sich die Verhältnisse der Gesamtflächen (*Metallobjekt + Artefakt*) im Verhältnis zur Originalfläche der Plättchen für beide Materialien erheblich (dargestellt mit dem Faktor »F«). Das Ti-Plättchen beeinflusste in senkrechter Position, trotz der deutlich niedrigeren Leitfähigkeit als die des Cu (siehe Tab. 10), eine im Verhältnis zur Originalgröße des Plättchens um den Faktor 33 größere Fläche, während der Einflussfaktor für Cu unter denselben Bedingungen nur rund 16 betrug.

^{lxvi} Bei einer Pixelauflösung von 0,29 mm/Pixel (Lesekodierichtung).

Tab. 11 Positionsabhängigkeit der Bildstörung für Cu und Ti. »Obj + Art« bezeichnet die gesamte vom Metallplättchen beeinflusste Fläche (Objekt + Artefakt). Mit »F« ist der Faktor angegeben, um diesen die Fläche im Vergleich zum Original zu groß bestimmt wird.

Objekt	Objekt \perp zu B_1		Objekt 45° zu B_1		Objekt \parallel zu B_1		Original Obj [mm ²]
	Obj + Art [mm ²]	F	Obj + Art [mm ²]	F	Obj + Art [mm ²]	F	
Kupfer	18,57 \pm 0,78	15,91	4,45 \pm 0,18	4,45	2,34 \pm 0,07	1,86	1,20
Titan	16,65 \pm 0,05	33,11	6,11 \pm 0,02	9,94	1,23 \pm 0,04	2,44	0,60

In allen zum B_1 -Feld gewählten Ausrichtungen verursachte Ti in Bezug auf dessen Originalfläche den größeren Artefakt. Verantwortlich für dieses Verhalten ist einerseits wie beim Cu die Wirbelstromausbildung im leitfähigen Material. Cu weist zwar die höhere Leitfähigkeit auf, allerdings ist die von den Wirbelströmen durchsetzte Fläche bei Ti größer, da die Eindringtiefe δ_s nach Gl. (3-2) größer ist:

$$\delta_s = \sqrt{\frac{\rho}{\pi f \mu}} \quad (3-2)$$

Eindringtiefe δ_s mit dem spezifischen Widerstand ρ [$10^{-8} \text{ } \Omega \cdot \text{m}$], der Frequenz f [Hz] und der magnetischen Permeabilität^{lxvii} μ [Hm^{-1}]²⁹⁶.

Nach Gl. (3-2) ergeben sich für die untersuchten Materialien bei einer Frequenz von 300,13 MHz Eindringtiefen von $\delta_{s,Cu} = 3,6 \text{ } \mu\text{m}$ und für Ti von $\delta_{s,Ti} = 18,1 \text{ } \mu\text{m}$. Es ist denkbar, dass die größere von Wirbelströmen durchsetzte Fläche bei Ti zu einer verstärkten Artefaktausbildung beiträgt. Dieser Aspekt wurde in der Literatur bisher nicht diskutiert, weshalb die Aussage nicht anhand weiterer Quellen belegt werden kann. Allerdings wird die Annahme durch die Resultate der Artefaktquantifizierung gestützt.

Wie eingangs beschrieben, werden in Folge des Suszeptibilitätsunterschiedes des paramagnetischen Ti an der Grenzfläche zum diamagnetischen Wasser zusätzlich Inhomogenitäten des Grundfeldes in der Nähe des Metallplättchens erzeugt. Ein Signalverlust aufgrund der Grundfeldverzerrung allein ist durch die Verwendung einer Spin-Echo-Sequenz (vgl. Kap. 2.4.3.5, S. 46ff) für die Experimente unwahrscheinlich. Allerdings führt die Überlagerung der Gradientenfelder mit dem verzerrten Grundfeld zu Homogenitätsstörungen der Gradienten, woraus dementsprechend kein konstanter Anstieg mehr angenommen werden kann. Infolgedessen kann es in Lesekodierrichtung zu lokal begrenzten hyperintensiven aber auch niedrigintensiven Bereichen kommen¹⁹. Dieser Effekt sollte aber theoretisch unabhängig von der Position zum hochfrequenten B_1 -Feld sein. Im Vergleich zu den HF-Effekten waren die infolge von Suszeptibilitätsunterschieden auftretenden Bildstörungen klein, da sich diese nur in der parallelen Ausrichtung durch eine vergrößerte Darstellung der Objektbreite zeigten.

3.4.2. Der Einfluss der Echozeit (T_E)

Die im vorangegangenen Kapitel beschriebene Grundfeldverzerrung infolge von Suszeptibilitätsunterschieden führt insbesondere bei Gradienten-Echo-Sequenzen zu großflächigen Signalverlusten. Schick merkte jedoch an, dass es bedingt durch Diffusionsbewegungen der Protonen bei Verwendung langer T_E auch bei Spin-Echo-Sequenzen zu Signalverlusten kommen kann.

^{lxvii} Die magnetische Permeabilität μ bestimmt die Durchlässigkeit von Materie für magnetische Felder. Die Größe wird auch als magnetische Leitfähigkeit bezeichnet und steht in enger Beziehung zur magnetischen Suszeptibilität. Die Permeabilität μ beschreibt das Verhältnis der magnetischen Flussdichte B zur magnetischen Feldstärke H , wie folgt: $\mu = B/H$ ²⁹⁵.

Diese werden ebenfalls Suszeptibilitätseffekten zugeschrieben^{lxviii,274}. Es wurde daher für Cu und Ti untersucht, wie sich die Größe der metallinduzierten Artefakte positionsabhängig und bei ansteigenden T_E verändert (Abb. 27).

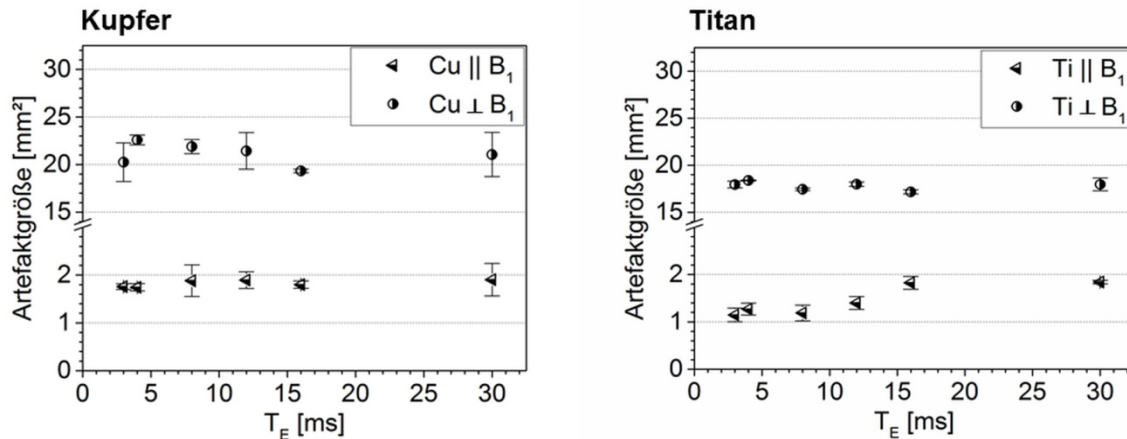


Abb. 27 Vergleich der Artefaktgrößen für Cu und Ti in Abhängigkeit der Position und Echozeit T_E . Während T_E beim Cu-Plättchen keinen Einfluss auf die Artefaktgrößen besaß, zeigte sich beim Ti-Plättchen in paralleler Ausrichtung eine Artefaktvergrößerung mit ansteigender Echozeit T_E .

Im Falle des Cu-Plättchens führten die Echo-Zeiten weder in der zu B_1 senkrechten als auch parallelen Ausrichtung zu einer Artefaktvergrößerung. Die Größen blieben jeweils konstant. Im Gegensatz dazu zeigten die vom Ti-Plättchen induzierten Artefakte zunehmende Werte ab einer T_E von 12 ms, wenn sich das Metallobjekt parallel zum B_1 -Feld befand. In der senkrechten Ausrichtung konnte keine Abhängigkeit von T_E gefunden werden. Daraus lässt sich schließen, dass in der senkrechten Position die HF-induzierte Ausbildung von Wirbelströmen die Charakteristik der Bildstörungen dominiert. Demgegenüber kommen die Artefakte in der parallelen Position, in der die Wirbelstromstärke minimal wird, mit zunehmender Echozeit T_E durch paramagnetische Materialien, also durch Suszeptibilitätsunterschiede, mehr zum Tragen.

Während HF-induzierte Artefakte durch ein graduelles Ansteigen der Signalintensitäten bis zum Maximum charakterisiert sind, sind die Kanten der Bildstörung bei Suszeptibilitätsartefakten klar definiert. Der Suszeptibilitätseffekt zeigte sich beim Ti-Plättchen eher subtil durch eine zunehmende, gleichmäßige Verbreiterung des Objektes im Schnittbild.

3.4.3. Der Einfluss weiterer Experimentalparameter

MR-Experimente bieten zahlreiche Möglichkeiten der Variation der Experimentalparameter. Nachfolgend wurde der Einfluss folgender Größen auf die Artefaktausbildung untersucht:

- ▶ Vertauschen der *Lese-* und *Phasenkodierrichtung*,
- ▶ Einfluss der Pixelauflösung (*Matrixgröße*),
- ▶ Variation der spektralen Breite (*SWH*) und damit der Gradientenstärke und
- ▶ Variation der Gradientenstabilisations- und Anstiegszeiten (*ramp time / rise time*)

Die Ergebnisse der Quantifizierung sind in Tab. 12 zusammengefasst.

Die Anzahl der Phasenkodierschritte, die Wiederholzeit und die Anzahl der Sequenzwiederholungen beeinflussen die Messzeit bei MR-Experimenten¹⁹⁹. Die Anzahl der Frequenzkodierschritte hat auf die Länge der Messungen keinen Einfluss. Um die Messzeit möglichst kurz zu halten, wurden anisotrope

^{lxviii} Dieser Effekt wird bei der Feldgradienten-NMR («pulsed-field-gradient nuclear magnetic resonance» = PFG-NMR) zur Untersuchung von Fließbewegungen und Diffusionsvorgängen genutzt²⁹⁷.

Matrizen aufgenommen, folglich mit einer geringeren Anzahl an Phasenkodier- als Frequenzkodierschritten (siehe Fußnote^{lxix}). Die Untersuchung des Einflusses der Phasenkodierrichtung (Serie 3) ähnelt so der Untersuchung der Pixelauflösung (Serie 4) auf die quantifizierten Artefaktgrößen. Die Experimente wurden so gewählt, dass das Ti-Plättchen stets senkrecht (Serie 3, xyz und Serie 4) oder parallel (Serie 3, yxz) zur Lesekodierrichtung ausgerichtet wurde.

Tab. 12 Zusammenfassung des Einflusses ausgewählter Experimentalparameter auf die Größe der Bildstörungen bei Ti. Bei der Artefaktgröße handelt es sich um die tatsächliche Fläche des Metallartefaktes, der die Objektfläche nicht mit beinhaltet.

Serie	Einflussgröße	Variation	Objekt \perp zu B_1 Artefaktgröße [mm ²]	Objekt \parallel zu B_1 Artefaktgröße [mm ²]	Abhängigkeit?
3	Lese- und Phasenkodier- richtung	xyz ^{lxix}	16,65 ± 0,05	0,72 ± 0,04	Ja.
		yxz	20,16 ± 0,67	1,25 ± 0,18	Der Artefakt war kleiner, wenn das Objekt senkrecht zur Lesekodierrichtung gemessen wurde.
4	Pixelauflösung	256 x 64	18,39 ± 0,06	1,27 ± 0,13	Ja.
		512 x 128	16,65 ± 0,05	0,72 ± 0,04	Die Artefaktgröße nahm mit abnehmender Auflösung zu.
5	SWH [Hz]	100.000	20,80 ± 0,86	1,20 ± 0,07	Ja.
		250.000	18,33 ± 0,20	1,35 ± 0,41	Der Artefakt nahm mit zunehmender spektraler Breite ab.
		600.000	17,37 ± 0,27	0,96 ± 0,10	
6	ramp time/ rise time [ms]	0,16/0,20	18,33 ± 0,20	1,35 ± 0,41	Nein.
		0,20/0,25	17,78 ± 0,20	1,15 ± 0,12	Die Gradientenstabilisations- und Anstiegszeiten hatten keinen Einfluss.
		0,25/0,31	18,97 ± 0,14	1,19 ± 0,38	

Aus den Ergebnissen der Serie 3 und 4 wird deutlich, dass die Artefaktflächen umso größer quantifiziert wurden, desto geringer die Anzahl der Pixel senkrecht zum Querschnitt des Ti-Plättchens gewählt war. Der Effekt war in beiden Positionen zum B_1 -Feld messbar, wobei die geringsten Artefaktgrößen mit einer Matrixgröße von 512 x 128 Px (L x P) quantifiziert wurden. Die Messung größerer Artefakte hat in den Serien 3 und 4 nicht mit einem HF-Effekt zu tun. Vielmehr handelt es sich hier sowohl um Suszeptibilitäts- als auch um Partialvolumeneffekte (PVE, siehe auch Kap. 6.5, S. 146f). So führten B_0 -Inhomogenitäten zu einer verstärkten Dephasierung des Spinsystems, je größer die gewählte Voxelgröße wurde²⁸¹. Zum anderen müssen Partialvolumeneffekte in Betracht gezogen werden, die immer dann entstehen, wenn sich innerhalb eines Voxels unterschiedliche Gewebe (d.h. Metall bzw. -artefakt und Messlösung) befinden, etwa an Grenzflächen bzw. wenn die Größe der Objekte selbst ungefähr der Pixelauflösung entspricht. Zur Signalintensität des betreffenden Voxels tragen dann alle Komponenten abhängig von ihrem Volumenanteil bei²⁹⁸. In Tab. 13 sind die Anzahl der Pixel senkrecht zum Querschnitt des Ti-Plättchens und die daraus resultierenden Auflösungen beispielhaft gegenübergestellt. Deutlich wird, dass die Dicke des Ti-Plättchens von 100 μm nur mit der höchsten Auflösung (29,3 $\mu\text{m}/\text{Px}$) genügend genau dargestellt werden kann. In diesem

^{lxix} Die Ortskodier- und Schichtselektionsrichtungen werden stets wie folgt angegeben: Lesekodierrichtung (L) x Phasenkodierrichtung (P) x Schicht (S). D.h. »xyz« bedeutet: x... L, y... P, z... S. Matrixgröße: 512 (L) x 128 (P) Pixel.

Fall ergab sich nur ein kleiner Partialvolumeneffekt. Bei beiden geringeren Auflösungen befand sich stets ein Teil der Messlösung zusammen mit dem Metall-Plättchen innerhalb eines Voxels, wobei die Charakteristik durch das Metall (und so folglich vom Fehlen des MR-Signals) dominiert wurde. Dieser Effekt führte dann zu der Vergrößerung der quantifizierten Artefaktfläche.

Tab. 13 Vergleich der Anzahl der Pixel senkrecht zum Ti-Plättchen und die resultierende Auflösung.

FOV [mm]	Px	Auflösung [$\mu\text{m}/\text{Px}$]
15	512	29,3
15	256	58,6
15	128	117,2

In den Experimenten zur Serie 5 wurde der Einfluss der spektralen Breite SWH auf die Artefaktflächen analysiert. Die spektrale Breite SWH entspricht dem reziproken Wert der sog. »dwell time« DW (vgl. Abb. 18, S. 46) und damit der Gradientenstärke. Bei DW handelt es sich um die Zeit, die bei der Datenakquisition des Analog-Digital-Konverters (ADC) zwischen der Aufnahme zweier Signale vergeht, entspricht also der Abtastrate des FID^{Ixx} . Das bedeutet, dass DW umso kleiner ausfällt, je größer die spektrale Breite SWH gewählt wurde (Tab. 14). Höhere SWH verkürzen die Datenakquisitionszeiten, verringern die mögliche Echozeit T_E und verbessern die Kanteninformationen. Allerdings wird mehr Rauschen aufgezeichnet, weshalb das Signal-Rausch-Verhältnis (SRV) mit ansteigendem SWH abnimmt.

Tab. 14 Gegenüberstellung spektralen Breite SWH mit der Bandbreite BW^{Ixxi} und der dwell time DW . Je höher SWH , desto höher die Gradientenstärke und desto kleiner ist DW .

SWH [Hz]	BW [Hz/Px]	DW [μs]
100.000	391	10
250.000	977	4
600.000	2344	1,67

Die Resultate der Serie 5 zeigten einen inversen Zusammenhang zwischen den Artefaktgrößen und der spektralen Breite SWH . Die Vergrößerung von SWH führte beim Ti-Plättchen zu geringeren Bildstörungen. Allerdings unterschieden sich die Ergebnisse von $SWH = 100.000 \text{ Hz}$ und $SWH = 250.000 \text{ Hz}$ nur geringfügig, während bei einer spektrale Breite von 600.000 Hz eine deutlichere Verringerung der Artefaktflächen, sowohl in senkrechter als auch in paralleler Ausrichtung zu beobachten war. Die Ergebnisse sind konform mit Experimenten von *Graf et al.*²⁸⁰. Die Gruppe um *Graf* wies nach, dass sich die Darstellbarkeit von Ti-Ringen mit zunehmender Bandbreite verbesserte, was auf eine Verringerung von Suszeptibilitätsartefakten zurückgeführt wurde. Im Gegensatz dazu zeigten sie, dass sich die Bildstörungen bei Cu-Ringen mit ansteigendem SWH vergrößerten, da die höheren Gradientenamplituden (des Lesekodiergradienten) stärkere Wirbelströme induzierten. Aufgrund der signifikant höheren Leitfähigkeit des Cu zeigte sich der Effekt hier stärker als beim Ti.

^{Ixx} Der ADC zeichnet nach jedem DW (z.B. alle $4 \mu\text{s}$) die Amplitude des FID auf und überträgt den Wert in den k-Raum. Aus beispielsweise 512 Lesekodierschritten folgen 512 Amplitudenwerte.

^{Ixxi} Die Bandbreite BW beschreibt, welcher Frequenzbereich des Echo-Signals pro Pixel übertragen wird. D.h. bei $BW = 977 \text{ Hz/Px}$ für das erste Pixel: $0-977 \text{ Hz}$, zweites Pixel: $978-1954 \text{ Hz}$, usw. bis 250.000 Hz (entsprechen 256 Lesekodierschritten){Graessner 2013 #441}

Eine generelle Verbesserung der Darstellbarkeit ist somit nicht vorhersagbar und hängt sowohl von den magnetischen Eigenschaften als auch von der elektrischen Leitfähigkeit des Materials ab. Zudem ist anzumerken, dass sich das Signal-Rausch-Verhältnis SRV mit steigendem SWH drastisch verschlechtert²⁹⁹. Nach dem aus *McRobbie et al.* entnommenen Zusammenhang¹⁹⁹ müsste bei einer Steigerung der spektralen Breite SWH von 100.000 Hz auf 600.000 Hz die Anzahl der Sequenzwiederholungen auf das Sechsfache gesteigert werden, um das SRV konstant zu halten^{lxxii}. Damit ginge eine Versechsfachung der Messzeit einher. In der vorliegenden Arbeit wurde sich daher auf den mittleren Wert von $SWH = 250.000 \text{ Hz}$ festgelegt, der einen Kompromiss aus dem SRV , Messzeit und der Darstellung des Bildartefaktes bedeutete.

Mit den Experimenten der Serie 6 wurde die Abhängigkeit der Artefaktgrößen von den Gradientenstabilisations- (*ramp time*) und Anstiegszeiten (*rise time*) untersucht. Prinzipiell könnten durch das schnelle Schalten der Gradienten für die Ortskodierung und Schichtselektion Wirbelströme in leitfähigen Komponenten des Spektrometers erzeugt werden. Zusätzlich kann eine Selbstinduktion der Spule die Gradientenform beeinflussen. Die Kompensation der Faktoren wird durch aktives Abschirmen der Gradientenspulen und einer geeigneten Gradientenschaltung (durch Vorverstärkung der Gradienten) erreicht (Abb. 28)¹⁹⁹.

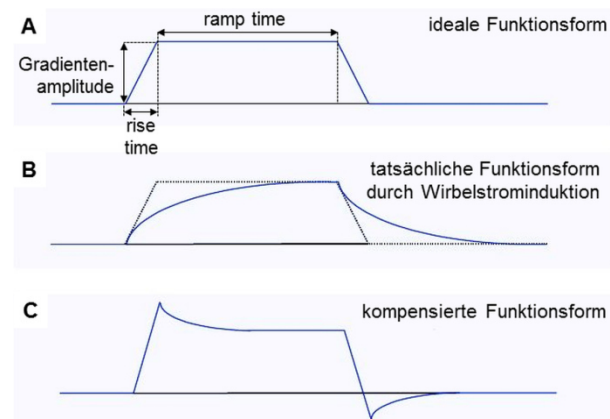


Abb. 28 Form der Gradientenpulse. (A) Die ideale Gradientenform ist trapezoid. (B) Das Fahren des Gradienten wie in (A) skizziert kann infolge einer Selbstinduktion zu einer gestörten Funktionsform führen. Diese können Bildartefakte nach sich ziehen. (C) Mit einem gezielten Verstärken der Gradientenform wird eine Reduktion der Wirbelstromstärke erreicht, nach¹⁹⁹, modifiziert.

Der Effekt der Gradientenschaltung auf die durch metallische Gegenstände induzierten Bildstörungen wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Während *Shenhav* und *Azhari* einen deutlichen Effekt Gradientenfeld-induzierter Bildartefakte feststellten³⁰⁰, konstatierten *Graf et al.*, dass die Effekte der Wirbelstrominduktion durch die Gradientenschaltung vernachlässigbar wären, da diese im Vergleich zur Dauer der Gradientenschaltung rasch abklängen¹⁹. Diese Aussage wurde in einer späteren Veröffentlichung der Gruppe relativiert. In der Arbeit wurde diskutiert, dass die Wirbelströme infolge der Gradientenschaltung zwar bei kleinen Implantaten, wie Aneurysma-Clips und Stents, vernachlässigbar wären, der Effekt allerdings größenabhängig sei²⁸⁰. In der vorliegenden Arbeit wurden die Gradientenschaltzeiten schrittweise erhöht und die Bildartefakte quantifiziert (vgl. Tab. 12). Anhand der gewählten experimentellen Bedingungen konnte kein Zusammenhang zwischen Gradientenstabilisations- und Schaltzeiten auf die Artefaktgröße festgestellt werden. Es ist folglich davon auszugehen, dass die Wirbelstromstärke aufgrund der geringen Größe des Metallobjektes zur Erzeugung eines Bildartefaktes unter diesen Umständen nicht ausreichte bzw. die Ströme im Verhältnis zur Gradientenschaltdauer rasch abklängen. Diese Ergebnisse sind in Übereinstimmung mit den Veröffentlichungen von *Graf et al.*^{19,280}. Eine Abhängigkeit der Artefaktgrößen von der Position in der HF-Spule, wie von *Shenhav* und *Azhari* durchgeführt³⁰⁰, wurde nicht geprüft. Das Metallplättchen befand sich jedoch, unabhängig von seiner Position zum B_1 -Feld, stets im Isozentrum des Resonators. Bezugnehmend auf die Ergebnisse von *Shenhav* und *Azhari* kann geschlussfolgert werden, dass die Bildstörungen durch die Gradientenschaltung bei sich in der Isoposition befindlichen Objekten ihre minimale Größe aufweisen.

^{lxxii} Für die Beziehung aus Rauschen R und SWH gilt: $R \approx \frac{\sqrt{BW}}{\sqrt{NS \cdot N_y}}$ mit $BW [\text{Hz}/Px] = \frac{SWH}{N_x}$, aus¹⁹⁹.

3.4.4. Der Einfluss der Titanisierung (PEEK/Ti)

Prinzipiell sollte eine Verringerung der elektrischen Leitfähigkeit σ und der nachfolgenden reduzierten Wirbelstrominduktion I_{Eddy} zu kleineren Bildartefakten führen. Eine Vergrößerung des elektrischen Widerstandes \mathcal{R} lässt sich in Metallschichten mit abnehmender Schichtdicke d beobachten²⁹¹. In der Serie 7 wurden daher die möglichen Bildstörungen quantifiziert, die infolge beider Ti-Beschichtungen (eine homogene Ti-Schicht und eine strukturierte Oberfläche, vgl. Tab. 9, S. 60) auf dem biokompatiblen Kunststoff PEEK induziert wurden. Wie in den vorangegangenen Experimenten durchgeführt, wurden die Objekte jeweils senkrecht und parallel zu B_1 ausgerichtet. Die unbeschichtete PEEK-Folie diente als Kontrolle. Die Ergebnisse der Quantifizierung (als Objektbreiten) sind in Tab. 15 zusammengefasst.

Tab. 15 Zusammenfassung des Einflusses der Beschichtung und Position des Objektes zum B_1 -Feld auf die quantifizierten Objektbreiten. Als Fehler ist die jeweilige Pixelauflösung angegeben.

Serie	Einflussgröße	Variation	Objekt \perp zu B_1	Objekt \parallel zu B_1	Abhängigkeit von Richtung zu B_1 ?
			Objektbreite [mm]	Objektbreite [mm]	
7	Beschichtung (Ti, 50 nm)	PEEK/Ti (homogen)	$0,104 \pm 0,029$	$0,104 \pm 0,029$	keine
		PEEK/Ti (strukturiert)	$0,129 \pm 0,039$	$0,104 \pm 0,039$	keine
		PEEK (unbeschichtet)	$0,124 \pm 0,039$	$0,117 \pm 0,039$	keine

Aus den ermittelten Objektbreiten ist ersichtlich, dass sich die Ergebnisse beider beschichteter PEEK/Ti-Spezies nicht von der gemessenen Breite der unbeschichteten Folie unterscheiden. Das ist insofern erstaunlich, als dass die Folie mit der homogenen Ti-Schicht eine noch messbare elektrische Leitfähigkeit σ aufwies (vgl. Tab. 10, S. 63). Die Induktion von Wirbelströmen I_{Eddy} mit daraus folgenden Bildartefakten ist in dieser Schicht also prinzipiell möglich. Die induzierten Ströme waren aber offenbar so klein, dass sie nicht zu einer Beeinträchtigung der Bildqualität führten (Abb. 29).

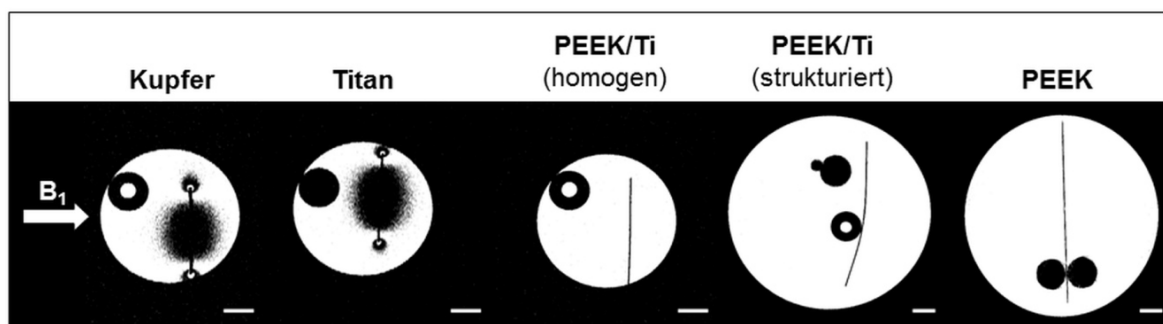


Abb. 29 Gegenüberstellung der MR-Schnittbilder aller untersuchten Objekte. Dargestellt sind die Experimente, in denen die Objekte senkrecht zu B_1 ausgerichtet wurden (also der »worst case«). Während bei den Metallen großflächige Bildartefakte auftraten, war die Darstellung sowohl der unbeschichteten PEEK-Folie als auch der beiden PEEK/Ti-Verbänden nicht gestört. Maßstabsbalken = 2,0 mm.

Die strukturierte Oberfläche (indem die Ti-Beschichtung in voneinander abgegrenzten Quadraten aufgedampft wurde) wurde vor dem Hintergrund untersucht, dass die unterbrochene Struktur eine Unterbrechung des elektrischen Leitungspfades bewirkte. Diese stellte gewissermaßen einen Kompromiss aus Ti-Schicht und elektrischer Isolation dar. Wie bereits erwähnt, unterschieden sich die ermittelten Objektbreiten

nicht von den beiden anderen untersuchten Spezies. Das Fehlen eines Metallartefaktes bei den beiden PEEK/Ti-Verbänden war unerwartet, da es an der Grenzfläche zudem zu Suszeptibilitätsartefakten hätte kommen können. Wie aus Abb. 29 deutlich wird, war die Darstellbarkeit aller drei untersuchten Spezies auf PEEK-Basis in den MR-Schnittbildern gleich gut.

3.5. Zusammenfassung der Experimente zu metallinduzierten Artefakten und Diskussion

Metallinduzierte Artefakte stören häufig die Bildqualität von Schnittbildern aus MRT-Untersuchungen. Hintergründe für deren Entstehung sind Suszeptibilitätsunterschiede zwischen Biomaterial und dem umgebenden Gewebe sowie eine hohe elektrische Leitfähigkeit. Sowohl HF-induziert als auch durch das schnelle Schalten der Gradientenfelder kann es in leitfähigen Materialien zur Induktion von Wirbelströmen kommen, die für die Bildstörungen verantwortlich sind^{280,300}. Anhand der Ergebnisse aus Kap. 3.4.1 bis 3.4.3 (S. 64ff) konnte gezeigt werden, dass die Ausprägung der Artefaktflächen maßgeblich von den experimentellen Parametern der Messung abhängt. Den größten Einfluss hatte die Position des Objektes zur Feldrichtung des magnetischen Wechselfeldes \mathbf{B}_1 . Es wurde deutlich, dass die senkrechte als auch die parallel zum \mathbf{B}_1 -Feld gewählten Ausrichtungen jeweils Grenzfälle darstellten. Während senkrecht zu \mathbf{B}_1 der größtmögliche Metallartefakt sichtbar war, wurde die Bildstörung in der parallelen Position weitestgehend eliminiert. Dieser Effekt war unabhängig vom untersuchten Material. Das Erscheinungsbild des HF-induzierten Artefaktes bei senkrechter Objektausrichtung entspricht den von *Vashae et al.* gezeigten Bildstörungen, die in deren Arbeit von einem Aluminium- bzw. einem Blei-Plättchen erzeugt wurden. Auch hier war die Größe der Bildstörungen beider Materialien, trotz verschiedener Leitfähigkeiten, vergleichbar²⁸¹. Die Untersuchung der Abhängigkeit der Artefaktgrößen von der \mathbf{B}_1 -Feldrichtung ist jedoch neu und nicht aus der Literatur bekannt. Die Ergebnisse der Untersuchung weiterer Experimentalparameter (vgl. Tab. 12, S. 69) stehen in Übereinstimmung mit bereits veröffentlichten Daten. So wurde die Bildstörung infolge von Suszeptibilitäts- und Partialvolumeneffekten umso größer, je geringer die Pixelauflösung war. Dieser Effekt kam besonders zum Tragen, wenn das Metallobjekt gerade so ausgerichtet wurde, dass sich der Querschnitt des Plättchens senkrecht zur geringeren Auflösung befand (im Falle anisotroper Matrices ist die Pixelanzahl in Lesekodierrichtung stets größer als in Phasenkodierrichtung). *Ganapathi et al.* zeigten eine analoge Artefaktvergrößerung beim Vertauschen der beiden Ortskodiergradienten am Beispiel von chirurgischen Schrauben²⁶¹.

Mit der Auswahl der Materialien Cu und Ti gelang es zudem, zwischen den HF- und Suszeptibilitätseffekten zu unterscheiden. Für die Artefaktausbildung bei Cu, mit einer dem Wasser ähnlichen magnetischen Suszeptibilität χ , kamen somit nur Bildstörungen aufgrund von Wirbelstrominduktion, sei es HF-induziert oder als Folge schneller Gradientenschaltung, infrage. Demgegenüber traten beim paramagnetischen und elektrisch leitfähigen Ti sich überlagernde Effekte aufgrund von Suszeptibilitätsunterschieden und zusätzlich durch Induktion von Wirbelströmen auf. Die Bildstörungen infolge von HF-Effekten zeigten sich sowohl beim Cu als auch beim weniger leitfähigen Ti in der senkrechten Ausrichtung drastisch. Die starke Artefaktausprägung auch beim Ti-Plättchen könnte eine Folge der größeren von Wirbelströmen durchsetzten Fläche sein ($Cu: \delta_{s,Cu} = 3,6 \mu m$, $Ti: \delta_{s,Ti} = 18,1 \mu m$, siehe Gl. (3-2), S. 67). Die auftretenden Suszeptibilitätsartefakte beim Ti waren im Vergleich zu den HF-Effekten klein. Die Bildstörung wurde allein anhand einer allmählichen Verbreiterung des Objektes bei ansteigender Echozeit T_E sichtbar, die sich beim Cu nicht zeigte. Der Einfluss der Echozeit T_E auf die Artefaktausdehnung wird aber in der Literatur kontrovers beschrieben. Während in der vorliegenden Arbeit beim Ti eine Artefaktvergrößerung mit ansteigendem T_E gemessen wurde und diese Ergebnisse die Aussage von *Schick*²⁷⁴ bestätigen, konnten *Burtscher et al.* für verschiedene getestete Aneurysma-Clips keinen Effekt der Echozeit bei Nutzung einer SE-Sequenz feststellen, wohl aber bei der Verwendung von GRE-Sequenzen²⁶⁵.

Graf et al. und Burtscher et al. demonstrierten aber eine Verkleinerung des Suszeptibilitätsartefaktes bei Ti mit ansteigender spektraler Breite SWH ^{265,280}. Dieser Effekt konnte in der vorliegenden Arbeit ebenfalls nachgewiesen werden. Eine generelle Pauschalisierung der Aussage: »Die Suszeptibilitätsartefakte sind im Vergleich zu den HF-induzierten Störungen klein« lässt sich aber nicht treffen, da sich die Bildstörungen mit steigenden Suszeptibilitätsunterschieden drastisch erhöhen. Im Vergleich zum Ti sind Edelstahl und zahlreiche Legierungen stark paramagnetisch und weisen magnetische Suszeptibilitäten von $|\chi_{Metall} - \chi_{H_2O}| > 1000 \cdot 10^{-6}$ auf (vgl. $|\chi_{Ti} - \chi_{H_2O}| \cong 191 \cdot 10^{-6}$). Diese führen wiederum zu Artefaktflächen, welche die von Ti-Objekten um ein Vielfaches übersteigen^{265,301}.

Während sich bei beiden untersuchten reinen Metallplättchen die korrekte Ausrichtung zum \mathbf{B}_1 -Feld als wesentlich für die Artefaktausprägung herausstellte, konnte gezeigt werden, dass es sowohl bei der beschichteten als auch bei der unbeschichteten PEEK-Folie in keiner Position zu einer Bildstörung kam. Insbesondere bei der homogen mit Ti beschichteten Probe war das Ergebnis unerwartet, da diese Ti-Schicht noch eine messbare Leitfähigkeit aufwies. Außerdem wäre das Auftreten eines Suszeptibilitätsartefaktes bei beiden Beschichtungen aufgrund des Paramagnetismus vom Ti denkbar gewesen. Dieser trat allerdings nicht auf.

Bezüglich der eingangs beschriebenen ASTM-Norm (vgl. Kap. 2.4.4, S. 55) würden das untersuchte Ti- und das Cu-Plättchen, sowie die homogen beschichtete PEEK/Ti-Folie jeweils als »bedingt MRT-tauglich« klassifiziert werden, da alle Proben eine messbare elektrische Leitfähigkeit aufweisen. Von diesen Materialien gehen zwar keine Gefahren für Personen aufgrund direkter Wechselwirkungen mit dem statischen Magnetfeld \mathbf{B}_0 aus. Die Metalle können aber im Einzelfall großflächige Bildartefakte verursachen. Es konnte in der Arbeit gezeigt werden, dass das Störpotential der reinen Metalle durch die Auswahl geeigneter experimenteller Bedingungen drastisch reduziert wird. Die homogen beschichtete PEEK/Ti-Folie verursachte unter den gewählten Bedingungen positionsunabhängig keinen Bildartefakt, müsste aber aufgrund ihrer Leitfähigkeit trotzdem in diese Klassifizierung eingeordnet werden.

Die strukturiert beschichtete PEEK/Ti-Folie und der reine Kunststoff sind uneingeschränkt »MRT-tauglich«. Diese Materialien zeigen keine Wechselwirkungen sowohl mit dem statischen Magnetfeld \mathbf{B}_0 als auch mit dem elektromagnetischen Wechselfeld \mathbf{B}_1 .

4 EVALUATION DER IN VITRO-BIOKOMPATIBILITÄT VON PEEK UND PEEK/TI

4.1. VORBEMERKUNGEN ZU DEN VERSUCHEN.....	75
4.1.1. Vorbetrachtungen zum <i>in vitro</i> -Modell.....	75
4.1.2. Projekteinbindung und Kooperationspartner	76
4.2. MATERIALIEN UND METHODEN.....	76
4.2.1. Messinstrumente	76
4.2.2. Zellbiologische Methoden.....	76
4.2.2.1. Zuschneiden und Sterilisieren der Proben	76
4.2.2.2. Isolation humaner mesenchymaler Stromazellen	77
4.2.2.3. Kultivieren von hMSC	77
4.2.2.4. Bestimmung der metabolischen Aktivität	77
4.2.2.5. Aktivitätsbestimmung der Alkalischen Phosphatase (TNAP)	78
4.2.2.6. Calcium- und Phosphatbestimmung	79
4.2.2.7. Bestimmung der Prostaglandin-E ₂ -Konzentration	79
4.2.2.8. Immunfluoreszenzfärbung	80
4.2.3. Quantifizierung der Zellgrößen.....	81
4.2.4. Statistische Auswertung.....	81
4.3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	82
4.3.1. Frühe Reaktion der hMSC auf PEEK und PEEK/Ti.....	82
4.3.1.1. Größe und Morphologie der Zellen	82
4.3.1.2. MTS-Assay zur Bestimmung der Anzahl adhärenter Zellen	84
4.3.1.3. PGE ₂ -Bestimmung als Marker für entzündliche Prozesse	84
4.3.2. Fortgeschrittene Reaktion der hMSC auf PEEK und PEEK/Ti	85
4.3.2.1. Bestimmung der TNAP als frühen Differenzierungsmarker	85
4.3.2.2. Bestimmung der Mineralakkumulation als Nachweis für die osteogene Differenzierung	86
4.4. ZUSAMMENFASSUNG DER EXPERIMENTE ZUR IN VITRO-BIO-KOMPATIBILITÄT VON PEEK UND PEEK/TI- VERBÜNDENDEN UND DISKUSSION.....	87

4.1. Vorbemerkungen zu den Versuchen

4.1.1. Vorbetrachtungen zum *in vitro*-Modell

Nachdem im Kapitel 3 die MRT-Tauglichkeit der PEEK-basierten Spezies nachgewiesen wurde, dienen die nachfolgenden Versuche zur Evaluation der Wechselwirkungen der Materialien mit dem biologischen System anhand eines *in vitro*-Modells. Die Untersuchung der Reaktion knochenbildender Zellen auf neue Implantatmaterialien ist eine notwendige Bedingung, bevor die Wechselwirkung im *in vivo*-System untersucht werden kann (siehe auch Kap. 2.3.1, S. 21ff).

Die Verwendung des Kunststoffes PEEK für als Implantatmaterial ist noch relativ neu¹⁰³. Aufgrund seiner günstigen mechanischen Eigenschaften, Beständigkeit gegen Korrosion, Hydrolyse und Chemikalien und Fertigungsflexibilität setzt sich das Material zunehmend als Titanersatz durch^{95,106}. Trotz nachgewiesener Biokompatibilität – PEEK setzt keine cytotoxischen und mutagenen Substanzen frei¹²⁷ – eignen sich Ti und Ti-Legierungen besser für Implantate mit direktem Knochenkontakt. Während sich bei Ti-basierten Materialien ein direkter Knochen-Implantat-Kontakt ausbildet, kommt es bei PEEK-Implantaten häufig zur Ausbildung einer Bindegewebskapsel³⁰². Zielstellung zahlreicher Untersuchungen war daher die Modifikation des Kunststoffes, um den direkten Knochen-Implantat-Kontakt zu ermöglichen¹²⁶.

Wie von *Han et al.* demonstriert, führt die Beschichtung von PEEK mit Ti zu einer verbesserten Biokompatibilität¹³². Ziel der Versuche aus Kapitel 4 war es deshalb, den Effekt der Strukturierung der Ti-Beschichtung aus Kapitel 3 auf die Zell-Material-Wechselwirkung zu untersuchen. Es war nicht aus der Literatur bekannt, welche Auswirkungen eine nicht durchgängige Ti-Beschichtung auf die Biokompatibilität des Materialsystems hat. Denkbar war sowohl eine im Vergleich zur homogenen Ti-Schicht ungünstigere Wechselwirkung mit den hMSC durch den partiellen Kontakt mit PEEK, als auch die erhöhte Biokompatibilität durch die besondere Struktur. Die Ergebnisse wurden bereits veröffentlicht²⁹³ und dienen zudem als Grundlage für das verwendete *in vivo*-System aus Kapitel 5 (S. 90ff).

4.1.2. Projekteinbindung und Kooperationspartner

Die Versuche zur Untersuchung der *in vitro*-Biokompatibilität der in Kapitel 3 entwickelten Ti-beschichteten PEEK-Folien (PEEK/Ti-Folien) wurden im Rahmen einer sog. »Lab-Rotation« des Transregio SFB 67 durchgeführt. Die nachfolgend beschriebenen Experimente wurden zwischen November 2012 bis Januar 2013 am Institut für Physiologische Chemie der Technischen Universität Dresden unter der Anleitung von Dr. Ute Hempel und Dr. Carolin Noack durchgeführt. Im Zeitraum von März 2013 bis Dezember 2013 sicherte Carolin Preißler die Ergebnisse durch Wiederholungsmessungen ab.

Die Experimente wurden an denselben PEEK- bzw. PEEK/Ti-Folien durchgeführt, wie im Kapitel 3 verwendet. Nach Tab. 9 (S. 60) handelte es sich um die Proben 3 bis 5. Für die *in vitro*-Methoden wurde die Ti-Folie nicht mit untersucht.

4.2. Materialien und Methoden

4.2.1. Messinstrumente

Photometer für colorimetrische Bestimmungen

NanoPhotometer™, P 300	Kisker Biotech GmbH & Co. KG, Steinfurt
UVmini-1240 UV-Vis Spectrophotometer	SHIMADZU Deutschland GmbH, Duisburg

Mikroskope

Wilovert S	Helmut Hund GmbH, Wetzlar
Axiophot, Umkehr-Fluoreszenzmikroskop, mit DigitalKamera AxioCam MRm und AxioVision Mikroskop-Software	Carl Zeiss AG, Oberkochen Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Göttingen Carl Zeiss MicroImaging GmbH, Göttingen

4.2.2. Zellbiologische Methoden

4.2.2.1. ZUSCHNEIDEN UND STERILISIEREN DER PROBEN

Die Folienproben wurden in 7,5 × 7,5 mm große Quadrate (für die Bestimmung der Immunfluoreszenz, metabolische Aktivität und Prostaglandin E₂) bzw. in 15 × 15 mm große Stücke (für die Bestimmung der alkalischen Phosphatase und der Mineralakkumulation) zurechtgeschnitten. Anschließend wurden die Folienstücke für mindestens 10 min in 70%igem Ethanol (EtOH) desinfiziert und zweimal mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS, Biochrom, Berlin) gespült.

4.2.2.2. ISOLATION HUMANER MESENCHYMALER STROMAZELLEN

Aufgrund des osteogenen Potentials humaner mesenchymaler Stromazellen (hMSC, siehe auch Kap. 2.1.2, S. 7) wurden die *in vitro*-Untersuchungen an primären hMSC durchgeführt. Die Zellen wurden aus dem Stammzell-Labor 2 des Universitätsklinikums »Carl Gustav Carus« Dresden bezogen. Die Gewinnung der hMSC aus Knochenmarkspiraten des Beckenkamms gesunder Spender erfolgte nach dem in *Oswald et al.* beschriebenen Verfahren³⁰³. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Technischen Universität Dresden (Genehmigungsnummer: EK114042009) genehmigt²⁹³.

4.2.2.3. KULTIVIEREN VON HMSC

Expansion, Differenzierung und das Einfrieren der Zellen erfolgte wie in der Dissertationsschrift von *Noack* beschrieben⁴⁴.

Für die Experimente wurden hMSC in einer Dichte von $7000 \text{ hMSC} \cdot \text{cm}^{-1}$ in Expansionsmedium ausgesät (Dulbecco's Modified Eagle Medium = DMEM, Biochrom KG, Berlin; enthält 10% Hitzeinaktiviertes, fötales Kälberserum (hi-FKS, Biowest, Nuaille, Frankreich), sowie 200 Units Penicillin und 20 μg Streptomycin (beides Biochrom KG, Berlin) pro Milliliter). Die Induktion der osteogenen Differenzierung *in vitro* erfolgte am Tag 4 nach der Aussaat in osteogenem Differenzierungsmedium. Dabei handelt es sich um das beschriebene Expansionsmedium, welches zusätzlich eine Phosphatquelle in Form von β -Glycerophosphat, außerdem Ascorbat und Dexamethason (alle drei Substanzen von der Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) enthält. Zweimal wöchentlich wurde ein Mediumwechsel vorgenommen.

4.2.2.4. BESTIMMUNG DER METABOLISCHEN AKTIVITÄT

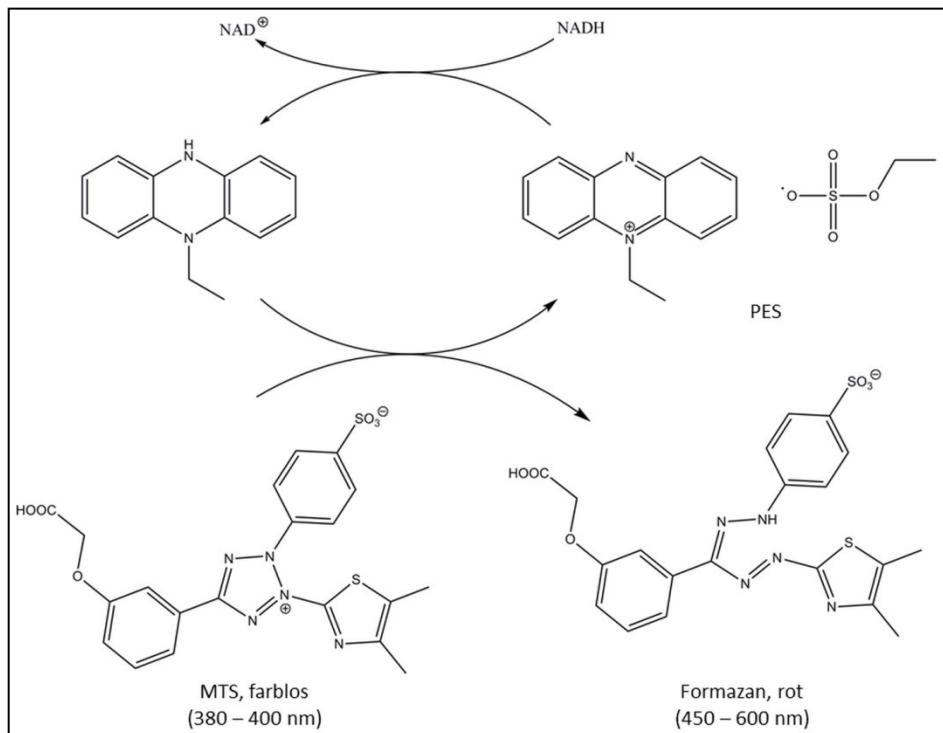


Abb. 30 MTS-Test. Der Elektronenakzeptor Phenazinethylsulfat (PES) transferiert Elektronen vom NADH des Cytoplasmas oder der Mitochondrien. Das Reduktionsprodukt des PES reduziert nachfolgend MTS zum wasserlöslichen Formazan, aus^{166,304}, modifiziert.

Die metabolische Aktivität der hMSC wurde anhand des colorimetrischen *MTS-Tests* durchgeführt (MTS = 3-(4,5-dimethyl-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazoliumsalz; Cell

Titer96[®] AQ_{ueous} One Solution Proliferation Assay, Promega Corporation, Madison, USA). Aufgrund der negativen Ladung von MTS kann das Molekül die Zellmembran nur begrenzt durchdringen. Der MTS-Test erfolgt daher in Kombination eines Elektronenakzeptors (i.d.R. Phenazinethylsulfat, PES), der in die Zellen eindringen kann. Die Dehydrogenasen vitaler Zellen (z.B. in den Mitochondrien oder im Cytoplasma) führen zur Reduktion von PES, welches nachfolgend das MTS zum löslichen Formazan-Produkt reduziert (Abb. 30).

Während der Adhäsionsphase der Zellen erlaubt der MTS-Test einen Rückschluss auf die Zellzahl über die Extinktion⁴⁴. Die Quantifizierung erfolgte anhand einer mit unterschiedlichen Zellzahlen erstellten Standardreihe (Abb. 31).

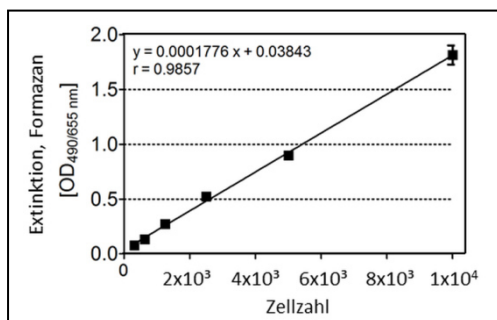


Abb. 31 Kalibriergerade zur MTS-Bestimmung.

Die Bestimmung der Zellzahl wurde an den Tagen 1, 2 und 3 nach der Aussaat durchgeführt. Dazu wurde die auf den Proben befindliche Expansionslösung durch 300 µl MTS-Lösung ausgetauscht (MTS-Lösung = 10% MTS in DMEM, 10% hi-FKS) und die Proben für 2 h bei 37°C im CO₂-Brutschrank inkubiert. Anschließend wurden je 100 µl der Reaktionslösung in eine 96-Wellplatte überführt und die Extinktion (OD) bei 490/655 nm gemessen.

4.2.2.5. AKTIVITÄTSBESTIMMUNG DER ALKALISCHEN PHOSPHATASE (TNAP)

Die Alkalische Phosphatase (auch *tissue non-specific alkaline phosphatase*, TNAP) ist ein membranständiges Ektoenzym und dient als früher Differenzierungsmarker. Die alkalische Phosphatase wird von den frühen Osteoblasten gebildet und katalysiert die Hydrolyse organischer Phosphorsäureester unter Freisetzung von Phosphat. Die TNAP-Aktivität wurde durch eine colorimetrische Bestimmung über die Bildung von p-Nitrophenol aus p-Nitrophenolphosphat (Abb. 32) ermittelt.

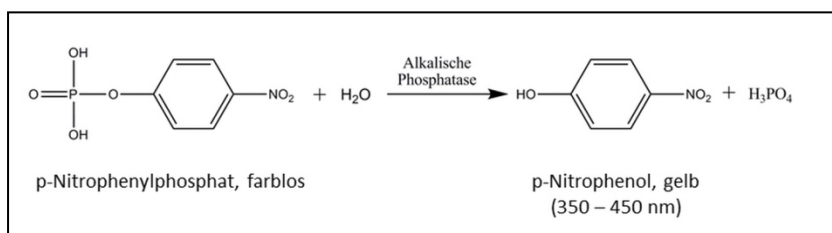


Abb. 32 TNAP-Aktivität. Die alkalische Phosphatase hydrolysiert p-Nitrophenolphosphat zu p-Nitrophenol unter der Freisetzung von anorganischem Phosphat, nach³⁰⁵, modifiziert.

Die Bestimmung der TNAP-Aktivität erfolgte an den Tagen 8, 11 und 15 nach der Aussaat. Dazu wurde das Enzym durch einen Zellaufschluss aus der Cytoplasmamembran herausgelöst, indem die Proben für 10 min bei Raumtemperatur mit Lysepuffer (enthält 1,5 M Tris-HCl, pH 10; 1 mM ZnCl₂; 1 mM MgCl₂; 1% Triton X-100; 1% Aprotinin; 1% Phenylmethylsulfonylfluorid) inkubiert wurden. Nach 30 min Zentrifugation wurde das Lysat zur TNAP- und Proteinbestimmung genutzt. Je 10 µl Lysat wurden in einer

Mikrotiterplatte (MTP) mit 100 μl TNAP-Aktivitätspuffer (enthält 0,1 M Diethanolamin, pH 9,8; 0,1% Triton X-100; 7,6 mM p-Nitrophenolphosphat) versetzt und 30 min bei 37°C inkubiert. Die Reaktion wurde mit 100 μl NaOH gestoppt und die Extinktion bei 405/655 nm gemessen. Zur Berechnung der spezifischen Enzymaktivität musste zusätzlich die Proteinkonzentration aus dem Lysat bestimmt werden⁴⁴. Die Bestimmung der *Proteinkonzentration nach Bradford* erfolgte mit dem Roti[®]-Quant-Enzymkit (Roti[®]-Quant, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe). Grundlage ist die Überführung des kationischen Zustandes des Farbstoffes Coomassie Brilliant Blau-G250 in den anionischen Zustand, indem der Farbstoff an kationische oder hydrophobe Seitengruppen von Proteinen bindet^{166,306}.

Die Berechnung sowohl der Proteinkonzentration als auch der TNAP-Aktivität erfolgte aus linearen Kalibrierkurven, die mit bovinem Serumalbumin (BSA) erstellt wurden. Die spezifische TNAP-Aktivität wurde in $\text{mU} \cdot \text{mg}^{-1}$ Protein und als Volumenaktivität in $\text{mU} \cdot \text{ml}^{-1}$ angegeben.

4.2.2.6. CALCIUM- UND PHOSPHATBESTIMMUNG

Die Freisetzung von Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen erfolgt ausschließlich durch reife Osteoblasten. Die Bestimmung der Mineralakkumulation dient als später Differenzierungsmarker. Die Ionenkonzentrationen wurden an den Tagen 18, 22 und 25 nach der Aussaat photometrisch mit kommerziellen Kits quantifiziert (beide von Greiner Diagnostics, Bahlingen). Grundlage der Calcium-Bestimmung ist die komplexometrische Reaktion von Ca^{2+} -Ionen mit o-Kresolphthalein, aus der ein violette Produkt hervorgeht. Die photometrische Bestimmung erfolgt bei einer Wellenlänge von 570 nm. Die Bestimmung der PO_4^{3-} -Konzentration beruht auf der Komplexbildung des Phosphates mit Ammoniummolybdat. Es bildet sich ein gelber Niederschlag aus Ammoniummolybdophosphat, der bei 340 nm sein Absorptionsmaximum zeigt.

Zur Bestimmung der Mineralakkumulation wurden die Zellen mit PBS gewaschen, getrocknet und für 24 h mit 0,5 M HCl bei einer Temperatur von 4°C inkubiert. Die Lysate wurden zentrifugiert und je 2 μl Lysat mit 200 μl Reagenz zur Reaktion gebracht und photometrisch gemessen. Die Bestimmung der Ionenkonzentration erfolgte anhand der entsprechenden Kalibriergeraden^{44,293}.

4.2.2.7. BESTIMMUNG DER PROSTAGLANDIN-E₂-KONZENTRATION

Das Gewebshormon Prostaglandin E₂ (PGE₂) ist eines der Hauptprostaglandine, welches in das Entzündungsgeschehen involviert ist. Es dient folglich als Marker-Verbindung für den Grad des zellulären Stresses.

Die Bestimmung der PGE₂-Konzentration wurde von Dr. Carolin Noack und Carolin Preißler mit dem von Dieter *et al.* entwickelten kompetitiven Enzymimmunoassays (*Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA*)³⁰⁷ an den Tagen 1, 2 und 3 nach der Aussaat der hMSC durchgeführt. Dazu wurde ein PGE₂/BSA-Komplex auf der Oberfläche der MTP gebunden und mit BSA blockiert. Im nächsten Schritt erfolgten die Zugabe des primären Antikörpers und das gleiche Volumen des Überstandes der Probe (Expansionsmedium) auf die MTP mit einer nachfolgenden Inkubation für 24 h. Dabei gilt, dass je mehr PGE₂ die Probe enthielt, desto höher der Verbrauch des primären Antikörpers ausfällt, der PGE₂ bindet. Der verbleibende primäre Antikörper bindet an den immobilisierten PGE₂/BSA-Komplex. Nach der Inkubationszeit wurde ein biotinylierter, sekundärer Antikörper zur Reaktionslösung hinzugegeben (Inkubationszeit: 2 h). Dieser bindet den primären Antikörper überall dort, wo er an den primären Antikörper auf der MTP binden konnte. Für die detektierbare Farbreaktion wurde anschließend ein Streptavidin-HRP-Komplex zugegeben, der an Biotin bindet und nochmals für 2 h inkubiert. Im letzten Schritt erfolgte die Zugabe von o-Phenylendiamin (OPD). Die orange-gelben Komplexe wurden bei 490 nm detektiert. Das Prinzip der kompetitiven ELISA ist nochmals in Abb. 33 skizziert.

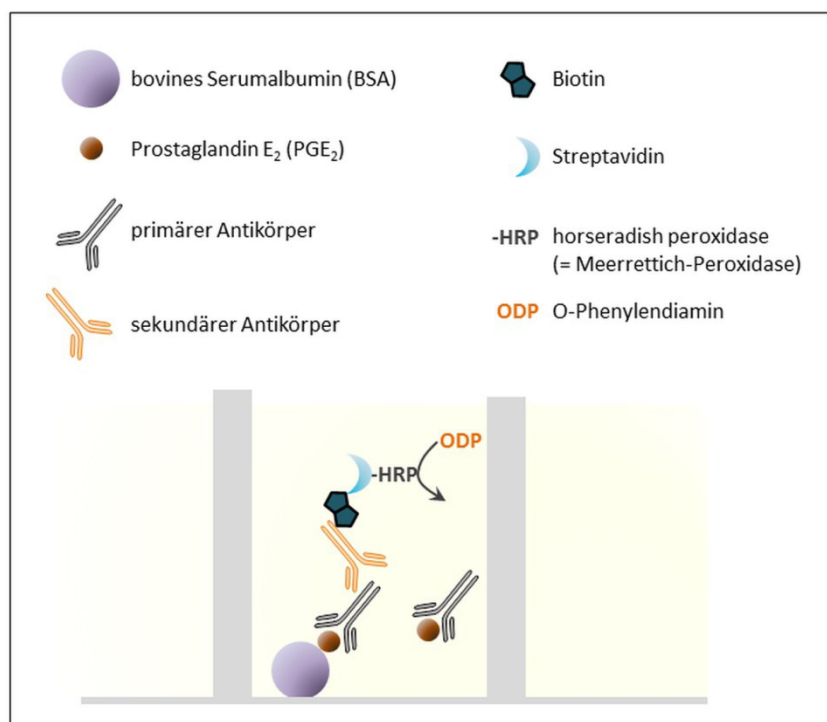


Abb. 33 Quantifizierung von PGE₂ mittels kompetitiver ELISA nach Dieter et al.³⁰⁷. Das Verhältnis zwischen PGE₂ und Signalstärke (Extinktion) des Komplexes ist umgekehrt proportional, d.h. je geringer die Extinktion, desto größer die Menge von PGE₂; in Anlehnung an⁴⁴.

Tab. 16 Verwendete Antikörper für kompetitive ELISA zur PGE₂-Bestimmung.

Antikörper	Wirtsspezies	Konzentration	Hersteller
Primärer Antikörper (Maus-anti-PGE ₂)	Maus, polyklonal	10 µg · ml ⁻¹	Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Sekundärer Antikörper (Schaf-anti-Maus-IgG, Biotin-konjugiert)	Schaf, polyklonal	1:1000 verdünnt	Dianova GmbH, Hamburg

4.2.2.8. IMMUNFLUORESCENZFÄRBUNG

Die Immunfluoreszenzfärbung (IF-Färbung) dient zum spezifischen Nachweis von Zell- und Matrixproteinen. Aus den Ergebnissen der IF-Färbung kann sowohl die Zellmorphologie als auch auf die Dichte der Besiedlung geschlossen werden. In der vorliegenden Arbeit erfolgte eine spezifische Anfärbung der Zellkerne und der Strukturproteine Aktin und Vinculin. Die Färbung fand 24 h nach der Aussaat mit Fluoreszenzfarbstoffen statt.

Die Zellen wurden mit PBS gespült und für 10 min in 4%iger Paraformaldehydlösung (PFA) fixiert. Um die Detektion der Zellproteine zu ermöglichen, muss nach der Fixierung mit PFA ein Permeabilisierungsschritt erfolgen. Dazu wurden die Zellen für 20 min in Permeabilisierungspuffer inkubiert. Die unspezifischen Bindungsstellen wurden mit BSA blockiert. Die primären Antikörper (Maus, anti-Vinculin-IgG) wurden in Blockpuffer verdünnt und die fixierten Zellen für 1 h lichtgeschützt inkubiert. Nach dem Waschen mit PBS wurden die Zellen für weitere 10 min mit Blockpuffer versetzt. Im nächsten Schritt wurden die spezifischen sekundären Antikörper (AlexaFluor-568 Ziege, anti-Maus-IgG und AlexaFluor-488 Phalloidin) in Blockpuffer verdünnt und die Zellen wiederum für 1 h lichtgeschützt inkubiert. Um die Zellkerne anzufärben wurden die Proben nachfolgend mit 4',6-Diamidino-2-phenylindol (*DAPI*, $c = 0,2 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$

PBS) für 15 min bei 25°C versetzt. Nach dem abschließenden Waschen mit PBS wurden die Objekte in Mowiol 4-88 eingebettet.

Die Detektion der Zellproteine erfolgte am Umkehr-Fluoreszenzmikroskop mit Digitalkamera (vgl. Kap. 4.2.1, Mikroskope, S. 76) bei Nutzung der folgenden Filter: Anregung/Emission 546/590 nm für AlexaFluor-568, 450-490/515-565 nm für Alexafluor-488, 365/420 für DAPI.

Tab. 17 Für Immunfluoreszenzfärbung verwendete Antikörper.

Antikörper	Wirtsspezies	Konzentration	Hersteller
anti-Vinculin-IgG, Klon hVinI	Maus, monoklonal	64 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	Sigma-Aldrich, Steinheim
AlexaFluor-568, anti-Maus für Vinculin	Ziege, monoklonal	10 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$	Invitrogen GmbH, Karlsruhe
Phalloidin-AlexaFluor-488, anti-Maus-IgG für Aktin	Ziege ^{lxxiii} , monoklonal	5 U $\cdot \text{ml}^{-1}$	Invitrogen GmbH, Karlsruhe

Tab. 18 Für Immunfluoreszenzfärbung verwendete Pufferlösungen.

Puffer	Zusammensetzung	Hersteller
Blockpuffer	1% BSA, 0,05% Tween-20 in PBS	Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA
Permeabilisierungspuffer	0,1% Triton X-100 in PBS	Sigma-Aldrich, Saint Louis, USA

4.2.3. Quantifizierung der Zellgrößen

Anhand von mindestens vier mikroskopischen Abbildungen aus den IF-Abbildungen (Kap. 4.2.2.8) wurden die Zellgrößen (als Fläche) ermittelt. Die Bildbearbeitung und Analyse wurde in Matlab[®], Version R2012a (Mathworks, Natick, USA) mit Hilfe eigener Scripte vorgenommen. Dazu wurden (freiliegende, einzelne) Zellen mit einem detektierbaren Zellkern manuell mit einem Freihand-Auswahlwerkzeug markiert. Die Größe der Zellen wurde anhand der Anzahl der Pixel der markierten Flächen berechnet.

Für die Darstellung einer Größenverteilung wurden zwischen 16 und 28 Zellen einer Probengruppe (reines PEEK, homogene oder strukturierte Oberfläche) vermessen.

4.2.4. Statistische Auswertung

Die Erhebung der Messdaten erfolgte aus unabhängigen Experimenten. Für die Einzelexperimente wurden hMSC von mindestens sieben Spendern genutzt (außer im Falle der Bestimmung der Mineralakkumulation; hier wurden die Zellen von drei Spendern verwendet). Die genaue Anzahl der Spender ist in den Beschriftungen der Abbildungen mit angegeben. Jedes Einzelexperiment wurde zudem als Dreifachbestimmung durchgeführt.

Die statistische Auswertung erfolgte mit PRISM GraphPad 5.04 (STATCON, Witzenhausen) durch Dr. Ute Hempel. Statistische Unterschiede wurden mit einer *Varianzanalyse* (als zweifaktorielle ANOVA) und anschließendem *Bonferroni-Test* analysiert. Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM) angegeben. Die Signifikanzstufen wurden in den Diagrammen wie folgt markiert: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$.

^{lxxiii} AlexFluor-488 ist ein primärer Antikörper, Phalloidin (aus dem Knollenblätterpilz) bindet an Aktin.

4.3. Ergebnisse und Diskussion

Während es sich bei den Zellen der frühen Reaktion noch um die undifferenzierten hMSC handelt, wurde anhand der Experimente zur fortgeschrittenen Reaktion untersucht, inwiefern die osteogene Differenzierung der hMSC vorangeschritten ist.

4.3.1. Frühe Reaktion der hMSC auf PEEK und PEEK/Ti

4.3.1.1. GRÖÖE UND MORPHOLOGIE DER ZELLEN

Fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen ermöglichen die Beurteilung der frühen Zellreaktion auf die zu untersuchenden Oberflächen anhand der beobachtbaren Zelldichte und der Morphologie. Die Immunfluoreszenzfärbung erfolgte 24 h nach der Aussaat der hMSC auf die PEEK-basierten Substrate. Es konnte festgestellt werden, dass die Zellen zwar auf allen drei untersuchten Flächen adhärten, allerdings deutliche Unterschiede bezüglich deren Form und Größe auszumachen waren (Abb. 34).

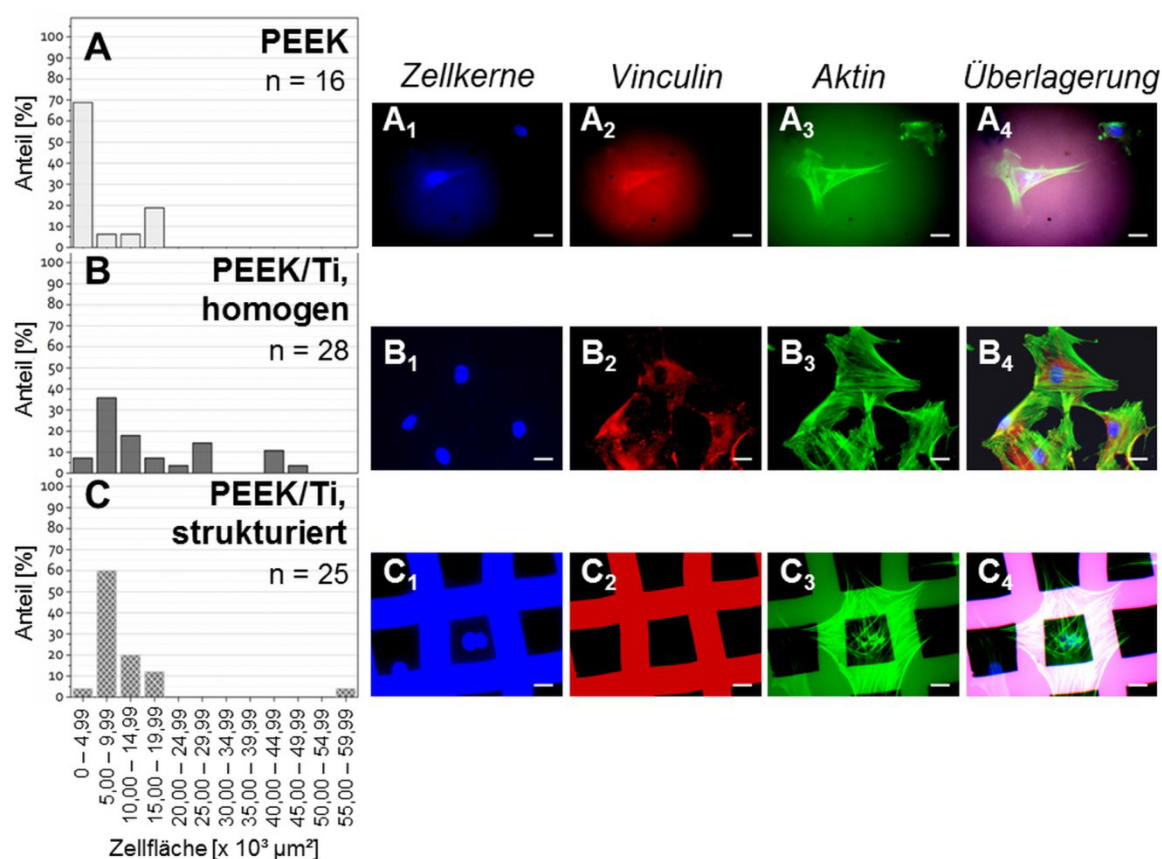


Abb. 34 Darstellung der Verteilung der Zellgrößen auf den drei Substraten (A – C) und der Zellmorphologie durch Immunfluoreszenz (A₁ – C₄). Spezifische Färbung der Zellkerne mit DAPI (A₁ – C₁) und der Strukturproteine Vinculin durch AlexaFluor-568 und Aktin durch AlexaFluor-488 (A₂ – C₂ und A₃ – C₃). In A₄ – C₄ wurden alle drei Komponenten zu einer Darstellung vereinigt. Maßstabsbalken: 20 μm.

Die hMSC auf der unbeschichteten PEEK-Oberfläche waren im Vergleich zu beiden PEEK/Ti-Spezies deutlich kleiner und traten überwiegend vereinzelt und in geringerer Anzahl auf. Die Morphologie der hMSC auf PEEK zeigte sich 24 h nach der Aussaat kompakt und mit wenig prominenten Zellfortsätzen. Wie aus Abb. 34A hervorgeht, wiesen fast 70% der Zellen Flächen von unter $5,0 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ auf. Generell

zeigte sich auf diesem Substrat eine schmale Verteilung der Zellflächen, wobei die maximale detektierte Fläche unterhalb von $20,0 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ lag.

Demgegenüber konnte auf den homogen mit Ti beschichteten PEEK-Folien eine sehr breite Verteilung der Zellflächen nachgewiesen werden (Abb. 34B). Mit rund 36% traten am häufigsten Zellgrößen zwischen $5,0 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ und $9,99 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ auf. Allerdings konnte festgestellt werden, dass rund 39% der Zellen Flächen von $15,0 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ überschritten. Die größte detektierte hMSC auf PEEK/Ti_{homogen} war $47 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ groß.

Auf der strukturierten Ti-Oberfläche zeigte sich in 94% der Zellen eine ähnlich schmale Verteilung der Zellgrößen wie auf der reinen PEEK-Folie, jedoch mit dem Unterschied, dass 60% der hMSC Größen zwischen $5,0 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ und $9,99 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ erreichten und die Zellen somit durchschnittlich größere Flächen einnahmen. Ein kleiner Teil der hMSC konnte zudem vergleichsweise große Flächen von mehr als $55,0 \cdot 10^3 \mu\text{m}^2$ erreichen. Eine solche Zelle ist in Abb. 34C₃ dargestellt. Morphologisch unterschieden sich die hMSC auf beiden beschichteten Folien erkennbar von den hMSC des reinen PEEK-Substrates. Die Zellen zeigten auf den PEEK/Ti-Folien bereits eine deutliche Ausbreitung und bildeten lamellipodienartige^{lxxiv} Zellfortsätze zu benachbarten hMSC aus, während die hMSC auf der PEEK-Folie durch ihr vereinzelt Auftreten auffielen. Die hMSC auf der strukturierten PEEK/Ti-Folie überbrückten die freien PEEK-Flächen und platzierten ihre Zellfortsätze häufig auf den Ti-Flächen (Abb. 34C₄). Die Aktinfilamente der auf den PEEK/Ti-Folien ausgesäten hMSC waren in überwiegend parallelen Bündeln organisiert und gleichmäßig über die gesamten Zellen verteilt (Abb. 34B₃ & C₃ und Abb. 35), während sich diese der hMSC auf PEEK eher an den Rädern der Zellen konzentrierten (Abb. 34A₃). Unabhängig von der Oberfläche war der größte Teil des Vinculin in Zellkernnähe lokalisiert. Fokale Adhäsionskomplexe^{lxxv}, die über die spezifische Aktin- und Vinculinfärbung nachgewiesen wurden, konnten aufgrund der starken Eigenfluoreszenz des PEEK³¹⁰ bei der Emissionswellenlänge von AlexaFluor-568 (Fluoreszenzfarbstoff für Vinculin) nur auf der homogenen Ti-Schicht detektiert werden (Abb. 35).

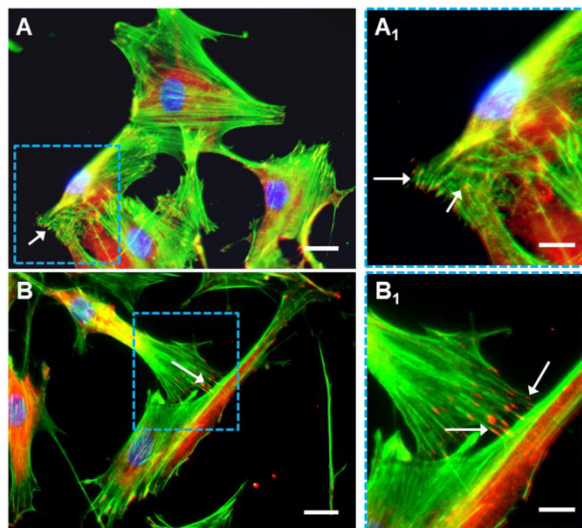


Abb. 35 hMSC auf der homogenen Ti-Oberfläche des PEEK/Ti-Verbundmaterials, (A₁) und (B₁) sind die entsprechenden Vergrößerungen der blau markierten Bildbereiche. Die Zellen zeigen eine deutliche Spreitung und bilden zahlreiche lamellipodienartige Zellfortsätze aus. An den Enden der Fortsätze befinden sich fokale Adhäsionskomplexe (durch Pfeile markiert), die zur Verankerung auf dem Substrat dienen. Maßstabsbalken: Originale: 20 μm , Vergrößerungen: 10 μm .

^{lxxiv} Lamellipodien (auch Scheinfüßchen) sind flache, veränderliche Fortsätze adhärenter Zellen, die den Zellen eine aktive amöboide Fortbewegung ermöglichen³⁰⁸.

^{lxxv} Die Zelladhäsion spielt bei wichtigen biologischen Prozessen eine wesentliche Rolle (z.B. Zellmotilität, Zellproliferation, Zelldifferenzierung). Die Adhäsion an die extrazelluläre Matrix (ECM) erfolgt über fokale Adhäsionskomplexe. Bestandteile der fokalen Adhäsionskomplexe sind Bündel von Aktinfilamenten und Transmembran-Rezeptoren der Integrinfamilie, die über einen multi-molekularen Komplex zahlreicher Proteinen verbunden sind (z.B. Strukturproteine wie Vinculin und Filamin, regulatorische Proteine wie die fokale Adhäsionskinase, und zytosplasmatische Proteine wie Paxillin und Talin)³⁰⁹.

4.3.1.2. MTS-ASSAY ZUR BESTIMMUNG DER ANZAHL ADHÄRENTER ZELLEN

Die frühe Reaktion der hMSC auf die Oberflächen wurde zudem anhand der metabolischen Aktivität über den MTS-Test untersucht (vgl. Kap. 4.2.2.4, S. 77), der die Quantifizierung der Anzahl vitaler und adhärenter hMSC erlaubt. Während sich die Zellzahlen auf PEEK mit rund 1200 Zellen/cm² im Vergleich zu den PEEK/Ti-Spezies mit jeweils rund 1500 Zellen/cm² nach 24 h Kultur nur geringfügig unterschieden, konnten nach 48 h und 72 h signifikant weniger adhären hMSC auf der unbeschichteten PEEK-Folie nachgewiesen werden (Abb. 36A). Bei beiden PEEK/Ti-Verbänden zeigte sich über alle Zeitpunkte hinweg eine gleichmäßige Zunahme adhärenter hMSC, wobei (auf die absoluten Zellzahlen bezogen) die strukturierte Oberfläche einen leichten, aber nicht signifikanten Vorteil zur homogenen Fläche aufwies. Die Anzahl adhärenter hMSC auf PEEK stagnierte zwischen 24 h und 48 h, zeigte aber bis zum dritten Zeitpunkt einen zu den PEEK/Ti-Spezies vergleichbaren Zuwachs (Abb. 36B). Aufgrund der zeitlich verzögerten Proliferation auf PEEK entsprach die Zellzahl nach 72 h Kultur mit 2260 ± 228 Zellen/cm² nur rund 58%, verglichen mit der Anzahl der Zellen auf der strukturierten PEEK/Ti-Folie, die mit 3908 ± 382 Zellen/cm² besiedelt war.

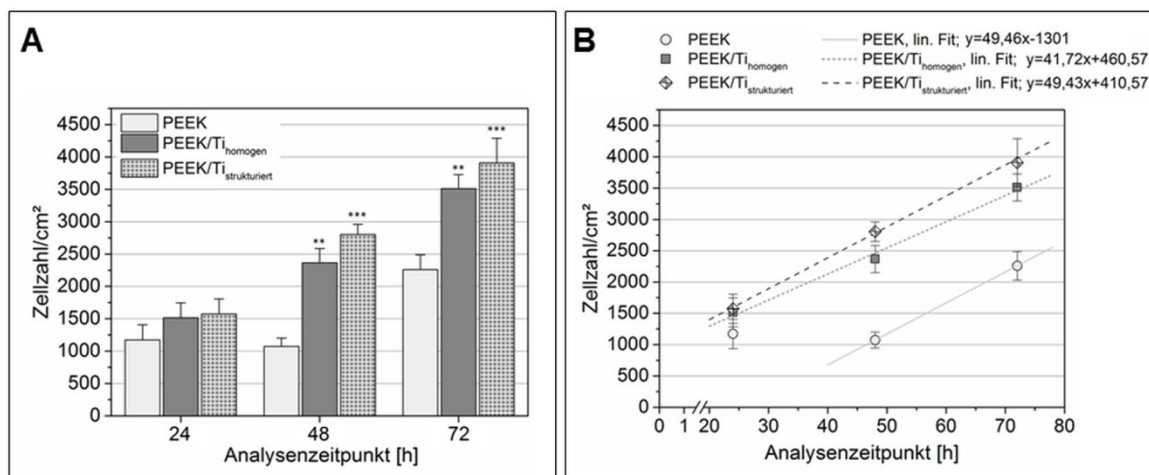


Abb. 36 MTS-Test; Anzahl adhärenter hMSC auf den PEEK-basierten Oberflächen nach 24, 48 und 72 h in Kultur. **(A)** Die PEEK/Ti-Spezies sind nach 48 und 72 h im Vergleich zur unbeschichteten PEEK-Folie mit signifikant höheren Zellzahlen besiedelt; Signifikanz zu PEEK: ** $p < 0,01$ und *** $p < 0,001$. **(B)** Lineare Zuwächse der Zellzahlen bei den PEEK/Ti-Verbänden, beim reinen PEEK erfolgt der Zuwachs adhärenter hMSC zeitlich verzögert, aber ab 48 h mit einem vergleichbaren Anstieg. Die Fehlerbalken repräsentieren die Mittelwerte \pm Standardfehler; $n = 9$.

4.3.1.3. PGE₂-BESTIMMUNG ALS MARKER FÜR ENTZÜNDLICHE PROZESSE

Die zeitlich verzögerte Zunahme der hMSC auf PEEK deutet darauf hin, dass die Zellen auf dieser Oberfläche während der ersten Stunden Faktoren ausgesetzt waren, die der Zelladhäsion und -proliferation entgegenwirkten. Die Adhäsion der hMSC auf Implantatoberflächen ist von zahlreichen Faktoren abhängig, wie der Benetzbarkeit des Materials, Topographie, Oberflächenladung und -energie, dem Vorhandensein funktioneller Gruppen und der Steifigkeit des Materials³¹¹. Wie eingangs erwähnt, besitzt der Kunststoff PEEK eine ausgeprägte thermische und chemische Stabilität und eine hydrophobe Oberfläche (vgl. Kap. 2.2.3, Polyetheretherketon (PEEK), S. 14f), die für die Proteinadsorption und Zelladhäsion eher nachteilig sind³¹². *Terheyden et al.* weisen ebenfalls darauf hin, dass gestörte Heilungsverläufe durch eine verlängerte Entzündungsphase gekennzeichnet sind³⁹. Prinzipiell ist das Vorhandensein entzündlicher Prozesse Bestandteil einer jeden Implantat-Gewebe-Wechselwirkung (vgl. Kap. 2.2.2 und Abb. 3, S. 11ff). Diese gehen mit einer verstärkten Sezernierung von Entzündungsmediatoren wie Zytokinen und Prostaglandinen einher. In der vorliegenden Arbeit diente das von den hMSC produzierte Prostaglandin E₂ (PGE₂) als Markerverbindung für das Vorhandensein eines Entzündungsgeschehens. Prostaglandine sind von der

Arachidonsäure abgeleitete Gewebshormone und als Mediatoren für zahlreiche immunologische Prozesse während der Entzündungsphase verantwortlich. So gehen Fieber, Schmerz, Rötung und Schwellung mit einer erhöhten PGE₂-Konzentration einher³¹³. Noack wies außerdem nach, dass zu hMSC exogen zugesetztes PGE₂ die Aktivität deren alkalischer Phosphatase (TNAP) und die Freisetzung von Ca²⁺ hemmt⁴⁴. In Abb. 37 wurde die zeitabhängige PGE₂-Freisetzung für die untersuchten Oberflächen dargestellt. Es wird deutlich, dass die hMSC bis 24 h nach der Aussaat die höchste Konzentration an PGE₂ freisetzen. An jedem Analysenzeitpunkt nahm die Konzentration für alle Spezies kontinuierlich um etwa 1000 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ ab (Abb. 37A). Wie im vorigen Abschnitt bereits erläutert, wurde aber anhand des MTS-Tests festgestellt, dass auf PEEK nach 48 h und 72 h signifikant weniger adhärenzte hMSC nachweisbar waren. Bei Betrachtung des PGE₂-Gehaltes pro Zelle wird somit deutlich, dass die von den hMSC auf der PEEK-Folie zelluläre PGE₂-Konzentration nach 48 h signifikant höher war, als die auf den beiden PEEK/Ti-Spezies sezernierten Gehalte (Abb. 37B). Nach 72 h tolerierten die Zellen ihre neue Umgebung, was sich in niedrigen PGE₂-Konzentrationen bei allen untersuchten Oberflächen zeigte.

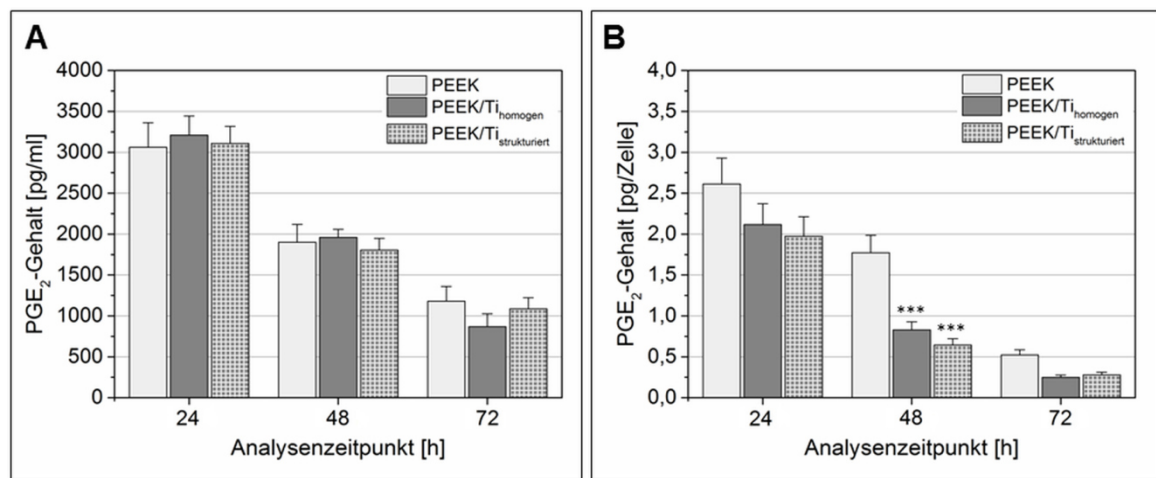


Abb. 37 PGE₂-Bestimmung nach 24, 48 und 72 h in Kultur. **(A)** Zeitabhängiger PGE₂-Gehalt als Volumenangabe. Die Gehalte sind zwar über alle Zeitpunkte vergleichbar, die absoluten Zellzahlen allerdings auf PEEK deutlich geringer (vgl. Abb. 36). **(B)** Auf die Einzelzelle normalisierte PGE₂-Gehalte. Die Anzahl der hMSC pro Analysenzeitpunkt wurde aus dem MTS-Test entnommen; Signifikanz zu PEEK: *** $p < 0,001$. Die Fehlerbalken repräsentieren die Mittelwerte \pm Standardfehler; $n = 6$.

Somit ist eine Korrelation der PGE₂-Gehalte mit der Proliferationsfähigkeit der hMSC gegeben. Die niedrigen Zellzahlen auf PEEK gingen mit einer hohen Konzentration des Prostaglandins einher, während auf den beiden PEEK/Ti-Spezies die kontinuierliche Abnahme des PGE₂-Gehaltes eine stetige Zunahme der Zellzahlen ermöglichte (vgl. Abb. 36 und Abb. 37). Daraus lässt sich schließen, dass das längere Vorhandensein eines Entzündungsmilieus die Adhäsion der hMSC zusätzlich verzögert hat.

4.3.2. Fortgeschrittene Reaktion der hMSC auf PEEK und PEEK/Ti

4.3.2.1. BESTIMMUNG DER TNAP ALS FRÜHEN DIFFERENZIERUNGSMARKER

Ab dem 4. Kulturtag erfolgte die osteogene Differenzierung der hMSC (vgl. Kap. 4.2.2.3, S. 77). Die Quantifizierung des von den hMSC exprimierten Enzyms TNAP (tissue non-specific alkaline phosphatase) diente als Markerverbindung für die frühe Differenzierung der hMSC zu Osteoblasten. Die Bestimmung der TNAP erfolgte 8, 11 und 15 Tage nach der Aussaat der Zellen auf die zu untersuchenden Oberflächen. Bei Betrachtung der Volumenaktivität (Abb. 38A) war festzustellen, dass diese bei der unbeschichteten PEEK-Folie im Vergleich zu den PEEK/Ti-Spezies an allen Zeitpunkten kleiner war. Aufgrund der großen Spender-spezifischen Streuung der TNAP-Aktivität der hMSC waren die Unterschiede zwischen den drei

Spezies allerdings nicht signifikant. Dennoch kann, aufgrund der Ergebnisse des MTS-Tests (Kap. 4.3.1.2, S. 84), davon ausgegangen werden, dass die Anzahl adhärenter Zellen auf PEEK geringer ist als auf den PEEK/Ti-Verbänden. Die kleinere Zellzahl führte im Umkehrschluss zu einer verminderten TNAP-Aktivität im Reaktionsvolumen. Der Bezug der Resultate auf den tatsächlichen Proteingehalt, der wiederum von der absoluten Zellzahl abhängig ist, unterstützt die Aussagen. Aus Abb. 38B geht eindeutig hervor, dass keine Unterschiede der TNAP-Aktivität (auf den Proteingehalt bezogen) der frühen Osteoblasten auf allen untersuchten Oberflächen pro Analysenzeitpunkt feststellbar waren. Aus den Ergebnissen geht ebenfalls hervor, dass der größte Anstieg der Enzymexpression zwischen Tag 11 und Tag 15 beobachtbar war.

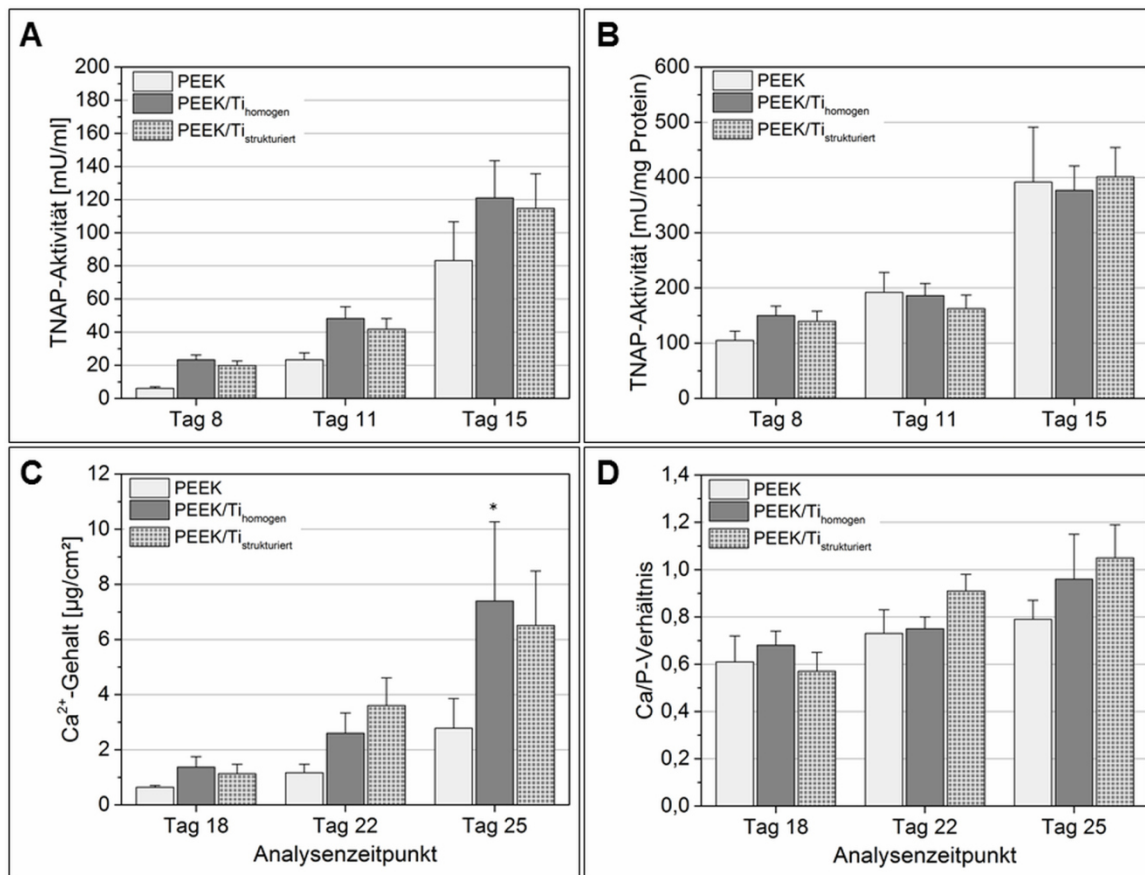


Abb. 38 (A) Bestimmung der zeitabhängigen TNAP-Aktivität, Ergebnis auf das Analysenvolumen bezogen. (B) Darstellung der auf den Proteingehalt der hMSC normierten TNAP-Aktivität; $n = 6$. (C) Ca^{2+} -Akkumulation im zeitlichen Verlauf und (D) Angabe des korrespondierenden Calcium-Phosphat-Verhältnis. Die Fehlerbalken repräsentieren die Mittelwerte \pm Standardfehler; $n = 3$.

4.3.2.2. BESTIMMUNG DER MINERALAKKUMULATION ALS NACHWEIS FÜR DIE OSTEOGENE DIFFERENZIERUNG

Die Sezernierung und Akkumulation von mineralischem Calcium und Phosphat kann nur bei erfolgreicher Differenzierung der hMSC zu Osteoblasten beobachtet werden. Die Bestimmung des Gehaltes an Ca^{2+} - und PO_4^{3-} -Ionen diente folglich als später Mineralisierungsmarker⁴⁴. Die Ergebnisse des freigesetzten Mineralgehaltes nach 18, 22 und 25 Tagen zeigten mit den zuvor bestimmten TNAP-Konzentrationen eine gute Korrelation (Abb. 38C). Wie zu erwarten, resultierten aus der geringeren Zellzahl auf PEEK und der im Vergleich zu den PEEK/Ti-Spezies kleineren Volumenaktivität der TNAP über alle Zeitpunkte geringere Calcium-Gehalte. Während die Osteoblasten auf der PEEK-Oberfläche bis zum Tag 25 einen Ca^{2+} -Gehalt

von $2,8 \pm 1,1 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^2$ freisetzten, wurden auf der homogen-beschichteten PEEK/Ti-Folie im selben Zeitraum $7,4 \pm 2,9 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^2$ akkumuliert. Das entspricht einem Faktor von 2,6.

Das Verhältnis von Ca^{2+} - zu PO_4^{3-} -Ionen^{lxxvi} nahm während des untersuchten Zeitraumes stetig zu und erreichte am letzten Analysenzeitpunkt einen Wert von rund 1,0 bei den PEEK/Ti-Verbänden und 0,8 auf PEEK (Abb. 38D). Das Ca/P-Verhältnis von Knochenapatit mit Werten zwischen 1,4 bis 1,6^{25,34} wird somit *in vitro* am Tag 25 nicht erreicht (vgl. auch Kap. 2.1.1, S. 5ff).

4.4. Zusammenfassung der Experimente zur *in vitro*-Biokompatibilität von PEEK und PEEK/Ti-Verbänden und Diskussion

Die Untersuchung der Biokompatibilität eines Material(systems) ist eine notwendige Grundbedingung, bevor es zu dessen klinischem Einsatz kommen kann. In den durchgeführten *in vitro*-Tests erfolgte die Überprüfung von PEEK/Ti-Verbänden hinsichtlich ihrer Verträglichkeit auf humane mesenchymale Stromazellen im Vergleich zur unbehandelten PEEK-Folie. Die Testreihe umfasste Experimente zur Zellmorphologie und -proliferation, zur osteogenen Differenzierung und der Analyse der Markersubstanz Prostaglandin E₂ für das mögliche Vorhandensein eines entzündlichen Mikromilieus.

Anhand der Versuchsreihe konnte zusammenfassend festgestellt werden, dass die PEEK/Ti-Verbände der unbehandelten PEEK-Folie hinsichtlich der Biokompatibilität deutlich überlegen waren. Die Ergebnisse beider PEEK/Ti-Spezies unterschieden sich hierbei nicht. Es wurde nachgewiesen, dass die hMSC auf der unbehandelten PEEK-Folie im Vergleich eine langsamere Adhärenz zeigten. Morphologisch erschienen die Zellen 24 h nach der Aussaat klein und kompakt und fielen durch ihr vereinzelt Auftreten auf. Demgegenüber entwickelten sich auf beiden PEEK/Ti-Spezies direkte Zell-Zell-Kontakte (vgl. Abb. 34 und Abb. 35, S. 82f). Während die Anzahl adhärenter hMSC nach 24 h auf PEEK im Vergleich zu PEEK/Ti nur leicht geringer war, kam es erst nach 48 h zu einer deutlichen Zunahme der Zellen. Da auf den PEEK/Ti-Verbänden eine über alle Zeiträume stetige Zellproliferation nachweisbar war, befanden sich folglich nach 72 h mehr hMSC auf diesen Oberflächen. Aus den Anstiegen der linearen Regressionsgeraden in Abb. 36B kann aber geschlussfolgert werden, dass das Zellwachstum auf PEEK zwar verzögert, dann aber mit ähnlicher Linearität stattfand.

Die langsamere Zellproliferation ist somit die Folge von Einflüssen, denen die Zellen auf PEEK aber nicht in diesem Maße auf den PEEK/Ti-Verbänden ausgesetzt waren. Zum einen kommt hier die hydrophobe und inerte Oberfläche des reinen Kunststoffes in Betracht. Wie eingangs beschrieben, ist der erste Schritt der Wechselwirkung zwischen Implantat und biologischem System die Adsorption von Wasser und Ionen an die Oberfläche, der bereits nach Mikro- und Millisekunden Proteine folgen (vgl. auch Kap. 2.2.2, S. 11ff). Die Proteinadsorption bestimmt maßgeblich die Biokompatibilität des Materials. Der Prozess ist komplex und abhängig vom Protein selbst (Konformation, Ladungsverteilung, Stärke intramolekularer Bindungen), von den Oberflächeneigenschaften (funktionelle Bindungen, Rauigkeit, Ladung, Benetzbarkeit) und auch dem Medium, in dem sich die biologische Phase befindet (pH-Wert und Ionenkonzentration). Die Zellen binden direkt über Integrine an die adsorbierte Proteinschicht. Bei Nichtvorhandensein einer Proteinschicht können die Zellen dennoch über elektrostatische oder ionische Wechselwirkung, bzw. über nicht-Integrin-vermittelte Bindungen an die Oberfläche koppeln. Das Überleben der Zellen hängt dann maßgeblich davon ab, inwiefern die durch die Zellen sezernierten Proteine an der Oberfläche adhären können. Die günstigsten Bedingungen für die Proteinadsorption und Zelladhäsion weisen Oberflächen mit einem Kontaktwinkel zwischen 40° und 70° auf, da dann die Konformation der Proteine erhalten bleibt³¹¹.

Die unbehandelte PEEK-Oberfläche zeigte einen Randwinkel von 83° und war damit hydrophob. Es wäre somit möglich, dass es zu Konformationsänderungen der adsorbierten Proteine gekommen ist, und

^{lxxvi} Das Ca/P-Verhältnis wurde aus den jeweiligen Ionenkonzentrationen in $\mu\text{mol} \cdot \text{cm}^{-2}$ berechnet.

aufgrund dessen die Zelladhäsion verzögert stattfand. Allerdings musste festgestellt werden, dass sich die Randwinkel aller untersuchten PEEK-basierten Oberflächen nicht drastisch unterschied. Insbesondere die strukturierte PEEK/Ti-Spezies wies eine ähnliche Hydrophobie (vgl. Abb. 24, S. 63) auf, und zeigte dennoch eine signifikante bessere Biokompatibilität als die unbehandelte PEEK-Folie. Somit können die (vergleichsweise geringen) Unterschiede der Benetzbarkeit kaum für das abweichende Verhalten der hMSC auf den PEEK/Ti-Verbänden im Vergleich zur unbehandelten PEEK-Folie verantwortlich sein.

Aus den Experimenten zur frühen Reaktion der hMSC auf die Oberflächen wurde eine Korrelation zwischen der Zellzahl und der Konzentration des Entzündungsmarkers PGE₂ deutlich (vgl. Kap. 4.3.1.2 und 4.3.1.3, S. 84ff). So konnte gezeigt werden, dass mit der verzögerten Zelladhäsion auf den unbehandelten PEEK-Folien während der ersten 48 h eine vergleichsweise hohe PGE₂-Konzentration einherging. Die Konzentration des Gewebshormons war auch nach 72 h auf PEEK noch höher, allerdings war der Unterschied nicht mehr statistisch bedeutsam. Das legt die Vermutung nahe, dass die sezernierten Entzündungsmediatoren auf der unbehandelten PEEK-Folie die Zelladhäsion verzögerten. Zu diesem Schluss kamen auch die Autoren um *Olivares-Navarette et al.* in ihrer aktuellen Veröffentlichung³¹⁴. Ähnlich wie in der vorliegenden Arbeit untersuchten die Wissenschaftler die *in vitro*-Biokompatibilität von PEEK im Vergleich zu einer Ti-Legierung^{lxxvii} anhand von hMSC. Der Schwerpunkt der Arbeit lag auf der Evaluation des Entzündungsmilieus in der Frühphase der Zellreaktion^{lxxviii}, welches anhand der Konzentration verschiedener Interleukine (IL1 β , IL6, IL8 und IL10) untersucht wurde. Die Autoren stellten ebenfalls fest, dass die auf PEEK vergleichsweise niedrigen Zellzahlen mit dem Vorhandensein eines entzündlichen Milieus einhergingen. So war die Konzentration der pro-inflammatorischen Cytokine (IL1 β , IL6 und IL8) signifikant höher als auf den TiAlV-Legierungen. Hohe Werte pro-inflammatorischer Komponenten, insbesondere des Interleukins IL1 β , werden mit einer verstärkten Ausbildung von Bindegewebe verbunden. Außerdem zeigen chronische Entzündungen ebenfalls hohe IL1 β -, IL6- und IL8-Konzentrationen. Demgegenüber war der Gehalt des anti-inflammatorisch wirkenden IL10 auf PEEK niedriger. Diese Ergebnisse wurden durch die Analyse der Genexpression für zahlreiche Proteine, die mit Entzündungsprozessen, DNA-Schäden, Nekrose^{lxxix} und Apoptose^{lxxx} einhergehen, unterstützt. Während es auf beiden TiAlV-Spezies zu einer Herunterregulation der entsprechenden Genexpressionen kam, zeigte sich auf PEEK eine Hochregulation fast aller untersuchten Faktoren. Die Freisetzung eines entzündlichen Mikromilieus auf PEEK durch die hMSC selbst scheint somit tatsächlich zu Lasten des Zellwachstums zu gehen.

Wenn für alle Flächen von ähnlichen Proliferationsraten der hMSC ausgegangen wird, wurde der beobachtete Rückstand der Anzahl der Zellen auf PEEK nicht mehr aufgeholt. Dieses musste konsequenterweise zu einer geringeren Konzentration der alkalischen Phosphatase (TNAP) und nachfolgend zu einer niedrigeren Akkumulation anorganischer Ca²⁺- und PO₄³⁻-Ionen führen, was auch der Fall war (vgl. Abb. 38A & C, S. 86). Auch in diesem Fall stimmten die eigenen Ergebnisse mit den Resultaten von *Olivares-Navarette et al.* überein. Die Gruppe bestimmte zwar nicht die Calcium- und Phosphat-Konzentration, allerdings diente die Menge an Osteocalcin als später Differenzierungsmarker. Da Osteocalcin wesentlich für die Kristallisation von Apatit ist (siehe auch Kap. 2.1.2.1, S. 8), lässt die nachgewiesene geringere Osteocalcin-Freisetzung auf PEEK im Vergleich zu TiAlV eine niedrigere Mineraldeposition schließen.

Hinsichtlich der präzipitierten Ca/P-Phase wurde in der vorliegenden Arbeit festgestellt, dass diese mit einem Ca/P-Verhältnis von etwa 1,0 nicht der stöchiometrischen Zusammensetzung von Knochen- oder Hydroxylapatit entsprach (vgl. Abb. 38D, S. 86). Detaillierte Angaben zu verschiedenen Calciumphosphaten können dem Übersichtsartikel von *Dorozhkin* entnommen werden²⁵. Das Ca/P-Verhältnis von 0,5

^{lxxvii} Es handelte sich um zwei TiAlV-Legierungen mit verschiedenen Oberflächen-Rauigkeiten Sa, TiAlV mit einer glatten ($S_a = 0,27 \pm 0,01 \mu m$) und einer rauen Oberfläche ($S_a = 2,74 \pm 0,18 \mu m$). Die untersuchte PEEK-Folie war (mit $S_a = 0,43 \pm 0,07 \mu m$) etwas rauer als die glatte TiAlV-Probe.

^{lxxviii} Analyse der Cytokine 24 h nach der Aussaat mit ELISA. Analyse der mRNAs 12 h nach Konfluenz auf TCPS mit PCR.

^{lxxix} Nekrose: Zelltod aufgrund akuter zellulärer Verletzung (insbesondere Zerstörung der Zellorganellen). Die Freisetzung zellulärer Komponenten führt zur Entzündungsreaktion.

^{lxxx} Apoptose: genetisch programmierter Zelltod; die Organellen und Membranen bleiben intakt; keine Entzündungsreaktion.

entspricht demnach Monocalciumphosphat-Monohydrat (MCPM, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), ein Wert von 1,0 dem Mineral Dicalciumphosphat-Dihydrat (DCPD, Brushit, $\text{CaHPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$). Diese kristallisieren leicht aus wässriger Lösung, weisen aber im Vergleich zum Knochenapatit eine signifikant höhere Löslichkeit und geringere Dichte als Knochen- und Hydroxylapatit auf. Die Gruppe um *Sommerdijk* untersuchte die verschiedenen Phasen der Calciumphosphat-Kristallisation detailliert mit hochauflösender Cryo-Transmissions-Elektronenmikroskopie (Cryo-TEM) und Feinbereichsbeugung (selected-area electron diffraction, SAED), sowie Cryo-Elektronentomographie (Cryo-ET). Aus deren Veröffentlichung geht hervor, dass sich vor der Nukleation (Keimbildung^{lxxxi}) kleinste stabile Assoziate bestehend aus Ca^{2+} - und $\text{H}_y(\text{PO}_4)_z$ -Ionen bilden. Diese Pränukleationscluster aggregieren zu amorphen Nanopartikeln, die sich an der Kristallisationsoberfläche anlagern. Über einen mehrstufigen Prozess formen sich schließlich – über die Vorläuferverbindung des amorphen Calciumphosphates (ACP) - Hydroxylapatit-Kristalle³¹⁵. Die Zusammensetzung des ACP ist von den Reaktionsbedingungen abhängig. *Dorozhkin* gibt die allgemeine Summenformel mit $\text{Ca}_x\text{H}_y(\text{PO}_4)_z \cdot n \text{H}_2\text{O}$ mit $n = 3 - 4,5$ (das entspricht einem Wasseranteil von 15-20 %) an. Das Ca/P-Verhältnis liegt demnach zwischen 1,2-2,2²⁵. In Anlehnung an die Veröffentlichungen von *Dorozhkin*²⁵, *Dey*³¹⁵ und *Rüht*⁴³ könnte es sich bei der auf den PEEK-Spezies abgeschiedenen anorganischen Phase um eine Mischphase aus MCPM, Brushit und ACP handeln. Weiterführende Analysen zur Bestimmung der Zusammensetzung und Kristallstruktur sollten mit den oben genannten Methoden, Röntgendiffraktometrie oder Festkörper-NMR-Spektroskopie durchgeführt werden.

Übereinstimmend mit den Literaturdaten kann hiermit nochmals festgehalten werden, dass die unbehandelte PEEK-Oberfläche den Titan(basierten) Materialien und Oberflächen hinsichtlich ihrer Biokompatibilität unterlegen ist^{132,293,314,316}. Zwischen der homogenen und der strukturierten Oberfläche konnte kein Unterschied der Zell-Material-Wechselwirkung festgestellt werden. Da die durchgängige Beschichtung bildgebende Verfahren nicht negativ beeinflusste (vgl. Kap. 3.4.4, S. 72f), muss eine Strukturierung der Oberfläche, die mit einem Mehraufwand verbunden ist, nicht durchgeführt werden. Im Umkehrschluss führen dann kleine Beschädigungen der Ti-Schicht, wie sie in Folge mechanischer Belastungen auftreten könnten, nicht zu einer Verringerung der Biokompatibilität des Materialsystems PEEK/Ti.

Im nachfolgenden Kapitel werden die Ergebnisse zur *in vivo*-Biokompatibilität von dentalen PEEK-Implantaten vorgestellt. Aufgrund der gezeigten und im Vergleich zu Titan limitierteren Biokompatibilität des Kunststoffes, wurde gemeinsam mit den Kooperationspartnern aus der *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie* entschieden, Ti-beschichtete PEEK-Implantate zu untersuchen. Wie im Kapitel 3 (S. 57ff) demonstriert wurde, sind diese für MRT-Untersuchungen geeignet.

^{lxxxi} Als Keimbildung oder Nukleation wird der Beginn der Phasentrennung in einem übersättigtem System bezeichnet.

5 UNTERSUCHUNG DER OSSEOINTEGRATION EINES ZAHNWURZELIMPLANTATES AUS PEEK/TI

5.1. VORBEMERKUNGEN ZUR TIEREXPERIMENTELLEN STUDIE.....	90
5.1.1. Projekteinbindung und Kooperationspartner.....	90
5.1.2. Vorbetrachtungen zum <i>in vivo</i> -Modell.....	90
5.2. MATERIALIEN UND METHODEN.....	91
5.2.1. Enossales Zahnimplantat aus PEEK/Ti.....	91
5.2.2. Tierexperimentelles Vorgehen.....	92
5.2.3. Lagerung der Gewebeproben.....	92
5.2.4. Analytik der Osseointegration.....	93
5.2.4.1. MRT-Untersuchungen.....	93
5.2.4.2. Histologische Untersuchung.....	95
5.2.5. Statistische Auswertung.....	96
5.3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....	97
5.3.1. Klinischer Verlauf des Tierversuches.....	97
5.3.2. Morphologische Beschreibung der Osseointegration.....	97
5.3.2.1. Ergebnisse der Magnetresonanztomographie.....	97
5.3.2.2. Ergebnisse der Histomorphologie.....	99
5.3.3. Quantitative MRT und Histomorphometrie.....	101
5.3.3.1. Resultate der Kavität (ROI 1) und des Gewindes (ROI 2).....	101
5.3.3.2. Resultate der periapikalen Regionen (ROI 3 & ROI 4).....	102
5.3.4. Vergleich der Ergebnisse aus qMRT und Histomorphometrie.....	103
5.4. ZUSAMMENFASSUNG DER ERGEBNISSE ZUR OSSEOINTEGRATION DENTALER PEEK/TI-IMPLANTATE UND DISKUSSION.....	104

5.1. Vorbemerkungen zur tierexperimentellen Studie

5.1.1. Projekteinbindung und Kooperationspartner

Die Studie wurde im Rahmen des SFB TRR 67 (Teilprojekte B6 & B8) durchgeführt. Die Bearbeitung der Thematik erfolgte in enger Kooperation mit den Partnern aus der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie des Universitätsklinikums Dresden (UKD) »Carl Gustav Carus« (insbesondere mit Dr. med. dent. Paula Korn und Dr. med. dent. Matthias C. Schulz).

5.1.2. Vorbetrachtungen zum *in vivo*-Modell

Für die experimentelle Untersuchung der komplexen Vorgänge der Knochenregeneration und der knöchernen Einheilung von Implantmaterialien kann bis heute auf die Verwendung von Versuchstieren nicht verzichtet werden. Insbesondere der Einfluss physiologischer mechanischer Belastungen auf die Knochenneubildung und das -remodelling kann nicht *in vitro* untersucht werden¹². Die Auswahl eines geeigneten Tiermodells ist die Voraussetzung, um die gewonnenen Daten mit ausreichender Wahrscheinlichkeit auf die beim Menschen zu erwartenden Verhältnisse zu übertragen³¹⁷.

Für die Untersuchung der *in vivo*-Biokompatibilität dentaler PEEK/Ti-Implantate wurden drei Berliner Miniaturschweine (Mini-Lewe) genutzt. Die Rasse des Mini-Lewe ist eine für die Forschung gezüchtete

Kreuzung des Deutschen veredelten Landschweines, des Sattelschweines und des Vietnamesischen Hängebauchschweines. Die Herauszüchtung erfolgte vor dem Hintergrund, ein Modelltier zu erhalten, das ähnliche physiologische Eigenschaften wie das Hausschwein besitzt, das aber auch ein drastisch verringertes Körpergewicht, eine weiße Haut- und Borstenfarbe und ein ruhiges Temperament aufweist³¹⁸. Auf den Gebieten der Grundlagenforschung der Transplantationschirurgie, der kraniofazialen Chirurgie und Implantologie besitzt das (Miniatur-)Schwein als Versuchstier einen hohen Stellenwert³¹⁹.

Schweine weisen große Ähnlichkeiten des kaufunktionellen Systems zum Menschen auf. Durch die omnivore^{lxxxii} Ernährungsweise kommen Schweine in Bezug auf die Kieferformen, Kaubewegungen und Kaubelastungen dem Menschen sehr nahe. Die vergleichbaren Größen der Kiefer von Miniaturschweinen ermöglichen zudem ein dem beim Menschen übliches chirurgisches Vorgehen mit den gleichen Instrumenten und Implantaten. Weitere Gemeinsamkeiten von Schwein und Mensch bestehen in der Knochenmorphologie und bei Regenerationsvorgängen. So stimmt die Dicke der Spongiosabälkchen mit durchschnittlich 110 µm beim Schwein mit den Durchschnittswerten von 116 µm beim Menschen nahezu überein. Außerdem erlaubt eine gleichwertige zeitliche Knochenregeneration die direkte Übertragbarkeit implantologischer Fragekomplexe auf den Menschen, im Gegensatz zum ebenfalls häufig verwendeten Kaninchen¹², dessen Knochenregeneration etwa 60fach schneller abläuft³¹⁹.

Aufgrund des hohen Platzbedarfes und Haltungsaufwandes der Versuchstiere wurde die vorliegende Studie als Pilotstudie mit nur drei Tieren durchgeführt. Ziele waren sowohl die Analyse der Osseointegration der dentalen PEEK/Ti-Implantate mit der MRT und Histologie, als auch die Untersuchung der Vergleichbarkeit der aus beiden Methoden gewonnenen Daten. Es handelte sich hierbei um die erste Studie zu PEEK-basierten Implantaten am Großtier und ebenfalls hinsichtlich der Nutzung der Magnetresonanztomographie in der Grundlagenforschung im Bereich der Implantologie. Die Ergebnisse der Studie wurden bereits veröffentlicht³²⁰.

5.2. Materialien und Methoden

5.2.1. Enossales Zahnimplantat aus PEEK/Ti

Die in der Studie verwendeten Zahnimplantate aus PEEK wurden in Anlehnung an ein kommerzielles, schraubenförmiges Titan-Implantat gefertigt (*Xive® S*, Dentsply Friadent GmbH, Mannheim). Die Herstellung erfolgte aus Ketron® PEEK-Stäben (Quadrant Plastic Composites AG, Lenzburg, Schweiz) in der institutseigenen Werkstatt des IPF Dresden unter Anleitung von Dirk Zimmerhäckel. Abweichend zum kommerziellen Produkt wurde das Implantat mit einer 1,5 mm langen und 0,35 mm tiefen Kavität hergestellt (Abb. 39). Dieses Implantat-Design wurde bereits von *Stadlinger et al.* verwendet³²¹.

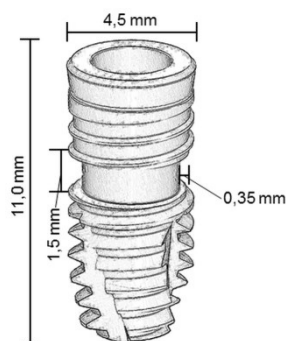


Abb. 39 Schematische Darstellung und Abmaße des schraubenförmigen PEEK-Implantates.

^{lxxxii} Lateinisch von *omnis* ‚alles‘ und *vorare* ‚fressen‘.

Um die Biokompatibilität des Materials zu erhöhen, wurde das Implantat mit einer 100 nm dünnen Ti-Schicht besputtert. Die Beschichtung erfolgte in einer Magnetron-Sputteranlage durch Dr. Steffen Howitz bei GeSiM (Gesellschaft für Silizium-Mikrosysteme mbH, Großberkmannsdorf) mit einer Beschichtungsrate von $80 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ und bei einer Substrattemperatur von $< 110 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.2.2. Tierexperimentelles Vorgehen

Die Tierversuche wurden nach Erhalt der entsprechenden Genehmigung durch die Tierversuchskommission der Landesdirektion Sachsen (AZ: 24(D)-9168.11-1/2010-19) am Experimentellen Zentrum der TUD unter veterinärmedizinischer Aufsicht durchgeführt. Das Genehmigungsverfahren für die tierexperimentelle Studie wurde durch die Kooperationspartner beantragt.

Die Durchführung der Tierexperimente erfolgte vollständig durch die Partner aus der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. Detaillierte Angaben zum chirurgischen Prozedere können der gemeinsamen Veröffentlichung zur Studie entnommen werden³²⁰. Nachfolgend wird das Tierexperiment zusammengefasst wiedergegeben.

Für die Studie wurden drei adulte, etwa dreijährige Miniaturschweine (Typ: Berliner Miniaturschwein, Mini-Lewe; durchschnittliches Gewicht: $81 \pm 13 \text{ kg}$) verwendet. Die Tiere wurden während des gesamten Versuchszeitraumes im Experimentellen Zentrum der TUD in temperierten Räumen mit Tag-Nacht-Rhythmus untergebracht. In einer ersten chirurgischen Intervention erfolgte die Entfernung der vorderen drei Backenzähne des Unterkiefers auf beiden Seiten. Nach einer achtwöchigen Heilungsphase fand die Insertion der PEEK/Ti-Implantate statt. Dazu wurde an den betreffenden Stellen anhand einer Bohrung der Implantationsbereich definiert. Diese wurde länger gesetzt, als es die Implantate erforderten, um die Knochenneubildung in diesem Bereich extra untersuchen zu können. Das Einsetzen der PEEK/Ti-Implantate erfolgte im nächsten Schritt. Nach dem Wundverschluss wurden die Tiere hinsichtlich der Wundheilung, der Nahrungsaufnahme und des Verhaltens beobachtet. Zum Zweck der Auswertung war es unumgänglich, jeweils ein Tier nach zwei, vier und acht Wochen zu opfern. Die Tiere wurden durch die Injektion des Kombinationspräparates T-61^{lxxxiii} eingeschläfert.

Direkt nach dem Tod der Tiere erfolgte die Präparation der Gewebeproben aus dem Unterkieferknochen für die nachfolgende Untersuchung der Osseointegration. Die Präparation der das Implantat enthaltenden sechs Knochenproben (*l b h*: $\sim 20 \times 10 \times 10 \text{ mm}$) erfolgte nach der Resektion der Mandibula. Für die vorliegende Arbeit wurden pro Tier vier der sechs Gewebeproben analysiert^{lxxxiv}.

5.2.3. Lagerung der Gewebeproben

Um die Haltbarkeit der Proben bis zu den MRT-Experimenten zu gewährleisten, wurden die Proben in Phosphatpuffer PBS gelagert. Das Lager- und Transportmedium enthielt zusätzlich Antibiotika: 1 % Penicillin-Streptomycin-Gemisch, $50 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Gentamycin und $40 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Amphotericin B. Die Lagerung erfolgte bei ca. $8 \text{ }^\circ\text{C}$ im Kühlschrank. Details zur Probenlagerung wurden im Anhang (Kap. 8.2.1, S. 159) erläutert.

^{lxxxiii} Es handelt sich um ein Kombinationspräparat aus 200 mg Embutramid, 50 mg Mebezonium und 5 mg Tetracain je ml. Es wirkt stark betäubend und wird ausschließlich zur Einschläferung von Tieren verwendet³²².

^{lxxxiv} Die übrigen zwei Gewebeproben wurden am IPF für eine weitere Studie verwendet.

5.2.4. Analytik der Osseointegration

Die knöcherne Einheilung des Ti-beschichteten PEEK-Implantates wurde zuerst anhand von MRT-Experimenten (durch die Autorin) und anschließend mithilfe histologischer Methoden analysiert (durch die Kooperationspartner).

Die Quantifizierung erfolgte für beide Methoden »blind«, d.h. die jeweiligen Auswerter hatten zum Zeitpunkt der Quantifizierung keine Kenntnisse über die Resultate der jeweils anderen Methode.

5.2.4.1. MRT-UNTERSUCHUNGEN

Vorbereitung der Gewebeproben aus dem Tierversuch

Die Gewebeproben wurden direkt vor den MRT-Experimenten aus dem Lagermedium entnommen und anhaftendes Wasser so weit wie möglich mit einem Zellosetuch entfernt. Anschließend wurden die Proben in ein 15-mm-NMR-Röhrchen überführt und mit 3MTM FluorinertTM FC-77 (3M Belgium NV/SA, Zwijndrecht, Belgien) überschichtet. Das verwendete Lösungsmittel FC-77 ist vollständig perfluoriert, erzeugt so während der Messungen keine störenden Hintergrundsignale und verhindert das Austrocknen der Gewebeproben. Ein PTFE-Stopfen verhinderte das Aufschwimmen der Probe im Messmedium^{lxxxv}. Unmittelbar nach den MRT-Experimenten wurden die Proben aus dem FluorinertTM FC-77 entnommen und in einer 4 %igen Formaldehyd-Lösung konserviert.

Experimentalparameter für die MR-Bildgebung

Die Experimente wurden am IPF an einem NMR-Spektrometer mit kommerziell erhältlichem »microimaging assessor« durchgeführt. Die exakten Gerätebezeichnungen für das NMR-Spektrometer und das Gradientensystem können in Kap. 3.2.4.2 (S. 60) nachgeschlagen werden. Es wurde eine linear polarisierte HF-Spule (¹H/¹⁹F-Birdcage-Spule) mit einem Durchmesser von 15 mm verwendet. Die Messungen wurden sowohl aus Topspin 2.1 (Bruker Biospin, Rheinstetten) als auch aus Paravision 5.0 (Bruker Biospin, Rheinstetten) gesteuert. Für die Bildgebung wurden, wenn nicht anders gekennzeichnet, die nachfolgenden Parameter verwendet.

<i>ALLGEMEINE IMAGING-PARAMETER FÜR MESSUNGEN AUS TOPSPIN 2.1</i>			
Sequenz:	»imsems«	Matrixgröße:	512 x 256 Px
	(Spin-Echo-Multi-Slice)	FOV:	20 x 20 mm
Schichtebene:	longitudinal	Laterale Auflösung ^{lxxxvi} :	0,04 x 0,08 mm
Schichtdicke:	0,125 mm	90°-Puls:	Rechteck-Puls
Anzahl der Schichten:	55	180°-Puls:	Sinc-Puls
Zwischenschichtabstand:	0 mm		
spektrale Breite (SWH):	250 000 Hz	PD-Abbildungen:	T _R /T _E = 2500/4 ms
Anzahl der Wdh. (NS):	32	Messdauer:	5 h, 32 min

^{lxxxv} FluorinertTM FC-77 weist eine Dichte von $1,78 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ auf.

^{lxxxvi} Es handelt sich stetes um die tatsächliche laterale Auflösung der originalen Schnittbilder. Für die Darstellung und Bildbearbeitung wurden die Matrices auf die höhere Pixelzahl, ergo auf die bessere Auflösung, angepasst.

ALLGEMEINE IMAGING-PARAMETER FÜR MESSUNGEN AUS PARAVISION 5.0			
Sequenz:	»MSME« (Multi-Slice-Spin-Echo)	spektrale Breite (SWH):	250 000 Hz
Schichtebenen:	axial, longitudinal	90°-Puls:	Hermitischer Puls
Matrixgröße:	512 x 256 Px	180°-Puls:	Hermitischer Puls
Schichtdicke:	0,125 mm	Zwischenschichtabstand:	0 mm
Axiale Schnittebene		Longitudinale Schnittebene	
T ₁ -Wichtung ^{lxxxvii} :	T _R /T _E = 7000/8 ms	T ₁ -Wichtung ^{lxxxvii} :	T _R /T _E = 2500/8 ms
FOV:	15 x 15 mm	FOV:	20 x 20 mm
laterale Auflösung:	0,03 x 0,06 mm	laterale Auflösung:	0,04 x 0,08 mm
Anzahl der Schichten:	144	Anzahl der Schichten:	55
NS:	64	NS:	32
Messdauer:	31 h, 52 min	Messdauer:	5 h, 32 min

Auswertung der MRT-Experimente - Quantitative MRT

Die Bildbearbeitung und Analyse wurde in Matlab[®], Version R2012a (Mathworks, Natick, USA) mit Hilfe eigener Scripte vorgenommen. Die knöcherne Einheilung wurde innerhalb von vier definierten Auswerteregionen (regions of interest, ROI) untersucht. Die Lokalisation und Charakteristik der Analyseregionen können Tab. 19 und Abb. 40A entnommen werden.

Die Auswertung der ROIs 1 und 2 erfolgte sowohl anhand der MRT- als auch der Daten aus der Histomorphometrie. ROI 3 und 4 wurden alleinig mittels der MRT-Schnittbilder ausgewertet. Dazu wurden die Gewebeanteile in den jeweiligen ROIs quantifiziert. Die Klassifizierung der Weichgewebsanteile erfolgte auf Grundlage eines definierten »Gewebe-Phantoms« (bestehend aus Fett- und Muskelgewebe, Knochenmark und isotonischer Kochsalzlösung, siehe dazu im Anhang das Kap. 8.2.2, S. 161ff).

Tab. 19 Charakteristik der ausgewählten Analyseregionen (ROI 1 bis ROI 4).

ROI	Beschreibung
1	definierte Kavität (vgl. Kap. 3.8), großer Defektbereich
2	die drei aufeinander folgenden Gewindegänge, die sich an die Kavität anschließen
3	Region direkt unter dem Apex des Implantates, ovale Form mit ca. 2 mm Länge und 0,5 mm Höhe; tief im Defektbereich, kein angrenzender Knochen
4	Region im Defektbereich an der Untergrenze zum unverletzten Lagerknochen, Form und Größe wie ROI 3

Da die Protonendichte-Abbildungen das beste Signal-Rausch-Verhältnis zeigten, dienten diese zur Erfassung des gesamten Weichgewebes. Als solches wurden die Voxel identifiziert, die den dreifachen Wert des SRV aufwiesen. Alle Voxel unterhalb dieses Grenzwertes sind Bereiche ohne Signal oder mit sehr geringer Signalintensität und wurden als Hartgewebe definiert.

Die Quantifizierung von Fettgewebe bzw. Knochenmark erfolgte anhand der T₁-gewichteten Schnittbilder. Im T₁-Kontrast erscheint das Fettgewebe (und folglich das fettreiche Knochenmark) aufgrund der

^{lxxxvii} Der Verzicht auf Zwischenschichtabstände und die Verwendung einer hermiteschen Pulsform bei Paravision 5.0 führte zu T₁-gewichteten Bildern (siehe auch Kap. 8.2.2, S. 165ff). Eine Übersicht häufig verwendeter Pulsformen gibt *Pohmann*²⁰⁴.

kurzen T_1 -Zeit hell (vgl. Tab. 6, S. 49). Fettgewebe und Knochenmark lassen sich so leicht über die Signalintensität vom »restlichen« Weichgewebe trennen. Für die Quantifizierung wurde ein Grenzwert von 50 % der maximalen Signalintensität festgelegt. Voxel mit Werten oberhalb des Grenzwertes wurden dem Fettgewebe/Knochenmark zugeordnet. Die Voxel mit Signalintensitäten unterhalb des Grenzwertes wurden als »restliches« Weichgewebe bezeichnet. Die quantitative Auswertung der MRT-Schnittbilder ist nochmals in Abb. 40B zusammengefasst.

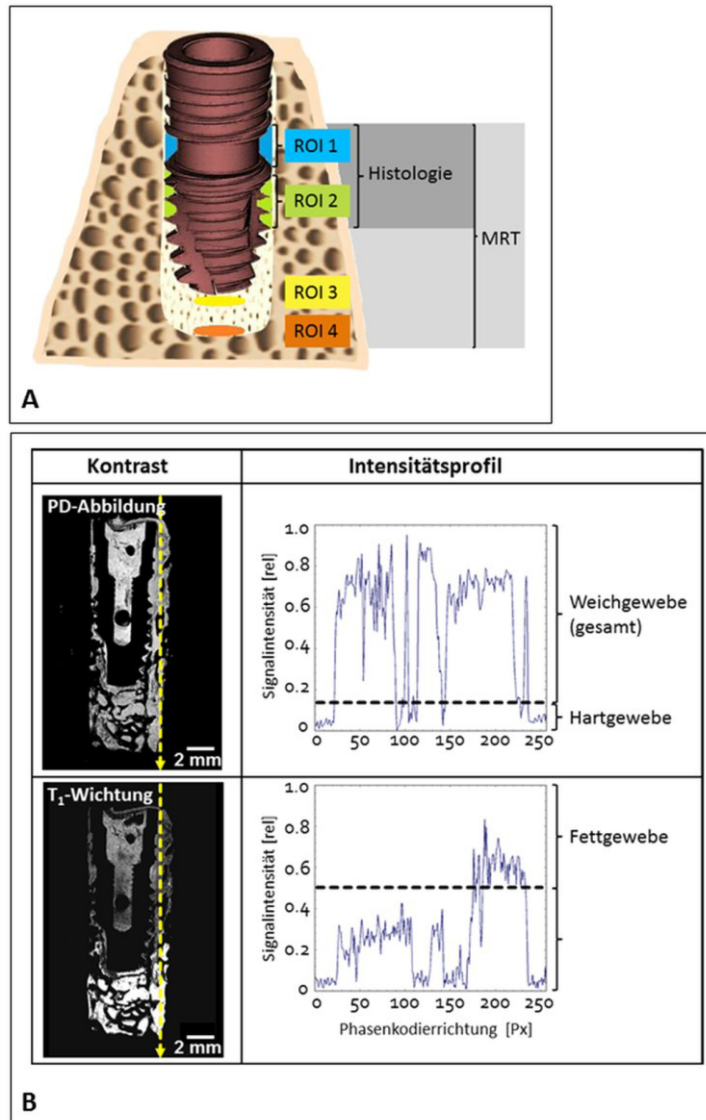


Abb. 40 (A) Schematische Darstellung des schraubenförmigen PEEK/Ti-Implantates und Kennzeichnung der vier Analyseregionen. ROI 1 & 2 wurden sowohl mit MRT als auch mittels Histologie untersucht. Die Analyse von ROI 3 & 4 erfolgte allein durch die MRT. **(B)** Quantitative Auswertung der MRT-Schnittbilder. Für die Erfassung des gesamten Weichgewebes wurden die Protonendichte (PD)-Abbildungen genutzt. Die Quantifizierung des Fettgewebes erfolgte mit den T_1 -gewichteten Schnittbildern.

5.2.4.2. HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

Präparation der Gewebeproben für die Histologie

Die Präparate für die histologische Untersuchung der Gewebeproben wurden im UKD von Diana Junger hergestellt. Nach der Entwässerung der in Formalin-Lösung gelagerten Gewebeproben in einer Serie mit ansteigender Ethanol-Konzentrationen erfolgte die Einbettung in Methylmethacrylat (Technovit® 9100 NEU, Heraeus Kulzer, Wehrheim). Über die Trenn-Dünnschliff-Technik nach *K. Donath*¹⁷¹ wurden aus den eingebetteten Proben jeweils drei bis vier Dünnschliffe (Längsschnitte) mit einer Schichtdicke von 30 – 40 μm präpariert (vgl. auch Kap. 2.4.1.1, S. 23f).

Zur Gewebedifferenzierung wurden die Dünnschliffe poliert und mit der Masson-Goldner-Trichrom-Färbung angefärbt. Die Resultate sind eine Grünfärbung des mineralisierten Gewebes, die Orangefärbung des Bindegewebes und eine rot-orange Färbung von Osteoid.

Quantitative Auswertung - Histomorphometrie

Die Digitalisierung der gefärbten Dünnschliffe und quantitative Auswertung der Gewebsanteile erfolgte am Lichtmikroskop (Olympus BX 61, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg) mit Hilfe einer Digitalkamera (Colour View II, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg). Das Mikroskop verfügte über einen automatischen Tisch (Märzhäuser, Wetzlar). Hochaufgelöste Aufnahmen wurden mittels »Multi Imaging Alignment^{lxxxviii}« erzeugt. Die Quantifizierung der Hart- und Weichgewebsanteile, sowie des Osteoids in ROI 1 & 2 wurde mit der Software cell^F® (Olympus soft Imaging Solutions GmbH, Münster) durchgeführt. Die Digitalisierung der Dünnschliffe und die Auswertung der mikroskopischen Abbildungen erfolgten durch Dr. med. dent. Paula Korn und Dr. med. dent. Matthias C. Schulz.

5.2.5. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte sowohl deskriptiv, als auch hinsichtlich der in Tab. 20 aufgeführten Fragestellungen. Für die Auswertung der Nummern 1 bis 7 wurde in Origin 9.1 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) zunächst je eine *einfaktorische Varianzanalyse* (ANOVA) durchgeführt. Die Mittelwerte der einzelnen Gruppen wurden mit dem *Post-Hoc-Test nach Tukey* analysiert (Fragestellung 1 bis 6). Der anschließende Mittelwertsvergleich der Ergebnisse beider Methoden erfolgte mit dem *Zweistichproben-t-Test* (Nr. 7). Die Resultate aus (7) wurden durch die Berechnung des p-Wertes für den Unterschied der Ergebnisse beider Methoden aus einem *gemischt linearen Modell*^{lxxxix} verifiziert (8, mit Berücksichtigung der individuellen Werte, Analyse durch Frau Range, UKD, Institut für medizinische Informatik und Biometrie). Es wurde eine Normalverteilung der Werte angenommen. Statistisch signifikante Unterschiede wurden in den Diagrammen mit * $p < 0,05$ angegeben.

Die Ergebnisse der deskriptiven Statistik und die Resultate der statistischen Tests wurden tabellarisch im Anhang zusammengefasst (siehe Kap. 8.4, S.164ff).

Tab. 20 Auflistung der Fragestellungen für die statistische Auswertung der Studie aus Kapitel 5

Nr.	Fragestellung	Software	Auswerter
1	zeitliche Veränderung des Knochenanteils in ROI 1 & 2, Histologie-Daten	Origin 9.1	Cindy Elschner
2	zeitliche Veränderung des Osteoidanteils in ROI 1 & 2, Histologie-Daten	Origin 9.1	Cindy Elschner
3	zeitliche Veränderung des Knochenanteils in ROI 1 - 4, qMRT-Daten	Origin 9.1	Cindy Elschner
4	zeitliche Veränderung des Fettgewebsanteils in in ROI 1 - 4, qMRT-Daten	Origin 9.1	Cindy Elschner

^{lxxxviii} Eine hochaufgelöste Aufnahme wird anhand einer Serie angrenzender und gut aufgelöster Aufnahmen erzeugt.

^{lxxxix} Der statistische Zusammenhang zwischen zwei stetigen Merkmalen (hier: Knochenanteil und zeitlicher Verlauf) lässt sich mit Hilfe der einfachen linearen Regression untersuchen. So lässt sich der Einfluss der Zeit (erklärende Variable) auf den Knochenanteil (Zielvariable) modellieren³²³.

Fortsetzung Tab. 20

5	Vergleich der Knochenanteile zwischen den ROIs nach 2, 4 und 8 Wochen, qMRT-Daten	Origin 9.1	Cindy Elschner
6	Vergleich der Fettgewebsanteile zwischen den ROIs nach 2, 4 und 8 Wochen, qMRT-Daten	Origin 9.1	Cindy Elschner
7	Mittelwertvergleich der qMRT- und Histologie-Daten nach 2, 4 und 8 Wochen	Origin 9.1	Cindy Elschner
8	Berechnung des p-Wertes für den Unterschied der Ergebnisse beider Methoden	SPSS	Ursula Range

5.3. Ergebnisse und Diskussion

5.3.1. Klinischer Verlauf des Tierversuches

Alle Tiere überlebten die Untersuchungsperiode und zeigten eine komplikationslose Heilung ohne Dehiszenz^{xc}. Es trat während der Einheilungsphase ein Implantatverlust auf (somit betrug die Implantat-Überlebensrate 91,6 %). Als Ursachen der Implantatlockerung kommen Infektionen oder eine fehlende Primärstabilität in Betracht. Zum Zeitpunkt der Opferung konnten keine Infektionen oder Fremdkörperreaktionen in der Umgebung der Implantate festgestellt werden.

5.3.2. Morphologische Beschreibung der Osseointegration

5.3.2.1. ERGEBNISSE DER MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE

Die MRT-Schnittbilder bildeten das Weichgewebe der Knochenblöcke differenziert ab. Der Knochen sowie das PEEK/Ti-Implantat wurden aufgrund der fehlenden Signalintensität schwarz dargestellt. Da sowohl das Implantat als auch die trabekuläre Knochenstruktur von Weichgewebe umgrenzt waren, konnte deren Morphologie detailreich abgebildet werden. Die laterale Auflösung betrug für die longitudinalen Schnittbilder 0,04 x 0,08 mm. Eine Bildstörung infolge der Ti-Beschichtung trat nicht auf (siehe dazu auch Kap. 3.4.4., S. 72f) Die PEEK/Ti-Implantate besaßen im Zentrum längs zur Achse einen Hohlraum, der bei den MRT-Experimenten noch mit wässrigem Lagermedium gefüllt war. In Abb. 41 sind sechs ausgewählte longitudinale Schnittbilder eines Implantates nach zweiwöchiger Einheilphase abgebildet.

Sehr deutlich erkennbar war der Verlauf des ursprünglichen Bohrkanals nach der Einheilphase von zwei Wochen (in Abb. 41 für einen Längsschnitt exemplarisch blau markiert). Der anfängliche Knochendefekt war zu diesem Zeitpunkt vollständig mit Weichgewebe gefüllt und zeigte sich auf den MRT-Bildern morphologisch dichter als das umgebende Implantatlager. Insbesondere an den Randbereichen des Implantationsbereiches zum Knochen waren zahlreiche kleine, abgegrenzte Regionen ohne Signalintensität (also in schwarz) sichtbar. Die Protonen dieser partikulären Strukturen hatten folglich eine im Vergleich zu ihrer Umgebung verringerte Mobilität. Bei Betrachtung der entsprechenden histologischen Abbildungen handelte es sich höchstwahrscheinlich um Osteoid. Dieses dichte, aber noch nicht mineralisierte Bindegewebe zeigt den beginnenden Knochenmineralisationsprozess an. Während unterschiedliche Knochenqualitäten im Bereich der Kavität und des Implantatgewindes erkennbar waren, zeigte sich die reife Spongiosa des Lagerknochens vor allem periapikal^{xc} weitmaschig (vgl. Abb. 41 und Abb. 42).

^{xc} Als Dehiszenz wird das pathologische Auseinanderweichen zweier benachbarter Gewebestrukturen, meist infolge mechanischer Krafteinwirkungen, bezeichnet.

^{xc} im Bereich der Wurzelspitze des Zahnes oder Implantates.

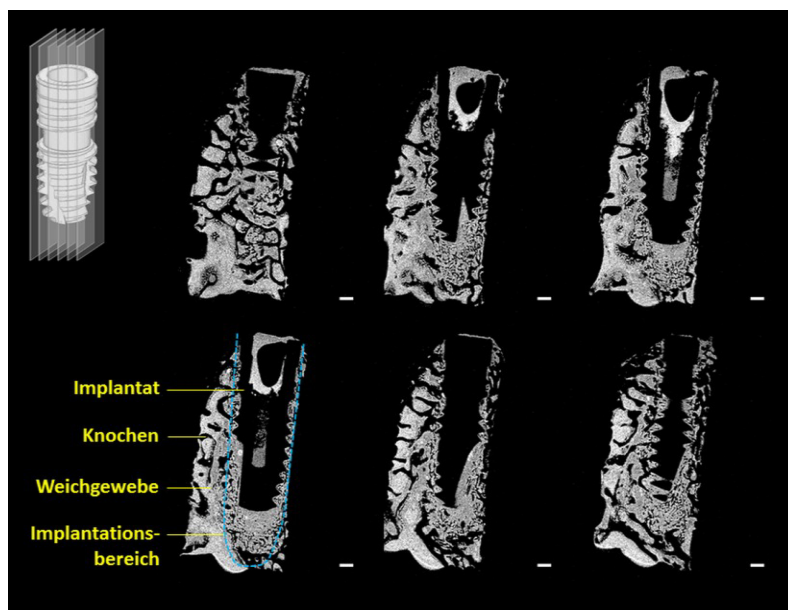


Abb. 41 Anhand der MRT-Bildgebung können nicht-invasiv zahlreiche Schnittbilder in beliebiger Orientierung erzeugt werden. Hier wurden sechs longitudinale Schnittbilder einer Gewebeprobe nach zweiwöchiger Einheilzeit abgebildet. Maßstabsbalken: 1 mm.

Nach vier Wochen war die Osseointegration deutlich fortgeschritten. Erstmals zeigten sich direkte Knochen-Implantat-Kontakte im Bereich des Gewindes und vereinzelt in der Kavität. Allerdings ist eine Abgrenzung der genauen Grenzfläche aufgrund der fehlenden Signalintensitäten des Knochens und des Implantates schwierig und muss anhand der Implantatmorphologie abgeschätzt werden. Aufgrund der größeren Defektbreite in der Kavität und des erkennbar höheren Weichgewebsanteils verlief die knöcherne Einheilung dort langsamer (Abb. 42_1, Kavität, siehe auch Abb. 45, S. 102). Obwohl der Knochenregenerationsprozess sich deutlich fortgeschritten zeigte, war der Implantationsbereich nach vier Wochen noch vom reifen Lagerknochen abgrenzbar.

Nach der achtwöchigen Einheilungszeit zeigten sich die Implantate weitestgehend in den lamellaren Knochen integriert. Der Anteil des Knochengewebes in Gewinde und Kavität wies jedoch eine breite Streuung auf. Während das in Abb. 42 gezeigte Implantat nach der achtwöchigen Heilungsperiode (Position: hinten, links) noch zu großen Teilen von Weichgewebe umgeben war, konnte beim Implantat aus Abb. 44 (unten, rechts, S. 100) ein höherer Knochenanteil beobachtet werden. Vor allem innerhalb des Bereiches der Kavität war der Fortschritt der Osseointegration erkennbar verschieden.

Die Nutzung verschiedener Kontraste erlaubte eine weitergehende Differenzierung innerhalb der Weichgewebsfraktion. Während sich die Grauwerte auf den Protonendichte-Abbildungen (Abb. 43, links) generell wenig unterschieden, unterschied sich im T1-gewichteten Schnittbild der Bohrlochbereich unterhalb des Implantates vom deutlich umgrenzenden Weichgewebe (Abb. 43, mitte). Nach zwei Wochen zeigte dieser Bereich eine geringere Signalintensität (im MR-Schnittbild dunkler), wohingegen nach acht Wochen ein merklicher Fortschritt der Osseointegration anhand des Auftretens einer trabkulären Knochenstruktur mit hyperintens erscheinenden Markräumen zu beobachten war. Das Weichgewebe der Markräume, nach Vorversuchen (siehe Anhang, Kap. 8.2.2, S. 161ff) und Literaturrecherche als Knochenmark identifiziert³²⁵, unterschied sich auf den MR-Schnittbildern erkennbar gegenüber dem Weichgewebe, welches sich in den Gewindedälern und der Kavität befand. Die Zunahme des Knochenmarkes war insbesondere zwischen der vierten und der achten postoperativen Woche quantifizierbar (siehe Kap. 5.3.3, S. 101ff) und ist neben offensichtlichen morphologischen Veränderungen der Knochenstruktur ein weiterer Marker für die Knochenregeneration.

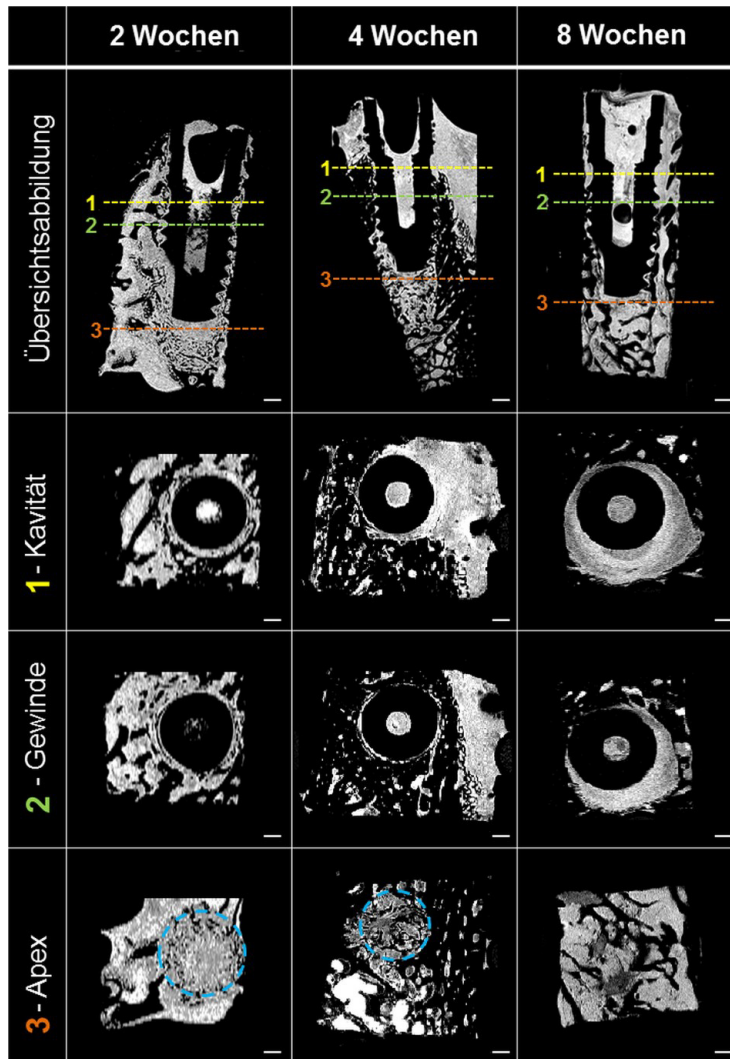


Abb. 42 Dokumentation des zeitlichen Verlaufes der Osseointegration anhand exemplarisch ausgewählter MRT-Schnittbilder. Gegenübergestellt sind jeweils die Longitudinalschnitte und drei axiale Ansichten durch den Implantationsbereich. Der Bohrkanal (blau markiert) ist bis zu einer Einheildauer von vier Wochen optisch vom Lagerknochen abgrenzbar. Die Positionen der gezeigten Zahnimplantate sind wie folgt: 2 Wochen – mitte rechts, Quadr. IV, 4 Wochen – mitte links, Quadr. III, 8 Wochen – hinten, links, Quadr. III.^{xcii}
Maßstabsbalken: 1 mm.

5.3.2.2. ERGEBNISSE DER HISTOMORPHOLOGIE

Die aus den MRT-Schnittbildern gewonnenen Daten wurden anhand der morphologischen Analyse der Histologiebilder vollständig unterstützt. Wie aus den MRT-Schnittbildern erkennbar war, zeigte sich der durch den Bohrkanal verursachte Knochendefekt nach der zweiwöchigen Einheilperiode mit Weichgewebe gefüllt, welches in den histologischen Abbildungen anhand der orange-braun-Färbung des Gewebes erkennbar wurde (Abb. 43, rechts und Abb. 44, oben). Rot-orange gefärbte Regionen indizierten Osteoid (Abb. 44, gelbe Pfeile). Der Vergleich der Abbildungen beider Techniken führte zu dem Schluss, dass es sich bei den in Kap. 5.3.2.1 beschriebenen partikelähnlichen Strukturen, die ohne Signalintensität insbesondere im Randbereich zum Lagerknochen auftraten, um Osteoid handeln musste. Das dichte, noch unmineralisierte collagene Osteoid-Gewebe ist ein Kennzeichen des beginnenden Mineralisierungsprozesses. Da dieses hier im Umkreis und angrenzend zum reifen Knochens auftrat, ging die Neubildung des Geflechtknochens vom Lagerknochen aus. Folglich handelte es sich im Falle der PEEK/Ti-Implantate um eine Distanzosteogenese (siehe dazu Kap. 2.2.2, S. 11ff).

^{xcii} Für die Position der Zähne wurden die entsprechenden Quadranten angegeben. Nach dem Zahnschema handelt es sich bei dem 3. Und 4. Quadranten um den Unterkiefer³²⁴.

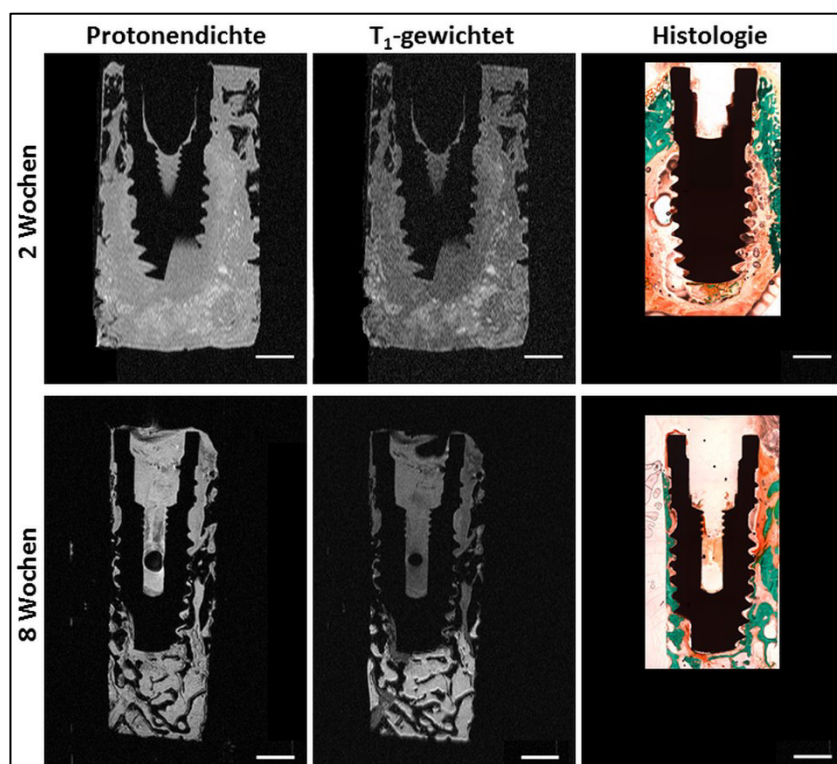


Abb. 43 Gegenüberstellung von MRT-Schnittbildern mit Protonendichte-Kontrast und T₁-Wichtung nach zwei- und achtwöchiger Einheilperiode. Zum Vergleich wurde jeweils eine histologische Aufnahme (Masson-Goldner-Trichrom-Färbung) des gleichen Implantates abgebildet. Maßstabsbalken: 2 mm.

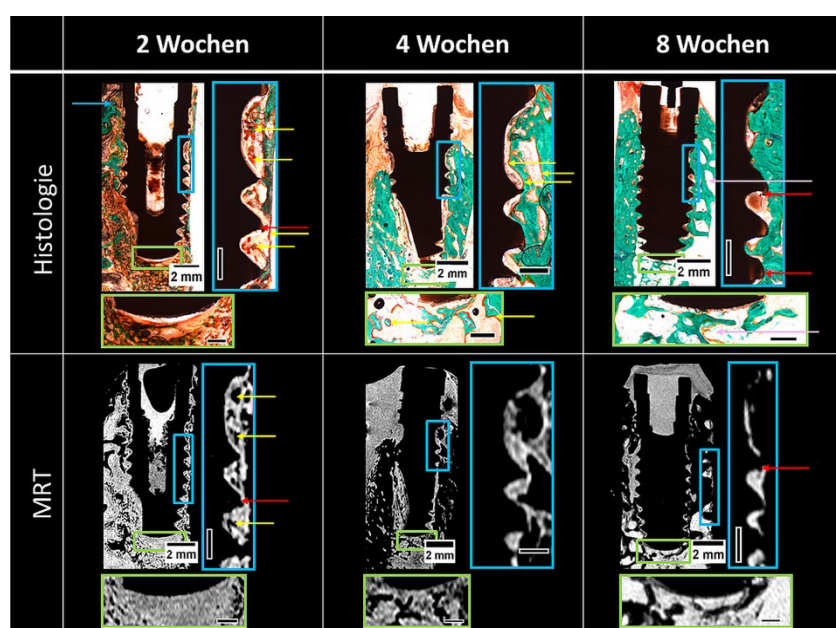


Abb. 44 Gegenüberstellung histologischer Abbildungen und entsprechender MRT-Schnittbilder. Die Zusammenstellung zeigt je ein exemplarisch ausgewähltes Übersichtsbild und eine Detailaufnahme der Kavität mit angrenzendem Gewinde, sowie die Darstellung der periapikalen Region. Die farbigen Pfeile heben die folgenden Details hervor: ▶ Osteoid, ▶ krestaler Knochenabbau, ▶ deformierte Gewindespitzen und ▶ Markräume in der histologischen Abbildung. Färbung der Dünnschliffe: Masson-Goldner-Trichrom. Maßstabsbalken auf den Vergrößerungen: 0,5 mm.

Das Fortschreiten der Osseointegration der Implantate nach vier und acht Wochen war histomorphologisch anhand der Zunahme der grün gefärbten (mineralisiertes Gewebe) und einer Abnahme der orangefarbenen Regionen (Weichgewebe) erkennbar. Deutlich zeigten sich Bereiche mit direktem Knochen-Implantat-Kontakt (in der Literatur als *bone-implant contact*, *BIC*, bezeichnet), die aufgrund des Farbkontrastes leicht differenzierbar waren. Der periimplantär weitmaschigere Knochen zeigte sich histomorphologisch durch grün gefärbte trabekuläre Strukturen mit hell erscheinenden Markräumen (Abb. 44, rosa Pfeile).

Der fließende Farbverlauf zwischen den Orangetönen der nicht mineralisierten Gewebe lässt allerdings, anhand nur einer Färbung, keine weitere Weichgewebsschichtklassifizierung zu.

Vereinzelte Deformationen des Implantatgewindes infolge mechanischer Belastungen festgestellt werden (Abb. 44, rote Pfeile). Diese konnten auf den histologischen Abbildungen eindeutig identifiziert werden. Im Gegensatz dazu waren verformte Gewindespitzen auf den MRT-Schnittbildern schlechter identifizierbar, wenn ein direkter Knochen-Implantat-Kontakt bestand.

Aufgrund des Kontrastes der histologischen Aufnahmen und der im Vergleich zu den MRT-Bildern höheren Auflösung^{xciii} der mikroskopischen Abbildungen zeigte sich ein krestaler^{xciv} Knochenverlust nach der zweiwöchigen Einheilperiode hier deutlicher (Abb. 44, blauer Pfeil). Die Veränderung des krestalen Knochniveaus nach der Insertation enossaler Zahnimplantate (vgl. Kap. 2.2.3, Titan, S. 13) tritt als Folge des physiologischen Remodelierungsprozesses des periimplantären Knochens auf und wird bei zahlreichen etablierten Implantatsystemen beobachtet³²⁶.

5.3.3. Quantitative MRT und Histomorphometrie

Die Analyse der Osseointegration erfolgte anhand des prozentualen Knochenanteils (engl. *bone volume, BV*) und des Anteils an Weichgewebe (engl. *soft tissue volume, SV*). Beide Parameter wurden parallel mit den Methoden der quantitativen MRT (qMRT) und der Histomorphometrie erhoben. Die prozentualen Knochen- und Weichgewebsanteile sind komplementäre Größen. Während die Quantifizierung des SV anhand der MRT-Schnittbilder direkt (Bereiche mit Signal) und des BV indirekt (Bereiche ohne Signal) erfolgten (siehe dazu Kap. 5.2.4.1, S. 94), wurde mit den histologischen Abbildungen genau umgekehrt verfahren und das Hartgewebe direkt und folglich das Weichgewebe indirekt bestimmt. Die Nutzung beider Methoden erlaubte zusätzlich die Quantifizierung des Osteoidanteils (engl. *osteoid volume, OV*) über die Histologie als auch des Anteils an Fettgewebe bzw. Knochenmark (engl. *fatty tissue volume, FV*) aus T₁-gewichteten MRT-Schnittbildern. Beide Fraktionen sind Bestandteil des Weichgewebes (SV). Eine Zusammenfassung aller quantifizierten Parameter wurde in Abb. 45 dargestellt. In dieser wurden die Anteile des Weichgewebes detailliert als OV, FV und »nicht weiter differenziertes« Weichgewebe (engl. »*residual soft tissue, RV*«) angegeben.

Die Darstellung der quantifizierten Daten und Details zur statistischen Auswertung erfolgte im Anhang in Tabellenform (Kap. 8.4, Tab. 32 bis Tab. 42, S. 164ff).

5.3.3.1. RESULTATE DER KAVITÄT (ROI 1) UND DES GEWINDES (ROI 2)

Die knöcherne Einheilung des PEEK/Ti-Implantates unterschied sich in den Bereichen der Kavität (ROI 1) und des Implantatgewindes (ROI 2). Innerhalb von ROI 1 war eine kontinuierliche Zunahme des Knochenanteils *BV* über den gesamten Analysenzeitraum bis zu einem Wert von $28,3 \pm 20,3$ % (qMRT-Wert, Histo: $26,4 \pm 22,7$ %) zu verzeichnen. Der Anteil am gesamten Weichgewebe *SV* nahm entsprechend auf $71,7 \pm 20,3$ % (qMRT-Wert, Histo: $73,6 \pm 22,7$ %) ab. Aus den Standardabweichungen wird deutlich, dass die knöcherne Einheilung der Implantate sehr inhomogen verlief. Während auch nach acht Wochen bei einzelnen Implantaten innerhalb von ROI 1 nur minimale Knochenanteile quantifiziert werden konnten (Min. qMRT: 2,05 %, Min. Histo: 0,21 %, siehe dazu Tab. 32 und Tab. 33 im Anhang, S. 164ff), wurden bei anderen Gewebeproben Knochenanteile von über 50 % festgestellt (Max. qMRT: 52,7 %, Histo: 59,0 %).

Der Einheilprozess für den Bereich des Gewindes (ROI 2) unterschied sich deutlich von ROI 1. Hier kam es zu einem raschen und signifikanten Anstieg des prozentualen Knochenanteils bis zur vierten postoperativen Woche (p_{2Wo} zu $4Wo = 0,001$). Im Zeitintervall zwischen der vierten und der achten Woche stieg der Anteil des mineralisierten Gewebes nicht mehr an, sondern verblieb auf einem konstanten Niveau. Nach

^{xciii} Laterale Auflösung der mikroskopischen Aufnahmen: 0,002 x 0,002 mm, und der MRT-Schnittbilder: 0,04 x 0,08 mm.

^{xciv} Krestal (engl. *crest* = »Kamm«) ist die Richtungsbezeichnung für »vom Kieferkamm her.«

acht Wochen wurden für ROI 2 ein Knochenanteil von $25,0 \pm 12,0$ % (qMRT-Wert, Histo: $33,0 \pm 18,0$ %) und ein entsprechender Weichgewebsanteil von $75,0 \pm 12,0$ % (qMRT-Wert, Histo: $67,0 \pm 18$ %) erreicht. Wie aus den Tab. 32 und Tab. 33 (S. 164ff) ersichtlich, verlief auch die Osseointegration der PEEK/Ti-Implantate auch in ROI 2 erkennbar inhomogen.

Bezüglich der quantifizierten Anteile an Fettgewebe und Osteoid innerhalb von ROI 1 und ROI 2 konnte festgestellt werden, dass deren prozentuale Anteile auf niedrigem Niveau verblieben. Die Osteoidanteile *OV* nahmen innerhalb beider ROI im Zeitverlauf leicht ab. Beim Fettgewebsanteil *FV* zeigten sich geringe Zunahmen. Die Veränderungen sowohl für *FV* als auch für *OV* innerhalb der Analysenregionen ROI 1 und ROI 2 waren statistisch nicht signifikant (vgl. Anhang, Tab. 36 und Tab. 38, S. 168ff).

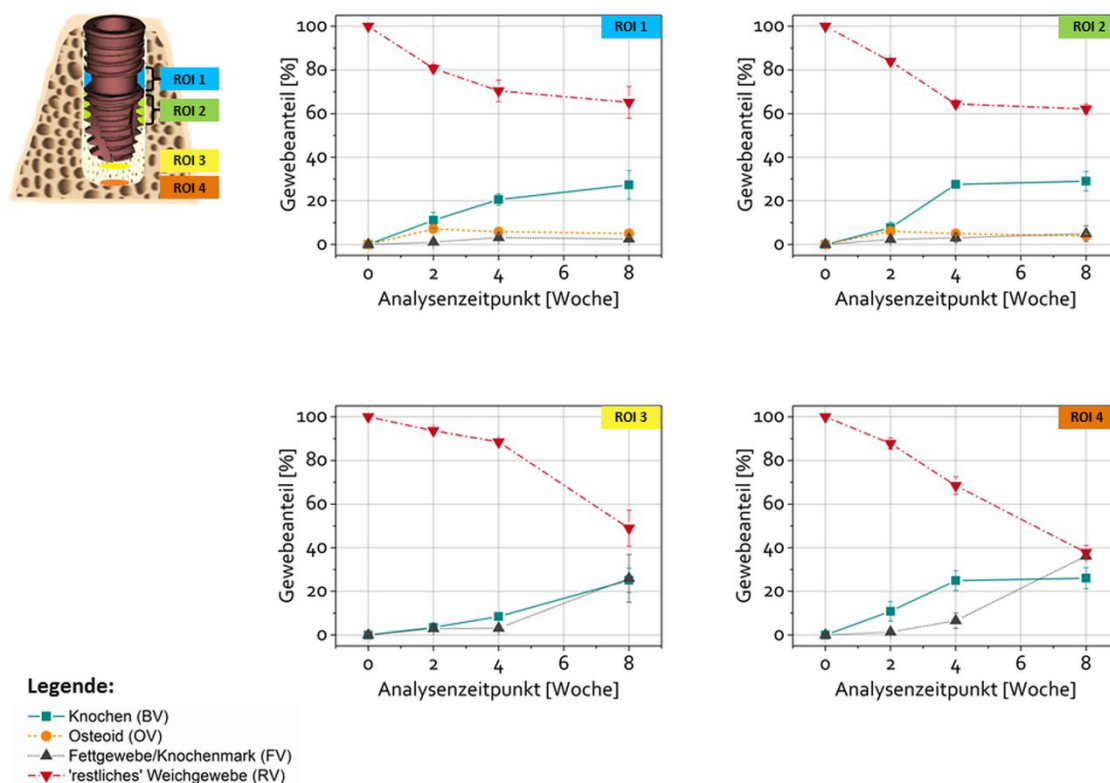


Abb. 45 Monitoring der Osseointegration im Zeitverlauf anhand der quantifizierten Parameter. Der abgebildete Knochenanteil *BV* entspricht dem Mittelwert des Ergebnisses aus beiden Analysemethoden. Der Osteoidanteil *OV* entstammt histologischen Daten, der Anteil an Fettgewebe/Knochenmark *FV* wurde aus den T₁-gewichteten MRT-Schnittbildern berechnet. Angabe der Ergebnisse als Mittelwerte \pm Standardfehler. Einzelwerte in Tab. 34, S. 166.

5.3.3.2. RESULTATE DER PERIAPIKALEN REGIONEN (ROI 3 & ROI 4)

Die beiden Analysenregionen ROI 3 und ROI 4 befanden sich periapikal innerhalb des Bohrkanals, d.h. unterhalb der Implantatspitze. Während ROI 3 direkt an das Implantat angrenzte, befand sich ROI 4 am Grenzbereich des Implantationsbereiches zum reifen Lagerknochen. Wie in Kap. 5.3.2.1 (S. 97) beschrieben, konnte der Implantationsbereich auf den MRT-Schnittbildern deutlich vom »alten« Knochen differenziert werden. Die Knochenregeneration innerhalb beider Regionen unterschied sich, wobei sich Parallelen zwischen ROI 3 und ROI 1, sowie ROI 4 und ROI 2 zeigten (Abb. 45).

Wie schon im Bereich der Kavität beobachtet, kam es bei ROI 3 zu einer kontinuierlichen Zunahme des Knochenanteils. Allerdings verlief der Anstieg bis Woche vier auf wesentlich niedrigerem Niveau. Während bei ROI 1 nach zwei Wochen schon ein Knochenanteil von mehr als 10 % quantifiziert werden konnte, so zeigte sich innerhalb von ROI 3 kaum mineralisiertes Gewebe (qMRT-Wert: $3,5 \pm 5,6$ %). Auch

war die Schwankungsbreite hier sehr groß, wobei einzelne Schnittbilder keinen neugebildeten Knochen zeigten. Zwischen der vierten und der achten Woche schritt die Osseointegration in ROI 3 jedoch sichtbar voran, so dass der Knochenanteil mit $25,1 \pm 16,7\%$ ein ähnliches Niveau wie ROI 1 und ROI 2 erreichte. Statistisch signifikante Zunahmen wurden zwischen der zweiten und der achten bzw. der vierten und der achten Woche beobachtet ($p_{2Wo\ zu\ 8Wo} = 0,001$, $p_{4Wo\ zu\ 8Wo} = 0,008$).

Die Zunahme des Knochenanteils von ROI 4 verlief analog zu ROI 2. Bis zur vierten postoperativen Woche zeigte sich ein kontinuierlicher Anstieg des Knochenanteils, welcher bis zur achten Woche auf etwa dem gleichen Niveau verblieb. Der Anteil an mineralisiertem Gewebe wurde am letzten Analysenzeitpunkt zu $26,0 \pm 14,5\%$ bestimmt und entspricht einem ähnlichen Wert wie für die anderen untersuchten Regionen quantifiziert.

Verglichen mit der Kavität und dem Gewinde zeigten sich in beiden periapikalen Regionen bezüglich der Fettgewebsanteile *FV* signifikante Unterschiede. Insbesondere zwischen der vierten und der achten Woche kam es zu einer starken Zunahme des Fettgewebes. Nach acht Wochen konnten für ROI 3 ein Anteil des *FV* von $26,0 \pm 15,5\%$ und für ROI 4 von $36,2 \pm 2,1\%$ quantifiziert werden. Somit unterschied sich die Knochenqualität der untersuchten periapikalen Regionen klar vom Gewebe innerhalb von ROI 1 und ROI 2. Wie in Kap. 5.3.2.1 (S. 97ff) beschrieben, handelte es sich bei diesem Weichgewebe um Knochenmark³²⁵. Die detektierte Zunahme des Knochenmarksanteils ist, neben morphologischen Veränderungen der Knochenstruktur und des Anstieges des Anteils an mineralisiertem Gewebe, ein weiteres Zeichen für das Fortschreiten des Regenerationsprozesses.

5.3.4. Vergleich der Ergebnisse aus qMRT und Histomorphometrie

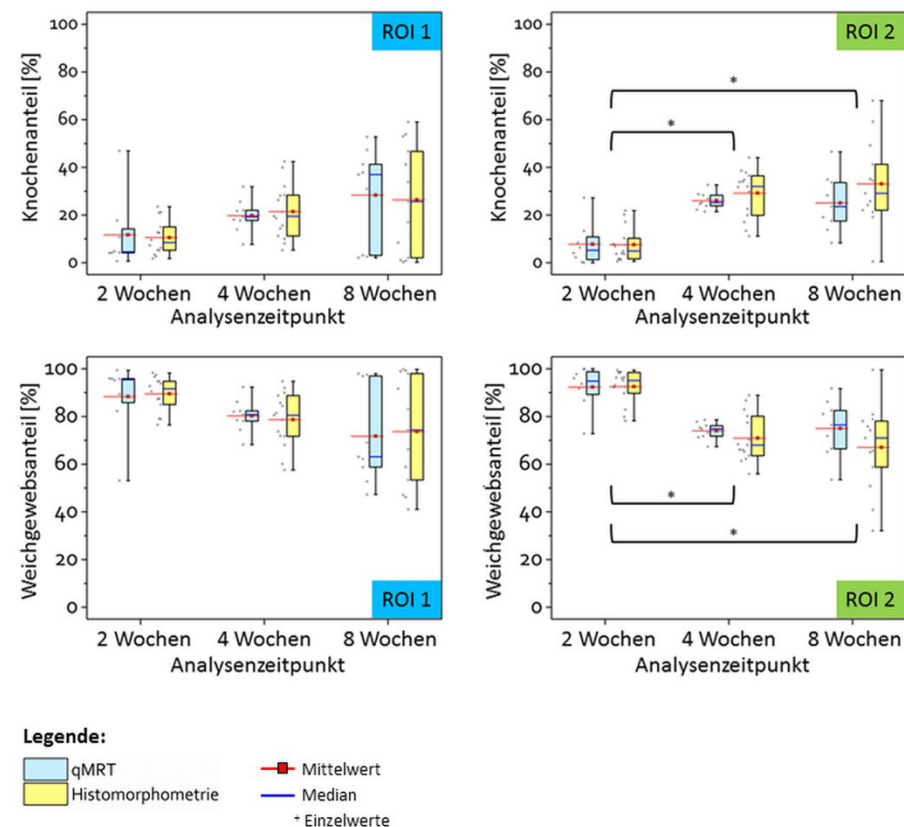


Abb. 46 Gegenüberstellung der Ergebnisse für die Hart- und Weichgewebsquantifizierung aus Histomorphometrie und qMRT anhand von Box-Plots. Die berechneten Mittelwerte (rot gekennzeichnet) unterscheiden sich zwischen den Methoden kaum (Ausnahme: ROI 2, 8 Wochen). Erkennbar ist aber auch die große Schwankungsbreite der Ergebnisse. Statistisch signifikante Veränderungen im Zeitverlauf treten bei ROI 1 nicht auf. Statistische Signifikanz ist gegeben durch $*p < 0,05$. Gesamte Anzahl der Implantate = 11.

Zum Vergleich der Ergebnisse wurden die prozentualen Knochen- und Weichgewebsanteile herangezogen, da diese Kennzahlen von beiden Methoden bestimmt wurden. Während die Bestimmung des Knochenanteils aus den MRT-Schnittbildern indirekt und des Weichgewebsanteils direkt erfolgte, verhielt es sich bei der Auswertung der histologischen Abbildungen genau umgekehrt.

Anhand der Box-Plots in Abb. 46 wird die sehr große Schwankungsbreite der Ergebnisse beider Methoden sichtbar. Wie in vorangegangenen Kapiteln schon festgestellt, verlief die knöcherne Einheilung der PEEK/Ti-Implantate bis zum letzten Analysenzeitpunkt sehr inhomogen. Infolge der großen Streuung der Einzelwerte wurden anhand des direkten Mittelwertvergleiches beider Methoden keine statistischen Unterschiede identifiziert (vgl. Anhang, Tab. 41, S. 170). Diese Aussage wurde zusätzlich durch die aus dem linearen Regressionsmodell berechneten Wahrscheinlichkeitswerte p unterstützt (Tab. 42, S. 171). Allerdings lagen die Ergebnisse für BV aus ROI 1 beider Methoden näher beieinander ($p = 0,82$) als die entsprechenden Resultate aus ROI 2 ($p = 0,16$). Dieser Schluss lässt sich auch aus Abb. 46 ziehen. In dieser wurden die Streuungen der Einzelwerte anhand von Box-Plots dargestellt. Die rot markierten Mittelwertslinien zeigen sich für ROI 1 nahezu deckungsgleich. Für ROI 2 zeigten sich für die nach achtwöchiger Einheilperiode gewonnenen qMRT-Daten im Vergleich zur Histomorphometrie niedrigere, aber aufgrund der breiten Streuung der Einzelergebnisse nicht signifikant geringere BV -Werte.

5.4. Zusammenfassung der Ergebnisse zur Osseointegration dentaler PEEK/Ti-Implantate und Diskussion

Nachdem in den vorangegangenen Kapiteln 3 (S. 57ff) und 4 (S. 75ff) die Materialcharakterisierung des Systems PEEK/Ti erfolgte und die Evaluation der Biokompatibilität *in vitro* stattfand, setzte sich die Versuchsreihe mit der Analyse der knöchernen Einheilung von Implantaten aus PEEK/Ti im Rahmen eines Tierversuches in Kapitel 5 fort. Dazu wurde beispielhaft ein enossales Zahnimplantat gewählt, wobei die Implantatgeometrie einem kommerziellen Modell nachgestaltet, aber dazu abweichend mit einer Kavität im oberen Gewindebereich gefertigt wurde (vgl. Kap. 5.2.1, S. 91). Die Beurteilung der Osseointegration erfolgte aus der Beobachtung des klinischen Verlaufes des Tierversuches und (*ex vivo*) anhand der Ergebnisse aus der Magnetresonanztomographie und Histologie. Die Analyse umfasste eine detaillierte morphologische Beschreibung der ossären Situation, sowie der quantitativ gewonnenen Parameter. Darüber hinaus wurde die Vergleichbarkeit der aus beiden Techniken gewonnenen Daten statistisch untersucht.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass sich die untersuchten Dentalimplantate aus PEEK/Ti suffizient in den Knochen integrierten. Während der Einheilperiode wurden keine Anzeichen einer Infektion oder Fremdkörperreaktion festgestellt. Ein direkter Knochen-Implantat-Kontakt war ab der vierten Woche der Einheilperiode nachweisbar und kann als direkte Folge der Titanbeschichtung angesehen werden. Wie in Kap. 2.2.3 (S. 14ff) und Kap. 4.1 (S. 75ff) diskutiert, würden sonst die hydrophoben Eigenschaften der reinen PEEK-Oberfläche und deren Inertheit einen direkten Knochen-Implantat-Kontakt verhindern und so zu einer fibrösen Einkapselung führen³⁰². Diese Aussage wird durch die Ergebnisse von *Devine et al.* unterstützt³²⁷. Die Gruppe konnte im Rahmen eines Tierversuches an Schafen histologisch nachweisen, dass in die Tibia implantierte Schrauben aus CFR-PEEK auch nach sechs Monaten hauptsächlich von einer Bindegewebsschicht umgeben waren^{xcv}, während die beiden Ti-beschichteten Implantate einen BIC von rund 15 % aufwiesen. Verglichen mit Literaturwerten reiner Titan-Schrauben ist das aber ein niedriger Wert. *Korn et al.* wiesen in einer Studie mit Miniatur-Schweinen für ein in den Unterkiefer implantiertes, schraubenförmiges Titan-Implantat einen BIC von $41,2 \pm 10,7$ % nach der achtwöchigen Einheilperiode nach³²⁸. Dieser BIC-Wert entsprach einem prozentualen Knochenanteil BV (in der Studie von *Korn et al.* als »bone volume density«, BVD, bezeichnet) von $21,7 \pm 12,5$ %. Wie in der vorliegenden Studie waren die Implantate in die Spongiosa integriert. Der für das PEEK/Ti-Implantat quantifizierte BV -Wert von $25,0 \pm 12,0$ % (qMRT-Wert, Histo: $33,0 \pm 18,0$ %, für ROI 2) nach acht Wochen liegt etwas

^{xcv} Der BIC-Wert der unbeschichteten CFR-PEEK-Schraube wurde mit $4,3 \pm 7,6$ % angegeben³²⁷.

über den von *Korn et al.* publizierten Werten für das Titan-Implantat, sind aber aufgrund der breiten Streuung und der Verwendung desselben Tiermodells vergleichbar.

Dieses Resultat spricht außerdem für die Stabilität der Titanschicht auf dem Kunststoff. Prinzipiell wäre es möglich, dass es infolge der Implantat-Insertion zur Beschädigung der Beschichtung kommt. Im Falle der beschriebenen Schrauben-Implantate von *Devine et al.* war das auch der Fall und wurde auf den histologischen Abbildungen nachgewiesen. Teile der Titanbeschichtung zeigten sich in der Nähe der Implantate abgelöst und waren in den neugebildeten Knochen eingeschlossen³²⁷. Ein derartiger Befund konnte jedoch in der vorliegenden Studie nicht festgestellt werden. Kleine Kratzer führen zudem nicht zu einer verringerten Biokompatibilität, wie im Kapitel 4 *in vitro* demonstriert wurde (S. 75ff).

Verglichen mit Titan sind Implantate aus PEEK/Ti weniger mechanisch stabil. Wie eingangs beschrieben (siehe Kap. 2.2.3 und Tab. 2, S. 15) liegen relevante Materialkenngrößen (wie z.B. Zug-, Scher- und Dauerfestigkeit) deutlich unter denen des Titans. Aufgrund der Elastizität des PEEK ist das Risiko eines Materialbruchs bei hoher mechanischen Belastung zwar gering^{95,310}, allerdings sind mechanische Verformungen möglich. Diese können Folge der Implantat-Insertion und/oder der Kaubelastung sein. Belastungsspitzen treten insbesondere im zervikalen^{xcvii} Bereich auf. Die Finite-Elemente-Simulationen von *Sarot et al.* zeigten eine größere mechanische Verformung von Dentalimplantaten aus CFR-PEEK in diesem Bereich als das entsprechende Implantat aus Titan¹¹⁴. In der vorliegenden Arbeit wurden bei einigen Implantaten ebenfalls deformierte Gewindespitzen festgestellt (vgl. Abb. 44, S. 100), die allerdings über den gesamten Gewindebereich detektiert werden konnten. Es wurde zwar keine veränderte Osseointegration der deformierten Gewindespitzen in den Kiefer beobachtet, allerdings ist eine mechanische Verformung enossaler (Schrauben-)Implantate aus reinem PEEK auch beim Menschen zu erwarten, da sowohl die Knochenmorphologie als auch die Kaubelastung zwischen dem Miniaturschwein und dem Menschen vergleichbar sind³¹⁹. *Lee et al.* gehen sogar von Kaukräften bis 400 N beim Menschen im Molarenbereich aus¹¹⁵. Somit würden *theoretisch* die mastikatorischen Kräfte beim Menschen die Kaukräfte beim Miniaturschwein (die bei *Hönig et al.* mit 100-150 N angegeben werden³¹⁹) überschreiten und es müsste eigentlich von noch stärkeren mechanischen Belastungen der Implantate ausgegangen werden.

Im Umkehrschluss legt das Ergebnis der Arbeit im Vergleich zu den Resultaten von *Sarot et al.* aber nahe, dass sich Verformungen des Materials durch Compoundierung mit Kohlenstoff- oder Glasfasern verringern lassen, da die Komposite höhere Festigkeiten aufweisen^{99,121}. Aus dieser Möglichkeit ergibt sich eine breite Flexibilität in der Gestaltung von Werkstoffen für Implantatmaterialien auf Basis von PEEK. Je nach prozentualem Anteil des Füllstoffes, der Faserlänge und deren Orientierung kann der Elastizitätsmodul beliebig angepasst werden. Das in Tab. 21 beispielhaft aufgeführte 30 %-CFR-PEEK-Optima weist nahezu dieselbe Elastizität wie kortikaler Knochen auf, besitzt aber eine größere Zugfestigkeit als Knochen oder der ungefüllte Kunststoff.

Tab. 21 Materialeigenschaften von PEEK und PEEK-Kompositen im Vergleich zum Titan, aus^{81,99,121,329}.

Material	E-Modul [GPa]	Zugfestigkeit [MPa]
Kortikaler Knochen	13	80
PEEK-Optima	4	100
CFR-PEEK-Optima (30 % kurze Fasern)	18	230
CFR-PEEK (Endolign® ^{xcvii})	150	2000
Titan	105	785

^{xcvi} Als zervikaler Bereich wird die Region des Implantathalses bezeichnet.

^{xcvii} Endolign® ist ein CFR-PEEK-Komposit mit 60 % parallel orientierten, langen Kohlenstoff-Fasern (»endlosfaserverstärktes« CF-PEEK). Diese haben ein großes Aspektverhältnis und sind ca. 6 mm lang. Die kurzen Fasern für 30 %-CFR-PEEK-Optima sind kleiner als 0,4 mm¹²¹.

Das niedrige, und durch Compoundierung dem Knochen anpassbare E-Modul von PEEK und seiner Komposit ist für Implantate des Hartgewebes besonders günstig, da in diesem Fall die Weiterleitung biomechanischer Kräfte auf den Lagerknochen gleichmäßiger erfolgt und das Auftreten einer Belastungsabschirmung des Knochens (der »stress shielding effect«) vermieden wird. Diese Eigenschaft und die im Vergleich zum Titan geringere Dichte stellen gerade bei komplexeren Konstruktionen in der Implantologie, wie z.B. als Gerüstmaterial für die prothetische Versorgung, einen Vorteil dar. Nach *Schwitalla et al.* wirken Prothesen aus PEEK kompensierend und stoßdämpfend gegen eingeleitete Kaukräfte und langfristig knochenprotektiv³¹⁰. *Siewert & Rieger* verweisen zudem auf einen verbesserten Tragekomfort aufgrund des geringeren Gewichtes dieser Prothesen¹¹¹. Diese Eigenschaft wird mit ansteigender Implantatgröße wichtiger und wird vor allem im Bereich der Kranioplastik^{xcviii,107} aber auch bei kieferumspannenden Brücken als großer Vorteil beschrieben^{330,331}.

Für die Auswahl des Kunststoffes PEEK zur Evaluation der knöchernen Einheilung im Rahmen der vorliegenden Dissertation war aber dessen Kompatibilität zu medizinischer Bildgebung vordergründig. Da PEEK nicht elektrisch leitfähig ist und verglichen mit Titan eine dem biologischen Gewebe ähnelnde magnetische Suszeptibilität aufweist, treten bei der Magnetresonanztomographie keine durch das Material erzeugten Bildstörungen auf (im Gegensatz zum in der Zahnmedizin etablierten Titan, siehe Kap. 3.4, S. 64ff). Aufgrund der geringen Elektronendichte des Kunststoffes ist er zudem »röntgentransparent«, d.h. im Röntgenbild und auf der CT-Aufnahme nicht sichtbar. Für die Beurteilung der Osseointegration anhand von CT-Aufnahmen ist die Eigenschaft der Röntgentransparenz zwar insofern von Vorteil, dass auch hier durch das PEEK keine Material-induzierten Artefakte auf den CT-Aufnahmen erzeugt werden, allerdings ist die Detektion direkter Knochen-Implantat-Kontakte ebenfalls nicht möglich, da weder der Kunststoff, noch das Weichgewebe abgebildet werden. *Schwitalla et al.* und der Hersteller *Invibio Ltd.* weisen jedoch darauf hin, dass die Röntgenopazität des Materials durch die Compoundierung mit Bariumsulfat (BaSO₄) beliebig eingestellt werden könne^{99,310}. Insofern eignen sich vor allem die PEEK-Komposite uneingeschränkt für die medizinische Bildgebung.

Im Falle des routinemäßigen Einsatzes von Zahnimplantaten ist die MRT- oder CT-Kompatibilität des Materials nicht das ausschlaggebende Kriterium. Die hohen Erfolgsraten der Implantate aus ReinTitan von über 97 %⁷⁷ können von PEEK-basierten Implantaten wohl kaum übertroffen werden. Dennoch ist die Verwendung des Kunststoffes PEEK für den Zahnersatz ein sehr aktuelles Thema. Hintergründe sind potentielle Unverträglichkeiten auf Titan infolge freigesetzter Metallionen⁷⁸ als auch der Patientenwunsch nach einer metallfreien prothetischen Versorgung, da die graue Farbe des Titans vereinzelt ästhetische Probleme im Vorderzahnbereich verursachen kann⁸².

Möglicherweise haben PEEK-basierte Zahnimplantate ein großes Potential bei Patienten, bei denen eine häufige bildgebende Diagnostik im Kopf- und Halsbereich zu erwarten ist. Dieses betrifft insbesondere Patienten, die unter einem Karzinom der Mundhöhle oder des Mundrachens leiden. Zum einen wird infolge von Tumorresektionen ein Zahnersatz notwendig, und zum anderen macht auch die Strahlenbehandlung des Kopf-Hals-Bereiches die Implantatversorgung meistens erforderlich.

Hintergründe sind vor allem präventiv entfernte kariöse Zähne^{xcix} vor der Bestrahlung und Zahnverlust durch Strahlenkaries als eine mögliche Spätfolge³³²⁻³³⁴. Die Diagnostik der Karzinome, die Kontrolle des therapeutischen Erfolges und vor allem die Nachversorgung macht die routinemäßige Nutzung bildgebender Methoden notwendig^{334,335}. Vor allem metallische Zahnimplantate (i. d. R. aus Titan oder Titanlegierungen) führen dann zu teils drastischen Bildstörungen, wie eingangs im theoretischen Teil der Arbeit (Kap. 2.4.3.8, S. 51ff) und Kapitel 3 (S. 57ff) analysiert und diskutiert wurde. Die Problematik der metall-induzierten Artefakte bei der bildgebenden Diagnostik ist auch bei der Diagnostik von Krebspatienten

^{xcviii} Unter Kranioplastik wird der chirurgische Verschluss von (meist großflächigen) Knochendefekten des Schädels verstanden. Sie dient außerdem der Rekonstruktion der Schädelkonturen.

^{xcix} Eine schwerwiegende Komplikation der Kopf-Hals-Bestrahlung ist die infizierte Osteoradionekrose einer starken Keimbesiedlung der Mundhöhle (Karies, Parodontitis). Es handelt sich um einen pathologischen Knochenrückgang, der sich röntgenologisch durch unscharf begrenzte Knochentrümmer zeigt. Durch die Keimbesiedlung in der Mundhöhle kommt es v.a. im Bereich des Unterkiefers zu Infektionen. Das Risiko solcher Infektionen kann durch eine gründliche Zahnsanierung vor der Strahlentherapie verringert werden³³².

bekannt. Implantate aus Titan können infolge der Bildstörungen die Aussagekraft sowohl der MRT- und CT-Schnittbilder, als auch die Befunde aus der in der Onkologie häufig genutzten kombinierten Methoden PET/MRT und PET/CT drastisch einschränken^{336,337}. Die Verwendung von PEEK-basiertem Zahnersatz könnte für diese Patienten von Vorteil sein, sofern die Oberfläche der Implantate zur Erhöhung der Biokompatibilität des Kunststoffes modifiziert wird, um eine zu Ti-Implantaten (mindestens) vergleichbare Osseointegration zu erreichen.

Aufgrund der Neuheit, PEEK-basierte Zahnimplantate oder Prothesen zu nutzen, liegen bisher keine Erfolgsraten aus Langzeituntersuchungen vor³¹⁰. Wie im Grundlagenteil erwähnt, beschränkt sich die Fachliteratur bisher auf Einzelfallstudien zur Verwendung von PEEK-basiertem Zahnersatz. Über mehrjährige Erfahrungen mit Zahnersatz aus PEEK wird beispielsweise von *Siewert* berichtet³³⁰. In seinem 2014 erschienenen Zeitschriftenartikel blickte er auf die Anwendung des Kunststoffes in der zahnärztlichen Prothetik bis zum Jahr 2008 zurück. *Siewert* verwendet PEEK erfolgreich für prothetische Brücken, Stege und herausnehmbaren Zahnersatz und konnte innerhalb dieses Zeitraumes keine Materialermüdung (keine Riss- oder Bruchbildung, auch bei ausgeprägtem Bruxismus^c), keine Korrosionserscheinungen und eine geringe Plaqueanlagerung feststellen^{330,338}.

Hinsichtlich der bakteriellen Adhärenz an PEEK-Oberflächen bestehen allerdings gegensätzliche Aussagen. Während *Siewert* noch keine Entzündungsreaktion infolge des PEEK-basierten Zahnersatzes feststellte³³⁰, veröffentlichten *Khonsari et al.* drei Patientenfälle mit jeweils akuter Periimplantitis^{ci,141}. Nach deren Aussage habe Titan ein höheres antiinfektives Potential als PEEK, was sich zudem mit den Untersuchungen von *Gorth et al.* deckt³⁴⁰. Dementsprechend besteht ein hoher Forschungsbedarf hinsichtlich des Langzeiterfolges von PEEK-basiertem Zahnersatz, der zwingend Patientengruppen mit verminderter Knochenregeneration (z.B. nach Strahlentherapie) einschließen sollte.

Die Osseointegration der *in vivo*-Situation kann hierbei detailliert mit Hilfe von bildgebenden Methoden untersucht werden. Im Bereich der Dental-Implantologie werden überwiegend Methoden der Röntgen-Diagnostik eingesetzt, vor allem die Digitale Volumentomographie (DVT)^{cii,341}. Die MRT spielt in der Zahnmedizin generell eine untergeordnete Rolle. Gründe sind die fehlende direkte Darstellbarkeit des Knochens mit konventionellen MRT-Methoden, die Problematik metall-induzierter Artefakte und die vergleichsweise hohen Kosten.

Aufgrund der zahlreichen Möglichkeiten, Kontraste innerhalb des Weichgewebes zu erzeugen, hat die MRT dennoch ein hohes Potential. *Gahleitner et al.* schlagen die MRT zur Darstellung des Kiefers, insbesondere zur Lokalisation des Mandibularkanals und zur Diagnostik zahnmedizinischer Erkrankungen, beispielsweise einer Pulpitis^{ciii}, vor²⁴⁹. Die Übersichtsarbeit von *Kress et al.* stellt weitere Indikationen der dentalen MRT vor; so die Untersuchung von Erkrankungen des Kiefergelenkes, die Detektion von Entzündungen und Zysten und zur Analyse kariöser Läsionen³⁴². Insbesondere durch die Verwendung von Sequenzen mit ultra-kurzer Echozeit werden detaillierte und kontrastreiche Aufnahmen von Zähnen erreicht, die eine präzise Lokalisation der Karies ermöglichen^{236,237}. Die Arbeitsgruppe um *Rasche* untersucht das Potential der Dental-MRT zur Diagnostik kariöser Zähne derzeit intensiv und mit Erfolg, wie mehrere Arbeiten und eine wissenschaftliche Auszeichnung belegen^{253,343,344}.

Publizierte Studien zur Nutzung der MRT im Bereich der dentalen Implantologie sind rar. Einige Gruppen schlagen die MRT als alternatives bildgebendes Verfahren zur Implantat-Planung vor und weisen sowohl auf die Vorteile, wie fehlende Strahlungsbelastung und die detaillierte Darstellbarkeit des den Knochen umgebenden Bindegewebes, aber auch auf die Schwierigkeiten mit metallischem Zahnersatz und Füllungen hin (wobei Metalle auch in der CT zu drastischen Bildstörungen führen und die Diagnostik

^c Als Bruxismus wird das unbewusste, meist nächtliche Zähneknirschen bezeichnet.

^{ci} Als eine Periimplantitis wird die Entzündung des Implantatbettes von Zahnimplantaten bezeichnet. Primär sind Plaqueanlagerungen (Besiedlung mit gemischter anaerober Mikroflora) für die Entzündung verantwortlich³³⁹.

^{cii} Die DVT funktioniert ähnlich wie eine Computertomographie. Im Gegensatz zur CT, bei der ein fächerförmiger Röntgenstrahl genutzt wird, wird bei der DVT eine kegel- oder pyramidenförmige Strahlengeometrie eingesetzt. Das Aufnahmesystem rotiert um das Objekt mit einer festen z-Achse, wobei eine Verschiebung der Röhren-/Detektoreinheit nicht notwendig ist³⁴¹.

^{ciii} Eine Pulpitis ist eine Erkrankung des Zahnnerves. Auf MRT-Schnittbildern ist ein deutliches Knochenmarksödem in der Periapicalregion sichtbar²⁴⁹.

einschränken können)^{83,345}. Neben den in der vorliegenden Arbeit gezeigten Ergebnissen zu dentalen PEEK/Ti-Implantaten existiert bisher nur eine weitere Studie, die die Anwendbarkeit der MRT zur Darstellung enossaler Zahnimplantate thematisiert²⁵⁴. Die Untersuchung der knöchernen Einheilung von Dentalimplantaten im Rahmen einer MRT-Studie ist somit wissenschaftlich neu und besitzt aufgrund der Verwendung von PEEK als Implantatmaterial eine klinische Relevanz³²⁰.

Grundsätzlich besteht ein hoher Forschungsbedarf hinsichtlich der Nutzbarkeit der MRT sowohl in der Zahnmedizin als auch in der Grundlagenforschung zu Biomaterialien und Tissue Engineering. Da das komplexe Zusammenwirken aus Materialien, verschiedensten Zelltypen und weiterer bedeutender Faktoren, wie beispielsweise das Vorhandensein physiologischer, biomechanischer Belastungen auf den Knochen, nicht *in vitro* darstellbar ist, bleibt die Anwendung von Tiermodellen erforderlich⁹. Daraus ergeben sich hohe Anforderungen an das Monitoring und die Bewertung der Biokompatibilität der implantierten Materialien, die idealerweise anhand von Längsstudien durchgeführt werden, also der Untersuchung der Integration des Biomaterials über die Zeit an jeweils einem Tier^{10,11}.

Die Osseointegration neuer Zahnimplantate wird bisher jedoch überwiegend histologisch untersucht¹². Die Vorteile der Histologie sind die vielfältigen Möglichkeiten der Gewebefärbung und die detaillierte Auswertbarkeit der Knochen-Implantat-Grenzfläche und des umgebenden Gewebes anhand von Abbildungen im sub-Mikrometerbereich (vgl. Kap. 2.4.1, S. 23ff). Der wesentliche Nachteil histologischer Methoden ist deren invasiver Charakter. Dadurch ist es unmöglich, Längsstudien zur Osseointegration an den Versuchstieren durchzuführen. Die Folge ist eine hohe Anzahl benötigter Tiere, da diese nach jedem gewünschten Analysenzeitraum geopfert werden müssen. Somit ist es bei tierexperimentellen Studien immer erforderlich, genau zwischen der Anzahl der Analysenzeitpunkte und der verwendeten Versuchstiere abzuwägen. Mehr Zeitpunkte bedeuten so automatisch eine größere Versuchstierzahl¹¹.

Durch die Verwendung nicht-invasiver bildgebender Verfahren könnte entweder die Anzahl der Versuchstiere verringert oder aber Gruppengröße erhöht werden, um statistisch präzisere Resultate zu erzielen. Denn häufig zeigen histologische Auswertungen einen breiten Schwankungsbereich der Ergebnisse^{178,185}. Auch in der vorliegenden Pilotstudie trat eine große Spannweite der Einzelergebnisse für die untersuchten Parameter auf (vgl. Abb. 46, S. 103) – und zwar für beide Methoden. Vermutlich sind die hier erzielten Werte durch die hohe individuelle biologische Varianz infolge der Verwendung von nur drei Versuchstieren begründet.

Zudem war die Integration der Implantate in den Knochen sehr inhomogen, wie besonders aus den axialen MRT-Schnittbildern erkennbar wurde (vgl. Abb. 42, S. 99). Da die knöcherne Einheilung nur anhand weniger Dünnschliffe evaluiert werden kann (und die MRT-Ergebnisse der Arbeit auf etwa der gleichen Anzahl an Schnittbildern beruhen, um die Vergleichbarkeit der Bedingungen für die methodische Untersuchung zu gewährleisten), ist der Einfluss der (unbewusst) gewählten Schnittebene auf das Ergebnis durchaus denkbar (siehe auch Abb. 6, S. 26). Im Rahmen der Studie erfolgte vor den MRT-Experimenten und der nachfolgenden histologischen Präparation keine Markierung der bevorzugten Ausrichtung der Gewebeproben, die jeweils ein rotationssymmetrisches Implantat enthielten. Daher ist es plausibel, dass mit MRT und Histologie Ebenen unterschiedlicher Schnittrichtungen ausgewertet wurden. Der mögliche Effekt der Schnittrichtung wurde in Abb. 47 nochmals skizziert. Je nach Schnittrichtung unterscheidet sich der quantifizierte prozentuale Knochenanteil für das beispielhaft ausgewählte Implantat.

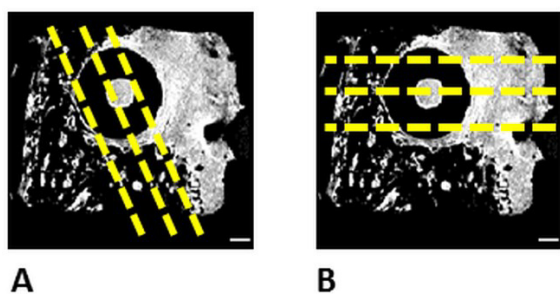


Abb. 47 Darstellung des Einflusses der Schnittrichtung anhand eines axialen Schnittbildes (aus Abb. 42, 4 Wochen, Kavität, S. 99) und dreier exemplarischer Gewebeschnitte (gelb markiert). (A) Die drei entsprechenden Längsschnitte würden einen hohen Knochenanteil aufweisen. (B) Die Längsschnitte würden einen hohen Knochenanteil und auf der gegenüberliegenden Seite einen hohen Weichgewebsanteil zeigen. Maßstabsbalken: 1 mm.

Die hohe Schwankungsbreite der Ergebnisse scheint daher, neben den individuellen Schwankungen bei der Osseointegration von Implantatmaterialien, auch das Resultat der gewählten Schichtorientierung zu sein. Außerdem ist es fraglich, ob die wenigen pro Implantat verfügbaren zweidimensionalen Dünnschliffe die dreidimensionale ossäre Situation des gesamten Implantates adäquat widerspiegeln oder ob eine Auswertung des gesamten Volumens zu präziseren Ergebnissen führen würde. *Bernhard et al.* stellen eine ausreichende Genauigkeit der Ergebnisse bei der Verwendung von drei bis vier histologischen Schliffpräparaten im Vergleich zu dreidimensional ausgewerteten SR μ CT-Daten fest²¹. Allerdings wurden vergleichsweise homogen integrierte Implantate nach der achtwöchigen Einheilperiode untersucht. Weitere Arbeiten, die sich mit dieser Thematik befassen und die frühe Einheilperiode mit einschließen, wurden bisher nicht veröffentlicht.

Im Rahmen der Dissertation erfolgte die Untersuchung der Vergleichbarkeit von quantitativen Daten aus der Histologie mit parallel gewonnenen quantitativen MRT-Resultaten in einer zweiten Tierstudie. Während es sich bei den Experimenten Kapitel 5 um eine Pilotstudie mit wenigen Versuchstieren handelte, umfasste die Studie des nachfolgenden Kapitels 6 eine deutlich höhere Versuchstierzahl.

6 UNTERSUCHUNG DER OSSÄREN INTEGRATION TISSUE-ENGINEERTER KNOCHENERSATZMATERIALIEN UND METHODISCHER VERGLEICH

6.1. VORBEMERKUNGEN ZUR STUDIE.....	111
6.1.1. Klinischer Hintergrund.....	111
6.1.1.1. <i>Behandlung von Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten</i>	111
6.1.1.2. <i>Tissue-Engineering zur Behandlung von LKG-Spalten</i>	112
6.1.2. Evaluierung der Vergleichbarkeit quantitativ gewonnener Parameter aus MRT und Histologie.....	113
6.1.3. Projekteinbindung und Kooperationspartner.....	113
6.2. MATERIALIEN UND METHODEN.....	113
6.2.1. Tiermodell.....	113
6.2.2. Tissue Engineering.....	114
6.2.3. Tierexperimentelles Vorgehen.....	115
6.2.4. Polyfluorochrome Sequenzmarkierung.....	116
6.2.5. Analytik der Osteogenese im Defektbereich und der Osseointegration der Knochenersatzmaterialien.....	116
6.2.5.1. <i>MRT-Untersuchungen</i>	116
6.2.5.2. <i>Histologische Untersuchung</i>	118
6.2.5.3. <i>Evaluierung der Messpräzision bei quantitativer MRT und Histomorphometrie</i>	119
6.2.6. Statistische Auswertung.....	119
6.2.6.1. <i>Statistische Auswertung der quantifizierten Parameter</i>	119
6.2.6.2. <i>Statistische Auswertung der Wiederholungsmessungen zur Evaluierung der Übereinstimmung und Präzision beider Methoden</i>	122
6.3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION DES KLINISCHEN ERFOLGES.....	122
6.3.1. Klinischer Verlauf des Tierversuches.....	122
6.3.2. Morphologische Beschreibung der ossären Integration.....	122
6.3.2.1. <i>Detektierbare Gewebestrukturen auf MRT- und Histologie-Abbildungen</i>	122
6.3.2.2. <i>Detektion von Knochenersatzmaterial auf MRT-Schnittbildern</i>	125
6.3.2.3. <i>Kontraste in MRT und Histologie zur Evaluation der Defektossifikation</i>	125
6.3.3. Qualitative Analyse der Defektossifikation.....	128
6.3.4. Quantitative Beschreibung der Defektossifikation.....	131
6.3.4.1. <i>Beurteilung des klinischen Erfolges anhand der Histomorphometrie und Diskussion</i>	131
6.3.4.2. <i>Darstellung der Ergebnisse aus der MRT im Vergleich zur Histomorphometrie</i>	134
6.4. METHODISCHER VERGLEICH DER QUANTIFIZIERTEN ERGEBNISSE AUS MRT UND HISTOLOGIE.....	137
6.4.1. Vergleich der einzelnen Messgrößen mit der Bland-Altman-Methode.....	137
6.4.1.1. <i>Konkordanzanalyse der Messergebnisse für BV</i>	138
6.4.1.2. <i>Konkordanzanalyse der Messergebnisse für DF100</i>	138
6.4.1.3. <i>Konkordanzanalyse der Messergebnisse für DB und DB100</i>	140
6.4.2. Bestimmung der Präzision beider Methoden anhand von Messwiederholungen.....	141
6.4.2.1. <i>Deskriptive Analyse der Datensätze aus quantitativer MRT und Histomorphometrie</i>	141
6.4.2.2. <i>Konkordanzanalyse für die quantitative MRT und Histomorphometrie auf Grundlage der Messwiederholungen</i>	143
6.5. DISKUSSION ZUM METHODISCHEN VERGLEICH ZWISCHEN MRT UND HISTOLOGIE.....	146

6.1. Vorbemerkungen zur Studie

6.1.1. Klinischer Hintergrund

6.1.1.1. BEHANDLUNG VON LIPPEN-KIEFER-GAUMENSPALTEN

Lippen-, Kiefer- und Gaumenspalten (auch als orofaziale Spalten bezeichnet) sind nach Trisomie 21 die zweithäufigsten angeborenen humanen Fehlbildungen³⁴⁶. Die weltweite Prävalenz wird mit 7,94 Fällen pro 10.000 Lebend-Geborenen angegeben (entsprechen 1:1260 Geburten)³⁴⁷, wobei die Häufigkeit je nach geographischem und ethnischem Hintergrund stark variiert. Hohe Fallzahlen treten in Japan (1:525 Geburten)³⁴⁷, Finnland (1:406 Geburten)³⁴⁸ und Bolivien (1:436 Geburten)³⁴⁹ auf, während zum Beispiel Neugeborene in Südafrika (1:3195 Geburten)³⁴⁷ und Spanien (1:2639 Geburten) deutlich seltener betroffen sind. Deutschland befindet sich mit einem Fall auf 924 Lebend-Geburten³⁴⁷ etwas über dem internationalen Durchschnitt^{civ}.

Lippen- und Kieferfehlbildungen entstehen in der frühen Schwangerschaft (zwischen der vierten und siebenten Schwangerschaftswoche) als Folge ausbleibender oder gestörter Verschmelzung der medialen Nasenwulst und der beiden seitlichen Oberkieferwülste^{cv}. Die Störung kann beide Nahtstellen betreffen und zur einseitigen oder beidseitigen Lippen- und/oder Kieferspalte^{cvi} führen³⁵⁰. Zwischen der fünften und zwölften Woche der Embryonalentwicklung verschmelzen die zwei seitlichen Gaumenfortsätze des linken und rechten Oberkieferwulstes. Eine Störung des Vereinigungsprozesses hat eine Gaumenspalte zur Folge, wobei als kritische Phase für die Entstehung eines Gaumenspaltes die sechste bis neunte Schwangerschaftswoche angesehen wird^{351,352}. Je nach Schweregrad der Störung und Zeitpunkt während der Embryonalentwicklung treten zahlreiche Erscheinungsformen der Fehlbildungen auf, häufig auch als kombinierte *Lippen-Kiefer-Gaumenspalte* (LKG-Spalte). Der Anteil der LKG-Spalten an den orofazialen Spalten wird mit 46 % angegeben³⁵¹. Bei der LKG-Spalte ist neben einer Lippenspalte und einem knöchernen Kieferdefekt ebenfalls der gesamte Gaumen gespalten. Es fehlen der knöcherne Nasenboden, sowie die den Mund- und Nasenraum trennenden Weichgewebe. Sämtliche knorpelige Nasenabschnitte weisen eine mehr oder weniger starke Asymmetrie auf. Meist treten orofaziale Spalten isoliert (d.h. nicht-syndromatisch) auf, können aber auch mit zusätzlichen Fehlbildungen kombiniert oder Teil eines schwerwiegenden Syndroms^{cvi} sein (sog. syndromale Fehlbildungen). Sekundäre Behinderungen und Folgeerkrankungen, wie Saug- und Schluckstörungen, Hör- und Sprachstörungen, Störungen der Kieferentwicklung sowie psychische Probleme treten häufig zusätzlich auf³⁵¹.

Als Ursachen der Fehlbildungen kommen sowohl genetische als auch Umweltfaktoren sowie die Kombination mehrerer Einflüsse infrage. Vor allem syndromale Spalten können spezifischen Genmutationen zugeordnet werden³⁵³. Nachgewiesene exogene Einflüsse, die Risikofaktoren für die Entstehung orofazialer Spalten darstellen, sind Alkohol- und Nikotinkonsum, die Einnahme von Medikamenten wie Antiepileptika oder Corticoide, Mangel an Folsäure bzw. die Einnahme hoher Dosen Retinolsäure, aber auch das Auftreten von Virus-Infektionen (Röteln, Influenza)³⁵¹. Da die Entwicklung sämtlicher Organe in den ersten drei Schwangerschaftsmonaten stattfindet, können teratogene Einflüsse innerhalb dieses Zeitfensters zur Manifestation von Lippen-, Kiefer- und Gaumenfehlbildungen führen³⁵⁰.

Die Behandlung der orofazialen Spalten erfordert die interdisziplinäre Zusammenarbeit von Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgen, Kinderärzten, Zahnärzten, HNO-Ärzten, Phoniatern, Logopäden und Psychologen. Grundsätzlich ist eine chirurgische Therapie erforderlich³⁵⁴: der operative Verschluss der Lippenspalte (im Alter von vier bis sechs Monaten), der gesamten Gaumenspalte (im Alter von neun bis zwölf Monaten) und die knöcherne Rekonstruktion des Kiefers (die sogenannte *Kieferspalteosteoplastik*, die

^{civ} Interessanterweise treten in Sachsen-Anhalt mit 1:560 Geburten vergleichsweise hohe Fallzahlen auf³⁴⁸.

^{cv} In der frühen Schwangerschaft entwickeln sich Teile des Gesichts getrennt.

^{cvi} Wobei Kieferspalten, im Gegensatz zu Lippenspalten, nie isoliert auftreten.

^{cvi} Zum Beispiel ist das Velokardiofasziales Syndrom durch das Auftreten von orofazialen Spalten, Ohrdeformitäten, angeborenen Herzfehlern, Fehlbildungen des Handgelenks und einer Wachstumsretardierung gekennzeichnet.

zwischen dem sechsten und zwölften Lebensjahr erfolgt)^{cviii}. Neben dem Verschluss der Kieferspalte, dient die Kieferspaltosteoplastik zur Verbesserung des Knochenangebots für die spaltbenachbarten Zähne und der Schaffung eines knöchernen Lagers für den Zahndurchbruch oder für spätere Zahnimplantate. Zudem können allseitig von Knochen umschlossene Zähne kieferorthopädisch an die gewünschte Position bewegt werden³⁵⁶.

Bei der Kieferspaltosteoplastik handelt es sich um eine Knochentransplantation. Obwohl die Verwendung nicht-autologer Materialien zur Rekonstruktion von Kieferspaltbereichen bereits seit den 1970er Jahren erforscht wird³⁵⁷, stellt der autologe Knochenersatz (aus der Beckenkammpongiosa oder dem Kinn) noch immer den Goldstandard dar³⁵⁸. Autologer Knochen weist eine herausragende biologische Aktivität auf, jedoch ist die Entnahme mit Nachteilen, wie persistierenden Schmerzen oder möglichen Infektionen und einer limitierten Menge an transplantierbarem Knochen verbunden und bedeutet zudem einen zweiten Eingriffsort für den Patienten (siehe auch Kap. 2.2.4, Allgemeine Übersicht, S. 17ff)¹⁵⁰. Eine Alternative kann ein allogenes Transplantat sein³⁵⁹. Die besten biologischen und mechanischen Eigenschaften bietet der frische allogene Knochen. Dieser birgt aber die Gefahr für Krankheitsübertragungen und Abstoßungsreaktionen. Um das Risiko für virale und bakterielle Infektionen zu verringern, müssen die Transplantate sterilisiert oder desinfiziert werden (z.B. durch Gamma- oder Ethylenoxidsterilisation, Wärmebehandlung, Ethanol-, Peroxyessigsäure- oder Antibiotikadesinfizierung). Dadurch geht jedoch ein Verlust eines großen Teils ihrer biologischen Aktivität einher (durch Denaturierung osteoinduktiver Proteine, wie den *bone morphogenic proteins*, BMPs). Zusätzlich kann die Zerstörung organischer Komponenten die mechanische Stabilität des Knochens verringern (vgl. dazu Kap. 2.1.1, S. 5ff)^{150,360}. Die Erfolgsraten von allogenen Transplantaten sind suffizient, jedoch erfolgt die Osseointegration langsamer³⁶¹.

6.1.1.2. TISSUE-ENGINEERING ZUR BEHANDLUNG VON LKG-SPALTEN

Im Tissue-Engineering hergestellte Knochentransplantate weisen ein großes Potential zur Behandlung orofazialer Defekte auf. In der Vergangenheit wurden sie zudem erfolgreich in der Oralchirurgie zur Augmentation von Kieferzysten^{362,363} und in der Implantologie für den Knochenaufbau³⁶⁴ angewandt (vgl. Kap. 2.2.4, Tab. 3, S. 17). Mehrere tierexperimentelle Studien am Kiefer- bzw. Gaumendefektmodell weisen nach, dass stammzellbasierte Knochentransplantate höhere Knochenzuwachsrate aufweisen, als die leeren (unbesiedelten) Knochenersatzmaterialien^{361,365-368}. Allerdings sind noch zahlreiche Studien notwendig, um das beste Knochenersatzmaterial für die Behandlung von LKG-Spalten zu identifizieren³⁶⁸.

Die Behandlung von Patienten mit Lippen-Kiefer-Gaumenspalten anhand von im Tissue-Engineering hergestellten Transplantaten wurde in der Literatur bisher hauptsächlich in Fallstudien geschildert. Pradel *et al.*^{356,369} beschreiben die Behandlung eines zehnjährigen Patienten. Diesem wurden acht Wochen vor dem geplanten Verschluss der Kieferspalte eine Knochenbiopsie des Oberkiefers entnommen, die hMSC isoliert und *in vitro* osteogen expandiert. Die Osteoblasten wurden drei Tage vor der Implantation auf einem xenogenen Biomaterial aufgebracht (*Osteovit*®, B. Braun Melsungen AG) und die Kieferspalte anschließend mit dem besiedelten Transplantat augmentiert. Das Transplantat wies eine gute ossäre Integration auf. Bereits nach acht Monaten hatte sich der bleibende Eckzahn spontan in den Defekt bewegt. Die Autoren weisen darauf hin, dass die Resorption des Knochenersatzes und dessen Ersatz mit körpereigenem Knochen das wichtigste Kriterium für den Erfolg der Transplantation darstellen, um ein fibröses Einheilen des Knochenersatzmaterials zu vermeiden. Zudem verhinderten die nicht-resorbierbaren Materialien, wie HAP, den Durchbruch des bleibenden Eckzahnes. Pradel und Lauer stellten zudem in einer Vergleichsstudie fest^{cix}, dass die Verwendung von im Tissue-Engineering hergestellten Knochentransplantaten gegenüber dem autologen Knochenersatz keinen Nachteil darstellte³⁷⁰.

^{cviii} Zum zeitlichen Ablauf und zur Reihenfolge der chirurgischen Therapie existiert kein allgemeingültiger Standard. Die hier aufgeführten Zeitangaben beschreiben treffen auf die operative Vorgehensweise für LKG-Spalten am Universitätsklinikum Dresden »Carl Gustav Carus« zu³⁵⁵.

^{cix} In die Studie wurden insgesamt acht Kinder einbezogen. Gruppe (A) wurde mit einem mit (osteogen differenzierten) hMSC besiedelten, xenogenen Knochenersatz (*Osteovit*®, B. Braun Melsungen) versorgt; Gruppe (B) stellte die Kontrollgruppe dar und wurde mit autogenem Knochen behandelt.

Im Rahmen des von *P. Korn* und *M. C. Schulz* eingeworbenen Einzelprojektes zur »Untersuchung von im Tissue Engineering hergestellten Knochentransplantaten am Tiermodell zur Kieferspaltosteoplastik« diente das in der Zahnmedizin etablierte Knochenersatzmaterial *BioOss® Collagen* als Trägermaterial für die Besiedlung mit mesenchymalen Stromazellen und Osteoblasten (siehe auch Kap. 6.2.2, S. 114). Während der Fokus der Kooperationspartner auf der Beurteilung des klinischen Erfolgs der verwendeten Materialien lag, konnten aus den Gewebeproben zusätzliche Messergebnisse aus MRT-Experimenten erhoben werden, die dann für einen methodischen Vergleich der Analysemethoden MRT und Histologie zur Verfügung standen.

6.1.2. Evaluierung der Vergleichbarkeit quantitativ gewonnener Parameter aus MRT und Histologie

Der Schwerpunkt des letzten Ergebniskapitels soll demzufolge auf der Bewertung der Vergleichbarkeit quantitativ gewonnener Parameter aus Histologie und MRT liegen. Die Grundlage für die Bewertung bildet sowohl die Gegenüberstellung der MRT-Schnittbilder zu den histologischen Abbildungen und die Beurteilung der Darstellbarkeit von Strukturen als auch der statistische Vergleich der quantitativ gewonnenen Parameter (vgl. Kap. 6.2.6, S. 119ff). Desweiteren wird erörtert, welche Parameter einen Einfluss auf die Präzision der Ergebnisse ausüben.

6.1.3. Projekteinbindung und Kooperationspartner

Die Studie wurde im Rahmen des Einzelprojektes »Untersuchung von im Tissue Engineering hergestellten Knochentransplantaten am Tiermodell zur Kieferspaltosteoplastik« (MeDDrive-Programm der Medizinischen Fakultät der TU Dresden, Zeitraum: 01/2013 bis 12/2014) durchgeführt. Die Leitung des Projektes hatten Dr. med. dent. Paula Korn und Dr. med. dent. Matthias Schulz (Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie des Universitätsklinikums Dresden) inne. Die Planung, Beantragung und Durchführung der tierexperimentellen Studie, sowie die Präparation der Knochenersatzmaterialien und die Aufarbeitung der histologischen Präparate erfolgten am UKD durch die Projektleiter und weitere Angehörige des UKD.

Der methodische Vergleich der Ergebnisse aus MRT und Histologie wurde als eigener Themenschwerpunkt innerhalb des o.g. Projektes durchgeführt. Die quantitative MRT-Auswertung erfolgte durch die Autorin der Arbeit, die Histomorphometrie durch Maria Hauptstock (UKD). Die Erhebung der quantitativen Messparameter (siehe. Kap. 6.2.5, S. 116ff) wurde »blind«, d.h. ohne Kenntnis der Abbildungen und der Ergebnisse der jeweiligen Alternativmethode, durchgeführt.

6.2. Materialien und Methoden

6.2.1. Tiermodell

Die Studie wurde durch die Tierversuchskommission der Landesdirektion Sachsen genehmigt (AZ: 24(D)-9168.11-1/2013/7) und im Experimentellen Zentrum der Technischen Universität Dresden unter veterinärmedizinischer Aufsicht durchgeführt.

Für die Studie wurden insgesamt 84 adulte, männliche Lewis-Ratten verwendet. Die Unterbringung der Tiere erfolgte während des gesamten Versuchszeitraumes im Experimentellen Zentrum in temperierten Räumen mit Tag-Nacht-Rhythmus. Pelletierte Nahrung und Wasser standen *ad libidum* zur Verfügung.

6.2.2. Tissue Engineering

Die Herstellung zellbesiedelter Konstrukte, die als Knochenersatzmaterial zur Augmentation^{cx} des Kieferdefektes dienen, erfolgte durch Diana Jünger und Maria Hauptstock am UKD. Das präparative Vorgehen soll deshalb an dieser Stelle nur kurz dargestellt werden. Die Details wurden aus dem Abschlussbericht des Projektes entnommen³⁷¹.

Als Trägersystem für die Kultivierung der Zellen diente ein klinisch etabliertes Knochenersatzmaterial (Abb. 48, *Geistlich BioOss[®] Collagen*, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Schweiz)^{339,372–374}. *BioOss[®] Collagen* ist ein alloplastisches Knochenersatzmaterial und besteht aus einer Mischung aus 100 mg bovinem Spongiosa-Granulat (HAp), dem 10 % porcines Collagen beigemischt sind. Zur Vermeidung von allergischen Reaktionen und der Übertragung von Krankheiten wird der bovine Knochen vom Hersteller deproteiniert. Die nachträgliche Beimischung des Collagens verbessert die Biokompatibilität des Spongiosa-Granulates und ermöglicht die Verformung des Materials im feuchten Zustand^{375,376}. Das Knochenersatzmaterial liegt in Blöcken von 5 x 5 x 10 mm (à 100 mg) vor und wurde steril in Scheiben des Durchmessers von 3,3 mm und einer Höhe von 0,5 mm zugeschnitten, um ein an die Defektgröße angepasstes Scaffold zu erhalten.

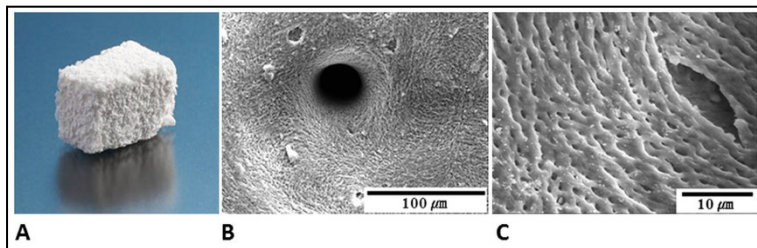


Abb. 48 Geistlich BioOss[®] Collagen diente als Trägermaterial für das Tissue Engineering. **(A)** Das Knochenersatzmaterial liegt in Blöcken vor, Foto³⁷⁷. **(B & C)** Porenstruktur des Granulates. BioOss[®] Collagen weist interkonnektierende Makroporen (B) und eine poröse Oberfläche durch Mikroporen (C) auf; aus³⁷⁴.

Die für die Studie verwendeten, tissue-engineerten Konstrukte bestanden aus dem Trägersystem aus *BioOss[®] Collagen* und mesenchymaler Stromazellen (MSC) adulter Lewis-Ratten.

Die Isolation der Stromazellen erfolgte aus dem Knochenmark von Femur und Tibia der Spendertiere durch Diana Jünger. Die Stromazellen wurden im Expansionsmedium MEM α (Gibco[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA; enthält 10% Hitze-inaktiviertes, fötales Kälberserum, FKS, Gibco[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) bei 37 °C und unter 5 %iger CO₂-Atmosphäre kultiviert. Die hämatopoetischen Stromazellen wurden mittels Negativselektion aus dem Eluat herausgefiltert und so die Fraktion der mesenchymalen Stromazellen gewonnen und weiterkultiviert.

Eine Fraktion der MSC wurde osteogen differenziert. Dazu wurde das Expansionsmedium gegen das Kulturmedium OPTI-MEM (Gibco[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) ersetzt, dem 10%iges fötales Kälberserum (FKS, Gibco[®], Life Technologies, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA), sowie ein Penicillin-Streptomycin-Gemisch (siehe Kap. 5.2.3, S. 92) zugesetzt wurde. Die Induktion der osteogenen Differenzierung *in vitro* erfolgte durch Ascorbat, Dexamethason und β -Glycerophosphat (siehe Kap. 4.2.2.3, S. 77). Der Wechsel der Kulturmedien wurde aller drei Tage vorgenommen.

^{cx} Augmentation meint das Auffüllen des artifiziellen Defektes, siehe auch die Fußnote »xiv« auf S. 16.

6.2.3. Tierexperimentelles Vorgehen

Die Durchführung der Tierexperimente erfolgte durch Dr. med. dent. Paula Korn und Dr. med. dent. Matthias C. Schulz im Experimentellen Zentrum der Technischen Universität Dresden. Die Autorin der Dissertationsschrift hospitierte einen Tag lang im UKD, an denen Operationen an den Versuchstieren stattfanden. Nachfolgend wird das operative Procedere kurz geschildert.

Nach dem Versuchsplan wurden die Tiere randomisiert in die experimentellen Gruppen aufgeteilt, wie in Tab. 22 dargestellt.

Tab. 22 Experimentelle Gruppen der Studie aus Kapitel 6

Gruppe	Knochenersatzmaterial	Einheitszeitraum		
		6 Wochen	9 Wochen	12 Wochen
1	keines (Leerdefekt als Kontrolle)	7 Tiere	7 Tiere	7 Tiere
2	Bio-Oss [®] Collagen	7 Tiere	7 Tiere	7 Tiere
3	Bio-Oss [®] Collagen + MSC	7 Tiere	7 Tiere	7 Tiere
4	Bio-Oss [®] Collagen + Osteoblasten	7 Tiere	7 Tiere	7 Tiere

Die Eingriffe wurden in Allgemeinanästhesie durchgeführt. Nach der Einleitung der Anästhesie wurde von intraoral unter Verwendung eines zylinderförmigen, diamantierten Schleifers (DIT Diamanttechnik GmbH & Co. KG, Oberlungwitz) ein zylinderförmiger Defekt mit einem Durchmesser von 3,3 mm im anterioren Oberkiefer gesetzt (Abb. 49).

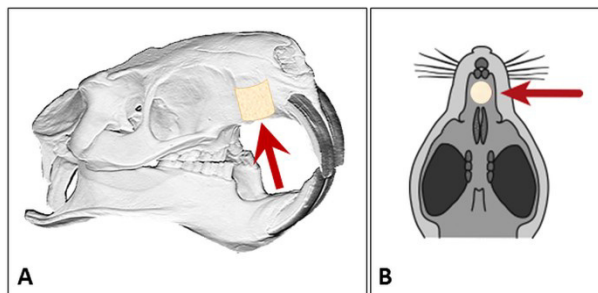


Abb. 49 Position des Oberkieferdefektes (roter Pfeil). **(A)** Zylinderförmiger Defekt mit skizzierten Knochenersatzmaterial im anterioren Oberkiefer; Abbildung aus³⁷⁸, modifiziert. **(B)** Skizze des kreisrunden Defektes, Blickrichtung von intraoral nach oben; aus³⁶⁸, modifiziert.

Die Defekte wurden dann entsprechend des Versuchsplanes mit Knochenersatzmaterial augmentiert. Der Leerdefekt diente als Kontrolle. Der Wundverschluss erfolgte mit dem vor der Defektsetzung präparierten Mukoperiostlappen^{cx1}, welcher mit einem nicht-resorbierbaren Nahtmaterial (Ethilon 5-0, Ethicon, Nordstedt) repositioniert wurde.

Die Tiere erhielten postoperativ eine Schmerzmedikation (Analgesie) für vier Tage und eine weiche Kost für insgesamt fünf Tage. Während des gesamten Versuchszeitraumes wurden das Verhalten und die Entwicklung der Versuchstiere überwacht. Eine Gewichtskontrolle erfolgte aller zwei Wochen.

Nach den im Versuchsplan festgelegten Einheitszeiten wurden die Tiere durch Inhalation von CO₂ in entsprechenden Kammern geopfert. Anschließend erfolgte die Resektion des anterioren Oberkieferbereiches und Lagerung der Gewebeproben, wie bereits in Kap. 5.2.3 (S. 92) beschrieben.

^{cx1} Als Mukoperiostlappen wird die dünne Weichgewebsschicht aus Mundschleimhaut (Mucosa) und Knochenhaut (Periost) bezeichnet. Bei kieferchirurgischen Eingriffen wird dieser nach der Schnittführung vom Knochen abpräpariert und dient dann als Wundverschluss.

6.2.4. Polyfluorochrome Sequenzmarkierung

Die intravitale Markierung des Knochens mit Fluoreszenzfarbstoffen ermöglicht die *ex vivo*-Beurteilung der Dynamik der Osteogenese im Defektbereich. Anhand der polyfluorochromen Sequenzmarkierung kann die Wachstumsrichtung von neu gebildetem Knochen bestimmt werden (siehe auch Kap. 2.4.1.3, S. 24).

Die intraperitoneale Injektion der Fluoreszenzfarbstoffe Alizarin (20 mg/kg Körpergewicht) und Calceingrün (30 mg/kg Körpergewicht) erfolgte im Rahmen des tierexperimentellen Versuches sieben bzw. drei Tage vor der Opferung der Tiere.

6.2.5. Analytik der Osteogenese im Defektbereich und der Osseointegration der Knochenersatzmaterialien

Die Evaluation der Defektossifikation der vier Versuchsgruppen wurde zuerst anhand von MRT-Experimenten (durch die Autorin) und anschließend mithilfe histologischer Methoden analysiert (durch die Kooperationspartner). Die Quantifizierung erfolgte für beide Methoden »blind«, d.h. die jeweiligen Auswerter hatten zum Zeitpunkt der Quantifizierung keine Kenntnisse über die Resultate der jeweils anderen Methode.

6.2.5.1. MRT-UNTERSUCHUNGEN

Probenvorbereitung der Gewebeproben aus dem Tierversuch



Für die MRT-Experimente wurden pro Versuchsgruppe für die sechs- und neunwöchige Einheilperiode jeweils zwei Tiere und für die zwölfwöchige Einheilperiode pro Gruppe je drei Tiere randomisiert ausgewählt. Folglich wurden pro Versuchsgruppe sieben und bei vier Gruppen folglich insgesamt 28 Gewebeproben für die MRT-Analyse ausgewählt.

Direkt vor den MRT-Experimenten wurden die Gewebeproben aus dem Lagermedium entnommen und anhaftendes Wasser so weit wie möglich mit einem Zellulosetuch entfernt. Anschließend wurden die Proben in ein 20-mm-NMR-Röhrchen überführt und mit 3MTM FluorinertTM FC-77 (3M Belgium NV/SA, Zwijndrecht, Belgien) überschichtet, wie bereits in Kap. 5.2.4.1 (S. 93) beschrieben.

Unmittelbar nach den MRT-Experimenten wurden die Proben aus dem FluorinertTM FC-77 entnommen und in einer 4 %igen Formaldehyd-Lösung konserviert.

Experimentalparameter für die MR-Bildgebung

Die Experimente wurden am IPF an einem NMR-Spektrometer mit kommerziell erhältlichem »microimaging assessor« durchgeführt. Die exakten Gerätebezeichnungen für das NMR-Spektrometer und das Gradientensystem können in Kap. 3.2.4.2 (S. 60) nachgeschlagen werden. Es wurde eine linear polarisierte HF-Spule (¹H/¹⁹F-Birdcage-Spule) mit einem Durchmesser von 20 mm verwendet. Die Messungen wurden aus Paravision 5.0 (Bruker BioSpin, Rheinstetten) gesteuert. Für die Bildgebung wurden die nachfolgenden Parameter verwendet:

ALLGEMEINE IMAGING-PARAMETER FÜR MESSUNGEN AUS PARAVISION 5.0			
Sequenz:	»MSME« (Multi-Slice-Spin-Echo)	T ₁ -Wichtung:	T _R /T _E = 1200/8 ms
Schichtebenen:	koronar, axial	Messdauer ^{cxii} , T ₁ -Wicht.:	2 h, 44 min
Matrixgröße:	512 x 256 Px		
Schichtdicke:	0,20 mm	PD-Abbildungen:	T _R /T _E = 3000/8 ms
spektrale Breite (SWH):	200 000 Hz	Messdauer, PD-Abb.:	6 h, 49 min
Anzahl der Wdh. (NS):	32		
90°-Puls:	Gauß-Puls	T ₂ -Wichtung:	T _R /T _E = 5000/30 ms
180°-Puls:	Sinc-Puls	Messdauer, T ₂ -Wicht.:	11 h, 22 min
Koronare Schnittebene		Axiale Schnittebene	
FOV:	20 x 20 mm	FOV:	20 x 30 mm
laterale Auflösung ^{cxiii} :	0,04 x 0,08 mm	laterale Auflösung:	0,04 x 0,12 mm
Zwischenschichtabstand:	0,25 mm	Zwischenschichtabstand:	0 mm
Anzahl der Schichten:	10	Anzahl der Schichten:	20
Wichtungen:	T ₁ , T ₂ , PD	Wichtungen:	T ₁
			

Auswertung der MRT-Experimente - Quantitative MRT

Die Quantifizierung erfolgte ausschließlich aus den Protonendichte-Abbildungen in der koronaren Schnittebene. Wie aus den Experimentalparametern hervorgeht, wurden pro Gewebeprobe zehn koronare Schnitte mit einem Zwischenschichtabstand von 0,25 mm aufgenommen. Dieser verhindert, dass sich die Profile des Schichtauswahlgradienten überlagern und es so zur Beeinflussung des Bildkontrastes kommt, wie es im vorangegangenen Schwerpunktbereich beobachtet wurde (siehe Kap. 5.2.4.1, S. 93 und Kap. 8.2.2, S. 161ff). Die zehn Schichten wurden so ausgewählt, dass sie den gesamten Defektbereich einschlossen. Jeweils die erste und die letzte Schichtebene befanden sich am Defektrand. Für die quantitative Analyse wurden stets vier MRT-Schnittbilder aus dem mittleren Defektbereich ausgewählt. Damit entsprach die Anzahl ausgewerteter Schnittbilder in etwa der Anzahl an histologischen Schliffpräparaten, die für die Quantifizierung genutzt wurden.

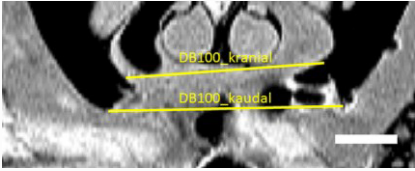
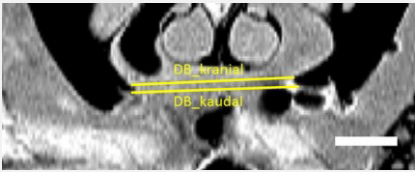
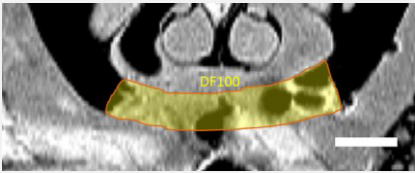
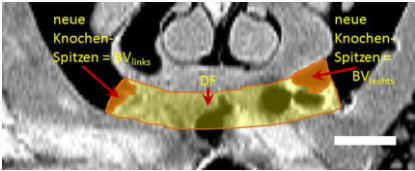
Die Bildbearbeitung und Analyse wurde in Matlab®, Version R2012a (Mathworks, Natick, USA) mit Hilfe eigener Scripte vorgenommen. Folgende Parameter wurden (mit beiden Analysemethoden) ermittelt und detailliert ausgewertet: Knochenanteil im Defekt BV [%], ursprüngliche Defektfläche $DF100$ [mm²], verbliebene Defektbreite DB [%], ursprüngliche Defektbreite $DB100$ [mm]. Das Fettgewebe konnte aufgrund zahlreicher Suszeptibilitätsartefakte im Defektbereich nicht quantifiziert werden.

^{cxii} Mit der Messdauer ist immer die gesamte Serie inkl. aller Schichtbilder gemeint. Die Messdauer ist abhängig von TR, NS und der Anzahl der Pixel in Phasenkodierrichtung (hier 256). Die Anzahl der Schichten hat (bei dieser Pulssequenz) keinen Einfluss.

^{cxiii} Es handelt sich stetes um die tatsächliche laterale Auflösung der originalen Schnittbilder. Für die Darstellung und Bildbearbeitung wurden die Matrizes auf die höhere Pixelzahl, ergo auf die bessere Auflösung, angepasst.

Die Vorgehensweise und Berechnung der Kennzahlen wird nachfolgend in Tab. 23 an einem exemplarischen MRT-Schnittbild erläutert. Eine ausführliche Beschreibung der Strukturen auf den MRT-Abbildungen wird in Kap. 6.3.2.1 (S. 122f) gegeben.

Tab. 23 Vorgehensweise bei der Quantifizierung. Beispielhaft ist hier ein Kontrolltier nach der sechswöchigen Einheilperiode dargestellt (Tier 6). Maßstabsbalken: 1 mm.

Nr.	Analysenschritt
1	Bestimmung des Abstandes der Defektränder = ursprüngliche Breite des Defektes $DB100$ [mm] <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between; margin-top: 10px;">  <div style="text-align: right;"> $DB100 = \frac{DB100_{kranial} + DB100_{kaudal}}{2} \quad (6-1)$ </div> </div>
2	Bestimmung des Abstandes der neuen Knochen spitzen = verbliebene Defektbreite DBv [mm] <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between; margin-top: 10px;">  <div style="text-align: right;"> $DBv = \frac{DB_{kranial} + DB_{kaudal}}{2} \quad (6-2)$ </div> </div>
3	Berechnung der verbliebenen, prozentualen Defektbreite DB [%] <div style="text-align: right; margin-top: 10px;"> $DB = \frac{100}{DB100} \cdot DBv \quad (6-3)$ </div>
4	Bestimmung der ursprünglichen Defektfläche $DF100$ [mm ²] <div style="text-align: center; margin-top: 10px;">  </div>
5	Bestimmung der Flächen der neuen Knochen spitzen BV_{links} und BV_{rechts} , mit $DF100$ wird daraus die verbleibende Defektfläche [mm ²] und Berechnung des Knochenanteils im Defekt BV [%] <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: space-between; margin-top: 10px;">  <div style="text-align: right;"> $BV = \frac{100}{DF100} \cdot (BV_{links} + BV_{rechts}) \quad (6-4)$ </div> </div>

6.2.5.2. HISTOLOGISCHE UNTERSUCHUNG

Präparation der Gewebeproben für die Histologie

Sämtliche Präparate für die histologische Untersuchung wurden im UKD durch Diana Jünger hergestellt. Nach der Resektion des anterioren Oberkiefers wurden die Gewebeproben in 4 %iger Formaldehyd-Lösung für 48 h fixiert. Eine Ausnahme stellten die Gewebeproben für die MRT-Untersuchung dar, die wie in Kap. 6.2.5.1 (S. 116) beschrieben behandelt wurden.

Alle Proben wurden nach der Fixierung in einer Serie mit ansteigender Ethanol-Konzentration entwässert und anschließend in Methylmethacrylat (Technovit® NEU, Heraeus Kulzer, Weinheim) eingebettet. Die Herstellung der histologischen Präparate in der koronaren Schnittebene erfolgte mit der Trenn-Dünnschliff-

Technik nach *K. Donath*¹⁷¹. Auf diese Weise wurden pro Präparat vier bis fünf Dünnschliffe erhalten, die nachfolgend auf eine Schichtdicke von 30 – 40 μm reduziert wurden (vgl. dazu auch Kap. 2.4.1.1, S. 23f).

Zur Gewebedifferenzierung wurden die Dünnschliffe poliert und mit der Masson-Goldner-Trichrom-Färbung angefärbt.

Mikroskopie und Histomorphometrie

Die Digitalisierung der gefärbten Dünnschliffe und quantitative Auswertung der Gewebsanteile erfolgte am Lichtmikroskop (Olympus BX 61, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg) mit Hilfe einer Digitalkamera (Colour View II, Olympus Deutschland GmbH, Hamburg), wie in Kap. 5.2.4.2 beschrieben.

Zur Auswertung der polyfluorochromen Sequenzmarkierung wurden zunächst die ungefärbten Präparate qualitativ untersucht. Die Analyse beinhaltete die Position und Reihenfolge der Fluoreszenzbanden, um Aussagen zur Dynamik der Knochenneubildung abzuleiten.

Die gefärbten Präparate wurden mit Hilfe der Software cell[^]F® (Olympus soft Imaging Solutions GmbH, Münster) ausgewertet. Wie in der MRT-Quantifizierung beschrieben, erfolgte die Bestimmung der Parameter: Knochenanteil im Defekt BV [%], ursprüngliche Defektfläche $DF100$ [mm^2], verbliebene Defektbreite DB [%], ursprüngliche Defektbreite $DB100$ [mm].

Die Digitalisierung der Dünnschliffe und die Auswertung der gefärbten, mikroskopischen Abbildungen wurden durch Maria Hauptstock vorgenommen.

6.2.5.3. EVALUIERUNG DER MESSPRÄZISION BEI QUANTITATIVER MRT UND HISTOMORPHOMETRIE

Um die Messpräzision und Vergleichbarkeit beider Methoden sicher zu bestimmen, wurde die Quantifizierung der Kennwerte an einer exemplarischen Abbildung mehrfach durchgeführt (Abb. 50). Die Bestimmung der Parameter ursprüngliche Defektfläche $DF100$ [%], ursprüngliche Defektbreite $DB100$ [mm] und die verbliebene Defektbreite als Absolutwert DBv [mm] und prozentualen Wert DB [%] wurden 20mal sowohl aus der ausgewählten MRT-Abbildung (durch die Autorin) als auch aus der entsprechenden histologischen Darstellung (durch Maria Hauptstock) wiederholt.

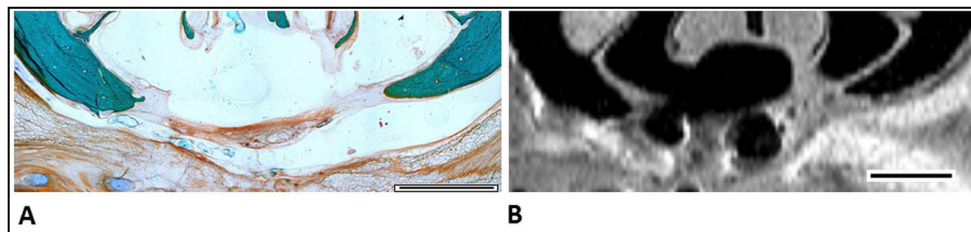


Abb. 50 Tier 2 (Kontroll-Gruppe) nach neun Wochen Einheilzeit. **(A)** Histologische Abbildung. **(B)** MRT-Schnittbild. Maßstabsbalken: 1 mm.

6.2.6. Statistische Auswertung

6.2.6.1. STATISTISCHE AUSWERTUNG DER QUANTIFIZIERTEN PARAMETER

Sowohl der klinische Verlauf als auch der Vergleich der Ergebnisse beider Analysemethoden MRT und Histologie wurden anhand statistischer Verfahren evaluiert. Die Autorin wurde dazu intensiv von Ursula Range (UKD, Institut für medizinische Informatik und Biometrie) beraten. Die statistische Auswertung erfolgte in Origin 9.1 (OriginLab Corporation, Northampton, USA) durch die Autorin. Berechnungen, die nicht selbst durchgeführt wurden, sind in Tab. 24 kenntlich gemacht.

Zur Bewertung des klinischen Erfolgs der Knochensatzmaterialien wurden zunächst nur die Ergebnisse der Histologie-Daten herangezogen, da diese auf einer größeren Stichprobe (sieben Tiere pro Gruppe

und Analysenzeitpunkt^{cxiv}) beruhen. Die statistische Auswertung der Histologie-Daten erfolgte zunächst deskriptiv. Anhand einer *einfaktorischen Varianzanalyse* (ANOVA) wurde anschließend auf das Vorhandensein von Unterschieden in den Mittelwerten geprüft. Der Vergleich einzelner Mittelwerte wurde sowohl graphisch als auch mit dem *Post-Hoc-Test nach Scheffé* durchgeführt³⁷⁹. Für die graphische Auswertung wurden die Mittelwerte inklusive der 95 %-Konfidenzintervalle der Mittelwerte (als Fehlerbalken) aufgetragen. Diese Darstellung lässt anhand der Überschneidungen der Konfidenzintervalle sehr einfach Rückschlüsse auf statistische (also überzufällige) Unterschiede zu. So weisen nur knappe oder fehlende überlappende Konfidenzintervalle der Mittelwerte eindeutig auf eine statistisch signifikante Differenz hin³⁸⁰. Der Scheffé-Test diente zur Bestimmung der exakten p-Werte.

Der methodische Vergleich erfolgte aber ausschließlich an den Datensätzen der gleichen Tiere, also der jeweils zwei bzw. drei Gewebeproben pro Gruppe und Zeiteinheit, die für die MRT-Untersuchung präpariert wurden. Die entsprechenden Histologie-Tiere wurden in der Arbeit als »HistoAusw« bezeichnet. Zusätzlich erfolgte eine Gegenüberstellung beider Datensätze mit den Histologie-Werten aller Tiere (als »HistoAlle« bezeichnet). Zunächst wurden die Einzelergebnisse jedes Datensatzes pro Gruppe und Analysenzeit anhand einer einfaktorischen ANOVA und des Post-Hoc-Tests nach Scheffé auf Unterschiede der Mittelwerte untersucht. Als Kennwerte für den Vergleich wurden der Knochenanteil im Defekt *BV* [%] und die verbliebene Defektbreite *DB* [%] ausgewählt. Diese Auswertung lässt auf die klinische Relevanz möglicher Unterschiede schließen, dient aber noch nicht zur Evaluation der Vergleichbarkeit der Analysemethoden. Für diese Analyse eignet sich die insbesondere in der klinischen Forschung etablierte »*Bland-Altman-Methode*«. Das Verfahren nach *Bland* und *Altman* ist eine einfache, graphische Methode zur Beurteilung der Übereinstimmung von Messmethoden bei Daten mit kontinuierlichem Messniveau³⁸¹. In *Bland-Altman-Diagrammen* werden die Mittelwerte beider Messungen gegen die Differenzen *d* der Messungen aufgetragen. Zusätzlich werden der Mittelwert aller Differenzen *d* und die Übereinstimmungsgrenzen (diese entsprechen $MW_d \pm 1,96 \cdot s_d$, mit den Standardabweichungen s_d der Differenzen) als horizontale Linien eingezeichnet. Unter der Annahme einer Normalverteilung liegen also 95 % der Differenzen innerhalb der Übereinstimmungsgrenzen. Gleichwertige Methoden weisen einen Mittelwert der Differenzen von nahe Null auf.

Werden außerdem die 95 %-Konfidenzintervalle der mittleren Mittelwertsdifferenz in das Bland-Altman-Diagramm eingezeichnet, kann die Übereinstimmung der Methoden direkt graphisch ermittelt werden. Konfidenzintervalle geben die Spannweite der Messergebnisse an, innerhalb welcher sich der *Erwartungswert*^{cxv} mit einer festgelegten Wahrscheinlichkeit befindet.

Demzufolge gilt, dass sich die Messmethoden signifikant unterscheiden, wenn die Konfidenzintervalle des Mittelwertes der Differenzen die Null-Linie nicht mit einschließen³⁸³. Die beiden Konfidenzintervalle berechnen sich aus dem Standardfehler und dem kritischen t-Wert (T_{krit}) aus der t-Verteilung³⁸⁴ nach Formel (6-5):

$$95\% - KI = \frac{s_d}{\sqrt{n}} \cdot T_{krit}(df, \alpha) \quad (6-5)$$

Dabei sind mit *df* die Anzahl der Freiheitsgrade und mit α das Signifikanzniveau gemeint (beim 95%-KI ist $\alpha = 0,05$). Der erste Teil der Gleichung (6-5) entspricht dem Standardfehler.

Die Verifizierung der Evaluation der Übereinstimmung erfolgte durch die Berechnung des p-Wertes für den methodischen Unterschied anhand eines gemischten, linearen Modells (Berechnung durch Ursula Range, vgl. auch Kap. 5.2.5).

Die Ergebnisse der statistischen Auswertung wurden in Tabellenform im Anhang aufgeführt (Kap. 8.5.2.4, S. 192ff).

^{cxiv} Abzüglich der vier während der Versuchsperiode verstorbenen Tiere, vgl. Kap. 6.3.1, S. 139.

^{cxv} Beim Erwartungswert handelt es sich um den arithmetischen Mittelwert, der aus der unendlichen Wiederholung des Experimentes hervorgeht³⁸².

Tab. 24 Auflistung der Fragestellungen für die statistische Auswertung und Vergleich der Datensätze der Studie.

Nr.	Fragestellung	Datensatz
1	Zeitliche Veränderung des Knochenanteils im Defekt innerhalb der Einzelgruppen	HistoAlle
2	Bestimmung der Unterschiede der Knochenanteile zwischen den Gruppen an den drei Analysenzeitpunkten	HistoAlle
3	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten Knochenanteile innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 1	alle drei Datensätze im Vergleich
4	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten Knochenanteile innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 2	alle drei Datensätze im Vergleich
5	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten Knochenanteile innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 3	alle drei Datensätze im Vergleich
6	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten Knochenanteile innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 4	alle drei Datensätze im Vergleich
7	Zeitliche Veränderung der verbliebenen Defektbreiten innerhalb der Einzelgruppen	HistoAlle
8	Bestimmung der Unterschiede der verbliebenen Defektbreiten zwischen den Gruppen an den drei Analysenzeitpunkten	HistoAlle
9	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten verbliebenen Defektbreiten innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 1	alle drei Datensätze im Vergleich
10	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten verbliebenen Defektbreiten innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 2	alle drei Datensätze im Vergleich
11	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten verbliebenen Defektbreiten innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 3	alle drei Datensätze im Vergleich
12	Direkter Vergleich der Einzelergebnisse der quantifizierten verbliebenen Defektbreiten innerhalb der Datensätze an den Analysenzeitpunkten für Gruppe 4	alle drei Datensätze im Vergleich
13	Bestimmung der Unterschiede der Knochenanteile zwischen den Gruppen an den drei Analysenzeitpunkten	qMRT
14	Bland-Altman-Statistik für BV [%]	MRT-/HistoAusw
15	Bland-Altman-Statistik für $DF100$ [mm ²]	MRT-/HistoAusw
16	Bland-Altman-Statistik für DB [%]	MRT-/HistoAusw
17	Bland-Altman-Statistik für $DB100$ [mm]	MRT-/HistoAusw

Fortsetzung Tab. 24

18	Methodenvergleich mit gemischtem, linearem Modell mit Berücksichtigung individueller Werte für BV [%], Berechnung durch Ursula Range (UKD).	MRT-/HistoAusw
19	Methodenvergleich mit gemischtem, linearem Modell mit Berücksichtigung individueller Werte für DB [%], Berechnung durch Ursula Range (UKD).	MRT-/HistoAusw

6.2.6.2. STATISTISCHE AUSWERTUNG DER WIEDERHOLUNGSMESSUNGEN ZUR EVALUIERUNG DER ÜBEREINSTIMMUNG UND PRÄZISION BEIDER METHODEN

Anhand der Mehrfachbestimmungen der Messgrößen anhand einer ausgewählten Schicht bzw. Dünnschliffes erfolgte die Bestimmung der Präzision beider Analysemethoden (Tab. 25). Sie diente außerdem zur Identifizierung systematischer Unterschiede. Der Vergleich der Übereinstimmung erfolgte anhand von Bland-Altman-Diagrammen und Box-Plots. Die detaillierten Ergebnisse befinden sich in Tabellenform im Anhang im Kap. 8.5.3 (S. 202ff).

Tab. 25 Auflistung der Bland-Altman-Statistiken für die Messwiederholungen.

Nr.	Fragestellung	Datensatz
20	Bland-Altman-Statistik für BV [%]	Messwiederholungen an Tier 2, 9 Wochen
21	Bland-Altman-Statistik für $DF100$ [mm ²]	Messwiederholungen an Tier 2, 9 Wochen
22	Bland-Altman-Statistik für DB [%]	Messwiederholungen an Tier 2, 9 Wochen
23	Bland-Altman-Statistik für $DB100$ [mm]	Messwiederholungen an Tier 2, 9 Wochen

6.3. Ergebnisse und Diskussion des klinischen Erfolges

6.3.1. Klinischer Verlauf des Tierversuches

Während des Tierversuches verstarben vier der 84 Versuchstiere. Ein Tier verstarb während der Operation, ein Tier während der Narkose für die μ CT und zwei Tiere während der Heilungsperiode. Die Überlebensrate entspricht somit 95,2 %.

Während der Heilung verhielten sich alle Tiere unauffällig und zeigten eine ungestörte Nahrungsaufnahme. Zum Zeitpunkt der Opferung konnten keine Wundheilungsstörungen festgestellt werden.

6.3.2. Morphologische Beschreibung der ossären Integration

6.3.2.1. DETEKTIERBARE GEWEBESTRUKTUREN AUF MRT- UND HISTOLOGIE-ABBILDUNGEN

Auf den koronaren Abbildungen (Abb. 51C) beider Analysemethoden konnten die anatomischen Strukturen des Oberkiefers und des Schädels der Versuchstiere detailliert dargestellt werden. Zur Erläuterung der detektierbaren Strukturen wurden exemplarisch ein MRT-Schnittbild (Abb. 51A, A_1 und A_2) und die dazugehörige histologische Abbildung (Abb. 51B und Ausschnitt B_1) ausgewählt. Es handelt sich um ein Kontrolltier nach der sechswöchigen Heilungsperiode. In Tab. 26 sind die Gewebestrukturen aus Abb. 51 zusammengefasst.

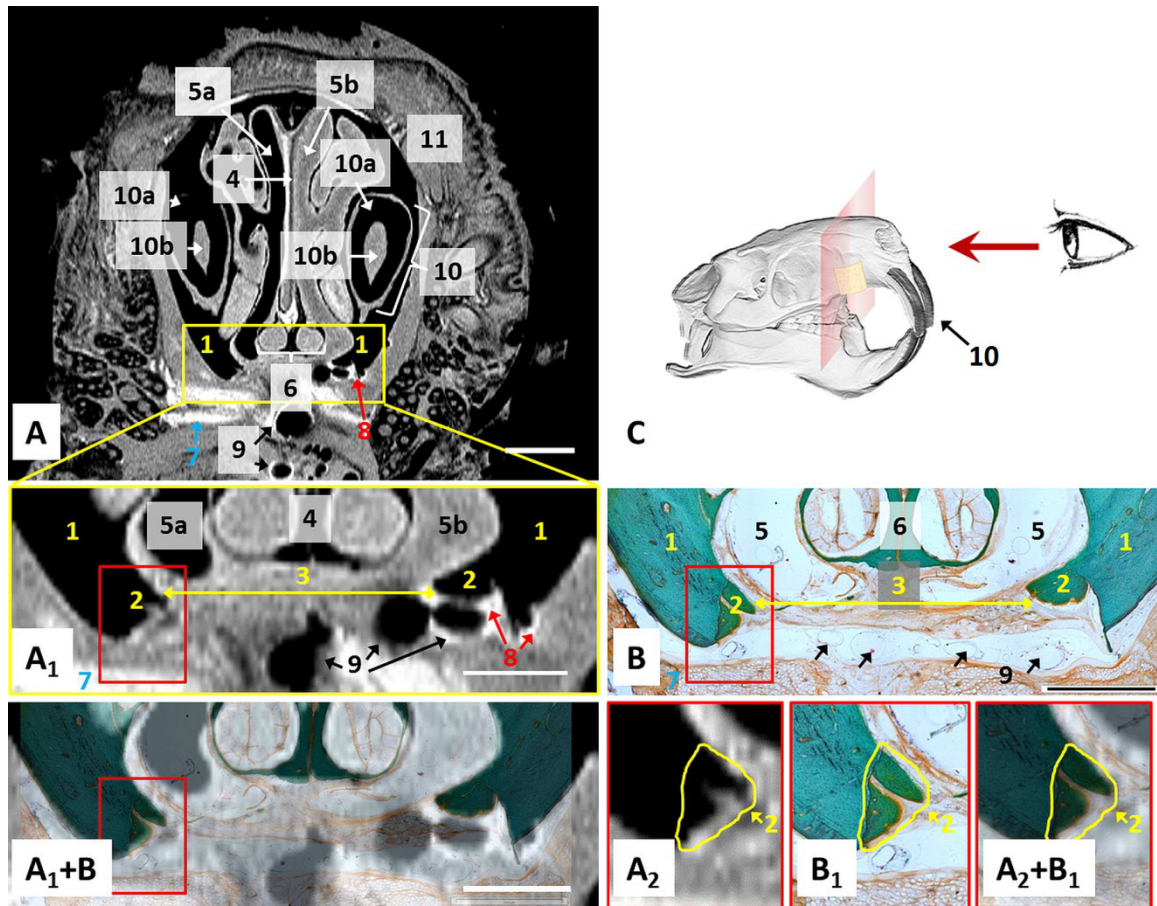


Abb. 51 Koronare Abbildungen in der Höhe des vomeronasalen Organs (6) aus (A) MRT und (B) Histologie. Die Gewebestrukturen sind nummeriert (siehe Tab. 27) (C) Die Blickrichtung auf koronare Abbildungen (hier als rote Ebene skizziert) ist von vorn. Dargestellt ist ein Kontrolltier nach sechs Wochen Einheilzeit. Maßstabsbalken: 1 mm. (A) MRT-Schnittbild des gesamten Oberkieferbereiches. (A₁) Ausschnitt des zu analysierenden Defektbereiches. (A₂) Vergrößerte Darstellung des neugebildeten Knochens. (B) Histologische Abbildung. (B₁) Vergrößerte Darstellung des neugebildeten Knochens, Masson-Goldner-Trichrom-Färbung. (A₁+B) und (A₂+B₁) Überlagerungen der MRT-Schnittbilder mit den histologischen Abbildungen.

Tab. 26 Detektierbare Gewebestrukturen der koronaren Abbildungen, anatomische Kennzeichnung aus^{385,386}, Legende zu Abb. 51 und Abb. 55.

Nr.	Gewebestruktur
1	reifer, ortständiger Knochen des Oberkiefers (Os maxillare)
2	neugebildeter Knochen im Defektbereich
3	artificialer Knochendefekt, ohne Knochenersatzmaterial
4	Nasenscheidewand (Septum nasi)
5	Nasenhöhle (Cavum nasi)
5a	Nasenhöhle, mit Luft gefüllt
5b	Nasenhöhle, mit Weichgewebe gefüllt (d.h. es liegt eine Schleimhautschwellung) vor
6	Vomeronasales Organ (Jacobsonsches Organ)
7	Fettgewebe
8	Suszeptibilitätsartefakt

Fortsetzung Tab. 26

9	Nahtmaterial oder Einschlüsse von Luft
10	Schneidezahn (Dens incisivus)
10a	Zahnschmelz und Zahnbein (ohne Signalintensität)
10b	Zahnmark (Pulpa) (mit Signalintensität)
11	Weichgewebe (Haut)

Auf Abb. 51A ist der gesamte Oberkiefer in frontaler Sicht abgebildet. Auf dem MRT-Schnittbild ist der Knochen des Oberkiefers (1), der von Weichgewebe (11) umgeben ist und den artifiziellen Defekt (3) enthält, als Struktur ohne Signalintensität (d.h. schwarz) erkennbar. Der Defektbereich war mit Weichgewebe gefüllt. Innerhalb der knöchernen Struktur des Oberkiefers befinden sich die Nasenhöhle (5) und Nasenscheidewand (4), die median in der Nasenhöhle lokalisiert ist und direkt oberhalb des Defektbereiches beginnt. Direkt über dem artifiziellen Defekt befindet sich das vomeronasale Organ (6)^{cxvi}. Auffallend sind die beiden mittleren Schneidezähne (10) der Versuchstiere, die sich rechts und links von der Nasenhöhle befinden und im koronaren Schnittbild eine ovale Form aufweisen. Das Dentin der Zähne erzeugte, analog des Knochens, kein Signal. Im Inneren der Schneidezähne befindet sich das Zahnmark, welches Blutgefäße und Weichgewebe enthält, und sich anhand seines Grauwertes deutlich vom Hartgewebe des Zahnes abgrenzte.

Das MRT-Schnittbild und die entsprechende histologische Abbildung des zu analysierenden Bereiches wurden in Abb. 51 gegenübergestellt (als A₁ und B). In beiden Darstellungen ist der neugebildete Knochen im Defektbereich erkennbar. Dieser bildete sich stets von den Defekträndern ausgehend und zeigte sich spitz zulaufend in den Defektbereich hinein (2). Während sich der neugebildete Knochen auf den gefärbten Präparaten farblich vom reifen, ortständigen Oberkiefer abhob und zudem eine Richtungsveränderung der Knochenlamellen zeigte, konnte der Bereich der Knochenneubildung auf den MRT-Schnittbildern nur anhand der Morphologie festgestellt werden (Abb. 51A₂ und B₁).

Der Defektbereich des dargestellten Beispiels in Abb. 51 zeigte sich weit offen und mit Weichgewebe gefüllt. Auf dem MRT-Bild waren innerhalb des Defektes und wie in Abb. 51A sichtbar, auch unterhalb des Defektes Bereiche ohne Signalintensität erkennbar, die eine »blasenförmige« Struktur (9) aufwiesen. Hier handelte es sich wahrscheinlich um Lufteinschlüsse, da die Gewebeprobe knapp in die Probengläschen für die MRT-Experimente hineinpasste und sich das Weichgewebe etwas an die Form des Gläschens anfügte. Lufteinschlüsse sind somit plausibel. Die signalfreien Bereiche innerhalb des Leerdefektes könnten außerdem vom Nahtmaterial erzeugt worden sein. Dieses ist auch in den histologischen Abbildungen in Form von schwach abgegrenzten, ungefärbten Bereichen erkennbar (9, mit schwarzen Pfeilen markiert). Fettgewebe (7, blaue Pfeile) befand sich unterhalb des Defektbereiches und stellte sich im MRT-Schnittbild als hyperintense Regionen dar. Auf den histologischen Abbildungen konnte das Fettgewebe ebenfalls detektiert werden und zeigte sich in Form ungefärbter Zellverbände, wobei die Einzelzellen von Bindegewebe (orange gefärbt) abgegrenzt sind.

Allerdings traten im MRT-Bild innerhalb des artifiziellen Defektbereiches weitere hyperintense Bereiche (8) auf. Diese zeigten sich vereinzelt an Grenzflächen lokalisiert (in Abb. 51A₁ mit roten Pfeilen markiert) und konnten nicht dem Fettgewebe zugeordnet werden, wie das zugehörige histologische Präparat (Abb. 51B) beweist. Hier handelte es sich wahrscheinlich um Suszeptibilitätsartefakte, die insbesondere im Bereich von Luftblasen auftreten können. Da sich anhand der hyperintensiven Regionen in MRT-Schnittbildern das Fettgewebe nicht eindeutig identifizieren ließ, wie im Kapitel 5 durchgeführt (vgl. auch Kap. 5.3.3 S. 101ff), erfolgte die Differenzierung der Gewebe ausschließlich in Hart- und Weichgewebe.

^{cxvi} Das vomeronasale Organ (auch Jacobsonsches Organ) ist Bestandteil des olfaktorischen Systems (Geruchsorgan) zahlreicher Landwirbeltiere. Beim Menschen wird es fetal entwickelt. Jedoch ist sein Vorkommen im Erwachsenenalter unklar. Das vomeronasale Organ dient zur Wahrnehmung von Geruchsreizen der Nahrung aber auch von Sexualhormonen^{385,387}.

6.3.2.2. DETEKTION VON KNOCHENERSATZMATERIAL AUF MRT-SCHNITTBILDERN

Das (tissue-engineerte) Knochenersatzmaterial stellte sich auf den MRT-Schnittbildern in Form von Einzelpartikeln dar, die von Weichgewebe umgrenzt wurden. Diese erzeugten aufgrund der eingeschränkten Mobilität der Protonen der Partikel kein Signal und zeigten sich folglich als schwarze Strukturen (vgl. Abb. 52C & D, mit gelben Pfeilen markiert). Überwiegend traten die Partikel in Clustern auf und stellten sich in unterschiedlichen Größen dar. Die minimale detektierbare Partikelgröße betrug auflösungsbedingt 40 µm. Beim Vergleich mit Abbildungen der Kontrollgruppe wird deutlich, dass sich im Defektbereich zusätzlich Strukturen befanden, die eine blasenförmige Form aufwiesen (wie im vorangegangenen Kapitel beschrieben). Die Größe der Strukturen übertraf die der Partikel des Knochenersatzmaterials teils deutlich. Eine eindeutige Unterscheidung zwischen Luftblasen oder Nahtmaterial, gerade bei kleinen Blasen oder Nahtstellen, vom Knochenersatzmaterial war nicht möglich. Bei der Quantifizierung wurde deshalb darauf verzichtet, im Defektbereich den Anteil an Knochenersatzmaterial zu ermitteln. Aus den histologischen Abbildungen wäre diese Quantifizierung jedoch möglich.

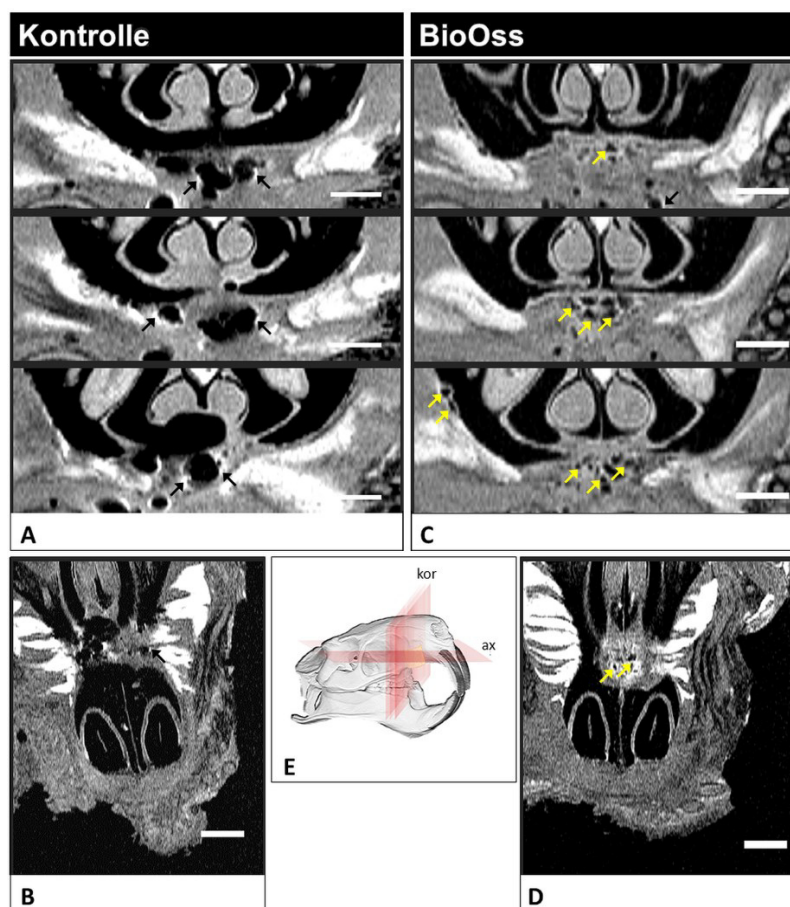


Abb. 52 Koronare und axiale MRT-Schnittbilder einer exemplarisch gewählten Probe eines Kontrolltiers und eines Tiers der BioOss-Gruppe. Das Knochenersatzmaterial wurde mit gelben Pfeilen, Suszeptibilitätsartefakte mit schwarzen Pfeilen markiert. Maßstabsbalken: 1 mm. (A & C) Drei koronare Schnittebenen beginnend vom Defekttrand in den Defektbereich hinein. (B & D) Das axiale Schnittbild bildet den kreisrunden Oberkieferdefekt ab. Die hyperintensiven Bereiche links und rechts vom Defekt sind Fettgewebe. (E) Schematische Darstellung der Schnittebenen, kor = koronar, ax = axial.

6.3.2.3. KONTRASTE IN MRT UND HISTOLOGIE ZUR EVALUATION DER DEFEKTOSSIFIKATION

Bei beiden Analysemethoden wurden verschiedene Kontraste erzeugt, um zu evaluieren, wie der klinische Verlauf des Tierversuches optimal bildgebend verfolgt werden kann.

Wie im theoretischen Teil der Arbeit erläutert, ist es möglich den Charakter von MRT-Schnittbildern durch zahlreiche Einflussgrößen zu variieren (vgl. Kap. 2.4.3.5, S. 46ff). Veränderungen der Signalintensitäten können bei Standard-Sequenzen ausschließlich im Weichgewebe erzeugt werden.

Aus diesem Grund führten veränderte Experimentalparameter zu unterschiedlichen Bildqualitäten insbesondere im Defektbereich. In Abb. 53 wurden drei Bildkontraste für eine exemplarische Gewebeprobe eines Tieres der BioOss-Gruppe abgebildet. Die verwendeten Experimentalparameter wurden in Kap. 6.2.5.1 (S. 116) notiert.

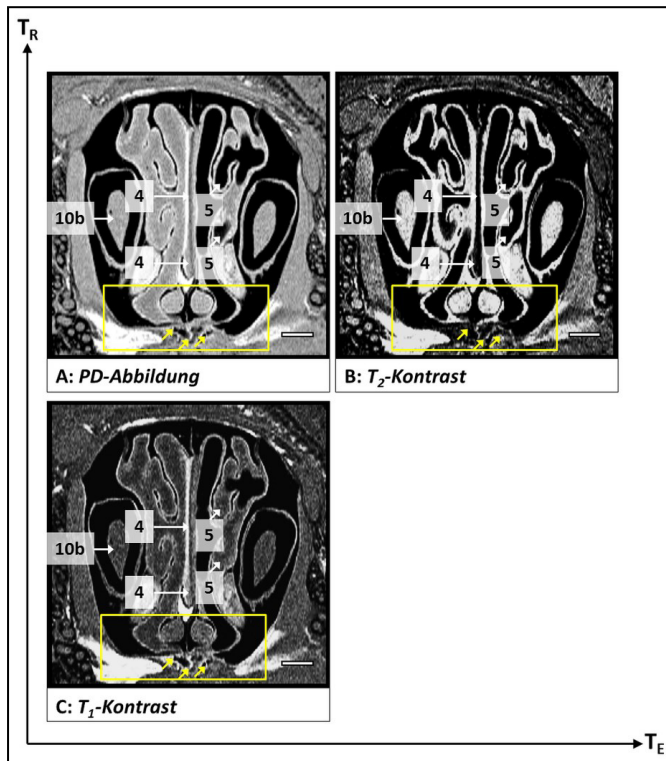


Abb. 53 Darstellung des gesamten Oberkieferbereiches in Abhängigkeit der Experimentalparameter T_R und T_E zur Kontrasterzeugung. Der Defektbereich wurde gelb eingegrenzt. Die gelben Pfeile zeigen auf das Knochenersatzmaterial. Die Nummerierungen entsprechen der Tab. 27. Maßstabsbalken: 1 mm. (A) Protonendichte-Abbildung, bestes SRV. (B) T_2 -Kontrast, mobile Protonen (H_2O) erscheinen hyperintens. Schlechtes SRV im Defektbereich. (C) T_1 -Kontrast, hyperintens erscheint das Fettgewebe.

Das beste SRV zeigte sich erwartungsgemäß in der Protonendichte-Abbildung (Abb. 55 A). Unter diesen Bedingungen (kurze Echozeit T_E und lange Wiederholzeit T_R) wird zwar das Weichgewebe weniger kontrastreich abgebildet, jedoch sind die hier erreichten hohen Signalintensitäten des gesamten Weichgewebes für die quantitative Auswertung unerlässlich.

Der T_1 - und T_2 -Kontrast stellte sich für die Quantifizierung als nicht geeignet heraus, da die Signalintensitäten des Weichgewebes unter diesen Bedingungen gering ausfielen. Insbesondere im T_2 -Kontrast zeigte sich ein hoher Signalverlust im Defektbereich. Ursachen sind zum einen die niedrigere Signalintensität bei Weichgeweben mit verminderter Protonenmobilität (die zu einer verkürzten T_2 -Relaxation führt, vgl. Kap. 2.4.3.5, Tab. 6, S. 49), aber auch das verstärkte Vorkommen von Suszeptibilitätsartefakten an Grenzflächen unterschiedlicher magnetischer Suszeptibilitäten infolge der langen Echozeit T_E (siehe dazu Kap. 3.4.2, Abb. 27, S. 68 und den Übersichtsartikel von *Schenck*⁹⁰). Die Überlagerung beider Effekte führte dazu, dass der T_2 -Kontrast zu einem nahezu vollständigen Signalverlust im interessierenden Bereich führte (Abb. 55B).

Wie im Kapitel 5 erläutert, eignet sich der T_1 -Kontrast zur Identifikation und Quantifizierung von Fettgewebe. Allerdings traten zusätzlich hyperintense Bereiche infolge von Suszeptibilitätsartefakten (Abb. 51A & A₁ (Nr. 8) & Abb. 54A, schwarze Pfeile, S. 123f) auf, die die Quantifizierung des Fettgewebes aus den T_1 -gewichteten Abbildungen verhinderten, da der Einbezug dieser Regionen als Fettgewebe zu falschen (zu hohen) Ergebnissen führen würde. Wie in Abb. 51B ersichtlich, handelte es sich beim untersuchten Hartgewebe (Os maxillare) zudem um kompakten Knochen. Demzufolge zeigten sich Bereiche mit hoher Signalintensität im T_1 -Kontrast überwiegend außerhalb des Hartgewebes und nicht innerhalb der knöchernen Struktur eingebettet. Bei diesem handelte es sich also um adipöses Gewebe und nicht um Knochenmark, wie in der vorangegangenen Studie (Kapitel 5) beobachtet.

Für die Quantifizierung der Messgrößen aus den MRT-Schnittbildern wurden ausschließlich die Protodendichte-Abbildungen genutzt. Eine weitere Differenzierung des Weichgewebes erfolgte aus den erläuterten Gründen nicht.

Histologische Abbildungen erhalten ihren spezifischen Kontrast durch die Färbung. Da der Färbeprozess irreversibel ist, kann der Kontrast nicht wieder verändert werden, wie es bei der MRT durch die Variation von Experimentalparametern möglich ist. Die intravitale Markierung des Knochens mit Fluoreszenzfarbstoffen während des Untersuchungszeitraumes erlauben jedoch *ex vivo* fluoreszenzmikroskopische Aufnahmen vor dem Färbeprozess (polyfluorochrome Sequenzmarkierung PFM, vgl. Kap. 2.4.1.3, S. 24). Somit sind pro Schliffpräparat zwei Kontraste möglich. In Abb. 54 wurde der gefärbte histologische Dünnschliff (Abb. 54A) der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahme (Abb. 54B) einer exemplarisch ausgewählten Gewebeprobe eines Tiers der BioOss-Gruppe gegenübergestellt. Die zugehörigen Vergrößerungen (Abb. 54A₁ & B₁) zeigen den neugebildeten Knochen, der in den artifiziellen Defekt hineinragt.

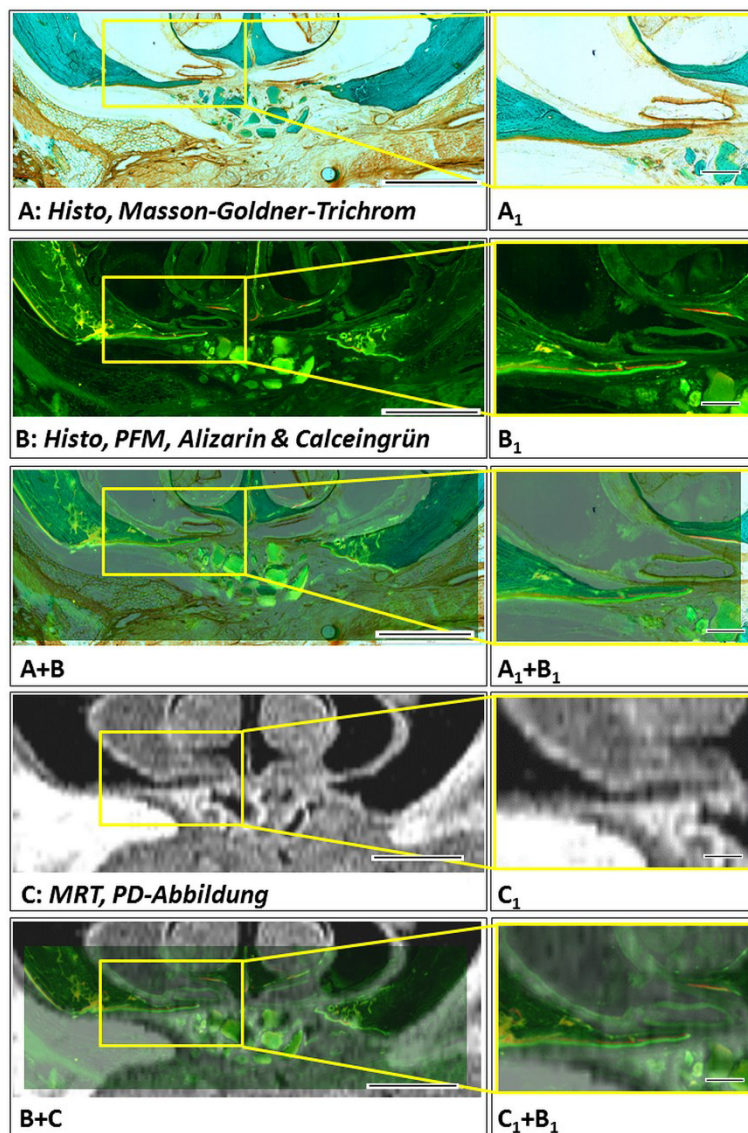


Abb. 54 Vollständige Darstellungen des Defektbereiches einer Gewebeprobe eines Tiers aus der BioOss-Gruppe und Hervorhebung des neugebildeten Knochens. Die mikroskopischen Abbildungen der gefärbten Schliffpräparate (A und A₁), der fluoreszenzmikroskopischen Aufnahmen (B und B₁) und der MRT-Schnittbilder (C und C₁) wurden gegenübergestellt. Auf den überlagerten Abbildungen (A+B, A₁+B₁, B+C & C₁+B₁) heben sich die Bereiche des neugebildeten Knochens eindeutig ab. Maßstabsbalken der Übersichtsbilder und Vergrößerungen: jeweils 1 mm und 0,2 mm.

Insbesondere auf den gefärbten Abbildungen ließ sich der neugebildete Knochen über die geringfügig verschiedene Färbung des neuen Knochens und durch den unterschiedlichen Verlauf der Knochenlamellen gut vom Lagerknochen abgrenzen.

In Abb. 54B₁ sind die Banden der zwei Fluoreszenzfarbstoffe Alizarin und Calceingrün deutlich erkennbar, wobei das Calceingrün am äußeren Knochensaum konzentriert vorkam. Dieser Effekt wurde besonders auf den überlagerten Abbildungen (Abb. 54A+B & A₁+B₁) deutlich. Die Wachstumsrichtung des neugebildeten Knochens zeigte sich folglich vom Lagerknochen ausgehend. Das Knochenersatzmaterial selbst wies eine hohe Eigenfluoreszenz auf.

Ergänzend zu den histologischen Abbildungen wurde diesen das entsprechende MRT-Schnittbild gegenübergestellt (Abb. 54C und Vergrößerung C₁). Es existierte kein Kontrastunterschied zwischen dem neuen und dem reifen Knochen. Die Begrenzung des Defektbereiches musste daher alleinig anhand der Knochenmorphologie definiert werden. Dies war aber möglich, da sich der neue Knochen spitz zulaufend in den Defektbereich entwickelte und demzufolge eine veränderte Höhe des Os maxillaris erkennbar war (Abb. 54B+C & C₁+B₁). Trotzdem lag die Vermutung nahe, dass die Identifikation der Knochenneubildung auf den MRT-Schnittbildern mit einem höheren experimentellen Fehler als die Quantifizierung über die Histomorphometrie behaftet sein würde.

6.3.3. Qualitative Analyse der Defektossifikation

Die knöcherne Einheilung der untersuchten (tissue-engineerten) Knochenersatzmaterialien wurde sowohl qualitativ anhand der Abbildungen beider bildgebender Methoden als auch anhand quantitativ gewonnener Parameter (siehe Kap. 6.3.4.2, S. 134ff) untersucht. Die Osteogenese im leeren Defekt diente als Kontrolle. In Abb. 55 und Abb. 56 wurden je Gruppe und Analysenzeitpunkt ein exemplarisches MRT-Schnittbild der entsprechenden gefärbten, histologischen Abbildung gegenübergestellt. Da keine kontinuierlich aufeinanderfolgenden MRT-Schnittbilder erzeugt wurden (sondern mit Zwischenschichtabstand, um keine Veränderungen des Bildkontrastes infolge sich überlagernder Schichtanregungen zu erhalten, siehe dazu Kap. 8.2.2, S. 161), existierten nicht in allen Fällen Abbildungen an der exakt gleichen Position. Für den qualitativen Vergleich wurde daher stets das am besten zur histologischen Abbildung passende MRT-Schnittbild ausgewählt.

Die Kontrollgruppe ohne Knochenersatzmaterial zeigte eine relativ symmetrische Osteogenese, die von beiden Defekträndern ausging. Der artifizielle Defekt war auch nach der zwölfwöchigen Heilungsperiode noch weit geöffnet. Eine vollständige Defektossifikation trat in keiner der Gruppen auf. In Folge der chirurgischen Präparation des artifiziellen Defektes wurde der kaudale Anteil des vomeronasalen Organs (siehe Tab. 27, S. 123) bei einigen Tieren verletzt (sichtbar z.B. bei den Tieren 3, 9, 51 und 82 in Abb. 55 und Abb. 56, S. 129f).

Die Bildanalyse der drei mit Knochenersatzmaterialien augmentierten Gruppen zeigten ähnliche Resultate. Es wurde überall deutlich, dass das BioOss®, unabhängig von der Besiedlung mit Zellen, den Defektbereich nicht mehr vollständig ausfüllte. In Einzelfällen befand sich kaum noch Knochenersatzmaterial an der vorgesehenen Position (z.B. Abb. 56, Tiere 58, 74 und 82). Stattdessen migrierten die Partikel in die umliegenden Gewebe und wurden von Bindegewebe umgrenzt. Im Falle des direkten Kontaktes der Partikel mit dem (kaudalen) Lagerknochen traten ausgeprägte Resorptionen desselben auf, wie es beispielsweise die Abbildungen der Tiere 47 und 82 zeigen (Abb. 56). Diese sind vermutlich auf die Druckbelastung beim Kauen und die Reibung der Partikel auf dem Knochen durch die angrenzende Kaumuskulatur zurückzuführen. Zudem zeigte sich vereinzelt eine Dislokation der Partikel in die Nasenkavität (Abb. 56, Tier 82). Der Anteil an neugebildetem Knochen am Defektrand insbesondere bei den Gruppen 3 und 4 erschien im Vergleich zu den Gruppen 1 und 2 reduziert.

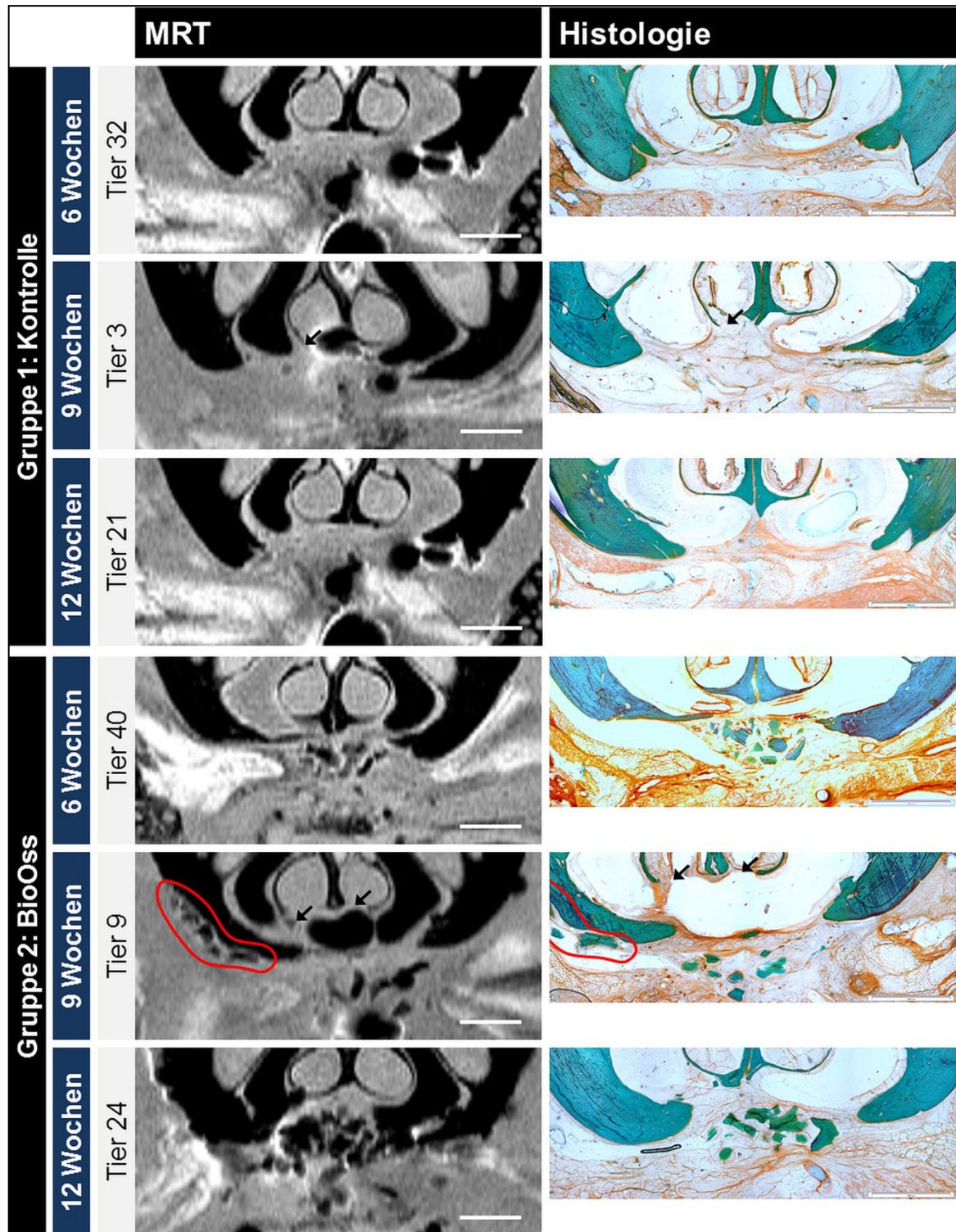


Abb. 55 Evaluation des zeitlichen Verlaufs der Osteogenese und Osseointegration ausgewählter Gewebeprobe der Gruppen 1 und 2. Gegenüberstellung der MRT-Schnittbilder und der entsprechenden histologischen Abbildungen. Knochenersatzmaterial außerhalb des Defektbereiches wurde rot markiert. Knochendefekte des vomeronasalen Organs wurden mit schwarzen Pfeilen markiert. MRT: PD-Abbildungen. Histologie: Masson-Goldner-Trichrom-Färbung. Maßstabsbalken: 1 mm.

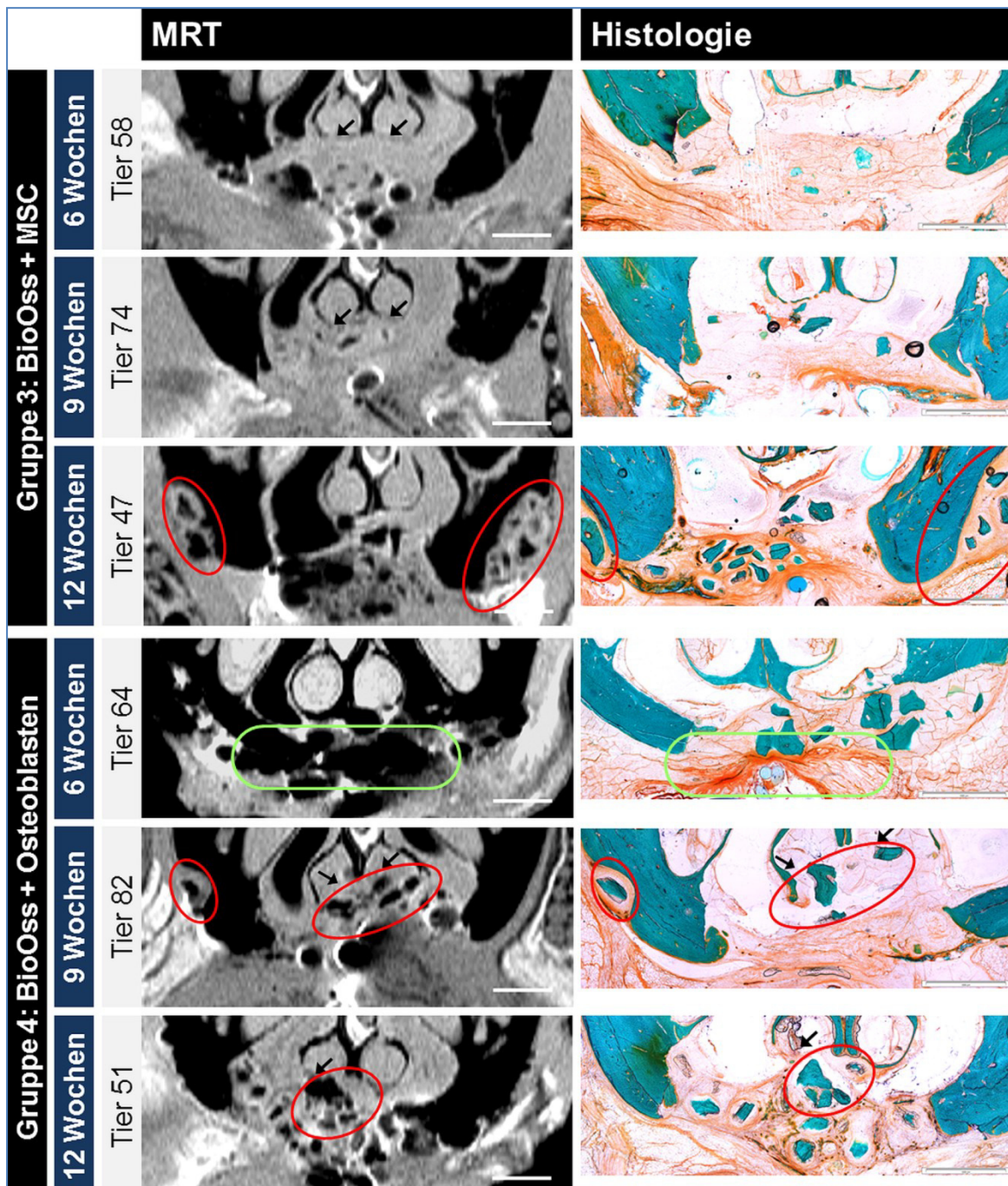


Abb. 56 Evaluation des zeitlichen Verlaufs der Osteogenese und Osseointegration ausgewählter Gewebeprouben der Gruppen 3 und 4. Gegenüberstellung der MRT-Schnittbilder und der entsprechenden histologischen Abbildungen. Knochenersatzmaterial außerhalb des Defektbereiches wurde rot markiert. Die Struktur innerhalb des grünen Rahmens ist eine chirurgische Naht mit straffem Bindegewebe (d.h. geringe Protonenbeweglichkeit), welche im MRT-Schnittbild einen ausgedehnten Bereich ohne Signalintensität erzeugte. Knochendefekte des vomeronasalen Organs wurden mit schwarzen Pfeilen markiert. MRT: PD-Abbildungen. Histologie: Masson-Goldner-Trichrom-Färbung. Maßstabsbalken: 1 mm.

Anhand der qualitativen Beurteilung der MRT-Schnittbilder und der histologischen Abbildungen zeigten sämtliche mit Knochenersatzmaterial versorgten Gruppen gegenüber der Kontrollgruppe keinen Vorteil. Die Resorptionen des Lagerknochens infolge dislokierter Partikel wurden negativ bewertet.

6.3.4. Quantitative Beschreibung der Defektossifikation

6.3.4.1. BEURTEILUNG DES KLINISCHEN ERFOLGES ANHAND DER HISTOMORPHOMETRIE UND DISKUSSION

Die Analyse und Beurteilung der Defektossifikation erfolgte ausschließlich anhand der histomorphometrisch gewonnenen Daten aller Versuchstiere. Der Einbezug der Gesamtanzahl der Tiere (sieben Tiere pro Gruppe und Analysenzeit) in die Bewertung erlaubt eine exaktere Aussage als die Ergebnisse der Auswahl der Einzeltiere für die MRT-Untersuchung (zwei bzw. drei Tiere pro Gruppe und Analysenzeit). Die Präsentation der quantitativen MRT-Resultate findet in Kap. 6.3.4.2 (S. 134ff) statt.

Die Angabe der Ergebnisse in Abb. 57 erfolgte über den Mittelwert und das zugehörige 95 %-Konfidenzintervall (KI). Die Konfidenzintervalle geben an, dass sich der *Erwartungswert* (siehe dazu auch Fußnote^{cxv}, S. 120) mit einer Wahrscheinlichkeit von 95 % innerhalb beider Intervallgrenzen befindet. Diese Darstellung dient gleichzeitig als visualisierter Signifikanztest. Überlappen sich die 95 %-KIs einzelner Ergebnisse nicht oder nur knapp, kann von statistisch signifikant verschiedenen Resultaten ausgegangen werden³⁸⁰. Die Ergebnisse der deskriptiven Statistik und der statistischen Tests befinden sich im Anhang (Kap. 8.5.2.2 und 8.5.2.3, S. 177ff).

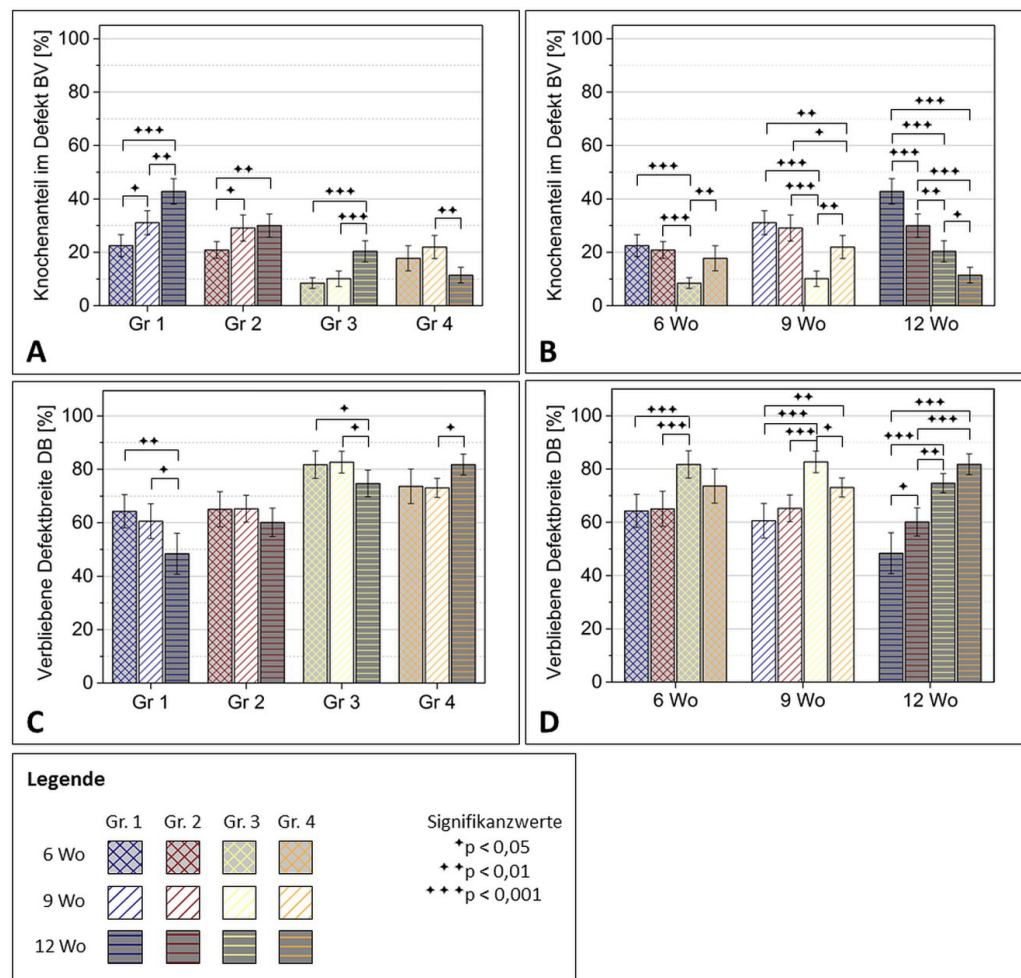


Abb. 57 Ergebnisse der Histomorphometrie für die Knochenanteile im Defekt *BV* (A & B) und die verbliebene Defektbreite *DB* (C & D). Die Darstellungen erlauben entweder die Evaluation der Ergebnisse über die Zeit (A & C) oder innerhalb der Gruppen an definierten Zeitpunkten (B & D). Angabe der Ergebnisse als Mittelwert im Zentrum des 95 %-Konfidenzintervalls. (A) Knochenanteile im Defekt pro Gruppe im zeitlichen Verlauf. (B) Knochenanteile im Defekt pro Zeitpunkt, Vergleich der Ergebnisse der Gruppen. (C) Verbliebene Defektbreiten pro Gruppe im zeitlichen Verlauf. (D) Verbliebene Defektbreiten pro Zeitpunkt, Vergleich der Ergebnisse der Gruppen.

Bei Betrachtung der Knochenanteile im Defekt im zeitlichen Verlauf konnten bei allen Gruppen signifikante Unterschiede über die Zeit festgestellt werden (Abb. 57A). Allerdings verlief die Ossifikation nur im Kontrolldefekt stetig und erreichte einen Wert von $BV = 42,8\%$ nach der zwölfwöchigen Heilungsperiode. Die verbliebene Defektbreite verringerte sich in dieser Gruppe auf $DB = 48,4\%$. Die mit purem BioOss[®] versorgte Gruppe 2 unterschied sich bis zum Zeitpunkt nach neun Wochen nicht von der Kontrollgruppe. Danach fand aber eine Stagnation des Knochenzuwachses bei einem Wert von $BV = 30,0\%$ statt, so dass der Knochenanteil nach zwölf Wochen signifikant niedriger als der von Gruppe 1 lag ($p_{BV-12Wo: Gr2 zu Gr1} < 0,001$), aber trotzdem noch einen signifikant höheren Wert als die tissue-engineerten Gruppen 3 und 4 ($p_{BV-12Wo: Gr2 zu Gr3} = 0,009$) und ($p_{BV-12Wo: Gr2 zu Gr4} \ll 0,001$) erreichten (Abb. 57B). Die verbliebenen Defektbreiten unterschieden sich in der Gruppe 2 im Zeitverlauf zu keinem Zeitpunkt signifikant (Abb. 57C), waren jedoch nach zwölf Wochen signifikant größer als von Gruppe 1 ($p_{DB-12Wo: Gr2 zu Gr1} = 0,015$), und signifikant kleiner als die Gruppen 3 und 4 ($p_{DB-12Wo: Gr2 zu Gr3} = 0,001$) und ($p_{DB-12Wo: Gr2 zu Gr4} \ll 0,001$) (Abb. 57D).

Die Augmentation des Defektes mit tissue-engineerten Konstrukten, bei denen das BioOss[®]-Substrat vor der Implantation mit undifferenzierten MSCs (Gruppe 3) oder mit *in vitro* differenzierten Osteoblasten (Gruppe 4) besiedelt wurde, bewirkte eine im Vergleich zum Kontrolldefekt und insbesondere nach der zwölfwöchigen Heilungsperiode signifikant niedrigere Defektossifikation (Abb. 57B). Während sich die Knochenneubildung in Gruppe 3 zeitlich verzögert zeigte und erst am letzten Analysenzeitpunkt ein Knochenanteil von $BV = 20,3\%$ quantifiziert wurde (das entspricht 47 % des Knochenanteils der Kontrollgruppe), trat in der Gruppe 4 zwischen der neunten und der zwölften Woche ein signifikanter Rückgang des Knochenvolumens im artifiziellem Defekt von $BV = 22,0\%$ auf 11,5 % auf ($p_{BV-Gr4: 9Wo zu 12Wo} = 0,002$). Analog dazu war eine deutliche Vergrößerung der Defektbreite von $DB = 73,1\%$ auf 81,8 % zu beobachten ($p_{DB-Gr4: 9Wo zu 12Wo} = 0,024$). Dieser Prozess, der eine Knochenresorption darstellte, muss negativ bewertet werden.

Die Defektossifikation nimmt in der folgenden Reihenfolge der Untersuchungsgruppen ab: Gruppe 1 (Kontrollgruppe) > Gruppe 2 (pures BioOss[®]) > Gruppe 3 (BioOss[®] mit MSCs) > Gruppe 4 (BioOss[®] mit *in vitro* differenzierten Osteoblasten). Dementsprechend führte die Versorgung des artifiziellem Oberkieferdefektes mit den untersuchten (tissue-engineerten) Knochenersatzmaterialien im Vergleich zum leeren Kontrolldefekt zu keinem Vorteil bei der Defektossifikation.

Verglichen mit einem Vorversuch von Korn *et al.*, der mit einem ähnlichen Studiendesign aber anderem Substratmaterial (BONITmatrix[®]; alloplastisches Knochenersatzmaterial, bestehend aus HAP, TCP und SiO₂) durchgeführt wurde, zeigten sich hier fast gegensätzliche Ergebnisse. Die Autoren stellten bei Verwendung von BONITmatrix[®] als Scaffold für das Tissue Engineering fest, dass sich der artifiziellem Defekt nach sechswöchiger Heilungsperiode (als letzten Analysenzeitpunkt) im Vergleich zum Kontrolldefekt signifikant verkleinerte, wenn der Defekt mit einem mit MSCs besiedelten Scaffold versorgt wurde³⁶⁸. Ebenso wiesen Conejero *et al.* unter Verwendung desselben Defektmodells nach, dass es bei der Implantation eines mit Osteoblasten besiedelten, degradierbaren Konstrukt aus Poly-L-lactid (PLLA) in den Oberkieferdefekt zur Knochenneubildung im Defekt kam, während bei den anderen Gruppen (leerer Kontrolldefekt, pures PLLA und PLLA-Konstrukt mit undifferenzierten MSCs) keine Neubildung von Knochen festgestellt werden konnte³⁶⁶. Janssen *et al.* veröffentlichten einen umfangreichen Literaturüberblick klinischer Studien über die Verwendung tissue-engineerter Konstrukte für die Kieferspaltosteoplastik³⁵⁸. Aus deren Artikel wird sowohl die Breite der Ansätze zur Behandlung von Kieferspaltanomalien aber auch die Komplexität der Thematik deutlich. Tissue-Engineering im Rahmen der Kieferspaltosteoplastik wurde angewandt, um Transplantate zum vollständigen Ersatz des autologen Knochens zu evaluieren aber auch, um die Qualität des Spenderknochens (d.h. seine osteogenen und osteoinduktiven Eigenschaften) zu erhöhen oder die Menge des autologen Knochens zu vergrößern. In den bei der Übersichtsarbeit von Janssen *et al.* einbezogenen klinischen Studien zeigen sich mehrheitlich keine statistisch signifikanten Unterschiede der Ergebnisse beim Vergleich zwischen der Verwendung von autologem Knochen oder der tissue-engineerten Konstrukte.

Insofern waren die in Abb. 57 dargestellten Ergebnisse der von *P. Korn* und *M. C. Schulz* durchgeführten Studie unerwartet.

Vermutlich war hier die Verwendung des granularen Trägermaterials (*BioOss® Collagen*) problematisch. Infolge der mechanischen Kaubelastung verblieb das Material nicht im Defekt, sondern migrierte in umliegende Gewebe. Wenn bedacht wird, dass der artifizielle Defekt am Tage der Implantation komplett mit Knochenersatz gefüllt wurde und sich die gesamte Menge des Materials an den Untersuchungszeitpunkten nicht im angrenzenden Gewebe wiederfand, muss es ebenfalls zu einem Verlust desselben gekommen sein. Als plausibelste Möglichkeit erscheint ein Materialverlust bei der Nahrungsaufnahme oder eine Migration in den nasalen Bereich, wenn der Nasenschlauch intraoperativ verletzt wurde. Auf dieses deuten auch die mikroskopischen Abbildungen der gefärbten Präparate bei *Korn et al.* hin. Die veröffentlichten Bilder zeigten ebenfalls keine komplette Füllung der Oberkieferdefekte mit dem Knochenersatzmaterial³⁶⁸. Außerdem ist die hohe Stabilität des *BioOss®*, bei dem es sich im Wesentlichen um Hydroxylapatit handelt, nachteilig für Anwendungen, die die Regeneration des Hartgewebes im Defekt zum Ziel haben. Geeigneter Knochenersatz sollte in diesen Fällen die Eigenschaft der Biodegradation aufweisen. *Araújo et al.* berichteten zudem von einer verzögerten Osteogenese des untersuchten Knochendefekts durch *BioOss® Collagen* im Vergleich zum leeren Kontrolldefekt³⁸⁸.

Wie aus Abb. 57B und D zu entnehmen ist, erzielten die tissue-engineerten Konstrukte im Vergleich zum unbesiedelten Trägermaterial schlechtere Ergebnisse. Insbesondere die Gruppe 4, deren Scaffold mit *in vitro* osteogen differenzierten MSCs besiedelt wurden, zeigte einen drastischen Knochenabbau zwischen der neunten und der zwölften postoperativen Woche und wies dann einen signifikant geringeren Knochenanteil im Defekt auf, als alle anderen Vergleichsgruppen. Aus den Gewebeproben der Gruppe 3 (Scaffolds mit MSC besiedelt) wurde nach zwölf Wochen zwar ein höherer Knochenanteil als den der Gruppe 4 quantifiziert. Dieser war jedoch immer noch signifikant niedriger als derjenige der Gruppen 1 und 2.

Der Grund für die negativen Resultate der besiedelten Konstrukte ist unklar. Dass die tissue-engineerten Konstrukte im Vergleich zu den unbesiedelten Materialien schlechtere Ergebnisse erzielen können, geht aus veröffentlichten Studien nicht hervor^{358,361,389}. Im Gegenteil wird in zahlreichen Artikeln auf das große Potential des Tissue Engineering zur Behandlung ausgedehnter Knochendefekte, wie im Falle einer Kieferspalt, hingewiesen, da eine tatsächliche Regeneration des fehlenden Hartgewebes, nicht allein das Auffüllen des Defektes, das Hauptziel der Kieferspaltosteoplastik ist³⁹⁰. So kann ein stabiles, knöchernes Lager für den Zahndurchbruch oder eine spätere Implantatinserterion geschaffen werden. Wichtig ist der regenerierte Knochen ebenfalls für die spaltbenachbarten Zähne, da kieferorthopädische Bewegungen der Zähne nur komplikationslos möglich werden, wenn diese allseitig von Knochen umgeben sind^{cxvii,356}. Vor dem Hintergrund der begrenzten Verfügbarkeit von autologem Knochen und dessen damit verbundene Entnahmemorbidität stellen tissue-engineerte Knochentransplantate eine vielversprechende Alternative dar^{356,358,361,369,390}. Die Arbeit von *Cowan et al.* zeigte bereits im Jahr 2004, dass die Regeneration eines Knochendefektes mit kritischer Größe durch die Versorgung desselben mit tissue-engineerten PLGA-Konstrukten möglich sei³⁹¹.

Als Fazit lässt sich konstatieren, dass das granulare *BioOss® Collagen* nicht für das untersuchte Defektmodell (und folglich nicht zur Anwendung im Rahmen einer Kieferspaltosteoplastik) geeignet ist. Zukünftige Studien könnten, neben der Verwendung bioresorbierbarer Materialien, den Einsatz einer biokompatiblen Membran erwägen, um die unerwünschte Migration des Knochenersatzes zu minimieren. Als weitere Möglichkeit für die Darreichungsform des Scaffolds könnte eine hochviskose Paste, also ein injizierbarer Knochenersatz, untersucht werden³⁸⁹. Dieser hätte den Vorteil, dass sich das Material an eine beliebige Defektform anpasste. Das Risiko einer Migration der Paste in umliegende Gewebe bestünde unter Umständen aber auch hier. Vielversprechend könnte auch ein Ansatz mit im 3D-Drucker (*3D printing*) erzeugten Knochenersatzmaterialien sein. *Berger et al.* demonstrierten in deren aktuellen Veröffentlichung den Druck eines zellbesiedelten Gerüstmaterials aus Tricalciumphosphat-Polyhydroxybutyrat (TCP-PHB) auf Grundlage computertomographischer Daten³⁹².

^{cxvii} Im anderen Fall treten Wurzelresorptionen mit nachfolgendem Zahnverlust auf³⁵⁶.

Dieses ist mechanisch stabiler als das verwendete BioOss® Collagen-Granulat und stellt außerdem ein für den Patienten »maßgeschneidertes« Knochentransplantat dar.

6.3.4.2. DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE AUS DER MRT IM VERGLEICH ZUR HISTOMORPHOMETRIE

Die quantitativen Ergebnisse aus den MRT-Schnittbildern wurden nicht zur klinischen Bewertung der untersuchten Knochenersatzmaterialien herangezogen, da die MRT-Experimente nur an einer Auswahl zufällig ausgewählter Gewebeproben durchgeführt wurden. Die MRT-Untersuchungen hatten das Ziel, die Vergleichbarkeit quantitativer MRT-Ergebnisse mit denen aus der Histomorphometrie zu analysieren und dienten so zur Validierung der Ergebnisse aus Kapitel 5 (S. 90ff). Die Verwendung der Gewebeproben, die im Rahmen des Forschungsprojektes von *P. Korn* und *M. C. Schulz* präpariert wurden, ermöglichte die Bearbeitung der Fragestellungen aus Kapitel 6 der Dissertationsarbeit ohne die Notwendigkeit eigener Tierversuche.

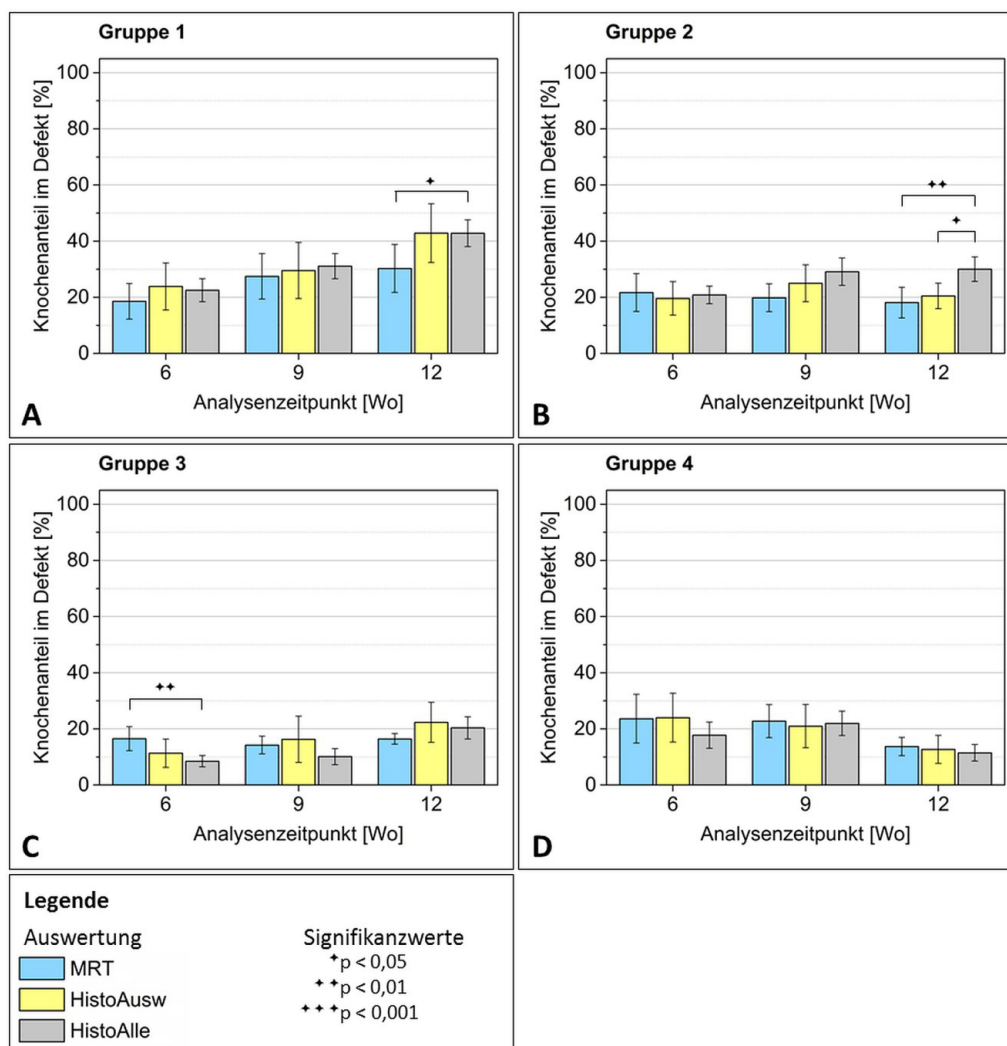


Abb. 58 Gegenüberstellung der aus MRT-Schnittbildern und histologischen Dünnschliffen quantifizierte Knochenanteile im Defekt *BV* im zeitlichen Verlauf. Dargestellt sind die Ergebnisse der Datensätze aus *MRT*, *HistoAusw* und *HistoAlle*. Die Ergebnisse der Datensätze aus *MRT* und *HistoAusw* unterscheiden sich an keinem Zeitpunkt und gruppenunabhängig signifikant. Angabe der Ergebnisse als Mittelwert im Zentrum des 95 %-Konfidenzintervalls. **(A)** Gruppe 1, signifikanter Unterschied der Daten aus *MRT* und *HistoAlle* nach zwölf Wochen. **(B)** Gruppe 2, signifikanter Unterschied der Daten aus *MRT* und *HistoAlle*, sowie *HistoAusw* und *HistoAlle* nach zwölf Wochen. **(C)** Gruppe 3, signifikanter Unterschied der Daten aus *MRT* und *HistoAlle* nach sechs Wochen. **(D)** Gruppe 4, keine signifikanten Unterschiede.

In Abb. 58 sind die Entwicklungen der zeitlichen Verläufe der prozentualen Knochenanteile BV für jede Gruppe einzeln dargestellt, die Abb. 59 bildet die verbliebenen prozentualen Defektbreiten DB ab. Die Balkendiagramme stellen die Ergebnisse aus MRT denen aus der Histomorphometrie gegenüber. Dabei wurde zwischen den Datensätzen »HistoAusw«, in der dieselben Gewebeproben wie in den MRT-Experimenten untersucht wurden, und »HistoAlle« unterschieden. Für den direkten methodischen Vergleich wurden allerdings nur die Ergebnisse der Gruppen »MRT« und »HistoAusw« verwendet.

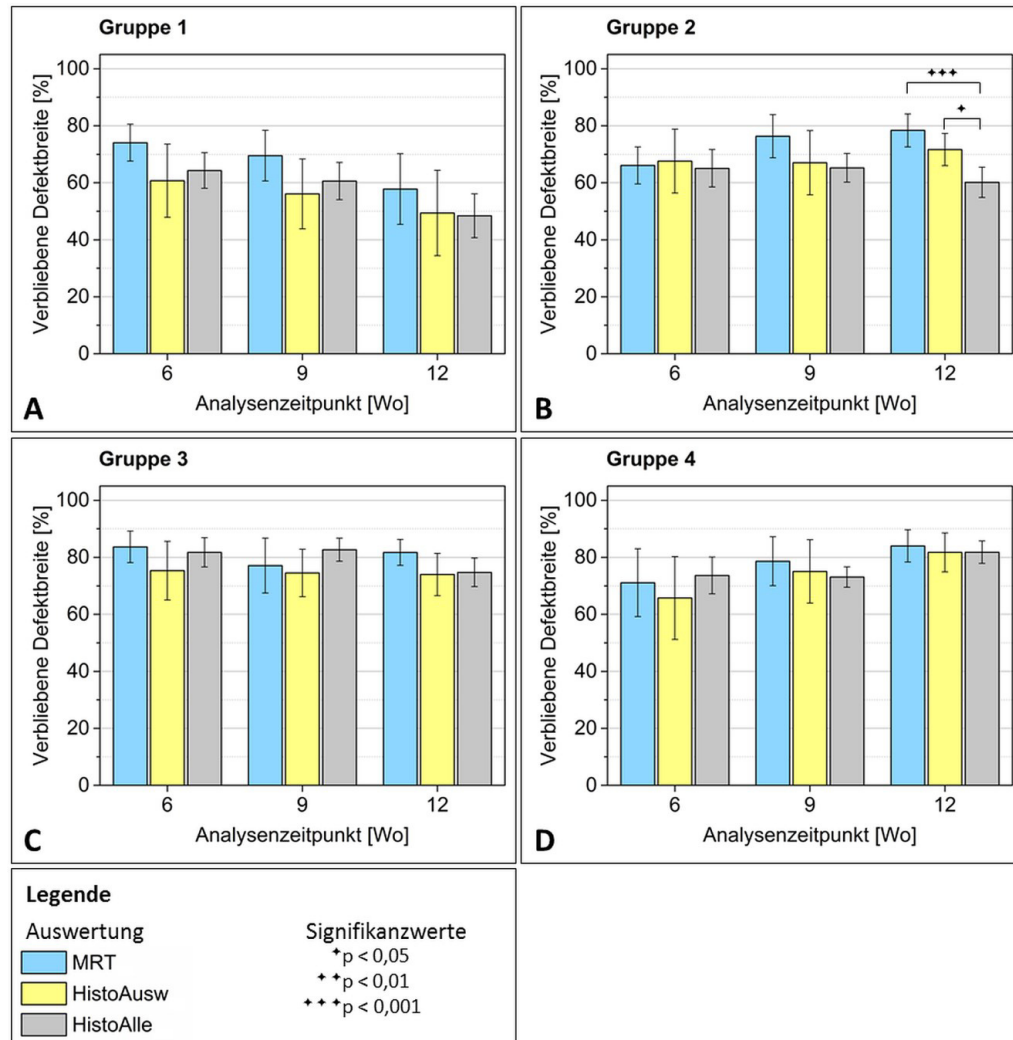


Abb. 59 Gegenüberstellung der aus MRT-Schnittbildern und histologischen Dünnschliffen quantifizierten verbliebenen Defektbreiten DB im zeitlichen Verlauf. Dargestellt sind die Ergebnisse der Datensätze aus *MRT*, *HistoAusw* und *HistoAlle*. Die Ergebnisse der Datensätze aus *MRT* und *HistoAusw* unterscheiden sich an keinem Zeitpunkt und gruppenunabhängig signifikant. Angabe der Ergebnisse als Mittelwert im Zentrum des 95 %-Konfidenzintervalls. (A) Gruppe 1, keine signifikanten Unterschiede. (B) Gruppe 2, signifikanter Unterschied der Daten aus *MRT* und *HistoAlle*, sowie *HistoAusw* und *HistoAlle* nach zwölf Wochen. (C) Gruppe 3, keine signifikanten Unterschiede. (D) Gruppe 4, keine signifikanten Unterschiede.

Die klinische Auswertung der Datensätze aller untersuchten Tiere (»HistoAlle«) wurde bereits im vorangegangenen Kapitel diskutiert. Die zusätzliche Darstellung dieser Daten soll den Einfluss der natürlichen biologischen Schwankungen auf die Ergebnisse und der Effekt der höheren Versuchstierzahl auf die Breite der Konfidenzintervalle verdeutlichen.

Mit steigender Anzahl der Versuchstiere bzw. Gewebeproben wird das 95 %-Konfidenzintervall KI kleiner. Dieser Zusammenhang ergibt sich aus der Berechnung des KI über den Einfluss von \sqrt{n} und des kritischen Wertes aus der t-Verteilung $T_{krit}(df,\alpha)$, der sich ebenfalls mit steigender Anzahl der Freiheitsgrade df verringert (siehe dazu Kap. 6.2.6, Formel (6-5), S. 120). Das bedeutet, dass Differenzen der

Mittelwerte eher statistisch signifikant werden, wenn die Daten auf Grundlage einer hohen Probenanzahl beruhen. Im Umkehrschluss muss beachtet werden, dass eine geringe Probenanzahl zu breiten KI führen. Im Falle einer starken Überlappung der 95 %-KI der Ergebnisse kann nicht von unterschiedlichen Mittelwerten ausgegangen werden³⁸⁰.

Auf die eigenen MRT- und die histologischen Daten der Kooperationspartner bezogen, resultierten breite 95 %-KI der Mittelwerte für *BV* und *DB*, da die Ergebnisse nur auf der Auswertung von vergleichsweise wenigen MRT-Schnittbildern bzw. histologischen Dünnschliffen beruhen (und zwar auf der Auswahl von 28 der insgesamt 84 Probestiere). Diese Tatsache hatte zur Folge, dass sich die nach Gruppen und Analysenzeit geordneten Daten der MRT-Quantifizierung und Histomorphometrie (*HistoAusw*) statistisch zu keinem Zeitpunkt und für keinen der beiden untersuchten Parameter unterschieden (siehe Abb. 58 und Abb. 59).

Die Bewertung der Ossifikation des artifiziellen Defektes und der knöchernen Einheilung der Knochenersatzmaterialien allein anhand der quantitativen MRT-Daten würde ebenfalls zu dem Schluss kommen, dass die Knochenersatzmaterialien die Knochenneubildung eher hindern. Insbesondere nach zwölf Wochen wurde für die Kontrollgruppe (Gruppe 1) verglichen mit den Gruppen 2 bis 4 ein signifikant höherer Knochenanteil im Defekt ermittelt ($p_{BV-12Wo:Gr1 zu Gr2} = 0,012$, $p_{BV-12Wo:Gr1 zu Gr3} = 0,003$, $p_{BV-12Wo:Gr1 zu Gr4} \ll 0,001$). Die Gruppen 2 bis 4 unterschieden sich hingegen zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikant (vgl. dazu Kap. 8.5.2.3, Tab. 68, S. 190). Rückblickend auf die Ergebnisse aller Tiere wurden mit dem Datensatz *HistoAlle* aber Unterschiede innerhalb der Gruppen 2 bis 4 festgestellt. So wurde der Knochenanteil im Defekt *BV* der Tiere von Gruppe 2 am letzten Analysenzeitpunkt bei Auswertung aller sieben Tiere der Gruppe höher ermittelt, als bei alleiniger Betrachtung der drei für den Methodenvergleich ausgewählten Gewebeproben (was für *MRT* und *HistoAusw* gilt). Hier zeigte sich folglich, dass drei Auswahltiere die sieben Tiere der gesamten Gruppe nicht repräsentierten. Eine deutlich verschiedene Bewertung erfolgte bei Gruppe 1 nach zwölf Wochen. Die MRT-Auswertung zeigte einen signifikant niedrigeren Knochenanteil im Defekt an als die Auswertung aller Tiere ($p_{BV-12Wo:MRT zu HistoAlle} = 0,040$). Im direkten Vergleich zum Datensatz *HistoAusw* war die Mittelwertsdifferenz zwar nicht signifikant verschieden ($p_{BV-12Wo:MRT zu HistoAusw} = 0,073$), allerdings wurden die Mittelwerte aus den Datensätzen *HistoAlle* und *HistoAusw* mit *BV* ≈ 43 % nahezu gleich hoch bestimmt (Kap. 8.5.2.3, Tab. 58, S. 186). Der höhere statistische p-Wert des Vergleiches der MRT-Daten und *HistoAusw* ist allein auf die Spannbreite des 95 %-KI und damit auf die geringe Anzahl der verglichenen Gewebeproben zurückzuführen. Da es sich in diesem Fall um die einzige derartige abweichende Bewertung handelte, kann über die Hintergründe nur spekuliert werden. Denkbar wäre, dass verschiedene Schnittebenen analysiert wurden. Wenn in der MRT-Auswertung tendenziell eher die Schnittbilder berücksichtigt wurden, die in der Mitte des Defektes lokalisiert waren und für die Histomorphometrie auch eher randständige Schliffpräparate ausgewertet wurden, wäre die beobachtete Differenz der Knochenanteile und Defektbreiten plausibel.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass beim direkten gruppen- und zeitabhängigen Mittelwertsvergleich der Datensätze *MRT* und *HistoAusw* keine statistischen Unterschiede festgestellt wurden. Da an jedem Analysenpunkt immer nur die Ergebnisse weniger Gewebeproben miteinander verglichen wurden, kann aber eine generelle Aussage wie »Es gibt keinen Unterschied zwischen den mit beiden Analysemethoden quantifizierten Ergebnissen für den Knochenanteil im Defekt *BV* und der verbliebenen Defektbreite *DB*« noch nicht getroffen werden. Für den exakten Methodenvergleich müssen alle einzelnen Mittelwertsdifferenzen, unabhängig von der Experimentalgruppe, miteinander verglichen werden, um eine statistisch sichere Aussage zu erhalten (Kap. 6.4.1)

6.4. Methodischer Vergleich der quantifizierten Ergebnisse aus MRT und Histologie

6.4.1. Vergleich der einzelnen Messgrößen mit der Bland-Altman-Methode

Die Aussage über die Übereinstimmung der Ergebnisse beider Methoden soll die Dissertationsarbeit abschließen. Es konnte in den vorangegangenen Kapiteln gezeigt werden, dass die Darstellung und das Monitoring knöcherner Strukturen sowie der ossären Integration von Biomaterialien mittels MRT-Bildgebung kontrastreich möglich ist. Außerdem wurde demonstriert, dass quantitative Messparameter, wie beispielsweise der prozentuale Knochenanteil im Defekt *BV*, analog zur Histomorphometrie gewonnen werden können.

Die Beurteilung der Übereinstimmung der Messdaten zweier Methoden, die am selben Objekt bzw. Patienten erhoben wurden, wird als *Konkordanzanalyse* bezeichnet³⁹³. Für die Bewertung wurden in entsprechenden Publikationen eine Vielzahl statistischer Methoden genutzt, wobei nach Einschätzung mehrerer Autoren von Übersichtsartikeln zu dieser Thematik häufig ungeeignete Verfahren zur Anwendung kamen^{383,393-396}. Mithilfe eines statistischen Tests soll die (Null-)Hypothese: »Die Messergebnisse unterscheiden sich nicht« sicher bestätigt oder widerlegt werden. Statistiksoftwares^{cxviii} bieten verschiedene analytische und numerische Methoden zur Berechnung des sog. Wahrscheinlichkeitswertes *p* an, der über die Annahme oder das Verwerfen der Nullhypothese entscheidet. Die alleinige Angabe des *p*-Wertes ist aber unanschaulich, weshalb die Verwendung geeigneter graphischer Lösungen nachvollziehbarer ist und von den Autoren der genannten Übersichtsartikel übereinstimmend empfohlen wurde.

Bei den im Kapitel 6 erhobenen MRT- und histomorphometrischen Daten handelt es sich um stetige Daten. Mit beiden analytischen Methoden wurden außerdem die gleichen Messgrößen bestimmt. Eine Konkordanzanalyse sollte in diesem Fall X-Y-Graphiken der Messpunkte (Streudiagramm der Messpaare) und *Bland-Altman-Diagramme* enthalten³⁹⁴. Die Methode nach *Bland* und *Altman* ist ein vor allem in der klinischen Forschung verbreitetes, graphisches Verfahren zur Beurteilung der Übereinstimmung von Messergebnissen, die aus zwei unabhängigen Methoden gewonnen wurden. Der Originalartikel ist mit 26.319 Zitierungen (Stand: 02.02.2016) der mit Abstand am häufigsten zitierte Artikel der Zeitschrift »Lancet«³⁸¹. Im Bland-Altman-Diagramm werden jeweils die Mittelwerte der Messpaare gegen die Differenzen der Messungen aufgetragen und bilden so ebenfalls ein Streudiagramm. Der Mittelwert der Differenzen beschreibt eine systematische Abweichung des Ergebnisses der Messmethode X gegenüber der Messmethode Y und wird als horizontale Linie eingezeichnet. Idealerweise liegt der Differenzenmittelwert in der Nähe der Null-Linie. Zusätzlich werden noch die beiden sog. *Übereinstimmungsgrenzen* angegeben (Differenzenmittelwert $\pm 1,96 \times$ Standardabweichung). Der durch diese beiden Linien eingegrenzte Bereich umfasst genau 95 % der Messwerte. Wenn diese kleiner sind als die klinisch relevanten Abweichungen können die Verfahren gegeneinander ausgetauscht werden^{393,394}.

Das so beschriebene Bland-Diagramm dient zur Visualisierung systematischer Messdivergenzen und sagt allein noch nichts über den Grad der Übereinstimmung aus. Dessen analytische Beurteilung (signifikanter Unterschied oder nicht) erfolgt über die Berechnung des 95 %-Konfidenzintervalls des Differenzenmittelwertes (vgl. Kap. 6.2.6, Formel (6-5), S. 120). Wenn dieser Vertrauensbereich die Null-Linie (Wert des »Null-Effekts«) nicht mit umfasst, kann von einer statistisch signifikanten Messwertdifferenz ausgegangen werden^{383,397}.

Es sei an dieser Stelle betont, dass dieses die analytische Herangehensweise ist. Ob die systematische Abweichung und die Breite der Übereinstimmungsgrenzen klinisch bedeutsam sind, unterliegt zusätzlich der weiteren sachwissenschaftlichen Betrachtung des Auswerters³⁹⁵.

Die Konkordanzanalyse für die quantitativen Messdaten aus MRT und Histologie wurde in der Abb. 60 zusammengefasst. Betrachtet wurden die Messwerte für den prozentualen Knochenanteil im Defekt *BV*, die ursprüngliche Defektfläche *DF100*, die verbliebene prozentuale Defektbreite *DB* und die ursprüngliche

^{cxviii} Häufig verwendete Softwares sind IBM SPSS Statistics, R und GraphPad Prism.

Defektbreite *DB100*. Die Graphik beinhaltet die jeweiligen Streudiagramme der Messpaare (Abb. 60A₁ bis D₁) und die zugehörigen Bland-Altman-Plots (Abb. 60A₂ bis D₂). Die wichtigsten statistischen Kennzahlen der Bland-Altman-Auswertung wurden in Tab. 27 zusammengefasst. Die vollständige statische Auswertung befindet sich im Anhang (Kap. 8.5.2.4, S. 192ff).

Tab. 27 Statistische Kennzahlen der Bland-Altman-Auswertung. Die Differenz der einzelnen Messwerte wurde aus »Histo-MRT« gebildet. Der mittlere Differenzwert beschreibt die Höhe der systematischen Abweichung beider Methoden zueinander. Diese ist in allen Fällen signifikant, da die 95 %-KI den Wert »0« nicht mit einschließen.

Messparameter	Kürzel	Einheit	MW d. Diff.	oberes 95%-KI	unteres 95%-KI	MW + 1,96 x s _d	MW - 1,96 x s _d
Knochenanteil im Defekt	BV	[%]	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
ursprüngliche Defektfläche	DF100	[mm ²]	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
verbliebene Defektbreite	DB	[%]	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
ursprüngliche Defektbreite	DB100	[mm]	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924

6.4.1.1. KONKORDANZANALYSE DER MESSERGEBNISSE FÜR *BV*

Im X-Y-Streudiagramm wurden die Messwerte aus der MRT gegen die Messwerte der Histomorphometrie aufgetragen. Zusätzlich wurde die Winkelhalbierende mit eingezeichnet. Bei Gleichheit der Messwerte liegen die Datenpunkte genau auf der Winkelhalbierenden. Wurden aus den MRT-Schnittbildern tendenziell höhere Werte ermittelt, dann befindet sich die Datenwolke unterhalb der Winkelhalbierenden. Bei höheren histomorphometrischen Daten liegt die Punktwolke oberhalb dieser Linie.

Aus dem X-Y-Streudiagramm für *BV* geht eine leichte Tendenz zu höheren Histologie-Daten hervor (Abb. 60A₁). Bei 16 der 28 Gewebeproben wurden größere Histologie- als MRT-Werte quantifiziert. Die Bland-Altman-Analyse ergab eine systematische Messwertdifferenz von rund 2,4 % (Tab. 27 und Abb. 60A₂). Das bedeutet, dass die histomorphometrisch bestimmten Knochenanteile durchschnittlich um 2,4 % höher lagen als diejenigen aus der MRT-Quantifizierung. Allerdings traten teilweise deutliche Messwertunterschiede auf, die in beide Richtungen beobachtet wurden. Wie im Kap. 6.3.4.2 (S. 134ff) bereits beschrieben wurde, kam es insbesondere bei Gruppe 1 zu einer merklichen Messwertdiskrepanz. Aus Tab. 69 (Kap. 8.5.2.4, S. 192) kann entnommen werden, dass bei zwei der drei untersuchten Tiere des letzten Analysenzeitpunktes Messwertdifferenzen von mehr als 12 % auftraten. Darüber hinaus wird aus Abb. 60A₂ erkennbar, dass bei insgesamt fünf der 28 Wertepaare eine Diskrepanz von mehr als 10 % im Falle der Histologie auftrat. Bei zwei Tieren waren jedoch die histomorphometrischen Messwerte um mehr als 8 % kleiner als die MRT-Daten.

Wie aus dem Bland-Altman-Diagramm (Abb. 60A₂) und Tab. 27 hervorgeht, lag eine statistisch signifikante Messwertabweichung für *BV* vor, da die 95 %-Konfidenzintervalle des Differenzenmittelwertes die Null-Linie (knapp) nicht mit einschlossen. Aus der statistischen Datenauswertung anhand des gemischten linearen Modells wurde ein Wahrscheinlichkeitswert von $p = 0,010$ berechnet (siehe Kap. 8.5.2.4, Tab. 73, S. 200). Damit bestätigte sich die Beurteilung der graphischen Konkordanzanalyse und die Nullhypothese (»Die Messergebnisse unterscheiden sich nicht«) wurde verworfen.

6.4.1.2. KONKORDANZANALYSE DER MESSERGEBNISSE FÜR *DF100*

Die Berechnung des Knochenanteiles beruht auf Grundlage der gesamten Defektfläche *DF100* (vgl. Kap. 6.2.5.1, Formel (6-4), S. 118). Unterschiede in der Ermittlung der Defektflächen haben also einen direkten Einfluss auf die berechneten Knochenanteile im Defekt. Die Wertepaare des X-Y-Streudiagramms liegen mehrheitlich unterhalb der Winkelhalbierenden der Abb. 60B₁. Das lässt darauf schließen, dass die Defektflächen aus den MRT-Schnittbildern höhere Werte als aus den histologischen Abbildungen aufwiesen.

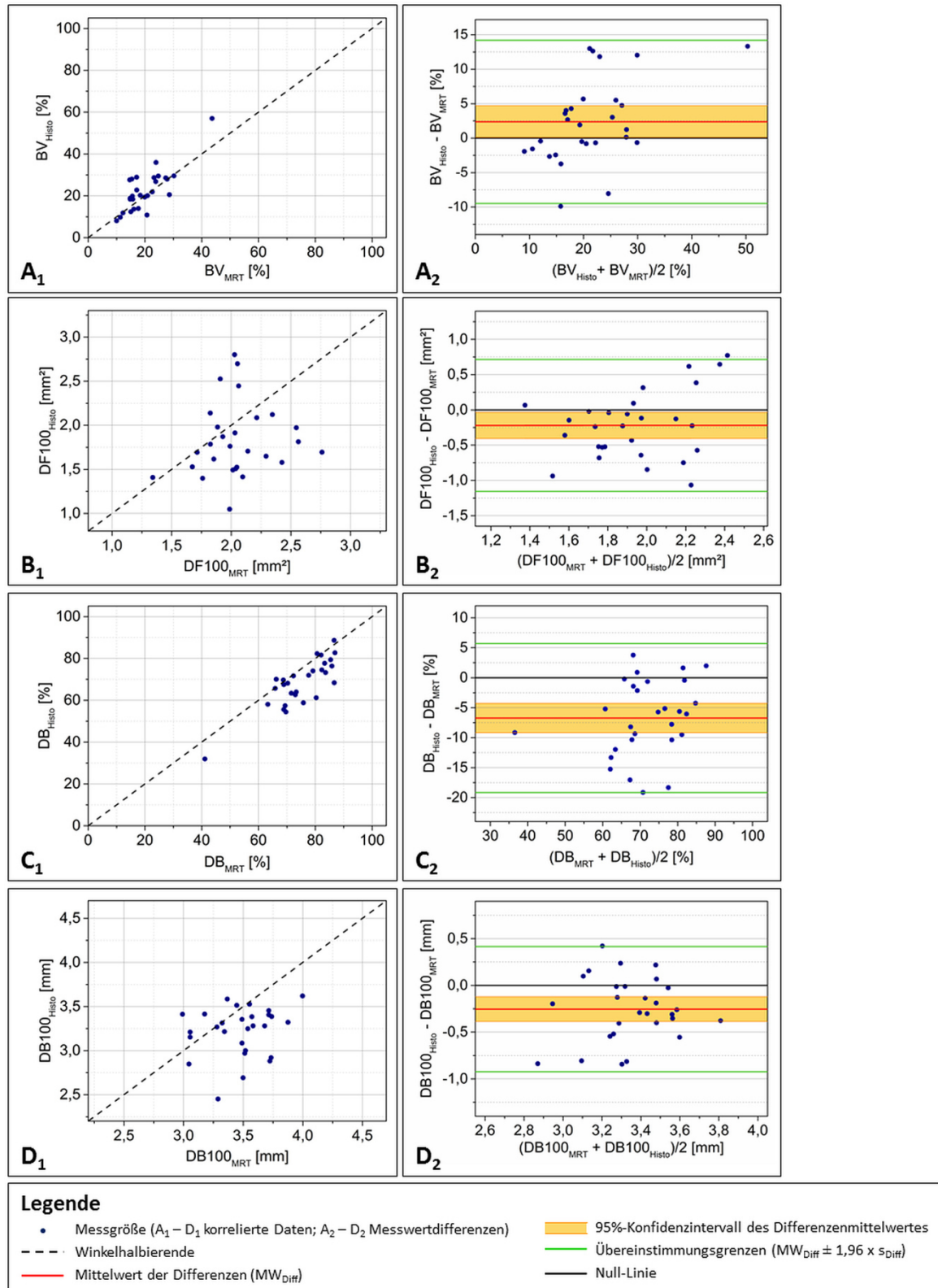


Abb. 60 Konkordanzanalyse der quantitativen Ergebnisse aus MRT und Histologie. Dargestellt sind die X-Y-Streudiagramme der Wertepaare (linke Spalte) und das zugehörige Bland-Altman-Diagramm (rechte Spalte). (A_1 & A_2) Prozentualer Knochenanteil im Defekt *BV*. (B_1 & B_2) Ursprüngliche Defektfläche *DF 100*. (C_1 & C_2) Verbliebene prozentuale Defektbreite *DB*. (D_1 & D_2) Ursprüngliche Defektbreite *DB100*.

Das zugehörige Bland-Altman-Diagramm beweist diese Aussage (Abb. 60B₂). Die durchschnittliche systematische Messabweichung betrug rund $-0,2 \text{ mm}^2$. Bei einer mittleren Defektfläche einer untersuchten Schnittebene von rund $2,0 \text{ mm}^2$ kam es somit zu einer durchschnittlichen Messwertdifferenz von etwa 10 %. Vor diesem Hintergrund sind die maximal beobachteten Messwertdiskrepanzen, die durch die beiden Übereinstimmungsgrenzen $[-1,156; 0,715]$ beschrieben werden, beträchtlich, und zwar in beide Richtungen.

Überwiegend wurden aber die Defektflächen aus den MRT-Schnittbildern größer bestimmt. Ein wesentlicher Grund ist die schwierige Abgrenzbarkeit des alten Lagerknochens zum neugebildeten Knochen auf den MRT-Bildern. Hier musste die Grenze zwischen altem und neuem Knochen allein anhand der Knochenmorphologie definiert werden. Einen farblichen Kontrastunterschied gab es auf den MRT-Schnittbildern nicht, da das Hartgewebe kein Signal erzeugte (vgl. dazu Kap. 2.4.3.6, S. 49). Die Abgrenzung zwischen dem alten und dem neuen Knochen ist auf den histologischen Abbildungen einfach möglich, da der neugebildete Knochen über eine geringfügig verschiedene Färbung und den unterschiedlichen Verlauf der Knochenlamellen gut vom Lagerknochen unterscheidbar ist.

Die breite Verteilung der Wertepaare sowohl im X-Y-Streudiagramm als auch im Bland-Altman-Plot ist aber ein deutlicher Hinweis auf eine geringe Präzision der Defektflächenquantifizierung beider analytischer Methoden. Dieses lässt sich anhand der Standardabweichung aller Defektflächen beider Methoden ablesen (siehe Anhang, Kap. 8.5.2.4, Tab. 70, S. 194f, letzte Tabellenzeile). So wurde aus den MRT-Schnittbildern ein mittlerer Wert für $DF100 = 2,048 \pm 0,298 \text{ mm}^2$ und für die Histomorphometrie von $DF100 = 1,827 \pm 0,413 \text{ mm}^2$ bestimmt. Die hier angegebenen Standardabweichungen sind für beide Methoden beachtlich, und für die histomorphometrischen Daten sogar größer als für die MRT-Daten.

Zwei Gründe kommen für die Messunsicherheiten in Betracht. Zum einen sind die Schwankungen der Schwierigkeit geschuldet, die Defektfläche exakt zu definieren. Wie in Kap. 6.2.5.1 (Auswertung der MRT-Experimente – Quantitative MRT, S. 117f) erläutert und skizziert, müssen die auszuwertenden Flächen mit Hilfe einer Bildauswertesoftware freihand markiert werden. Eine enge Begrenzung der Analysenregion, wie es im Kapitel 5 mit den schraubenförmigen Dentalimplantaten der Fall war (Auswertung des Bereiches innerhalb definierter Gewindespitzen), existiert bei diesem Defektmodell nicht. Da die Quantifizierung unabhängig durch zwei Bewerter^{cxix} vorgenommen wurde, kommen zufällige Schwankungen infolge unterschiedlich gewählter Freihandmarkierungen der Defektflächen infrage. Während die beiden Defektränder (links und rechts) zumindest für die histologische Auswertung gut erkennbar sind, lässt die Markierung der Analysenregion in Richtung kranial (zur Nasenhöhle hin) und kaudal (zur Mundhöhle hin) viel Spielraum.

Der zweite und nicht zu unterschätzende Einfluss liegt in der Auswertung von möglicherweise unterschiedlichen Schichtebenen. Die Untersuchungsbereiche des kreisrunden, artifiziiellen Defektes werden umso kleiner, je näher die auszuwertende Schicht am Defektrand lokalisiert ist. Die Überprüfung dieser These erfolgte im Kap. 6.4.2 (S. 141ff) mit Hilfe von Messwiederholungen an einer ausgewählten Schnittebene.

6.4.1.3. KONKORDANZANALYSE DER MESSERGEBNISSE FÜR *DB* UND *DB100*

Wie die zuvor diskutierten Messgrößen *BV* und *DF100* stehen die prozentuale verbliebene Defektbreite *DB* und die ursprüngliche Defektbreite *DB100* in einem direkten Zusammenhang, da die Berechnung von *DB* auf Grundlage von *DB100* erfolgt (siehe Kap. 6.2.5.1, Formeln (6-1) bis (6-3), S. 118).

Aus den X-Y-Streudiagrammen (Abb. 60C₁ & D₁) wird deutlich, dass für beide Messgrößen ausgehend aus MRT-Schnittbildern höhere Werte quantifiziert wurden als aus den mikroskopischen Abbildungen der histologischen Dünnschliffe. Die Punktwolke der Wertepaare befand sich überwiegend unterhalb der Winkelhalbierenden.

^{cxix} Histo: Maria Hauptstock, MRT: Cindy Elschner

Aus der Bland-Altman-Statistik gehen systematische Messwertunterschiede von $DB100_{o:Histo-MRT} = -0,254 \text{ mm}$ und $DB_{o:Histo-MRT} = -6,729 \%$ hervor^{cx} (Tab. 27, S. 138), die ebenfalls statistisch signifikant auftraten. Aus den Messergebnissen für $DB100$ ergibt sich, dass die Defektbreiten aus den MRT-Schnittbildern im Vergleich zur Histomorphometrie überschätzt wurden. Bei einer lateralen Auflösung von 0,04 mm bedeutet die quantifizierte Messabweichung für $DB100$, dass die Defektbreite aus den MRT-Schnittbildern durchschnittlich etwa sechs Pixel zu groß ermittelt wurde (also drei Pixel auf jeder Seite).

Die größte Messabweichung wurde für die verbliebene Defektbreite DB festgestellt. Die MRT-Auswertung ergab im Mittel 6,7 % höhere Werte für DB als histomorphometrisch quantifiziert. Da der Vertrauensbereich der Messwertdifferenz weit von der Null-Linie entfernt lag, resultierte ein hoch-signifikanter Unterschied zwischen den Messdaten der Methoden (vgl. Kap. 8.5.2.4, Tab. 74, S. 200). Dieser ist zum Teil das Resultat der schwierigen Abgrenzbarkeit zwischen Knochenersatzmaterial und Hartgewebe bei der MRT-Quantifizierung. Denn aufgrund der eingeschränkten Mobilität des Wasseranteils im Knochen und des in die Mineralpartikel inkorporierten Wassers erzeugen beide Strukturen kein Signal in der Magnetresonanztomographie (bei Verwendung von Standardsequenzen). Grenzen also Partikel des Knochenersatzmaterials direkt an die Knochenspitzen an, ist dieses zwar aufgrund der Morphologie erkennbar, allerdings kann der Rand des neugebildeten Knochens nicht mehr mit ausreichender Sicherheit festgestellt werden (Abb. 56, Tier 51, S. 130). Hinzu kommt, dass insbesondere bei den Versuchsgruppen 2 bis 4 blasenförmige Strukturen ohne Signalintensität auftraten, die ebenfalls mit den Knochenspitzen überlagerten (Abb. 56, Tier 64, S. 130). Wie in den Kapiteln 6.3.2.1 (S. 122f) und 6.3.2.2 (S. 125) erläutert, handelte es sich hier sowohl um eingeschlossene Luftblasen als auch um Nahtmaterial. Es ist plausibel, dass in diesen Fällen die Abstände der neuen Knochenspitzen nicht fehlerfrei bestimmt wurden. Dieser Effekt wird bei Betrachtung des Bland-Altman-Diagrammes für DB deutlich (Abb. 60C₂). Die Spannbreite der Übereinstimmungsgrenzen ist vergleichsweise hoch. So kam es in Einzelfällen zu einer Messwertüberschätzung von mehr als 15 % durch die MRT-Quantifizierung im Vergleich zur Histomorphometrie.

6.4.2. Bestimmung der Präzision beider Methoden anhand von Messwiederholungen

6.4.2.1. DESKRIPTIVE ANALYSE DER DATENSÄTZE AUS QUANTITATIVER MRT UND HISTOMORPHOMETRIE

Die direkten, aus der gesamten Studie gewonnenen Messergebnisse wurden aus gleichen Gewebeproben für MRT- und Histomorphometrie-Analyse gewonnen. Da die quantitative Auswertung durch die beiden Auswerter eigenständig und ohne Kenntnis der Ergebnisse der jeweils anderen Methode erfolgte, ist es plausibel, dass nicht dieselben Schichten analysiert wurden. Dieses könnte, neben den Unsicherheiten durch die schwierige Identifikation des gesamten Defektbereiches, ein weiterer Grund für Messwertdivergenzen sein.

Die Präzision der quantitativen Auswertung beider Methoden ist von der lateralen Auflösung der jeweiligen Abbildungen, dem Gewebekontrast, Partialvolumeneffekten und interindividuellen Schwankungen der einzelnen Bewerber abhängig. Zur Evaluation der Messpräzision der Methoden wurde die Quantifizierung der Messgrößen BV , $DF100$, DB und $DB100$ 20-mal an der ausgewählten Schicht wiederholt (vgl. Kap. 6.2.5.3, S. 119). Die Ergebnisse der Wiederholungsmessungen sind in Tab. 28 und Abb. 61 zusammengefasst. Der statistische Vergleich auf Gleichheit der Mess-Serien anhand eines t-Tests für verbundene Stichproben kann im Anhang, Kap. 8.5.3.2 (S. 203), nachgeschlagen werden.

^{cx} Das »o« im Kürzel von DB und $DB100$ weist auf die originalen Messwerte hin. Diese sollen nicht mit den Ergebnissen der Wiederholungsmessungen verwechselt werden.

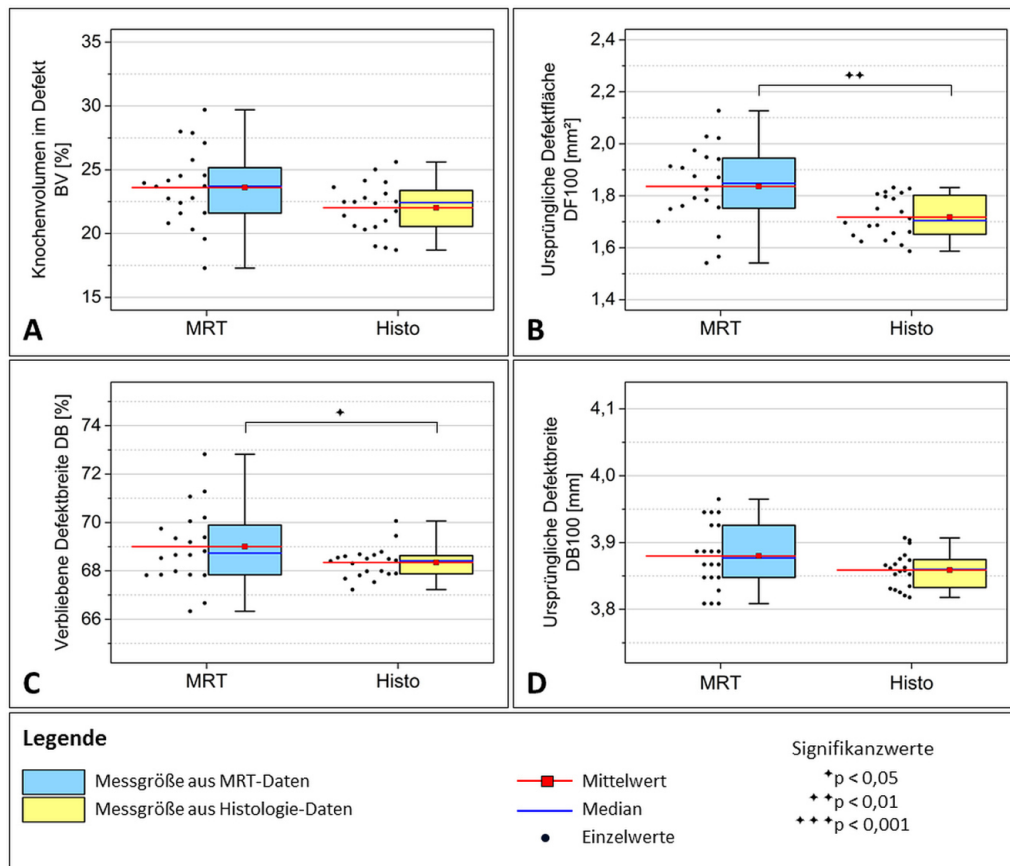


Abb. 61 Ergebnisse der Messwiederholungen beider Methoden im Vergleich. Statistisch signifikante Unterschiede wurden für die Ermittlung der ursprünglichen Defektfläche $DF100$ und die verbliebene Defektbreite DB festgestellt (siehe Kap. 8.5.3.2., S. 203). **(A)** Box-Diagramme für den prozentualen Knochenanteil im Defekt BV . **(B)** Box-Diagramme für die ursprüngliche Defektfläche $DF100$. **(C)** Box-Diagramme für die prozentuale verbliebene Defektbreite DB . **(D)** Box-Diagramme für die ursprüngliche Defektbreite $DB100$.

Tab. 28 Deskriptive Statistik der Ergebnisse der Wiederholungsmessungen. Die Differenz der mittleren Messwerte für die quantifizierten Parameter wurde stets aus »Histo-MRT« gebildet.

Datensatz	Parameter	Einheit	Nges	MW d. Diff.	S _{Diff}	S _{Diff, rel.} [%]	Min	Max	Range (Min – Max)
MRT	BV	[%]	20	23,608	3,072	13,014	17,288	29,699	12,411
Histo	BV	[%]	20	22,018	1,978	8,982	18,709	25,606	6,897
Histo-MRT	BV	[%]	20	-1,589					
MRT	DF100	[mm ²]	20	1,836	0,155	8,415	1,541	2,127	0,586
Histo	DF100	[mm ²]	20	1,718	0,081	4,709	1,587	1,832	0,245
Histo-MRT	DF100	[mm ²]	20	-0,118					
MRT	DB	[%]	20	69,002	1,574	2,281	66,332	72,821	6,489
Histo	DB	[%]	20	68,346	0,651	0,953	67,225	70,061	2,836
Histo-MRT	DB	[%]	20	-0,657					
MRT	DB100	[mm]	20	3,880	0,049	1,268	3,809	3,965	0,156
Histo	DB100	[mm]	20	3,859	0,027	0,696	3,818	3,907	0,089
Histo-MRT	DB100	[mm]	20	-0,021					

Die Box-Diagramme der Wiederholungsmessungen stellen die Einzelergebnisse sowie die Verteilung der Messwerte für beide Methoden dar. Es fällt auf, dass die Spannweite der Messergebnisse (erkennbar durch die beiden Whiskers, siehe dazu auch Kap. 8.3, S. 163) im Falle der MRT-Quantifizierung bei jedem Parameter größer ist als die der Histomorphometrie. Folglich ist die Messgenauigkeit der MRT-Quantifizierung geringer. Die exakte Präzision der Methoden für die Bestimmung der Einzelparameter wurde als relative Standardabweichung ($s_{Diff,rel}$) angegeben (Tab. 28).

Der Messparameter, der mit dem größten Fehler behaftet ist, ist demzufolge der prozentuale Knochenanteil im Defekt BV (Tab. 28 und Abb. 61A). Durch die wiederholte Bestimmung von BV wurde im Falle der MRT-Quantifizierung die relative Standardabweichung $s_{Diff,rel}$ zu 13,01 % und bei der Histomorphologie zu 8,98 % ermittelt. Dieser Fehler ist groß, wenn man bedenkt, dass die Daten nur an einer Schichtebene erhoben wurden und somit die biologische Schwankungsbreite keinen Einfluss auf das Ergebnis hatte. Die Hauptfehlerquelle ist mit der Freihandmarkierung der gesamten Defektfläche $DF100$ gegeben, da diese die Grundlage der Bestimmung von BV darstellte. Wie im Kap. 6.2.5.1 (S. 117) illustriert, musste die Begrenzung des artifiziellen Defektbereiches durch die Auswerter selbst definiert werden.

Überraschenderweise war die Präzision bei der Abgrenzung des alten Lagerknochens zum neugebildeten Knochen für beide Methoden hoch. Die relative Standardabweichung war zwar auch hier im Falle der MRT-Quantifizierung größer als die der Histomorphometrie, ist aber mit einem Wert von $s_{Diff,rel,DB100-MRT} = 1,27$ % vergleichsweise klein (Abb. 61D). Die Datensätze zur Bestimmung der ursprünglichen Defektbreiten $DB100$ zeigten nur eine geringe mittlere Messdivergenz von -0,02 mm, die statistisch nicht bedeutsam war ($p_{DB100:Histo zu MRT} = 0,163$, siehe Kap. 8.5.3.2, S. 203). Das beweist, dass die Abgrenzung des alten Lagerknochens zum neugebildetem Knochen anhand der Gewebemorphologie möglich ist, insofern keine Überlagerungen mit weiteren Strukturen, wie beispielsweise durch Knochenersatz- oder Nahtmaterial, vorliegen.

Analog zur Bestimmung von BV vergrößerte sich der Messfehler bei der Quantifizierung von DB , da diese auf Grundlage zweier Quantifizierungsschritte erfolgte. Die relative Standardabweichung stieg im Falle der MRT-Quantifizierung von $s_{Diff,rel,DB100-MRT} = 1,27$ % auf $s_{Diff,rel,DB-MRT} = 2,28$ % an. Die mittlere Messwertdifferenz der MRT- und Histomorphometrie-Datensätze für die prozentuale verbliebene Defektbreite DB ist zwar mit -0,66 % gering, stellte sich aber trotzdem als statistisch signifikant heraus (Abb. 61C).

6.4.2.2. KONKORDANZANALYSE FÜR DIE QUANTITATIVE MRT UND HISTOMORPHOMETRIE AUF GRUNDLAGE DER MESSWIEDERHOLUNGEN

Die Bland-Altman-Analyse diente zur nochmaligen Visualisierung von Messwertdifferenzen und zur Absicherung der Ergebnisse des t-Tests für den Mittelwertsvergleich der Stichproben. In Tab. 29 wurden die wichtigsten statistischen Kennzahlen der Bland-Altman-Auswertung zusammengefasst.

Während für die Bestimmung der vier Messparameter aus den originalen Messdaten in allen Fällen statistisch signifikante Messwertdifferenzen vorlagen, unterschieden sich die Datensätze aus MRT-Auswertung und Histomorphologie nur für $DF100$ und DB , da bei diesen die 95 %-KI des Differenzenmittelwertes die Null-Linie nicht mit einschlossen. Während der Vertrauensbereich bei DB die Null-Linie nur knapp verfehlte, schloss das 95 %-KI von BV diese gerade mit ein. Diese Ergebnisse wurden durch die jeweiligen berechneten Wahrscheinlichkeitswerte unterstützt ($p_{DB:Histo zu MRT} = 0,048$) und ($p_{BV:Histo zu MRT} = 0,053$, siehe Kap. 8.5.3.2, S. 203).

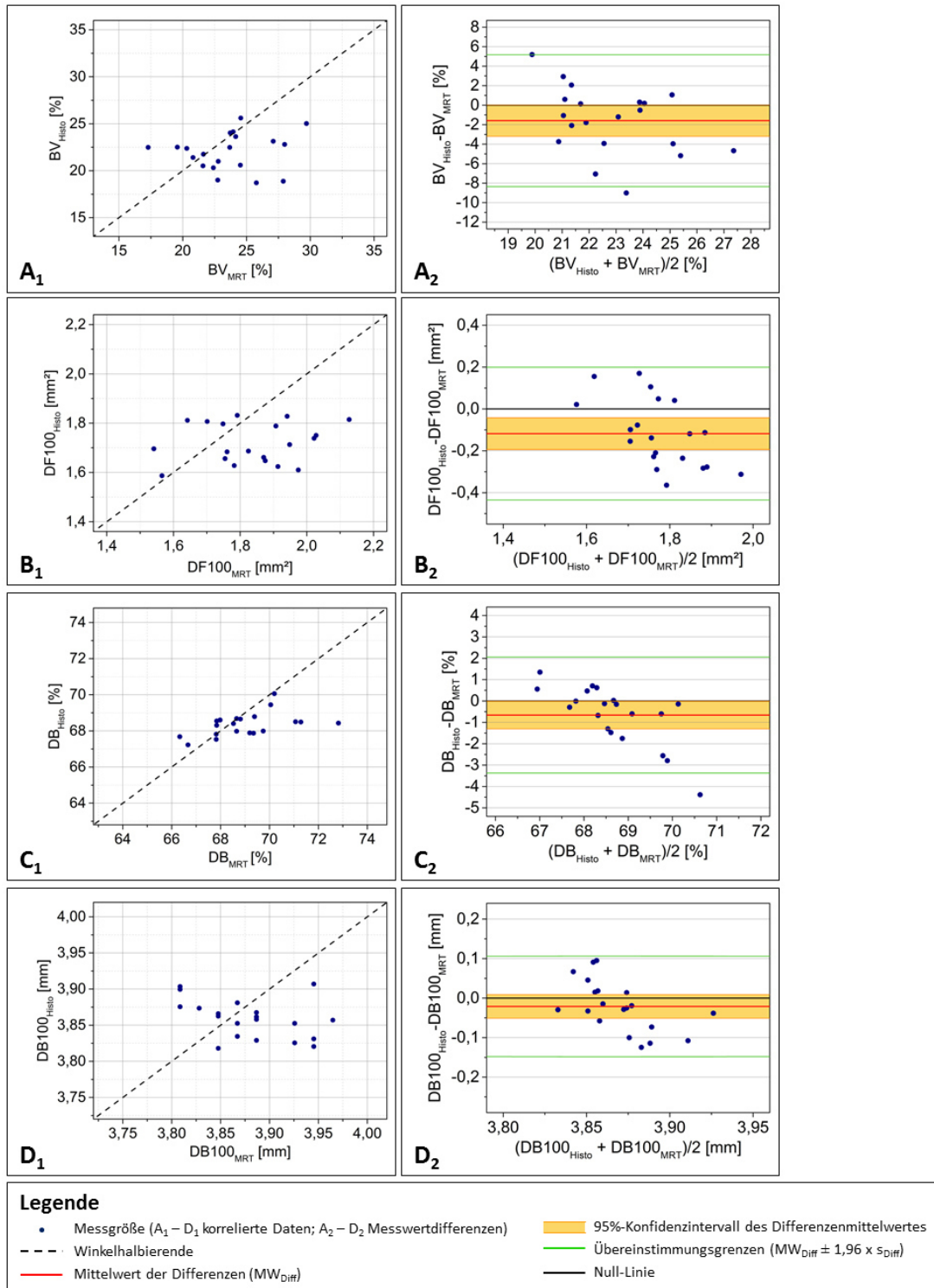


Abb. 62 Konkordanzanalyse der quantitativen Ergebnisse der Messparameter mit MRT und Histologie für die Messwiederholungen. Dargestellt sind die X-Y-Streudiagramme der Wertepaare und das zugehörige Bland-Altman-Diagramm. (**A₁ & A₂**) Prozentualer Knochenanteil im Defekt *BV*. (**B₁ & B₂**) Ursprüngliche Defektfläche *DF 100*. (**C₁ & C₂**) Verbliebene prozentuale Defektbreite *DB*. (**D₁ & D₂**) Ursprüngliche Defektbreite *DB100*.

Tab. 29 Statistische Kennzahlen der Bland-Altman-Auswertung; Gegenüberstellung der originalen Messergebnisse (»O«) und der Ergebnisse der Messwiederholungen (»Wdh«). Die Differenz der einzelnen Messwerte wurde aus »Histo-to-MRT« gebildet. Der mittlere Differenzwert beschreibt die Höhe der systematischen Abweichung beider Methoden zueinander. Diese ist im Falle der Messwiederholungen für *DF100* und *DB* signifikant, da die 95 %-KI den Wert »0« nicht mit einschließen.

Daten	Messparameter	Kürzel	Einheit	MW d. Diff.	oberes 95%-KI	unteres 95%-KI	MW + 1,96 x s_d	MW - 1,96 x s_d
O	Knochenanteil im Defekt	BV	[%]	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
Wdh	Knochenanteil im Defekt	BV	[%]	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
O	ursprüngliche Defektfläche	DF100	[mm ²]	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
Wdh	ursprüngliche Defektfläche	DF100	[mm ²]	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
O	verbliebene Defektbreite	DB	[%]	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
Wdh	verbliebene Defektbreite	DB	[%]	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
O	ursprüngliche Defektbreite	DB100	[mm]	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
Wdh	ursprüngliche Defektbreite	DB100	[mm]	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148

Insbesondere für die ursprüngliche Defektbreite *DB100* und die prozentuale verbliebene Defektbreite *DB* unterschieden sich die Mittelwertsdifferenzen der Messwiederholungen stark von den Originaldaten. In beiden Fällen ist nahezu eine Verzehnfachung der mittleren Messwertsdifferenz festzustellen (Tab. 29). Dieses Ergebnis lässt sich nur dadurch erklären, dass die unabhängigen Auswerter unterschiedliche Schichtebenen ausgewertet haben. Aufgrund der systematischen Überschätzung der MRT-Werte für die ursprüngliche Defektbreite *DB100* und die verbliebene, prozentuale Defektbreite *DB* im Vergleich zu den histomorphometrischen Daten kann geschlossen werden, dass für die MRT-Quantifizierung eher zentral im Defekt gelegene Schnittebenen analysiert wurden, während die Histomorphometrie-Auswertung mehr Schliffpräparate in der Nähe des Defektrandes berücksichtigte. Dieses ist in der Hartgewebspräparation begründet, da die Schichtdicken der Gewebeschnitte vor dem Polieren noch mehrere hundert Mikrometer betragen. Das die Anfertigen der Dünnschliffe geht so mit einem inhärenten Substanzverlust einher (vgl. dazu Kap. 2.4.1.1, S. 23f).

Der Einfluss verschiedener Schichtpositionen soll in Abb. 63 illustriert werden. Dargestellt sind die kreisrunden, artifizierten Defekte sowie die Ossifikation derselben im zeitlichen Verlauf (axiale Schnittebene, also die Draufsicht). Wie in Kap. 6.3.2.3 erläutert, ging die Entwicklung des neuen Knochens vom Defektrand aus (*Distanzosteogenese*). Zusätzlich wurden vier exemplarische Schnittebenen jeweils für die MRT und Histologie eingezeichnet. Der Bereich, der sich innerhalb der roten Markierungen befand, stellte den Auswertebereich dar. Für die analytische Auswertung der Defektossifikation wurden je Gewebeprobe die Mittelwerte aus den vier ausgewerteten Schichtebenen gebildet.

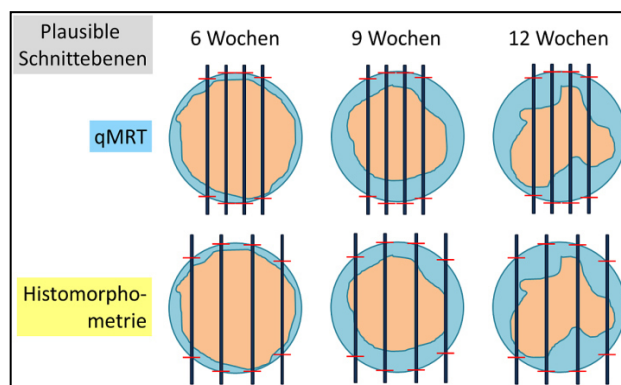


Abb. 63 Skizze des kreisrunden artifizierten Defektes, wie er sich in axialen Schnittbildern im zeitlichen Verlauf darstellen würde (vgl. Abb. 52B & D, S. 125). Der Knochen wurde analog der Masson-Goldner-Trichrom-Färbung grün-blau illustriert, das im Defekt befindliche Weichgewebe ist orange. Die Osteogenese erfolgte von Defektrand ausgehend. Zusätzlich wurden vier exemplarische Schnittebenen eingezeichnet. Die roten Striche grenzen den zu analysierenden Defektbereich ein.

Es wird deutlich, dass die Messwerte für die ursprüngliche Defektbreite $DB100$ im Durchschnitt kleiner werden, je mehr die Schnittebenen in Richtung des Defektrandes lokalisiert waren. Aus diesem Grund zeigte sich im Falle der Originaldaten ein signifikanter Messwertunterschied hin zu niedrigeren histomorphometrischen Daten in einer Größenordnung von $DB100_{o: Histo-MRT} = -0,25 \text{ mm}$ (Tab. 29). Dieser Effekt war systematisch für die gesamte Auswertung der Messdaten der Studie. Prinzipiell ließe sich aber die Defektbreite auch präzise anhand der Knochenmorphologie aus den MRT-Schnittbildern bestimmen. Der systematische Messwertunterschied der Messwiederholungen von $DB100_{Wdh: Histo-MRT} = -0,02 \text{ mm}$ stellte sich als nicht statistisch bedeutsam dar.

Im Falle der prozentualen, verbliebenen Defektbreite DB war die mittlere Messwertsdifferenz sowohl bei den Messwiederholungen als auch beim Originaldatensatz stets statistisch signifikant. Hier kamen offenbar zwei Effekte zum Tragen. Einerseits vergrößerte sich der systematische Messfehler der Quantifizierung, da zur Ermittlung von DB zwei Messgrößen bestimmt werden mussten ($DB100$ und DBv , vgl. Kap. 6.2.5.1, S. 117f). Andererseits kam es bei den Originaldaten insbesondere bei den Gruppen 2 bis 4 zu Unsicherheiten der Identifikation des Apex der neuen Knochenspitzen, wenn sich direkt angrenzend Knochenersatzmaterial befand oder Signalverluste infolge des chirurgischen Nahtmaterials oder von Lufteinschlüssen auftraten. Die Messwertdifferenz von $DB_{o: Histo-MRT} = -6,73 \%$ muss deshalb als sehr hoch bezeichnet werden.

Anhand von Abb. 63 sind auch die beobachteten Unterschiede bei der Bestimmung der Parameter $DF100$ und BV erklärbar. Aus den Messwiederholungen ging bereits hervor, dass die Werte für $DF100$ aus den MRT-Schnittbildern etwas größer quantifiziert wurden (Tab. 29). Bei Berücksichtigung von zentraler gelegenen Schnittebenen im Falle der MRT-Quantifizierung musste es folglich zu durchschnittlich größer bestimmten Defektflächen kommen ($DF100_{o: Histo-MRT} = -0,22 \text{ mm}^2$).

Aus der skizzierten Defektossifikation im zeitlichen Verlauf (Abb. 63) wurde zudem deutlich, dass näher am Defektrand gelegene Schnitte einen größeren Knochenanteil aufweisen als die Ebenen in zentraler Position. Damit werden die eigentlich gegensätzlichen Ergebnisse für BV aus den Wiederholungsmessungen und der Originaldaten aus der Studie plausibel. Auf die Einzelschicht bezogen wurde mit der MRT-Quantifizierung durchschnittlich ein (nicht signifikant) höherer Knochenanteil im Defekt BV ermittelt ($BV_{Wdh: Histo-MRT} = -1,60 \%$). Durch die systematische Auswertung von eher am Rand gelegenen Schnittebenen im Falle der Histomorphometrie wurden mehr Schnittebenen mit einem höheren Knochenanteil berücksichtigt. Aus diesem Grund resultierte schließlich eine systematische Messwertdivergenz zwischen MRT und Histomorphometrie von $BV_{o: Histo-MRT} = 2,37 \%$.

6.5. Diskussion zum methodischen Vergleich zwischen MRT und Histologie

Die Beurteilung der Übereinstimmung quantitativ gewonnener Messergebnisse der Methoden MRT und Histologie stellte den Schwerpunkt des Kapitels 6 der vorliegenden Arbeit dar. Diese, als *Konkordanzanalyse* bezeichnete Auswertung, erfolgte graphisch anhand von Box- und X-Y-Streudiagrammen der Messwertepaare, sowie auf Grundlage der Methode nach *Bland und Altman*^{381,394}. Der von *Giavarina* empfohlene Einbezug des 95 %-Konfidenzintervalls der mittleren Messabweichung ermöglichte eine schnelle und sichere Beurteilung der statistischen Signifikanz von Messwertdispanzen³⁸³.

Die Bewertung der Übereinstimmung beruht sowohl auf den Messdaten, die im Rahmen der tierexperimentellen Studie erhoben wurden, als auch auf den Datensätzen, die mit Hilfe der wiederholten Quantifizierung der Messparameter gewonnen wurden. Beide Analysen sind für den methodischen Vergleich wichtig.

Anhand der (20-fachen) Messwiederholungen wurde die Präzision der Quantifizierung der Messparameter BV , $DF100$, DB und $DB100$ beurteilt. Es konnte festgestellt werden, dass die Messgenauigkeit der histomorphometrischen Auswertung genauer war als die der MRT-Quantifizierung. Der wesentliche Grund

für dieses Ergebnis ist der Bildkontrast der gefärbten Präparate, der, im Gegensatz zu den MRT-Schnittbildern, eine präzise Identifikation des neugebildeten und des reifen Knochens erlaubte. Somit konnte anhand der gefärbten Präparate die exakte Defektgrenze bestimmt werden, die die Basis der graphischen Quantifizierung aller Messwerte bildete. Im Gegensatz dazu war es anhand der MRT-Schnittbilder nicht möglich, die Defektgrenze auf Grundlage verschiedener Grauwerte zu identifizieren. Die Bestimmung des Defektbereiches erfolgte allein über die Knochenmorphologie. So wurde von neu gebildetem Knochen ausgegangen, wenn sich die Höhe des Os maxillaris (von kranial nach kaudal) verringerte, da sich die Defektossifikation durch die Ausbildung von Knochenspitzen äußerte.

Der nächste Schritt umfasste den statistischen Vergleich der Messwertdifferenzen der Wiederholungsmessungen. Im Falle der quantifizierten Breiten des gesamten Defektbereiches $DB100$ gab es nur einen minimalen Messwertunterschied von $DB100_{Wh.Histo-MRT} = -0,02 \text{ mm}$. Diese geringe Abweichung war statistisch nicht signifikant. Bei den Datensätzen der prozentual verbliebenen Defektbreiten DB wurde ein systematischer Unterschied von $DB_{Wh.Histo-MRT} = -0,66 \%$ festgestellt. Dieser war (knapp) statistisch signifikant ($p_{Wh.Histo \text{ zu } MRT} = 0,048$) und vermutlich das Resultat der Fehlerfortpflanzung der der graphischen Auswertung, die auf Grundlage von zwei Messgrößen beruht (der Bestimmung der ursprünglichen und der verbliebenen Defektbreite in mm). Hinzu kommt, dass die geringere Auflösung der MRT-Schnittbilder ($res_{MRT} = 0,04 \text{ mm}$) im Vergleich zu den mikroskopischen Aufnahmen der histologischen Dünnschliffe ($res_{Histo} = 0,00069 \text{ mm} = 0,69 \mu\text{m}$) zwangsläufig zu unpräziseren Ergebnissen führen musste. Diese sind auf den sog. *Partialvolumeneffekt* (PVE)^{exxi} zurückzuführen, der mit der Verringerung der Auflösung zunimmt. Der PVE spielt insbesondere an Grenzflächen von Strukturen eine Rolle²⁹⁸.

Aus der wiederholten Bestimmung der gesamten Defektfläche $DF100$ wurde deutlich, dass die graphische Freihand-Markierung der Flächen, die bei beiden Analysen zu Anwendung kam, fehlerbehaftet war. Die relative Standardabweichung betrug für die MRT-Quantifizierung rund 8,4 % und für die Histomorphometrie ca. 4,7 % (vgl. Tab. 28, S. 142). Diese Messunsicherheiten sind im Wesentlichen auf interindividuelle Schwankungen der Markierung des Defektbereiches durch die einzelnen Bewerter zurückzuführen. Die geringere laterale Auflösung der MRT-Schnittbilder und der fehlende Kontrast zwischen reifem und neuem Knochen vergrößerten die Messunsicherheit der MRT-Quantifizierung zusätzlich. Folglich resultierte eine statistisch signifikante Messwertdifferenz für $DF100$ von $-0,12 \text{ mm}^2$ ($p_{DF100,Wh.Histo-MRT} = 0,004$). Im Falle des prozentual verbliebenen Knochenanteils im Defekt BV betrug der Unterschied zwischen beiden Datensätzen nur $-1,59 \%$. Überraschenderweise war die Messwertdivergenz nicht statistisch signifikant (obwohl dem Parameter BV die graphische Bestimmung der Defektfläche $DF100$ und der Fläche der neuen Knochenspitzen zugrunde lag, vgl. Kap. 6.2.5.1, S. 117f). Allerdings befand sich der entsprechende Wahrscheinlichkeitswert $p_{BV,Wh.Histo-MRT} = 0,053$ nur knapp über der Signifikanzgrenze von $\alpha = 0,050$. Es ist denkbar, dass dieses Ergebnis auch das Resultat zufälliger Schwankungen der Freihand-Markierung der neuen Knochenspitzen war.

Während die parallele Auswertung von nur einer gleichwertigen Schicht die vereinfachte Betrachtung (wenn auch einer schwierigen Defektgeometrie) darstellte, wurde anhand der Analyse der gesamten erhobenen Messdaten die reale experimentelle Situation der Studie widerspiegelt. In dieser wurden mehrere Schichtebenen einer Gewebeprobe (im Durchschnitt vier Schnitte) zu einem Wert zusammengefasst. Durch die unabhängige Analyse der Abbildungen aus MRT und Histologie durch beide Auswerter war jeweils nicht bekannt, welche Schichtebenen ausgewertet wurden und wie die Ergebnisse der Quantifizierung der einzelnen Parameter des jeweils anderen Auswerters ausfielen. Die Präsentation der Zwischenergebnisse der Defektossifikation der Versuchsgruppen erfolgte im Rahmen eines Projekttreffens.

^{exxi} An Randbereichen von Gewebestrukturen treten Mischungen verschiedener Komponenten in einem Voxel auf. Deren Signalintensitäten tragen proportional zu deren Mischungsverhältnis in dem Voxel zur Signalintensität bei. Das heißt, dass am Grenzbereich zwischen Hart- und Weichgewebe das gesamte Pixel (oder Voxel) sicher als Weichgewebe (also grau) erscheint, wenn der darin befindliche Hartgewebsanteil weniger als 50 % beträgt.

Wie im Kap. 6.4.2 (S. 141ff) festgestellt und in Abb. 63 (S. 145) illustriert, hatten die ausgewählten Schichtebenen einen maßgeblichen Einfluss auf die Messergebnisse und das Resultat der Konkordanzanalyse. Dieser Effekt wurde anhand der Messwerte für *DB100* und *DB* besonders deutlich. Die durchschnittliche Messwertdifferenz verzehnfachte sich im Falle der Messdaten aus der Studie im Vergleich zur Auswertung einer einzelnen Schicht. Folglich sind die berechneten statistischen Messwertdivergenzen der Datensätze aus MRT und Histomorphometrie weniger auf die Methoden selbst (also Unterschiede der lateralen Auflösung und des Kontrastes), sondern hauptsächlich auf die Auswertung verschiedener Schichtebenen und der interindividuellen Schwankungen der Auswerter bei der graphischen Analyse der Bilddaten zurückzuführen.

Letzteres ließe sich eliminieren, wenn die graphische Auswertung von nur einer Person durchgeführt werden würde. Die Analyse durch mehrere Auswerter entspricht allerdings der realen Situation bei interdisziplinären Projekten und ist in den unterschiedlichen Kompetenzen der Projektpartner und den häufig verschiedenen Orten der Datenerhebung begründet. Zudem bedeutet die parallele Quantifizierung der Messwerte einen großen zeitlichen Vorteil. Deshalb sollten (insbesondere interdisziplinäre) Veröffentlichungen generell eine Fehlerbetrachtung beinhalten, um statistisch signifikante Unterschiede zwischen experimentellen Gruppen oder Messwerte verschiedener Analysenmethoden exakt einzuordnen.

Die Forschung und Etablierung nicht-invasiver bildgebender Methoden ist für die Entwicklung neuer Biomaterialien von essentieller Bedeutung. Der Bedarf an neuen Biomaterialien, der sich zu einem großen Anteil aus der demographischen Entwicklung ergibt⁵, geht mit einer Zunahme notwendiger Versuchstiere einher, um die Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen vor dem klinischen Einsatz evaluieren zu können. Nicht-invasive bildgebende Methoden haben gegenüber der standardmäßig angewendeten Histologie den entscheidenden Vorteil, dass die Untersuchungen wiederholbar sind und somit Verlaufsstudien an gleichen Tieren möglich werden. Zusätzlich sind mit der Durchführung von Verlaufsstudien eine Reduktion der biologischen Variabilität, eine signifikante Verringerung der Versuchstierzahl und nicht zuletzt eine Zeiterparnis verbunden, da die aufwändigen Schritte der Gewebefixierung und Dünnschliffpräparation insbesondere für Hartgewebeproben entfallen¹³. Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt, ist die Magnetresonanztomographie eine mögliche Methode für die nicht-invasive Bildgebung. Aufgrund der Verwendung eines NMR-Spektrometers für die Bildgebung und der nachfolgenden Histologie beruhen die Ergebnisse auf der Analytik *ex vivo*.

Die MRT kann dabei sowohl für tierexperimentelle Studien *in vivo* verwendet werden (und wird dann als »*Small animal imaging*« bezeichnet) oder zur Untersuchung zellbesiedelter Konstrukte *in vitro* dienen, woraus sich vielfältige Anwendungsmöglichkeiten für die Nutzung der MRT ergeben.

So schlagen *Leférink et al.* die MRT als vielversprechende Analysenmethode zum Monitoring der Zellbesiedlung auf Scaffolds vor³⁹⁸. Analog zu den tierexperimentellen Studien ist es auch bei Untersuchungen *in vitro* sinnvoll, die tissue-engineerten Materialien mit nicht-invasiven Methoden zu untersuchen, um wiederholte Messungen an verschiedenen Zeitpunkten an Einzelproben vorzunehmen.

Ein zusätzlicher Vorteil der Magnetresonanztomographie besteht außerdem in der Möglichkeit, MR-spezifische Parameter zu quantifizieren, die einen direkten Rückschluss auf die Beweglichkeit der Protonen liefern und folglich die Entwicklung verschiedener Gewebetypen im zeitlichen Verlauf zu beschreiben¹⁸.

Die Gruppe um *Bulte et al.* zeigten in ihrem aktuellen Übersichtsartikel außerdem die Möglichkeiten der Ortung und Nachverfolgung von Zellen mit Hilfe der MRT und der Verwendung spezifischer Kontrastmittel auf (die Methode wird als »*MRI cell tracking*« bezeichnet)⁶¹. Die Kontrastmittel verändern die Signalintensität infolge einer Modifikation der Relaxationszeit der markierten Zellen^{cxxii}. Die mit Kontrastmittel gelabelten Zellen können so identifiziert und deren Verbleib im Gewebe nicht-invasiv mit MRT verfolgt werden. Das sog. »*in vivo-cell tracking*« wird beispielsweise zum Monitoring bei Stammzellbasierten Therapieformen eingesetzt^{60,399}, ist aber auch zur Untersuchung tissue-engineerter Konstrukte geeignet⁴⁰⁰.

^{cxxii} Die Signalintensität kann durch sog. T₁-Kontrastmittel (paramagnetische Substanzen, diese führen zu einer schnelleren T₁-Relaxation) verstärkt, als auch durch T₂-Kontrastmittel (superparamagnetische oder ferromagnetische Substanzen, führen zu verstärkter Spin-Dephasierung und verkürzen so T₂) ausgelöscht werden⁶¹.

Die Anwendung der MRT zur Untersuchung der ossären Integration von Biomaterialien in mineralisiertes Gewebe ist jedoch stets eine Herausforderung. Wie im theoretischen Teil erläutert, ist es nicht möglich, Knochen mit konventionellen MRT-Sequenzen direkt abzubilden (siehe Kap. 2.4.3.6, S. 49f), obwohl dieser einen Wasseranteil von 10 – 15 % aufweist. Das Wasser ist jedoch so fest gebunden und damit in seiner Mobilität stark eingeschränkt, dass sich diese in einer sehr kurzen T_2 -Relaxationszeit des Knochens von durchschnittlich 250 – 500 μs abbildet. Die kurze T_2 -Zeit hat zur Folge, dass das Signal der Protonen bereits zerfallen ist, bevor es vom Detektor aufgezeichnet werden konnte (vgl. Kap. 2.4.3.1, S. 35f).

Aus diesem Grund werden für die Untersuchung von mineralisiertem Gewebe und der knöchernen Einheilung von Biomaterialien hauptsächlich histologische Methoden und die μCT verwendet^{12,23}. Wie im Kap. 2.4.3.7 (S. 50f) erläutert und in der vorliegenden Arbeit gezeigt, eignet sich die Magnetresonanztomographie aber durchaus für die nicht-invasive Analyse der ossären Integration. Der negative Kontrast des mineralisierten Gewebes zum umgebenden Weichgewebe und insbesondere zum Knochenmark ermöglichen das zeitliche Monitoring der Neubildung von Knochen sowie die Integration der untersuchten Biomaterialien in mineralisiertes Gewebe selbst mit Standard-Sequenzen, wie in den Kapiteln 5 (Untersuchung der Osseointegration eines Zahnwurzelimplantates aus PEEK/Ti, S. 90ff) und 6 (Untersuchung der ossären Integration tissue-engineerter Knochenersatzmaterialien und methodischer Vergleich, S. 110ff) demonstriert wurde. Ähnliche Studien sind der Autorin nicht bekannt. Deshalb war es notwendig, die Vergleichbarkeit der Ergebnisse aus der Magnetresonanztomographie mit den Resultaten der Histologie, die den aktuellen Goldstandard darstellt, zu analysieren.

Arbeiten, die einen methodischen Vergleich zwischen bildgebenden Verfahren thematisieren, sind rar. Bei den meisten Studien handelt es sich um eine Gegenüberstellung der Abbildungen der jeweiligen Modalitäten und der Beschreibung detektierbarer Strukturen^{244,401,402}. Die auf die MRT bezogenen Arbeiten haben meist keinen Bezug zur Analyse von Biomaterialien, sondern evaluieren beispielsweise die Detektierbarkeit von Knochenzysten²⁴⁴, Tumoren oder trabekulärer Knochenstrukturen⁴⁰².

Kłodowski et al. untersuchten in den Röhrenknochen implantierte Scaffolds aus Polylactid/Hydroxylapatit mit MRT und μCT (*ex vivo*) nach dreimonatiger Einheilzeit. Die Autoren stellten die verschiedenen Kontrastmöglichkeiten der Magnetresonanztomographie an den untersuchten Gewebeproben vor und überlagerten ein MRT-Schnittbild mit einer μCT -Aufnahme. Die Quantifizierung knöcherner Strukturen erfolgte aber anhand der CT-Daten²⁰.

Eine Analyse der Vergleichbarkeit quantifizierter Parameter für Messdaten aus der Histomorphometrie und der μCT führten *Park et al.*²² und *Bernhardt et al.*²¹ durch. Beide Gruppen untersuchten die Osseointegration von Zahnwurzelimplantate aus Titan. *Park et al.* quantifizierten den Knochen-Implantat-Kontakt (BIC) der Implantate von 24 Tieren nach einer Einheilzeit von zwölf Wochen anhand gefärbter Schliffpräparate und zweidimensionaler Schnittbilder aus der μCT . Der methodische Vergleich beruhte auf einem gepaarten t-Test und der Berechnung des Korrelationskoeffizienten aus dem X-Y-Streudiagramm. Letztere Angabe eignet sich allerdings nur zur Feststellung linearer Zusammenhänge und nicht zum Vergleich von Messdaten³⁹⁶. Die Autoren stellten fest, dass sich zwischen den Methoden eine statistisch signifikante Messwertdivergenz für den BIC von rund 10 % ergab^{cxviii}.

Bernhardt et al. veröffentlichten eine umfangreiche Analyse der Vergleichbarkeit zwischen Histomorphometrie und SR μCT -Quantifizierung für den BIC und das Knochenvolumen (BIV). Diese beinhaltete neben der deskriptiven Statistik auch X-Y-Streudiagramme und Bland-Altman-Plots. Zusätzlich wurde ein lineares Regressionsmodell für die Berechnung des p-Wertes genutzt. Die Autoren stellten eine geringe und nicht signifikante Messwertabweichung für beide Größen fest.

Als Fazit lässt sich feststellen, dass detaillierte methodische Vergleiche zwischen bildgebenden Methoden bisher nur selten veröffentlicht wurden. In der vorliegenden Arbeit wurde daher erstmals gezeigt, dass die knöcherne Einheilung von Biomaterialien mit der Magnetresonanztomographie sowohl qualitativ als

^{cxviii} $\text{Histo}_{\text{BIC}} = 63,1 \%$, $\mu\text{CT}_{\text{BIC}} = 53,6 \%$.

auch quantitativ untersucht werden kann. Bei der durchgeführten Konkordanzanalyse handelt es sich um die erste Studie zur Vergleichbarkeit quantitativer Messdaten aus MRT und Histomorphometrie.

Die graphische Analyse auf Grundlage von Bland-Altman-Diagrammen und des Einbezugs des 95 %-Konfidenzintervalls (wie von *Giavarina* vorgeschlagen³⁸³) ermöglichte die anschauliche und nachvollziehbare Detektion von Messwertunterschieden.

7 ZUSAMMENFASSUNG DER ARBEIT UND AUSBLICK

7.1. Zusammenfassung

Die Analyse von Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen und der Eignung eines Implantates beruht hauptsächlich auf histologischen Techniken. Diese sind allerdings invasiv und lassen keine Untersuchungen am lebenden Tier zu. Auf dem Gebiet der präklinischen Biomaterialentwicklung hat die Verwendung nicht-invasiver bildgebender Methoden ein großes Potential. Zur Erzeugung hochaufgelöster digitaler Schnittbilder für die nicht-invasive Evaluation der Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen eignen sich die Computertomographie und die Magnetresonanztomographie. Während die CT eine gebräuchliche und anerkannte Methode zur Untersuchung der knöchernen Einheilung und zur Beschreibung des Knochens ist, hat sich die Verwendung der MRT für diese Fragestellungen bisher nicht durchgesetzt.

Das Thema der vorliegenden Arbeit war es deshalb, die Anwendbarkeit der MRT für die Analyse der Einheilung von Biomaterialien in den Knochen zu beurteilen. Die Darstellbarkeit der zu analysierenden Gewebe im Vergleich zur Histologie, die Gewinnung quantitativer Daten anhand beider Analysemethoden und deren unmittelbarer Vergleich standen dabei im Mittelpunkt. Für die Bearbeitung der Thematik ergaben sich zwei grundsätzliche thematische Schwerpunkte.

- A* Untersuchung verschiedener Materialsysteme hinsichtlich ihrer Eignung für die Magnetresonanztomographie und zur Biokompatibilität (untergliedert in die Kapitel 3 und 4).
- B* Analyse der knöchernen Einheilung verschiedener Biomaterialien mit der Magnetresonanztomographie im Vergleich mit den Ergebnissen aus der Histologie (beinhaltet die Kapitel 5 und 6).

7.1.1. Analyse der Wechselwirkungen zwischen Material und MR-System

Der Anwendung eines zur Histologie alternativen bildgebenden Verfahrens muss stets die Überprüfung der Eignung des Materials für die jeweilige Messmethode vorausgehen. Dieses gilt sowohl für die MRT als auch für die CT. Die Dissertationsarbeit beinhaltet deshalb die Beschreibung der möglichen Wechselwirkungen von Implantatmaterialien mit dem MR-System (vgl. Kap. 2.4.3.8, S. 51ff) sowie die Untersuchung der Ausprägung der Wechselwirkungen in Abhängigkeit vom Material und von den verwendeten Experimentalparametern (Kap. 3, S. 57ff). Es wurde demonstriert, dass Metalle erhebliche Störungen der MR-Schnittbilder (sog. Artefakte) verursachen können, wenn diese elektrisch leitfähig sind. Der Hintergrund des Effektes ist die Induktion von Wirbelströmen durch das hochfrequente (HF) elektromagnetische Feld während der Messung. Eine drastische Abhängigkeit der Artefaktgrößen von der Position des Untersuchungsobjektes zum HF-Feld konnte gezeigt werden (siehe Kap. 3.4.1, Abb. 26, S. 66).

Generell bewirkt eine große Differenz der magnetischen Suszeptibilitäten an der Grenzfläche zwischen Biomaterial und Umgebung eine weitere Verstärkung der Bildartefakte (vgl. Kap. 2.4.3.8, S. 51ff). Dieser Fall trifft auf das in der Medizin etablierte Implantatmaterial Titan zu, da es sowohl elektrisch leitfähig als auch paramagnetisch ist. Vor diesem Hintergrund wurde der Einfluss mehrerer Experimentalparameter auf die durch Titan induzierte Artefaktausprägung für dieses Metall evaluiert. Der stärkste Effekt ging dabei von der Position des Titanobjektes zur Richtung des HF-Feldes aus. Eine drastische Verringerung der Bildstörungen wurde durch eine zum HF-Feld parallele Ausrichtung des Objektes erreicht.

Desweiteren wurde untersucht, inwiefern dünne Beschichtungen aus Titan zu Bildstörungen führten. Als Substrat der Schichten diente der in der Medizin zunehmend eingesetzte Kunststoff Polyetheretherketon (PEEK). Es konnte gezeigt werden, dass die beiden untersuchten PEEK/Ti-Verbundmaterialien, die eine unterschiedliche Oberflächenmorphologie aufwiesen, keine detektierbaren Wechselwirkungen mit dem MR-System verursachten, da in diesen Fällen die Bildung von Wirbelströmen minimal ist (vgl. Kap. 3.3, Abb. 22, S. 62 und Kap. 3.4.4, Abb. 29, S. 72).

7.1.2. Evaluation der *in vitro*-Biokompatibilität von PEEK und PEEK/Ti

Nachdem die Kompatibilität der beiden PEEK/Ti-Verbünde für die MR-Bildgebung im Kapitel 3 festgestellt wurde, fand im nachfolgendem Kapitel 4 (S. 75ff) deren Analyse der Biokompatibilität anhand eines *in vitro*-Modells statt (verwendet wurden humane mesenchymale Stromazellen, hMSC). Die Testreihe umfasste Experimente zur Zellmorphologie und –proliferation, zur osteogenen Differenzierung und zur Identifikation eines möglichen entzündlichen Milieus. Als Vergleichsprobe diente der unbehandelte Kunststoff. Es konnte experimentell nachgewiesen werden, dass die Beschichtung des Kunststoffes PEEK mit Titan zu einer signifikanten Verbesserung der Biokompatibilität führte. Die beiden PEEK/Ti-Verbünde zeigten eine größere Anzahl adhärenter hMSC mit durchschnittlich größeren Zellen, sowie einen höheren Anteil an sezernierten Calcium und Phosphat. Es wurden keine unterschiedlichen Zell-Material-Wechselwirkungen zwischen den beiden untersuchten PEEK/Ti-Verbänden festgestellt. Die Ergebnisse wurden von der Autorin publiziert²⁹³.

7.1.3. Untersuchung der Osseointegration eines Zahnwurzelimplantates aus PEEK/Ti

Auf Grundlage der Ergebnisse aus Kapitel 3 und 4 erfolgte die Beurteilung der knöchernen Einheilung des Verbundmaterials PEEK/Ti anhand eines Tiermodells im Kapitel 5 (S. 90ff). Dazu wurde beispielhaft ein enossales Zahnimplantat verwendet (siehe Kap. 5.2.1., Abb. 39, S. 91). Als Tiermodell wurde das Mini-Schwein ausgewählt (der Hintergrund der Wahl des Tiermodells wird im Kap. 5.1.2, S. 90 erläutert). Die Beurteilung der Osseointegration erfolgte aus der Beobachtung des klinischen Verlaufes des Tierversuches und anhand der Ergebnisse aus der Magnetresonanztomographie (*ex vivo*) und Histologie. Die Analyse umfasste eine detaillierte morphologische Beschreibung der ossären Situation, sowie der quantitativ gewonnenen Parameter. Darüber hinaus wurde die Vergleichbarkeit der aus beiden Techniken gewonnenen Daten statistisch untersucht.

Zusammenfassend konnte festgestellt werden, dass sich die Dentalimplantate aus PEEK/Ti suffizient in den Knochen integrierten. Während der Einheilperiode wurden keine Anzeichen einer Infektion oder Fremdkörperreaktion festgestellt. Ein direkter Knochen-Implantat-Kontakt war ab der vierten Woche der Einheilperiode nachweisbar und kann als direkte Folge der Titanbeschichtung angesehen werden. Anderenfalls würde die Inertheit der reinen PEEK-Oberfläche einen direkten Knochen-Implantat-Kontakt verhindern und so zu einer fibrösen Einkapselung führen³⁰². Der für das PEEK/Ti-Implantat quantifizierte Knochenanteil von $25,0 \pm 12,0$ % (qMRT-Wert, Histo: $33,0 \pm 18,0$ %) übertrifft im Mittel leicht den von Korn *et al.* publizierten Werten für das Titan-Implantat³²⁸, sind aber aufgrund der breiten Streuung und der Verwendung desselben Tiermodells vergleichbar (vgl. dazu auch Kap. 5.4, S. 104ff).

Die Verwendung sowohl der MRT als auch der Histologie als bildgebende Methoden ermöglichten eine detaillierte Analyse der Gewebekomponenten im zeitlichen Verlauf (siehe Kap. 5.3.3, Abb. 45, S. 102). Neben der reinen Zunahme des Hartgewebsanteils konnte anhand verschiedener Kontrastmöglichkeiten der MRT eine zeitabhängige Zunahme des Knochenmarksanteils detektiert werden (vgl. Kap. 5.3.2.1, Abb. 43, S. 100). Diese Quantifizierung ist nur mit der MRT möglich. Neben den morphologischen Veränderungen der Knochenstruktur wurde das Fortschreiten des Regenerationsprozesses also zusätzlich über die Veränderung des Knochenmarksanteils beschrieben. Die statistische Auswertung des quantifizierten Knochenanteils

aus der MRT und Histomorphometrie ergab keine signifikanten Unterschiede. Aufgrund der geringen Anzahl an untersuchten Proben wurde jedoch eine breite Streuung der Daten festgestellt. Diese sind vermutlich das Resultat der hohen biologischen Varianz durch den Einbezug von nur drei Versuchstieren in die Studie. Zusätzlich hatte die (unbewusst) gewählte Schichtebene insbesondere in der frühen Einheilphase aufgrund der heterogenen Verteilung zwischen Weich- und Hartgewebe einen signifikanten Einfluss auf die quantifizierten Werte (vgl. Kap. 5.4, Abb. 47, S. 108).

Aktuell wird die Verwendung von PEEK-basiertem Zahnersatz kontrovers diskutiert. Klinische Erfolgsraten wurden bisher allerdings nur anhand von Einzelfallstudien dokumentiert. Die im Rahmen der Dissertationsarbeit durchgeführte Analyse der Osseointegration stellte die erste publizierte Studie am Großtiermodell dar^{320,403,404}.

7.1.4. Untersuchung der ossären Integration tissue-engineerter Knochenersatzmaterialien und methodischer Vergleich

Die Bewertung der Darstellbarkeit knöcherner Strukturen und Knochenersatzmaterialien mit MRT und Histologie, sowie die Beurteilung der Übereinstimmung deren quantitativ gewonnener Messergebnisse bildeten die thematischen Schwerpunkte des letzten Ergebniskapitels (Kap. 6, S. 110ff). Für diese Studie war kein eigenständiger Tierversuch notwendig, da Gewebeproben aus einem von den Kooperationspartnern separat eingeworbenen Einzelprojekt verwendet werden konnten^{cxxiv}.

Dieses hatte die Analyse der knöchernen Einheilung tissue-engineerter Knochenersatzmaterialien anhand eines artifiziellen Defektes des Oberkiefers zum Ziel. Als Trägermaterial für die Besiedlung mit Zellen diente das in der Zahnmedizin etablierte Knochenersatzmaterial *BioOss® Collagen* (Details zum Tiermodell und zum Tissue Engineering sind im Kap. 6.2, S. 113ff nachzulesen). Die Integration der Knochenersatzmaterialien und der Verlauf der Defektossifikation wurden an vier Versuchsgruppen^{cxxv} analysiert. Hinsichtlich des klinischen Erfolges der Knochenersatzmaterialien musste festgestellt werden, dass diese keinen Vorteil zum Leerdefekt darstellten. Sämtliche mit den Knochenersatzmaterialien versorgten Gruppen wiesen eine verzögerte und zum Teil sogar verhinderte Defektossifikation auf. Das verwendete Trägermaterial stellte sich für diese Anwendung deshalb als ungeeignet heraus. Diese Beurteilung wurde damit begründet, dass dessen granulare Partikel infolge der mechanischen Kaubelastung nicht im Defekt verblieben, sondern in die umgrenzenden Gewebe migrierten bzw. ein Verlust bei der Nahrungsaufnahme stattfand. Außerdem wurde eine Resorption von gesundem Lagerknochen bei direktem Kontakt und mechanischer Belastung beobachtet (vgl. dazu die Kap. 6.3.3, S. 128ff und Kap. 6.3.4, S. 131ff).

Die Beurteilung der Übereinstimmung der Messdaten^{cxxvi} wurde graphisch anhand einer sog. Konkordanzanalyse durchgeführt. Diese beruht auf Grundlage von X-Y-Streudiagrammen und der Bland-Altman-Methode (siehe Kap. 6.4, S. 137ff) und wurde sowohl für die Messdaten aus der Studie als auch für die wiederholte Auswertung der Bilddaten mit beiden Analysenmethoden anhand einer ausgewählten Schichtebene durchgeführt. Letztere Auswertung diente zur Beurteilung der Messpräzision der jeweiligen bildgebenden Verfahren.

Generell stellten die anatomischen Gegebenheiten des artifiziellen Defektes für die graphische Auswertung, die für beide Analysenmethoden analog erfolgte, eine Herausforderung dar. Da der zu analysierende Bereich nur von zwei Seiten durch den reifen Lagerknochen begrenzt war, hatte die Präzision der Eingrenzung der gesamten Defektfläche und der neugebildeten Knochenspitzen auf den MRT-Schnittbildern und den mikroskopischen Abbildungen der Histologie einen merklichen Einfluss auf die Messergebnisse. Die

^{cxxiv} MeDDrive-Förderung des Universitätsklinikums Dresden, Projekt von *Dr. med. dent. P. Korn* und *Dr. med. dent. M. C. Schulz* zur »Untersuchung von im Tissue Engineering hergestellten Knochentransplantaten am Tiermodell zur Kieferspaltosteoplastik«, siehe auch Kap. 6.1.3, S. 127. Die histomorphometrische Auswertung wurde von Maria Hauptstock durchgeführt.

^{cxxv} Gr. 1: Leerdefekt (= Kontrolle), Gr. 2: BioOss® Collagen, Gr. 3: BioOss® Collagen + hMSC, Gr. 4: BioOss® Collagen + Osteoblasten.

^{cxxvi} Die quantifizierten Größen waren die folgenden: prozentualer Knochenanteil im Defekt (*BV*), ursprüngliche Defektfläche (*DF100*), prozentual verbliebene Defektbreite (*DB*) und die ursprüngliche Defektbreite (*DB100*).

wiederholte Quantifizierung der gesamten, ursprünglichen Defektfläche an einer ausgewählten Ebene führte zu einer relativen Streuung von 4,7 % für die Histomorphometrie und 8,4 % für die MRT-Quantifizierung.

Generell konnte nachgewiesen werden, dass die Messgenauigkeit der histomorphometrischen Auswertung aller quantifizierten Größen genauer war als die der MRT-Quantifizierung. Gründe für die höhere Messgenauigkeit der Histomorphometrie sind die bessere Auflösung der mikroskopischen Aufnahmen und die exaktere Differenzierung zwischen dem neugebildeten und dem reifen Knochen. Zusätzlich erwies sich der nicht vorhandene Kontrast zwischen Hartgewebe und Knochenersatzmaterial auf MRT-Schnittbildern als nachteilig, da so eine gegenseitige Abgrenzung nur anhand der jeweiligen Morphologie möglich war.

Die Vergleichbarkeit der originalen Messdaten der Studie beider Analysemethoden führte zu dem Schluss, dass sich die Mittelwerte sämtlicher quantifizierter Parameter statistisch unterschieden. So wurde beispielsweise der Knochenanteil bei der MRT-Quantifizierung durchschnittlich um 2,4 % niedriger bestimmt als anhand der Histomorphometrie. Die MRT-Daten der anderen drei Messparameter^{cxv} wiesen systematisch höhere Werte auf als die histomorphometrischen Messergebnisse.

Auf Grundlage der Auswertung zur Messpräzision der Verfahren konnte außerdem dargelegt werden, dass die in der Studie ausgewerteten Schnittebenen ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf die experimentellen Resultate hatten.

Die anhand der Konkordanzanalyse festgestellten Abweichungen der Messdaten konnten so auf die Auswertung verschiedener Schichtebenen und auf die individuellen Unterschiede der Quantifizierung der beiden Auswerter^{cxiv} zurückgeführt werden. Die Messwertdifferenzen der MRT- und histomorphometrischen Daten waren demnach keine Folge der mangelnden Abgrenzbarkeit zwischen Hartgewebe und Knochenersatzmaterial bzw. neugebildetem und reifem Knochen auf den MRT-Schnittbildern und der ungleichen lateralen Auflösungen der Bilddaten beider Analysemethoden.

Arbeiten, die einen methodischen Vergleich zwischen bildgebenden Verfahren thematisieren und zusätzlich quantitative Ergebnisse mit analysieren sind rar. Häufig handelt es sich um Gegenüberstellungen von Bilddaten der jeweiligen Modalitäten. Nur wenige Autoren beurteilen die Übereinstimmung quantitativer Messergebnisse^{21,22}. Im Falle der MRT-Quantifizierung und Histomorphometrie wurden bisher keine vergleichbaren Studien veröffentlicht. Somit handelt es sich bei der hier vorliegenden Analyse um die erste Arbeit, die detailliert die knöcherne Einheilung von Biomaterialien parallel mit MRT und Histologie beschreibt und eine Konkordanzanalyse zur Bewertung der Vergleichbarkeit der Messergebnisse beinhaltet⁴¹¹.

7.2. Ausblick

Aus den quantitativen Ergebnissen der beiden tierexperimentellen Studien ging hervor, dass bei der Auswertung weniger zweidimensionaler Abbildungen sowohl die Ausrichtung der Schnittebene als auch die Position der Schicht, ergo ob sich diese beispielsweise eher im Zentrum oder am Rande eines Defektes befanden, einen signifikanten Einfluss auf das Analyseergebnis ausübten. Beide Effekte waren für das untersuchte rotationssymmetrische Zahnimplantat aus PEEK/Ti plausibel und erhöhten die Streuung der Messergebnisse

Nach Meinung von *Appel et al.*¹⁰ und *Wehrli et al.*¹⁷ ist es generell fraglich, ob anhand von wenigen zweidimensionalen Abbildungen auf die Situation im gesamten Volumen geschlossen werden kann. *Bernhardt et al.* kamen bei der Analyse der Osseointegration von Zahnimplantaten zwar zu dem Schluss, dass die Untersuchung von drei bis vier Dünnschliffen die ossäre Situation des gesamten Volumens treffend widerspiegelte²¹. Es wurde jedoch ein Fall betrachtet, der, den veröffentlichten CT-Aufnahmen und mikroskopischen Schliffpräparaten zufolge, eine recht homogene und abgeschlossene Osseointegration der Implantate zeigte. Gerade in der frühen Einheilphase ist aber häufig eine inhomogene Verteilung der Gewebe zu beobachten. Diese Erkenntnisse führen demnach wieder zu der Fragestellung zurück, ob ein dreidimensionales Volumen tatsächlich ausreichend genau durch wenige zweidimensionale Abbildungen dargestellt wird.

Die exakte Beschreibung des gesamten Volumens kann nur anhand dreidimensionaler Abbildungen bzw. einer größeren Anzahl an Schnittebenen erfolgen. Aus diesem Grund ist die Entwicklung und Etablierung nicht-invasiver bildgebender Methoden essentiell. Dazu gehören Untersuchungen zur Eignung von Materialien für bildgebende Verfahren (Beurteilung möglicher Wechselwirkungen), der Darstellbarkeit von Strukturen und Materialien und methodische Vergleiche, wie beispielsweise in der vorliegenden Arbeit im Kapitel 6.4 (S. 137ff) gezeigt. Diese Untersuchungen sind außerdem für die klinische Diagnostik bedeutsam, um die sichere Nutzung der bildgebenden Methoden wie MRT oder CT im Falle neuartiger Implantate zu ermöglichen.

Letztlich hat jede Methode Vor- und Nachteile. Es wäre wünschenswert zu evaluieren, welche bildgebenden Verfahren sich für welche Problemstellungen eignen und ob eine Kombination verschiedener Modalitäten die Nachteile der Einzelmethoden kompensieren und zu einer exakteren Beschreibung der Implantat-Wechselwirkungen führen würde. Es ist ebenso denkbar, dass die histologische Auswertung für bestimmte Fragestellungen die geeignetste bzw. eine ausreichend genaue Untersuchung ist. Schließlich muss gleichfalls in Betracht gezogen werden, dass die nicht-invasiven Techniken - und insbesondere die Magnetresonanztomographie - sehr kostenintensive analytische Verfahren sind¹³.

Ein weiterer Aspekt, der für die *in vivo*-Bildgebung mit der MRT bedacht werden muss, ist die aufzuwendende Messzeit. Die Aufnahmezeit der mit der (Basis)-Spin-Echo-Sequenz gewonnenen Schnittbilder war sehr lang. Messdauern von mehreren Stunden pro Datensatz (z.B. 11 h, 22 min für T₂-gewichtete Bilder beim Kieferspaltmodell, siehe Kap. 6.2.5.1, S. 116) sind für die *in vivo*-Bildgebung am Kleintier völlig ungeeignet. Generell haben zahlreiche Parameter auf die Messdauer einen Einfluss (siehe dazu die Fußnote^{cxii} auf S. 117), vor allem die Größe der Datenmatrix (und damit die laterale Auflösung der Schnittbilder), die Anzahl der wiederholten Datenakquisitionen (die vom gewünschten Signal-Rausch-Verhältnis abhängt), vom verwendeten Kontrast und von der Auswahl der MRT-Sequenz. In der klinischen als auch in der präklinischen Magnetresonanztomographie werden stets schnellere Methoden verwendet¹⁹⁹. Die Datenakquisition selbst innerhalb weniger Sekunden ist prinzipiell möglich und wird insbesondere bei der dynamischen Bildgebung am Herzen angewendet. Solche sog. ultra-kurzen Scanzeiten werden beispielsweise erreicht, wenn die akquirierte Datenmenge begrenzt wird⁴⁰⁵. Schnelle Bildgebungssequenzen können allerdings anfälliger für Suszeptibilitätsunterschiede oder Hochfrequenz-induzierte Bildartefakte sein^{273,282} und weisen zudem ein schlechteres Signal-Rausch-Verhältnis auf⁴⁰⁵. Der zukünftigen Nutzung der MRT zur Untersuchung der Implantat-Gewebe-Wechselwirkungen am Versuchstier muss deshalb stets eine Evaluations geeigneter Messbedingungen für die jeweilige Fragestellung vorausgehen.

In der vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, dass die Magnetresonanztomographie für die Beurteilung der Einheilung von Biomaterialien in Hartgewebe eine geeignete Methode war. Aufgrund des inhärenten Kontrastes zwischen Weichgewebe und Knochen konnten auch standardmäßig verfügbare Methoden für die Analyse verwendet werden. Zur Beurteilung der Implantateinheilung und neugebildeter knöcherner Strukturen haben die speziellen, zur Detektion von Hartgewebe entwickelten MRT-Sequenzen ein großes Potential. Dabei handelt es sich um Methoden, die es ermöglichen, das extrem schnell zerfallende MR-Signal von Knochen (aber auch von Dentin) zu detektieren (vgl. Kap. 2.4.3.6, S. 49 und *Wehrli et al.*²³⁴). Sehr eindrucksvolle MR-Schnittbilder von Zähnen veröffentlichten zum Beispiel *Idiyatullin et al.*^{237, cxxvii}. Die Abbildungen wiesen einen hohen Weichgewebekontast auf, detektieren aber auch das Dentin. Selbst aus Zahnschmelz, der hauptsächlich aus Hydroxylapatit besteht³², konnte noch ein schwaches Signal aufgenommen werden.

Aufgrund der vielseitigen Kontrastmöglichkeiten der Magnetresonanztomographie, sei es bei Verwendung von Standard-Sequenzen, aber auch durch die Nutzung spezieller, für Hartgewebe geeigneter Methoden, sind eine Vielzahl wissenschaftlicher Fragestellungen für die Anwendung der (präklinischen) MR-Bildgebung denkbar. Eine Zusammenfassung über potentielle Einsatzmöglichkeiten der MRT soll abschließend die Abb. 64 geben.

^{cxvii} Die Autoren nutzten die *SWIFT*-Sequenz (*SWIFT* = *SWEEP Imaging with Fourier Transform*).

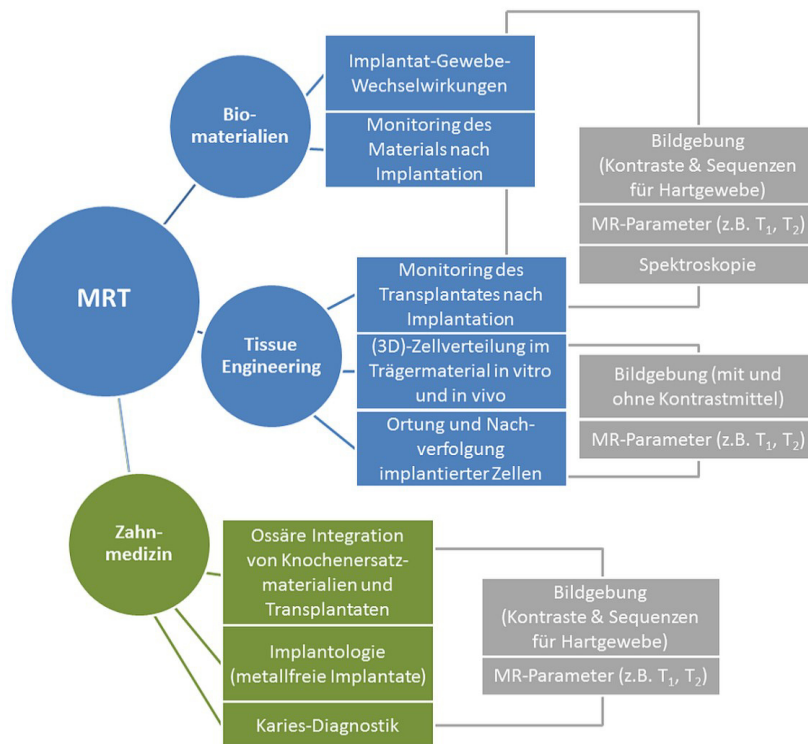


Abb. 64 Überblick über die vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten nicht-invasiver Bildgebung mit MRT.

Aufgrund des starken Bezuges der Arbeit zur Zahnmedizin wurde Anwendungsgebiete dieses Forschungsfeldes besonders hervorgehoben. Die Grundlagenforschung zur Entwicklung neuer Biomaterialien (z.B. Oberflächenbeschichtung von Zahnimplantaten³²¹, metallfreier Zahnersatz⁸⁵, tissue-engineerter Knochenersatz³⁶⁸) spielt in der Zahnmedizin eine herausragende Rolle. Hoher Forschungsbedarf besteht außerdem bei der Verwendung der MRT im Bereich der Implantologie (neben der Analyse der Osseointegration der Implantate auch zur implantologischen Behandlungsplanung²⁴⁹) und zur Kariesdiagnostik³⁴³.

7.3. Schlussfolgerung

Die vorliegende Dissertationsarbeit konnte zeigen, dass die Verwendung der Magnetresonanztomographie für die Untersuchung der knöchernen Einheilung von Biomaterialien geeignet ist. Aufgrund des inhärenten Kontrastes des Weichgewebes zu knöchernen Strukturen und den implantierten Materialien wurden nicht-invasiv hochaufgelöste Schnittbilder erzeugt. Die Möglichkeit zur Quantifizierung von zur Histomorphometrie analogen Kenngrößen, wie beispielsweise das Knochenvolumen im Defekt, wurde ebenfalls demonstriert. Zusätzlich ermöglichte die flexible Einstellung des Bildkontrastes durch die Variation der Experimentalparameter eine Differenzierung innerhalb des Weichgewebes. So konnte die peri-implantäre Regeneration des Hartgewebes anhand des identifizierten und quantifizierten Knochenmarks beschrieben werden.

Für die Erforschung und Etablierung nicht-invasiver bildgebender Verfahren sind methodische Vergleiche essentiell. Die Beurteilung der Vergleichbarkeit quantitativer Messergebnisse auf Grundlage von Bland-Altman-Diagrammen und des Einbezugs des 95 %-Konfidenzintervalls ermöglichte die anschauliche und nachvollziehbare Detektion systematischer Messwertunterschiede.

Durch die Untersuchung eines Zahnimplantates aus Polyetheretherketon/Titan mit der MRT (wobei dessen Eignung für die bildgebende Diagnostik ebenfalls demonstriert wurde) besitzt die Arbeit nicht nur Neuheitswert in der Biomaterialforschung, sondern schlägt gleichzeitig eine Brücke zur klinischen, dentalen Implantologie.

8 ANHANG

8.1. ZUM AUFBAU EINES NMR-SPEKTROMETERS UND EINES MAGNETRESONANZTOMOGRAPHEN.....	157
8.2. VORVERSUCHE FÜR DIE MRT-BILDGEBUNG.....	159
8.2.1. Lagerung der Gewebeproben für MRT-Experimente	159
8.2.2. Validierung der korrekten Klassifizierung des Weichgewebes.....	161
8.2.2.1. <i>Experimentalparameter</i>	161
8.2.2.2. <i>Ergebnisse der Untersuchungen am Weichgewebsphantom</i>	161
8.3. Box-Plots.....	163
8.4. ANHANG ZUM KAPITEL 5.....	164
8.4.1. Quantitative MRT	164
8.4.2. Histomorphometrie	165
8.4.3. Zusammenfassung der Ergebnisse aus qMRT und Histomorphometrie	166
8.4.4. Ergebnisse der statistischen Auswertung	167
8.5. ANHANG ZUM KAPITEL 6.....	172
8.5.1. Histologische Schnittpräparate, die nicht für die Quantifizierung berücksichtigt wurden	172
8.5.2. Quantifizierung der knöchernen Einheilung der Knochenersatzmaterialien	173
8.5.2.1. <i>Deskriptive Statistik - Quantitative MRT</i>	173
8.5.2.2. <i>Deskriptive Statistik - Histomorphometrie</i>	177
8.5.2.3. <i>Ergebnisse der einfaktoriellen Varianzanalysen</i>	185
8.5.2.4. <i>Bland-Altman-Statistiken für die Originaldaten</i>	192
8.5.3. Mehrfachmessungen zur Bestimmung der Präzision der Analysemethoden	202
8.5.3.1. <i>Deskriptive Statistik – MRT, Histomorphometrie und der Messwertdifferenzen</i>	202
8.5.3.2. <i>Ergebnisse der gepaarten t-Tests zum Vergleich der Messreihen aus quantitativer MRT und Histomorphometrie</i>	203
8.5.3.3. <i>Bland-Altman-Statistiken der Kennwerte aus den Mehrfachmessungen</i>	203

8.1. Zum Aufbau eines NMR-Spektrometers und eines Magnetresonanztomographen

NMR-Spektrometer werden standardmäßig zur Strukturaufklärung sowohl organischer als auch anorganischer Substanzen verwendet. Die Signalerzeugung und –detektion aus einer Probe findet im gesamten angeregten Probenvolumen statt (siehe Signalerzeugung, freier Induktionszerfall und Spektrum, S. 35f). Die NMR-Bildgebung ist eine zusätzliche, aber keine standardmäßige NMR-Methode und erfordert den Einbau eines Gradientensystems zur Erzeugung ortsabhängiger Resonanzsignale (vgl. S. 35ff).

Der Aufbau eines NMR-Spektrometers und eines Magnetresonanztomographen ähneln sich stark. Beide Systeme bestehen prinzipiell aus dem Magnet-System, einer Spule zum Senden und Empfangen des Hochfrequenzfeldes, einer Hardware- und eine Bediener-Konsole. Zur Bildgebung wird außerdem ein Gradientensystem benötigt. Die grundlegenden Komponenten sind in Tab. 30 zusammengefasst.

Tab. 30 Hauptkomponenten von NMR-Spektrometern bzw. Magnetresonanztomographen; aus^{199,225,226}.

Komponente	Beschreibung
Magnet-System	<ul style="list-style-type: none"> - zur Erzeugung des statischen Magnetfeldes B_0 - Stärke des Magneten determiniert Protonen-Frequenz^{cxxviii} - meist supraleitende Magnete^{cxxix} - Kühlung des Magnetkernes durch Kryogene (He mit $T < 4K$) - Magnetbohrung (»Bore«) bzw. der Tunnel des MRT-Gerätes mit Raumtemperatur
mit Shim-System und Vorverstärkern	<ul style="list-style-type: none"> - zur Maximierung der Homogenität des B_0-Feldes durch Shim-Spulen - zur Verstärkung des schwachen, von der Probe ausgestrahlten Signals
HF-System	<ul style="list-style-type: none"> - Generierung des Hochfrequenzfeldes zur Signalanregung und Detektion der durch die Probe erzeugten, schwachen Wechselspannung - verschiedene Spulengeometrien möglich (z.B. Birdcage-, Selenoid-, Sattel- oder Oberflächenspulen)^{cxxx}
Gradientenspulen mit Verstärkern	<ul style="list-style-type: none"> - zur Erzeugung orts aufgelöster (N)MR-Signale - Spulengeometrien: <ul style="list-style-type: none"> ▷ X- und Y-Spule: Golay-Spule ▷ Z-Spule: Maxwell-Spule
Konsole	<ul style="list-style-type: none"> - enthält die Hardware <ul style="list-style-type: none"> ▷ AQS (= Acquisition Control System), generiert die HF-Pulse ▷ CCU (=Communications Control Unit), Kommunikation mit Host-Computer ▷ Verstärker (in Bildgebung selektive Verstärker für Protonenfrequenz)
Bediener-Konsole	<ul style="list-style-type: none"> - enthält Host-Computer, Monitor, Tastatur und ein System zu Steuerung der Shim-Spulen

Die Abb. 65 stellt beide Systeme vergleichend gegenüber. Wie ersichtlich ist, unterscheiden sich die Geometrien von NMR-Spektrometern und Magnetresonanztomographen hinsichtlich ihrer Ausrichtung der Magnetspulen (NMR: vertikal, MRT: horizontal), deren Spulendurchmesser (der innere, abgeschirmte Durchmesser wird bei NMR-Spektrometern als »Bore« und bei MRT-Geräten als Tunnel (oder auch Gantry) bezeichnet) und der verwendeten HF-Resonatoren. Generell sind NMR-Spektrometer in höheren Feldstärken B_0 verfügbar als klinische MRT-Geräte oder die speziellen Kleintierscanner, wobei gilt, dass das Signal-Rausch-Verhältnis umso höher wird, je höher B_0 ist (Hintergrund ist der Besetzungsunterschied aufgrund der Boltzmann-Verteilung, siehe Formel (2-7), S. 30). Zusätzlich determinieren die Innendurchmesser der Magnetspule und des HF-Resonators die Größe der zu untersuchenden Probe (oder des Tieres bzw. Patienten). Aus diesem Grund eignen sich NMR-Spektrometer vorzugsweise für die Bildgebung *ex vivo*^{cxxxi}.

Für die präklinische Bildgebung an Kleintieren werden spezielle Kleintiersysteme oder auch konventionelle Magnetresonanztomographen verwendet²²⁹. Kleintier-MRT-Geräte haben gegenüber klinischen

^{cxxviii} $1 T \cong 42,6 MHz$. Klinische Systeme arbeiten häufig bei Feldstärken von $1,5 T (\cong 63,9 MHz)$ oder bei $3 T (\cong 127,7 MHz)$. Für NMR-Spektrometer sind zahlreiche Feldstärken verfügbar. Für die vorliegende Arbeit wurde ein 300-MHz-NMR-Spektrometer verwendet (mit einem statischen Magnetfeld von $B_0 = 7,05 T$). Bruker bietet NMR-Spektrometer bis zu 1000 MHz an (das entspricht einer Feldstärke von $23,5 T$)²²⁷.

^{cxxix} Für niedrige Feldstärken werden auch Permanentmagnete oder Eisenkernspulen genutzt. Üblich sind aber die supraleitenden Systeme¹⁹⁹.

^{cxxx} In der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Birdcage-Spulen verwendet.

^{cxxxi} Die maximalen Probendurchmesser der in der Arbeit verwendeten *ex vivo*-Gewebeproben betragen 20 mm.

Systemen den Vorteil, dass sie meist bei höheren Feldstärken B_0 arbeiten und aufgrund des geringeren Spulendurchmessers eine bessere Bildauflösung erreichen. Während die laterale Auflösung klinischer MRT-Geräte etwa 200 bis 500 μm beträgt^{229,230}, können mit Kleintierscannern detaillierte Schnittbilder mit einer Auflösung von weniger als 30 μm erzeugt werden^{231,232}.

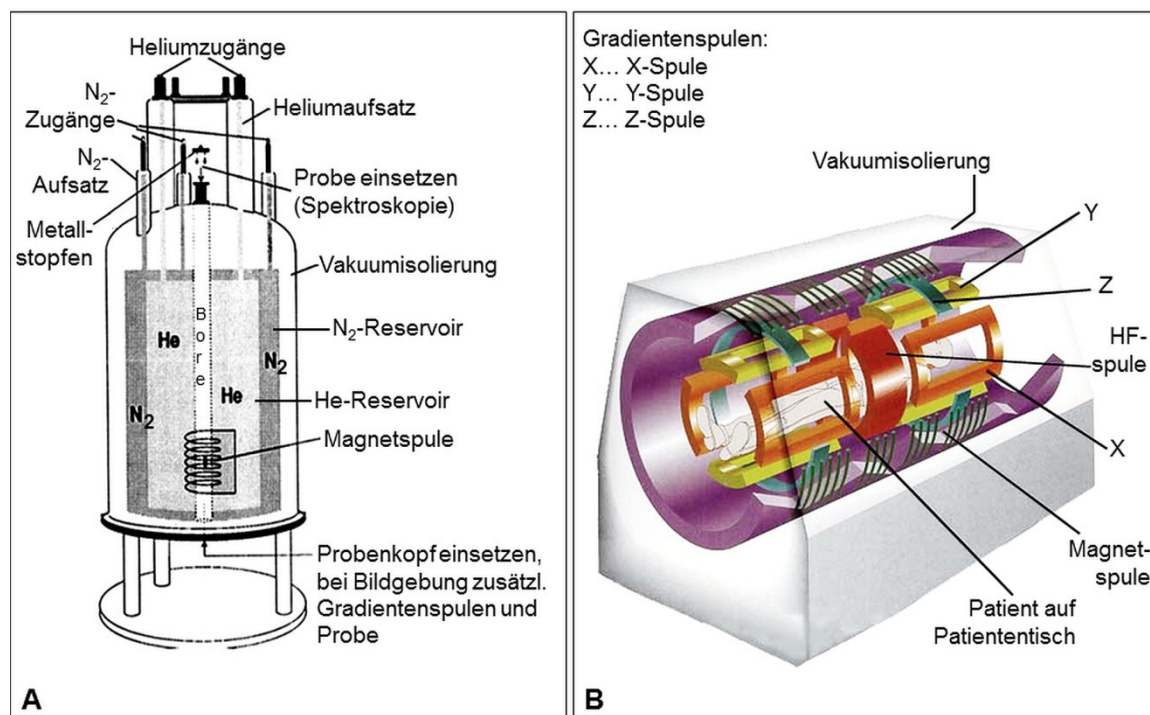


Abb. 65 Prinzipieller Aufbau eines (A) NMR-Spektrometers und (B) eines Magnetresonanztomographen. Die meisten Magnete sind supraleitend und werden im Heliumbad gekühlt. Der N₂-Tank dient zur Abschirmung des He-Tanks im Inneren und dient zur Minimierung der Verdampfung des Heliums (im Falle des MRT-Scanners nicht mit dargestellt), Abbildungen aus^{225,228}, modifiziert.

8.2. Vorversuche für die MRT-Bildgebung

8.2.1. Lagerung der Gewebeproben für MRT-Experimente

Im Idealfall würden die (*ex vivo*) Gewebeproben direkt nach der Entnahme gemessen. Das war allerdings nicht möglich, da zum einen ein Transport vom UKD ins IPF erfolgen und zum anderen gegebenenfalls eine Wartezeit bis zur Verfügbarkeit des NMR-Spektrometers überbrückt werden musste. Aus diesen Gründen war eine zeitlich begrenzte Lagerung unumgänglich. Folgende Lagermöglichkeiten wurden in Betracht gezogen: Fixierung der Proben in 4 %iger Formalin-Lösung, Konservierung in Ethanol, Tiefkühl-Lagerung und Lagerung in PBS, welches zusätzlich Antibiotika enthält. Das Ziel der Lagerung war es nicht nur, Degradationsprozesse der Gewebeproben entgegenzuwirken, sondern auch möglichst die Originalstruktur der Gewebe zu erhalten.

Die Konservierung von biologischem Gewebe in Formalin-Lösung^{cxxxii} ist in der histologischen Probenpräparation gebräuchlich. Formaldehyd reagiert kovalent mit Aminogruppen von Proteinen (insbes. Lys, Arg, Trp und His) und Nucleinsäuren. Aus Formaldehyd und dem Amin bildet sich ein Iminium-Ion. Dieses ist sehr reaktiv und instabil und wird daher bevorzugt von nucleophilen Reagenzien angegriffen. Das Resultat der zweiten Reaktion ist die Quervernetzung von Proteinen bzw. von Proteinen und Nucleinsäuren über eine Methylenbrücke⁴⁰⁶. Praktisch führt das Formaldehyd so zu einer Verfestigung und Schrumpfung des Gewebes¹⁹⁵, die zudem eine Veränderung des Bildkontrastes bei der Magnetresonanztomographie

^{cxxxii} Formalin-Lösung: üblicherweise neutral gepufferte Lösung, die 4 % Formaldehyd enthält.

bewirken. Ebenfalls einen signifikanten Einfluss auf die Gewebestruktur hat die Lagerung biologischer Proben in ethanolischen Medien, da sie die Gewebe stark entwässern. Dieses kann wiederum zu einer Schrumpfung der Strukturen führen¹⁹⁵ und bewirkt außerdem eine Verkürzung der T_1 -Relaxationszeit⁴⁰⁷. Aus den genannten Gründen wurde die Konservierung der Gewebeproben nicht in Formalin^{cxxxiii} oder Ethanol vorgenommen.

Die Tiefkühl-Lagerung stellte sich ebenfalls als nicht geeignet heraus, da es infolge des Gefrierprozesses zu Gewebeschäden kommen kann. Vorversuche an Ratten-Femura zeigten deutliche Veränderungen des Knochenmarks nach der Tiefkühl-Lagerung (Abb. 66A). So waren nach dem Gefrierprozess »Blasen« im Knochenmark der Femura erkennbar. Die Schädigung von Gewebe durch die Tiefkühl-Lagerung ist aus der Lebensmittelindustrie bekannt. So kommt es insbesondere bei niedrigen Gefriereschwindigkeiten in den Interzellularräumen zur Ausbildung großer Eiskristalle. Diese führen einerseits zur Zerstörung der Zellmembranen und andererseits zu einer Erhöhung der Osmolarität des noch nicht gefrorenen Wassers. Das Konzentrationsgefälle bewirkt wiederum einen erhöhten Austritt von Wasser aus den Zellen. Intrazellulär kann das zur Denaturierung von Proteinen führen, die nach dem Auftauen eine veränderte Wasserbindungskapazität aufweisen⁴⁰⁸. Die Gewebeveränderung infolge von Trocknungsprozessen (Gefriertrocknung) ist aufgrund des Vorliegens »normaler« Druckverhältnisse unwahrscheinlich^{cxxxiv}.

Die Lagerung der Gewebeproben erfolgte schlussendlich in PBS, der zusätzlich noch Antibiotika zugegeben wurden. Diese Art der Gewebekonservierung ermöglichte die Lagerung über etwa zwei Wochen bei Erhalt der Gewebestruktur. Die Abb. 66B zeigt einen Längsschnitt durch einen Ratten-Femur nach einer Lagerdauer von 15 Tagen im Antibiotika-Mix mit der Zusammensetzung: Phosphatpuffer PBS, 1 % Penicillin-Streptomycin-Gemisch, $50 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Gentamycin und $40 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ Amphotericin B. Die Lagerung erfolgte bei 8°C im Kühlschrank.

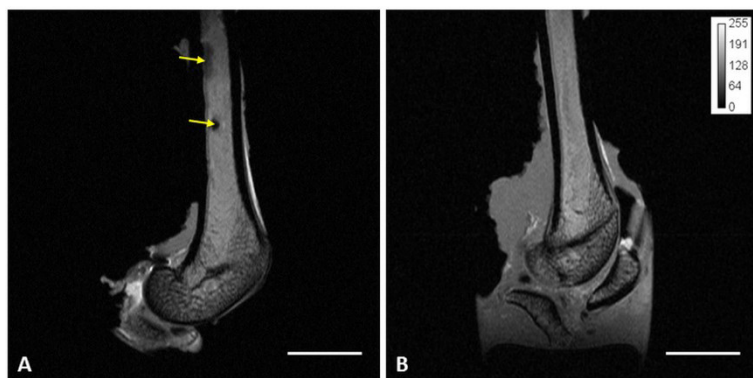


Abb. 66 MRT-Aufnahmen^{cxxxv} zweier Ratten-Femura^{cxxxvi}. (A) Nach Tiefkühl-Lagerung zeigten sich »Blasen« im Knochenmark (durch die gelben Pfeile markiert). (B) Lagerung des Knochens in Antibiotika-enthaltender PBS-Lösung. Maßstabsbalken: 5 mm

^{cxxxiii} Außerdem wirkt Formalin kanzerogen (Kat. 1B, EG 1272/2008).

^{cxxxiv} Die Gefriertrocknung beruht auf dem physikalischen Prozess der Sublimation: Bei der Gefriertrocknung sublimieren die Eiskristalle ohne zwischenzeitliches Auftreten einer flüssigen Phase direkt in den gasförmigen Zustand. Dazu wird das zu trocknende Produkt erst bei Normaldruck tiefgefroren. Anschließend erfolgt der Übergang der Eiskristalle in den gasförmigen Zustand. Bedingung ist ein ausreichend hoher Dampfdruck, der nur bei niedrigem Umgebungsdruck erreicht wird. Praktisch wird das zu tiefgefrorene, zu trocknende Produkt in eine Vakuumkammer überführt⁴⁰⁹.

^{cxxxv} Experimentalparameter: Messung mit Topspin 2.1, $T_R/T_E = 1000/4$ ms, Auflösung: $0,078 \times 0,156$ mm, Schichtdicke: 0,35 mm, SWH: 250.000 Hz

^{cxxxvi} Hier abgebildet: zwei Ratten-Femura.

8.2.2. Validierung der korrekten Klassifizierung des Weichgewebes

8.2.2.1. EXPERIMENTALPARAMETER

Während die Messparameter für longitudinale Schnittbilder mit Topspin 2.1 zu Protonendichte-Abbildungen führten, wurden mit ähnlichen Parametern (für TR, TE) bei der Verwendung von Paravision 5.0 T₁-gewichtete Abbildungen erzeugt. Ursache sind sich überlappende Schichtprofile durch die Verwendung einer hermiteschen Pulsform bei Paravision 5.0, die aufgrund von Sättigungseffekten zu einem T₁-Kontrast führen⁴¹⁰.

Die Nutzung der verschiedenen Kontraste erlaubt die Zuordnung verschiedener Gewebearten anhand der Signalintensitäten. Die Klassifizierung der Weichgewebe wurde anhand eines »Gewebe-Phantomes« validiert. Dazu wurde eine handelsübliche Rinderbeinscheibe erworben. Aus dieser ließen sich die Gewebearten Muskel, Knochenmark und Fettgewebe leicht extrahieren und in ein 5-mm-NMR-Röhrchen überführen. Ein viertes NMR-Röhrchen wurde mit isotonischer Kochsalzlösung gefüllt.

Alle vier NMR-Röhrchen wurden gleichzeitig gemessen und der Kontrast der MRT-Schnittbilder wie folgt variiert:

Tab. 31 Messparameter für die MRT-Experimente am Gewebephantom

Exp.	T _R /T _E [ms]	Matrix	Kontrast	Sequenz	Software
1	7000/8	512 x 256	T ₁	MSME	Paravision 5.0
2	500/2	512 x 256	T ₁	imsesshs	Topspin 2.1
3	1000/2	512 x 256	T ₁	imsesshs	Topspin 2.1
4	5000/2	256 x 64	PD	imsesshs	Topspin 2.1
5	5000/80	256 x 64	T ₂	imsesshs	Topspin 2.1

Die Abb. 67 zeigt sowohl das Weichgewebsphantom als auch die geometrische Anordnung für die MRT bei der Auswahl axialer Schnittbilder.

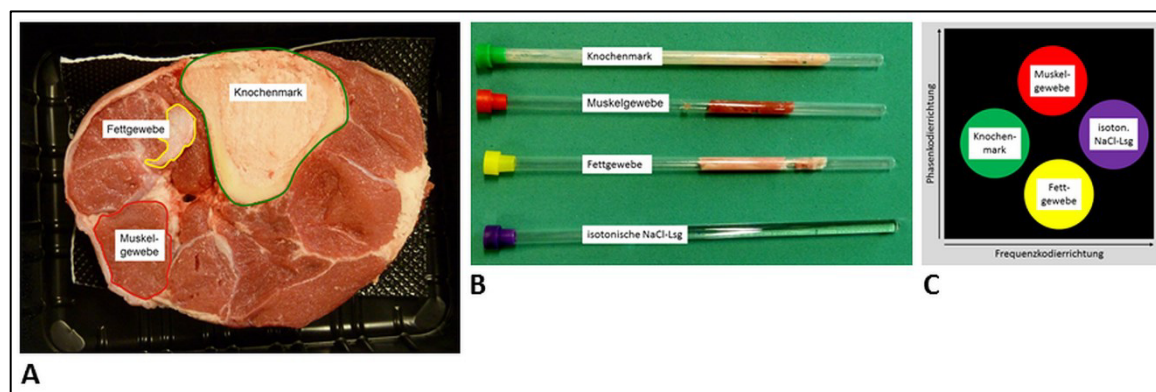


Abb. 67 Gewebe-Phantom, um die Klassifizierung der Weichgewebe anhand des Bildkontrastes zu validieren. (A) Handelsübliche Rinderbeinscheibe, die verschiedenen Weichgewebe lassen sich leicht extrahieren. (B) Überführung einer Gewebeprobe in 5-mm-NMR-Röhrchen. (C) Schema der Anordnung der vier NMR-Röhrchen im MRT-Schnittbild.

8.2.2.2. ERGEBNISSE DER UNTERSUCHUNGEN AM WEICHGEWEBSPHANTOM

Die vier Probenröhrchen des Weichgewebsphantomes wurden gemeinsam vermessen und axiale Schnittbilder erzeugt. Anhand der Wiederholzeit T_R und Echozeit T_E wurde der Kontrast der Abbildungen variiert und die Veränderungen der Signalintensitäten der jeweiligen Gewebe beobachtet.

Wie aus der Literatur bekannt, zeigt das Fettgewebe eine hohe Signalintensität bei der Auswahl eines T₁-Kontrastes (Abb. 68B & C). Das Fettgewebe erschien auf den Schnittbildern nicht als homogene Fläche,

sondern war von Bereichen mit geringerer Signalintensität »durchzogen«. Ursächlich hierfür ist der Bindegewebsanteil im Fettgewebe, der im T_1 -gewichteten Bild als dunklerer Grauwert sichtbar ist. Das Knochenmark des Weichgewebsphantoms verhält sich analog zum Fettgewebe. Das war zu erwarten, da insbesondere gelbes Knochenmark^{cxxxvii} überwiegend aus Fettzellen besteht.

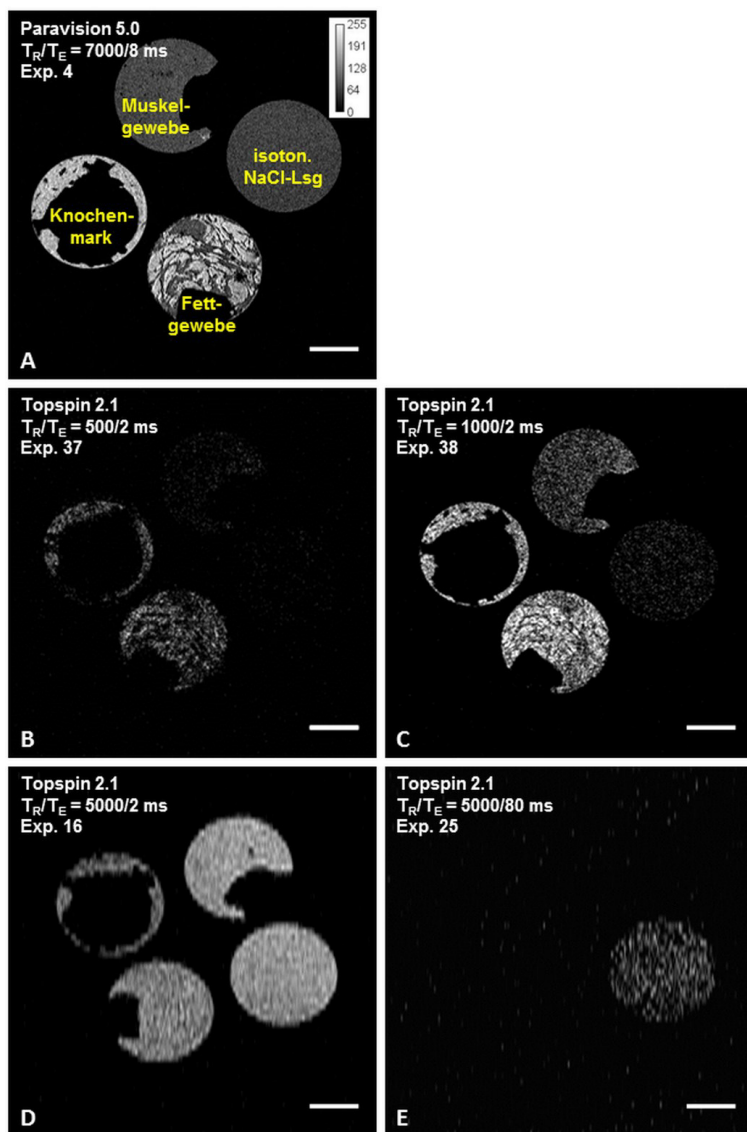


Abb. 68 Axiale Schnittbilder des Weichgewebsphantoms. (A) Deutlicher T_1 -Kontrast trotz langer Wiederholzeit T_R , Fettgewebe und Knochenmark erscheinen hypointens (da kurze T_1 -Zeit, vgl. Tab. 6, S. 49), Muskelgewebe und die NaCl-Lsg zeigen schwache Signalintensität. (B) Bei extrem kurzer Wiederholzeit von 500 ms werden nur Gewebe mit kurzem T_1 detektiert. (C) Noch immer deutlicher T_1 -Kontrast, Muskelgewebe zeigt schwache Signalintensität, die NaCl-Lsg gibt noch kein Signal. (D) Protonendichteabbildung (PD), da lange Wiederholzeit T_R und kurze Echozeit T_E verwendet wurde. Helligkeitsunterschiede ergeben sich allein aus der Anzahl detektierbarer Protonen-Spins. (E) T_2 -Kontrast bei langer Wiederholzeit T_R und langer Echozeit T_E . Nur die freien Protonen des Wassers in der isotonischen Kochsalzlösung geben bei so langen T_E noch ein Signal. Maßstabsbalken: 2,0 mm.

Der Kontrast bei Protonendichte (PD)-Abbildungen hängt allein von der Anzahl detektierbarer Protonen-Spins ab. Bei der Auswahl einer langen Wiederholzeit T_R und einer kurzen Echozeit T_E zeigten sich für alle Gewebe ähnliche Signalintensitäten (Abb. 68D). Aus der PD-Abbildung wird deutlich, dass das Muskelgewebe einen hohen Wasseranteil aufweist. Dieses Wasser ist allerdings an Collagen gebunden und weist ein kürzeres T_2 auf (vgl. Tab. 6, S. 49). Im T_2 -gewichteten Bild ergeben die freien Protonen, da sie eine hohe Mobilität aufweisen, noch bei langen Echozeiten T_E ein Signal. Das Signal der gebundenen Protonen ist bei langen Echozeiten nicht mehr detektierbar (Abb. 68E).

Für die Messung der Gewebeproben der Mess-Serien wurden die Bedingungen aus 3.11.1 (S. 93, Paravision 5.0) bzw. Tab. 31 (Exp. 1) verwendet. Trotz der Wahl einer sehr langen Wiederholzeit T_R zeigten die

^{cxxxvii} Beim Knochenmark wird zwischen rotem und gelbem Knochenmark unterschieden. Die Anteile an Knochenmark bei Wirbeltieren verändern sich im Laufe des Lebens. So nimmt der Anteil des roten Knochenmarks mit zunehmendem Alter ab, während der Anteil des gelben Knochenmarks zunimmt. Rotes Knochenmark besteht zu 40 % aus Wasser, 40 % aus Fett und zu 20 % aus Proteinen. Gelbes Knochenmark besteht zu 15 % aus Wasser, 80 % aus Fett und zu 5 % aus Proteinen³²⁵.

MRT-Schnittbilder einen deutlichen T_1 -Kontrast. Ursächlich für diesen ist die standardisierte Einstellung der Nutzung hermitescher Pulse²⁰⁴ der »MSME«-Sequenz in Paravision 5.0. Hier kommt es bei Mess-Serien ohne Zwischenschichtabstand zu einer teilweisen Überlagerung der angeregten Schichten und infolge einer Signalabsättigung zum T_1 -Kontrast⁴¹⁰. Die Verwendung der »imsems«-Sequenz von Topspin 2.1 zeigte diesen Effekt nicht. Die Verwendung eines rechteckigen 90° -Pulses und eines sinc-förmigen 180° -Pulses führte offenbar zu einer exakteren Schichtauswahl.

8.3. Box-Plots

Die Präsentation der Ergebnisse der quantitativen MRT und Histomorphometrie erfolgte teilweise in sog. Box-Plots (auch Kastengraphik). Diese Form des Diagrammes dient zur graphischen Darstellung der Verteilung der Daten und vermittelt so schnell den Eindruck, in welchem Bereich die Daten liegen (Abb. 69). Box-Plots bestehen stets aus der »Box« und den zwei »Whiskers«.

Die Box entspricht dem Bereich, in dem sich die mittleren 50 % der Daten befinden und ist unten durch das 25%-Perzentil und oben durch das 75%-Perzentil begrenzt. Der Median, also das 50%-Perzentil, wird als durchgehender Strich in der Box markiert. Die Lage des Median gibt so schnell einen Eindruck über die Schiefe der Daten.

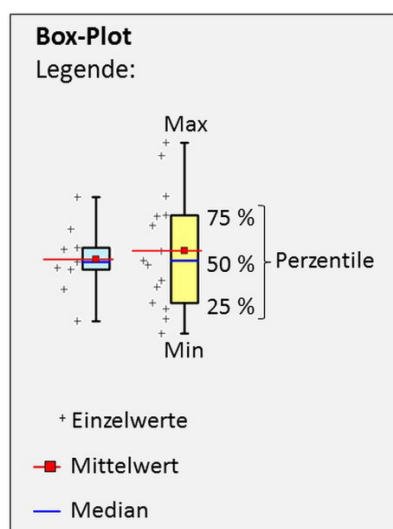


Abb. 69 Box-Plots wie in der vorliegenden Arbeit verwendet (blau: MRT-Werte, gelb: Histo-Werte). Die Whisker zeigen die beiden Extrema an. Links neben den Box-Plots wurden die Einzelwerte (+) als Punktwolke mit angegeben.

Die sich außerhalb der Box befindlichen Werte werden durch die »Whiskers« dargestellt. Im Gegensatz zur Definition der Box ist die Definition der Box nicht einheitlich geregelt. In der vorliegenden Arbeit werden die Whiskers durch die beiden Extrema begrenzt und stellen somit die gesamte Spannweite (Range) der Daten dar. Die Darstellung der Mittelwerte und der Mittelwertslinie erlaubt einen schnellen Vergleich der Ergebnisse aus beiden Analysemethoden. Zusätzlich wurde die Darstellung um die Angabe der Einzelwerte ergänzt. Diese wurden links neben dem Box-Plot als Punktwolke abgebildet und ermöglichen den direkten Vergleich der Verteilung der Messwerte.

8.4. Anhang zum Kapitel 5

8.4.1. Quantitative MRT

Tab. 32 Deskriptive Statistik für quantifizierte Kennzahlen aus MRT-Schnittbildern.

Methode	ROI	Zeit [Wo]	Merkmal	N _{ges}	MW [%]	Stabw [%]	SEM [%]	VarK	Min [%]	Med [%]	Max [%]	Range [%]
MRT	1	2	BV	8	11,67	15,19	5,37	1,30	0,64	4,57	46,89	46,25
MRT	1	4	BV	9	19,73	6,86	2,29	0,35	7,68	19,20	31,85	24,17
MRT	1	8	BV	9	28,30	20,27	6,76	0,72	2,05	36,93	52,74	50,69
MRT	2	2	BV	8	7,71	9,04	3,20	1,17	0,00	5,18	27,22	27,22
MRT	2	4	BV	9	25,99	3,53	1,18	0,14	21,44	25,22	32,64	11,20
MRT	2	8	BV	9	25,03	11,96	3,99	0,48	8,29	23,54	46,51	38,23
MRT	3	2	BV	8	3,47	5,64	1,99	1,63	0,00	0,28	13,85	13,85
MRT	3	4	BV	9	8,45	3,93	1,31	0,46	2,25	8,65	13,70	11,45
MRT	3	8	BV	9	25,07	16,58	5,53	0,66	3,99	25,15	47,57	43,58
MRT	4	2	BV	8	10,88	12,56	4,44	1,15	0,00	8,37	38,81	38,81
MRT	4	4	BV	9	24,93	13,65	4,55	0,55	4,27	27,25	43,82	39,56
MRT	4	8	BV	9	26,03	14,51	4,84	0,56	7,93	28,84	47,64	39,71
MRT	1	2	SV	8	88,33	15,19	5,37	0,17	53,11	95,43	99,36	46,25
MRT	1	4	SV	9	80,27	6,86	2,29	0,09	68,15	80,80	92,32	24,17
MRT	1	8	SV	9	71,70	20,27	6,76	0,28	47,26	63,07	97,95	50,69
MRT	2	2	SV	8	92,29	9,04	3,20	0,10	72,78	94,82	100,00	27,22
MRT	2	4	SV	9	74,01	3,53	1,18	0,05	67,36	74,78	78,56	11,20
MRT	2	8	SV	9	74,97	11,96	3,99	0,16	53,49	76,46	91,71	38,23
MRT	3	2	SV	8	96,53	5,64	1,99	0,06	86,15	99,72	100,00	13,85
MRT	3	4	SV	9	91,55	3,93	1,31	0,04	86,30	91,35	97,75	11,45
MRT	3	8	SV	9	74,93	16,58	5,53	0,22	52,43	74,85	96,01	43,58
MRT	4	2	SV	8	89,12	12,56	4,44	0,14	61,19	91,63	100,00	38,81
MRT	4	4	SV	9	75,07	13,65	4,55	0,18	56,18	72,75	95,74	39,56
MRT	4	8	SV	9	73,97	14,51	4,84	0,20	52,36	71,17	92,07	39,71
MRT	1	2	FV	2	1,10	1,20	0,85	1,09	0,25	1,10	1,95	1,70
MRT	1	4	FV	4	3,15	2,53	1,26	0,80	0,16	3,04	6,34	6,18
MRT	1	8	FV	2	2,54	0,20	0,14	0,08	2,40	2,54	2,68	0,28

Fortsetzung Tab. 32

MRT	2	2	FV	2	2,33	1,67	1,18	0,72	1,15	2,33	3,51	2,36
MRT	2	4	FV	4	3,05	3,82	1,91	1,26	0,55	1,45	8,73	8,18
MRT	2	8	FV	2	4,96	5,18	3,66	1,05	1,29	4,96	8,62	7,32
MRT	3	2	FV	2	2,89	0,51	0,36	0,18	2,53	2,89	3,25	0,72
MRT	3	4	FV	4	3,07	2,95	1,48	0,96	0,72	2,08	7,39	6,67
MRT	3	8	FV	2	25,97	15,50	10,96	0,60	15,01	25,97	36,93	21,92
MRT	4	2	FV	2	1,35	0,69	0,49	0,51	0,86	1,35	1,84	0,98
MRT	4	4	FV	4	6,57	6,95	3,48	1,06	1,10	4,20	16,76	15,66
MRT	4	8	FV	2	36,19	2,10	1,49	0,06	34,70	36,19	37,67	2,97

8.4.2. Histomorphometrie

Tab. 33 Deskriptive Statistik für quantifizierte Kennzahlen aus den histologischen Abbildungen (= Histomorphometrie)

Methode	ROI	Zeit [Wo]	Merkmal	N _{ges}	MW [%]	Stabw [%]	SEM [%]	VarK	Min [%]	Med [%]	Max [%]	Range [%]
Histo	1	2	BV	14	10,51	7,31	1,95	0,70	1,74	8,41	23,55	21,81
Histo	1	4	BV	15	21,40	11,27	2,91	0,53	5,27	19,49	42,46	37,19
Histo	1	8	BV	13	26,35	22,74	6,31	0,86	0,21	25,67	59,00	58,79
Histo	2	2	BV	15	7,52	6,94	1,79	0,92	0,58	4,91	21,85	21,27
Histo	2	4	BV	15	29,13	9,94	2,57	0,34	11,14	31,99	44,07	32,93
Histo	2	8	BV	13	32,99	18,03	5,00	0,55	0,47	29,06	67,97	67,50
Histo	1	2	SV	14	89,49	7,31	1,95	0,08	76,46	91,59	98,26	21,81
Histo	1	4	SV	15	78,60	11,27	2,91	0,14	57,54	80,51	94,73	37,19
Histo	1	8	SV	13	73,65	22,74	6,31	0,31	41,01	74,34	99,80	58,79
Histo	2	2	SV	15	92,48	6,94	1,79	0,08	78,16	95,09	99,42	21,27
Histo	2	4	SV	15	70,87	9,94	2,57	0,14	55,93	68,01	88,86	32,93
Histo	2	8	SV	13	67,01	18,03	5,00	0,27	32,03	70,94	99,53	67,50
Histo	1	2	OV	14	7,12	3,02	0,81	0,42	1,83	7,09	11,26	9,43
Histo	1	4	OV	15	5,87	4,30	1,11	0,73	0,41	4,64	15,63	15,23
Histo	1	8	OV	13	5,00	5,46	1,51	1,09	0,95	3,10	21,07	20,12
Histo	2	2	OV	15	6,10	3,84	0,99	0,63	0,20	6,61	12,31	12,11
Histo	2	4	OV	15	4,99	2,45	0,63	0,49	1,39	5,13	9,84	8,45
Histo	2	8	OV	13	3,91	3,01	0,84	0,77	0,81	3,14	11,12	10,31

8.4.3. Zusammenfassung der Ergebnisse aus qMRT und Histomorphometrie

Tab. 34 Zusammengefasste Ergebnisse der Quantifizierung. Die Abb. 45 (siehe S. 102) entspricht der graphischen Darstellung.

Methode	ROI	Zeit [Wo]	Merkmal	MW [%]	SEM [%]
MRT + Histo	1	2	BV	11,09	3,66
MRT	1	2	FV	1,10	0,85
Histo	1	2	OV	7,12	0,81
MRT + Histo	1	2	RV	80,69	1,77
MRT + Histo	1	4	BV	20,57	2,60
MRT	1	4	FV	3,15	1,26
Histo	1	4	OV	5,87	0,99
MRT + Histo	1	4	RV	70,42	1,62
MRT + Histo	1	8	BV	27,33	6,54
MRT	1	8	FV	2,54	0,14
Histo	1	8	OV	5,00	1,11
MRT + Histo	1	8	RV	65,14	2,60
MRT + Histo	2	2	BV	7,62	2,50
MRT	2	2	FV	2,33	1,18
Histo	2	2	OV	6,10	0,63
MRT + Histo	2	2	RV	83,96	1,44
MRT + Histo	2	4	BV	27,56	1,88
MRT	2	4	FV	3,05	1,91
Histo	2	4	OV	4,99	1,51
MRT + Histo	2	4	RV	64,39	1,77
MRT + Histo	2	8	BV	29,01	4,50
MRT	2	8	FV	4,96	1,05
Histo	2	8	OV	3,91	0,84
MRT + Histo	2	8	RV	62,12	2,13
MRT	3	2	BV	3,47	1,99
MRT	3	2	FV	2,89	0,36
MRT	3	2	RV	93,64	1,18
MRT	3	4	BV	8,45	1,31
MRT	3	4	FV	3,07	1,48
MRT	3	4	RV	88,48	1,40

Fortsetzung Tab. 34

MRT	3	8	BV	25,07	5,53
MRT	3	8	FV	25,97	10,96
MRT	3	8	RV	48,96	8,25
MRT	4	2	BV	10,88	4,44
MRT	4	2	FV	1,35	0,49
MRT	4	2	RV	87,77	2,47
MRT	4	4	BV	24,93	4,55
MRT	4	4	FV	6,57	3,48
MRT	4	4	RV	68,50	4,02
MRT	4	8	BV	26,03	4,84
MRT	4	8	FV	36,19	1,49
MRT	4	8	RV	37,78	3,17

8.4.4. Ergebnisse der statistischen Auswertung

Nachfolgend sind die Ergebnisse der statistischen Tests der untersuchten Fragestellungen aufgelistet (vgl. Kap. 5.2.5, S. 96f). Statistisch signifikante Ergebnisse wurden rot hervorgehoben.

Nr. 1 - Zeitliche Veränderung des Knochenanteils in ROI 1 & 2, Histologie-Daten

Tab. 35 Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.

ROI	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
ROI 1	Histo-4Wo Histo-2Wo	10,889	0,13466	0,05	0
	Histo-8Wo Histo-2Wo	15,840	0,02346	0,05	1
	Histo-8Wo Histo-4Wo	4,951	0,65851	0,05	0
ROI 2	Histo-4Wo Histo-2Wo	21,615	0,00006	0,05	1
	Histo-8Wo Histo-2Wo	25,467	0,00001	0,05	1
	Histo-8Wo Histo-4Wo	3,851	0,68513	0,05	0

Nr. 2 - Zeitliche Veränderung des Osteoidanteils in ROI 1 & 2, Histologie-Daten

Tab. 36 Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.

ROI	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
ROI 1	Histo-4Wo Histo-2Wo	-1,250	0,72057	0,05	0
	Histo-8Wo Histo-2Wo	-2,124	0,42016	0,05	0
	Histo-8Wo Histo-4Wo	-0,874	0,85641	0,05	0
ROI 2	Histo-4Wo Histo-2Wo	-1,106	0,60759	0,05	0
	Histo-8Wo Histo-2Wo	-2,182	0,17569	0,05	0
	Histo-8Wo Histo-4Wo	-1,077	0,64438	0,05	0

Nr. 3 - Zeitliche Veränderung des Knochenanteils in ROI 1-4, qMRT-Daten

Tab. 37 Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.

ROI	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
ROI 1	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	8,062	0,52659	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	16,632	0,08230	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	8,570	0,46513	0,05	0
ROI 2	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	18,272	0,00095	0,05	1
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	17,320	0,00164	0,05	1
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	-0,952	1,00000	0,05	0
ROI 3	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	4,987	0,59931	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	21,606	0,00090	0,05	1
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	16,619	0,00750	0,05	1
ROI 4	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	14,046	0,10789	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	15,151	0,07802	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	1,105	0,98385	0,05	0

Nr. 4 - Zeitliche Veränderung des Fettgewebsanteils in ROI 1-4, qMRT-Daten

Tab. 38 Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.

ROI	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
ROI 1	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	2,045	0,52250	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	1,440	0,76959	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	-0,605	0,93780	0,05	0
ROI 2	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	0,717	0,97475	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	2,627	0,78183	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	1,910	0,83857	0,05	0

Fortsetzung Tab. 38

ROI 3	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	0,175	0,99958	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	23,080	0,05530	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	22,905	0,03404	0,05	1
ROI 4	qMRT-4Wo qMRT-2Wo	5,215	0,55461	0,05	0
	qMRT-8Wo qMRT-2Wo	34,835	0,00331	0,05	1
	qMRT-8Wo qMRT-4Wo	29,620	0,00359	0,05	1

Nr. 5 - Zeitliche Veränderung des Knochenanteils in ROI 1-4, qMRT-Daten

Tab. 39 Mittelwertsvergleich nach Tukey, Unterschiede zwischen den ROI, Zeit konstant.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
2 Wochen	qMRT-ROI2 qMRT-ROI1	-3,954	0,89386	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI1	-8,202	0,47150	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI2	-4,248	0,87222	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI1	-0,787	0,99899	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI2	3,167	0,94147	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI3	7,416	0,55584	0,05	0
4 Wochen	qMRT-ROI2 qMRT-ROI1	6,256	0,37025	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI1	-11,277	0,02794	0,05	1
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI2	-17,534	0,00035	0,05	1
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI1	5,198	0,53019	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI2	-1,059	0,99236	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI3	16,475	0,00077	0,05	1
8 Wochen	qMRT-ROI2 qMRT-ROI1	-3,266	0,97293	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI1	-3,228	0,97382	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI2	0,038	1,00000	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI1	-2,267	0,99059	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI2	0,999	0,99917	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI3	0,961	0,99926	0,05	0

Nr. 6 - Zeitliche Veränderung des Fettgewebsanteils in ROI 1-4, qMRT-Daten

Tab. 40 Mittelwertsvergleich nach Tukey, Unterschiede zwischen den ROI, Zeit konstant.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
2 Wochen	qMRT-ROI2 qMRT-ROI1	1,228	0,70713	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI1	1,790	0,46604	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI2	0,562	0,95385	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI1	0,250	0,99538	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI2	-0,978	0,81678	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI3	-1,540	0,56784	0,05	0
4 Wochen	qMRT-ROI2 qMRT-ROI1	-0,100	0,99999	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI1	-0,080	0,99999	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI2	0,020	1,00000	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI1	3,420	0,69929	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI2	3,520	0,68091	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI3	3,500	0,68460	0,05	0
8 Wochen	qMRT-ROI2 qMRT-ROI1	2,415	0,98994	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI1	23,430	0,14368	0,05	0
	qMRT-ROI3 qMRT-ROI2	21,015	0,18937	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI1	33,645	0,04949	0,05	1
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI2	31,230	0,06265	0,05	0
	qMRT-ROI4 qMRT-ROI3	10,215	0,63808	0,05	0

Nr. 7 - Paarweiser Mittelwertsvergleich der MRT- und Histologie-Daten nach 2, 4 und 8 Wochen

Tab. 41 t-Test für zwei unverbundene Datensätze.

ROI 1: Kavität		t-Statistik	p > t
2 Wochen	Die gleiche Varianz wird angenommen	0,243	0,81066
4 Wochen	Die gleiche Varianz wird angenommen	-0,400	0,69274
8 Wochen	Die gleiche Varianz wird angenommen	0,206	0,83875
ROI 2: Gewinde		t-Statistik	p > t
2 Wochen	Die gleiche Varianz wird angenommen	0,058	0,95467
4 Wochen	Die gleiche Varianz wird angenommen	-0,910	0,37268
8 Wochen	Die gleiche Varianz wird angenommen	-1,155	0,26178

 Nr. 8 Berechnete p-Werte des gemischten, linearen Modells

Nullhypothese	H_0	Die Mittelwerte der quantifizierten Messgrößen aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie sind gleichwertig.
Alternativhypothese	H_1	Die Mittelwerte der quantifizierten Messgrößen aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie sind unterschiedlich.

Die Nullhypothese wird verworfen, wenn gilt: $p \leq \alpha$.

Tab. 42 Gemischtes, lineares Modell mit Berücksichtigung der individuellen Werte.

ROI	Messgröße	p	α	Sig
1	BV	0,817	0,05	0
1	SV	0,817	0,05	0
2	BV	0,164	0,05	0
2	SV	0,169	0,05	0

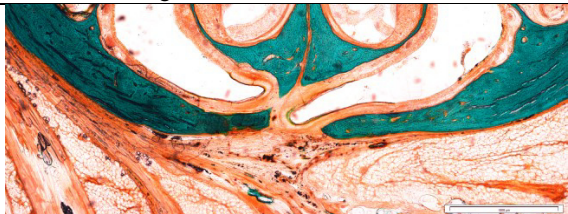
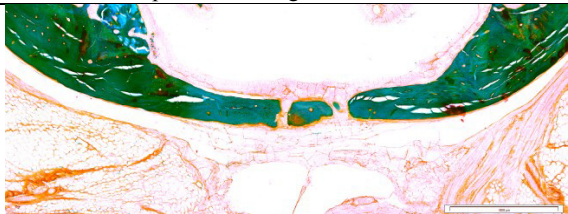

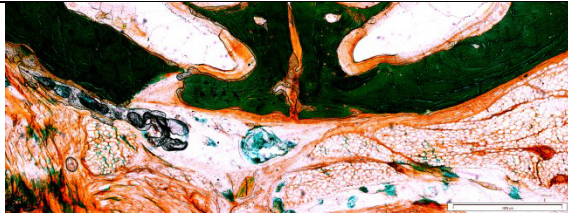
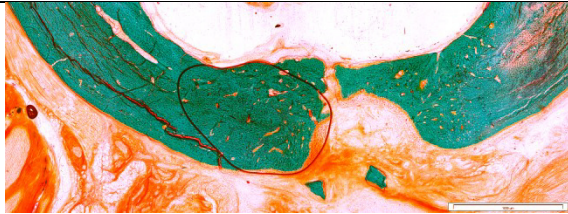
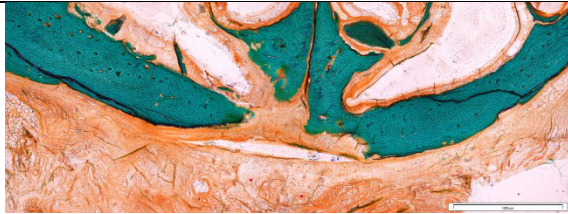
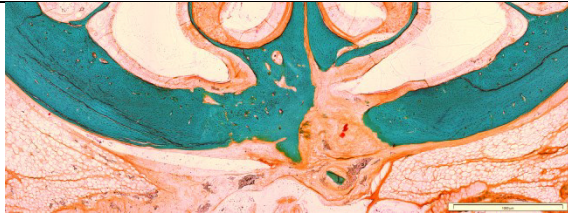
Die Nullhypothese wird nicht verworfen. Zwischen den quantifizierten Messgrößen können in den untersuchten ROIs keine signifikanten Unterschiede der Mittelwerte festgestellt werden.

8.5. Anhang zum Kapitel 6

8.5.1. Histologische Schnittpräparate, die nicht für die Quantifizierung berücksichtigt wurden

Der Randbereich des Defektes, weist naturgemäß einen viel höheren prozentualen Knochenanteil als die mittleren Schnittebenen auf. Bei der Auswertung treten diese Einzelergebnisse aus den übrigen Messdaten als Ausreißer nach oben hervor. Beließe man diese Daten in der Gruppe, resultierte eine breitere Streuung und die Ergebnisse würden unpräziser. In der vorliegenden Arbeit wurden für die MRT-Auswertung pro Tier drei bis vier Schnittbilder ausgewählt, die den mittleren Bereich des Defektes repräsentieren. Um eine Vergleichbarkeit der MRT-Resultate mit den histologischen Daten zu gewährleisten, wurden die folgenden histologischen Dünnschliffe des Randbereiches nicht in der Auswertung mit berücksichtigt (Tab. 43):

Tab. 43 Histologische Dünnschliffe des Randbereiches, die für die Histomorphometrie ausgeschlossen wurden.

	
Kontrolle, Tier 35, Präp. 297/13/10	Kontrolle, Tier 6, Präp. 381/13/9
	
Kontrolle, Tier 21, Präp. 477/13/7	
	
BioOss, Tier 37, Präp. 301/13/9	BioOss, Tier 8, Präp. 383/13/4
	
BioOss, MSC UDiff, Tier 60, Präp. 531/13/7	BioOss Diff, Tier 84, Präp. 543/13/8

8.5.2. Quantifizierung der knöchernen Einheilung der Knochenersatzmaterialien

Gruppe 1	Kontrolle = Leerdefekt	Gruppe 3	BioOss + MSC
Gruppe 2	BioOss	Gruppe 4	BioOss + Osteoblasten

8.5.2.1. DESKRIPTIVE STATISTIK - QUANTITATIVE MRT

Tab. 44 Deskriptive Statistik der Knochenanteile im Defekt (BV), MRT-Auswertung.

Methode	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [%]	Stabw [%]	SEM [%]	Länge	Unteres	Oberes	Min [%]	Max [%]	Range [%]	VarK
								95% KI [%]	95% KI [%]	95% KI [%]				
MRT	1	6	BV	8	18,556	7,593	2,685	6,348	12,208	24,904	11,395	30,684	19,289	0,409
MRT	2	6	BV	8	21,688	8,062	2,850	6,740	14,948	28,428	11,491	31,798	20,307	0,372
MRT	3	6	BV	8	16,493	5,117	1,809	4,278	12,215	20,770	11,459	24,765	13,306	0,310
MRT	4	6	BV	8	23,626	10,386	3,672	8,683	14,943	32,309	12,086	42,793	30,707	0,440
MRT	1	9	BV	8	27,461	9,662	3,416	8,077	19,384	35,539	15,900	48,337	32,437	0,352
MRT	2	9	BV	8	19,818	5,936	2,099	4,963	14,855	24,781	13,083	31,701	18,618	0,300
MRT	3	9	BV	8	14,220	3,765	1,331	3,148	11,073	17,368	7,843	19,231	11,388	0,265
MRT	4	9	BV	8	22,751	7,034	2,487	5,880	16,871	28,631	12,008	31,530	19,522	0,309
MRT	1	12	BV	12	30,256	13,428	3,876	8,532	21,725	38,788	15,254	50,563	35,308	0,444
MRT	2	12	BV	12	18,108	8,613	2,486	5,472	12,635	23,580	7,918	32,080	24,162	0,476
MRT	3	12	BV	12	16,441	2,997	0,865	1,904	14,537	18,345	13,203	22,887	9,684	0,182
MRT	4	12	BV	12	13,702	5,127	1,480	3,258	10,444	16,960	6,591	20,453	13,862	0,374

Tab. 45 Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektflächen (DF100), MRT-Auswertung.

Methode	Gruppe	Zeit	Merkmal	Nges	MW [mm ²]	Stabw [mm ²]	SEM [mm ²]	Länge	Unteres	Oberes	Min [mm ²]	Max [mm ²]	Range [mm ²]	VarK
		[Wo]						95% KI [mm ²]	95% KI [mm ²]	95% KI [mm ²]				
MRT	1	6	DF100	8	2,279	0,534	0,189	0,447	1,832	2,726	1,290	2,805	1,515	0,235
MRT	2	6	DF100	8	2,050	0,551	0,195	0,461	1,589	2,510	1,102	2,755	1,653	0,269
MRT	3	6	DF100	8	2,555	0,189	0,067	0,158	2,397	2,712	2,278	2,796	0,518	0,074
MRT	4	6	DF100	8	2,139	0,467	0,165	0,390	1,749	2,529	1,484	2,937	1,452	0,218
MRT	1	9	DF100	8	2,076	0,432	0,153	0,361	1,715	2,437	1,379	2,510	1,131	0,208
MRT	2	9	DF100	8	1,598	0,349	0,123	0,292	1,306	1,890	1,166	2,085	0,919	0,218
MRT	3	9	DF100	8	1,871	0,402	0,142	0,336	1,535	2,207	1,251	2,432	1,182	0,215
MRT	4	9	DF100	8	1,943	0,229	0,081	0,191	1,751	2,134	1,630	2,289	0,659	0,118
MRT	1	12	DF100	12	1,977	0,455	0,131	0,289	1,688	2,266	1,056	2,871	1,815	0,230
MRT	2	12	DF100	12	2,006	0,259	0,075	0,164	1,842	2,170	1,266	2,240	0,974	0,129
MRT	3	12	DF100	12	2,002	0,271	0,078	0,172	1,830	2,174	1,301	2,275	0,974	0,135
MRT	4	12	DF100	12	2,058	0,342	0,099	0,218	1,841	2,276	1,588	2,509	0,920	0,166

Tab. 46 Deskriptive Statistik der verbliebenen Defektbreiten (DB), MRT-Auswertung.

Methode	Gruppe	Zeit			MW	Stabw	SEM	Länge	Unteres	Oberes	Min	Max	Range	VarK
		[Wo]	Merkmal	Nges				95% KI	95% KI	95% KI				
					[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	
MRT	1	6	DB	8	74,045	7,756	2,742	6,485	67,561	80,530	61,047	82,682	21,635	0,105
MRT	2	6	DB	8	66,064	6,637	2,346	5,549	60,515	71,613	58,065	74,172	16,108	0,100
MRT	3	6	DB	8	83,671	6,626	2,343	5,540	78,131	89,210	70,558	92,118	21,560	0,079
MRT	4	6	DB	8	71,098	14,230	5,031	11,897	59,201	82,994	39,316	80,905	41,588	0,200
MRT	1	9	DB	8	69,510	10,620	3,755	8,879	60,631	78,389	52,198	78,571	26,374	0,153
MRT	2	9	DB	8	76,314	9,041	3,197	7,559	68,755	83,873	59,394	85,526	26,132	0,118
MRT	3	9	DB	8	77,082	11,525	4,075	9,635	67,447	86,717	55,862	90,270	34,408	0,150
MRT	4	9	DB	8	78,614	10,261	3,628	8,578	70,035	87,192	62,105	89,286	27,180	0,131
MRT	1	12	DB	12	57,767	19,482	5,624	12,378	45,389	70,145	31,111	78,808	47,697	0,337
MRT	2	12	DB	12	78,363	9,126	2,634	5,798	72,565	84,162	62,424	90,608	28,183	0,116
MRT	3	12	DB	12	81,693	7,175	2,071	4,559	77,135	86,252	60,656	90,556	29,900	0,088
MRT	4	12	DB	12	83,995	8,914	2,573	5,664	78,332	89,659	66,304	100,000	33,696	0,106

Tab. 47 Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektbreiten (DB100), MRT-Auswertung.

Methode	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [mm]	Stabw [mm]	SEM [mm]	Länge_KI [mm]	Unteres	Oberes	Min [mm]	Max [mm]	Range [mm]	VarK
									95% KI [mm]	95% KI [mm]				
MRT	1	6	DB100	8	3,482	0,277	0,098	0,231	3,251	3,714	2,991	3,969	0,978	0,079
MRT	2	6	DB100	8	3,460	0,470	0,166	0,393	3,068	3,853	2,952	4,066	1,114	0,136
MRT	3	6	DB100	8	3,729	0,208	0,074	0,174	3,555	3,903	3,363	3,969	0,606	0,056
MRT	4	6	DB100	8	3,402	0,625	0,221	0,523	2,879	3,924	2,287	4,203	1,916	0,184
MRT	1	9	DB100	8	3,839	0,318	0,112	0,266	3,573	4,105	3,284	4,203	0,919	0,083
MRT	2	9	DB100	8	3,179	0,313	0,111	0,262	2,917	3,441	2,502	3,441	0,938	0,099
MRT	3	9	DB100	8	3,426	0,284	0,100	0,237	3,189	3,664	2,835	3,734	0,899	0,083
MRT	4	9	DB100	8	3,514	0,174	0,062	0,146	3,369	3,660	3,284	3,715	0,430	0,050
MRT	1	12	DB100	12	3,095	0,304	0,088	0,193	2,902	3,288	2,600	3,499	0,899	0,098
MRT	2	12	DB100	12	3,496	0,192	0,056	0,122	3,374	3,618	3,128	3,871	0,743	0,055
MRT	3	12	DB100	12	3,586	0,297	0,086	0,189	3,397	3,774	3,089	4,047	0,958	0,083
MRT	4	12	DB100	12	3,540	0,266	0,077	0,169	3,371	3,709	2,874	3,851	0,978	0,075

8.5.2.2. DESKRIPTIVE STATISTIK - HISTOMORPHOMETRIE

Tab. 48 Deskriptive Statistik der Knochenanteile im Defekt (BV), Histomorphometrie aller Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [%]	Stabw [%]	SEM [%]	Länge	Unteres	Oberes	Min [%]	Max [%]	Range [%]	VarK
								95% KI [%]	95% KI [%]	95% KI [%]				
HistoAlle	1	6	BV	28	22,508	10,605	2,004	4,112	18,395	26,620	5,588	40,585	34,997	0,471
HistoAlle	2	6	BV	32	20,842	8,690	1,536	3,133	17,709	23,975	0,556	42,905	42,349	0,417
HistoAlle	3	6	BV	38	8,475	6,068	0,984	1,995	6,480	10,469	0,988	22,723	21,736	0,716
HistoAlle	4	6	BV	30	17,748	12,471	2,277	4,657	13,092	22,405	1,526	45,149	43,623	0,703
HistoAlle	1	9	BV	31	31,082	12,212	2,193	4,479	26,602	35,561	16,693	58,058	41,365	0,393
HistoAlle	2	9	BV	29	29,093	12,799	2,377	4,868	24,225	33,962	13,956	69,329	55,374	0,440
HistoAlle	3	9	BV	30	10,093	7,698	1,405	2,874	7,219	12,968	1,344	32,570	31,225	0,763
HistoAlle	4	9	BV	31	21,968	11,800	2,119	4,328	17,640	26,296	4,151	63,157	59,006	0,537
HistoAlle	1	12	BV	29	42,816	12,507	2,322	4,757	38,058	47,573	18,893	64,301	45,407	0,292
HistoAlle	2	12	BV	33	29,997	12,279	2,137	4,354	25,643	34,350	11,553	56,328	44,774	0,409
HistoAlle	3	12	BV	30	20,349	10,542	1,925	3,936	16,412	24,285	5,094	44,544	39,450	0,518
HistoAlle	4	12	BV	26	11,463	7,276	1,427	2,939	8,524	14,402	1,878	34,856	32,978	0,635

Tab. 49 Deskriptive Statistik der Knochenanteile im Defekt (BV), Histomorphometrie der MRT-Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [%]	Stabw [%]	SEM [%]	Länge	Unteres	Oberes	Min [%]	Max [%]	Range [%]	VarK
								95% KI [%]	95% KI [%]	95% KI [%]				
HistoAusw	1	6	BV	8	23,860	10,029	3,546	8,385	15,475	32,245	11,490	36,434	24,944	0,420
HistoAusw	2	6	BV	9	19,575	7,781	2,594	5,981	13,594	25,556	11,630	33,979	22,349	0,398
HistoAusw	3	6	BV	10	11,337	7,044	2,227	5,039	6,298	16,376	2,074	22,723	20,649	0,621
HistoAusw	4	6	BV	10	23,999	12,127	3,835	8,675	15,324	32,674	3,605	45,149	41,544	0,505
HistoAusw	1	9	BV	9	29,500	13,025	4,342	10,012	19,489	39,512	16,693	50,352	33,659	0,442
HistoAusw	2	9	BV	9	24,999	8,545	2,848	6,568	18,431	31,567	13,956	41,721	27,766	0,342
HistoAusw	3	9	BV	8	16,276	9,830	3,475	8,218	8,058	24,494	2,877	32,570	29,692	0,604
HistoAusw	4	9	BV	8	20,953	9,213	3,257	7,702	13,250	28,655	8,903	37,753	28,850	0,440
HistoAusw	1	12	BV	11	42,878	15,588	4,700	10,472	32,406	53,351	19,005	64,301	45,295	0,364
HistoAusw	2	12	BV	12	20,493	7,193	2,077	4,570	15,923	25,063	11,553	33,076	21,522	0,351
HistoAusw	3	12	BV	14	22,340	12,363	3,304	7,138	15,202	29,478	7,998	44,544	36,547	0,553
HistoAusw	4	12	BV	13	12,703	8,255	2,289	4,988	7,714	17,691	4,680	34,856	30,176	0,650

Tab. 50 Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektflächen (DF100), Histomorphometrie aller Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [mm ²]	Stabw [mm ²]	SEM [mm ²]	Länge	Unteres	Oberes	Min [mm ²]	Max [mm ²]	Range [mm ²]	VarK
								95% KI [mm ²]	95% KI [mm ²]	95% KI [mm ²]				
HistoAlle	1	6	DF100	26	1,403	0,561	0,110	0,227	1,176	1,630	0,579	2,909	2,329	0,400
HistoAlle	2	6	DF100	30	1,732	0,542	0,099	0,203	1,529	1,934	0,866	2,640	1,775	0,313
HistoAlle	3	6	DF100	36	1,878	0,685	0,114	0,232	1,646	2,110	0,785	3,517	2,732	0,365
HistoAlle	4	6	DF100	30	1,594	0,604	0,110	0,225	1,369	1,820	0,743	3,630	2,887	0,379
HistoAlle	1	9	DF100	29	1,399	0,349	0,065	0,133	1,266	1,532	0,747	2,185	1,438	0,249
HistoAlle	2	9	DF100	28	1,537	0,475	0,090	0,184	1,353	1,721	0,700	2,590	1,891	0,309
HistoAlle	3	9	DF100	28	1,959	0,674	0,127	0,261	1,698	2,220	1,131	4,560	3,428	0,344
HistoAlle	4	9	DF100	30	1,916	0,587	0,107	0,219	1,697	2,135	0,959	3,019	2,060	0,306
HistoAlle	1	12	DF100	27	1,785	0,536	0,103	0,212	1,573	1,997	0,785	2,937	2,152	0,300
HistoAlle	2	12	DF100	31	1,487	0,528	0,095	0,194	1,294	1,681	0,763	3,033	2,270	0,355
HistoAlle	3	12	DF100	28	1,826	0,619	0,117	0,240	1,586	2,066	0,432	3,375	2,943	0,339
HistoAlle	4	12	DF100	26	2,107	0,694	0,136	0,280	1,827	2,387	0,922	3,756	2,834	0,329

Tab. 51 Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektflächen (DF100), Histomorphometrie der MRT-Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [mm ²]	Stabw [mm ²]	SEM [mm ²]	Länge	Unteres	Oberes	Min [mm ²]	Max [mm ²]	Range [mm ²]	VarK
								95% KI [mm ²]	95% KI [mm ²]	95% KI [mm ²]				
HistoAusw	1	6	DF100	8	1,728	0,602	0,213	0,503	1,225	2,231	1,103	2,909	1,805	0,348
HistoAusw	2	6	DF100	9	1,551	0,587	0,196	0,451	1,100	2,002	0,866	2,562	1,696	0,378
HistoAusw	3	6	DF100	10	1,893	0,624	0,197	0,446	1,446	2,339	1,040	3,134	2,094	0,330
HistoAusw	4	6	DF100	10	1,348	0,428	0,135	0,306	1,042	1,654	0,743	2,125	1,382	0,317
HistoAusw	1	9	DF100	9	1,587	0,282	0,094	0,217	1,370	1,804	1,010	1,920	0,910	0,178
HistoAusw	2	9	DF100	9	1,501	0,220	0,073	0,169	1,332	1,670	1,182	1,788	0,606	0,146
HistoAusw	3	9	DF100	8	2,246	1,100	0,389	0,919	1,326	3,165	1,278	4,560	3,281	0,490
HistoAusw	4	9	DF100	8	2,292	0,519	0,183	0,434	1,858	2,726	1,524	3,019	1,495	0,226
HistoAusw	1	12	DF100	12	1,766	0,560	0,162	0,356	1,410	2,122	0,987	2,708	1,721	0,317
HistoAusw	2	12	DF100	12	1,626	0,512	0,148	0,326	1,300	1,952	0,929	2,777	1,848	0,315
HistoAusw	3	12	DF100	14	1,762	0,779	0,208	0,450	1,313	2,212	0,432	3,375	2,943	0,442
HistoAusw	4	12	DF100	13	2,396	0,794	0,220	0,480	1,916	2,875	1,371	3,756	2,385	0,331

Tab. 52 Deskriptive Statistik der verbliebenen Defektbreiten (DB), Histomorphometrie aller Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [%]	Stabw [%]	SEM [%]	Länge	Unteres	Oberes	Min [%]	Max [%]	Range [%]	VarK
								95% KI [%]	95% KI [%]	95% KI [%]				
HistoAlle	1	6	DB	26	64,283	15,403	3,021	6,221	58,061	70,504	34,738	85,887	51,149	0,240
HistoAlle	2	6	DB	30	65,053	17,553	3,205	6,554	58,499	71,608	21,370	90,713	69,343	0,270
HistoAlle	3	6	DB	35	81,722	14,928	2,523	5,128	76,595	86,850	43,070	99,767	56,697	0,183
HistoAlle	4	6	DB	30	73,628	17,328	3,164	6,470	67,158	80,099	38,441	96,791	58,350	0,235
HistoAlle	1	9	DB	29	60,582	17,136	3,182	6,518	54,064	67,100	21,475	83,628	62,154	0,283
HistoAlle	2	9	DB	26	65,244	12,431	2,438	5,021	60,223	70,265	32,606	85,290	52,684	0,191
HistoAlle	3	9	DB	28	82,660	10,473	1,979	4,061	78,599	86,721	64,705	98,296	33,591	0,127
HistoAlle	4	9	DB	30	73,071	9,582	1,749	3,578	69,493	76,649	54,876	90,502	35,626	0,131
HistoAlle	1	12	DB	27	48,396	19,416	3,737	7,681	40,715	56,077	9,451	94,423	84,972	0,401
HistoAlle	2	12	DB	31	60,135	14,489	2,602	5,315	54,821	65,450	24,310	82,943	58,633	0,241
HistoAlle	3	12	DB	28	74,697	12,865	2,431	4,989	69,708	79,685	52,190	91,886	39,696	0,172
HistoAlle	4	12	DB	26	81,784	9,740	1,910	3,934	77,850	85,718	56,668	91,082	34,413	0,119

Tab. 53 Deskriptive Statistik der verbliebenen Defektbreiten (DB), Histomorphometrie der MRT-Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [%]	Stabw [%]	SEM [%]	Länge	Unteres	Oberes	Min [%]	Max [%]	Range [%]	VarK
								95% KI [%]	95% KI [%]	95% KI [%]				
HistoAusw	1	6	DB	8	60,700	15,379	5,437	12,857	47,842	73,557	34,738	80,435	45,698	0,253
HistoAusw	2	6	DB	9	67,598	14,586	4,862	11,212	56,386	78,809	40,027	82,859	42,832	0,216
HistoAusw	3	6	DB	10	75,321	14,401	4,554	10,302	65,018	85,623	43,613	88,596	44,982	0,191
HistoAusw	4	6	DB	10	65,706	20,281	6,413	14,508	51,198	80,214	38,441	93,101	54,660	0,309
HistoAusw	1	9	DB	9	56,063	15,972	5,324	12,277	43,786	68,340	26,687	72,382	45,696	0,285
HistoAusw	2	9	DB	9	67,007	14,655	4,885	11,265	55,742	78,271	32,606	85,290	52,684	0,219
HistoAusw	3	9	DB	8	74,498	9,941	3,515	8,310	66,187	82,808	64,705	94,602	29,897	0,133
HistoAusw	4	9	DB	8	75,037	13,278	4,695	11,101	63,936	86,138	45,954	86,932	40,979	0,177
HistoAusw	1	12	DB	12	49,386	23,578	6,807	14,981	34,405	64,367	12,378	94,423	82,045	0,477
HistoAusw	2	12	DB	12	71,638	8,871	2,561	5,636	66,002	77,274	59,161	82,943	23,782	0,124
HistoAusw	3	12	DB	14	73,975	12,856	3,436	7,423	66,552	81,398	52,738	91,529	38,791	0,174
HistoAusw	4	12	DB	13	81,714	11,311	3,137	6,835	74,879	88,549	56,668	90,783	34,114	0,138

Tab. 54 Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektbreiten (DB100), Histomorphometrie aller Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [mm]	Stabw [mm]	SEM [mm]	Länge_KI [mm]	Unteres	Oberes	Min [mm]	Max [mm]	Range [mm]	VarK
									95% KI [mm]	95% KI [mm]				
HistoAlle	1	6	DB100	26	3,167	0,231	0,045	0,093	3,074	3,260	2,697	3,596	0,899	0,073
HistoAlle	2	6	DB100	30	3,141	0,351	0,064	0,131	3,010	3,272	2,416	3,709	1,293	0,112
HistoAlle	3	6	DB100	36	3,001	0,502	0,084	0,170	2,832	3,171	1,709	3,608	1,899	0,167
HistoAlle	4	6	DB100	30	2,871	0,562	0,103	0,210	2,661	3,081	1,334	3,619	2,286	0,196
HistoAlle	1	9	DB100	29	3,428	0,405	0,075	0,154	3,273	3,582	2,268	4,143	1,875	0,118
HistoAlle	2	9	DB100	28	3,377	0,392	0,074	0,152	3,225	3,529	2,435	3,900	1,465	0,116
HistoAlle	3	9	DB100	28	3,237	0,374	0,071	0,145	3,092	3,382	2,381	3,783	1,402	0,115
HistoAlle	4	9	DB100	30	3,147	0,419	0,077	0,157	2,990	3,304	1,938	3,761	1,823	0,133
HistoAlle	1	12	DB100	27	3,289	0,385	0,074	0,152	3,137	3,441	2,468	3,703	1,235	0,117
HistoAlle	2	12	DB100	31	3,266	0,359	0,064	0,132	3,135	3,398	2,549	3,996	1,447	0,110
HistoAlle	3	12	DB100	28	2,962	0,567	0,107	0,220	2,742	3,182	1,288	3,717	2,430	0,191
HistoAlle	4	12	DB100	26	3,138	0,532	0,104	0,215	2,924	3,353	1,450	3,732	2,282	0,169

Tab. 55 Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektbreiten (DB100), Histomorphometrie der MRT-Tiere.

Methode / Datensatz	Gruppe	Zeit [Wo]	Merkmal	Nges	MW [mm]	Stabw [mm]	SEM [mm]	Länge_KI [mm]	Unteres	Oberes	Min [mm]	Max [mm]	Range [mm]	VarK
									95% KI [mm]	95% KI [mm]				
HistoAusw	1	6	DB100	8	3,310	0,249	0,088	0,208	3,102	3,518	2,971	3,596	0,625	0,075
HistoAusw	2	6	DB100	9	3,058	0,339	0,113	0,260	2,798	3,318	2,575	3,566	0,991	0,111
HistoAusw	3	6	DB100	10	2,900	0,542	0,171	0,387	2,513	3,288	2,018	3,608	1,590	0,187
HistoAusw	4	6	DB100	10	2,710	0,566	0,179	0,405	2,305	3,116	1,682	3,574	1,893	0,209
HistoAusw	1	9	DB100	9	3,431	0,371	0,124	0,285	3,146	3,716	2,812	3,849	1,038	0,108
HistoAusw	2	9	DB100	9	3,489	0,353	0,118	0,271	3,218	3,761	2,995	3,900	0,906	0,101
HistoAusw	3	9	DB100	8	3,326	0,309	0,109	0,258	3,067	3,584	2,832	3,666	0,834	0,093
HistoAusw	4	9	DB100	8	3,301	0,393	0,139	0,328	2,973	3,629	2,686	3,761	1,075	0,119
HistoAusw	1	12	DB100	11	3,227	0,395	0,119	0,265	2,962	3,492	2,468	3,632	1,164	0,122
HistoAusw	2	12	DB100	12	3,374	0,402	0,116	0,256	3,119	3,630	2,685	3,996	1,311	0,119
HistoAusw	3	12	DB100	14	3,000	0,608	0,163	0,351	2,649	3,351	1,288	3,717	2,430	0,203
HistoAusw	4	12	DB100	13	3,355	0,367	0,102	0,222	3,133	3,577	2,620	3,732	1,112	0,109

8.5.2.3. ERGEBNISSE DER EINFAKTORIELLEN VARIANZANALYSEN

Nachfolgend sind die Ergebnisse der statistischen Tests der untersuchten Fragestellungen aufgelistet (vgl. Kap. 3.17.4). Statistisch signifikante Ergebnisse wurden rot hervorgehoben.

Nr. 1 Zeitliche Veränderung des Knochenanteils (BV) im Defekt, HistoAlle

Tab. 56 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für BV, Zeitabhängigkeit, Gruppe konstant.

Gruppe	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
1	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	8,574	0,02473	0,05	1
1	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	20,308	0,00000	0,05	1
1	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	11,734	0,00111	0,05	1
2	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	8,251	0,02143	0,05	1
2	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	9,154	0,00682	0,05	1
2	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	0,903	0,95242	0,05	0
3	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	1,619	0,71900	0,05	0
3	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	11,874	0,00000	0,05	1
3	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	10,255	0,00002	0,05	1
4	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	4,219	0,32511	0,05	0
4	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	-6,285	0,10567	0,05	0
4	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	-10,505	0,00228	0,05	1

Nr. 2 Gruppenvergleich der Knochenanteile (BV) im Defekt, HistoAlle

Tab. 57 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für BV, Gruppenabhängigkeit, Zeit konstant.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6_Gr2 6_Gr1	-1,666	0,92810	0,05	0
6 Wo	6_Gr3 6_Gr1	-14,033	0,00000	0,05	1
6 Wo	6_Gr3 6_Gr2	-12,367	0,00001	0,05	1
6 Wo	6_Gr4 6_Gr1	-4,759	0,31074	0,05	0
6 Wo	6_Gr4 6_Gr2	-3,094	0,65276	0,05	0
6 Wo	6_Gr4 6_Gr3	9,274	0,00181	0,05	1
9 Wo	9_Gr2 9_Gr1	-0,983	0,98897	0,05	0
9 Wo	9_Gr3 9_Gr1	-20,988	0,00000	0,05	1
9 Wo	9_Gr3 9_Gr2	-20,005	0,00000	0,05	1
9 Wo	9_Gr4 9_Gr1	-10,487	0,00419	0,05	1
9 Wo	9_Gr4 9_Gr2	-9,504	0,01290	0,05	1
9 Wo	9_Gr4 9_Gr3	10,501	0,00453	0,05	1

Fortsetzung Tab. 57

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
12 Wo	12_Gr2 12_Gr1	-12,819	0,00023	0,05	1
12 Wo	12_Gr3 12_Gr1	-22,467	0,00000	0,05	1
12 Wo	12_Gr3 12_Gr2	-9,648	0,00900	0,05	1
12 Wo	12_Gr4 12_Gr1	-31,353	0,00000	0,05	1
12 Wo	12_Gr4 12_Gr2	-18,534	0,00000	0,05	1
12 Wo	12_Gr4 12_Gr3	-8,886	0,03194	0,05	1

Nr. 3 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für BV, Gruppe 1.

Tab. 58 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für BV, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 1.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	5,304	0,58101	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	4,521	0,54753	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	-0,783	0,98181	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	2,039	0,94208	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	3,997	0,71370	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	1,958	0,91468	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	12,622	0,07339	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	11,755	0,03957	0,05	1
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	-0,866	0,98227	0,05	0

Nr. 4 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für BV, Gruppe 2

Tab. 59 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für BV, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 2.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	-2,113	0,87958	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	-0,585	0,98542	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	1,529	0,89603	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	5,181	0,65828	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	9,492	0,13729	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	4,311	0,62810	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	2,385	0,85848	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	12,710	0,00365	0,05	1
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	10,325	0,02156	0,05	1

Nr. 5 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für BV, Gruppe 3**Tab. 60** Mittelwertsvergleich nach Scheffé für *BV*, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 3.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	-5,156	0,22037	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	-8,311	0,00471	0,05	1
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	-3,155	0,36529	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	2,055	0,86777	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	-4,128	0,41724	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	-6,183	0,14783	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	5,899	0,34474	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	4,097	0,51025	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	-1,803	0,86395	0,05	0

Nr. 6 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für BV, Gruppe 4**Tab. 61** Mittelwertsvergleich nach Scheffé für *BV*, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 4.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	0,373	0,99789	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	-5,877	0,48050	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	-6,251	0,37567	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	-1,799	0,92079	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	-2,156	0,82956	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	-0,358	0,99485	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	-0,999	0,94039	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	-2,239	0,66826	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	-1,240	0,87707	0,05	0

Nr. 7 Zeitliche Veränderung der verbliebenen Defektbreite (DB), HistoAlle**Tab. 62** Mittelwertsvergleich nach Scheffé für *DB*, Zeitabhängigkeit, Gruppe konstant.

Gruppe	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
1	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	-3,701	0,69791	0,05	0
1	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	-16,902	0,00125	0,05	1
1	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	-13,201	0,01190	0,05	1
2	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	-0,537	0,99253	0,05	0
2	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	-4,918	0,51889	0,05	0
2	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	-4,381	0,60459	0,05	0

Fortsetzung Tab. 62

Gruppe	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
3	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	0,158	0,96261	0,05	0
3	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	-7,806	0,02224	0,05	1
3	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	-7,963	0,02771	0,05	1
4	HistoAlle_9Wo HistoAlle_6Wo	-1,874	0,86401	0,05	0
4	HistoAlle_12Wo HistoAlle_6Wo	8,156	0,08535	0,05	0
4	HistoAlle_12Wo HistoAlle_9Wo	10,029	0,02420	0,05	1

Nr. 8 Gruppenvergleich der verbliebenen Defektbreite (DB), HistoAlle

Tab. 63 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für DB, Gruppenabhängigkeit, Zeit konstant.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6_Gr2 6_Gr1	0,771	0,99811	0,05	0
6 Wo	6_Gr3 6_Gr1	17,115	0,00084	0,05	1
6 Wo	6_Gr3 6_Gr2	16,344	0,00094	0,05	1
6 Wo	6_Gr4 6_Gr1	9,346	0,15523	0,05	0
6 Wo	6_Gr4 6_Gr2	8,575	0,18970	0,05	0
6 Wo	6_Gr4 6_Gr3	-7,769	0,25479	0,05	0
9 Wo	9_Gr2 9_Gr1	4,662	0,53072	0,05	0
9 Wo	9_Gr3 9_Gr1	22,078	0,00000	0,05	1
9 Wo	9_Gr3 9_Gr2	17,416	0,00001	0,05	1
9 Wo	9_Gr4 9_Gr1	12,489	0,00154	0,05	1
9 Wo	9_Gr4 9_Gr2	7,827	0,10629	0,05	0
9 Wo	9_Gr4 9_Gr3	-9,589	0,02554	0,05	1
12 Wo	12_Gr2 12_Gr1	11,739	0,01462	0,05	1
12 Wo	12_Gr3 12_Gr1	26,301	0,00000	0,05	1
12 Wo	12_Gr3 12_Gr2	14,561	0,00121	0,05	1
12 Wo	12_Gr4 12_Gr1	33,388	0,00000	0,05	1
12 Wo	12_Gr4 12_Gr2	21,649	0,00000	0,05	1
12 Wo	12_Gr4 12_Gr3	7,087	0,28590	0,05	0

Nr. 9 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für DB, Gruppe 1

Tab. 64 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für DB, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 1.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	-13,346	0,18977	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	-9,762	0,25400	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	3,583	0,82667	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	-13,447	0,23683	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	-8,928	0,38640	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	4,519	0,76251	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	-12,475	0,24433	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	-10,385	0,24323	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	2,089	0,94611	0,05	0

Nr. 10 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für DB, Gruppe 2

Tab. 65 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für DB, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 2.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	1,534	0,98019	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	-1,011	0,98712	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	-2,544	0,91404	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	-9,308	0,50337	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	-11,798	0,20481	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	-2,490	0,92295	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	-6,725	0,42363	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	-18,228	0,00037	0,05	1
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	-11,503	0,03191	0,05	1

Nr. 11 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für DB, Gruppe 3

Tab. 66 Mittelwertsvergleich nach Scheffé für DB, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 3.

Zeit	Mittelwertsvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	-8,350	0,47688	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	-1,168	0,97858	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	7,182	0,38273	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	-2,584	0,88772	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	5,578	0,42812	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	8,162	0,16946	0,05	0

Fortsetzung Tab. 66

Zeit	Mittelwertvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	-7,718	0,26424	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	-6,997	0,24187	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	0,721	0,98291	0,05	0

Nr. 12 Direkter Vergleich der Einzelergebnisse aller Datensätze für DB, Gruppe 4

Tab. 67 Mittelwertvergleich nach Scheffé für DB, Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 4.

Zeit	Mittelwertvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6Wo_HistoAusw 6Wo_MRT	-5,391	0,81120	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_MRT	2,531	0,93639	0,05	0
6 Wo	6Wo_HistoAlle 6Wo_HistoAusw	7,922	0,47087	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAusw 9Wo_MRT	-3,197	0,85419	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_MRT	-6,859	0,32375	0,05	0
9 Wo	9Wo_HistoAlle 9Wo_HistoAusw	-3,662	0,72083	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAusw 12Wo_MRT	-2,281	0,85005	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_MRT	-2,211	0,81813	0,05	0
12 Wo	12Wo_HistoAlle 12Wo_HistoAusw	0,070	0,99979	0,05	0

Nr. 13 Gruppenvergleich der Knochenanteile (BV) im Defekt, qMRT

Tab. 68 Mittelwertvergleich nach Scheffé für BV, Gruppenabhängigkeit, Zeit konstant.

Zeit	Mittelwertvergleich	MW-Diff	p	α	Sig
6 Wo	6_Gr2 6_Gr1	3,132	0,89288	0,05	0
6 Wo	6_Gr3 6_Gr1	-2,063	0,96580	0,05	0
6 Wo	6_Gr3 6_Gr2	-5,195	0,64536	0,05	0
6 Wo	6_Gr4 6_Gr1	5,070	0,66276	0,05	0
6 Wo	6_Gr4 6_Gr2	1,938	0,97138	0,05	0
6 Wo	6_Gr4 6_Gr3	7,133	0,38299	0,05	0
9 Wo	9_Gr2 9_Gr1	-7,643	0,20687	0,05	0
9 Wo	9_Gr3 9_Gr1	-13,241	0,00757	0,05	1
9 Wo	9_Gr3 9_Gr2	-5,598	0,46863	0,05	0
9 Wo	9_Gr4 9_Gr1	-4,710	0,61067	0,05	0
9 Wo	9_Gr4 9_Gr2	2,933	0,86861	0,05	0
9 Wo	9_Gr4 9_Gr3	8,531	0,13403	0,05	0

Fortsetzung Tab. 68

12 Wo	12_Gr2	12_Gr1	-12,149	0,01224	0,05	1
12 Wo	12_Gr3	12_Gr1	-13,815	0,00341	0,05	1
12 Wo	12_Gr3	12_Gr2	-1,667	0,97225	0,05	0
12 Wo	12_Gr4	12_Gr1	-16,554	0,00035	0,05	1
12 Wo	12_Gr4	12_Gr2	-4,406	0,66011	0,05	0
12 Wo	12_Gr4	12_Gr3	-2,739	0,89092	0,05	0

8.5.2.4. BLAND-ALTMAN-STATISTIKEN FÜR DIE ORIGINALDATEN

Zur Erstellung der Bland-Altman-Diagramme wurde je Gewebeprobe ein Mittelwert aus allen MRT-Schnittbildern bzw. histologischen Dünnschliffen gebildet. Somit wurden immer exakt dieselben Proben verglichen. In ein Bland-Altman-Diagramm gehen pro Messparameter alle Daten aus allen Gruppen und Zeiten ein. Die Berechnung der Konfidenzintervalle des Mittelwertes und der Übereinstimmungsgrenzen ist Kap. 3.17.4 zu entnehmen.

Nr. 14 BA für Knochenanteil im Defekt BV

Tab. 69 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysenmethoden, für BV. Die KI schließen den Wert »0« (knapp) nicht mit ein.

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [%]	Histo_MW _{BV} [%]	(MRT+Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstimmungsgrenze [%]	untere Übereinstimmungsgrenze [%]
31	6	1	14,637	27,624	21,131	12,987	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
32	6	1	20,907	20,097	20,502	-0,810	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
2	9	1	30,205	29,554	29,880	-0,651	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
3	9	1	24,717	29,458	27,088	4,741	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
19	12	1	23,221	28,721	25,971	5,500	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
20	12	1	43,654	56,983	50,319	13,329	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
21	12	1	23,894	35,930	29,912	12,036	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
40	6	2	14,765	18,784	16,775	4,019	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
42	6	2	28,611	20,564	24,588	-8,047	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
8	9	2	17,071	28,887	22,979	11,816	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
9	9	2	22,565	21,889	22,227	-0,676	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472

Fortsetzung Tab. 69

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [%]	Histo_MW _{BV} [%]	(MRT+Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstimmungsgrenze [%]	untere Übereinstimmungsgrenze [%]
22	12	2	15,717	18,392	17,055	2,675	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
23	12	2	14,795	18,369	16,582	3,574	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
24	12	2	23,812	26,834	25,323	3,022	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
57	6	3	12,266	11,841	12,054	-0,425	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
58	6	3	20,720	10,832	15,776	-9,888	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
73	9	3	17,105	22,784	19,945	5,679	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
74	9	3	11,335	9,768	10,552	-1,567	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
45	12	3	15,392	28,036	21,714	12,644	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
47	12	3	18,352	20,269	19,311	1,917	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
48	12	3	15,579	19,855	17,717	4,276	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
64	6	4	27,329	28,571	27,950	1,242	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
65	6	4	19,922	19,427	19,675	-0,495	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
80	9	4	27,818	27,956	27,887	0,138	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
82	9	4	17,684	13,949	15,817	-3,735	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
49	12	4	15,026	12,373	13,700	-2,653	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
50	12	4	10,020	8,095	9,058	-1,925	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472
51	12	4	16,061	13,621	14,841	-2,440	2,367	4,709	0,025	14,206	-9,472

Nr. 15 BA für die ursprüngliche Defektfläche DF100

Tab. 70 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysemethoden, für DF100. Die KI schließen den Wert »0« (knapp) nicht mit ein.

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [mm ²]	Histo_MW _{BV} [mm ²]	(MRT+Histo)/2 [mm ²]	Histo-MRT [mm ²]	MW d. Diff [mm ²]	oberes 95% KI des MW [mm ²]	unteres 95% KI des MW [mm ²]	obere Übereinstimmungsgrenze [mm ²]	untere Übereinstimmungsgrenze [mm ²]
31	6	1	2,761	1,694	2,228	-1,067	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
32	6	1	1,990	1,762	1,876	-0,228	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
2	9	1	2,139	1,706	1,923	-0,433	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
3	9	1	2,013	1,492	1,753	-0,521	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
19	12	1	2,345	2,121	2,233	-0,224	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
20	12	1	1,825	1,785	1,805	-0,040	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
21	12	1	1,760	1,399	1,580	-0,361	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
40	6	2	1,674	1,528	1,601	-0,146	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
42	6	2	2,425	1,579	2,002	-0,846	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
8	9	2	1,854	1,616	1,735	-0,238	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
9	9	2	1,342	1,408	1,375	0,066	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
22	12	2	1,885	1,979	1,932	0,094	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
23	12	2	2,096	1,415	1,756	-0,681	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
24	12	2	2,037	1,506	1,772	-0,531	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156

Fortsetzung Tab. 70

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [mm ²]	Histo_MW _{BV} [mm ²]	(MRT+Histo)/2 [mm ²]	Histo-MRT [mm ²]	MW d. Diff [mm ²]	oberes 95% KI des MW [mm ²]	unteres 95% KI des MW [mm ²]	obere Übereinstimmungsgrenze [mm ²]	untere Übereinstimmungsgrenze [mm ²]
57	6	3	2,563	1,813	2,188	-0,750	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
58	6	3	2,546	1,972	2,259	-0,574	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
73	9	3	1,714	1,692	1,703	-0,022	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
74	9	3	2,028	2,800	2,414	0,772	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
45	12	3	1,929	1,871	1,900	-0,058	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
47	12	3	2,031	1,913	1,972	-0,118	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
48	12	3	2,047	1,524	1,786	-0,523	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
64	6	4	1,986	1,048	1,517	-0,938	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
65	6	4	2,292	1,649	1,971	-0,643	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
80	9	4	2,062	2,446	2,254	0,384	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
82	9	4	1,824	2,138	1,981	0,314	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
49	12	4	1,908	2,525	2,217	0,617	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
50	12	4	2,052	2,698	2,375	0,646	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
51	12	4	2,214	2,085	2,150	-0,129	-0,221	-0,036	-0,406	0,715	-1,156
		MW	2,048	1,827							
		Stabw	0,298	0,413							

Nr. 16 BA für die verbliebene Defektbreite DB

Tab. 71 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysenmethoden, für DB. Die KI schließen den Wert »0« nicht mit ein.

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [%]	Histo_MW _{BV} [%]	(MRT+Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstimmungsgrenze [%]	untere Übereinstimmungsgrenze [%]
31	6	1	75,819	58,766	67,293	-17,053	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
32	6	1	72,981	62,633	67,807	-10,348	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
2	9	1	69,652	54,403	62,028	-15,249	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
3	9	1	69,368	57,391	63,380	-11,977	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
19	12	1	68,901	55,579	62,240	-13,322	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
20	12	1	41,115	31,951	36,533	-9,164	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
21	12	1	63,283	58,071	60,677	-5,212	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
40	6	2	65,879	65,660	65,770	-0,219	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
42	6	2	66,249	70,019	68,134	3,770	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
8	9	2	80,336	61,199	70,768	-19,137	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
9	9	2	72,293	71,652	71,973	-0,641	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
22	12	2	77,666	71,937	74,802	-5,729	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
23	12	2	85,863	76,365	81,114	-9,498	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
24	12	2	71,561	63,362	67,462	-8,199	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151

Fortsetzung Tab. 71

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [%]	Histo_MW _{BV} [%]	(MRT+Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstimmungsgrenze [%]	untere Übereinstimmungsgrenze [%]
57	6	3	86,694	68,364	77,529	-18,330	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
58	6	3	80,647	82,277	81,462	1,630	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
73	9	3	68,752	69,640	69,196	0,888	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
74	9	3	85,411	79,356	82,384	-6,055	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
45	12	3	83,621	73,252	78,437	-10,369	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
47	12	3	79,163	74,012	76,588	-5,151	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
48	12	3	82,297	74,517	78,407	-7,780	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
64	6	4	73,290	63,931	68,611	-9,359	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
65	6	4	68,905	67,481	68,193	-1,424	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
80	9	4	70,303	68,158	69,231	-2,145	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
82	9	4	86,924	82,675	84,800	-4,249	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
49	12	4	83,303	77,674	80,489	-5,629	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
50	12	4	86,633	88,608	87,621	1,975	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151
51	12	4	82,051	81,619	81,835	-0,432	-6,729	-4,271	-9,186	5,694	-19,151

Nr. 17 BA für die ursprüngliche Defektbreite DB100

Tab. 72 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysemethoden, für DB100. Die KI schließen den Wert »0« nicht mit ein.

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [mm]	Histo_MW _{BV} [mm]	(MRT+Histo)/2 [mm]	Histo-MRT [mm]	MW d. Diff [mm]	oberes 95% KI des MW [mm]	unteres 95% KI des MW [mm]	obere Übereinstimmungsgrenze [mm]	untere Übereinstimmungsgrenze [mm]
31	6	1	3,715	3,405	3,560	-0,310	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
32	6	1	3,343	3,215	3,279	-0,128	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
2	9	1	3,998	3,620	3,809	-0,378	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
3	9	1	3,680	3,280	3,480	-0,400	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
19	12	1	3,055	3,153	3,104	0,098	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
20	12	1	3,055	3,210	3,133	0,155	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
21	12	1	3,177	3,414	3,296	0,237	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
40	6	2	3,045	2,848	2,947	-0,197	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
42	6	2	3,876	3,321	3,599	-0,555	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
8	9	2	3,367	3,585	3,476	0,218	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
9	9	2	2,991	3,413	3,202	0,422	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
22	12	2	3,490	3,085	3,288	-0,405	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
23	12	2	3,446	3,514	3,480	0,068	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
24	12	2	3,553	3,527	3,540	-0,026	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924

Fortsetzung Tab. 72

Tier	Zeit [Wo]	Gruppe	MRT_MW _{BV} [mm]	Histo_MW _{BV} [mm]	(MRT+Histo)/2 [mm]	Histo-MRT [mm]	MW d. Diff [mm]	oberes 95% KI des MW [mm]	unteres 95% KI des MW [mm]	obere Übereinstimmungsgrenze [mm]	untere Übereinstimmungsgrenze [mm]
57	6	3	3,724	2,881	3,303	-0,843	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
58	6	3	3,734	2,920	3,327	-0,814	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
73	9	3	3,280	3,268	3,274	-0,012	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
74	9	3	3,573	3,384	3,479	-0,189	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
45	12	3	3,739	3,386	3,563	-0,353	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
47	12	3	3,499	2,692	3,096	-0,807	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
48	12	3	3,519	3,000	3,260	-0,519	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
64	6	4	3,289	2,452	2,871	-0,837	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
65	6	4	3,514	2,969	3,242	-0,545	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
80	9	4	3,490	3,354	3,422	-0,136	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
82	9	4	3,539	3,248	3,394	-0,291	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
49	12	4	3,583	3,281	3,432	-0,302	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
50	12	4	3,324	3,313	3,319	-0,011	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924
51	12	4	3,715	3,454	3,585	-0,261	-0,254	-0,122	-0,387	0,415	-0,924

Nr. 18 Berechnete p-Werte des gemischten, linearen Modells: BV

Nullhypothese	H_0	Die Mittelwerte der quantifizierten Knochenanteile im Defekt BV aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie sind gleichwertig.
Alternativhypothese	H_1	Die Mittelwerte der quantifizierten Knochenanteile im Defekt BV aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie sind verschieden.

Die Nullhypothese wird verworfen, wenn gilt: $p \leq \alpha$. Analog zur Bland-Altman-Statistik wurde für die Auswertung je Gewebeprobe der Tiere aus den einzelnen MRT-Schnittbildern und den histologischen Dünnschliffen ein Mittelwert gebildet. Somit wurden immer exakt dieselben Proben verglichen.

Tab. 73 Gemischtes, lineares Modell mit Berücksichtigung der individuellen Werte, für BV.

Quelle	Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	α	p-Wert
Konstanter Term (individuelle Werte)	1	28	556,514	0,05	0,00000
Auswertung (MRT vs. Histomorphometrie)	1	28	7,550	0,05	0,01038
Zeit (6, 9 und 12 Wochen)	2	28	0,602	0,05	0,55485
Gruppe (Gruppe 1 bis Gruppe 4)	3	28	7,897	0,05	0,00057

Die Nullhypothese wird verworfen. Innerhalb der Datensätze für BV aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie treten signifikante (überzufällige) Unterschiede auf.

Nr. 19 Berechnete p-Werte des gemischten, linearen Modells: DB

Nullhypothese	H_0	Die Mittelwerte der quantifizierten verbliebenen Defektbreiten DB aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie sind gleichwertig.
Alternativhypothese	H_1	Die Mittelwerte der quantifizierten verbliebenen Defektbreiten DB aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie sind verschieden.

Tab. 74 Gemischtes, lineares Modell mit Berücksichtigung der individuellen Werte, für DB.

Quelle	Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	α	p-Wert
Konstanter Term (individuelle Werte)	1	28	3715,870	0,05	0,00000
Auswertung (MRT vs. Histomorphometrie)	1	28	154,026	0,05	0,00000

Fortsetzung Tab. 74

Quelle	Zähler-Freiheitsgrade	Nenner-Freiheitsgrade	F-Wert	α	p-Wert
Zeit (6, 9 und 12 Wochen)	2	28	1,097	0,05	0,34774
Gruppe (Gruppe 1 bis Gruppe 4)	3	28	7,810	0,05	0,00061

Die Nullhypothese wird verworfen. Innerhalb der Datensätze für *DB* aus MRT-Bestimmung und Histomorphometrie treten hoch-signifikante ($p \ll 0,001$) Unterschiede auf.

8.5.3. Mehrfachmessungen zur Bestimmung der Präzision der Analysenmethoden

8.5.3.1. DESKRIPTIVE STATISTIK – MRT, HISTOMORPHOMETRIE UND DER MESSWERTDIFFERENZEN**Tab. 75** Deskriptive Statistik aller quantifizierten Kennwerte der Mehrfachmessungen für die MRT- und histomorphometrische Bestimmung sowie der Messwertsdifferenzen.

Datensatz	Merkmal	Einheit	N _{ges}	MW	Stabw	SEM	Länge 95% KI	Unteres 95% KI	Oberes 95% KI	Min	Max	Range	VarK	rel. Stabw [%]
MRT	BV	%	20	23,608	3,072	0,687	1,438	22,170	25,045	17,288	29,699	12,411	0,130	13,014
Histo	BV	%	20	22,018	1,978	0,442	0,926	21,093	22,944	18,709	25,606	6,897	0,090	8,982
Histo-MRT	BV	%	20	-1,589	3,450	0,772	1,615	-3,204	0,026	-9,001	5,193	14,195		
MRT	DF100	mm ²	20	1,836	0,155	0,035	0,072	1,764	1,908	1,541	2,127	0,586	0,084	8,415
Histo	DF100	mm ²	20	1,718	0,081	0,018	0,038	1,680	1,756	1,587	1,832	0,245	0,047	4,709
Histo-MRT	DF100	mm ²	20	-0,118	0,162	0,036	0,076	-0,194	-0,042	-0,365	0,170	0,534		
MRT	DB	%	20	69,002	1,574	0,352	0,736	68,266	69,739	66,332	72,821	6,489	0,023	2,281
Histo	DB	%	20	68,346	0,651	0,146	0,305	68,041	68,650	67,225	70,061	2,836	0,010	0,953
Histo-MRT	DB	%	20	-0,657	1,386	0,310	0,649	-1,305	-0,008	-4,389	1,349	5,738		
MRT	DB100	mm	20	3,880	0,049	0,011	0,023	3,857	3,903	3,809	3,965	0,156	0,013	1,268
Histo	DB100	mm	20	3,859	0,027	0,006	0,013	3,846	3,871	3,818	3,907	0,089	0,007	0,696
Histo-MRT	DB100	mm	20	-0,021	0,065	0,015	0,030	-0,051	0,009	-0,125	0,095	0,220		

8.5.3.2. ERGEBNISSE DER GEPAARTEN T-TESTS ZUM VERGLEICH DER MESSREIHEN AUS QUANTITATIVER MRT UND HISTOMORPHOMETRIE

Tab. 76 Prüfung auf statistische Unterschiede zwischen den Messreihen, t-Statistik. Die Messreihen für *BV* und *DB100* sind nicht signifikant verschieden.

Merkmal	N _{ges}	df	T _{krit}	T _{Prüf}	α	p-Wert
BV	20	19	2,093	2,05982	0,05	0,05338
DF100	20	19	2,093	3,26314	0,05	0,00409
DB	20	19	2,093	2,11894	0,05	0,04750
DB100	20	19	2,093	1,45158	0,05	0,16293

8.5.3.3. BLAND-ALTMAN-STATISTIKEN DER KENNWERTE AUS DEN MEHRFACHMESSUNGEN

Nr. 20 BA für Knochenanteil im Defekt BV

Tab. 77 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysenmethoden, für *BV*. Die KI schließen den Wert »0« mit ein.

Messung	BV_MRT [%]	BV_Histo [%]	(MRT +Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstimmungsgrenze [%]	untere Übereinstimmungsgrenze [%]
1	21,619	21,755	21,687	0,136	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
2	24,551	25,606	25,078	1,054	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
3	19,577	22,508	21,043	2,931	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
4	23,725	24,027	23,876	0,302	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
5	27,096	23,132	25,114	-3,964	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352

Fortsetzung Tab. 77

Messung	BV_MRT [%]	BV_Histo [%]	(MRT +Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstim- mungsgrenze [%]	untere Übereinstim- mungsgrenze [%]
6	22,783	20,995	21,889	-1,787	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
7	25,771	18,709	22,240	-7,062	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
8	20,318	22,376	21,347	2,058	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
9	21,585	20,517	21,051	-1,068	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
10	22,400	20,310	21,355	-2,090	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
11	27,881	18,880	23,380	-9,001	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
12	22,743	19,002	20,872	-3,741	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
13	27,990	22,798	25,394	-5,192	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
14	23,684	22,482	23,083	-1,202	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
15	29,699	25,022	27,360	-4,677	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
16	24,520	20,590	22,555	-3,930	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
17	17,288	22,482	19,885	5,193	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
18	20,807	21,400	21,103	0,592	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
19	24,153	23,631	23,892	-0,523	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352
20	23,960	24,146	24,053	0,186	-1,589	0,026	-3,204	5,173	-8,352

Nr. 21 BA für die ursprüngliche Defektfläche DF100

Tab. 78 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysenmethoden, für DF100. Die KI schließen den Wert »0« nicht mit ein.

Messung	DF100_MRT [mm ²]	DF100_Histo [mm ²]	(MRT +Histo)/2 [mm ²]	Histo-MRT [mm ²]	MW d. Diff [mm ²]	oberes 95% KI des MW [mm ²]	unteres 95% KI des MW [mm ²]	obere Übereinstim- mungsgrenze [mm ²]	untere Übereinstim- mungsgrenze [mm ²]
1	1,941	1,828	1,884	-0,113	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
2	1,871	1,661	1,766	-0,210	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
3	1,949	1,713	1,831	-0,236	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
4	1,974	1,610	1,792	-0,365	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
5	1,566	1,587	1,576	0,021	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
6	1,755	1,656	1,705	-0,099	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
7	1,782	1,628	1,705	-0,155	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
8	1,825	1,687	1,756	-0,138	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
9	2,022	1,738	1,880	-0,283	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
10	1,907	1,789	1,848	-0,119	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
11	1,642	1,811	1,727	0,170	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
12	1,791	1,832	1,812	0,040	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
13	1,761	1,684	1,722	-0,077	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
14	1,913	1,624	1,769	-0,290	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
15	1,875	1,647	1,761	-0,228	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
16	1,749	1,797	1,773	0,048	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
17	2,127	1,815	1,971	-0,312	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435

Fortsetzung Tab. 78

Messung	DF100_MRT [mm ²]	DF100_Histo [mm ²]	(MRT +Histo)/2 [mm ²]	Histo-MRT [mm ²]	MW d. Diff [mm ²]	oberes 95% KI des MW [mm ²]	unteres 95% KI des MW [mm ²]	obere Übereinstim- mungsgrenze [mm ²]	untere Übereinstim- mungsgrenze [mm ²]
18	1,701	1,807	1,754	0,105	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
19	2,028	1,750	1,889	-0,277	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435
20	1,541	1,696	1,619	0,155	-0,118	-0,042	-0,194	0,199	-0,435

Nr. 22 BA für die verbliebene Defektbreite DB

Tab. 79 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysenmethoden, für DB. Die KI schließen den Wert »0« (knapp) nicht mit ein.

Messung	DB_MRT [%]	DB_Histo [%]	(MRT +Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstim- mungsgrenze [%]	untere Übereinstim- mungsgrenze [%]
1	70,202	70,061	70,132	-0,141	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
2	72,821	68,432	70,626	-4,389	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
3	71,282	68,490	69,886	-2,792	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
4	69,388	68,788	69,088	-0,600	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
5	68,812	68,656	68,734	-0,156	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
6	71,066	68,505	69,785	-2,561	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
7	68,657	68,684	68,670	0,027	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
8	69,192	67,891	68,541	-1,301	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
9	69,347	67,872	68,609	-1,475	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373

Fortsetzung Tab. 79

Messung	DB_MRT [%]	DB_Histo [%]	(MRT +Histo)/2 [%]	Histo-MRT [%]	MW d. Diff [%]	oberes 95% KI des MW [%]	unteres 95% KI des MW [%]	obere Übereinstim- mungsgrenze [%]	untere Übereinstim- mungsgrenze [%]
10	69,744	67,991	68,867	-1,752	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
11	67,822	67,533	67,677	-0,289	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
12	67,839	68,308	68,073	0,468	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
13	67,980	68,603	68,291	0,622	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
14	68,657	67,982	68,319	-0,675	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
15	67,839	68,546	68,192	0,706	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
16	67,822	67,815	67,818	-0,007	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
17	66,667	67,225	66,946	0,558	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
18	66,332	67,681	67,006	1,349	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
19	70,051	69,447	69,749	-0,603	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373
20	68,528	68,404	68,466	-0,124	-0,657	-0,008	-1,305	2,060	-3,373

Nr. 23 BA für die ursprüngliche Defektbreite DB100

Tab. 80 Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung der Analysenmethoden, für DB100. Die KI schließen den Wert »0« (knapp) mit ein.

Messung	DB100_MRT [mm]	DB100_Histo [mm]	(MRT +Histo)/2 [mm]	Histo-MRT [mm]	MW d. Diff [mm]	oberes 95% KI des MW [mm]	unteres 95% KI des MW [mm]	obere Übereinstim- mungsgrenze [mm]	untere Übereinstim- mungsgrenze [mm]
1	3,867	3,835	3,851	-0,033	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
2	3,809	3,900	3,854	0,091	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
3	3,809	3,904	3,856	0,095	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
4	3,828	3,874	3,851	0,045	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
5	3,945	3,821	3,883	-0,125	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
6	3,848	3,863	3,855	0,015	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
7	3,926	3,826	3,876	-0,100	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
8	3,867	3,853	3,860	-0,015	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
9	3,887	3,858	3,872	-0,029	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
10	3,809	3,876	3,842	0,067	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
11	3,945	3,907	3,926	-0,038	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
12	3,887	3,829	3,858	-0,058	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
13	3,965	3,857	3,911	-0,108	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
14	3,926	3,853	3,889	-0,073	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
15	3,887	3,868	3,877	-0,019	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
16	3,945	3,831	3,888	-0,114	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
17	3,867	3,881	3,874	0,014	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148

Fortsetzung Tab. 80

Messung	DB100_MRT [mm]	DB100_Histo [mm]	(MRT +Histo)/2 [mm]	Histo-MRT [mm]	MW d. Diff [mm]	oberes 95% KI des MW [mm]	unteres 95% KI des MW [mm]	obere Übereinstim- mungsgrenze [mm]	untere Übereinstim- mungsgrenze [mm]
18	3,887	3,862	3,874	-0,025	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
19	3,848	3,818	3,833	-0,030	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148
20	3,848	3,866	3,857	0,018	-0,021	-0,051	0,009	0,106	-0,148

III. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1	Darstellung der sieben Hierarchiestufen des Knochens.....	5
Abb. 2	Knochenzellen	8
Abb. 3	Darstellung des zeitlichen Verlaufes früher Implantat-Gewebe-Interaktionen.....	11
Abb. 4	Chemische Struktur von Polyetheretherketon (PEEK).....	14
Abb. 5	Darstellung der Arbeitsschritte zur Anfertigung gefärbter Dünnschliffe.....	23
Abb. 6	Skizze einer theoretischen Gewebeprobe mit Implantat.....	26
Abb. 7	Grundprinzip der Computertomographie.....	27
Abb. 8	Hounsfield-Skala verschiedener Gewebe und Organe.....	28
Abb. 9	(A) Präzessionsbewegung, (B) Boltzmann-Verteilung.....	31
Abb. 10	(A), (B), (C) und (D) Spin-Gymnastik bei HF-Anregung	33
Abb. 11	(A) FID, (B) Spektrum	35
Abb. 12	(A) Spektrale Dichteverteilung $J\omega$ für drei Substanzen.....	37
Abb. 13	(A), (B) und (C) Spin-Gymnastik bei Relaxation.....	39
Abb. 14	(A) NMR-Experiment. (B) MRT - Frequenzkodierung.....	41
Abb. 15	Schichtselektion durch Einstrahlung eines HF-Pulses.....	43
Abb. 16	Vergleich zwischen Frequenz- und Phasenkodierung	44
Abb. 17	(A) k-Raum, (B) Spin-Echo-Sequenz, (C) Fourier-Transformation und Filter	45
Abb. 18	Pulsschema einer klassischen Spin-Echo-Sequenz.....	46
Abb. 19	Schnittbilder einer Physalis	48
Abb. 20	Wirbelströme und metall-induzierte Bildartefakte in der MRT.....	54
Abb. 21	Artefakt-Quantifizierung	61
Abb. 22	Übersicht der Untersuchungsobjekte	62
Abb. 23	Ergebnisse der Kontaktwinkelbestimmung	63
Abb. 24	HF-Spulen.....	64
Abb. 25	Positionsabhängigkeit des HF-induzierten Artefaktes bei Cu	65
Abb. 26	Positionsabhängigkeit der Bildstörung bei Ti.....	66
Abb. 27	Vergleich der Artefaktgrößen für Cu und Ti in Abhängigkeit der Position und Echozeit.....	68
Abb. 28	Form der Gradientenpulse	71
Abb. 29	Gegenüberstellung der MR-Schnittbilder aller untersuchten Objekte	72
Abb. 30	MTS-Test.....	77
Abb. 31	Kalibriergerade zur MTS-Bestimmung.	78
Abb. 32	TNAP-Aktivität.	78
Abb. 33	Quantifizierung von PGE ₂ mittels kompetitiver ELISA.....	80
Abb. 34	Darstellung der Verteilung der Zellgrößen auf den drei Substraten	82
Abb. 35	hMSC auf der homogenen Ti-Oberfläche des PEEK/Ti-Verbundmaterials.....	83
Abb. 36	MTS-Test, Ergebnisse.	84
Abb. 37	PGE ₂ -Bestimmung, Ergebnisse	85
Abb. 38	(A) und (B) TNAP-Aktivität; (C) und (D)Ca ²⁺ - und PO ₄ ³⁻ -Bestimmung, Ergebnisse.....	86
Abb. 39	Schematische Darstellung und Abmaße des schraubenförmigen PEEK-Implantates.....	91
Abb. 40	(A) Analysenregionen und (B) MRT-Quantifizierung	95
Abb. 41	Longitudinale MRT-Schnittbilder der PEEK-Schraube.	98

Abb. 42	Dokumentation des zeitlichen Verlaufes der Osseointegration	98
Abb. 43	MRT-Schnittbilder und Kontraste nach zwei und acht Wochen.....	100
Abb. 44	Gegenüberstellung histologischer Abbildungen und entsprechender MRT-Schnittbilder.....	100
Abb. 45	Monitoring der Osseointegration im Zeitverlauf anhand der quantifizierten Parameter.....	102
Abb. 46	Gegenüberstellung der Ergebnisse für die Hart- und Weichgewebsquantifizierung	103
Abb. 47	Darstellung des Einflusses der Schnittrichtung	108
Abb. 48	Geistlich BioOss [®] Collagen	114
Abb. 49	Position des Oberkieferdefektes	115
Abb. 50	Tier 2 als Grundlage für Wiederholungsmessungen.....	119
Abb. 51	Detektierbare Gewebestrukturen.	123
Abb. 52	Koronare und axiale MRT-Schnittbilder mit und ohne BioOss [®] Collagen	125
Abb. 53	MRT-Kontraste.....	126
Abb. 54	Gefärbtes Präparat, polyfluorochrome Sequenzmarkierung und MRT-Schnittbild.....	127
Abb. 55	Zeitlicher Verlauf der Defektossifikation, Gr. 1 und Gr. 2	129
Abb. 56	Zeitlicher Verlaufs der Defektossifikation, Gr. 3 und Gr. 4	130
Abb. 57	Histomorphometrie aller Tiere, Ergebnisse für BV und DB.....	131
Abb. 58	Gegenüberstellung der Ergebnisse aus qMRT und Histomorphometrie für BV.....	134
Abb. 59	Gegenüberstellung der Ergebnisse aus qMRT und Histomorphometrie für DB.....	135
Abb. 60	Konkordanzanalyse der Originaldaten.....	139
Abb. 61	Ergebnisse der Messwiederholungen beider Methoden im Vergleich.....	142
Abb. 62	Konkordanzanalyse der Ergebnisse aus den Messwiederholungen	144
Abb. 63	Einfluss der Schnittebenen auf die quantitativen Ergebnisse.	145
Abb. 64	Überblick über die Anwendungsmöglichkeiten der MRT in der Biomaterialforschung.	156
Abb. 65	Aufbau eines (A) NMR-Spektrometers und (B) eines Magnetresonanztomographen.....	159
Abb. 66	Ratten-Femura zur Optimierung der Lagerung der Gewebeproben.....	160
Abb. 67	Gewebe-Phantom, um die Klassifizierung der Weichgewebe	161
Abb. 68	MRT-Kontraste axialer Schnittbilder des Weichgewebsphantoms	162
Abb. 69	Box-Plots wie in der vorliegenden Arbeit verwendet	163

IV. TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1	Zusammensetzung und Strukturparameter von Knochenapatit und Hydroxylapatit	6
Tab. 2	Physikalische Eigenschaften von Titan und PEEK im Vergleich.....	15
Tab. 3	Übersicht über die Indikationen für Knochenersatz in der Zahnmedizin	17
Tab. 4	Übersicht über in der Literatur gebräuchliche Klassifizierungssysteme für den Knochenersatz..	18
Tab. 5	Einteilung des Knochenersatzes nach Herkunft	18
Tab. 6	T1- und T2-Werte ausgewählter Gewebe bei 1,5 T und 3,0 T	49
Tab. 7	Metallinduzierte Artefakte bei Implantaten	52
Tab. 8	Eignungsklassen für Biomaterialien und Instrumente nach ASTM-Norm F2503 - 13.....	55
Tab. 9	Übersicht über die im Kapitel 3 untersuchten Objekte.	60
Tab. 10	Gegenüberstellung des spez. Widerstandes und der magn. Suszeptibilität der Objekte	63
Tab. 11	Positionsabhängigkeit der Bildstörung für Cu und Ti.	67
Tab. 12	Einfluss ausgewählter Experimentalparameter auf die Artefaktgröße bei Ti	69
Tab. 13	Laterale Auflösung in Abhängigkeit der Pixelanzahl	70
Tab. 14	Gegenüberstellung spektralen Breite mit der Bandbreite und der dwell time	70
Tab. 15	Zusammenfassung des Einflusses der Beschichtung und Position des Objektes.....	72
Tab. 16	Verwendete Antikörper für kompetitive ELISA zur PGE ₂ -Bestimmung.	80
Tab. 17	Für Immunfluoreszenzfärbung verwendete Antikörper.....	81
Tab. 18	Für Immunfluoreszenzfärbung verwendete Pufferlösungen.	81
Tab. 19	Charakteristik der ausgewählten Analyseregionen (ROI 1 bis ROI 4).	94
Tab. 20	Auflistung der Fragestellungen für die statistische Auswertung der Studie aus Kapitel 5	96
Tab. 21	Materialeigenschaften von PEEK und PEEK-Kompositen im Vergleich zum Titan.	105
Tab. 22	Experimentelle Gruppen der Studie aus Kapitel 6.....	115
Tab. 23	Vorgehensweise bei der Quantifizierung.....	118
Tab. 24	Auflistung der Fragestellungen für die statistische Auswertung	121
Tab. 25	Auflistung der Bland-Altman-Statistiken für die Messwiederholungen.....	122
Tab. 26	Detektierbare Gewebestrukturen der koronaren Abbildungen	123
Tab. 27	Statistische Kennzahlen der Bland-Altman-Auswertung, Originaldaten.....	138
Tab. 28	Deskriptive Statistik der Ergebnisse der Wiederholungsmessungen.....	142
Tab. 29	Statistische Kennzahlen der Bland-Altman-Auswertung, Wiederholungsmessungen.....	145
Tab. 30	Hauptkomponenten von NMR-Spektrometern bzw. Magnetresonanztomographen	158
Tab. 31	Messparameter für die MRT-Experimente am Gewebephantom	161
Tab. 32	Deskriptive Statistik für quantifizierte Kennzahlen aus MRT-Schnittbildern.	164
Tab. 33	Deskriptive Statistik für quantifizierte Kennzahlen aus den histologischen Abbildungen	165
Tab. 34	Zusammengefasste Ergebnisse der Quantifizierung	166
Tab. 35	Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.	167
Tab. 36	Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.	168
Tab. 37	Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.	168
Tab. 38	Mittelwertsvergleich nach Tukey, Zeitabhängigkeit, ROI konstant.	168
Tab. 39	Mittelwertsvergleich nach Tukey, Unterschiede zwischen den ROI, Zeit konstant.	169
Tab. 40	Mittelwertsvergleich nach Tukey, Unterschiede zwischen den ROI, Zeit konstant.	170

Tab. 41	t-Test für zwei unverbundene Datensätze	170
Tab. 42	Gemischtes, lineares Modell mit Berücksichtigung der individuellen Werte	171
Tab. 43	Histologische Dünnschliffe des Randbereiches, die für die Histo ausgeschlossen wurden	172
Tab. 44	Deskriptive Statistik der Knochenanteile im Defekt (<i>BV</i>), MRT-Auswertung	173
Tab. 45	Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektflächen (<i>DF100</i>), MRT-Auswertung	174
Tab. 46	Deskriptive Statistik der verbliebenen Defektbreiten (<i>DB</i>), MRT-Auswertung	175
Tab. 47	Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektbreiten (<i>DB100</i>), MRT-Auswertung	176
Tab. 48	Deskriptive Statistik der Knochenanteile im Defekt (<i>BV</i>), Histo aller Tiere	177
Tab. 49	Deskriptive Statistik der Knochenanteile im Defekt (<i>BV</i>), Histo der MRT-Tiere	178
Tab. 50	Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektflächen (<i>DF100</i>), Histo aller Tiere	179
Tab. 51	Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektflächen (<i>DF100</i>), Histo der MRT-Tiere	180
Tab. 52	Deskriptive Statistik der verbliebenen Defektbreiten (<i>DB</i>), Histo aller Tiere	181
Tab. 53	Deskriptive Statistik der verbliebenen Defektbreiten (<i>DB</i>), Histo der MRT-Tiere	182
Tab. 54	Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektbreiten (<i>DB100</i>), Histo aller Tiere	183
Tab. 55	Deskriptive Statistik der ursprünglichen Defektbreiten (<i>DB100</i>), Histo der MRT-Tiere	184
Tab. 56	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>BV</i> , Zeitabhängigkeit, Gruppe konstant	185
Tab. 57	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>BV</i> , Gruppenabhängigkeit, Zeit konstant	185
Tab. 58	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>BV</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 1....	186
Tab. 59	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>BV</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 2....	186
Tab. 60	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>BV</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 3....	187
Tab. 61	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>BV</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 4....	187
Tab. 62	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>DB</i> , Zeitabhängigkeit, Gruppe konstant	187
Tab. 63	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>DB</i> , Gruppenabhängigkeit, Zeit konstant	188
Tab. 64	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>DB</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 1... ..	189
Tab. 65	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>DB</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 2... ..	189
Tab. 66	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>DB</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 3... ..	189
Tab. 67	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>DB</i> , Methodenabhängigkeit, Zeit konstant, Gruppe 4... ..	190
Tab. 68	Mittelwertsvergleich nach Scheffé für <i>BV</i> , Gruppenabhängigkeit, Zeit konstant	190
Tab. 69	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>BV</i>	192
Tab. 70	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>DF100</i>	194
Tab. 71	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>DB</i>	196
Tab. 72	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>DB100</i>	198
Tab. 73	Gemischtes, lineares Modell mit Berücksichtigung der individuellen Werte, für <i>BV</i>	200
Tab. 74	Gemischtes, lineares Modell mit Berücksichtigung der individuellen Werte, für <i>DB</i>	200
Tab. 75	Deskriptive Statistik aller quantifizierten Kennwerte der Mehrfachmessungen	202
Tab. 76	Prüfung auf statistische Unterschiede zwischen den Messreihen, t-Statistik	203
Tab. 77	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>BV</i>	203
Tab. 78	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>DF100</i>	205
Tab. 79	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>DB</i>	206
Tab. 80	Bland-Altman-Statistik zur Evaluierung der Übereinstimmung, für <i>DB100</i>	208

V. VERZEICHNIS WISSENSCHAFTLICHER VERÖFFENTLICHUNGEN

Beiträge in Fachzeitschriften

- 1 Elschner C, Korn P, Schulz MC, Jünger D, Range U, Scheler U. Osseointegration of dental implants: A combined magnetic resonance imaging and histology study. *BioNanoMat*; **2014**, 15: 204
- 2 Elschner C, Noack C, Preißler C, Krause A, Scheler U, Hempel U. In vitro Response of Human Mesenchymal Stromal Cells to Titanium Coated PEEK Films and Their Suitability for Magnetic Resonance Imaging. *J Mater Sci Technol*; **2015**, 31: 427–436
- 3 Korn P*, Elschner C*, Schulz MC, Range U, Mai R, Scheler U. MRI and dental implantology: Two which do not exclude each other. *Biomaterials*; **2015**, 53: 634–645
* Die Autoren teilen sich die Erstautorenschaft.
- 4 Korn P, Elschner C, Schulz MC, Range U, Mai R, Scheler U. Titanium coated PEEK implants as basis for multimodal imaging in implant research. *Int J Oral Max Surg*; **2015**, 44: e94
- 5 Elschner C, Korn P, Scheler U. Strong magnets to investigate novel dental implants. *Atlas of Science*; **2016**,
<http://atlasofscience.org/strong-magnets-to-investigate-novel-dental-implants/>
- 6 Elschner C, Krause A, Scheler U. Diminishing metal artefacts in conventional Magnetic Resonance Imaging using optimised experimental setup and surface coatings; **2016** (in preparation)
- 7 Elschner C, Hauptstock M, Schulz MC, Jünger D, Range U, Scheler U, *et al.* Bland-Altman analysis for measuring agreement between MRI and Histology; **2016** (in preparation)
- 8 Herklotz M, Melamed M, Trautmann C, Nitschke M, Pompe T, Gast FU, *et al.* Non-contact printing of proteins on reactive polymer surfaces: a novel route towards structured and graded cell culture carriers. *Microfluid Nanofluid*; **2007**, 3: 629–633^{cxxxviii}

Beiträge zu wissenschaftlichen Konferenzen bzw. Kolloquien

- 9 Elschner C, Bernhardt R, Vyalikh A, Scheler U. The influence of metallic objects on the quality of NMR images, **09.12.2010**. *IPF Kolloquium. Dresden* - (Vortrag)
- 10 Elschner C, Korn P, Schulz MC, Range U, Scheler U. The application of magnetic resonance imaging in biomaterial research, **05.03.2015**. *IPF Kolloquium. Dresden* - (Vortrag)
- 11 Elschner C, Mähr T, Krahn A, Engelke F, Scheler U. Influence of metallic implants on the quality of NMR images, **20.-23.09.2010**. *32nd Discussion Meeting and Joint Benelux/German Magnetic Resonance Conference. Münster* - (Poster)
- 12 Elschner C, Scheler U. Monitoring of early bone formation with Nuclear Magnetic Resonance Imaging, **09.-14.09.2013**. *35th FGMR Discussion Meeting & Joint Conference of the German, Italian and Slovenian Magnetic Resonance Societies. Frauenchiemsee* - (Vortrag)
- 13 Elschner C, Schulz MC, Range U, Scheler U, Korn P. Osseointegration of dental PEEK implants: A combined MRI and histology study, **06.-08.11.2014**. *Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Biomaterialien. Dresden* - (Poster)

^{cxxxviii} Beitrag entstand vor der Dissertationszeit.

-
- 14 Elschner C, Noack C, Preißler C, Krause A, Scheler U, Hempel U. Improving the biocompatibility of PEEK by coating with titanium, **12.-13.11.2014**. 22. *Neues Dresdner Vakuumtechnisches Kolloquium*. Dresden - (Poster)

Mitwirkung zu Beiträgen der Kooperationspartner

- 14 Bernhardt R, Elschner C, Vyalikh A, Böhme U, Scharnweber D, Scheler U. Correlation of soft- & hard tissue contrast between microCT and NMR imaging, **01.09.-02.09.2011**. 1. *Internationales Symposium des Transregio 67, »Frontiers in Biomaterial Science«*. Dresden - (Poster)
- 15 Korn P, Schulz MC, Range U, Mai R, Elschner C, Scheler U. Etablierung der MRT-Bildgebung in der Implantatforschung, **10.-13.06.2015**. 65. *Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*. Stuttgart - (Poster)
- 16 Korn P, Elschner C, Schulz MC, Range U, Mai R, Scheler U. Titanium coated PEEK implants as basis for multimodal imaging in implant research, **27. - 30.10.2015**. *International Conference on Oral and Maxillofacial Surgery*. Melbourne - (Vortrag)
- 17 Pradel W, Korn P, Schulz MC, Hauptstock M, Range U, Elschner C, Scheler U, Lauer G. Multimodale Bildgebung zur Beurteilung der Ossifikation im Oberkieferdefektmodell der Ratte, **01. - 04.06.2016**. 66. *Kongress und Praxisführungsseminar der Deutschen Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*. Hamburg - (Poster)

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. Seguin G, d'Incau E, Murail P, Maureille B. The earliest dental prosthesis in Celtic Gaul? The case of an Iron Age burial at Le Chêne, France. *Antiquity*; **2014**, 88: 488–500
2. Hench LL, Thompson I. Twenty-first century challenges for biomaterials. *J R Soc Interface*; **2010**, 7 Suppl 4: S379-91
3. Williams DF. On the nature of biomaterials. *Biomaterials*; **2009**, 30: 5897–5909
4. Holzapfel BM, Reichert JC, Schantz J, Gbureck U, Rackwitz L, Nöth U, *et al.* How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view. *Ad Drug Deliver Rev*; **2013**, 65: 581–603
5. Rau R, Sternberg K. Medizintechnik - die Grundlage unseres langen Lebens? - Zugewinne der Lebenszeit und Steigerung der Lebensqualität durch Implantate. *Traditio et Innovatio*; **2014**, 19: 14–19
6. Alsaadi G, Quirynen M, Komárek A, van Steenberghe D. Impact of local and systemic factors on the incidence of late oral implant loss. *Clin Oral Implants Res*; **2008**, 19: 670–676
7. Jung S. Herausforderungen der Implantatversorgung bei alternden Patienten - Komplikationsmanagement. ZWP online (Hrsg); **2014**. Verfügbar auf <http://www.zwp-online.info/de/fachgebiete/implantologie/komplikationsmanagement/herausforderungen-der-implantatversorgung-bei-alternden-patienten> [Erfasst am 26.01.2016]
8. Kuchler U. Diabetes mellitus in der Implantologie - Komplikationsmanagement. ZWP online (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf <http://www.zwp-online.info/de/fachgebiete/implantologie/komplikationsmanagement/diabetes-mellitus-der-implantologie> [Erfasst am 26.01.2016]
9. Pearce AI, Richards RG, Milz S, Schneider E, Pearce SG. Animal models for implant biomaterial research in bone: A review. *Eur Cells Mater*; **2007**, 13: 1–10
10. Appel AA, Anastasio MA, Larson JC, Brey EM. Imaging challenges in biomaterials and tissue engineering. *Biomaterials*; **2013**, 34: 6615–6630
11. Ventura M, Boerman OC, Korte C de, Rijpkema M, Heerschap A, Oosterwijk E, *et al.* Preclinical imaging in bone tissue engineering. *Tissue Eng Part B Rev*; **2014**, 20: 578–595
12. Stadlinger B, Pourmand P, Locher MC, Schulz MC. Systematic review of animal models for the study of implant integration, assessing the influence of material, surface and design. *J Clin Periodontol*; **2012**, 39 Suppl 12: 28–36
13. Cunha L, Horvath I, Ferreira S, Lemos J, Costa P, Vieira D, *et al.* Preclinical imaging: an essential ally in modern biosciences. *Mol Diagn Ther*; **2014**, 18: 153–173
14. Bernhardt R, Scharnweber D, Müller B, Thurner P, Schliephake H, Wyss P, *et al.* Comparison of microfocus- and synchrotron X-ray tomography for the analysis of osteointegration around Ti6Al4V implants. *Eur Cells Mater*; **2004**, 7: 42–51
15. Schick F. Bone marrow NMR in vivo. *Prog Nucl Mag Res Sp*; **1996**, 29: 169–227
16. Vande Berg, Bruno C., Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic resonance imaging of the normal bone marrow. *Skeletal Radiol*; **1998**, 27: 471–483
17. Wehrli FW, Song HK, Saha PK, Wright AC. Quantitative MRI for the assessment of bone structure and function. *NMR Biomed*; **2006**, 19: 731–764
18. Chesnick IE, Mason JT, Giuseppetti AA, Eidelman N, Potter K. Magnetic resonance microscopy of collagen mineralization. *Biophys J*; **2008**, 95: 2017–2026
19. Graf H, Lauer UA, Klemm T, Schnieder L, Schick F. Artefakte in der MRT durch Instrumente und Implantate. *Z Med Phys*; **2003**, 13: 165–170
20. Klódowski K, Kamiński J, Nowicka K, Tarasiuk J, Wroński S, Świętek M, *et al.* Micro-imaging of implanted scaffolds using combined MRI and micro-CT. *Comput Med Imaging Graph*; **2014**, 38: 458–468
21. Bernhardt R, Kuhlisch E, Schulz MC, Eckelt U, Stadlinger B. Comparison of bone-implant contact and bone-implant volume between 2D-histological sections and 3D-SRμCT slices. *Eur Cells Mater*; **2012**, 23: 237–248
22. Park Y, Yi K, Lee I, Jung Y. Correlation between microtomography and histomorphometry for assessment of implant osseointegration. *Clin Oral Implants Res*; **2005**, 16: 156–160
23. Wehrli FW. Structural and functional assessment of trabecular and cortical bone by micro magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging*; **2007**, 25: 390–409
24. Duer M, Veis A. Bone mineralization: Water brings order. *Nat Mater*; **2013**, 12: 1081–1082
25. Dorozhkin SV. Calcium Orthophosphates in Nature, Biology and Medicine. *Materials*; **2009**, 2: 399–498
26. Olszta MJ, Cheng X, Jee SS, Kumar R, Kim Y, Kaufman MJ, *et al.* Bone structure and formation: A new perspective. *Mater Sci Eng*; **2007**, 58: 77–116
27. Weiner S, Wagner HD. THE MATERIAL BONE: Structure-Mechanical Function Relations. *Annu Rev Mater Sci*; **1998**, 28: 271–298

-
28. Wang Y, Euv S von, Fernandes FM, Cassaignon S, Selmane M, Laurent G, *et al.* Water-mediated structuring of bone apatite. *Nat Mater*; **2013**, 12: 1144–1153
 29. Ross MH, Pawlina W. *Histology - A text and atlas ; with correlated cell and molecular biology*, 6. Auflage. *Baltimore u.a., Lippincott Williams & Wilkins [u.a.]*, **2011**. ISBN 978-0-7817-7200-6
 30. Shah-Derler B, Wintermantel E, Ha S. Gewebe. In: Wintermantel E, Ha S. *Medizintechnik Life Science Engineering*, 5. Auflage; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2009**, S. 163–178. ISBN 3540939350
 31. Taton TA. Nanotechnology. Boning up on biology. *Nature*; **2001**, 412: 491–492
 32. Dunlop JW, Fratzl P. Biological Composites. *Annu Rev Mater Res*; **2010**, 40: 1–24
 33. Nair AK, Gautieri A, Chang S, Buehler MJ. Molecular mechanics of mineralized collagen fibrils in bone. *Nat Commun*; **2013**, 4: 1724
 34. Doppler S. Alters-, Aktivitäts- und Krankheitsmerkmale in der menschlichen Knochenmikrostruktur: Eine vergleichende Studie einer individualaltersbekannteren historischen Population mit rezenten Menschen. Dissertation, *Ludwig-Maximilians-Universität München*, Fakultät für Biologie, **2008**
 35. Liu Q, Huang S, Matinlinna JP, Chen Z, Pan H. Insight into biological apatite: physiochemical properties and preparation approaches. *Biomed Res Int*; **2013**, 2013: 929748
 36. Dorozhkin SV, Epple M. Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten. *Angew Chem*; **2002**, 114: 3260–3277
 37. Wehrli FW, Fernández-Seara MA. Nuclear Magnetic Resonance Studies of Bone Water. *Ann Biomed Eng*; **2005**, 33: 79–86
 38. Knothe Tate, Melissa L. “Whither flows the fluid in bone?” An osteocyte's perspective. *J Biomech*; **2003**, 36: 1409–1424
 39. Terheyden H, Lang NP, Bierbaum S, Stadlinger B. Die Osseointegration - Kommunikation der Zellen. *Berlin, Quintessenz Berlin*, **2011**. ISBN 9783868671025
 40. Temiyasathit S, Jacobs CR. Osteocyte primary cilium and its role in bone mechanotransduction. *Ann N Y Acad Sci*; **2010**, 1192: 422–428
 41. Schünke M. Funktionelle Anatomie - Topographie und Funktion des Bewegungssystems. *Stuttgart [u.a.] Thieme*, **2000**. ISBN 9783131185716
 42. Fekete N, Rojewski M, Schmidtke-Schrezenmeier G, Schrezenmeier H. Mesenchymale Stromazellen und ihre klinische Anwendbarkeit. *Transfusionsmedizin*; **2012**, 2: 17–27
 43. Rühl R. Zur Calciumphosphatpräzipitation mit Phosphoserin, Fetuin, Osteocalcin, Kollagen und in Vesikeln. Dissertation, *Technische Universität Dresden*, Fakultät Maschinenwesen, **2011**
 44. Noack C. Untersuchung der osteogenen Differenzierung humaner mesenchymaler Stammzellen unter dem Einfluss von Dexamethason, Prostaglandin E2 und nativer, extrazellulärer Matrix. Dissertation, *Technische Universität Dresden*, Fakultät für Mathematik und Naturwissenschaften, **2010**
 45. Mironov V, Trusk T, Kasyanov V, Little S, Swaja R, Markwald R. Biofabrication: a 21st century manufacturing paradigm. *Biofabrication*; **2009**, 1: 22001
 46. Currey JD. *Bones - Structure and mechanics*. *Princeton, Princeton University Press*, **2002**. ISBN 1400849500
 47. Crockett JC, Rogers MJ, Coxon FP, Hocking LJ, Helfrich MH. Bone remodelling at a glance. *J Cell Sci*; **2011**, 124: 991–998
 48. Tecnos® s.r.l. OsteoBiol® by Tecnos - Bone grafting materials. Oral and maxillofacial products, Tecnos® s.r.l. (Giaveno). Verfügbar auf <http://www.osteobiol.com/CATALOGUE-MAXILLO.pdf> [Erfasst am 11.12.2014]
 49. Pajevic PD. Regulation of bone resorption and mineral homeostasis by osteocytes. *IBMS BoneKEy*; **2009**, 6: 63–70
 50. European nucleotides and bone consortium. Osteoclast resorbing bone; **2009**. Verfügbar auf <http://www.atpbone.org/Osteoclast%20resorbing%20bone.jpg> [Erfasst am 11.12.2014]
 51. Sims NA, Martin TJ. Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit. *BoneKEy reports*; **2014**, 3: 481
 52. Bala Y, Farlay D, Delmas PD, Meunier PJ, Boivin G. Time sequence of secondary mineralization and microhardness in cortical and cancellous bone from ewes. *Bone*; **2010**, 46: 1204–1212
 53. Parker SE, Valdés-Flores M, Orozco L, Velázquez-Cruz R. Molecular Aspects of Bone Remodeling. In: Valdés-Flores M. *Topics in Osteoporosis*; InTech, **2013**, S. 1–28. ISBN 978-953-51-1066-8
 54. Bio-Based News. Ford: Almost Ten Years of Biomaterials - Focus on soy-based PU foams, natural-fibre reinforced composites and plant based polymers. www.bio-based.eu/news (Hrsg); nova-Institut GmbH; **2009**. Verfügbar auf <http://news.bio-based.eu/ford-almost-ten-years-of-biomaterials/> [Erfasst am 28.01.2016]
 55. Williams DF. Definitions in biomaterials - Consensus conference : Papers. Progress in biomedical engineering, Band 4. *Amsterdam, Oxford, Elsevier*, **1987**. ISBN 9780444428585

56. Gelinsky M, Lode A, Bernhardt A, Rösen-Wolff A. Stem Cell Engineering for Regeneration of Bone Tissue. In: Artmann GM, Minger S, Hescheler J. *Stem Cell Engineering: Principles and Applications*; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2011**, S. 383–399. ISBN 978-3-642-11865-4
57. Luo Y, Lode A, Gelinsky M. Direct plotting of three-dimensional hollow fiber scaffolds based on concentrated alginate pastes for tissue engineering. *Adv Healthc Mater*; **2013**, 2: 777–783
58. Synytska A, Svetushkina E, Pureskiy N, Stoychev G, Berger S, Ionov L, Bellmann C, Eichhorn KJ, Stamm M. Biocompatible polymeric materials with switchable adhesion properties. *Soft Matter*; **2010**, 6: 5907
59. Müller M, Torger B, Bittrich E, Kaul E, Ionov L, Uhlmann P, Stamm M. In-situ ATR-FTIR for characterization of thin biorelated polymer films. *Thin Solid Films*; **2014**, 556: 1–8
60. Srivastava AK, Bulte, Jeff W M. Seeing stem cells at work in vivo. *Stem Cell Rev*; **2014**, 10: 127–144
61. Srivastava AK, Kadayakkara DK, Bar-Shir A, Gilad AA, McMahon MT, Bulte, Jeff W M. Advances in using MRI probes and sensors for in vivo cell tracking as applied to regenerative medicine. *Dis Model Mech*; **2015**, 8: 323–336
62. Stuart, Martien A Cohen, Huck, Wilhelm T S, Genzer J, Müller M, Ober C, Stamm M, *et al.* Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials. *Nat Mater*; **2010**, 9: 101–113
63. Scharnweber D. Biofunktionalisierte Oberflächen, **Apr 2011**. Modul »Biomaterial Design«. TRR 67, Integriertes Graduiertenkolleg »Matrixengineering«
64. Grainger DW. All charged up about implanted biomaterials. *Nat Biotechnol*; **2013**, 31: 507–509
65. Kapp H, Smola H. Regulation der Wundheilung durch Wachstumsfaktoren und Zytokine. *HARTMANN Wund-Forum*; **2006**, 13: 8–14
66. Geetha M, Singh AK, Asokamani R, Gogia AK. Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants - A review. *Prog Mater Sci*; **2009**, 54: 397–425
67. Kuzyk PR, Schemitsch EH. The basic science of peri-implant bone healing. *Indian J Orthop*; **2011**, 45: 108–115
68. Bergers G, Song S. The role of pericytes in blood-vessel formation and maintenance. *Neuro Oncol*; **2005**, 7: 452–464
69. Armulik A, Genové G, Betsholtz C. Pericytes: developmental, physiological, and pathological perspectives, problems, and promises. *Dev Cell*; **2011**, 21: 193–215
70. Schönau E, Fricke O. Muskel und Knochen - eine funktionelle Einheit. Paradigmenwechsel bei Skelettuntersuchungen von Kindern und Jugendlichen. *Dtsch Arztebl*; **2006**, 103: A3414-A3420
71. Branemark P. Osseointegration and its experimental background. *J Prosthet Dent*; **1983**, 50: 399–410
72. Schmidmaier G, Wildemann B. Grundlagen - Biologische und physiologische Grundlagen. In: Gradinger R, Gollwitzer H. *Ossäre Integration*. Heidelberg; Springer, **2006**, S. 24–29. ISBN 3540227210
73. Davis JE. Understanding peri-implant endosseous healing. *J Dent Educ*; **2003**, 67: 932–949
74. Rabel A. Untersuchung zur Primärstabilität zweier dentaler Implantatsysteme Untersuchung zur Primärstabilität zweier dentaler Implantatsysteme mittels Resonanz-Frequenz-Analyse in vivo. Dissertation, *Charité - Universitätsmedizin Berlin*, Medizinische Fakultät, **2007**
75. Albrektsson T, Zarb G, Worthington MD, Eriksson AR. The long-term efficacy of currently used dental implants: A review and proposed criteria of success. *Int J Oral Maxillofac Implants*; **1986**, 1: 11–25
76. Borgonovo A, Censi R, Vavassori V. Überlebens- und Erfolgsraten dentaler Zirkonimplantate - Klinischer Erfahrungsbericht über 5 Jahre. *Dentale Implantologie & Parodontologie Magazin* (Hrsg); **2012**. Verfügbar auf <http://www.dimagazin-aktuell.de/implantologie/implantologie-allgemein/story/ueberlebens-und-erfolgsraten-dentaler-zirkonimplantate/print.html> [Erfasst am 15.12.2014]
77. Buser D, Janner, Simone F M, Wittneben J, Brägger U, Ramseier CA, Salvi GE. 10-year survival and success rates of 511 titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a retrospective study in 303 partially edentulous patients. *Clin Implant Dent Relat Res*; **2012**, 14: 839–851
78. Özcan M, Hämmerle C. Titanium as a Reconstruction and Implant Material in Dentistry: Advantages and Pitfalls. *Materials*; **2012**, 5: 1528–1545
79. Ha S, Wintermantel E. Biokompatible Metalle. In: Wintermantel E, Ha S. *Medizintechnik Life Science Engineering*, 5. Auflage; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2009**, S. 191–218. ISBN 3540939350
80. Jacobi-Gresser E. Die Titanverträglichkeit in der Implantologie - Statement. *Implantologie Journal*; **2013**, 7: 36–41
81. Liu X, Chu PK, Ding C. Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications. *Mater Sci Eng*; **2004**, 47: 49–121
82. Park SE, Da Silva, John D, Weber H, Ishikawa-Nagai S. Optical phenomenon of peri-implant soft tissue. Part I. Spectrophotometric assessment of natural tooth gingiva and peri-implant mucosa. *Clin Oral Implants Res*; **2007**, 18: 569–574
83. Haßfeld S, Fiebach J, Widmann S, Heiland S, Mühling J. Magnetresonanztomographie zur Planung vor dentaler Implantation. *Mund Kiefer GesichtsChir*; **2001**, 5: 186–192

-
84. Schneucker T. Keramikimplantat bevorzugt. ZWP online (Hrsg); **2014**. Verfügbar auf <http://www.zwp-online.info/ch/fachgebiete/implantologie/keramikimplantate/keramikimplantat-bevorzugt> [Erfasst am 16.12.2014]
 85. Andreiotelli M, Wenz HJ, Kohal R. Are ceramic implants a viable alternative to titanium implants? A systematic literature review. *Clin Oral Implants Res*; **2009**, 20 Suppl 4: 32–47
 86. Denry I, Holloway JA. Ceramics for Dental Applications: A Review. *Materials*; **2010**, 3: 351–368
 87. Ehrl PA. Aluminiumoxidkeramische Implantate heute - Eine Übersicht. *ZWR*; **1984**, 93: 890–897
 88. Özkurt Z, Kazazoğlu E. Zirconia dental implants: a literature review. *J Oral Implantol*; **2011**, 37: 367–376
 89. Brune A, Lajavardi M, Fisler D, Wagner Jr. J. The electrical conductivity of yttria-stabilized zirconia prepared by precipitation from inorganic aqueous solutions. *Solid State Ionics*; **1998**, 106: 89–101
 90. Schenck JF. The role of magnetic susceptibility in magnetic resonance imaging: MRI magnetic compatibility of the first and second kinds. *Med Phys*; **1996**, 23: 815
 91. Rodrigues SP, Paiva JM, Francesco S de, Amaral MI, Oliveira FJ, Silva RF. Artifact level produced by different femoral head prostheses in CT imaging: diamond coated silicon nitride as total hip replacement material. *J Mater Sci Mater Med*; **2013**, 24: 231–239
 92. Wieland R. Gute Aussichten für Implantate aus Zirkonoxid. ZWP online (Hrsg); **2011**. Verfügbar auf <http://www.zwp-online.info/ch/zwpnews/dental-news/branchenmeldungen/gute-aussichten-fuer-implantate-aus-zirkonoxid> [Erfasst am 16.12.2014]
 93. Prithviraj DR, Regish KM, Deeksha S, Shruthi DP. Extraction and immediate placement of root analogue zirconia implants: an overview. *J Clin Exp Dent*; **2011**, 3: 240–245
 94. RÖMPP online. Polyetherketone, RÖMPP online; **2009**. Verfügbar auf <https://roemp.thieme.de/roemp4.0/do/data/RD-16-03227> [Erfasst am 17.12.2014]
 95. Kurtz SM, Devine JN. PEEK biomaterials in trauma, orthopedic, and spinal implants. *Biomaterials*; **2007**, 28: 4845–4869
 96. Jonas A, Legras R. Thermal stability and crystallization of poly(aryl ether ether ketone). *Polymer*; **1991**, 32: 2691–2706
 97. Mark JE. Polymer data handbook. *New York, Oxford University Press*, **1999**. ISBN 9780195107890
 98. Cebe P, Chung SY, Hong S. Effect of thermal history on mechanical properties of polyetheretherketone below the glass transition temperature. *J Appl Polym Sci*; **1987**, 33: 487–503
 99. Invibio Ltd. PEEK-optima product guide, Calvary Spine Products LLC; **2004**. Verfügbar auf http://calvaryspine.com/pdfs/PeekOptima_ProdGuide.pdf [Erfasst am 01.10.2015]
 100. Bearing Works Inc. PEEK (Polyetheretherketone). Verfügbar auf http://www.bearingworks.com/content_files/pdf/retainers/PEEK%20datasheet.pdf [Erfasst am 01.10.2015]
 101. van Krevelen DW, Hoftyzer PJ. Properties of polymers - Correlations with chemical structure. *Amsterdam, London, New York, Elsevier Publishing Company*, **1972**
 102. ASM Aerospace Specification. Titanium Grade 4; **2015**. Verfügbar auf <http://asm.matweb.com/search/SpecificMaterial.asp?bassnum=MTU040> [Erfasst am 01.10.2015]
 103. Schwitalla A, Müller W. PEEK dental implants: a review of the literature. *J Oral Implantol*; **2013**, 39: 743–749
 104. Guevara-Rojas G, Figl M, Schicho K, Seemann R, Traxler H, Vacariu A, et al. Patient-specific polyetheretherketone facial implants in a computer-aided planning workflow. *J Oral Maxillofac Surg*; **2014**, 72: 1801–1812
 105. Hufenbach W, Gottwald R, Markwardt J, Eckelt U, Modler N, Reitemeier B. Berechnung und experimentelle Prüfung einer Implantatstruktur in Faserverbundbauweise für die Überbrückung von Kontinuitätsdefekten des Unterkiefers. *Biomed Tech*; **2008**, 53: 306–313
 106. Knebel M. Implantate aus PEEK sorgen für neue Qualität in der Medizin. *elements39*; **2012**, 2: 28–33
 107. Shah AM, Jung H, Skirboll S. Materials used in cranioplasty: a history and analysis. *Neurosurg Focus*; **2014**, 36: E19
 108. Lethaus B, Safi Y, ter Laak-Poort M, Kloss-Brandstätter A, Banki F, Robbenmenke C, et al. Cranioplasty with customized titanium and PEEK implants in a mechanical stress model. *J Neurotrauma*; **2012**, 29: 1077–1083
 109. Grüßel I, Heinrichs M, Michalczyk V. Festsitzende Prothetik - Die Verwendung eines bioinerten Kunststoffes bei der implantatprothetischen Stegversorgung. Das internationale Zahntechnik-Magazin (Hrsg); **2013**. Verfügbar auf <http://www.ztm-aktuell.de/technik/festsitz-proth/story/die-verwendung-eines-bioinerten-kunststoffs-bei-der-implantatprothetischen-stegversorgung.html> [Erfasst am 17.12.2014]
 110. Kistler F, Adler S, Neugebauer J. PEEK - Hochleistungskunststoffe im implantatprothetischen Workflow. Anwenderbericht. *Implantologie Journal*; **2013**, 7: 42–50
 111. Siewert B, Rieger H. PEEK - Ein "neues" Gerüstmaterial für die metallfreie prothetische Therapie. Case report. *Quintessenz Zahntech*; **2013**, 39: 2–11
 112. Tetelman ED, Babbush CA. A new transitional abutment for immediate aesthetics and function. *Implant Dent*; **2008**, 17: 51–58

113. Bosler K. Zahnimplantat. *hundkatzeperferd*; **2011**, 4: 2–4
114. Sarot JR, Contar, Cintia Mussi Milani, Cruz, Ariadne Cristiane Cabral da, de Souza Magini, Ricardo. Evaluation of the stress distribution in CFR-PEEK dental implants by the three-dimensional finite element method. *J Mater Sci Mater Med*; **2010**, 21: 2079–2085
115. Lee W, Koak J, Lim Y, Kim S, Kwon H, Kim M. Stress shielding and fatigue limits of poly-ether-ether-ketone dental implants. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*; **2012**, 100: 1044–1052
116. Stawarczyk B, Beuer F, Wimmer T, Jahn D, Sener B, Roos M, *et al.* Polyetheretherketone - a suitable material for fixed dental prostheses? *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*; **2013**, 101: 1209–1216
117. Santing HJ, Meijer, Henny J A, Raghoobar GM, Özcan M. Fracture strength and failure mode of maxillary implant-supported provisional single crowns: a comparison of composite resin crowns fabricated directly over PEEK abutments and solid titanium abutments. *Clin Implant Dent Relat Res*; **2012**, 14: 882–889
118. Neumann, Eduardo Aloisio Fleck, Villar CC, França, Fabiana Mantovani Gomes. Fracture resistance of abutment screws made of titanium, polyetheretherketone, and carbon fiber-reinforced polyetheretherketone. *Braz oral res*; **2014**, 28: 1–5
119. Brown IW, Ring PA. Osteolytic changes in the upper femoral shaft following porous-coated hip replacement. *J Bone Joint Surg Br*; **1985**, 67
120. Sheets CG, Earthman JC. Natural tooth intrusion and reversal in implant-assisted prosthesis: Evidence of and a hypothesis for the occurrence. *J Prosthet Dent*; **1993**, 70: 513–520
121. Green S. Compounds and composite materials. In: Kurtz SM. *PEEK Biomaterials Handbook. Plastics Design Library*. Oxford, Waltham; William Andrew/Elsevier, **2012**, S. 23–48. ISBN 978-1-4377-4463-7
122. Rathe F, Schlee M. Implantatgetragene Restaurationen - zementieren oder verschrauben? *Quintessenz*; **2013**, 64: 1503–1508
123. Hallmann L, Mehl A, Sereno N, Hämmerle CH. The improvement of adhesive properties of PEEK through different pre-treatments. *Appl Surf Sci*; **2012**, 258: 7213–7218
124. Schmidlin PR, Stawarczyk B, Wieland M, Attin T, Hämmerle, Christoph H F, Fischer J. Effect of different surface pre-treatments and luting materials on shear bond strength to PEEK. *Dent Mater*; **2010**, 26: 553–559
125. Kern M, Lehmann F. Influence of surface conditioning on bonding to polyetheretherketon (PEEK). *Dent Mater*; **2012**, 28: 1280–1283
126. Ma R, Tang T. Current strategies to improve the bioactivity of PEEK. *Int J Mol Sci*; **2014**, 15: 5426–5445
127. Katzer A, Marquardt H, Westendorf J, Wening J, Foerster G von. Polyetheretherketone—cytotoxicity and mutagenicity in vitro. *Biomaterials*; **2002**, 23: 1749–1759
128. Zhao M, An M, Wang Q, Liu X, Lai W, Zhao X, *et al.* Quantitative proteomic analysis of human osteoblast-like MG-63 cells in response to bioinert implant material titanium and polyetheretherketone. *J Proteomics*; **2012**, 75: 3560–3573
129. Webster TJ, Patel AA, Rahaman MN, Sonny Bal B. Anti-infective and osteointegration properties of silicon nitride, poly(ether ether ketone), and titanium implants. *Acta Biomater*; **2012**, 8: 4447–4454
130. Poulsson, Alexandra H C, Eglin D, Zeiter S, Camenisch K, Sprecher C, Agarwal Y, *et al.* Osseointegration of machined, injection moulded and oxygen plasma modified PEEK implants in a sheep model. *Biomaterials*; **2014**, 35: 3717–3728
131. Zhao Y, Wong HM, Wang W, Li P, Xu Z, Chong, Eva Y W, *et al.* Cytocompatibility, osseointegration, and bioactivity of three-dimensional porous and nanostructured network on polyetheretherketone. *Biomaterials*; **2013**, 34: 9264–9277
132. Han C, Lee E, Kim H, Koh Y, Kim KN, Ha Y, *et al.* The electron beam deposition of titanium on polyetheretherketone (PEEK) and the resulting enhanced biological properties. *Biomaterials*; **2010**, 31: 3465–3470
133. Hahn B, Park D, Choi J, Ryu J, Yoon W, Choi J, *et al.* Osteoconductive hydroxyapatite coated PEEK for spinal fusion surgery. *Appl Surf Sci*; **2013**, 283: 6–11
134. Ma R, Fang L, Luo Z, Weng L, Song S, Zheng R, *et al.* Mechanical performance and in vivo bioactivity of functionally graded PEEK–HA biocomposite materials. *J Sol-Gel Sci Technol*; **2014**, 70: 339–345
135. Medtronic GmbH. Medtronic gibt globale Markteinführung von Wirbelkörper-Fusionssystemen aus PEEK mit Titanbeschichtung bekannt. Günther S, Matthes J. *Meerbusch. Pressemitteilung*, **20.10.2014**. Verfügbar auf http://www.medtronicheart.com/wcm/groups/mdtcom_sg/@mdt/@eu/@de/documents/documents/pm_de_peek_spine.pdf [Erfasst am 26.08.2015]
136. Invivo Biomaterials Solution. Erste europäische Zulassung für Implantat aus PEEK-Optima® HA Enhanced. Sauer B. *Hofheim am Taunus. Pressemitteilung*, **17.12.2014**. Verfügbar auf <http://www.presseportal.de/pm/115578/2908152> [Erfasst am 26.08.2015]
137. BioHPP - Die neue Werkstoffklasse in der Prothetik. bredent GmbH & Co. KG (Hrsg); **2013**. Verfügbar auf www.bredent.com/de/bredent/download/26735/ [Erfasst am 01.09.2015]
138. Cook SD, Rust-Dawicki AM. Preliminary evaluation of titanium-coated PEEK dental implants. *J Oral Implantol*; **1995**, 21: 176–181

139. Costa-Palau S, Torrents-Nicolas J, Brufau-de Barberà M, Cabratosa-Termes J. Use of polyetheretherketone in the fabrication of a maxillary obturator prosthesis: a clinical report. *J Prosthet Dent*; **2014**, 112: 680–682
140. Bosler K. Brücke statt Lücke. *hundkatzeferd*; **2012**, 4: 33–34
141. Khonsari RH, Berthier P, Rouillon T, Perrin J, Corre P. Severe infectious complications after PEEK-derived implant placement: Report of three cases. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol*; **2014**, 26: 477–482
142. S2-k-LEITLINIE. Implantologische Indikationen für die Anwendung von Knochenersatzmaterialien. AWMF-Registernummer: 083-009. Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (Hrsg); **2011**. Verfügbar auf <http://www.kzbv.de/083-009-anwendung-knochenersatzmaterialien-01-2011.download.78b4c905de9db7a5152105ac225f7af0.pdf> [Erfasst am 03.02.2015]
143. Braxein K. Histologische Untersuchungen zum biologischen Verhalten verschiedener Modifikationen eines Calcium-Phosphat-Zementes im Femur und Muskel der Ratte. Dissertation, *Bayerische Julius-Maximilians-Universität Würzburg*, Medizinische Fakultät, **2006**
144. Zahnlexikon. Augmentation. OPTI-DENT GmbH (Hrsg); **2016**. Verfügbar auf <http://www.zahnlexikon.com/index.php/s/41-a-z/s-lexikon/1947-sinuslift-sinusbodenelevation-mit-augmentation> [Erfasst am 02.02.2016]
145. Zahnlexikon. Sinuslift / Sinusbodenelevation mit Augmentation. OPTI-DENT GmbH (Hrsg); **2016**. Verfügbar auf <http://de.wikipedia.org/wiki/Sinuslift> [Erfasst am 03.02.2015]
146. Grospietzsch G, Gehring WG. Kieferknochenaufbau (Kieferknochenaugmentation). DocMedicus Verlag GmbH & Co. KG (Hrsg). Verfügbar auf <http://www.zahngesundheit-online.com/Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie/Kieferknochenaufbau/> [Erfasst am 03.02.2015]
147. Pagni G, Pellegrini G, Giannobile WV, Rasperini G. Postextraction alveolar ridge preservation: biological basis and treatments. *Int J Dent*; **2012**, 2012: 1–13
148. Linhart W, Meenen N, Rueger J. Knochenersatzmaterialien: Neue Möglichkeiten und Techniken. *OP-Journal*; **2000**, 16: 294–298
149. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A, Maffulli N. Bone regenerative medicine: classic options, novel strategies, and future directions. *J Orthop Surg Res*; **2014**, 9: 18
150. Rentsch C, Rentsch B, Scharnweber D, Zwipp H, Rammelt S. Knochenersatz. Transplantate und Ersatzmaterialien – ein Update. *Der Unfallchirurg*; **2012**, 115: 938–949
151. Hagen A, Gorennoi V, Schönermark MP. Knochenersatzmaterialien zur Behandlung von traumatischen Frakturen der Extremitäten. HTA-Bericht 119. Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information (Hrsg), Deutsche Agentur für Health Technology Assessment des Deutschen Instituts für Medizinische Dokumentation und Information; **2012**. Verfügbar auf http://portal.dimdi.de/de/hta/hta_berichte/hta281_bericht_de.pdf [Erfasst am 28.01.2015]
152. Dumitrescu AL. Chemicals in surgical periodontal therapy, - Chapter 2: Bone Grafts and Bone Graft Substitutes in Periodontal Therapy. *Heidelberg, Springer*, **2011**. ISBN 3642182240
153. Smeets R, Kolk A. Osteokonduktive und -induktive Knochenersatzmaterialien - Teil 1. ZMK aktuell (Hrsg); **2011**. Verfügbar auf <http://www.zmk-aktuell.de/zahnheilkunde/implantologie/story/osteokonduktive-und-induktive-knochenersatzmaterialien-teil-1.html> [Erfasst am 03.02.2015]
154. Khan WS, Rayan F, Dhinsa BS, Marsh D. An osteoconductive, osteoinductive, and osteogenic tissue-engineered product for trauma and orthopaedic surgery: How far are we? *Stem Cells Int*; **2012**, 2012: 236231
155. Szpalski C, Barbaro M, Sagebin F, Warren SM. Bone Tissue Engineering: Current strategies and techniques - Part II: Cell types. *Tissue Eng Part B Rev*; **2012**, 18: 258–269
156. Mironov V, Visconti RP, Kasyanov V, Forgacs G, Drake CJ, Markwald RR. Organ printing: tissue spheroids as building blocks. *Biomaterials*; **2009**, 30: 2164–2174
157. Szpalski C, Wetterau M, Barr J, Warren SM. Bone Tissue Engineering: Current strategies and techniques - Part I: Scaffolds. *Tissue Eng Part B Rev*; **2012**, 18: 246–257
158. Stevens MM. Biomaterials for bone tissue engineering. *Mater Today*; **2008**, 11: 18–25
159. Orbay H, Tobita M, Mizuno H. Mesenchymal stem cells isolated from adipose and other tissues: basic biological properties and clinical applications. *Stem Cells Int*; **2012**, 2012: 461718
160. Wintermantel E, Shah-Derler B, Bruinink A, Petitmermet M, Blum J, Ha S. Biokompatibilität. In: Wintermantel E, Ha S. *Medizintechnik Life Science Engineering*, 5. Auflage; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2009**, S. 67–104. ISBN 3540939350
161. Lendlein A. Polymere als Implantatwerkstoffe. *Chem Unserer Zeit*; **1999**, 33: 279–295
162. Davis JR. Handbook of materials for medical devices. *Materials Park, OH, ASM International*, **2003**. ISBN 9780871707901
163. Doser M. Bewertung der Biokompatibilität von Medizinprodukten. Workshop »Innovatives Medizinprodukt - was nun?«. Institut für Textil- und Verfahrenstechnik (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf http://www.bioregio-stern.de/files/attachments/news/vortrag_doser.pdf [Erfasst am 02.02.2016]

164. Gurav N, Di Silvio L. Biocompatibility of degradable polymers for tissue engineering. In: Di Silvio L. *Cellular Response to Biomaterials*; Elsevier, **2009**, S. 61–84. ISBN 9781845693589
165. Czekanska EM, Stoddart MJ, Richards RG, Hayes JS. In search of an osteoblast cell model for in vitro research. *Eur Cells Mater*; **2012**, 24: 1–17
166. Hempel U. Which cellular functions/parameters can be used as a reliable reference in order to normalize in vitro-data?, **Sept 2012**. Modul »Cell Methods«. TRR 67, *Integriertes Graduiertenkolleg »Matrixengineering«*
167. von der Mark, Klaus, Park J. Engineering biocompatible implant surfaces. *Prog Mater Sci*; **2013**, 58: 327–381
168. Kerschbaumer S. Grundlagen - Histologische Untersuchungen von Implantaten. In: Grading R, Gollwitzer H. *Ossäre Integration*. Heidelberg; Springer, **2006**, S. 38–45. ISBN 3540227210
169. Romeis B, Mulisch M, Welsch U. Romeis Mikroskopische Technik, 18. Auflage. *Dordrecht, Springer*, **2010**. ISBN 3827416760
170. Donath K, Breuner G. A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues* - The Säge-Schliff (sawing and grinding) Technique. *J Oral Pathol Med*; **1982**, 11: 318–326
171. Donath K. Preparation of Histologic Sections. EXAKT-Kulzer-Publikation (Hrsg); **1995**. Verfügbar auf http://www.exakt.de/fileadmin/user_upload/PDF/Preparation_of_Histologic_Sections.pdf [Erfasst am 12.03.2015]
172. Heraeus Kulzer. Technovit® 9100. Heraeus Kulzer, Mitsui Chemicals Group (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf http://kulzer-technik.de/de_kt/kt/maerkte/histologie/produktbereiche_1/polymerisationssysteme_1/technovit_9100.aspx [Erfasst am 16.03.2015]
173. *Persönliche Mitteilung*, Jünger D. Histologische Aufarbeitung. E-Mail, **12.01.2015**
174. Gruber HE. Adaptations of Goldner's Masson Trichrome Stain for the Study of Undecalcified Plastic Embedded Bone. *Biotech Histochem*; **1992**, 67: 30–34
175. Carl Roth GmbH + Co. KG. Gebrauchsanweisung - Masson-Goldner-Trichrom-Färbekit; **2014**. Verfügbar auf http://www.carlroth.com/media/_en-de/usage/3459.pdf [Erfasst am 16.03.2015]
176. Parfitt AM, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, Meunier PJ, *et al*. Bone histomorphometry: Standardization of nomenclature, symbols, and units. *J Bone Miner Res*; **1987**, 2: 595–610
177. Dempster DW, Compston JE, Drezner MK, Glorieux FH, Kanis JA, Malluche H, *et al*. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: A 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J Bone Miner Res*; **2013**, 28: 2–17
178. Schulz MC, Korn P, Stadlinger B, Range U, Möller S, Becher J, *et al*. Coating with artificial matrices from collagen and sulfated hyaluronan influences the osseointegration of dental implants. *J Mater Sci Mater Med*; **2014**, 25: 247–258
179. Lee TC, Arthur TL, Gibson LJ, Hayes WC. Sequential labelling of microdamage in bone using chelating agents. *J Orthop Res*; **2000**, 18: 322–325
180. Eckelt U, Pilling E, Mai R, Huhle M, Bierbaum S, Bernhardt R, *et al*. Beschleunigte Osseointegration durch Implantatbeschichtungen mit Bestandteilen der extrazellulären Matrix. *Z Zahnärztl Impl*; **2007**, 23: 101–110
181. Particelli F, Mecozzi L, Beraudi A, Montesi M, Baruffaldi F, Viceconti M. A comparison between micro-CT and histology for the evaluation of cortical bone: Effect of polymethylmethacrylate embedding on structural parameters. *J Microsc*; **2012**, 245: 302–310
182. Schneider G. MicroCT und Hartgewebeshistologie zur Bestimmung der Osseointegration. Meeting Abstract. 84. Jahresversammlung der Deutschen Gesellschaft für Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde, Kopf- und Hals-Chirurgie e.V. (Hrsg); **2013**. Verfügbar auf <http://www.egms.de/static/de/meetings/hnod2013/13hnod628.shtml> [Erfasst am 01.02.2016]
183. Zehbe R, Haibel A, Rieseemeier H, Gross U, Kirkpatrick CJ, Schubert H, *et al*. Going beyond histology. Synchrotron micro-computed tomography as a methodology for biological tissue characterization: From tissue morphology to individual cells. *J R Soc Interface*; **2010**, 7: 49–59
184. Neldam CA, Pinholt EM. Synchrotron μ CT imaging of bone, titanium implants and bone substitutes - a systematic review of the literature. *J Craniomaxillofac Surg*; **2014**, 42: 801–805
185. Stadlinger B, Lode AT, Eckelt U, Range U, Schlottig F, Hefti T, *et al*. Surface-conditioned dental implants: An animal study on bone formation. *J Clin Periodontol*; **2009**, 36: 882–891
186. Kalender WA. Computertomographie - Grundlagen, Gerätetechnologie, Bildqualität, Anwendungen, 2. Auflage. *Erlangen, Publicis Corp. Publ*, **2006**. ISBN 3895782157
187. Bushberg JT, Seibert JA, Leidholdt EM, Boone JM. The essential physics of medical imaging, 3. Auflage. *Philadelphia, Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins*, **2012**. ISBN 0781780578
188. Bartling S, Stiller W, Semmler W, Kiessling F. Small Animal Computed Tomography Imaging. *Curr Med Imaging Rev*; **2007**, 3: 45–59
189. Pratt IV, Belev G, Zhu N, Chapman LD, Cooper, D M L. In vivo imaging of rat cortical bone porosity by synchrotron phase contrast micro computed tomography. *Phys Med Biol*; **2015**, 60: 211–232

-
190. Bag S, Schambach SJ, Boll H, Schilling L, Groden C, Brockmann MA. Aktueller Stand der Mikro-CT in der experimentellen Kleintierbildgebung. *Rofo*; **2010**, 182: 390–403
 191. Beyerer J, León FP. Die Radontransformation in der digitalen Bildverarbeitung. *Automatisierungstechnik*; **2002**, 50: 472–480
 192. Hounsfield GN. Computed Medical Imaging - Nobel Lecture, December 8, 1979. *J Comput Assist Tomo*; **1980**, 4: 665–674
 193. Jackowski C, Lussi A, Classens M, Kilchoer T, Bolliger S, Aghayev E, *et al.* Extended CT Scale Overcomes Restoration Caused Streak Artifacts for Dental Identification in CT - 3D Color Encoded Automatic Discrimination of Dental Restorations. *J Comput Assist Tomo*; **2006**, 30: 510–513
 194. Kastner J, Harrer B, Requena G, Brunke O. A comparative study of high resolution cone beam X-ray tomography and synchrotron tomography applied to Fe- and Al-alloys. *NDT E Int*; **2010**, 43: 599–605
 195. Zehbe R, Schmitt VH, Kirkpatrick CJ, Brochhausen C. High resolution X-ray tomography – three-dimensional characterisation of cell-scaffold constructs for cartilage tissue engineering. *Mater Sci Technol*; **2015**, 31: 167–173
 196. Pauwels R, Stamatakis H, Bosmans H, Bogaerts R, Jacobs R, Horner K, *et al.* Quantification of metal artifacts on cone beam computed tomography images. *Clin Oral Implants Res*; **2013**, 24 Suppl A100: 94–99
 197. Boas FE, Fleischmann D. CT artifacts: Causes and reduction strategies. *Imaging Med*; **2012**, 4: 229–240
 198. Bernhard-Ströl C, Hachenberger C, Trugenberg-Schnabel A, Löbke-Reinl A, Peter J. Umweltradioaktivität und Strahlenbelastung. Jahresbericht 2012. Bundesministerium für Umwelt, Naturschutz, Bau und Reaktorsicherheit (Hrsg), Bundesamt für Strahlenschutz; **2014**. Verfügbar auf http://doris.bfs.de/jspui/bitstream/urn:nbn:de:0221-2014082611633/1/JB2012_2014_08_22.pdf [Erfasst am 10.04.2015]
 199. McRobbie DW, Moore EA, Graves MJ, Prince MR. MRI - From picture to proton, 2. Auflage. *Cambridge, UK, New York, Cambridge University Press*, **2007**. ISBN 052168384X
 200. Schatz G, Weidinger A. Nukleare Festkörperphysik - Kernphysikalische Meßmethoden und ihre Anwendungen, 3. Auflage. Teubner Studienbücher Physik. *Wiesbaden, Vieweg+Teubner Verlag*, **1992**. ISBN 3519230798
 201. Brix G. Physikalische Grundlagen. In: Reiser M, Semmler W. *Magnetresonanztomographie*. Berlin; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **1992**, S. 5–63. ISBN 9783540510048
 202. Hesse M, Meier H, Zeeh B. Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, 3. Auflage. *Stuttgart [u.a.], Thieme*, **1987**. ISBN 3-13-576103-7
 203. Möller HE. Grundlagen der MRT. In: Rummeny E, Reimer P, Heidel W. *Ganzkörper-MR-Tomographie*, 2. Auflage. Referenz-Reihe Radiologie. Stuttgart, New York; Thieme, **2006**, S. 2–23. ISBN 313162292X
 204. Pohmann R. Spatial Encoding - Basic Imaging Sequences. In: Schröder L, Faber C. *In vivo NMR imaging Methods and protocols*. Methods in molecular biology. v. 771. New York; Humana; Springer, **2011**, S. 23–43. ISBN 1617792195
 205. Freude D. Die magnetische Kernresonanz. Vorlesungsreihe: Spektroskopie für Physiker, Universität Leipzig; **2006**. Verfügbar auf <http://home.uni-leipzig.de/~energy/freusd.html> [Erfasst am 11.06.2015]
 206. Noeske R. Anwendung der Hochfeld-(3-Tesla)-NMR-Tomographie - Abbildung des menschlichen Herzens und NMR-Thermographie an Phantomen für eine Tiefenhyperthermie. Dissertation, *Freie Universität Berlin*, Fachbereich Physik, **2000**
 207. Göhde SC, Ladd ME, Papavero L, Köver P, Semadeni M, Wintermantel E. Magnetresonanztomographie. In: Wintermantel E, Ha S. *Medizintechnik Life Science Engineering*, 5. Auflage; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2009**, S. 1029–1070. ISBN 3540939350
 208. Weishaupt D, Köchli VD, Marincek B. Wie funktioniert MRI? - Eine Einführung in Physik und Funktionsweise der Magnetresonanztomographie, 6. Auflage. *Heidelberg, Springer*, **2009**. ISBN 3540895728
 209. Salzer R, Thiele S, Paasch S. Grundlagen der NMR-Spektroskopie. ChemgaPedia (Hrsg). Verfügbar auf http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ch/3/anc/nmr_spek/nmr_grundlagen.vlu.html [Erfasst am 16.04.2015]
 210. Bruker (Hrsg). Almanac 2011 - Analytical Tables and Product Overview, **2011**. ISBN 9783929431254
 211. Hölscher UC. Relaxations-Dispersions-Bildgebung in der Magnetresonanztomographie. Dissertation, *Julius-Maximilians-Universität Würzburg*, Physikalisches Institut, **2013**
 212. Keeler J. Understanding NMR spectroscopy - Chapter 4: Fourier transformation and data processing. www.spectroscopynow.com (Hrsg); **2014**. Verfügbar auf <http://www.spectroscopynow.com/nmr/details/education/sepspec10171education/Understanding-NMR-Spectroscopy.html> [Erfasst am 12.06.2015]
 213. Zhou X, Lauterbur PC. NMR microscopy using projection reconstruction. In: Blümich B, Kuhn W. *Magnetic resonance microscopy Methods and application in materials science, agriculture, and biomedicine*. Weinheim, New York, NY, USA; VCH, **1992**, S. 3–27. ISBN 9783527284030
 214. ChemgaPedia. Lexikon. Verfügbar auf <http://www.chemgapedia.de/vsengine/glossar/de/index.html> [Erfasst am 22.04.2015]

215. Elster AD. Advanced Relaxation Theory. MRIquestions.com (Hrsg); **2014**. Verfügbar auf <http://mri-q.com/solomon-bloembergen.html> [Erfasst am 16.06.2015]
216. Scheler U. NMR imaging and contrast, **Mai 2012**. Modul »BioAnalysis«. TRR 67, Integriertes Graduiertenkolleg »Matrixengineering«
217. Blümich B, Blümli P. NMR imaging of polymer materials. *Makromol. Chem.*; **1993**, 194: 2133–2161
218. Higgins DM. What is k-space? - Tutorial. ReviseMRI.com (Hrsg). Verfügbar auf http://www.reviseMRI.com/tutorials/what_is_k_space/ [Erfasst am 28.04.2015]
219. Vlaardingebroek MT, Boer JA. Magnetresonanzbildgebung - Theorie und Praxis. *Berlin [u.a.]*, Springer, **2004**. ISBN 9783540200284
220. Zick K. imsesshs for Spin-Echo-Single-Slice - pulse sequence to acquire the image of a slice through an object. *Bruker Biospin, Rheinstetten, Deutschland*, **2008**
221. Lehnertz K. Magnetresonanztomographie - Kontrast. Universität Bonn (Hrsg), Klinik für Epileptologie. Verfügbar auf <http://epileptologie-bonn.de/cms/upload/homepage/lehnertz/mrt05.pdf> [Erfasst am 22.06.2015]
222. stern.de. Physalis. Verfügbar auf http://d1.stern.de/bilder/stern_5/gesundheit/2013/KW20/physalis_maxsize_2048_1536.jpg [Erfasst am 29.04.2015]
223. Stanisz GJ, Odobina EE, Pun J, Escaravage M, Graham SJ, Bronskill MJ, *et al.* T1, T2 relaxation and magnetization transfer in tissue at 3T. *Magn Reson Med*; **2005**, 54: 507–512
224. Gold GE, Han E, Stainsby J, Wright G, Brittain J, Beaulieu C. Musculoskeletal MRI at 3.0 T: Relaxation times and image contrast. *Am J Roentgenol*; **2004**, 183: 343–351
225. Butler E, Ackermann U, Decker F, Niles SJ. Bruker AVANCE Beginners Guide - German Version. Bruker BioSpin GmbH (Hrsg); **2004**
226. Reiser M, Semmler W (Hrsg). Magnetresonanztomographie. *Berlin*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **1992**. ISBN 9783540510048
227. Bruker BioSpin GmbH. 23.5 Tesla Standard-Bore, Persistent Superconducting Magnet - The World's First 1 Gigahertz NMR Spectrometer; **2016**. Verfügbar auf <https://www.bruker.com/de/products/mr/nmr/magnets/magnets/avance-1000/overview.html> [Erfasst am 07.01.2016]
228. Hayman G. Magnetic Resonance Imaging - How it Works. OVAL Hyperspace Web Technologies (Hrsg); **2014**. Verfügbar auf <http://www.ovaltech.ca/philyexp.html> [Erfasst am 07.01.2016]
229. Herrmann K, Schmidt S, Kretz A, Haenold R, Krumbein I, Metzler M, *et al.* Possibilities and limitations for high resolution small animal MRI on a clinical whole-body 3T scanner. *MAGMA*; **2012**, 25: 233–244
230. van Wijk, Diederik F, Strang AC, Duivenvoorden R, Enklaar DF, van der Geest, Rob J, Kastelein, John J P, *et al.* Increasing spatial resolution of 3T MRI scanning improves reproducibility of carotid arterial wall dimension measurements. *MAGMA*; **2014**, 27: 219–226
231. Bruker BioSpin GmbH. Bruker - Preclinical MRI - Solutions for Small Animal Imaging; **2011**. Verfügbar auf https://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/MagneticResonance/MRI/brochures/MRI-brochure-PreclinicalMRI-092011.pdf [Erfasst am 08.01.2016]
232. Boretius S, Kasper L, Tammer R, Michaelis T, Frahm J. MRI of cellular layers in mouse brain in vivo. *Neuroimage*; **2009**, 47: 1252–1260
233. Robson MD, Gatehouse PD, Bydder M, Bydder GM. Magnetic Resonance: An Introduction to Ultrashort TE (UTE) Imaging. *J Comput Assist Tomo*; **2003**, 27: 825–846
234. Wehrli FW. Magnetic resonance of calcified tissues. *J Magn Reson*; **2013**, 229: 35–48
235. Li S, Ma L, Chang EY, Shao H, Chen J, Chung CB, *et al.* Effects of inversion time on inversion recovery prepared ultrashort echo time (IR-UTE) imaging of bound and pore water in cortical bone. *NMR Biomed*; **2015**, 28: 70–78
236. Weiger M, Pruessmann KP, Bracher A, Köhler S, Lehmann V, Wolfram U, *et al.* High-resolution ZTE imaging of human teeth. *NMR Biomed*; **2012**, 25: 1144–1151
237. Idiyatullin D, Corum C, Moeller S, Prasad HS, Garwood M, Nixdorf DR. Dental magnetic resonance imaging: making the invisible visible. *J Endod*; **2011**, 37: 745–752
238. Wu Y, Chesler DA, Glimcher MJ, Garrido L, Wang J, Jiang HJ, *et al.* Multinuclear solid-state three-dimensional MRI of bone and synthetic calcium phosphates. *Proc Natl Acad Sci USA*; **1999**, 96: 1574–1578
239. Wu Y, Reese TG, Cao H, Hrovat MI, Toddes SP, Lemdiasov RA, *et al.* Bone mineral imaged in vivo by 31P solid state MRI of human wrists. *J Magn Reson Imaging*; **2011**, 34: 623–633
240. Scheler U, Titman JJ, Blümich B, Spiess HW. Spatially Resolved Two-Dimensional Solid-State NMR Spectroscopy. *J Magn Reson A*; **1994**, 107: 251–254
241. Scheler U, Blümich B, Spiess H. Spinning sidebands from chemical shift anisotropy in 13C MAS imaging. *Solid State Nucl Magn Reson*; **1993**, 2: 105–110

242. Jiang Y, Zhao J, White DL, Genant HK. Micro CT and Mirco MR imaging of 3D architecture of animal skeleton. *J Musculoskel Neuron Interact*; **2000**, 1: 45–51
243. Church PC, Turner D, Feldman BM, Walters TD, Greer M, Amitai MM, *et al.* Systematic review with meta-analysis: magnetic resonance enterography signs for the detection of inflammation and intestinal damage in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*; **2015**, 41: 153–166
244. Sanal HT, Chen L, Haghghi P, Trudell DJ, Resnick DL. Carpal bone cysts: MRI, gross pathology, and histology correlation in cadavers. *Diagn Interv Radiol*; **2014**, 20: 503–506
245. Potter K, Sweet DE, Anderson P, Davis GR, Isogai N, Asamura S, *et al.* Non-destructive studies of tissue-engineered phalanges by magnetic resonance microscopy and X-ray microtomography. *Bone*; **2006**, 38: 350–358
246. Kempe S, Metz H, Pereira, Priscila G C, Mäder K. Non-invasive in vivo evaluation of in situ forming PLGA implants by benchtop magnetic resonance imaging (BT-MRI) and EPR spectroscopy. *Eur J Pharm Biopharm*; **2010**, 74: 102–108
247. Hong L, Peptan IA, Xu H, Magin RL. Nondestructive evaluation of osteogenic differentiation in tissue-engineered constructs. *J Orthop Res*; **2006**, 24: 889–897
248. Ganesh N, Ashokan A, Rajeshkannan R, Chennazhi K, Koyakutty M, Nair SV. Magnetic resonance functional nano-hydroxyapatite incorporated poly(caprolactone) composite scaffolds for in situ monitoring of bone tissue regeneration by MRI. *Tissue Eng Part A*; **2014**, 20: 2783–2794
249. Gahleitner A, Nasel C, Schick S, Bernhart T, Mailath G, Dorffner S, *et al.* Dentale Magnetresonanztomographie (Dental-MRT) als Verfahren zur Darstellung des maxillo-mandibulären Zahnhalteapparates. *Rofo*; **1998**, 169: 424–428
250. Tymofiyeva O, Rottner K, Jakob PM, Richter E, Proff P. Three-dimensional localization of impacted teeth using magnetic resonance imaging. *Clin Oral Investig*; **2010**, 14: 169–176
251. Tymofiyeva O, Vaegler S, Rottner K, Boldt J, Hopfgartner AJ, Proff PC, *et al.* Influence of dental materials on dental MRI. *Dentomaxillofac Radiol*; **2013**, 42: 20120271
252. Hövener J, Zwick S, Leupold J, Eisenbeiß A, Scheifele C, Schellenberger F, *et al.* Dental MRI: imaging of soft and solid components without ionizing radiation. *J Magn Reson Imaging*; **2012**, 36: 841–846
253. Bracher A, Hofmann C, Bornstedt A, Boujraf S, Hell E, Ulrici J, *et al.* Feasibility of ultra-short echo time (UTE) magnetic resonance imaging for identification of carious lesions. *Magn Reson Med*; **2011**, 66: 538–545
254. Duttonhoefer F, Mertens ME, Vizkelety J, Gremse F, Stadelmann VA, Sauerbier S. Magnetic resonance imaging in zirconia-based dental implantology. *Clin Oral Implants Res*; **2014**
255. Klinkle T, Daboul A, Maron J, Gredes T, Puls R, Jaghsi A, *et al.* Artifacts in magnetic resonance imaging and computed tomography caused by dental materials. *PLoS ONE*; **2012**, 7: e31766
256. Nitz WR, Oppelt A, Renz W, Manke C, Lenhart M, Link J. On the Heating of Linear Conductive Structures as Guide Wires and Catheters in Interventional MRI. *J Magn Reson Imaging*; **2001**, 13: 105–114
257. Emergency Care Research Institute (ECRI). Hazard - Patient Death Illustrates the Importance of Adhering to Safety Precautions in Magnetic Resonance Environments, ECRI; **2001**. Verfügbar auf http://www.bic.mni.mcgill.ca/users/mferre/fmri.html/hazard_MRI_080601.pdf [Erfasst am 05.06.2015]
258. Sinkiewicz D. MRI scan hazard. *Br Dent J*; **2013**, 214: 376
259. Eggers G, Rieker M, Kress B, Fiebach J, Dickhaus H, Hassfeld S. Artefacts in magnetic resonance imaging caused by dental material. *MAGMA*; **2005**, 18: 103–111
260. Costa, Andre L. F., Appenzeller S, Yasuda C, Pereira FR, Zanardi VA, Cendes F. Artifacts in brain magnetic resonance imaging due to metallic dental alloys. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*; **2009**, 14: E278-E282
261. Ganapathi M, Joseph G, Savage R, Jones AR, Timms B, Lyons K. MRI susceptibility artefacts related to scaphoid screws: the effect of screw type, screw orientation and imaging parameters. *J Hand Surg Br*; **2002**, 27: 165–170
262. Zou Y, Chu B, Wang C, Hu Z. Evaluation of MR issues for the latest standard brands of orthopedic metal implants: plates and screws. *Eur J Radiol*; **2015**, 84: 450–457
263. Bartels LW, Bakker, Chris J G, Viergever MA. Improved lumen visualization in metallic vascular implants by reducing RF artifacts. *Magn Reson Med*; **2002**, 47: 171–180
264. Reinhardt J, Nguyen-Trong T, Hähnel S, Bellemann ME, Heiland S. Magnetresonanztomographie von Stents: Quantitative MR-Untersuchungen in vitro bei 3 Tesla. *Z Med Phys*; **2009**, 19: 278–287
265. Burtcher IM, Owman T, Romner B, Ståhlberg F, Holtås S. Aneurysm clip MR artifacts - Titanium versus stainless steel and influence of imaging parameters. *Acta Radiolog*; **1998**, 39: 70–76
266. Lauer UA, Graf H, Berger A, Claussen CD, Schick F. Radio frequency versus susceptibility effects of small conductive implants--a systematic MRI study on aneurysm clips at 1.5 and 3 T. *Magn Reson Imaging*; **2005**, 23: 563–569
267. van der Graaf, A W M, Bhagirath P, Götte, M J W. MRI and cardiac implantable electronic devices; current status and required safety conditions. *Neth Heart J*; **2014**, 22: 269–276

268. Gold MR, Kanal E, Schwitter J, Sommer T, Yoon H, Ellingson M, *et al.* Preclinical evaluation of implantable cardioverter-defibrillator developed for magnetic resonance imaging use. *Heart Rhythm*; **2015**, 12: 631–638
269. Kim JH, Min KS, An SK, Jeong JS, Jun SB, Cho MH, *et al.* Magnetic Resonance Imaging Compatibility of the Polymer-based Cochlear Implant. *Clin Exp Otorhinolaryngol*; **2012**, 5 Suppl 1: S19-23
270. Tope WD, Shellock FG. Magnetic resonance imaging and permanent cosmetics (tattoos): survey of complications and adverse events. *J Magn Reson Imaging*; **2002**, 15: 180–184
271. Escher K, Shellock FG. Evaluation of MRI artifacts at 3 Tesla for 38 commonly used cosmetics. *Magn Reson Imaging*; **2013**, 31: 778–782
272. Dietrich O, Reiser MF, Schoenberg SO. Artifacts in 3-T MRI: physical background and reduction strategies. *Eur J Radiol*; **2008**, 65: 29–35
273. Hargreaves BA, Worters PW, Pauly KB, Pauly JM, Koch KM, Gold GE. Metal-induced artifacts in MRI. *Am J Roentgenol*; **2011**, 197: 547–555
274. Schick F. Whole-body MRI at high field: technical limits and clinical potential. *Eur Radiol*; **2005**, 15: 946–959
275. Heuer D, Suleder M. Elektromagnetische Induktion. Chemgapedia (Hrsg). Verfügbar auf <http://www.chemgapedia.de/vsengine/vlu/vsc/de/ph/14/ep/einfuehrung/magnetfeld/induktion.vlu.html> [Erfasst am 05.05.2015]
276. Rao A. Skin-Effekt. Uni Basel (Hrsg); **2007**. Verfügbar auf <https://physik.unibas.ch/Praktikum/VPII/PDF/skin-effekt.pdf> [Erfasst am 07.05.2015]
277. Graf H, Lauer UA, Berger A, Schick F. RF artifacts caused by metallic implants or instruments which get more prominent at 3 T: an in vitro study. *Magn Reson Imaging*; **2005**, 23: 493–499
278. Graf H, Steidle G, Martirosian P, Lauer UA, Schick F. Effects on MRI due to altered rf polarization near conductive implants or instruments. *Med Phys*; **2006**, 33: 124
279. Camacho CR, Plewes DB, Henkelman RM. Nonsusceptibility artifacts due to metallic objects in MR imaging. *J Magn Reson Imaging*; **1995**, 5: 75–88
280. Graf H, Steidle G, Martirosian P, Lauer UA, Schick F. Metal artifacts caused by gradient switching. *Magn Reson Med*; **2005**, 54: 231–234
281. Vashae S, Goora F, Britton MM, Newling B, Balcom BJ. Mapping B₁-induced eddy current effects near metallic structures in MR images: A comparison of simulation and experiment. *J Magn Reson*; **2015**, 250: 17–24
282. Graf H, Klemm T, Lauer UA, Duda S, Claussen CD, Schick F. Systematics of imaging artifacts in MRT caused by metallic vascular implants (stents). *Rofo*; **2003**, 175: 1711–1719
283. Quick Harald H., Kuehl Hilmar, Kaiser Gernot, Bosk Silke, Debatin Jörg F., Ladd Mark E. Inductively coupled stent antennas in MRI. *Magn Reson Med*; **2002**, 48: 781–790
284. Nordbeck P, Fidler F, Weiss I, Warmuth M, Friedrich MT, Ehses P, *et al.* Spatial distribution of RF-induced E-fields and implant heating in MRI. *Magn Reson Med*; **2008**, 60: 312–319
285. Lide DR. Handbook of Chemistry and Physics. 1996-1997, 77. Auflage. Boca Raton. New York. London. Tokio, CRC Press, **1996**. ISBN 9780849304774
286. Konings MK, Bartels LW, Smits HF, Bakker, Chris J G. Heating around intravascular guidewires by resonating RF waves. *J Magn Reson Imaging*; **2000**, 12: 79–85
287. Henderson JM, Tkach J, Phillips M, Baker K, Shellock FG, Rezai AR. Permanent neurological deficit related to magnetic resonance imaging in a patient with implanted deep brain stimulation electrodes for Parkinson's disease: case report. *Neurosurgery*; **2005**, 57: E1063
288. American Society for Testing and Materials (ASTM) International. Standard Practice for Marking Medical Devices and Other Items for Safety in the Magnetic Resonance Environment, *ASTM International. West Conshohocken, PA*; **2013**. Verfügbar auf <http://www.astm.org/Standards/F2503.htm> [erfasst am 06.05.2015]
289. Food and Drug Administration (FDA). Establishing Safety and Compatibility of Passive Implants in the Magnetic Resonance (MR) Environment - Guidance for Industry and Food and Drug Administration Staff. U.S. Department of Health and Human Services (Hrsg), FDA, Center for Devices and Radiological Health. Verfügbar auf <http://www.fda.gov/ucm/groups/fdagov-public/@fdagov-meddev-gen/documents/document/ucm107708.pdf> [Erfasst am 05.06.2015]
290. Shellock FG, Spinazzi A. MRI Safety Update 2008: Part 2, Screening Patients for MRI. *Am J Roentgenol*; **2008**, 191: 1140–1149
291. Singh B, Surplice NA. The electrical resistivity and resistance-temperature characteristics of thin titanium films. *Thin Solid Films*; **1972**, 10: 243–253
292. Zimmermann H, Heinlein M, Guldner NW. Titanisierung von Implantatoberflächen. In: Wintermantel E, Ha S. *Medizintechnik Life Science Engineering*, 5. Auflage; Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2009**, S. 907–925. ISBN 3540939350
293. Elschner C, Noack C, Preißler C, Krause A, Scheler U, Hempel U. In vitro Response of Human Mesenchymal Stromal Cells to Titanium Coated PEEK Films and Their Suitability for Magnetic Resonance Imaging. *J Mater Sci Technol*; **2015**, 31: 427–436

-
294. Evonik Industries. Product Information - VESTAKEEP® Film 0FH80. Verfügbar auf http://industrial.vestakeep.de/sites/dc/Downloadcenter/Evonik/Product/VESTAKEEP/en/product-information/VESTAKEEP_0FH80_Product_information.pdf [Erfasst am 21.05.2015]
295. supermagnete.de. Permeabilität - Magnetismus A - Z. Webcraft GmbH (Hrsg); **2016**. Verfügbar auf <http://www.supermagnete.de/magnetismus/permeabilitaet> [Erfasst am 02.02.2016]
296. Blattenberger K. Skin Depth Calculator. Verfügbar auf <http://www.rfcafe.com/references/electrical/skin-depth.htm> [Erfasst am 01.06.2015]
297. Gottwald A, Kuran P, Scheler U. Separation of velocity distribution and diffusion using PFG NMR. *J Magn Reson*; **2003**, 162: 364–370
298. Ballester, Miguel Ángel González, Zisserman AP, Brady M. Estimation of the partial volume effect in MRI. *Med Image Anal*; **2002**, 6: 389–405
299. Graessner J. Bandwidth in MRI? - How-I-do-it. Siemens (Hrsg); **2013**. Verfügbar auf http://mri-q.com/uploads/3/2/7/4/3274160/bandwidth_in_mri_siemens_.pdf,
300. Shenhav A, Azhari H. Gradient field switching as a source for artifacts in MR imaging of metallic stents. *Magn Reson Med*; **2004**, 52: 1465–1468
301. Starčuková J, Starčuk Z, Hubálková H, Linetskiy I. Magnetic susceptibility and electrical conductivity of metallic dental materials and their impact on MR imaging artifacts. *Dent Mater*; **2008**, 24: 715–723
302. Daentzer D. PEEK versus Titan - Welches Material fördert am besten die Osteogenese. *Z Orthop Unfall*; **2015**, 153: 244
303. Oswald J, Boxberger S, Jørgensen B, Feldmann S, Ehninger G, Bornhäuser M, *et al*. Mesenchymal stem cells can be differentiated into endothelial cells in vitro. *Stem Cells*; **2004**, 22: 377–384
304. Riss TL, Moravec RA, Niles AL, Benink HA, Worzella TJ, Minor L. Cell Viability Assays. In: Sittampalam GS. *Assay Guidance Manual*. eBook, **2004**
305. Dean RL. Kinetic studies with alkaline phosphatase in the presence and absence of inhibitors and divalent cations. *Biochem Mol Biol Educ*; **2002**, 30: 401–407
306. Carl Roth GmbH + Co. KG. Roti®-Quant - Proteinbestimmung nach Bradford. Gebrauchsanweisung; **2014**. Verfügbar auf https://www.carlroth.com/downloads/ba/de/K/BA_K015_DE.pdf [Erfasst am 01.07.2015]
307. Dieter P, Hempel U, Kamionka S, Kolada A, Malessa B, Fitzke E, *et al*. Prostaglandin E₂ affects differently the release of inflammatory mediators from resident macrophages by LPS and muramyl tripeptides. *Mediators Inflamm*; **1999**, 8: 295–303
308. Pavelka M, Roth J. Funktionelle Ultrastruktur - Atlas der Biologie und Pathologie von Geweben, *Springer Wien New York*, **2005**. ISBN 3211835636
309. Petit V, Thiery J. Focal adhesion: structure and dynamics. *Biol Cell*; **2000**, 92: 477–494
310. Schwitalla A, Spintig T, Kallage I, Wagner R, Müller W. Polyetheretherketon (PEEK) - ein vielversprechender Werkstoff für die Zukunft. *umwelt-medizin-gesellschaft*; **2014**, 27: 255–261
311. Oliveira SM, Alves NM, Mano JF. Cell interactions with superhydrophilic and superhydrophobic surfaces. *J Adhes Sci Technol*; **2012**, 28: 843–863
312. Awaja F, Carletti E, Bonani W, Speranza G. Vinculin focal adhesion of osteoblast-like cells on PEEK coated with ultra-thin polymer nano films. *J Appl Polym Sci*; **2015**, 132: 1–9
313. Gomez I, Foudi N, Longrois D, Norel X. The role of prostaglandin E₂ in human vascular inflammation. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*; **2013**, 89: 55–63
314. Olivares-Navarrete R, Hyzy SL, Slosar PJ, Schneider JM, Schwartz Z, Boyan BD. Implant materials generate different peri-implant inflammatory factors: poly-ether-ether-ketone promotes fibrosis and microtextured titanium promotes osteogenic factors. *Spine*; **2015**, 40: 399–404
315. Dey A, Bomans, Paul H H, Müller FA, Will J, Frederik PM, With G de, *et al*. The role of prenucleation clusters in surface-induced calcium phosphate crystallization. *Nat Mater*; **2010**, 9: 1010–1014
316. Olivares-Navarrete R, Gittens RA, Schneider JM, Hyzy SL, Haithcock DA, Ullrich PF, *et al*. Osteoblasts exhibit a more differentiated phenotype and increased bone morphogenetic protein production on titanium alloy substrates than on poly-ether-ether-ketone. *Spine J*; **2012**, 12: 265–272
317. Wissing H, Stürmer KM, Beidenstein G. Die Wertigkeit verschiedener Versuchstierspecies für experimentelle Untersuchungen am Knochen. *Hefte zur Unfallheilkunde*; **1990**, 212: 479–488
318. Schwenke J. Pathohistologische Myokardveränderungen bei Berliner Miniaturschweinen (Mini-Lewe) unter Berücksichtigung verschiedener Altersklassen. Dissertation, *Freie Universität Berlin*, Fachbereich Veterinärmedizin, **1998**
319. Hönig JF, Merten HA, Wiltfang J, Wiese KG. Der Stellenwert des Göttinger Miniaturschweines in der craniofacialen osteologischen Grundlagenforschung. *Osteologie*; **1997**, 6: 125–133
320. Korn P & Elschner C, Schulz MC, Range U, Mai R, Scheler U. MRI and dental implantology: Two which do not exclude each other. *Biomaterials*; **2015**, 53: 634–645

321. Stadlinger B, Hintze V, Bierbaum S, Möller S, Schulz MC, Mai R, *et al.* Biological functionalization of dental implants with collagen and glycosaminoglycans - A comparative study. *J Biomed Mater Res Part B Appl Biomater*; **2012**, 100: 331–341
322. pharmazie.com. T61-Injektionslösung für Tiere. DACON GmbH (Hrsg); **2013**. Verfügbar auf <http://www.pharmazie.com/graphic/A/58/8-12258.pdf> [Erfasst am 02.02.2016]
323. Bender R, Ziegler A, Lange S. Multiple Regression - Artikel Nr. 13 der Statistik-Serie in der DMW. Institut für Qualität und Wirtschaftlichkeit im Gesundheitswesen (Hrsg). Verfügbar auf <http://www.rbsd.de/PDF/DMW/DMW-2007-S1-13.pdf> [Erfasst am 11.09.2015]
324. DentoSurf - Eine Sammlung interaktiver Lernmodule zur Zahnmedizin. Zahnschema nach FDI. Zahnmedizinische Kliniken der Universität Bern (Hrsg); **2010**. Verfügbar auf <http://e-learning.studmed.unibe.ch/dentosurf/htmls/slide.html?dentosurf|dento|oralcavity|method|12> [Erfasst am 01.02.2016]
325. Benz-Bohm G. Kinderradiologie - Knochenmark. Georg-Thieme-Verlag (Hrsg); **2005**. Verfügbar auf https://www.thieme.de/medias/sys_master/8804605657118/9783131074928_musterseite_374_380.pdf?mime=application%2Fpdf&realname=9783131074928_musterseite_374_380.pdf [Erfasst am 13.09.2015]
326. Hermann JS, Cochran DL. Biologische Prinzipien in der oralen Implantologie. *Implantologie*; **2005**, 13: 109–123
327. Devine DM, Hahn J, Richards R, Gruner H, Wieling R, Pearce SG. Coating of carbon fiber-reinforced polyetheretherketone implants with titanium to improve bone apposition. *J Biomed Mater Res Part B*; **2013**, 101B: 591–598
328. Korn P, Schulz MC, Hintze V, Range U, Mai R, Eckelt U, *et al.* Chondroitin sulfate and sulfated hyaluronan-containing collagen coatings of titanium implants influence peri-implant bone formation in a minipig model. *J Biomed Mater Res Part A*; **2014**, 102: 2334–2344
329. Schwitalla AD, Abou-Emara M, Spintig T, Lackmann J, Müller WD. Finite element analysis of the biomechanical effects of PEEK dental implants on the peri-implant bone. *J Biomech*; **2015**, 48: 1–7
330. Siewert B. Die klinisch relevanten Vorteile von PEEK (Poly-Ether-Ether-Keton) in der zahnärztlichen Prothetik. *umwelt-medizin-gesellschaft*; **2014**, 27: 266–270
331. Zoidis P, Papathanasiou I, Polyzois G. The Use of a Modified Poly-Ether-Ether-Ketone (PEEK) as an Alternative Framework Material for Removable Dental Prostheses - A Clinical Report. *J Prosthodont*; **2015**: 1–5
332. Grötz KA. Zahnärztliche Betreuung von Patienten mit tumortherapeutischer Kopf-Hals-Bestrahlung. Wissenschaftliche Stellungnahme. Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde (Hrsg); **2002**. Verfügbar auf http://www.degro.org/dav/html/download/pdf/stellungnahme_dgzmk.pdf [Erfasst am 02.02.2016]
333. Langschwager A, Langschwager-Rostock S. Kaufunktion und Rehabilitation beim Strahlentherapie-Patienten (post radiationem). *Implantologie Journal*; **2005**, 1: 20–26
334. Schiegnitz E, Al-Nawas B, Grötz KA. Implantat-Versorgung zur oralen Rehabilitation im Zusammenhang mit Kopf-Hals-Bestrahlung. AWMF-Leitlinie. AWMF online (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/007-089l_S3_Implantat-Versorgung_zur_oralen_Rehabilitation_im_Zusammenhang_mit_Kopf-Hals-Bestrahlung_2015-07.pdf [Erfasst am 02.10.2015]
335. Wolff K, Follmann M, Nast A. The diagnosis and treatment of oral cavity cancer. *Dtsch Arztebl Int*; **2012**, 109: 829–835
336. Loeffelbein DJ, Souvatzoglou M, Wankerl V, Martinez-Möller A, Dinges J, Schwaiger M, *et al.* PET-MRI fusion in head-and-neck oncology: current status and implications for hybrid PET/MRI. *J Oral Maxillofac Surg*; **2012**, 70: 473–483
337. Nahmias C, Lemmens C, Faul D, Carlson E, Long M, Blodgett T, *et al.* Does reducing CT artifacts from dental implants influence the PET interpretation in PET/CT studies of oral cancer and head and neck cancer? *J Nucl Med*; **2008**, 49: 1047–1052
338. Siewert B, Parra M. Eine neue Werkstoffklasse in der Zahnmedizin. *Z Zahnärztl Impl*; **2013**, 29: 148–159
339. Bäumer D, Hansen K, Hürzeler M. Moderne Periimplantitis-Behandlung - Eine Standortbestimmung. *dentalfresh*; **2012**, #4: 16–20
340. Gorth DJ, Puckett S, Ercan B, Webster TJ, Rahaman M, Bal BS. Decreased bacteria activity on Si₃N₄ surfaces compared with PEEK or titanium. *Int J Nanomedicine*; **2012**, 7: 4829–4840
341. Schneider M. Radiologische Bildgebung in der Zahnheilkunde. *Zahnmedizin up2date*; **2013**, 7: 477–501
342. Kress B, Gottschalk A, Schmitter M, Sartor K. Benigne Erkrankungen des Unterkiefers im MRT. *Rofo*; **2004**, 176: 491–499
343. Bracher A, Hofmann C, Bornstedt A, Hell E, Janke F, Ulrici J, *et al.* Ultrashort echo time (UTE) MRI for the assessment of caries lesions. *Dentomaxillofac Radiol*; **2013**, 42: 20120321
344. Gesundheitsindustrie BW. Folgenreicher Ausflug in die Kariesdiagnostik. BIOPRO Baden-Württemberg GmbH. Stuttgart, **09.02.2011**. Verfügbar auf <https://www.gesundheitsindustrie-bw.de/de/fachbeitrag/pm/folgenreicher-ausflug-in-die-kariesdiagnostik/> [Erfasst am 05.10.2015]

-
345. Gray CF, Redpath TW, Smith FW, Staff RT. Advanced imaging: Magnetic resonance imaging in implant dentistry. A review. *Clin Oral Implants Res*; **2003**, 14: 18–27
346. Parker SE, Mai CT, Canfield MA, Rickard R, Wang Y, Meyer RE, *et al.* Updated National Birth Prevalence estimates for selected birth defects in the United States, 2004–2006. *Birth defects research. Part A, Clinical and molecular teratology*; **2010**, 88: 1008–1016
347. Tanaka SA, Mahabir RC, Jupiter DC, Menezes JM. Updating the epidemiology of cleft lip with or without cleft palate. *Plast Reconstr Surg*; **2012**, 129: 511e–518e
348. European Surveillance of Congenital Anomalies (EUROCAT). EUROCAT Prevalence Data Tables - A5 - Orofacial clefts (per 10,000 births) for the following registries: All Registries, from 2008 - 2012. Verfügbar auf <http://www.eurocat-network.eu/default.aspx?tree=clustersandtrends%2fstatisticalmonitoring> [Erfasst am 05.02.2015]
349. World Health Organization. World atlas of birth defects, 2. Auflage. *Geneva, Switzerland, Human Genetics Programme, Management of Noncommunicable Diseases, World Health Organization*, **2003**. ISBN 9789241580298
350. Schwenzer N, Ehrenfeld M, Grimm G. Spezielle Chirurgie, Bd. 2: - Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde. Lehrbuch zur Aus- und Weiterbildung, 3. Auflage. Zahn-Mund-Kiefer-Heilkunde. *Stuttgart, New York, Thieme*, **2002**. ISBN 9783135935034
351. Reiter R, Haase S, Brosch S. Orofaziale Spaltbildungen. *Laryngo-Rhino-Otol*; **2012**, 91: 84–95
352. Mossey PA, Little J, Munger RG, Dixon MJ, Shaw WC. Cleft lip and palate. *Lancet*; **2009**, 374: 1773–1785
353. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet*; **2011**, 12: 167–178
354. AWMF online. Einseitige Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten - Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. Nr. 007/038. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. (AWMF) e.V. (Hrsg); **2010**. Verfügbar auf http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/007-038_S2k_Einseitige_Lippen-Kiefer-Gaumen-Spalten_07-2010_07-2015.pdf [Erfasst am 05.02.2015]
355. Koy S, Markwardt J, Pradel W, Schneider M. Zehn-Jahresbericht: 2000 - 2009 - Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. Eckelt U (Hrsg), Universitätsklinikum Carl Gustav, Klinik und Poliklinik für Mund-; **2010**. Verfügbar auf http://www.uniklinikum-dresden.de/das-klinikum/kliniken-polikliniken-institute/mkg/downloads/10-Jahresbericht%20MKG_Web.pdf [Erfasst am 05.02.2015]
356. Pradel W, Tausche E, Lauer G. Kieferspaltosteoplastik unter Verwendung von im Tissue Engineering hergestellten Knochen. *J DGPM*; **2008**, 37: 32–35
357. Thilander B, Stenström S. Maxillary growth after implantation of Surgicel in clefts of the maxilla. *Scand J Plast Reconstr Surg*; **1974**, 8: 52–57
358. Janssen NG, Weijs, Willem L J, Koole R, Rosenberg, Antoine J W P, Meijer GJ. Tissue engineering strategies for alveolar cleft reconstruction: a systematic review of the literature. *Clin Oral Investig*; **2014**, 18: 219–226
359. Kraut RA. The use of allogeneic bone for alveolar cleft grafting. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol*; **1987**, 64: 278–282
360. Heinemann S, Gelinsky M, Worch H, Hanke T. Resorbierbare Knochenersatzmaterialien - Eine Übersicht kommerziell verfügbarer Werkstoffe und neue Forschungsansätze auf dem Gebiet der Komposite. *Orthopäde*; **2011**, 40: 761–773
361. Mylonas D, Vidal MD, De Kok, Ingeborg J, Moriarity JD, Cooper LF. Investigation of a thermoplastic polymeric carrier for bone tissue engineering using allogeneic mesenchymal stem cells in granular scaffolds. *J Prosthodont*; **2007**, 16: 421–430
362. Ewers R, Turhani D, Item CB, Kapral D, Thurnher D, Cvikl B, *et al.* »Bioengineered Knochen-Produktion« - Aktuelle Anwendungen des Tissue Engineering in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie. *Z Zahnärztl Impl*; **2003**, 19: 216–220
363. Pradel W, Eckelt U, Lauer G. Bone regeneration after enucleation of mandibular cysts: comparing autogenous grafts from tissue-engineered bone and iliac bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; **2006**, 101: 285–290
364. Jakobsen C, Sørensen JA, Kassem M, Thygesen TH. Mesenchymal stem cells in oral reconstructive surgery: a systematic review of the literature. *J Oral Rehabil*; **2013**, 40: 693–706
365. De Kok, Ingeborg J., Peter SJ, Archambault M, van den Bos, Christian, Kadiyala S, Aukhil I, *et al.* Investigation of allogeneic mesenchymal stem cell-based alveolar bone formation: preliminary findings. *Clin Oral Implants Res*; **2003**, 14: 481–489
366. Conejero JA, Lee JA, Parrett BM, Terry M, Wear-Maggitti K, Grant RT, *et al.* Repair of palatal bone defects using osteogenically differentiated fat-derived stem cells. *Plast Reconstr Surg*; **2006**, 117: 857–863
367. Kim S, Kim K, Seo B, Koo K, Kim T, Seol Y, *et al.* Alveolar bone regeneration by transplantation of periodontal ligament stem cells and bone marrow stem cells in a canine peri-implant defect model: a pilot study. *J Periodontol*; **2009**, 80: 1815–1823

368. Korn P, Schulz MC, Range U, Lauer G, Pradel W. Efficacy of tissue engineered bone grafts containing mesenchymal stromal cells for cleft alveolar osteoplasty in a rat model. *J Craniomaxillofac Surg*; **2014**, 42: 1277–1285
369. Pradel W, Tausche E, Gollogly J, Lauer G. Spontaneous tooth eruption after alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered bone: a case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*; **2008**, 105: 440–444
370. Pradel W, Lauer G. Tissue-engineered bone grafts for osteoplasty in patients with cleft alveolus. *Ann Anat*; **2012**, 194: 545–548
371. Schulz MC, Korn P. Untersuchung von im Tissue Engineering hergestellten Knochentransplantaten am Tiermodell zur Kieferspaltosteoplastik. Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (Hrsg), Universitätsklinikum »Carl Gustav Carus« Dresden; **2015**
372. Geistlich Biomaterials. Major publications - Geistlich Bio-Gide®, Geistlich Bio-Oss®, Geistlich Bio-Oss® Collagen, Geistlich Mucograft®. Geistlich Pharma AG, Business Unit Biomaterials (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf http://www.geistlich.de/fileadmin/content/Geistlich_Pharma/Pdf/pdfs_Dental_englisch/Major_Works.pdf [Erfasst am 15.10.2015]
373. Geistlich Biomaterials. Behandlungskonzepte für die regenerative Parodontalchirurgie. Geistlich Pharma AG, Business Unit Biomaterials (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf http://www.geistlich.de/fileadmin/content/Geistlich_Pharma/Pdf/pdfs_Dental_deutsch/Treatment_concept_periodontal_surgery_de.pdf [Erfasst am 15.10.2015]
374. Lee DS, Pai Y, Chang S. Physicochemical characterization of InterOss® and Bio-Oss® anorganic bovine bone grafting material for oral surgery – A comparative study. *Mater Chem Phys*; **2014**, 146: 99–104
375. Geistlich Biomaterials. Geistlich Bio-Oss® Collagen. Geistlich Pharma AG, Business Unit Biomaterials (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf <http://www.geistlich.de/de/dental/knochenersatz/bio-oss-collagen/vorteile-fuer-den-anwender/?professional=1> [Erfasst am 15.10.2015]
376. Geistlich Biomaterials. Augmentationsmaterial (resorbierbar), Handelsname: Geistlich Bio-Oss® Collagen - Datenblatt. Geistlich Pharma AG, Business Unit Biomaterials (Hrsg); **2008**. Verfügbar auf http://www.spitta.de/fileadmin/tt_news/shop/pdf/715002/bio-oss-collagen.pdf [Erfasst am 15.10.2015]
377. Geistlich Biomaterials. Geistlich Bio-Oss Collagen®. Geistlich Pharma North America, Inc. (Hrsg); **2015**. Verfügbar auf <http://www.geistlichonline.com/images/gboc-overview2.jpg> [Erfasst am 14.10.2015]
378. www.winlab.de. Ratten-Schädel (Rattus rattus) - Knochenpräparat. Windaus-Labortechnik GmbH & Co. KG (Hrsg). Verfügbar auf http://www.winlab.de/media/image/thumbnail/58431018251c1e31e05ace_720x600.jpg [Erfasst am 10.09.2014]
379. Bauer F. Datenanalyse mit SPSS, 2. Auflage, Springer Berlin Heidelberg, **1986**. ISBN 978-3-540-13269-1
380. Cumming G, Finch S. Inference by eye - Confidence Intervals and How to Read Pictures of Data. *Am Psychol*; **2005**, 60: 170–180
381. Bland M, Altman D. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet*; **1986**, 1: 307–310
382. Steinfeld T. Erwartungswert. mathepedia.de (Hrsg). Verfügbar auf <http://www.mathepedia.de/Erwartungswert.aspx> [Erfasst am 02.02.2016]
383. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis - Lessons in biostatistics. *Biochem Medica*; **2015**, 25
384. Schäfer T. t-Verteilung - aus: Statistik II, Inferenzstatistik. Leseprobe. VS Verlag für Sozialwissenschaften (Hrsg); **2012**. Verfügbar auf http://www.springer.com/cda/content/document/cda_downloaddocument/w_17_4536.pdf?SGWID=0-0-45-1361184-p174297125,
385. Kimchi T, Xu J, Dulac C. A functional circuit underlying male sexual behaviour in the female mouse brain. *Nature*; **2007**, 448: 1009–1014
386. Bargmann W, Cohrs W, Jaffé R. Pathologie der Laboratoriumstiere, Band 1, Springer Berlin Heidelberg, **1958**. ISBN 978-3-662-26873-5
387. Spektrum.de. Jacobsonsches Organ - Lexikon der Biologie. Spektrum der Wissenschaft Verlagsgesellschaft mbH (Hrsg). Verfügbar auf <http://www.spektrum.de/lexikon/biologie/jacobsonsches-organ/34804> [Erfasst am 17.11.2015]
388. Araújo M, Linder E, Lindhe J. Effect of a xenograft on early bone formation in extraction sockets: an experimental study in dog. *Clin Oral Implants Res*; **2009**, 20: 1–6
389. Tavakolinejad S, Ebrahimzadeh Bidskan A, Ashraf H, Hamidi Alamdari D. A glance at methods for cleft palate repair. *Iran Red Crescent Med J*; **2014**, 16: e15393
390. Panetta NJ, Gupta DM, Slater BJ, Kwan MD, Liu KJ, Longaker MT. Tissue engineering in cleft palate and other congenital malformations. *Pediatr Res*; **2008**, 63: 545–551
391. Cowan CM, Shi Y, Aalami OO, Chou Y, Mari C, Thomas R, et al. Adipose-derived adult stromal cells heal critical-size mouse calvarial defects. *Nat Biotechnol*; **2004**, 22: 560–567
392. Berger M, Probst F, Schwartz C, Cornelsen M, Seitz H, Ehrenfeld M, et al. A concept for scaffold-based tissue engineering in alveolar cleft osteoplasty. *J Craniomaxillofac Surg*; **2015**, 43: 830–836

-
393. Kwicien R, Kopp-Schneider A, Blettner M. Konkordanzanalyse - Teil 16 der Serie zur Bewertung wissenschaftlicher Publikationen. *Dtsch Arztebl Int*; **2011**, 108: 515–521
394. Koch R, Spörl E. Statistische Verfahren zum Vergleich zweier Messmethoden und zur Kalibrierung: Konkordanz-, Korrelations- und Regressionsanalyse am Beispiel der Augeninnendruckmessung. *Klin Monbl Augenheilkd*; **2007**, 224: 52–57
395. Grouven U, Bender R, Ziegler A, Lange S. Vergleich von Messmethoden - Artikel Nr. 24 der Statistik-Serie in der DMW. *Dtsch Med Wochenschr*; **2007**, 132: e69-e73
396. van Stralen, K J, Dekker FW, Zoccali C, Jager KJ. Measuring agreement, more complicated than it seems. *Nephron Clin Pract*; **2012**, 120: c162-7
397. Du Prel J, Hommel G, Röhrig B, Blettner M. Confidence interval or p-value? - Part 4 of a series on evaluation of scientific publications. *Dtsch Arztebl Int*; **2009**, 106: 335–339
398. Leferink AM, Fratila RM, Koenrades MA, van Blitterswijk, Clemens A, Velders A, Moroni L. An Open Source Image Processing Method to Quantitatively Assess Tissue Growth after Non-Invasive Magnetic Resonance Imaging in Human Bone Marrow Stromal Cell Seeded 3D Polymeric Scaffolds. *PLoS ONE*; **2014**, 9: e115000
399. Jülke H, Veit C, Ribitsch I, Brehm W, Ludewig E, Delling U. Comparative Labeling of Equine and Ovine Multipotent Stromal Cells With Superparamagnetic Iron Oxide Particles for Magnetic Resonance Imaging In Vitro. *Cell Transplant*; **2015**, 24: 1111–1125
400. Hachani R, Lowdell M, Birchall M, Thanh, Nguyen Thi Kim. Tracking stem cells in tissue-engineered organs using magnetic nanoparticles. *Nanoscale*; **2013**, 5: 11362–11373
401. Vogel D, Righi A, Kreshak J, Dei Tos, Angelo Paolo, Merlino B, Brunocilla E, *et al.* Lipofibromatosis: magnetic resonance imaging features and pathological correlation in three cases. *Skeletal Radiol*; **2014**, 43: 633–639
402. Bauer JS, Link TM. Advances in osteoporosis imaging. *Eur J Radiol*; **2009**, 71: 440–449
403. Elschner C, Korn P, Schulz MC, Jünger D, Range U, Scheler U. Osseointegration of dental implants: A combined magnetic resonance imaging and histology study. *BioNanoMat*; **2014**, 15: 204
404. Korn P, Elschner C, Schulz MC, Range U, Mai R, Scheler U. Titanium coated peek implants as basis for multimodal imaging in implant research. *Int J Max Surg*; **2015**, 44: e94
405. Bakermans AJ, Abdurrachim D, Moonen, Rik P M, Motaal AG, Prompers JJ, Strijkers GJ, *et al.* Small animal cardiovascular MR imaging and spectroscopy. *Prog Nucl Magn Reson Spectrosc*; **2015**, 88-89: 1–47
406. Kiernan JA. Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde: What they are and what they do. *Micros Today*; **2000**, 00-1: 8–12
407. Benveniste H, Blackband S. MR microscopy and high resolution small animal MRI: applications in neuroscience research. *Prog Neurobiol*; **2002**, 67: 393–420
408. Reinartz M. Einfluss des Tiefgefrierens und der Tiefkühlagerung auf die Mikroflora von vier handelsüblichen Tiefkühlprodukten. Dissertation, *Freie Universität Berlin*, Fachbereich Veterinärmedizin, **2011**
409. Chemie.de. Gefriertrocknung. Verfügbar auf <http://www.chemie.de/lexikon/Gefriertrocknung.html> [Erfasst am 16.09.2015]
410. Schwaighofer BW, Yu KK, Mattrey RF. Diagnostic significance of interslice gap and imaging volume in body MR imaging. *Am J Roentgenol*; **1989**, 153: 629–632
411. Elschner C, Hauptstock M, Schulz MC, Jünger D, Range U, Scheler U, Korn P. Bland-Altman analysis for measuring agreement between MRI and Histology. **2016** (in preparation)

VII. VERSICHERUNG

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht. Die Arbeit wurde bisher weder im Inland noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer Prüfungsbehörde vorgelegt.

Die vorliegende Dissertation wurde im Zeitraum vom April 2010 bis Februar 2016 am Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e.V. unter der wissenschaftlichen Betreuung von Prof. Dr. Manfred Stamm und Dr. Ulrich Scheler in der Abteilung »Polyelektrolyte und Dispersionen« angefertigt. Frühere Promotionsverfahren haben nicht stattgefunden.

Hiermit erkenne ich die Promotionsordnung der Fakultät Mathematik und Naturwissenschaften der Technischen Universität Dresden in der Fassung vom 23.02.2011 (zuletzt geändert durch Beschlüsse des Fakultätsrates vom 15.06.2011 und 18.06.2014) an.

Datum, Unterschrift