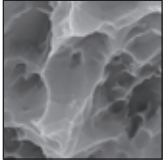


## Fraktale Analyse: Ein neuartiges Verfahren zur Ermittlung der Rauheit der Oberflächentopografie von Implantaten



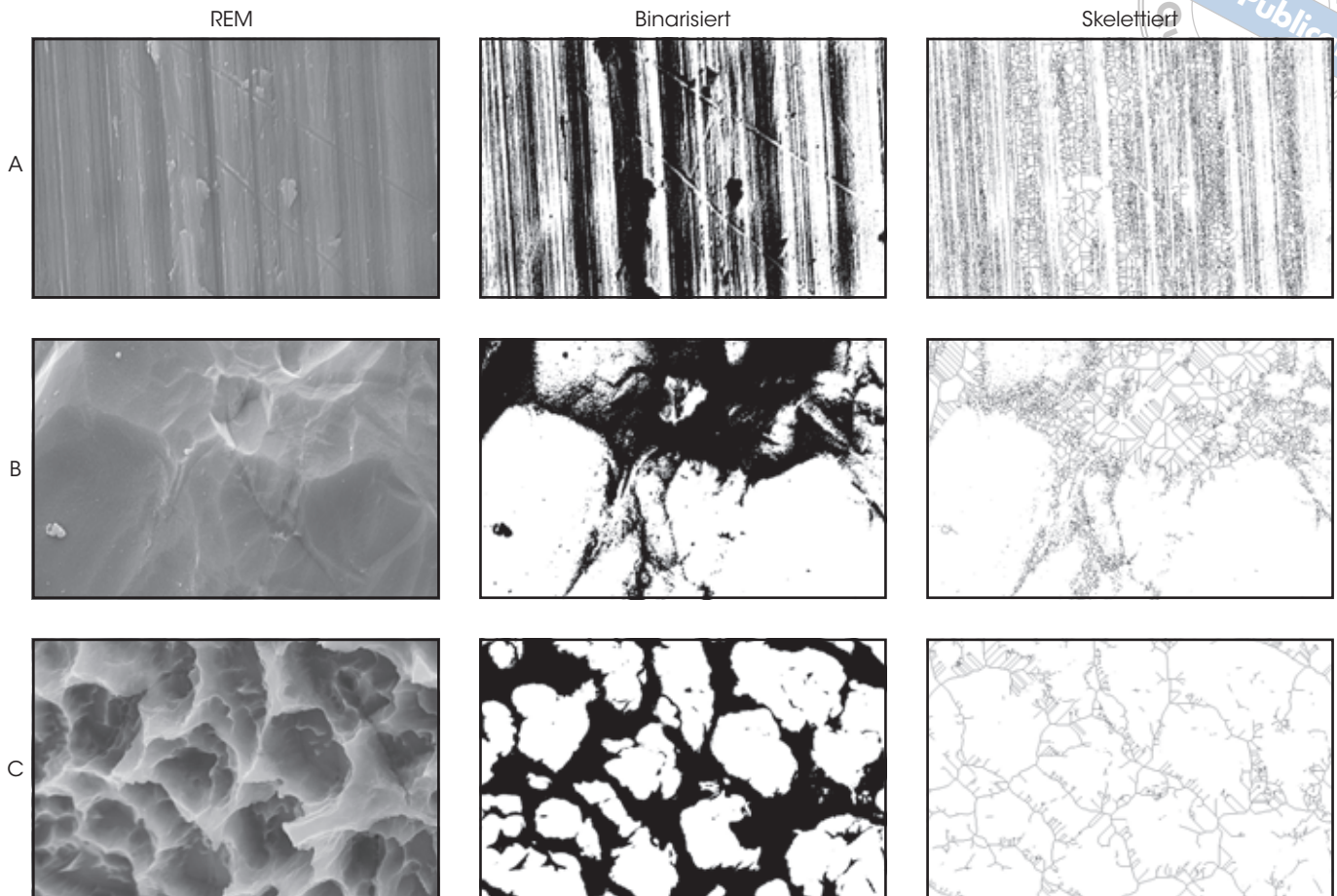
Vittoria Perrotti, DDS, PhD\* / Giuseppe Aprile, DDS\*  
Marco Degidi, MD, DDS\*\* / Adriano Piattelli, MD, DDS\*\*\*  
Giovanna Iezzi, DDS, PhD\*\*\*\*

Eine raue Oberfläche für die Osseointegration von Implantaten wurde bislang überwiegend anhand ihrer Amplitude und Höhe beschrieben. Die fraktale Analyse wurde von der fraktalen Geometrie abgeleitet und wird dazu verwendet, die Organisation von natürlichen Objekten zu beschreiben, deren komplexe Form durch einen Wert quantifiziert wird. Die fraktale Dimension ( $D_f$ ) ist ein Index der raumfüllenden Eigenschaften eines Objekts und kann zur Beschreibung der Organisation der Oberflächenrauheit verwendet werden. Je höher die fraktale Dimension ist, umso ungeordneter ist die Oberflächentopografie. Ziel dieser Studie war die Ermittlung der fraktalen Dimension von Implantaten mit drei verschiedenen Oberflächentopografien, um festzustellen, ob sich daraus ein neues Verfahren zur Messung der Rauheit der Implantatoberfläche entwickeln lässt. Insgesamt wurden 45 scheibenförmige Proben (10 x 2 mm) mit drei verschiedenen Oberflächentopografien unter dem Rasterelektronenmikroskop untersucht: maschinert (Gruppe A), sandgestrahlt und säuregeätzt (Gruppe B) und sandgestrahlt, säuregeätzt und neutralisiert (Gruppe C). Mit der Gitternetzmethode wurde die fraktale Dimension der Bilder mit 20000-facher und 50000-facher Vergrößerung quantifiziert. Die fraktale Dimension korrelierte mit der Bildvergrößerung. Bei einer 20000-fachen Vergrößerung betrug die fraktale Dimension für Gruppe A 1,81, für Gruppe B 1,67 und für Gruppe C 1,59. Bei 50000-facher Vergrößerung war die fraktale Dimension in allen Gruppen niedriger (A: 1,77; B: 1,49; C: 1,42). Die Gruppen A und C unterschieden sich bei beiden Vergrößerungen statistisch signifikant. Die fraktale Dimension wird oft und erfolgreich zur Charakterisierung anatomischer Strukturen, physiologischer und pathologischer Prozesse verwendet. Sie liefert nicht nur einen Index der Rauheit, sondern auch der räumlichen Organisation einer rauen Oberfläche. Daher handelt es sich um ein vielversprechendes Verfahren zur Beschreibung von osseointegrativen rauen Oberflächen. (Int J Par Rest Zahnheilkd 2011;31:629-635.)

- \* Research Fellow, Dental School, University of Chieti-Pescara, Chieti, Italien.
- \*\* Privatpraxis, Bologna, Italien.
- \*\*\* Professor für Oralpathologie, Dental School, University of Chieti-Pescara, Chieti, Italien.
- \*\*\*\* Wissenschaftlerin, Dental School, University of Chieti-Pescara, Chieti, Italien.

Korrespondenz an: Prof. Adriano Piattelli, Via F. Sciucchi 63, 66100 Chieti, Italien; Fax: 011-39-0871-3554076; E-Mail: apiattelli@unich.it

Das Konzept der fraktalen Geometrie wurde 1983 von dem Mathematiker Benoit Mandelbrot aufgestellt<sup>1</sup>. Seitdem hat es sich erheblich auf die theoretische und angewandte Mathematik ausgewirkt und wird vielfältig in den Naturwissenschaften eingesetzt. Die Anwendung von Fraktalen in Biologie und Medizin erfolgt bei einer Vielzahl von unterschiedlich stark organisierten Strukturen unterschiedlicher Skalen (z. B. Moleküle, Zellen, Gewebe und Organe)<sup>2</sup>. Viele menschliche Organe, wie die Netzhautgefäße, die tiefen Atemwege, der Arterienbaum der Niere<sup>3-5</sup>, die Herzkranzgefäße<sup>6</sup>, die Leber<sup>7</sup> und die Dendriten der Neurone<sup>8</sup> sind im Grunde fraktale Objekte. Die fraktale Geometrie wird in vielen Bereichen der Medizin angewandt, z. B. in der Kardiologie zur Berechnung der Herzfrequenz<sup>9</sup>, in der Neurologie zur Auswertung der wechselnden Muster in der Elektroenzephalografie<sup>10</sup> sowie in der Radiologie für die Beurteilung von Knochenheilung<sup>11</sup>, Mammaläsionen<sup>12</sup> und Tomografien<sup>13</sup>. Weiterhin wird sie in der Histopathologie und Zytologie eingesetzt, z. B. zur Berechnung der fraktalen Dimensionen mehrerer Neoplasien, wie dem Gallenblasen<sup>14</sup>, dem Bronchial<sup>15</sup>, dem Endometrium<sup>16</sup>, dem Mamma<sup>17</sup>, dem Mundhöhlen<sup>18</sup> und dem Larynxkarzinom<sup>19</sup>.



**Abb. 1** Schrittweise Vorbereitung auf die fraktale Analyse. REM-Abbildung mit 20000-facher Vergrößerung, Binarisierung und Skelettierung der Oberflächenproben der Gruppen A, B und C.

Außerdem wurde sie zur Beurteilung der komplexen Gefäßarchitektur des Nierenzellkarzinoms herangezogen<sup>20</sup>. Die fraktale Geometrie eignet sich gut zur Messung der Unregelmäßigkeit und Komplexität von unterschiedlich stark organisierten Geweben: der Organisation von Zellen auf Organebene bis zur Zelloberfläche<sup>21</sup>, der Verteilung von Proteinaggregaten in der Membran<sup>22</sup>, der Zytoplasmaorganisation<sup>23</sup>, dem Kern<sup>24</sup> sowie einzelner Proteinstrukturen<sup>25</sup>. Zusätzlich kommt sie im Finanzwesen, zur Bildkompression sowie zur Beschreibung der anatomischen Struktur von metallischem Glas und

des fraktalen Charakters der Frakturflächen von Metallen zum Einsatz<sup>26</sup>.

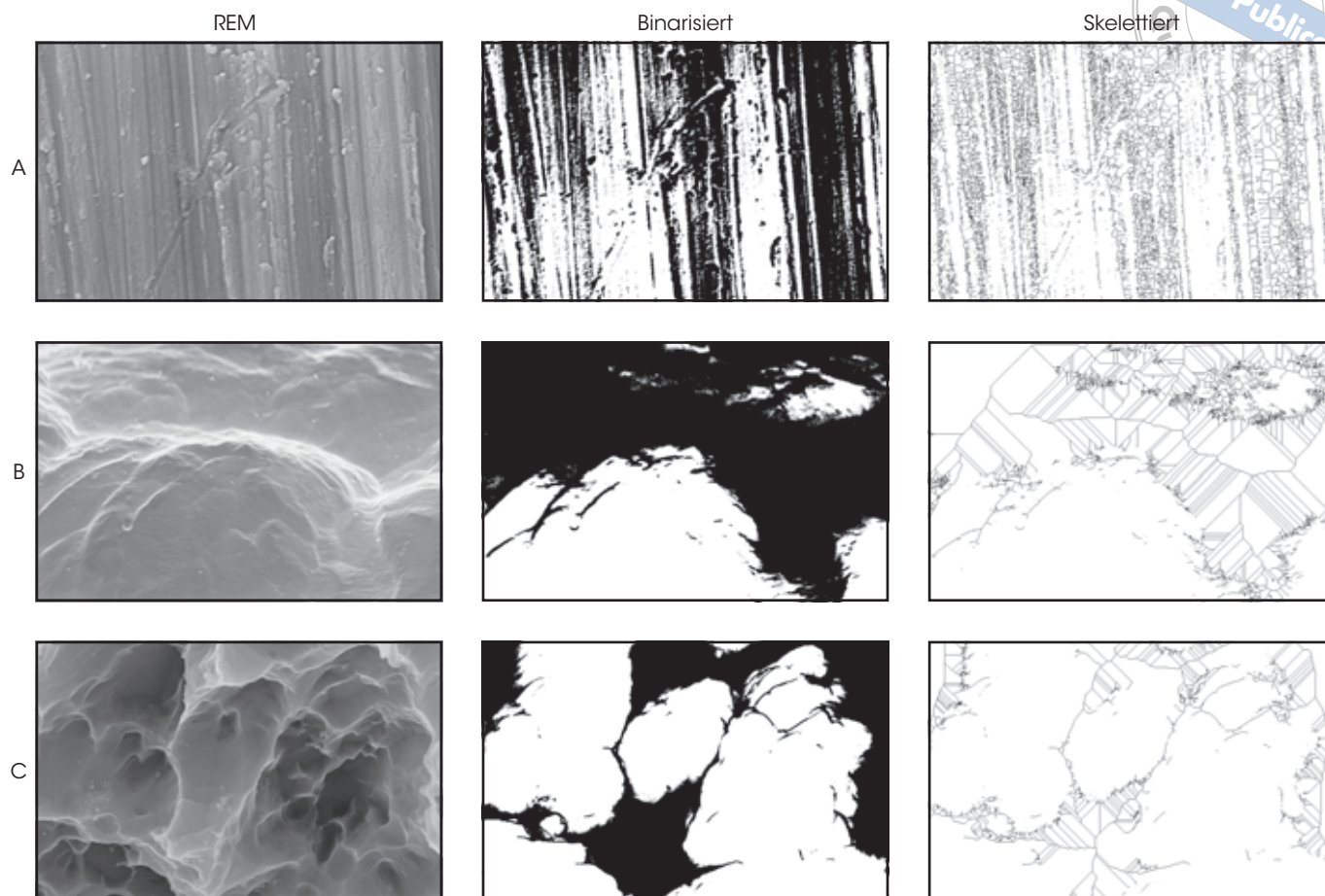
Die fraktale Analyse wurde von der fraktalen Geometrie abgeleitet und wird auch zur Berechnung der fraktalen Dimension ( $D_f$ ) verwendet, einem Index der raumfüllenden Eigenschaften eines Objekts<sup>27</sup>. Je höher die  $D_f$  ist, umso chaotischer ist die Oberfläche<sup>28</sup>. Meistens verwenden die Programme den Gitternetzalgorithmus zur Berechnung der  $D_f$ <sup>19, 29</sup>, wie Fractalyse (TheMA, Theoriser et Modeliser pour Amenager), Whinrhizo (Regent Instruments), Image Pro Plus (Media Cybernetics) und Fraclac (A. Karperien, Charles

Sturt University). Darunter berechnet nur Fraclac die  $D_f$  für alle Modelle<sup>30</sup>.

Ziel dieser Studie war die Ermittlung der  $D_f$  von Implantaten mit drei verschiedenen Oberflächentopografien, um zu klären, ob sich daraus ein neues Verfahren zur Messung der Oberflächenrauheit von Implantaten entwickeln lässt.

### Material und Methode

Die Studie erfolgte an 45 scheibenförmigen Proben von Implantaten aus handelsüblichem Grad-2-Reintitan (10 x 2 mm) mit drei verschie-



**Abb. 2** Schrittweise Vorbereitung auf die fraktale Analyse. REM mit 50000-facher Vergrößerung, Binarisierung und Skelettierung der Oberflächenproben der Gruppen A, B und C.

denen Oberflächentopografien (Dentsply Friadent). Die Proben wurden in drei Gruppen eingeteilt: Gruppe A: Implantate mit maschinierter Oberfläche, Gruppe B: Implantate mit sandgestrahlter (mit groben Partikeln von 354 bis 500  $\mu\text{m}$ ) säuregeätzter (Salzsäure/Flusssäure/Salpetersäure) Oberfläche, Gruppe C: Implantate mit sandgestrahlter (mit groben Partikeln von 354 bis 500  $\mu\text{m}$ ) säuregeätzter (Salzsäure/Schwefelsäure/Flusssäure/Oxalsäure) und neutralisierter (patentgeschütztes Verfahren von Friadent) Oberfläche. Die Proben aus diesen drei Gruppen wurden auf Alumini-

umstümpfe gesetzt, mittels Emitech K 550 (Emitech) mit Gold gesputtert und ihre Oberflächenstruktur mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM; LEO 435 Vp, LEO Electron Microscopy) analysiert.

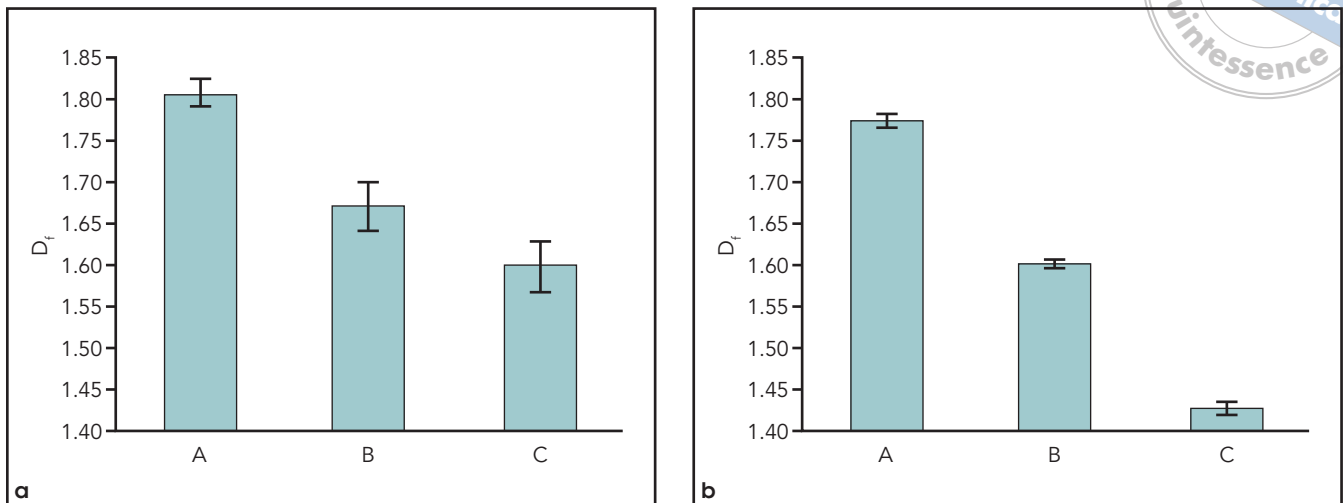
Für jede Gruppe wurden REM-Bilder mit einer 20000-fachen und 50000-fachen Vergrößerung aufgenommen und mithilfe des Bildbearbeitungsprogramms ImageJ 1.40g (Wayne Rasband, National Institute of Health) binarisiert und skelettiert (Abb. 1 und 2). Bei der Binarisierung wird ein Bild in bis zu 256 Graustufen umgewandelt, während bei der Skelettierung die Anteile des Objektske-

letts und seine Umrisse hervorgehoben werden.

Die  $D_f$  wurde mit der Gitternetzmethode mittels FracLac 2.5 Version 1d, einem Plug-in von ImageJ, berechnet.

#### Statistische Auswertung

Der Vergleich erfolgte mit dem nicht parametrischen Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben. Unterschiede zwischen den drei Gruppen wurden mit dem Dunn-Test für multiple Vergleiche ermittelt. Die Ergebnisse wurden als Mittelwerte  $\pm$



**Abb. 3a und b** Histogramme der Quantifizierung mithilfe der fraktalen Dimension bei (a) 20000-facher und (b) 50000-facher Vergrößerung.

Standardabweichung angegeben, und ein Unterschied mit einem P-Wert  $\leq 0,05$  galt als statistisch signifikant.

### Ergebnis

Auf den REM-Bildern wiesen die maschinieren Proben (Gruppe A) eine glatte Oberfläche mit Furchen durch die instrumentelle Bearbeitung auf. Die sandgestrahlten säuregeätzten Proben (Gruppe B) hatte eine raue Oberfläche mit zahlreichen Senken mit glattem Aussehen, Spitzen und Einkerbungen mit kleinem Durchmesser. Die sandgestrahlten säuregeätzten und neutralisierten Proben (Gruppe C) wiesen eine mikroporöse Oberfläche mit einer hierarchischen Struktur auf mit einer makroskopisch sichtbaren Rauheit und kleineren Mikroporen sowie einer zweiten Ebene mit Furchen (Abb. 1 und 2).

Die  $D_f$  korrelierte mit der Bildvergrößerung. Bei einer 20000-fachen Vergrößerung betrug die  $D_f$  in Gruppe A  $1,81 \pm 0,016$ , in Gruppe

B  $1,67 \pm 0,027$  und in Gruppe C  $1,59 \pm 0,030$  (Abb. 3a). Bei 50000-facher Vergrößerung betrug die  $D_f$  in Gruppe A  $1,77 \pm 0,008$ , in Gruppe B  $1,59 \pm 0,006$  und in Gruppe C  $1,42 \pm 0,006$  (Abb. 3b).

Statistisch signifikante Unterschiede fanden sich nur beim Vergleich der Gruppen A und C und bei beiden Vergrößerungen ( $P < 0,001$ ). Obwohl kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen A und B ermittelt wurde, bestand eine Tendenz für eine höhere fraktale Dimension in Gruppe A.

### Diskussion

Meistens erfolgt die Beschreibung der Rauheit einer Implantatoberfläche mithilfe der Kontaktprofilometrie, der zwei- und dreidimensionalen Laser-Profilometrie und der Rasterkraftmikroskopie. Die Rauheitsamplitude ist hierfür einer der am häufigsten herangezogenen Parameter und oft der einzige in wissenschaftlichen Studien angegebene Wert<sup>31</sup>. Dabei handelt es sich um den arithmeti-

schen Mittelwert der Absolutwerte von punktuellen Abweichungen von der mittleren Ebene auf der Oberfläche des Probenbereichs. Durch die Verwendung sehr unterschiedlicher Verfahren und Parameter zur Beschreibung der Oberflächentextur entstehen verschiedene Deskriptoren der Oberfläche, und oft haben ungenaue Angaben oder Auswertungen für Verwirrung gesorgt<sup>31</sup>. So sandten Macdonald et al.<sup>31</sup> sieben Proben mit stark voneinander abweichenden Oberflächentexturen zur Charakterisierung an drei international angesehene Labors. Die Ergebnisse wichen abhängig von Verfahren und Oberflächenbeschaffenheit um 300 bis 1000 % voneinander ab. Die Rauheitsamplitude einer der untersuchten Implantatoberflächen variierte um 0,17 bis 4,40  $\mu\text{m}$ . Außerdem können Parameter, die nur die Breite der Rauheit beschreiben, das Zellverhalten an Implantatoberflächen nicht vollständig erklären. Daher wurde vorgeschlagen, räumliche Werte, wie die Häufigkeit oder die Abstände der Spitzen voneinander, heranzuziehen.

Menschliche Osteoblasten scheinen sensitiver auf die Implantatopografie als auf die Rauheitsamplitude zu reagieren<sup>32</sup>. Daher muss bei einem präzisen, vorhersagbaren und reproduzierbaren Verfahren auch die Rauheit der Implantatoberflächen angegeben werden. Ebenfalls wichtig ist vermutlich eine Evaluation der Rauheitsform, da die spezifische Geometrie des Substrats konduktiv und induktiv an der Erzeugung einer Mikroumgebung beteiligt ist, die die Kaskade der Knöchendifferenzierung einleitet<sup>33</sup>. Dieses Konzept wird als geometrische Induktion der Knochenneubildung bezeichnet. Dementsprechend muss eine optimale morphogenetische Geometrie eine „intelligente“ Konkavität bestimmter Größe be-

sitzen, die vorzugsweise endogene knochenmorphogenetische/osteogene Proteine verankert<sup>34</sup>.

In der vorliegenden Studie wurden die REM-Bilder binarisiert und skelettiert, um etwaige Oberflächenkonkavitäten erkennen zu können. Sie fanden sich auf den Oberflächen der Gruppe C, die auch die niedrigste  $D_f$  aufwies. Die fraktale Geometrie ist eine mathematische Neuentwicklung und hilft bei der präzisen Untersuchung der Oberflächeneigenschaften natürlicher und komplexer künstlicher Objekte<sup>35,36</sup>. Die fraktale Analyse kann zur Beschreibung der Rauheitsamplitude, aber auch der Rauheitsorganisation verwendet werden<sup>35</sup>. In der vorliegenden Studie wiesen die Oberflächen in der Gruppe C eine Mikrotopografieskala von 20 bis 200  $\mu\text{m}$  auf, in der verstreut topografische Merkmale im Mikrometer- und Submikrometerbereich in einer Größenordnung von 0,5 bis 2,0  $\mu\text{m}$  lagen<sup>37</sup>. In einer vorausgegangenen Studie beeinflusste dieses Oberflächenmuster vermutlich die Osteoblastendifferenzierung<sup>37</sup>. In einer weiteren In-vitro-Studie führte diese Oberfläche zu einer sehr frühen Interaktion zwischen dem Gewebe und dem inserierten Implantat, wie eine Ausdehnung der Fibringerinnel<sup>38</sup>. Diese vorübergehend vorhandene dreidimensionale Matrix lenkt die osteogenen Zellen zur Implantatoberfläche und führt so vermutlich zu einer vermehrten Osteokonduktion in Richtung auf die Implantatoberfläche<sup>39</sup>. Die Oberflächen der Gruppe C zeigten hierarchische Strukturen, die sich bei zunehmender Vergrößerung änderten. In der ersten Ebene betrug die Rauheit 100  $\mu\text{m}$ , in der zweiten Ebene fanden sich Furchen mit einer Größe von 12 bis 75  $\mu\text{m}$ , zwischen denen sich Gruppen kleinerer, runderlicher Furchen mit einem Durchmesser von 1 bis 5  $\mu\text{m}$  befanden<sup>40</sup>. Die  $D_f$

sagte die Zellproliferation gut voraus<sup>35</sup>. In einer In-vitro-Studie nahm die Zellproliferation gemessen an der  $D_f$  progressiv zu, mit geringerer Proliferation auf Oberflächen mit hoher  $D_f$ <sup>35</sup>. Je höher die  $D_f$  war, umso chaotischer und unorganisierter war die Oberfläche<sup>35</sup>. Sehr chaotische Oberflächen stören die Zelladhäsion<sup>35</sup>. Die zu erwartenden besseren Ergebnisse bei der Verwendung weniger chaotischer Oberflächen werden durch neue histologische Ergebnisse gestützt, bei denen bereits früh in der Einheilungsphase (vier bis acht Wochen) ein ausgeprägter Knochen-Implantat-Kontakt ermittelt wurde<sup>41-47</sup>, sowie durch klinische Studien mit hohen Erfolgsraten bei der Verwendung von Implantaten derselben Oberfläche wie in Gruppe C dieser Studie<sup>48</sup>. Allerdings sind noch kontrollierte In-vivo-Studien erforderlich, um das Ansprechen des Knochens auf Oberflächen mit unterschiedlicher  $D_f$  zu bestätigen.

## Schlussfolgerung

Die fraktale Dimension könnte sich bei der Beschreibung und Evaluation von Implantatoberflächen mit komplexer Mikrostruktur als hilfreich erweisen und ist ein vielversprechendes Verfahren zur Identifikation von Oberflächen mit ähnlicher Rauheit, aber unterschiedlichen osseointegrativen Eigenschaften.

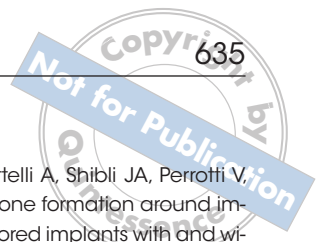
## Danksagungen

Die Autoren danken Dr. Donato Di Iorio für die technische Unterstützung bei der Rasterelektronenmikroskopie. Die vorliegende Arbeit wurde vom Nationalen Forschungsrat, Rom, Italien, und dem Bildungsministerium, Universität, Forschung, Rom, Italien, teilfinanziert.



## Literatur

1. Mandelbrot BB. *The Fractal Geometry of Nature*. New York: Freeman, 1983:25.
2. Stanley HE, Amaral LAN, Buldyrev SV, Gopikrishnah P, Plerou V, Salinger MA. Self-organized complexity in economics and finance. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99(suppl 1):2561–2565.
3. Mainster MA. The fractal properties of retina vessels: Embryological and clinical implications. *Eye (Lond)* 1990;4(pt 1):235–241.
4. Nelson TR, West BJ, Goldberger AL. The fractal lung: Universal and species-related scaling patterns. *Experientia* 1990;46:251–254.
5. Cross SS, Start RD, Silcocks PB, Bull AD, Cotton DW, Underwood JC. Quantification of the renal arterial tree by fractal analysis. *J Pathol* 1993;170:479–484.
6. Bassingthwaighte JB, King RB, Roger SA. Fractal nature of regional myocardial blood flow heterogeneity. *Circ Res* 1989;65:578–590.
7. Gaudio E, Chaberek S, Montella A, et al. Fractal and Fourier analysis of the hepatic sinusoidal network in normal and cirrhotic rat liver. *J Anat* 2005;207:107–115.
8. Ristanovic D, Nedeljko V, Stefanovic BD, Milosevic NT, Grgurevic M, Stulic V. Fractal and nonfractal analysis of cell images: Comparison and application to neuronal dendritic arborization. *Biol Cybern* 2002;87:278–288.
9. Otsuka K, Cornélissen G, Halberg F. Circadian rhythmic fractal scaling of heart rate variability in health and coronary artery disease. *Clin Cardiol* 1997;20:631–638.
10. Preissl H, Lutzenberger W, Purvermüller F, Birbaumer N. Fractal dimension of short EEG time series in humans. *Neurosci Lett* 1997;225:77–80.
11. Southard TE, Southard KA, Jakobsen JR, Hillis SL, Najim CA. Fractal dimension in radiographic analysis of alveolar process bone. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1996;82:569–594.
12. Velanovich V. Fractal analysis of mammographic lesions: A feasibility study quantifying the difference between benign and malignant masses. *Am J Med Sci* 1996;311:211–214.
13. Dougherty G, Henerby GM. Fractal signature and lacunarity in the measurement of the texture of trabecular bone in clinical CT images. *Med Eng Phys* 2001;23:369–380.
14. Waliszewski P. Distribution of grand-like structures in human gallbladder adenocarcinomas possesses fractal dimension. *J Surg Oncol* 1999;71:189–195.
15. Oczeretko E, Juczevska M, Kasacka I. Fractal geometric analysis of lung cancer angiogenic patterns. *Folia Histochem Cytobiol* 2001;39(suppl 2):75–76.
16. Dey P, Rajesh L. Fractal dimension in endometrial carcinoma. *Anal Quant Cytol Histol* 2004;26:113–116.
17. Yokoyama T, Kawahara A, Kage M, Kojiro M, Takayasu H, Sato T. Image analysis of irregularity of the cluster shape in cytological diagnosis of breast tumors: Cluster analysis with 2D-fractal dimension. *Diagn Cytopathol* 2005;33:71–77.
18. Abu Eid R, Landini G. Quantification of the global and local complexity of the epithelial-connective tissue interface of normal, dysplastic, and neoplastic oral mucosae using digital imaging. *Pathol Res Pract* 2003;199:475–482 [erratum 2003;199:703–704].
19. Delides A, Panayiotides I, Alegakis A, et al. Fractal dimension as a prognostic factor for laryngeal carcinoma. *Anticancer Res* 2005;25:2141–2144.
20. Sabo E, Boltenko A, Sova Y, Stein A, Kleinhans S, Resnick MB. Microscopic analysis and significance of vascular architectural complexity in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:533–537.
21. Keough KM, Hyam P, Pink DA, Quinn B. Cell surfaces and fractal dimensions. *J Microsc* 1991;163(pt 1):95–99.
22. Dewey TG, Datta MM. Determination of the fractal dimension of membrane protein aggregates using fluorescence energy transfer. *Biophys J* 1989;56:415–420.



23. De Vico G, Peretti V, Losa GA. Fractal organization of feline oocyte cytoplasm. *Eur J Histochem* 2005;49:151–156.
24. Lebedev DV, Filatov MV, Kuklin AI, et al. Fractal nature of chromatin organization in interphase chicken erythrocyte nuclei: DNA structure exhibits biphasic fractal properties. *FEBS Lett* 2005;579:1465–1468.
25. Bryant SH, Islam SA, Weaver DL. The surface area of monomeric proteins: Significance of power law behavior. *Proteins* 1989;6:418–423.
26. McAnulty P, Melsel LV, Cote PJ. Hyperbolic distributions and fractal character of fracture surfaces. *Phys Rev A* 1992;46:3523–3526.
27. Cross SS. Fractals in pathology. *J Pathol* 1997;182:1–8.
28. Bigerelle M, Anselme K, Dufresne E, Hardouin P, Iost A. An unscaled parameter to measure the order of surfaces: A new surface elaboration to increase cells adhesion. *Biomol Eng* 2002;19:79–83.
29. Hofland PL, Ottes FP, Vossepoel AM, Kroon HM, Schultze Kool LJ. Medical imaging workstation: A software environment. *Med Inform (Lond)* 1990;15:15–19.
30. Mancardi D, Varetto G, Bucci E, Maniero F, Guiot C. Fractal parameters and vascular networks: Facts & artifacts. *Theor Biol Med Model* 2008;5:12.
31. Macdonald W, Campbell P, Fisher J, Wennerberg A. Variation in surface texture measurements. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2004;70:262–269.
32. Anselme K, Bigerelle M. Topography effects of pure titanium substrates on human osteoblast long-term adhesion. *Acta Biomater* 2005;1:211–222.
33. Graziano A, d'Aquino R, Cusella-De Angelis MG, et al. Scaffold's surface geometry significantly affects human stem cell bone tissue engineering. *J Cell Physiol* 2008;214:166–172.
34. Ripamonti U. Soluble osteogenic molecular signals and the induction of bone formation. *Biomaterials* 2006;27:807–822.
35. Anselme K, Bigerelle M, Noel B, et al. Qualitative and quantitative study of human osteoblast adhesion on materials with various surface roughnesses. *J Biomed Mater Res* 2000;49:155–166.
36. Updike SX, Nowzari H. Fractal analysis of dental radiographs to detect periodontitis-induced trabecular changes. *J Periodontol* 2008;43:658–664.
37. Schwartz FO, Novaes AB Jr, de Castro LMS, Rosa AL, de Oliveira PT. In vitro osteogenesis of a microstructured titanium surface with additional submicron-scale topography. *Clin Oral Implants Res* 2007;18:333–344.
38. Di Iorio D, Traini T, Degidi M, Caputi S, Neugebauer J, Piattelli A. Quantitative evaluation of the fibrin clot extension on different implant surfaces: An in vitro study. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2005;74:636–642.
39. Mendes VC, Moineddin R, Davies JE. Discrete calcium phosphate nanocrystalline deposition enhances osteoconduction on titanium-based implant surfaces. *J Biomed Mater Res A* 2009;90:577–585.
40. Rupp F, Scheideler L, Rehbein D, Axmann D, Geis-Gerstorfer J. Roughness induced dynamic changes of wettability of acid etched titanium implant modifications. *Biomaterials* 2004;25:1429–1438.
41. Degidi M, Iezzi G, Scarano A, Piattelli A. Immediately loaded titanium implant with a tissue-stabilizing/maintaining design ("beyond platform switch") retrieved from man after 4 weeks: A histological and histomorphometrical evaluation. A case report *Clin Oral Implants Res* 2008;19:276–282.
42. Degidi M, Perrotti V, Piattelli A, Iezzi G. Mineralized bone-implant contact and implant stability quotient in 16 human implants retrieved after early healing periods: A histologic and histomorphometric evaluation. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2010;25:45–48.
43. Degidi M, Piattelli A, Shibli JA, Perrotti V, Iezzi G. Early bone formation around immediately restored implants with and without occlusal contact: A histologic and histomorphometric evaluation. Case report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24:734–739.
44. Degidi M, Perrotti V, Strocchi R, Piattelli A, Iezzi G. Is insertion torque correlated to bone-implant contact percentage in the early healing period? A histological and histomorphometrical evaluation of 17 human-retrieved dental implants. *Clin Oral Implants Res* 2009;20:778–781.
45. Degidi M, Piattelli A, Shibli JA, Perrotti V, Iezzi G. Bone formation around one-stage implants with a modified sandblasted and acid-etched surface: Human histologic results at 4 weeks. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2009;29:607–613.
46. Degidi M, Piattelli A, Shibli JA, Perrotti V, Iezzi G. Bone formation around immediately loaded and submerged dental implants with a modified sandblasted and acid-etched surface after 4 and 8 weeks: A histologic and histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2009;24:896–901.
47. Barros RRM, Degidi M, Novaes AB Jr, Piattelli A, Shibli JA, Iezzi G. Osteocyte density in the peri-implant bone of immediately loaded and submerged dental implants. *J Periodontol* 2009;80:499–504.
48. Degidi M, Novaes AB Jr, Nardi D, Piattelli A. Outcome analysis of immediately placed, immediately restored implants in the esthetic area: The clinical relevance of different interimplant distances. *J Periodontol* 2008;79:1056–1061.