

Aus der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie

(Direktor: Prof. C. Dörfer)

im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel

an der Christian-Albrechts- Universität zu Kiel

**Thema:**

**Detektion von nicht-kariösen Zahnhartsubstanzverlusten an  
bovinem Dentin**

Inauguraldisseration

zur

Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät

der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

GEERT FELSTEHAUSEN

aus Bremen

Kiel (2017)

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Christof Dörfer, Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie
2. Berichterstatter: Prof. Dr. Matthias Kern, Klinik für Zahnärztliche Prothetik, Propädeutik und Werkstoffkunde

Tag der Mündlichen Prüfung: 08.12.2017

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 28.08.2017

gez.: PD Dr. Christian Graetz

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>5</b>
<b>2. Zielsetzung meiner Studie</b>	<b>11</b>
Arbeitshypothese	11
<b>3. Material und Methode</b>	<b>12</b>
Probenherstellung	12
Säureherstellung	17
Erzeugung einer standardisierten Erosion	18
Erhebung der Messergebnisse	19
Auswertungsmöglichkeit aller hergestellten Messaufnahmen	19
Modifizierte Knoophärtemessung	20
Lasersprofilometer	28
CLSM	35
Transversale Mikroradiographie	41
Speicherung der Daten	48
Reproduzierbarkeitsmessung	48
Statistische Auswertung	48
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>50</b>
Methodenfehler	50
Einfluss von Chinolinöl auf TMR-Ergebnisse	50
Objektivität der Messungen	52
Überprüfung der Voraussetzungen der ANOVA	54
Überprüfung der Homogenität der Varianzen	56
Ergebnis der Varianzanalyse	57
Post-hoc Test der Varianzanalyse	59
<b>5. Diskussion</b>	<b>64</b>
Diskussion der Methodik	65

Diskussion der Ergebnisse .....	68
Festlegung des Goldstandards .....	70
Mod. Knoophärtemessung misst geringere Werte als Goldstandard TMR .....	71
Das Laserprofilometer misst signifikant geringere Werte als Goldstandard TMR .....	73
CLSM misst größere Werte als unser Goldstandard TMR .....	74
Fazit .....	76
<b>6. Zusammenfassung .....</b>	<b>77</b>
<b>7. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>79</b>
<b>8. Lebenslauf .....</b>	<b>88</b>
<b>9. Danksagung .....</b>	<b>89</b>
<b>10. Anhang .....</b>	<b>90</b>
Tabelle der Einzelmessungen .....	90
Exemplarische Darstellung aller angewandter Messmethoden .....	92
Liste der verwendeten Abkürzungen .....	95

## Einleitung

In den zurückliegenden Jahrzehnten nahm die durchschnittliche Lebenserwartung der Menschen kontinuierlich zu. Diese Tatsache stellt auch die Zahnmedizin vor neue Herausforderungen. Die orale Gesundheit ist ein wichtiger Faktor in Bezug auf hohe Lebensqualität, somit wurde ihr in der Vergangenheit zunehmend mehr Aufmerksamkeit zuteil.

Durch das verbesserte Bewusstsein bei Patienten und auch bei Zahnärzten für suffiziente Mundhygiene und eine kontinuierliche Kontrolle der oralen Strukturen durch den Zahnarzt, nimmt die Zahl der Patienten, die auch in höherem Alter noch voll- bis zumindest teilbezahnt sind, zu. ( Petersen PE (2003) The World Oral Health Report 2003 )

Die mikrobielle Plaque ist der Hauptfaktor bei der Entstehung von Karies, Gingivitis und Parodontitis. ( Hardie *et al*, 1971; Loe *et al*, 1965; Von del Fehr *et al*, 1970 ) Ihre Entfernung mittels Zahnbürste und Zahnpasta ist der zentrale Faktor zur Erhaltung der oralen Gesundheit. Es ist deshalb das am meisten verbreitete Hilfsmittel zur häuslichen Zahnpflege in der westlichen Welt. ( Addy and Hunter *et al*, 2003 )

Neben der mikrobiellen Plaque können auch andere Faktoren zu Zahnhartsubstanzverlusten führen. Diese nicht-kariösen Zahnhartsubstanzverluste werden durch unterschiedliche Faktoren bedingt und stellen in der Zahnmedizin zunehmend ein Problem dar.

Mechanismen der nicht-kariösen Zahnhartsubstanzverluste lassen sich wie folgt beschreiben:

**-Attrition:** Entsteht durch Zahn zu Zahn Kontakt und am Approximalkontakt ohne Beteiligung von Fremdkörpern. Klinisch ist dies meist bei antagonistischen Zähnen zu finden, die einen vergleichbaren Zahnhartsubstanzverlust aufweisen. ( Bartlett D, Smith BGN 2000 ) Das

Ausmaß der Attrition hängt maßgeblich von einwirkenden Faktoren, wie Kraft, Ausdehnung der Bewegung oder Friktion ab. ( Eisenberger *et al*, 2002 )

Die auftretenden Kräfte bei Bruxismus sind deutlich höher als bei normalen Kaubewegungen. (Waltimo *et al*, 1994) Somit trägt dieser pathologische Habit zu vermehrtem Auftreten von Attrition bei.

**-Abrasion:** Dies ist der pathologische Zahnhartsubstanzverlust durch mechanische Prozesse, welche mittels Fremdkörper oder Substanzen Kontakt zu Zähnen haben. In der westlich Welt ist die Zahnpasta, so nützlich sie zweifellos für die orale Gesundheit ist, der Hauptgrund für Abrasion. Hierbei ist Dentin bedeutend anfälliger als Schmelz. ( Hooper *et al*, 2003 ) Das Ausmaß der Abrasion wird von mehreren Faktoren bestimmt. Zähneputzen ohne Zahnpasta führt zu keiner Beeinträchtigung von Schmelz und nur einer sehr geringen von Dentin. ( Absi EG *et al*, 1992) Jedoch haben Häufigkeit des Zähneputzens, Anpressdruck der Zahnbürste und Beschaffenheit der Filamente einen großen Einfluss. (Addy *et al*, 2003; Hunter *et al*, 2002)

**-Erosion:** Beschreibt den Zahnhartsubstanzverlust durch chemische bzw. elektrolytische Prozesse ohne Beteiligung von Bakterien. Die einwirkende Säure kann entweder intrinsischer (z.B. HCL aus dem Magensaft) oder extrinsischer (z.B. saure Getränke oder Lebensmittel) Herkunft sein. Die Zahnhartsubstanzen reagieren auf unterschiedliche Weise auf die einwirkende Säure. Aus Schmelz werden Hydroxylapatitkristalle herausgelöst und tiefer liegende Schichten werden erweicht. (Koulourides T. Art and Science of Dental Caries Research 1968; Eisenberger *et al*, Caries Res. 2000)

Dentin reagiert auf Grund seines höheren organischen Anteils auf Säurekontakt anders. Auch hier werden anorganische Kristalle herausgelöst, jedoch verbleibt eine organische Kollagenmatrix auf der Oberfläche (Kinney *et al*, J Dent Res 1995; Breschi *et al*, Dent Mater 2002).

**-Abfraktion:** Durch exzentrisch wirkende Kräfte entstehen Zugbeanspruchungen, welche zu Zahnhartsubstanzverlusten durch Aussprengung speziell an der Schmelz-Zement Grenze führen.

Jeder dieser Einzelfaktoren kann unter besonderen Umständen allein zu nichtkariösen Zahnhartsubstanzverlusten führen. Als Beispiel sei Erosion nach Trinken von sauren Fruchtsäften oder Attrition bei Bruxismus zu nennen.

Allgemein anerkannt ist jedoch die These, dass nichtkariöse Zahnhartsubstanzverluste in Zusammenspiel mehrerer Faktoren entstehen, wobei ein Faktor dominieren kann.

Wie beschrieben entsteht bei Säurekontakt an Zahnhartsubstanzen nicht nur ein oberflächlicher Abtrag, sondern auch tiefer liegende Schichten werden erweicht. Diese ist sehr anfällig gegen mechanische Beanspruchung.

Der nichtkariöse Zahnhartsubstanzverlust ist in den meisten Fällen ein multifaktorielles Geschehen. Es ist für eine Risikoeinschätzung oder Verlaufsprognose bei Patienten in Bezug auf Progression der nichtkariösen Läsionen wichtig, die Einzelfaktoren korrekt in Verhältnis setzen zu können. Hierbei geht es zum Beispiel um die Abrasivität der Zahnpasta, (RDA- Wert Hefferen *et al*, J Dent Res 1976) um die vom Patienten angewandte Putztechnik, um die Gestaltung der Filamente der Zahnbürste (Meyer-Lückel *et al*, J Clin Periodontol 2005) und über die Fließrate des Speichels. Dieser hat über die Pufferkapazität einen entscheidenden Einfluss auf die Dauer der Säureexposition. Zudem muss das erosive Potential der konsumierten Lebensmittel zuverlässig und reproduzierbar bestimmt werden können, um eine valide Aussage über ihren Einfluss an der Progression von nichtkariöse Zahnhartsubstanzverlusten treffen zu können.

Dieser RDA-Wert (relative dentine abrasivity) stellte über Jahre den Goldstandard in Bezug auf die Messung von Abrasionseffekten von Zahnpasten an Dentin dar. Hierbei wird die zu testende Zahnpasta gegen eine Standardzahnpasta, deren RDA-Wert als Reverenzwert gleich 100 gesetzt wird, verglichen. (ISO 11609)

In jüngerer Vergangenheit ergaben neue Forschungsergebnisse unter anderem der Forschungsgruppe um Carlos Gonzáles-Cabezas ( J Clin Dent 21 (*Supplement*):S1-S13, 2010), dass der RDA-Wert eine sehr hohe Variabilität von zu erwartenden 25% zwischen Einzelstudien an verschiedenen Forschungseinrichtungen aufweist. Und dies obwohl die Methode sehr aufwendig und teuer ist.

Somit kann festgehalten werden, dass die RDA-Methode ungeeignet ist zur Detektion von nicht-kariösen Zahnhartsubstanzverlusten. Das Ziel der Forschung in diesem Fachbereich muss sein, eine möglichst einfache, genaue, reproduzierbare und trennscharfe Methode zur Erfassung von nicht-kariösen Zahnhartsubstanzen zu finden.

Dies ist umso wichtiger, da sich das Konsumverhalten von Kindern und Erwachsenen bezüglich saurer Lebensmittel und Softdrinks deutlich geändert. In den letzten 20 Jahren ist der Konsum von Softdrinks in den USA um 300% gestiegen. (Calvadini *et al*, Arch Dis Child

2000) Studien an Kindern und Erwachsenen haben gezeigt, dass die Anzahl der Mahlzeiten pro Tag und das Vorhandensein und Voranschreiten von nichtkariösen Läsionen bei zusätzlich vorhandenen Risikofaktoren für diese Läsionen korreliert. (O'Sullivan *et al*, J Dent Child 2000; Lussi *et al*, Caries Res 2000) Diese Zusammenhänge zeigen die Bedeutung und das Gewicht, welches einer zuverlässigen Testung unserer Lebensmittel in Bezug auf ihr erosives Potential zukommt.

Jedoch ist dentale Erosion nicht in jedem Fall pathologisch. Einer Studie zufolge verlieren Seitenzähne durchschnittlich 15-20 µm Substanz pro Jahr. (Lamprechts *et al*, J Dent Res 1989)

Ab welchem Wert man von einem pathologischen nichtkariösen Zahnhartsubstanzverlust sprechen kann, ist im Moment noch nicht abschließend geklärt, da die zur Verfügung stehenden Messmethoden In-situ-Verlaufskontrollen nicht ausreichend ermöglichen.

Schreitet eine nichtkariöse Läsion jedoch zu lange unbemerkt oder gar unbehandelt voran, ergeben sich durch sie Probleme für die Zahngesundheit des betroffenen Patienten. So kann starke Erosion/Abrasion durchaus zu einem endodontischen Problem des betroffenen Zahns hervorrufen. (Sivasithamparam *et al*, Aust Dent J 2003) Auch eine Hypersensibilität ist nicht selten Folge einer nicht kariösen Läsion. (Addy *et al*, Arch Oral Biol 1994)

Ästhetische Beeinträchtigungen hervorgerufen durch keilförmige Defekte im Zahnhalsbereich können den Patienten besonders im Frontzahnbereich stören.

Auf Grund dieser möglichen Komplikationen weit fortgeschrittener Läsionstiefen, hervorgerufen durch nichtkariöse Zahnhartsubstanzverluste, sind diese durchaus als pathologisch anzusehen. ( Petersen PE (2003). The World Oral Health Report 2003 )

Um eine korrekte, zuverlässige und für jeden nachvollziehbare Aussage über das erosive Potential von Nahrungsmitteln und Mundhygieneprodukten treffen zu können, ist die Wahl einer validen Messmethode zur Detektion dieser Erosionen an den unterschiedlichen Zahnhartsubstanzen essentiell wichtig. Hierbei ist entscheidend, dass diese Methode auch beginnende und dementsprechend noch sehr kleine Veränderungen der Zahnhartsubstanzen detektieren kann.

Die wichtigsten Messmethoden zur Detektion der Erosionsläsionen sind transversale Mikroradiographie, Laserprofilometrie, CLSM und die modifizierte Knoophärtemessung.

Die modifizierte Knoophärtemessung vermisst mittels Knoophärte-diamant erzeugte Impressionen vor und nach Erosion, wobei durch die auftretende Differenz der Messungen



die Erosionstiefe errechnet werden kann. Das Laserprofilometer misst mittels optischer Reflektion eines Lasers auf der Dentinprobe die Oberfläche und erstellt so ein Höhenprofil anhand dessen man die Erosionstiefe ermitteln kann. Das TMR bedient sich der Röntgentechnologie, um von Dünnschliffen der erodierten Probe ein Mikroradiogramm zu erstellen, auf welchem man die unterschiedlichen Mineralisationsgrade der Erosion beurteilen und vermessen kann. Das CLSM arbeitet auch mittels Laser, welcher die Probe durchleuchtet. Jedoch wird mittels unterschiedlicher Blenden nie die ganze Probe beschienen und Streustrahlung außerhalb des fokussierten Bereichs wird ausgeblendet. Somit kann eine 3D-Darstellung der Erosion erzeugt werden, da man durch unterschiedliche Schichten der Probe fokussieren kann.

Durch die ganz unterschiedlichen Detektionsmechanismen der Methoden ergeben sich Stärken und Schwächen in Bezug auf die unterschiedlichen Zahnhartsubstanzen Schmelz und Dentin. Diese werden im Folgenden genau beschrieben und analysiert.

Entscheidend für die Validität des jeweiligen Versuchsaufbaus und der angewandten Methode ist auch die untersuchte Zahnhartsubstanz. Bei Schmelz herrscht allgemein Übereinstimmung, dass die genannten Methoden valide Messergebnisse liefern können. (Ganss *et al*, Caries Res 2005)

Bei Dentin besteht dieser Konsens nicht. Auf der einen Seite wurde bei Erosionsmessungen von den meisten Forschergruppen auf das Laserprofilometer als Goldstandard zurückgegriffen. (Attin *et al*, Caries Res 2004; [www.karger.com/doi/10.1159/100326819](http://www.karger.com/doi/10.1159/100326819))

Hinzu kommt, dass hier sehr genaue Messergebnisse mit Abweichungen von unter 1 µm beschrieben wurden. (Hooper *et al*, J Clin Periodontol 2003)

Auch das TMR hat seinen Einsatz in der Erosionsforschung gefunden. Es sind genaue Messungen von kleinen Erosionen nach nur einer Stunde Säureeinwirkzeit an Dentin beschrieben worden. (Hall *et al*, Adv. Dent Res 1997)

Es gibt bei der Dentinerosionsforschung durchaus unterschiedliche und sich teilweise widersprechende Forschungsergebnisse bezüglich der Validität der genannten Messmethoden. Speziell das Laserprofilometer, welches die am häufigsten eingesetzte Messmethode zur Erosionsdetektion ist, steht im Verdacht ungenaue oder gar falsche Erosionstiefen zu messen.

(Ganss *et al*, Eur J Oral Sci 2007; [www.karger.com/doi/10.1159/100326819](http://www.karger.com/doi/10.1159/100326819))

In einer Studie der Forschungsgruppe Ganss misst das Laserprofilometer an Dentinproben statistisch signifikant geringere Erosionstiefen als zum Beispiel durch mikroradiographischen Messmethoden ermittelt wurden. Um der Fehlerquelle auf den Grund zu gehen, wurden die Dentinproben in einem zweiten Messdurchgang vor Messung mit einer Kollagenase behandelt. Die nun vom LPM ermittelten Messwerte näherten sich deutlich den Werten der anderen Messmethoden an.

Diese Forschungsergebnisse führen zwangsläufig zu einer genaueren Betrachtung der Morphologie einer Dentinerosion. Anders als bei Schmelz, welcher einen sehr viel geringeren Volumenanteil an organischen Bestandteilen aufweist, wird bei der Ätzung von Dentin ein Kollagengeflecht freigelegt und dieses verbleibt trotz Säureeinwirkung auf der erodierten Oberfläche. (Breschi *et al*, Dent Mater 2002)

Bei Versuchen mit bovinem Wurzeldentin wurde durch die Forschungsgruppe Hara (Hara *et al*, Caries Res 2005) bei Proben, welche vorher mit einer NaOCl Lösung behandelt und anschließend mit 1% Zitronensäure erodiert wurden, größere Erosionswerte gemessen, als bei Proben, bei denen das Kollagen mittels 2% GDA Lösung fixiert wurde.

Somit kann vermutet werden, dass das durch Säureexposition freigelegte Kollagen einen wichtigen Einfluss auf die Progression von Erosionen bei Dentin hat. (Vanuspong *et al*, J Clin Periodontol 2002)

Durch diese Besonderheiten einer Dentinerosion kann auch vermutet werden, dass die freigelegte Kollagenmatrix auch die Genauigkeit und Wiederholbarkeit der verwendeten Messmethoden beeinflussen kann.

Somit erscheint ein erneuter Methodenvergleich der schon genannten Methoden unerlässlich. Das korrekte Erfassen einer Dentinerosion ist von zentraler Bedeutung, da sonst keine zuverlässige Aussage über das erosive Potential von Lebensmitteln oder Zahnhygieneprodukten getroffen werden kann.

Ob es einer einzigen Messmethode gelingen kann, alle Aspekte, wie Erosion, freigelegtes Kollagen und auch das darunterliegende erweichte Dentin zu erfassen muss untersucht und kritisch hinterfragt werden.

## **Zielsetzung meiner Studie**

Die in der Einleitung aufgeworfene Frage, wie man valide die Erosionsprozesse der Mundhöhle speziell an Dentin korrekt qualitativ und quantitativ erfassen kann, würde im Idealfall durch eine breit angelegte klinische Studie zu klären sein.

Diese Studien sind jedoch im Allgemeinen sehr teuer, zeitaufwendig und beanspruchen sehr viel Zeit. Hinzu kommt das ebenfalls bereits geschilderte Problem der validen Messmethoden, bei deren korrekter Auswahl es sehr unterschiedliche Meinungen in der Wissenschaft gibt. (Ganss *et al*, Eur. J Oral Sci 2007)

Zielsetzung dieser Studie ist es dementsprechend, eine möglichst einfache, genaue, trennscharfe und dennoch valide und für jeden reproduzierbare Methode zu finden, mit welcher man den Zahnhartsubstanzverlust nach Säureexposition an Dentin bestimmen kann.

So wurde ein In-vitro-Design der Studie gewählt, um die wichtigsten Messmethoden Laserprofilometrie, mod. Knoophärtemessung und CLSM mit dem Goldstandard TMR hinsichtlich ihrer Validität, Reproduzierbarkeit und Trennschärfe zu vergleichen.

Die zentrale Frage hierbei lautet, ob alle Messmethoden die sehr komplexe Morphologie einer Dentinerosion so erfassen können, um so valide und reproduzierbare Messergebnisse liefern zu können.

## **Arbeitshypothese**

Die Nullhypothese lautet: Es besteht kein signifikanter Unterschied der Messergebnisse der Messmethoden CLSM, modifizierte Knoophärte, LPM und TMR bei der Detektion von Erosionen an bovinem Wurzeldentin.

Die Alternativhypothese lautet: Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Einzelmethoden in Bezug auf ihr Vermögen Dentinerosionen korrekt zu detektieren.

Bei Eintreten der Alternativhypothese eignen sich nicht alle von mir angewendeten Messmethoden zu Detektion von Dentinerosionen.

## **Material und Methode**

In dieser In-vitro-Studie wurde untersucht, welche Messmethode sich zur Detektion von, durch Säureeinwirkung entstandenen nichtkariösen Dentinverlusten eignet.

Die zur Anwendung gekommenen Verfahren waren modifizierte Knoophärtemessung, Laserprofilometrie, CLSM (confocal laser scanning mikroskop) und der Goldstandard transversale Mikroradiographie.

Die standardisierte Erosion wurde auf bovinem Wurzeldentin mittels 1% Zitronensäure, 0,25% Zitronensäure und 0,07% Zitronensäure erzeugt.

## **Probenherstellung**

Es wurden in einem Schlachthof bovine Frontzähne extrahiert und von Bindegewebsresten gereinigt. Diese wurden und bis zur weiteren Verarbeitung in 0,08% Thymol (Merck, Darmstadt) gelagert.

Mittels Präzisionssäge (Exakt, Norderstedt) wurden unter Wasserkühlung die Zahnkronen von den Wurzeln getrennt. Aus diesen wurde das verbliebene pulpale Gewebe entfernt. Von jeder so vorbereiteten Zahnwurzel wurden drei ca. 5 mm breite Scheiben geschnitten und diese wiederum in Thymol gelagert.

Alle Säuren und Messmethoden wurden an jedem einzelnen Rinderfrontzahn angewandt, da so Unregelmäßigkeiten in der gewachsenen Struktur der bovinen Zähne keinen Einfluss auf die Messergebnisse haben können.

Deshalb wurden die drei Scheiben eines jeden Zahns separat gelagert. Somit konnte sichergestellt werden konnte, dass jede Säurekonzentration und alle angewandten Methoden an jedem Zahn zum Einsatz kommen konnten.

Die bovinen Wurzeldentinscheiben wurden mittels eines Schleiftellers (ATM Saphir 360E, Mammetzen) und Schleifpapier unterschiedlicher Körnung (Struers, Willich) unter Wasserkühlung von 1200 nach 4000 poliert, sodass eine plane Auflagefläche ohne Wurzelzementreste entstand.



Abb.1 Präzisionssäge zum Zerteilen der bovinen Wurzeln



Abb.2 Schleifteller mit Schleifpapier zur Schaffung einer planen Auflagefläche

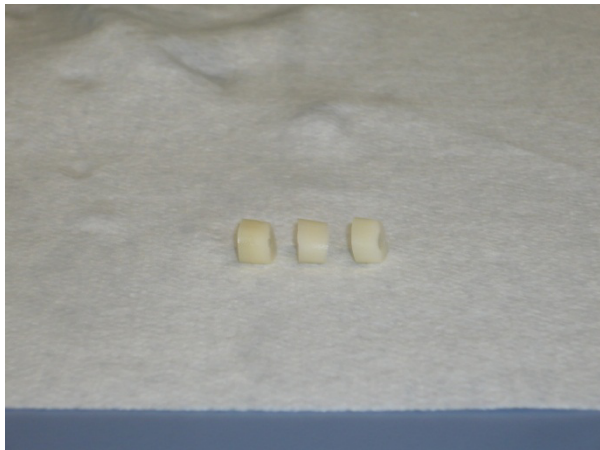


Abb.3 Gesägte und polierte Dentinscheiben vor Einbettung in Technovit

Die drei Wurzeldentinscheiben aus einem Zahn wurden nun mittels selbst hergestellten Silikonförmchen zu einem Technovitblock aus Technovit 4000 (Heraeus-Kulzer, Wehrheim) gegossen.

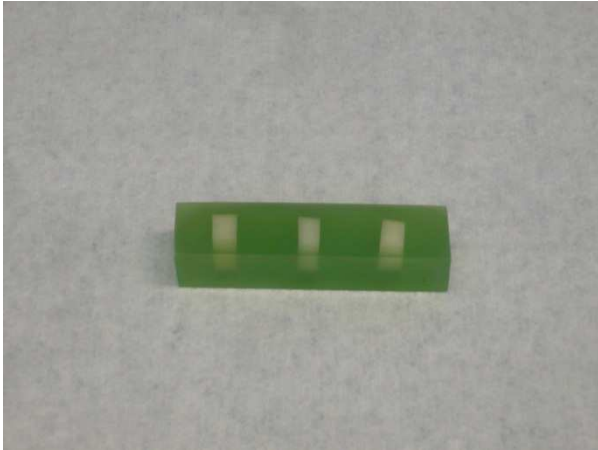


Abb.4 Technovitblock mit drei bovinen Wurzeldentinsegmenten

Die den Dentinproben gegenüberliegenden Seiten des Blocks wurde mit Hilfe von Schleifteller und Schleifpapier zu einer planen Fläche poliert. Diese Seite wurde nun auf einen Kunststoffobjektträger (Pathoservice, Osteinbeck) mittels weniger Sekundenkleberpunkte (Loclite Henkel, Düsseldorf) fixiert.

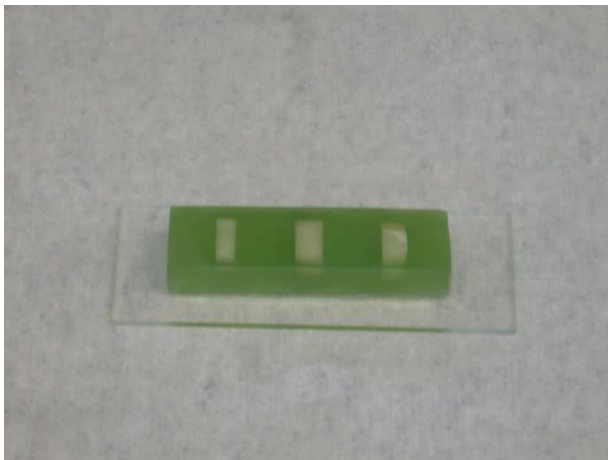


Abb.5 Technovitblock auf Objektträger vor Planparallelisierung

Dieser Technovitblock wurden mit einem Planparallelschleifteller (Exakt, Norderstedt) solange geschliffen, bis Ober- und Unterseite des Blocks planparallel zueinander waren und sich auf der Unterseite keine Technovitreste mehr auf dem Wurzeldentinflächen befanden. Der Schlitten des Planparallelschleifers wurde immer mit Gewichten von 50 g beschwert. Die Blöcke wurden immer mit Schleifpapier in der Reihenfolge 1200er, 2400er und zuletzt 4000er Körnung (Struers, Willich) unter Wasserkühlung bearbeitet.



Abb.6 Planparallelschleifer zur Planparallelisierung der bov. Wurzelentinssegmente

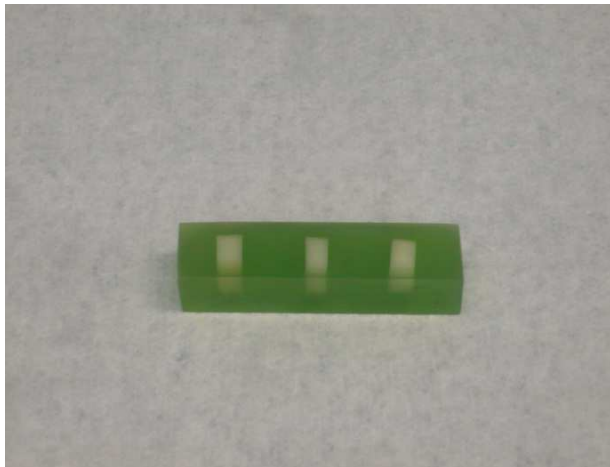


Abb.7 Fertiger Probenblock mit polierten planparallelen Wurzelentinssegmenten

Diese Blöcke wurden bis zur weiteren Bearbeitung wiederum in 0,08% Thymol gelagert.

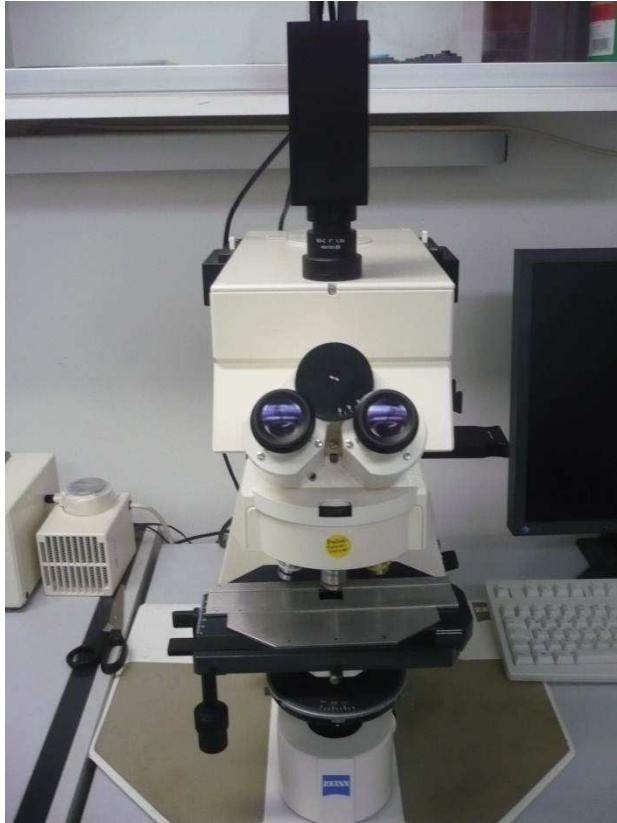


Abb.9 Zeiss Axioplan 2 zur optischen Erfassung der gesetzten Impressionen vor und nach Erosion

Vor Erosion wurden alle Dentinproben mit Nagellack behandelt. (Maybellin Jade, New York)  
Es wurde die den Impressionen gegenüberliegende Seite abgedeckt. Der Nagellack wurde so dünn wie möglich aufgetragen und es wurde darauf geachtet, dass ca. 1/3 der Probe bedeckt war und dass der Nagellack eine gerade und klare Kante aufwies.

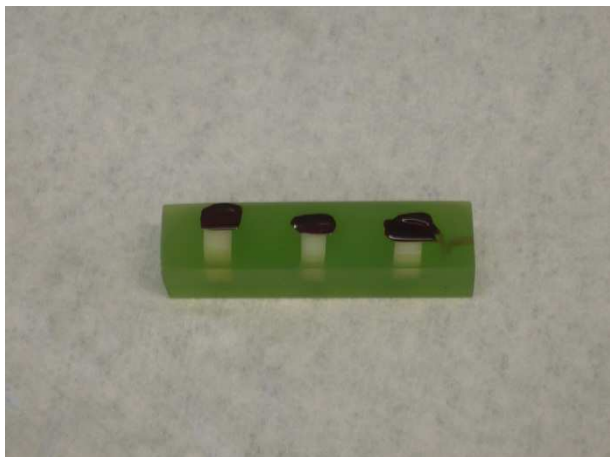


Abb.10 Probenblock mit Nagellack vor Erosion



Die Probenblöcke wurden anschließend mit Hilfe einer Präzisionssäge in drei Teile zersägt. Jeder Teil des Technovitblocks trug eine Dentinprobe des Jeweiligen Zahns. So wurde mit alle 24 Probenblöcken verfahren, so dass drei gleichstarke Gruppe mit n=24 entstanden.

Zur Aufstellung einer vierten Gruppe, welche die Negativkontrollgruppe darstellt, wurden 8 Technovitblöcke, welche exakt nach der beschriebenen Methodik hergestellt wurden wie die 24 Blöcke der Hauptgruppen in drei gleiche Teile zerteilt.

Somit entstanden vier gleich starke Gruppe mit n=24.

## Säureherstellung

Bei der Wahl der Säuren orientierte sich diese Studie an den Reverenzsäuren der ISO/WD 28888. Hierbei handelt es sich um drei Zitronensäuren mit unterschiedlich hoher Konzentration.

Tab.1.1 Bei den Masseangaben handelt es sich um die Dosierung pro 100ml Säure.

Lösung	% Zitronensäure (w/v)	Mass $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	Mass $\text{H}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$	Erwarteter pH
A	1,00%	0,541g	0,705g	3,60
B	0,25%	0,114g	0,178g	3,68
C	0,07%	0,031g	0,048g	3,77

Zitronensäure eignet sich für Erosionsforschung sehr gut, da sie ein sehr hohes erosives Potential besitzt und es ihr möglich ist, mit Calcium einen Chelatkomplex zu bilden. (Meurman JH, Frank RM, Caries Res 1991)

Es wurde ein Kolbenglas (Schott Duran, Mainz) mit 400ml deionisiertem Wasser gefüllt und mit einem Magnetrührstab versehen. Das so gefüllte Kolbenglas wurde nun auf einen Magnetrührer gestellt. (IKA Labortechnik, Staufen) Dieser wurde auf mittlere Stufe gestellt, sodass eine kontinuierliche Wasserbewegung entstand.

Die exakten Mengenangaben von Zitronensäure (Carl Roth, Karlsruhe) und Natrium Citrat (Aldrich, St. Louis MO) wurden mittels Präzisionswaage (Kern, Balingen) für jede Säure abgewogen und in Messschälchen gefüllt. Es wurden so von jeder der drei Säuren ein Liter angesetzt.

Die für die jeweilige Säure abgewogenen Pulvermengen wurden in das oben beschriebene vorbereitete Kolbenglas gegeben und die Messschale mit deionisiertem Wasser abgespült. Somit wurde sichergestellt, dass alles der errechneten Pulvermenge in das Kolbenglas gelangte.

Anschließend wurden der exakte pH-Wert der Säure mittels eines vorher auf pH 4,01 und 7,01 kalibrierten pH-Meters (Greisinger GMH, Regenstauf) bestimmt. Da dieser bei Lösung A und C um mehr als 0,05 unterhalb des gewünschten pH lag, wurde dies mittels 0,1 mol/L KOH (Merck, Darmstadt) korrigiert.

Lösung B lag mehr als 0,05 oberhalb des gewünschten pH Bereichs und wurde deshalb mit 0,1 mol/L HCL (Merck, Darmstadt) herabgesetzt.

Die so hergestellten Säuren entsprachen den in Tab 1 angegebenen pH-Werten  $\pm 0,05$ . Ihre Temperaturen betragen bei Herstellung 21,2 °C.

Jede Säure wurde auf zwei Gefäße verteilt, sodass je 12 Proben in 500ml Säure erodiert wurden.

Die Negativkontrollgruppe wurde mit deionisiertem Wasser mit pH 7,57 bei 21,2 °C behandelt.

### **Erzeugung der standardisierten Erosion**

Die Proben wurden zu je 12 in 500 ml Säure für exakt 60 Minuten erodiert. Dies wurde mittels Stoppuhr (Junghans, Schramberg) kontrolliert. Die Temperatur der Säuren wurde über die Zeit kontrolliert und blieb konstant bei 21,2 °C.

Die Proben wurden im Säurebad so platziert, dass sie einzeln liegend mit der zu erodierenden Seite nach oben lagen. Nach Ablauf der 60 Minuten wurden die Proben gründlich mit deionisiertem Wasser abgespült und in 0,08% Thymol gelagert.

Zwischen den Messverfahren lagerten die Proben immer nass in Thymol bei 8°C in einem Kühlschrank. (Liebherr, Ochsenhausen)

## **Erhebung der Messdaten**

Alle Proben wurden für jede der vier Messmethoden von zwei unabhängigen Untersuchern vermessen. Der erste Untersucher war Hr. Geert Felstehausen. Er stellte alle Proben für alle vier Messverfahren her und erstellte von diesen, vor und nach Erosion die erforderlichen und im Anschluss zu vermessenden Aufnahmen aller vier Messmethoden. Im Anschluss wurden alle auswertbaren Aufnahmen durch in vermessen.

Der zweite Untersucher war Dominik Hauk. Er war zum Zeitpunkt der Untersuchung wie Hr. Geert Felstehausen Student der zahnmedizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel. Er war rein mit der Vermessung der durch Untersucher 1 aufgenommenen Bilder und hatte keinen Anteil an ihrer Herstellung.

Beide Untersucher agierten unter gleichen Messbedingungen, das heißt es wurden alle Messungen mit gleichen Messprogrammen und gleichen Vergrößerungen erhoben. Dieses Vorgehen soll die klinische Reproduzierbarkeit der Einzelmethode prüfen, um den Behandlerfaktor der Einzelmethode bestimmen zu können.

An dieser Stelle muss nochmals angeführt werden, dass beide Untersucher sich zum Zeitpunkt der Messungen in einem zahnmedizinischen Studium an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel befanden und somit mit der Morphologie einer Dentinerosion vertraut waren. Auch war sich Untersucher 2, auch wenn er wie zuvor beschrieben keinen Anteil an der Herstellung der auszuwertenden Aufnahmen hatte, dem theoretischen Hintergrund aller vier verwendeten Messmethoden und deren Darstellungsweisen von Dentinerosionen bewusst.

## **Auswertungsmöglichkeit aller hergestellten Aufnahmen**

Wie zuvor beschrieben, wurden jeder Gruppe 24 Probenblöcke bovinem Dentin eingebettet in Technovit 4000 (Heraeus-Kulzer, Wehrheim) zugeteilt. (Abb.3)

Es sind jedoch, nach Abschluss der Durchführung der Einzelaufnahmen aller vier Messmethoden an jedem der bovinen Dentinproben, nicht alle Aufnahmen auswertbar, da nicht auf den nicht auswertbaren Aufnahmen keine erkennbaren Strukturen sichtbar sind. (Abb.51)

Jedoch gibt es keine bovine Dentinprobe, an der nicht mindestens zwei der vier angewendeten Messmethoden ein verwertbares Ergebnis erzeugt hätten.

Da die bovinen Dentinproben nur ca. 5mm im Durchmesser betragen ließen sich nach Abschluss der Aufnahmen aller vier Messmethoden keine Zusätzlichen Proben zur Wiederholung einzelner Aufnahmen gewinnen um damit gegebenenfalls nicht auswertbare Aufnahmen ersetzen zu können.

Hinzu kommt, dass um alle vier Messmethoden an jeder Einzelprobe durchführen zu können eine nicht zu wiederholende Reihenfolge der Einzelaufnahmen eingehalten werden musste.

Die Aufnahmen der LPM und der mod. Knoophärtemessung mussten vor denen der TMR und CLSM erfolgen, da für die Probenherstellung dieser beiden Messverfahren Dünnschliffe der bovinen Dentinproben hergestellt werden mussten. ( Abb. 30, Abb. 39).

Nach Herstellung dieser Dünnschliffe ist keine erneute Auswertung mittels mod. Knoophärte oder LPM möglich. Aufgrund der begrenzten Größe der bovinen Dentinproben sind auch keine größere Anzahl an Dünnschliffen zu gewinnen.

## **Messmethoden**

- 1) Modifizierte Knoophärtemessung
- 2) Laserprofilometer
- 3) CLSM
- 4) Transversale Mikroradiographie

### **Modifizierte Knoophärtemessung**

Die modifizierte Knoophärtemessung bedient sich der mittels Knoophärte diamanten aufgebrachten Impressionen auf die Dentinproben.

Für die modifizierte Knoophärtemessung wurden auf jeder Dentinprobe mittels Knoophärte diamanten (Zwick, Ulm) drei Impressionen unter Verwendung von 4 kg Masse gesetzt. Diese Impressionen müssen für die spätere Vermessung symmetrisch sein.



Abb.8 Universalprüfmaschine mit Knoophärte-diamant zur Einbringung von Impressionen in die Wurzel-dentin-segmente

Die Impressionen lagen alle nebeneinander auf der gleichen Seite der Dentinprobe ohne sich zu überschneiden.

Jede dieser Impressionen wurde mit Hilfe eines Auflichtmikroskops (Zeiss Axioplan 2, Jena) unter Verwendung von polychromatischem Licht (Zeiss HAL 100, Jena) mittels CCD Kamera (Gray Scale digital Camera, Scion Corporation, Frederick Maryland) fotografiert. Alle Fotos der Impressionen vor Erosion wurden unter Verwendung eines 10fachen Objektivs aufgenommen.



Abb.11 Universalprüfmaschine mit planparallelen Dentinprobenblock beim Setzen einer Impression

Die Impressionen befanden sich alle im später erodierten Areal der Probe.

Von jeder Probe wurde vor Erosion eine Aufnahme mittels Auflichtmikroskop (Axioplan 2 Zeiss, Jena) und CCD Kamera (Scion, Frederick Maryland) gemacht und auf einem Computer gespeichert.

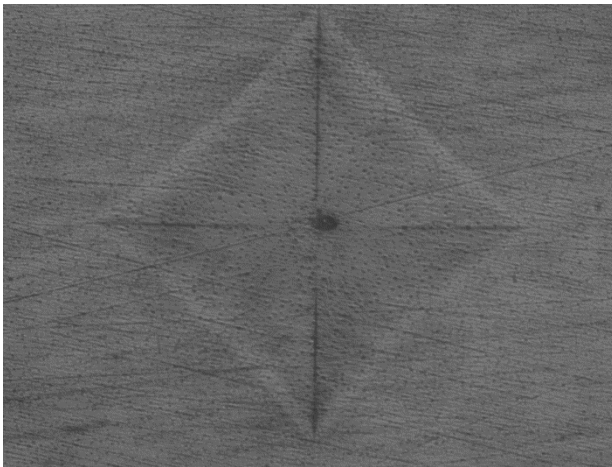


Abb.12 Impression 10-fach Objektiv unerodiert

Anschließend wurden die Proben, wie beschrieben, in 4 Gruppen verteilt und erodiert. Jede Impression wurde nach Erosion erneut mittels Auflichtmikroskop und CCD-Kamera, mit 2,5-fachem Objektiv aufgenommen und wiederum auf dem Computer gespeichert.

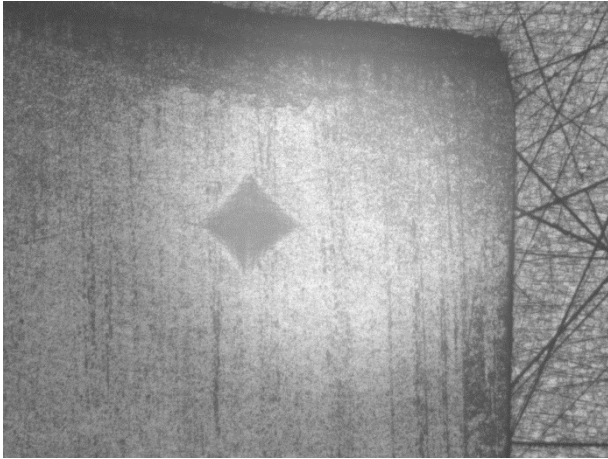
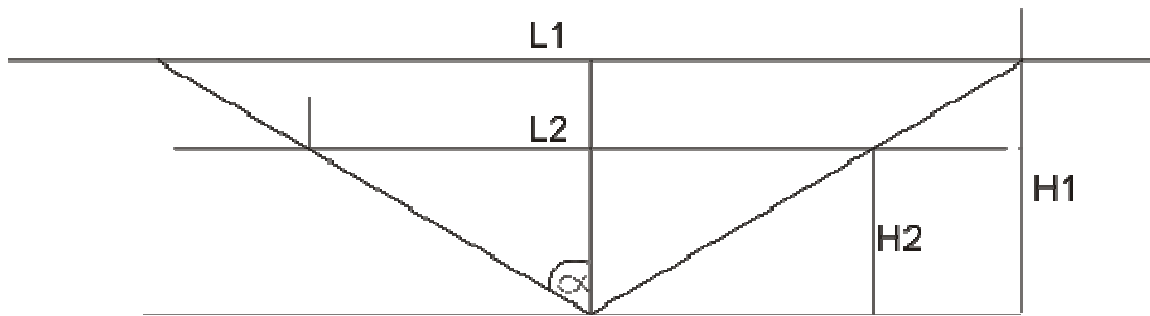


Abb.13 Impression 25-fach Vergrößerung nach Erosion mit 0,25% Zitronensäure

Die Proben wurden für die Fotos aus dem 0,08% Thymolbad genommen und sofort nach möglichst kurzer Zeit wieder dorthin zurückgelegt. Eine übermäßige Trocknung wurde genauso vermieden, wie mechanische Beanspruchung des erodierten Areal.

## Berechnung der Erosionstiefe



$$\begin{aligned}\tan\alpha &= L1/2 * H1 \\ 2H1 &= L1/\tan\alpha \\ H1 &= L1/2 * \tan\alpha\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\tan\alpha &= L2/2 * H2 \\ 2H2 &= L2/\tan\alpha \\ H2 &= L2/2 * \tan\alpha\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\Delta H &= H1 - H2 = \frac{L1-L2}{\tan\alpha} \\ \Delta H &= \frac{\frac{1}{2} * L1 - L2}{\tan\alpha}\end{aligned}$$

Abb.14 Schema und Formel der mod. Knoophärtemessung



Der Winkel  $\alpha$ , den der Knoophärteediamant mit der Horizontalebene des Blockes beschreibt beträgt  $86,26^\circ$ .

Um die Diagonale der Impression vor und nach Erosion bestimmen zu können, musste das Messprogramm (Axiovision Rel 4.6, Zeiss, Jena), mit dem die mittels CCD-Kamera aufgenommenen Bilder vermessen werden sollen, vorher kalibriert werden.

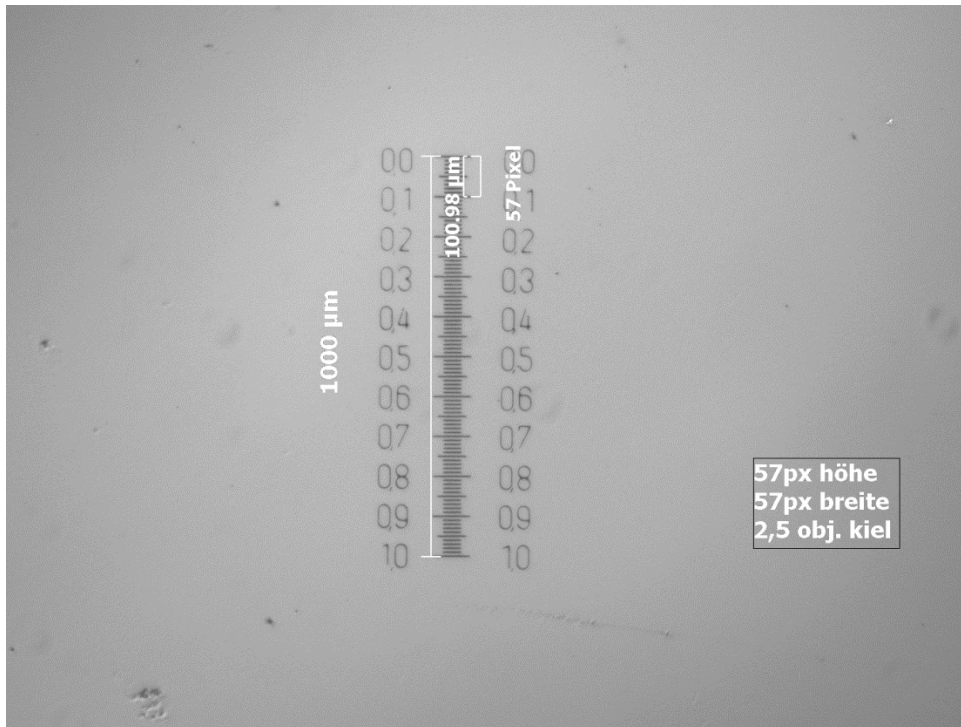


Abb.15 Kalibrierung des Messprogramms zur exakten Vermessung der digitalen Aufnahmen

Die Bedienung des Axioplan 2 Auflichtmikroskops erfolgte mit Hilfe des Axiovision Controll 3.1 Computerprogramms.

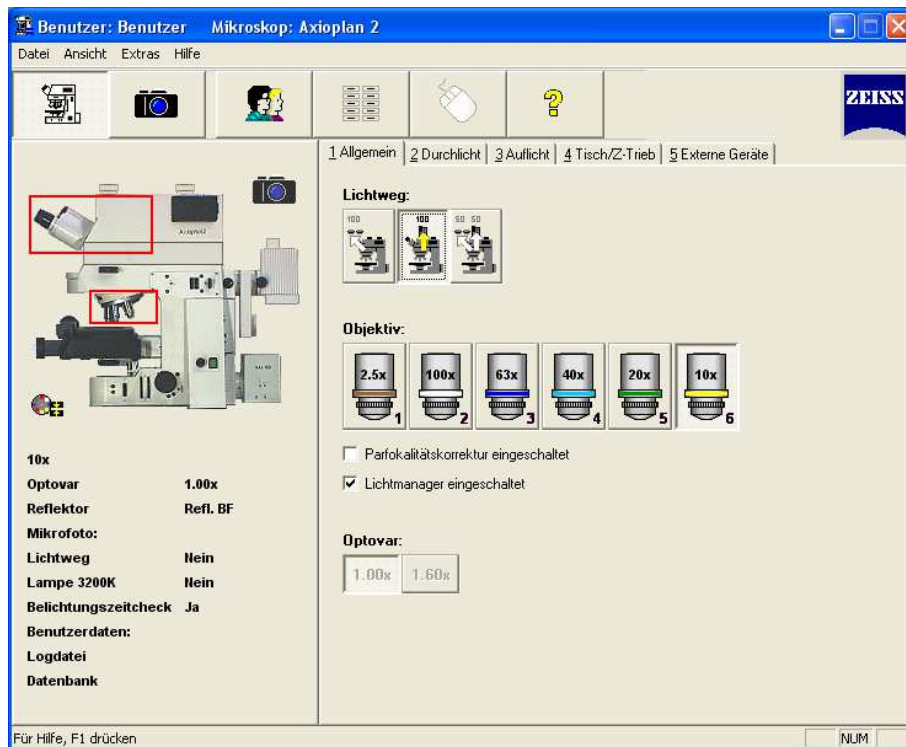


Abb.16 Axiovision Controll 3.1 Bedienprogramm für das Axioplan 2 Auflichtmikroskop

Gemessen wurden die vor und nach Erosion aufgenommenen Bilder.

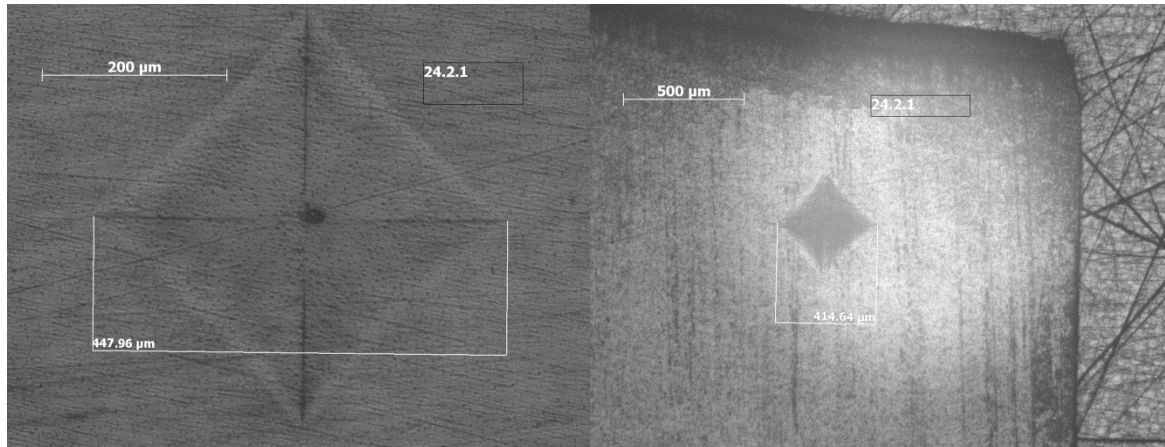


Abb.17 Messung einer Impression vor (100-fach Vergrößerung) und nach (25-fach Vergrößerung) Erosion

Den Bildern wurde, gemäß den verwendeten Vergrößerungen, die vorher festgelegte Skalierung zugewiesen und dann von beiden Behandlern unabhängig voneinander vermessen. Die Impressionen mussten nach Erosion mittel 2,5facher Vergrößerung aufgenommen werden, da die Impressionen bei 10facher Vergrößerung nicht mehr zu erkennen oder zu vermessen waren.

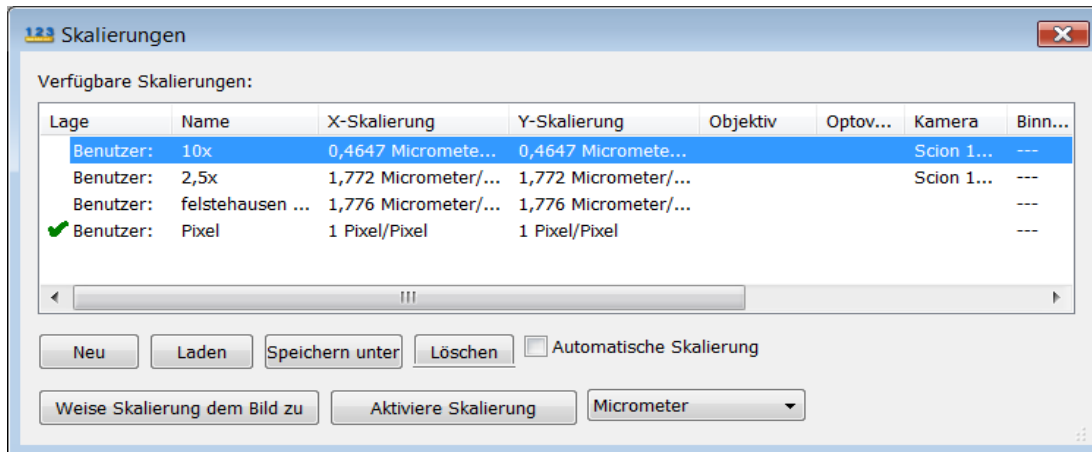


Abb.18 Skalierungszuweisung vor Vermessung der Bilder

Zur Bestimmung des Messfehlers des Auflichtmikroskops bei den verwendeten Vergrößerungen 25-fach und 100-fach und des Auswertungsprogramms wurde ein Standardgrit (Sci G400 C<sub>3</sub>, Science Service, München) dreimal mit jedem verwendeten Objektiv aufgenommen. Die Abstände des Grits waren bekannt und wurden zwanzigmal je Aufnahme mittel des Auswertungsprogramms vermessen, um so den Methodenfehler bestimmen zu können.

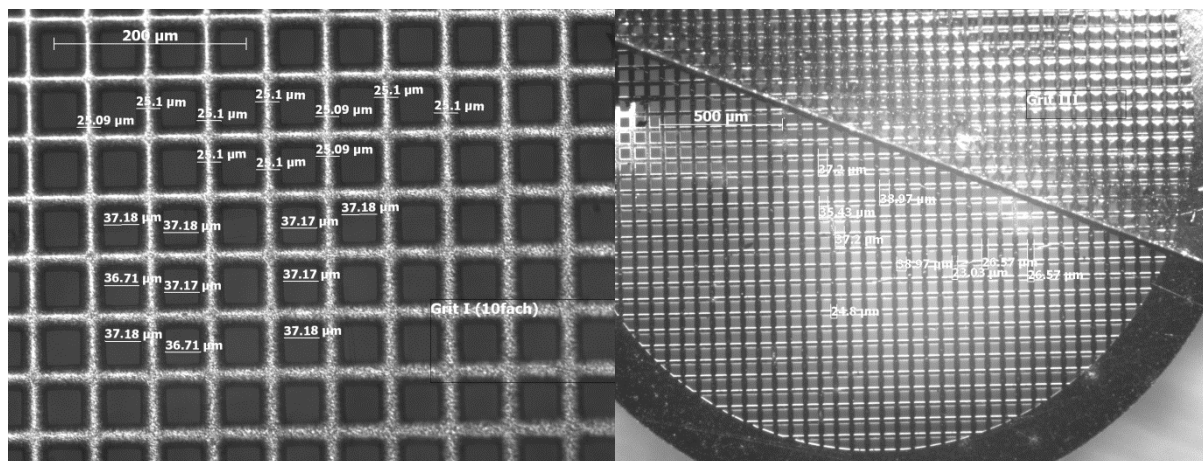


Abb.19 Standardgrit Vermessen mit 10-fach und 2,5-fach Objektiv zur Bestimmung der Methodenfehlers

## Laserprofilometrie

Die Laserprofilometrie ist die in der Erosionsforschung an Schmelz und Dentin am häufigsten eingesetzte Messmethode ([www.karger.com/doi/10.1159/100326819](http://www.karger.com/doi/10.1159/100326819))

Allgemeiner Wirkmechanismus:

Das von uns verwendete Laserprofilometer (NanoFokus  $\mu$ scan custom, Oberhausen) bediente sich bei der Messung dem Prinzip der optischen Reflektion.



Abb.20 Laserscanner NanoFokus  $\mu$ scan

Die zu messende Probe lag auf dem Objektstisch. Dieser wurde von piezoelektrischen Stallelementen unter Laser und Scanner auf vorgegebener Bahn bewegt.

In unserem Fall handelte es sich um einen konfokalen Punktsensor CF 4, (NanoFokus, Oberhausen) welcher einen Arbeitsabstand von 4 mm zum Objekt haben musste und eine x/y Auflösung von 1  $\mu$ m aufwies.

Das dazugehörige Scanmodul SC100 (NanoFokus, Oberhausen) verfügte über einen 100\*100mm großen Messbereich und eine maximale Auflösung von 0,5 $\mu$ m.

Das durch den konfokalen Autofokusscanner gemessene 3D Oberflächenprofil konnte mittels Software  $\mu$ soft (Metrology Software, Saarlouis) ausgewertet werden. Dieses 3D Oberflächenprofil entsprach einem Schnittbild der zu messenden Probe und stellte somit ein Höhenprofil der Probe dar.

Da der Laserscanner kontaktlos über die zu messende Probe glitt, durften sich auf dieser keine Thymoltropfen oder andere Verunreinigungen befinden, da diese das Messergebnis als

Artefakte verfälschen würden. Jedoch durfte die Dentinprobe auch nicht über trocknen, da auch das zu einem verfälschten Messergebnis des Laserprofilometers geführt hätte.

### **Messungen:**

Als Vorbereitung zur Vermessung der Dentinerosionen mussten die Dentinproben von dem vor der Säureeinwirkung aufgetragenen Nagellack befreit werden. Dies geschah ohne mechanische Manipulationen auf der Dentinprobe, da dies zu einer Vergrößerung der tatsächlichen Erosionstiefe hätte führen können. Anschließend wurde die Dentinprobe wiederum in Thymol gelagert.

Direkt vor jeder Messung wurde die Dentinprobe aus dem Thymolbad herausgenommen und leicht von Thymolresten gesäubert. Nun wurde sie unter dem Laserscanner positioniert. Die jeweilige Start- und Stopposition wurden für jeden Scan einzeln mittels Seitenkamera BMT 5 (NanoFokus, Oberhausen) festgelegt.

Anschließend wurde der Laser auf seine Startposition gefahren und die Messparameter festgelegt.

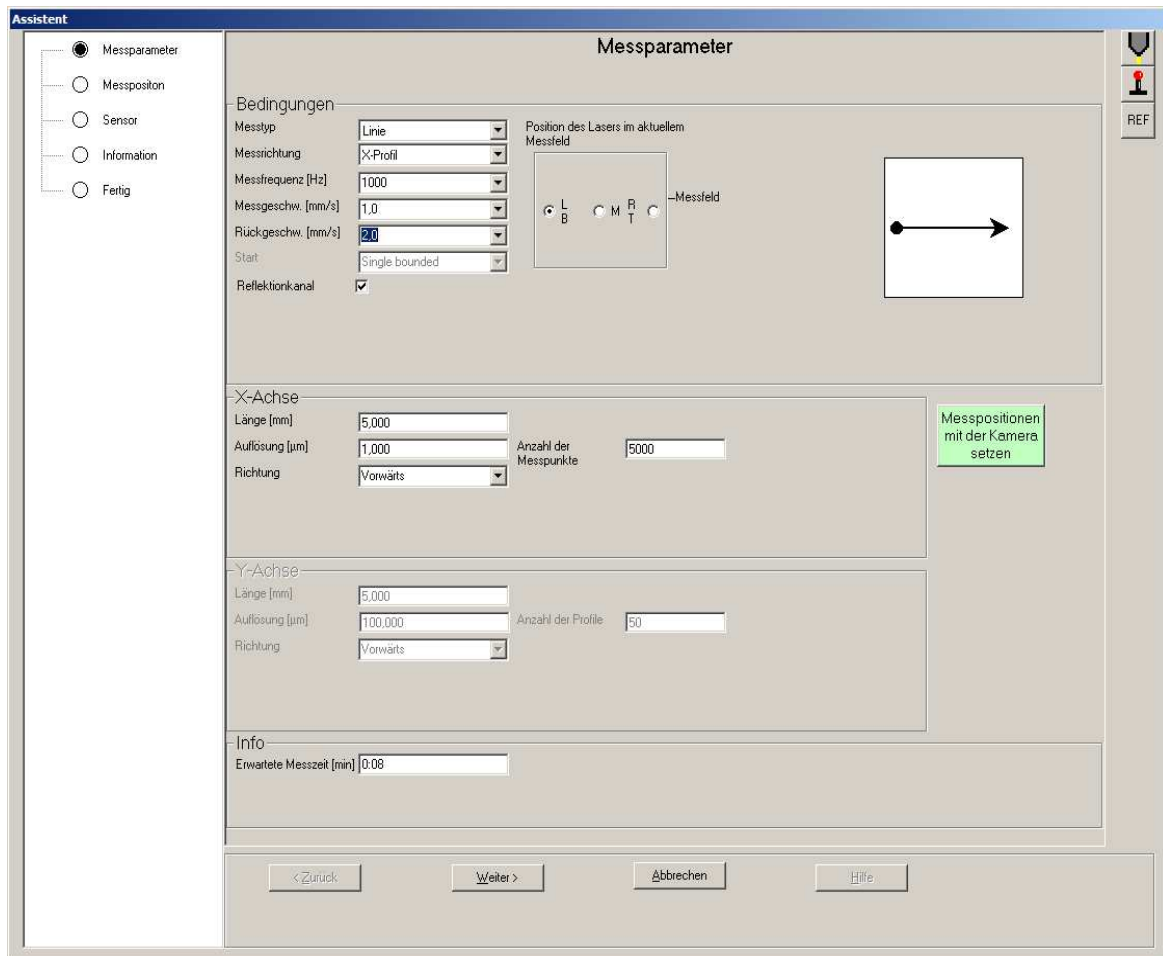


Abb.21 Messparameter zur Herstellung eines linienförmigen Oberflächenscan

Die Sensorabtastrate wurde auf 1000 Hz festgelegt, dies entspricht einem Messpunkt pro  $\mu\text{m}$ .

Die Geschwindigkeit, mit der die Probe unter dem Laserscanner bewegt wurde betrug 1 mm/s. Profilrichtung des Scans war die x-Richtung und die Auflösung betrug  $1\mu\text{m}$ .

Der Arbeitsabstand wurde exakt auf  $4\text{ mm} \pm 0,5\ \mu\text{m}$  eingestellt. Dies entsprach dem Optimum des konfokalen Punktsensors CF 4 (NanoFokus, Oberhausen)

Abschließend vor jeder Messung wurden alle Einstellungen nochmal kontrolliert.

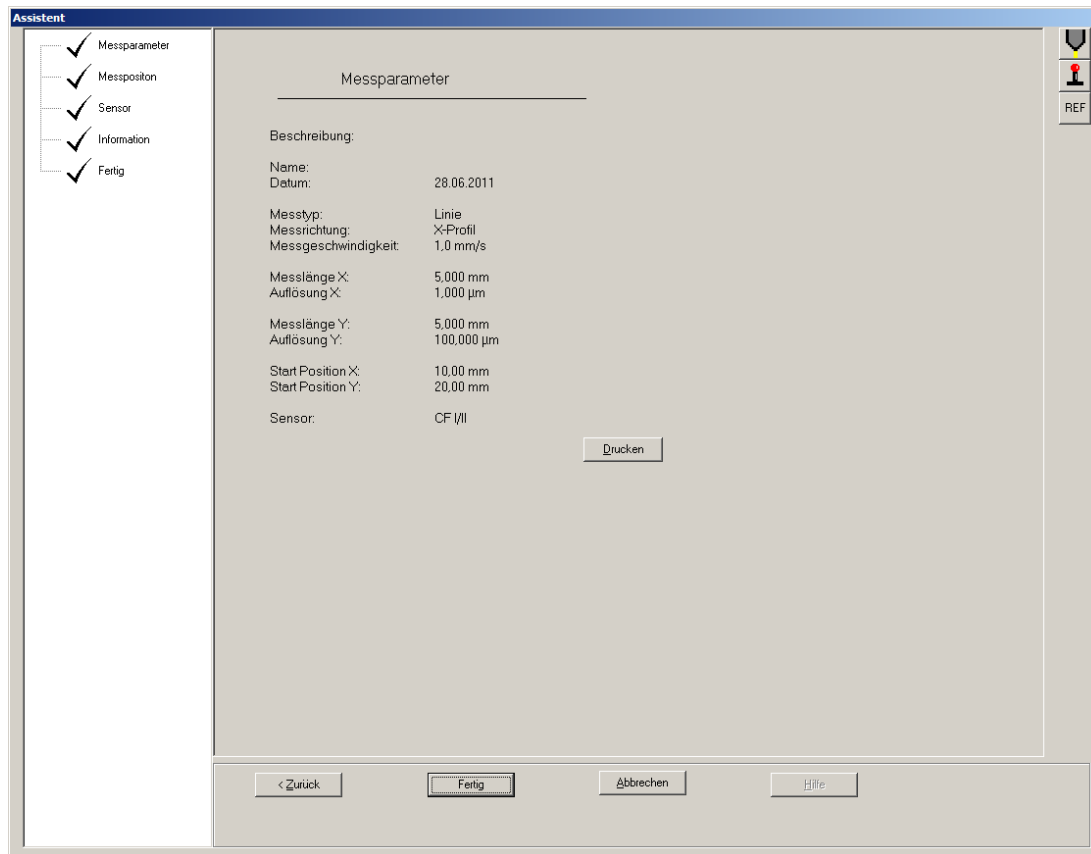


Abb.22 Kontrolle der Messparameter vor definitiver Messung

Jede Probe wurde fünfmal auf diese Weise vermessen. Die Messlinien wurden zufällig auf dem Probenblock so angelegt, sodass sie die zu erwartende Erosionskante schnitten.

**Standardfehler:**

Vor Auswertung wurde ein Methodenfehler mittels Vermessung des Grits (Sci G 400 C<sub>3</sub> Science Service, München) bestimmt. Dies hatte die bekannte Dicke von 10µm.

3 Grits wurden je zweimal gescannt und an jedem Scan wurden fünf Messungen durchgeführt.

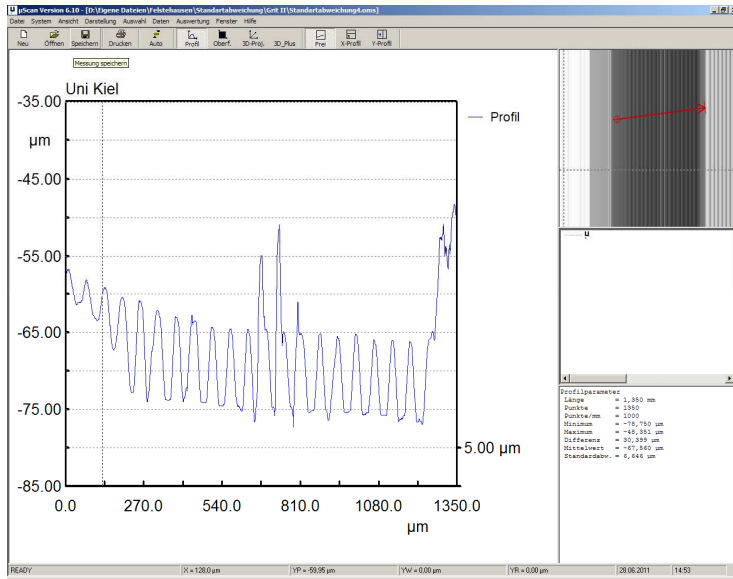


Abb.23. Scan des Grits zur Bestimmung des Methodenfehlers

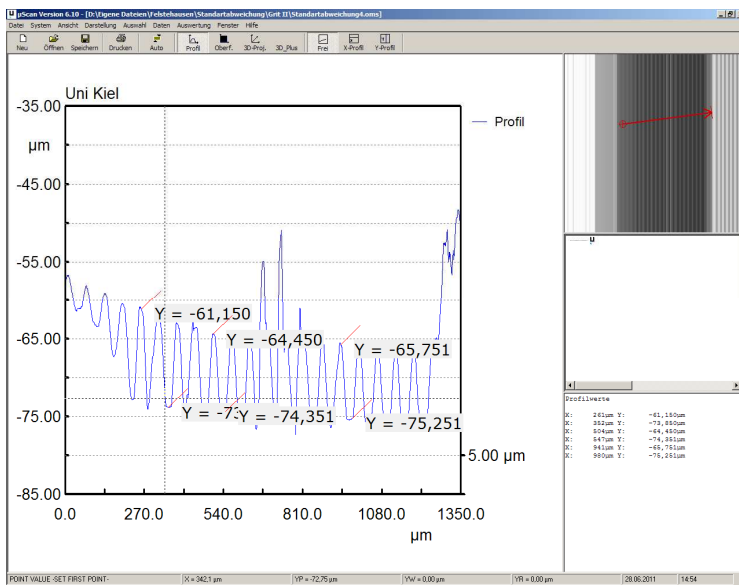


Abb.24 Messung des Scans

Somit konnte der Standardfehler der Methode ermittelt werden.



## Auswertung:

Die Scans wurden mit Hilfe der Analysesoftware  $\mu$ soft (Metrology Software, Saarlouis) ausgewertet.

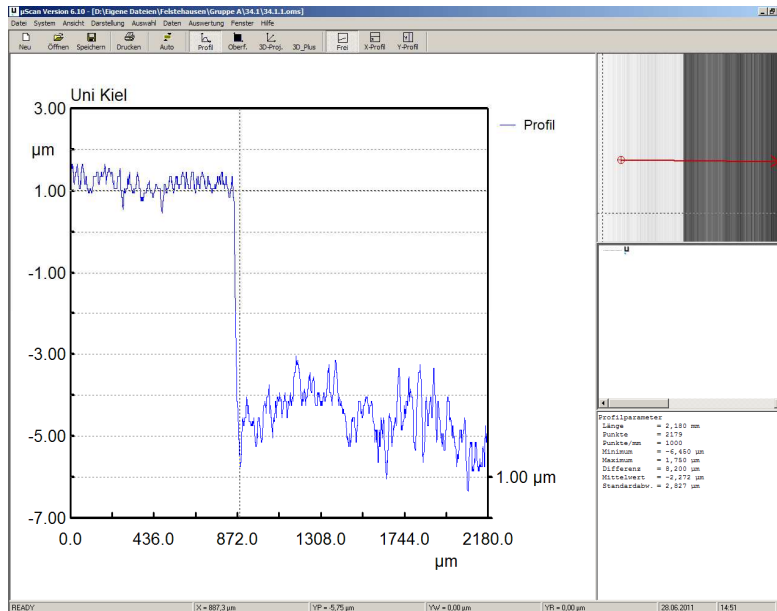


Abb.25 Scan einer Dentinprobe vor Auswertung

Als Referenzpunkte auf gesundem und erodiertem Dentin wurden Messpunkte unmittelbar vor und hinter der Erosionskante gewählt. Diese wurden mit Hilfe der Analysesoftware so gewählt, dass sie dem Niveau der jeweiligen Ebenen entsprachen.

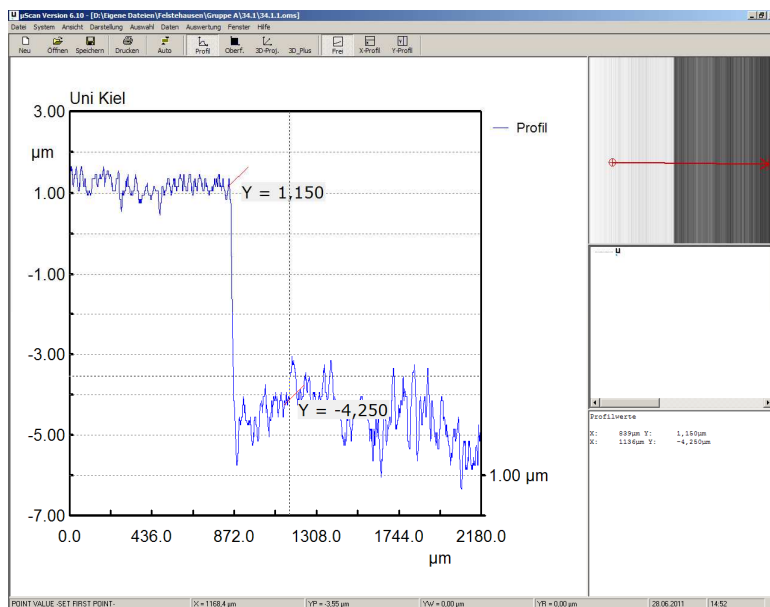


Abb.26 Scan mit Vermessung der Erosionskante

So wurde jeder der fünf Scans pro Dentinprobe vermessen.

Zur Bestimmung der Erosionstiefe jeder Probe wurde der Mittelwert aus allen fünf Messungen genommen.

Jede Probe wurde direkt nach der Messung, welche zwischen 6 und 9 Minuten andauerte, wieder in ihr Thymolbad gegeben um die Gefahr einer Übertrocknung möglichst klein zu halten.

## CLSM

Die Confocal Laser Scanning Mikroskopie, kurz CLSM, stellte eine weitere Möglichkeit da, auf nicht destruktivem Wege Erosionen an Schmelz und Dentin zu detektieren. Es ist mit ihr möglich, im Reflektionsmodus 150µm bis 200µm unterhalb der Oberfläche tiefer gelegene Schichten dazustellen.

Von der Forschungsgruppe um Duschner (Duschner *et al*, Erosion of dental enamel visualized by clsm, Tooth wear and Sensitivity 2000) wurde sie zur Beschreibung von Erosionen verwendet, diese befanden sich aber auf Schmelz. Jedoch gibt es keine beschriebenen Gründe, warum die Methode nicht an Dentinerosionen zum Einsatz kommen sollte.

Ein Vorteil von CLSM bei der Vermessung von Dentinproben ist, dass die Proben auch während der Messung durchgehend nass bleiben konnten. Somit konnten auch die nach Erosion freiliegenden organischen Bestandteile der Läsion dargestellt werden.

### Allgemeiner Wirkmechanismus

Als Lichtquelle dient dem CLSM ein Laser, in unserem Fall ist es ein Argon Krypton Laser mit linienförmigen Spektrum im Wellenlängenbereich von 488nm und 568nm.

Der Laserstrahl fiel zuerst durch eine Illuminationslochblende. Das hatte zur Folge, dass das Objekt, welches aufgenommen wurde, nie ganz beleuchtet wurde, sondern nur ein scheibenförmiger Objektbereich. Somit wurde das Objekt Punkt für Punkt beschienen. Auf diese Weise ließ sich Streulicht verringern und die Bildschärfe erhöhen.

Eine zweite in ihrem Durchmesser variable Lochblende war entlang des Strahlengangs angebracht. Diese war direkt vor die aufnehmende Optik, in diesem Fall eine CCD Kamera, geschaltet. Sie fokussierte immer in die gleiche Bildebene, wie die aufnehmende Optik.

Dies hatte zur Folge, dass Lichtreflektionen aus höheren und tieferen Bildebenen nicht zur CCD Kamera gelangen konnte. Dieses Prinzip führte zu einer bedeutenden Erhöhung der Bildschärfe, indem Streulicht außerhalb der Bildebene eliminiert wurde. Das war die Voraussetzung für die Durchführung von Serienschnitten durch ein Präparat mit anschließender Rekonstruktion und 3D-Darstellung am Computer.

Die CLSM konnte in Fluoreszenzmodus oder Reflektionsmodus betrieben werden. Im Fluoreszenzmodus wurden durch das linienförmige Laserspektrum spezielle Fluorochrome angeregt.

In dem von uns verwendeten Reflektionsmodus wurde die komplette Bandbreite des Laserspektrums genutzt und man erhielt somit ein sehr scharfes Graustufenbild. Somit war eine exaktere Abgrenzung und Vermessung der Erosion möglich.

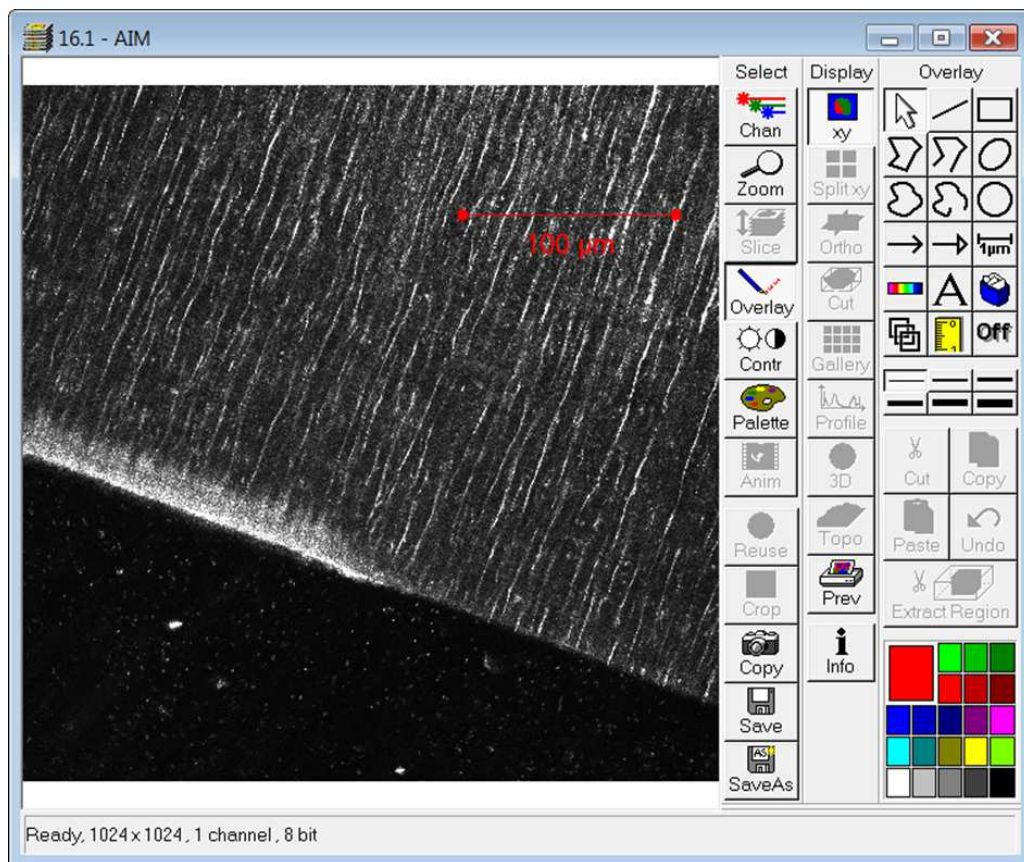


Abb.38 CLSM-Aufnahme im Reflektionsmodus 40fache Vergrößerung vor genauer Vermessung

### Herstellung der Proben

Aus den feucht gelagerten Probenblöcken wurden Dünnschliffe gewonnen. Dazu wurden Proben auf Objektträger (Pathoservice, Osteinbeck) geklebt und mittels Präzisionsbandsäge (Exakt, Norderstedt) Dünnschnitte von ca. 500µm hergestellt.

Diese wurden mit einem Planparallelschleifteller auf ca. 400µm getrimmt und abschließend mittels 4000er Schleifpapier (Strues, Willich) poliert. Die Proben verblieben auf den Objektträgern und wurden durchgehend feucht gelagert.



Abb.39 Proben auf Objektträger mit Mikroskopierplättchen feucht gehalten

Vor Einlegen in das CLSM Gerät (Axiovert 200, Zeiss Jena) wurden die Objektträger mit Mikroskopierplättchen (Assistent 24mm) und einem Tropfen deionisiertem Wasser versehen. Auf diese Plättchen wurde ein kleiner Tropfen Dispersionsöl gegeben, da mit 40fach und 63fach Objektiven mikroskopiert wurde und diese Vergrößerungen nur mit Hilfe des Öls zeichenscharfe Bilder lieferte.

## Ablauf der Messungen

Durch Vorversuche wurde die optimale Gerätekonfiguration ermittelt und festgehalten.

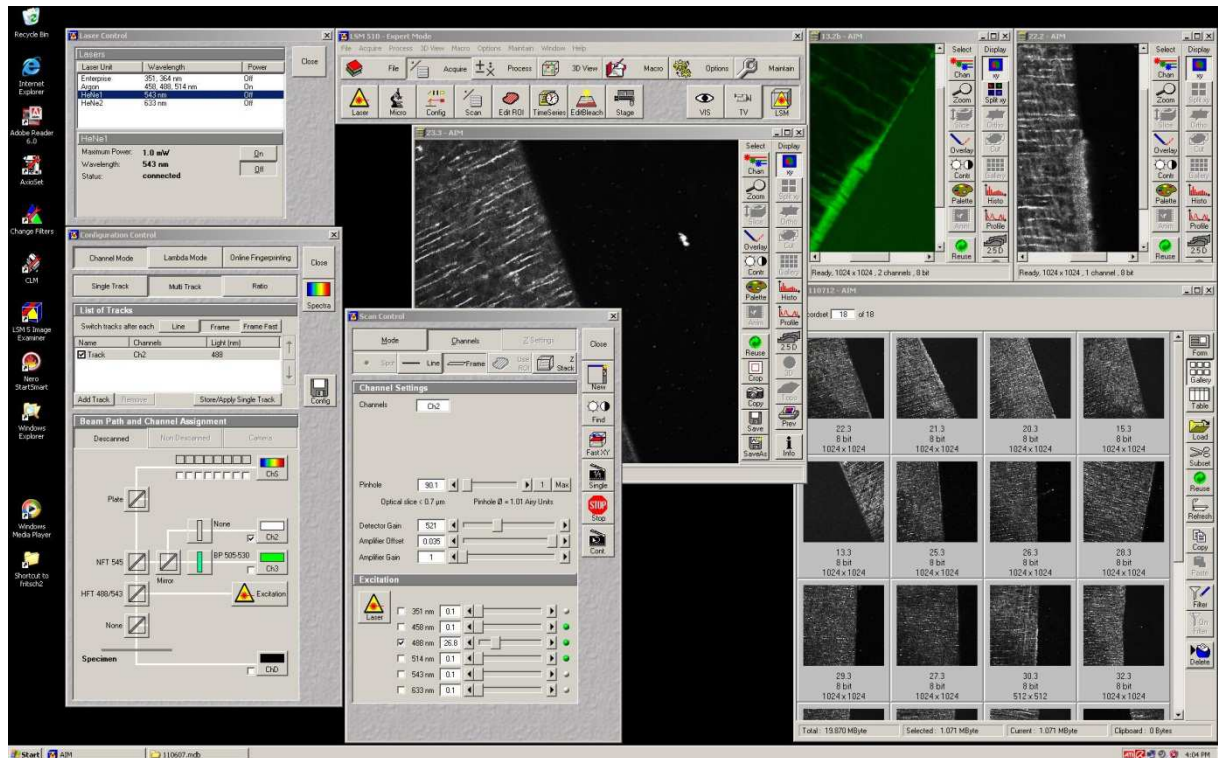


Abb.40 Einstellungen des CLSM bei Hauptversuch mit bestmöglicher Bildschärfe

Zuerst wurde im visuellen Modus am Mikroskop die Läsions- bzw. Erosionsgrenze aufgesucht. Anschließend wurde diese dann in schneller Bildfolge betrachtet, um die richtige Bildebene im Präparat zu finden. War diese eingestellt, wurde mittels SingleShot ein scharfes Bild aufgenommen, welches zur späteren Aufwertung diente.

## Auswertung der Bilder

Alle CLSM Bilder wurden mit der dafür vorgesehenen Software LSM Image Browser (Zeiss, Jena) ausgewertet. Diese erkannte automatisch die verwendeten Objektive und wies den Bildern so automatisch die jeweiligen Skalierungen zu.

Um den Methodenfehler korrekt wiedergeben zu können, wurden Aufnahmen von einem Grit (SCI G 400 C3 Science Service, München) gemacht und mit ausgewertet. Es wurden von drei Grits Aufnahmen gemacht und jede Aufnahme zehn Messungen unterzogen. Hieraus wurde der Methodenfehler errechnet.

Jedes Bild wurde in die oben genannte Software importiert und mit Maßstabsbalken versehen.

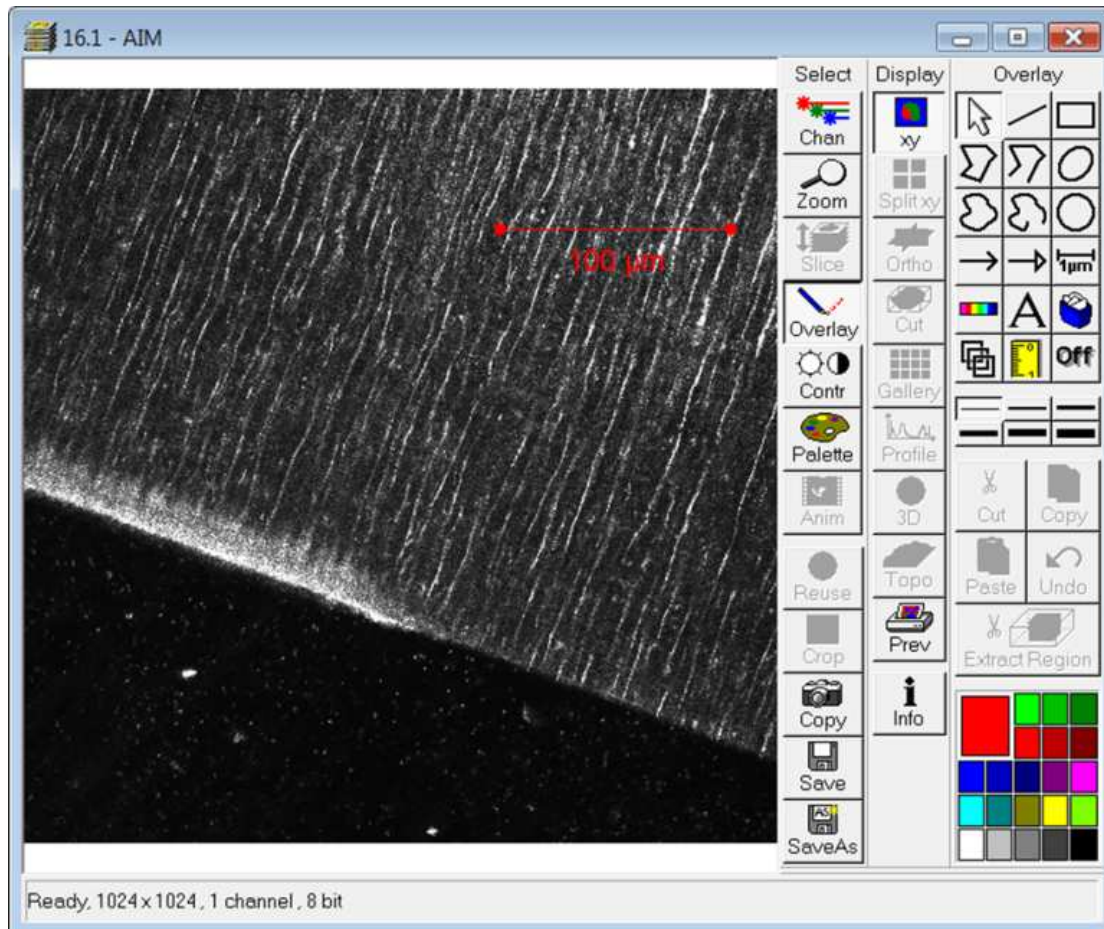


Abb.41 CLSM-Bild mit Maßstabsbalken vor Vermessung

Anschließend wurde parallel zu dem gesunden Dentin ein virtueller Balken angebracht und als Referenzareal an den erodierten Bereichen herangezogen. Von diesem Balken wurde die ganze zu erkennende Erosion vermessen. Dies geschah an fünf zufällig ausgewählten Stellen entlang der Erosion. Somit konnte eine valide Aussage über die korrekte Erosionstiefe getroffen werden.



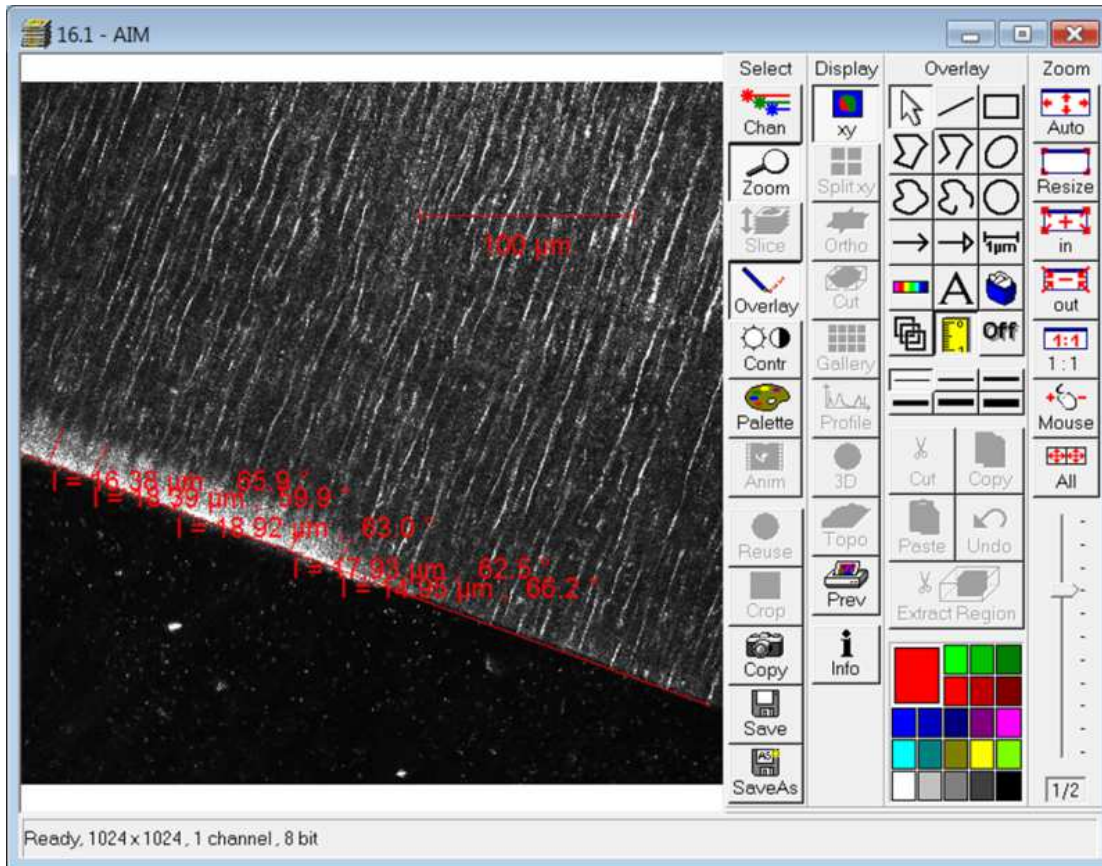


Abb.42 CLSM-Bild mit Messungen

Abschließend wurden alle Proben feucht in 0,08% Thymol gelagert.



## Transversale Mikroradiographie

Die transversale Mikroradiographie war der Goldstandard in dieser Studie, gegen welchen die anderen drei Messmethoden verglichen wurden. Aufgrund des im Folgenden beschriebenen Wirkmechanismus und der Darstellung der Dentinerosion ist es hierfür besonders geeignet. (Schmuck BD and CM Carney, *J Res NIST* 2010)

Die Mikroradiographie ist wie die Laserprofilometrie eine nicht-destruktive Methode zur Detektion von Veränderungen in der Mineralzusammensetzung von Schmelz und Dentin.

Hauptsächlich wurde die transversale Mikroradiographie in der Kariologie zur Darstellung einer Kariesläsion und dessen weiterer Progression eingesetzt.

Jedoch eignete sie sich auch zur Bestimmung von Erosionen an Schmelz wie auch an Dentin. (Hall *et al*, *Adv. Dent Res* 1997)

Auch wurde die TMR zur Untersuchung der bei Säureexposition auf Dentin freigelegten Kollagenmatrix herangezogen. (Hara *et al*, *Caries Res* 2005)

Allgemeiner Wirkmechanismus:

Der transversale Mikroradiograph bestand allgemein aus einer Röntgenröhre und einem objektivlosen Kameragehäuse zur Aufnahme der Proben.

In der Röntgenröhre wurde an eine negativ geladene Kathode Heizstrom angelegt um somit den enthaltenen Wolframdraht auf über 2000 °C zu erhitzen. Durch Hitzeemission freiwerdende negativ geladene Elektronen wurden durch einen ebenfalls negativ geladenen Sammelzylinder gebündelt und trafen als Elektronenstrahl auf die positiv geladene Cu-Anode. Durch angelegte Spannung wurden die Elektronen zusätzlich beschleunigt und trafen so auf die Anode. Dabei entstand eine Strahlung mit verschiedenen Wellenlängen. Diese polychromatische Strahlung wurde mittel Blenden und Filtern so verändert, dass nur der Zentralstrahl auf die Probe und danach auf den Film traf.

Abgestimmt auf das Material und dessen dicke wurden Kathodenspannung, Heizstrom und Belichtungszeit optimal eingestellt.

Das in dieser Studie verwendetet TMR-Gerät war das PANanalytical PW 3830, Kassel. Sein Spannungsspektrum reichte von 20kV bis 60kV und die Heizstromstärke lag zwischen 10mA bis 100mA.

Neben einem Filter aus Aluminium besaß das Gerät einen Göbelspiegel, was zu einem homogenem Monochromatischen Zentralstrahl führte. Streustrahlung wurde somit stark reduziert, da diese die spätere Bildqualität stark beeinträchtigte.

Die durch Vorversuche festgelegten Einstellungen betragen 20kV Spannung, 20mA Heizstromstärke und eine Belichtungszeit von 10 Sekunden. Die Dicke der Proben wurde auf  $100\mu\text{m} \pm 10\mu\text{m}$  festgelegt was mittels Präzisionsdickenmesser (Exakt, Norderstedt) gemessen wurde.

### **Probenherstellung**

Nach Säureexposition und Entfernung des Nagellacks waren die Proben nur an der erodierten und planparallel geschliffenen Seite nicht mehr von Technovit (Heraeus Kulzer, Wehrheim) bedeckt. Um TMR-Dünnschliffe herstellen zu können, musste eine der Seitenflächen ebenfalls vom Technovit befreit werden. Dies geschah mittels Schleifteller und Schleifpapier.

Danach wurden die Proben je zu zweit auf einen vorher sorgfältig gereinigten Objektträger (Patho Service, Osteinbeck) geklebt. Mit Hilfe einer Präzisionsbandsäge, (Exakt, Norderstedt) an welcher die Objektträger in einer Vakuumhalterung befestigt wurden, stellte man nun ca.  $300\mu\text{m}$  dicke Schnitte her.



Abb.28 Präzisionsbandsäge mit Vakuumhalterung zur Gewinnung von Dünnschnitten der Dentinproben

Diese Schnitte wurden nun mittels Planparallelschleifteller auf  $100\mu\text{m} \pm 10\mu\text{m}$  reduziert.



Abb.29 Planparallelschleifteller zur Herstellung von exakt  $100\mu\text{m}$  dünnen Probenscheiben

Alle Arbeitsschritte wurden unter kontinuierlicher Wasserkühlung durchgeführt und zwischen den einzelnen Bearbeitungen der Proben wurden diese immer feucht gelagert, sodass eine Austrocknung der Proben sicher vermieden werden konnte.

Die fertig geschliffenen Proben wurden unter größter Vorsicht mittels Skalpell (Feather No.15, Osaka Japan) von dem Objektträger getrennt und mittels dünnem Klebestreifen (Tesa, Hamburg) an eine speziell hierfür präparierte Aufnahmevorrichtung befestigt, welche sich über eine reversibel zu lösende Steckverbindung standardisiert und reproduzierbar im TMR-Gerät befestigen ließ. (Lego Deutschland, München)

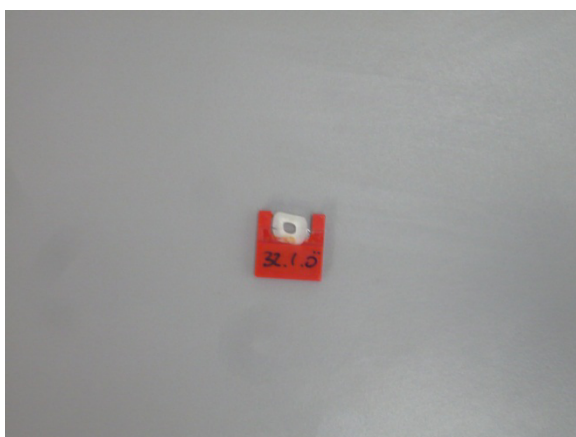


Abb.30 Aufnahmevorrichtung für fertigen TMR-Dünnschliff

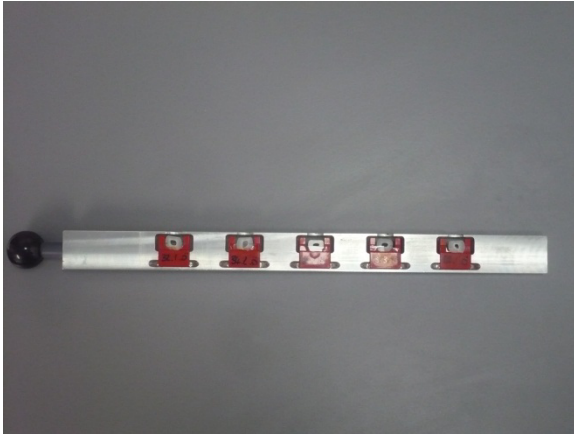


Abb.31 TMR-Probenhalter mit fertigen Proben

Diese wurden entsprechend beschriftet und gruppenweise feucht gelagert. Pro Probenblock wurden immer mindestens zwei Dünnschliffe hergestellt. Je fünf Aufnahmevorrichtungen passen in die speziell konzipierte Halterung.

Nach Vorwärmung des TMR-Geräts und korrekter Einstellung und Einlegen eines Spezialfilms (Kodak Fuji BIW Pos, Rochester New York USA) wurde von jedem Dünnschliff ein Mikroradiogramm erstellt. Auf diesem war neben der Probe auch immer eine Aluminiumeichtreppe zu sehen.



Abb.32 Proben in TMR-Gerät mit noch geöffneter Klappe

## Vorversuch

Im Zuge eines Vorversuchs wurden je 30 zufällig ausgewählte Proben im TMR nass und trocken geröntgt. Die Proben, welche nass bleiben sollten, wurden vorher mit Chinolinöl (Merck, Darmstadt) behandelt, um so eine Austrocknung zu vermeiden. Die andere Gruppe wurde lediglich aus dem feuchten Milieu, in welchem sie lagerten genommen um dann ohne weitere Vorbehandlung von ihnen ein Mikroradiogramm zu erstellen.

Dieser Vorversuch hatte zum Ziel, den Einfluss von Austrocknung auf die Messgenauigkeit des TMRs zu untersuchen. Dies geschah vor dem Hintergrund, dass das TMR die organischen Bestandteile, welche sehr sensibel auf Austrocknung reagierten, nicht direkt abgebildet.

Die später im Ergebnis genauer beschriebenen Resultate ergeben, dass kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Varianten liegt. Somit wurde auf Chinolinöl (Merck, Darmstadt) verzichtet.

Nach Fertigstellung aller Mikroradiogramme wurden die Filme gemäß Herstellerangaben entwickelt und konnten nun digitalisiert werden. Dies geschah mittel Durchlichtmikroskop Axioplan 2 (Zeiss, Jena)



Abb.33 TMR-Film in Axioplan 2 bei der Digitalisierung der Bilder

Die Bilder wurden mittels 100-fach Vergrößerung und CCD Kamera (Scion Corp., Frederick Maryland USA) aufgenommen und gespeichert.



Abb.34 Axioplan 2 mit CCD Kamera mit deren Hilfe die TMR Filme digitalisiert wurden

Die Kalibrierung des Messprogramms (Axio Vision 4.6 Rel., Jena) wurde wie vorher bei der modifizierten Knoophärtemessung vorgenommen.

Die Standardabweichung wurde mittel vom TMR Gerät geröntgten Grits (SCI G400 C3, Science Service GmbH, München) und die Bilder wurden ebenfalls digitalisiert. An jedem Grit wurden zehn Messungen durchgeführt.

## Auswertung

Zur Auswertung der nun digitalisierten Mikroradiogramme, wurden diese in das Messprogramm AxioVision 4.6 Rel. importiert.

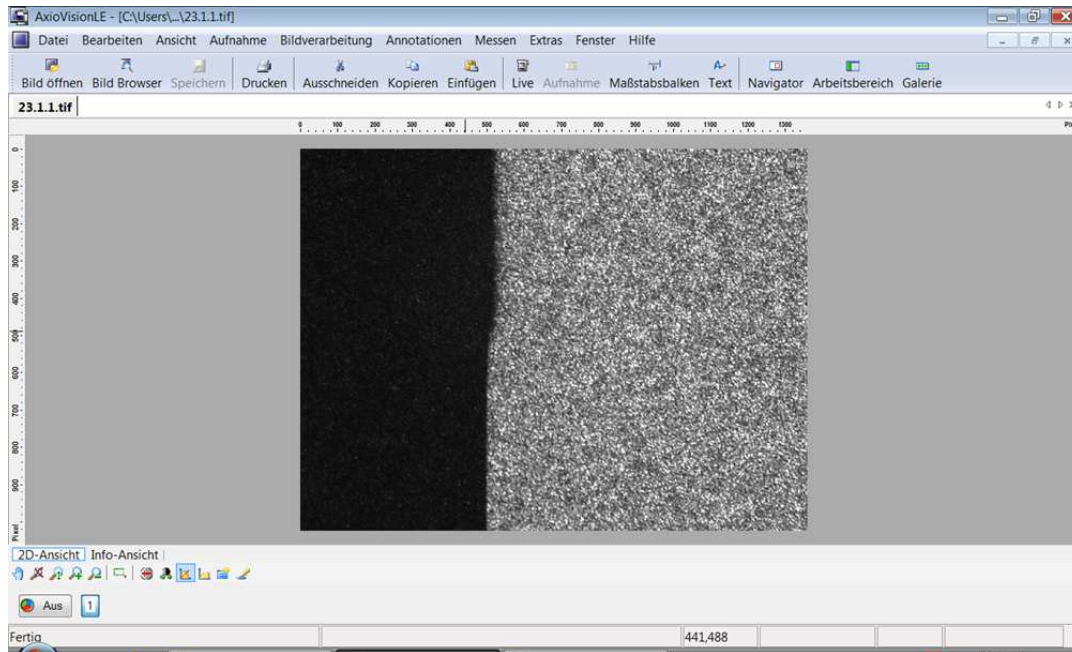


Abb.35 Digitales Mikroradiogramm ohne Messung

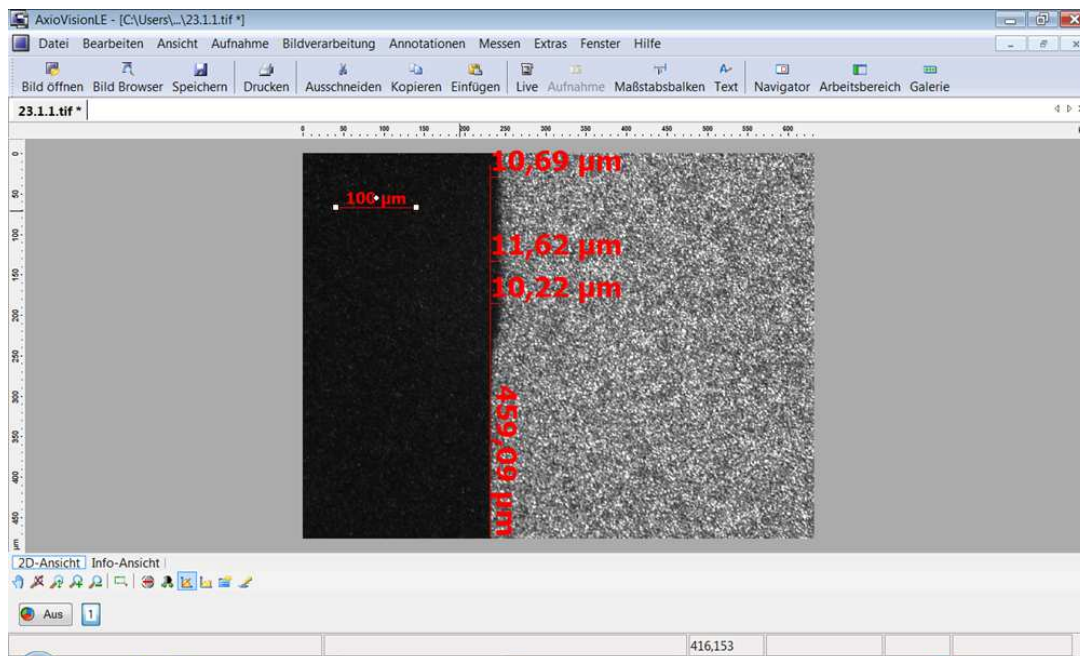


Abb.36 Digitales Mikroradiogramm mit Messung

Es wurde ein virtueller Balken parallel so zur gesunden Oberfläche positioniert, dass er zu ihr steht und ihr anliegt. Von diesem Balken wurde unter Zuhilfenahme der Zoomfunktion des Messprogramms an drei zufällig gewählten Punkten der Substanzverlust gemessen.

Da von jeder Probe zwei Dünnschliffe angefertigt wurden, konnte jede Probe an sechs Messpunkten vermessen werden. Der Mittelwert dieser Einzelmessungen bildet später die gemessene Erosionstiefe je Probe.

Die verbliebenen Anteile der Proben wurden wiederum in 0,08% Thymol gelagert.

## **Speicherung der Daten**

Die Speicherung der Einzelmessergebnisse der beiden Behandler erfolgte mittels Excel Tabelle. (Microsoft, Redmond USA)

## **Reproduzierbarkeitsmessungen**

Jede Erosionsmessung von allen vier miteinander verglichenen Messmethoden (modifizierte Knoophärte, Laserprofilometer, CLSM und transversale Mikroradiographie) wurde von zwei unabhängig voneinander tätigen und kalibrierten Untersuchern unter Verwendung der gleichen Analyseprogramme und gleicher Vergrößerungen vermessen.

Beide Untersucher waren zum Zeitpunkt der Messungen Studenten der zahnmedizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel und hatten den gleichen Kenntnisstand bezüglich der angewendeten Messmethoden und des zu untersuchenden Materials bovines Dentin.

## **Statistische Auswertung**

Um zu überprüfen, ob die genutzten Messverfahren zu gleichen oder unterschiedlichen Ergebnissen führen, wird als statistisches Verfahren eine zweifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) mit Messwiederholung gewählt. Die Durchführung einer ANOVA setzt



Normalverteilung der Messwerte für jede Faktorstufenkombination, Homogenität der Varianzen für den Gruppenfaktor und Sphärizität für den Messwiederholungsfaktor voraus. Die Normalverteilung der Messwerte wurde mittels Shapiro-Wilk Test (Tab.4) überprüft. Die Homogenität der Testgruppen getrennt nach Säurestärken wurde über den Levene-Test auf Varianzhomogenität (Tab.5) ermittelt. Die Sphärizität der Messwiederholungen wurde mittels Mauchly-Test auf Sphärizität geprüft. (Tab.6)

Da dieser eine signifikante Abweichung in Bezug auf die Sphärizität ergab, wurden zusätzliche multivariaten Signifikanztests nach Pillai-Spur, Wilks-Lambda und Hotelling-Spur (Tab.7), als auch ein korrigierter F-Test nach Greenhouse-Geisser (Tab.8) durchgeführt, um eventuellen Verzerrungen entgegenzuwirken.

Da man bei einem signifikanten Ergebnis einer Varianzanalyse lediglich weiß, dass sich mindestens eine der Messmethoden vom Goldstandard TMR unterscheidet, wurden mittels Kontrastierung des Messfaktors genauer unterschieden. (Tab.9)

Zudem wurde geschaut, ob auch die Säurestärke einen signifikanten Einfluss auf die Messunterschiede der Methoden hat, (Tab.10) und es wurden mittels Dunnett-T3-Posthoc Tests (Tab.11) die Gruppenunterschiede beschrieben.

Eine Voraussetzung für die Anwendung einer ANOVA ist die Normalverteilung der abhängigen Variablen (Messergebnisse) für jede Kombination der Faktorstufen. Abb.45 gibt einen visuellen Eindruck der Verteilungen als Histogramm für jede Stufe der Faktoren „Säurestärke“ und „Messverfahren“. Die Histogramme der Messwerte in Abhängigkeit von Gruppe und Messverfahren weisen in der Kontrollgruppe in einigen Fällen leichte Abweichungen von der Normalverteilung auf.

## Ergebnisse

### Methodenfehler:

Methodenfehler der Einzelmessungen ermittelt jeweils durch Mehrfachmessung des Grits (SCI G400 C3 Science Service, München). Werte in  $\mu\text{m}$ .

Tab. 1.2 Methodenfehler der Messmethoden in  $\mu\text{m}$

Modifizierte Knoophärtemessung	Laserprofilometer	CLSM	Transversale Mikroradiographie
1,14	0,67	0,31	0,23

Anhand dieser sehr kleinen Werte, die bis auf die mod. Knoophärtemessung deutlich unter  $1\mu\text{m}$  liegen, kann geschlossen werden, dass der von uns gewählte Versuchsaufbau und die verwendeten Messprogramme valide Ergebnisse im Rahmen der Möglichkeiten des jeweiligen Messprogramms liefern. Messergebnisse von unter  $1\mu\text{m}$  wurden in der Literatur für das Laserprofilometer von Hooper (Hooper *et al*, J Clin Periodontol 2003) beschrieben. Es herrscht in der Literatur allgemeiner Konsens darüber, dass ein valides Messverfahren diese Genauigkeit von unter  $1\mu\text{m}$  mit korrekter Versuchsanordnung erreichen sollte. Mit Ausnahme der modifizierten Knoophärtemessung, die mit  $1,14\mu\text{m}$  Methodenfehler etwas darüber liegt, liegen die anderen Messmethoden deutlich unter  $1\mu\text{m}$  und sollten somit in Bezug auf ihre Versuchsanordnung als sehr valide angesehen werden.

### Einfluss der vorherigen Behandlung der TMR-Dünnschliffe mit Chinolinöl

Im Rahmen eines Vorversuches wurde untersucht, ob die Behandlung des bovinen Dentins mit Chinolinöl (Merck, Darmstadt) einen Einfluss auf die TMR-Messergebnisse nimmt. Dazu wurden Messungen mit und ohne Ölbehandlung durchgeführt. Im Folgenden wurde anhand eines t-Test für abhängige Stichproben signifikanzstatistisch geprüft, ob die Behandlung mit Chinolinöl unterschiedliche Messergebnisse zur Folge hatte.

Hierzu wurde zunächst mittels eines Shapiro-Wilk Test die Normalverteilungsannahme des t-Tests geprüft. Aufgrund seiner hohen Teststärke bei der Überprüfung der Normalverteilungsannahme bei kleinen Stichproben war dieser Test gegenüber anderen Verfahren vorzuziehen. Der Shapiro-Wilk Test wies keine signifikante Abweichung von der Normalverteilung auf ( $p > 0.05$ ), was die Interpretation der t-Test Ergebnisse legitimiert (siehe Tabelle 2).

Tab.2: Shapiro-Wilk-Test auf Normalverteilung, welcher zeigt, dass die Normalverteilung gegeben ist und die Interpretation des t-Tests legitim ist

	Vorbehandlung	
	mit Öl	ohne Öl
N	31	31
Mittelwert	6,9887	7,0158
Standardabweichung	4,29548	4,25035
Shapiro-Wilk-W	,944	,934
Signifikanz	,108	,055

Der t-Test (siehe Tabelle 3) wies keine signifikanten Unterschiede zwischen den TMR-Messungen mit und ohne Chinolinöl auf ( $p = ,801$ ). Für die TMR Messungen machte es folglich keinen Unterschied, ob die Zähne zuvor mit Chinolinöl behandelt worden waren. Im Hauptversuch der TMR wurde auf die Vorbehandlung der Dünnschliffe verzichtet.

Tab.3: t-Test für abhängige Messungen. Das Ergebnis zeigt, dass Chinolinöl keinen signifikanten Einfluss auf die Messergebnisse des Goldstandards TMR hat

	MW	SD	SE	CI		T	df	p
				Untere	Obere			
Mit Öl vs. ohne Öl	-,02710	,59312	,10653	-,24466	,19046	-,254	30	,801

Anmerkungen: MW= Mittelwert ; SD= Standardabweichung ; SE= Standardfehler des Mittelwertes; CI= 95% Konfidenzintervall der Differenz, p= Signifikanz (2-seitig).

## Objektivität der Messungen

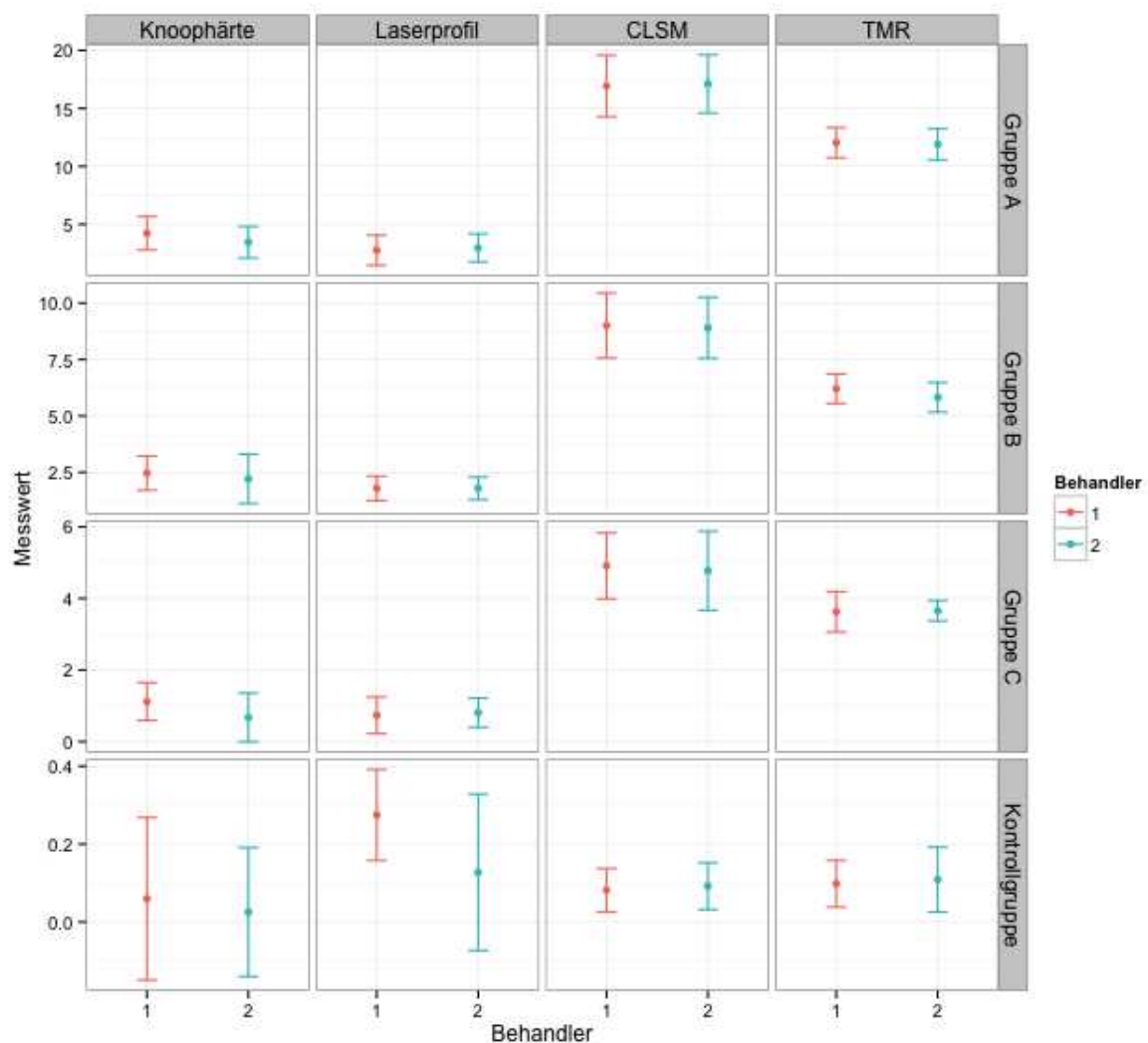
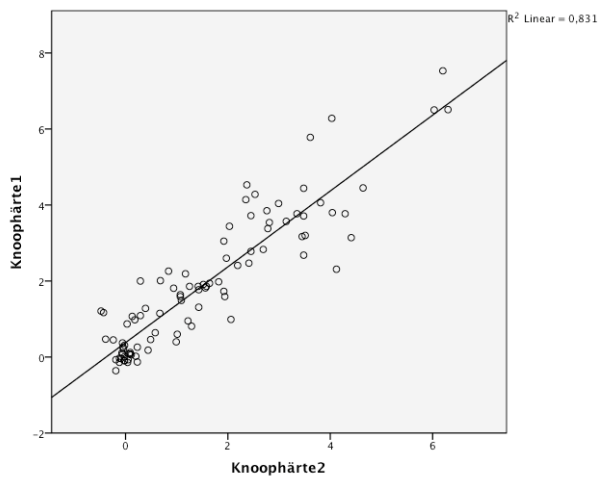


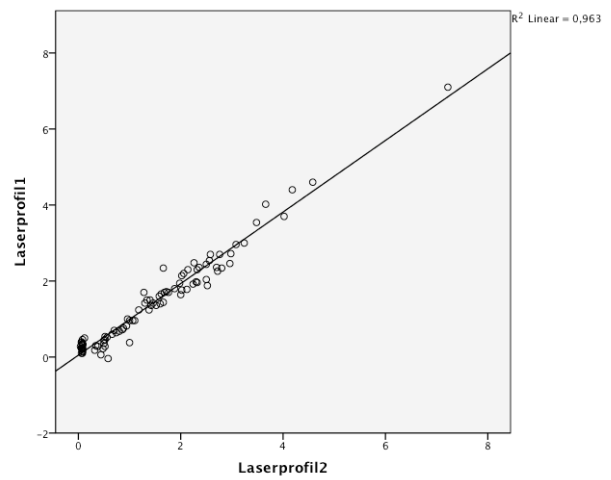
Abb.43 Mittelwerte und Standardabweichungen der Messungen nach Behandler, Gruppe (Säurestärke) und Verfahren in  $\mu\text{m}$ . Zu beachten sind die unterschiedlichen Skalierungen der y-Achsen bei zunehmender Säurestärke.

Um eine Aussage über die Objektivität der einzelnen Messmethoden treffen zu können wurden sie wie eingangs beschrieben von zwei unabhängigen Behandlern unter gleichen Gesichtspunkten vermessen. Diese Messwerte und Standardabweichungen sind in Abb.43 dargestellt und können somit direkt miteinander verglichen werden.

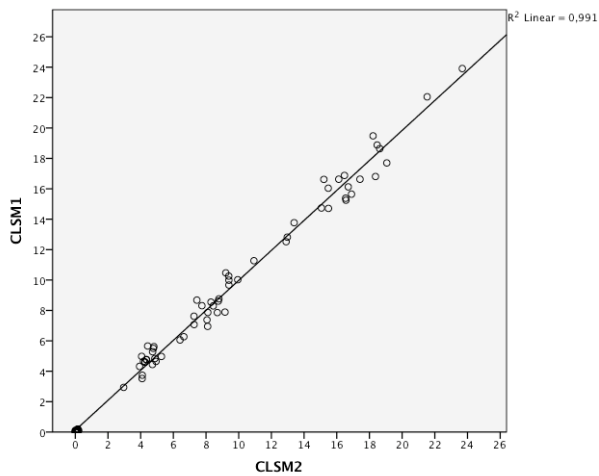
Abb.44 zeigt zusätzlich alle Einzelergebnisse der Untersucher für die vier Messverfahren. Jeder Punkt im Streudiagramm bildet auf der Ordinate den Messwert von Behandler 1 und auf der Abszisse den Messwert von Behandler 2 für eine bovine Dentinprobe ab. Der Wert für  $R^2$  am oberen rechten Rand der Abbildungen gibt die Güte der Übereinstimmung an



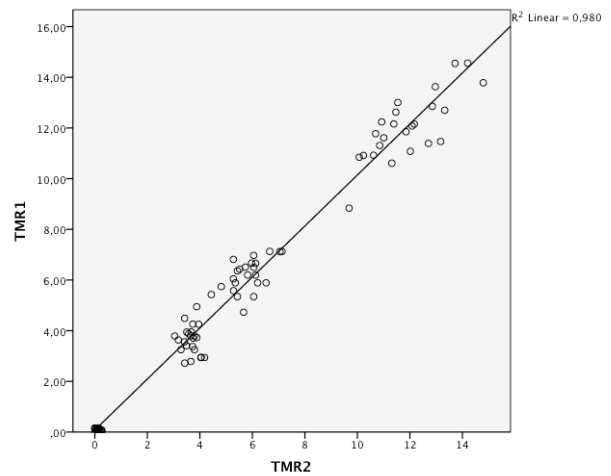
Knoophärte



Laserprofil



CLSM



TMR

Abbildung 44: Streudiagramm für beide Behandler pro Messverfahren

Abb.44 zeigt, dass die Messergebnisse beider Behandler für die Verfahren TMR, CLSM, und Laserprofil sehr hohe Übereinstimmung aufweisen (TMR:  $R^2=0,980$ ; CLSM:  $R^2=0,991$ ; Laserprofil:  $R^2= 0,963$ ). Lediglich die Messungen für das Verfahren Knoophärte zeigen eine leicht niedrigere Übereinstimmung (Knoophärte:  $R^2=0,831$ ). Hierbei wurde als Grenze für den Determinationskoeffizienten  $R^2=0,8$  gesetzt.

Insgesamt können die Messungen und die damit verbundenen Messanordnungen der vier angewandten Verfahren als ausreichend reproduzierbar bezeichnet werden, wobei eine größere Streuung bei der modifizierten Knoophärtemessung als bei den anderen drei Messmethoden beobachtet werden konnte. Im weiteren Verlauf werden die Messdaten des Behandlers 1 für die Auswertung verwendet.

## Überprüfung der Voraussetzungen der ANOVA

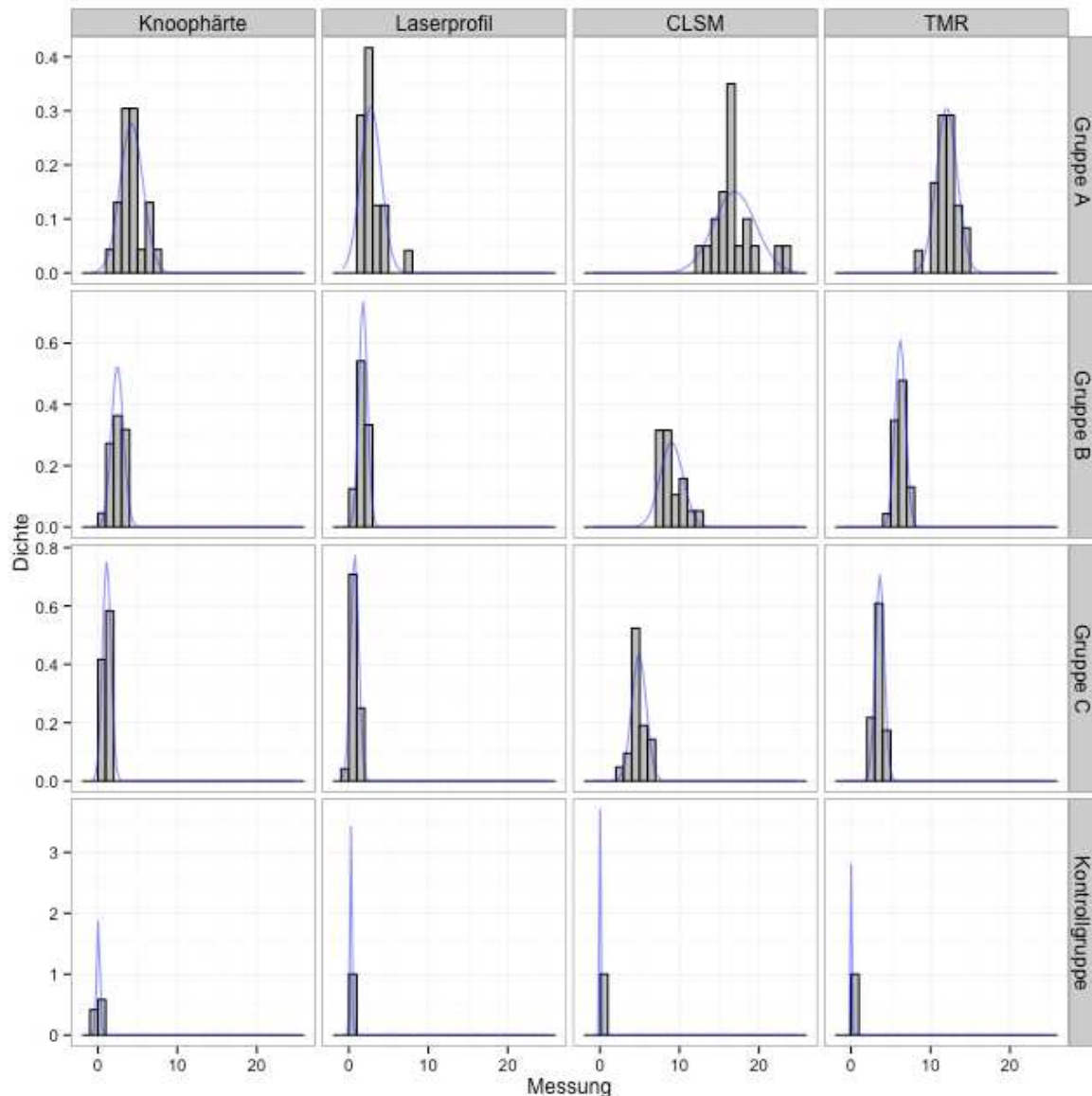


Abbildung 45: Histogramme der AV für jede Kombination zwischen Messmethode und Säurestärke. Die Histogramme sollen einen visuellen Überblick über die Verteilung der Einzelvariablen geben. In der Kontrollgruppe weisen diese einzelne Abweichungen von der Normalverteilung auf.

Zur interferenzstatistischen Überprüfung der Normalverteilungsannahme wurde für jede Faktorstufenkombination ein Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse für alle Faktorstufenkombinationen.

Tab.4: Shapiro-Wilk-Test zur interferenzstatistischen Überprüfung der Normalverteilungsannahme, welcher zeigte, dass lediglich die TMR in der Kontrollgruppe signifikant abwich.

Messverfahren		Gruppe			
		A	B	C	Kontrolle
Knoophärte	<i>n</i>	19	17	20	20
	<i>W</i>	,925	,950	,938	,963
	<i>p</i>	,139	,460	,221	,613
Laserprofilometer	<i>n</i>	19	17	20	20
	<i>W</i>	,929	,979	,911	,977
	<i>p</i>	,164	,945	,065	,889
CLSM	<i>n</i>	19	17	20	20
	<i>W</i>	,921	,944	,965	,927
	<i>p</i>	,117	,364	,617	,889
TMR	<i>n</i>	19	17	20	20
	<i>W</i>	,970	,930	,958	,754
	<i>p</i>	,781	,217	,509	<0,001

*Anmerkungen:* *n* = Probenanzahl, *W* = Teststatistik des Shapiro-Wilk-Tests, *p* = Signifikanz.

Für fast alle Faktorstufenkombinationen hielt die Normverteilungsannahme. Lediglich die Verteilung der Messwerte bei der TMR wichen in der Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ) bei einem Signifikanzniveau von  $\alpha = .05$  von der Normalverteilung ab.

## Überprüfung der Homogenität der Varianzen

Neben der Normverteilung ist die Varianzhomogenität eine Voraussetzung für die inferenzstatistische Gültigkeit der ANOVA. Tabelle 5 gibt einen Überblick über die Ergebnisse der Levene-Tests auf Varianzhomogenität für jede Stufe des Faktors Gruppe.

Tab.5: Levene-Test auf Varianzhomogenität zeigt, dass bei allen Gruppen eine Abweichung der Varianzhomogenität vorliegt

Gruppe	Levene-Test			
	Levene-Statistik	df1	df2	p
A	3,312	3	87	0,024
B	9,688	3	84	<0,001
C	2,160	3	88	0,098
Kontrollgruppe	9,456	3	88	<0,001

*Anmerkungen:* df1, df2 = Freiheitsgrade, p = Signifikanz.

Für alle Stufen des Faktors „Gruppe“ war bei einem Signifikanzniveau von  $\alpha = 0,05$  eine Abweichung von der Varianzhomogenitätsannahme zu verzeichnen.

Eine weitere Voraussetzung für die Durchführung einer Varianzanalyse mit Messwiederholung war die Sphärizität. Das bedeutete, dass die Streuung der einzelnen Stufen und die Korrelationen zwischen ihnen gleich sein müsste. Der Mauchly-Test auf Sphärizität ergab jedoch, dass diese Anwendungsvoraussetzung für die vorliegenden Daten nicht gegeben war (siehe Tabelle 6:  $p < .05$ ).



Tab.6: Mauchly-Test auf Sphärizität zeigt, dass die Anwendungsvoraussetzungen in Bezug auf die Sphärizität nicht gegeben ist

Mauchly-Test auf Sphärizität für den Messwiederholungsfaktor: Messverfahren							
Mauchly-W	Approximiertes Chi-Quadrat	df	p	Epsilon	Greenhouse- Geisser	Huynh- Feldt	Untergrenze
.529	45.075	5	.000	.691		.741	.333

Deshalb wurden im Folgenden einerseits die Ergebnisse der multivariaten Signifikanztests (Pillai-Spur, Wilks-Lambda, Hotelling-Spur), als auch die der korrigierten F-Tests (nach Greenhouse-Geisser) berichtet, um eventuellen Verzerrungen entgegenzuwirken.

### **Ergebnis der Varianzanalyse**

In Tabelle 7 ist ersichtlich, dass sowohl der Faktor Messverfahren, als auch ein Interaktionseffekt zwischen dem Messverfahren und der Säurestärke einen signifikanten Einfluss auf die Messwerte hatte, unabhängig davon welche der drei multivariaten Teststatistiken zur Anwendung kam (Pillai-Spur, Wilks-Lambda, Hotelling-Spur). Die Effektstärke des Faktors Messverfahren auf die Messwerte (partielles Etaquadrat) überstieg jedoch den Einfluss der Interaktion.

In Tabelle 8 sind die nach Greenhouse-Geisser korrigierten Ergebnisse der Messwiederholungsvarianzanalyse ersichtlich. Auch hier zeigten sich ein signifikanter Haupteffekt des Testverfahrens und ein signifikanter Interaktionseffekt zwischen Messverfahren und Säurestärke. Die Varianzerklärung beider Faktoren, bzw. ihre Effektstärken (partielles Etaquadrat) sind bei dieser Art der Teststatistik jedoch annähernd gleich bei ca. 90%.

Für die untersuchte Anwendung lässt sich somit folgern, dass sich nicht nur die Testverfahren in ihren Messergebnissen unterscheiden. Die Unterschiedlichkeit zwischen den Messverfahren wird zusätzlich durch die Säurestärke bestimmt. Anders ausgedrückt:

Wie unterschiedlich die Verfahren messen hängt auch davon ab, wie groß die Erosion der gemessenen bovinen Dentinproben ist.

Tab.7: Pillai-Spur, Wilks-Lambda und Hotelling-Spur Test zeigen, dass sowohl das Messverfahren, als auch die Säurestärke einen signifikanten Einfluss auf die Messergebnisse haben

Multivariate Tests								
Effekt	Teststatistik	Wert	F	df	Fehler df	p	Partielles Quadrat	Eta-
Messverfahren	Pillai-Spur	0.954	479.275	3	70	0.000	0.954	
	Wilks- Lambda	0.046	479.275	3	70	0.000	0.954	
	Hotelling- Spur	20.540	479.275	3	70	0.000	0.954	
Messverfahren * Gruppe	Pillai-Spur	0.955	11.209	9	216	0.000	0.318	
	Wilks- Lambda	0.065	39.293	9	171	0.000	0.598	
	Hotelling- Spur	14.070	107.345	9	206	0.000	0.824	

Tab.8: Greenhouse-Geisser Messwiederholungsvarianzanalyse zeigt, dass ein signifikanter Haupteffekt in Bezug auf das Testverfahren und die Interaktion zwischen Messverfahren und Säurestärke gemessen wurde

Tests der Innersubjekteffekte (Korrektur nach Greenhouse-Geisser)							
Faktor	df	Mittel Quadrate	der F	p	Partielles Quadrat	Eta-	
Messverfahren	2.072	1022.060		699.056	.000	.907	
Messverfahren * Gruppe	6.216	228.533		156.309	.000	.867	
Fehler(Messverfahren)	149.184	1.462					

## Post-hoc Test der Varianzanalyse

Bei einem signifikanten Ergebnis einer Varianzanalyse erhielt man lediglich Kenntnis davon, dass sich mindestens eine Faktorstufe signifikant von den anderen unterschied. Um zu überprüfen, welche einzelnen Faktorstufen sich signifikant voneinander unterscheiden, wurden Messwiederholungskontraste für den Faktor Messverfahren berechnet. Da die Unterschiede der Messverfahren zum Goldstandard (TMR) von besonderem Interesse waren, wurde dieses Verfahren als Referenzkategorie ausgewählt und die anderen Verfahren wurden hiermit verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 ersichtlich.

Jedes der Verfahren unterschied sich signifikant vom Goldstandard, was sowohl durch den Haupteffekt des Verfahrens, als auch durch eine Interaktion von Säurestärke und Verfahren verursacht wurde.

Tab.9: Kontraste für den Messwiederholungsfaktor welche zeigen, dass sich alle Methoden signifikant vom Goldstandard TMR unterscheiden

Tests der Innersubjektkontraste						
Faktor	Messverfahren	df	Mittel der Quadrate	F	p	Partielles Eta-Quadrat
Messverfahren	TMR - CLSM	1	392.302	220.423	.000	.754
	TMR - LASER	1	1362.827	1195.488	.000	.943
	TMR - KNOOP	1	928.625	637.254	.000	.898
Messverfahren * Gruppe	TMR - CLSM	3	86.955	48.857	.000	.671
	TMR - LASER	3	317.128	278.188	.000	.921
	TMR - KNOOP	3	197.133	135.279	.000	.849

Der Einfluss des Faktors Säurestärke auf die Messwerte wurde durch eine Varianzanalyse getestet (siehe Tabelle 10). Durchführungsvoraussetzung hierfür ist Varianzhomogenität der Faktorstufen. Da diese nicht gegeben war (siehe Tabelle 4  $p < .1$ ), wurde, als Post-Hoc-Test

zum Vergleich einzelner Gruppenunterschiede der Tunnet-T3 Test für heterogene Varianzen durchgeführt (siehe Tabelle 11).

In Tabelle 11 ist ersichtlich, dass der Faktor Säurestärke einen signifikanten Einfluss auf die Messwerte nahm ( $p < .05$ ).

Tab.10: Test der Zwischensubjekteffekte zeigte, dass der Faktor Säurestärke einen signifikanten Einfluss auf die Messwerte nahm.

Tests der Zwischensubjekteffekte					
Faktor	df	Mittel der Quadrate	F	p	Partielles Eta-Quadrat
Konstanter Term	1	1313.890	4053.600	.000	.983
Gruppe	3	279.230	861.477	.000	.973
Fehler	72	.324			

Tab.11: Dunnett-T3 Posthoc-Test auf Gruppenunterschiede zeigte, dass sich jedes Messverfahren signifikant in Bezug auf den Faktor Säurestärke voneinander unterschied.

Dunnett-T3 Posthoc-Test auf Gruppenunterschiede						
(I)Gruppe	(J)Gruppe	Mittlere Differenz (I-J)	Standard -fehler	p	95%-KI Untere	95%-KI Obere
Gruppe A	Gruppe B	4.1748	.25404	.000	3.4606	4.8889
	Gruppe C	6.4639	.23197	.000	5.7995	7.1283
	Kontroll- gruppe	8.9260	.21856	.000	8.2864	9.5656
Gruppe B	Gruppe A	-4.1748	.25404	.000	-4.8889	-3.4606
	Gruppe C	2.2891	.15240	.000	1.8584	2.7198
	Kontroll- gruppe	4.7512	.13110	.000	4.3631	5.1394
Gruppe C	Gruppe A	-6.4639	.23197	.000	-7.1283	-5.7995
	Gruppe B	-2.2891	.15240	.000	-2.7198	-1.8584
	Kontroll- gruppe	2.4621	.08035	.000	2.2296	2.6946
Kontroll- gruppe	Gruppe A	-8.9260	.21856	.000	-9.5656	-8.2864
	Gruppe B	-4.7512	.13110	.000	-5.1394	-4.3631
	Gruppe C	-2.4621	.08035	.000	-2.6946	-2.2296

In Tabelle 11 sind die Unterschiede zwischen den einzelnen Stufen des signifikanten Faktors Säurestärke in einem Posthoc-Test auf Signifikanz überprüft worden. Es ist ersichtlich, dass jede Stufe des Faktors Messverfahren sich signifikant von der anderen unterschied.

Abschließend sind in Abb.46 die inferenzstatistisch nachgewiesenen Effekte noch einmal zusammenfassend dargestellt. Der Haupteffekt des Messverfahrens ist insofern ersichtlich, als dass die Linien sich in ihrem Verlauf deutlich voneinander unterscheiden, (wobei TMR und CLSM deutlich höhere Messwerte lieferten als das Laserprofil oder die Knoophärte).

Der Haupteffekt der Gruppe ist daran ersichtlich, dass die Faktorstufen (A, B, C und Kontrollgruppe) deutlich unterscheidbare Messwerte zeigten.

Die Interaktion der Faktoren zeigte sich daran, dass für Gruppe A und B deutlich größere Unterschiede zwischen den Messverfahren bestanden als in der Kontrollgruppe oder Gruppe B. Daran, dass sich die 95%-Konfidenzintervalle der einzelnen Faktorstufen nicht überlappen (siehe T-Bars), sieht man, dass alle diese Effekte signifikant auf einem Testniveau von 0,05 werden.

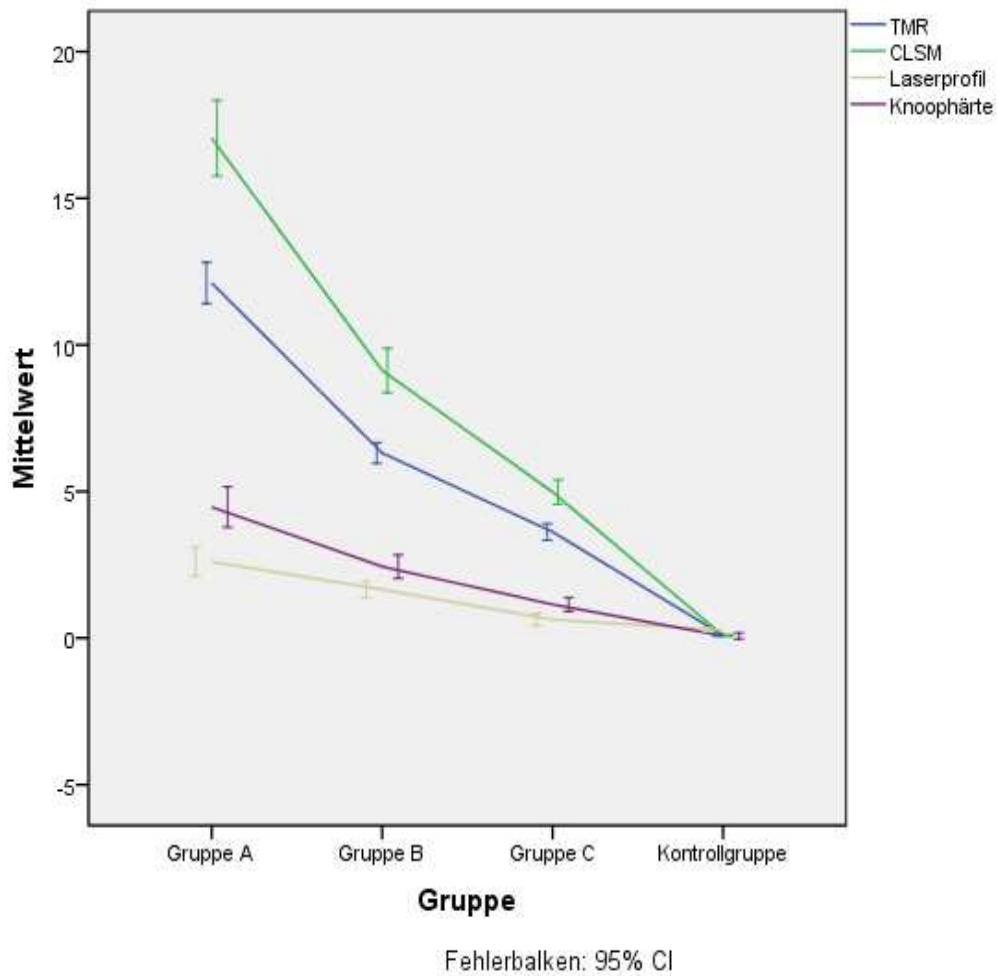


Abb.46: Interaktion der Faktoren. Hier kann man abschließend beurteilen, dass sich jedes Messverfahren signifikant vom Goldstandard TMR unterscheidet und sich dieser Unterschied mit zunehmender Säurestärke vergrößert.

## Diskussion

Die frühe und valide Detektion von nicht-kariösen Zahnhartsubstanzverlusten trat in den vergangenen Jahrzehnten als Herausforderung in der zahnmedizinischen Forschung immer deutlicher in den Vordergrund. Dies lässt sich an deutlichsten an der Anzahl der Publikationen pro Jahr zu diesem Thema ablesen. Waren es in den 1970iger Jahren unter fünf und in den 1980iger immer noch unter zehn, so sind es heute bis zu 50 Veröffentlichungen pro Jahr. (Lussi A. (2006), Dental Erosion from Diagnosis to Therapie, Karger Basel)

Das Problem der Eignung der Einzelmethoden ist jedoch trotz der deutlich gestiegenen Anzahl der Publikationen geblieben. Zu den eingangs beschriebenen Zweifeln, ob sich alle Methoden gleichermaßen für die Detektion eignen, kommen die Probleme der praktischen Umsetzung der Einzelmessungen der Messmethoden. Als Goldstandard ist die TMR eine sehr gute Messmethode zur Erfassung von nichtkariösen Zahnhartsubstanzverlusten. Jedoch ist sie sehr aufwendig in der Herstellung der Proben, teuer in der Anschaffung und Unterhalt und sie verwendet wie schon beschrieben Röntgenstrahlen zur Detektion der Erosionen. Dies birgt einen zusätzlich hohen Aufwand in Bezug auf Strahlenschutz und Wartung des Gerätes.

Aus diesem Grund muss auch unter praktischen und ökonomischen Gesichtspunkten nach Alternativen gesucht werden. Hierbei tat sich im Vorfeld der Versuchsreihe die modifizierte Knoophärtemessung sehr hervor. Sie versprach eine sehr einfache Handhabung ohne besonders teures Equipment zu benötigen. Jedoch konnten weder die praktische Umsetzung noch die Ergebnisse die Erwartungen bestätigen. Das durch Säureeinwirkung freigelegte Kollagen verändert die Lichtbrechung der Oberfläche so, dass diese sehr matt und unscharf erscheint. Dies machte eine valide und vor allen Dingen gut wiederholbare Messung sehr schwer.

Allgemein lässt sich festhalten, dass bei jedem Messverfahren größere Probleme bei Detailfragen auftraten, wo man sie im Vorfeld nicht vermutet hätte. Anhand der Messergebnisse konnte gezeigt werden, dass es schwer ist, aufgrund der sehr komplexen Morphologie der Dentinerosion mit dem einen Messverfahren alle Anteile dieser Erosion korrekt zu erfassen.



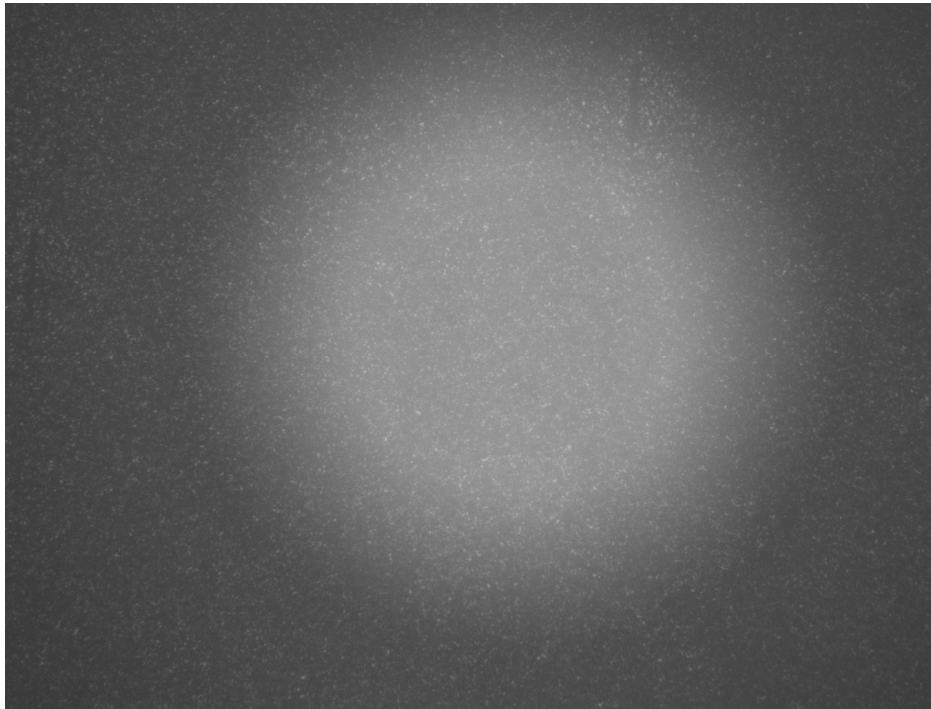


Abb. 51 Auflichtfoto einer vollkommen unscharfen Dentinprobe bei der mod. Knoophärtemessung

### **Diskussion der Methodik**

Säure: Die in dieser Studie verwendete Zitronensäure kam zum Einsatz, da sie ein sehr hohes erosives Potential besitzt und es ihr möglich ist, mit Calcium einen Chelatkomplex zu bilden. (Meurman und Frank, Caries Res 1991)

Die hier gewählten Konzentrationen von 0,07%, 0,25% und 1% und die genaue Herstellung der Säuren beziehen sich auf die Referenzsäuren der ISO/WD 28888.

Als Erosionszeit wurde 1 Stunde gewählt, da frühe gerade startende Erosionen im Fokus dieser Arbeit stehen und diese so erzeugt werden konnten.

Proben: Die verwendeten Dentinproben sind bovinem Ursprung, da sich dieses in seinen Eigenschaften nicht signifikant von menschlichen Dentin unterscheiden. (Wegehaupt *et al*, 2008) Da bovines Dentin sehr leicht zu beschaffen ist, wurde ihm der Vorzug vor menschlichen Dentinproben gewährt. Hinzu kommt, dass der bovine Zahn größer ist als der humane und es somit besser möglich war, alle Methoden und Säuren an einem Zahn anzuwenden. Dadurch wurden interindividuelle Einflüsse weitgehend ausgeschlossen.

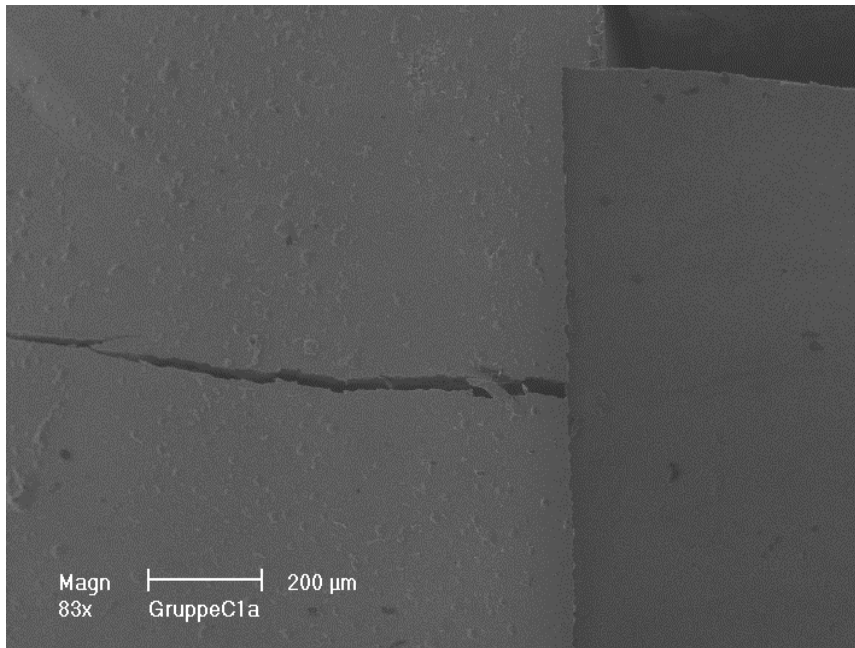
Die Politur der Dentinproben erfolgte aus zweierlei Gründen. Zum einen war sie für die korrekte Methodik einzelner Messmethoden unerlässlich, zum anderen konnte so sichergestellt werden, dass jeglicher Rest von Wurzelzement entfernt werden konnte. Dieser hätte aufgrund seiner von Dentin abweichenden Eigenschaften die Messergebnisse beeinflussen können.

Jedoch ist diese künstlich geschaffene planparallele Oberfläche unphysiologisch und kommt so natürlich in vivo nicht vor.

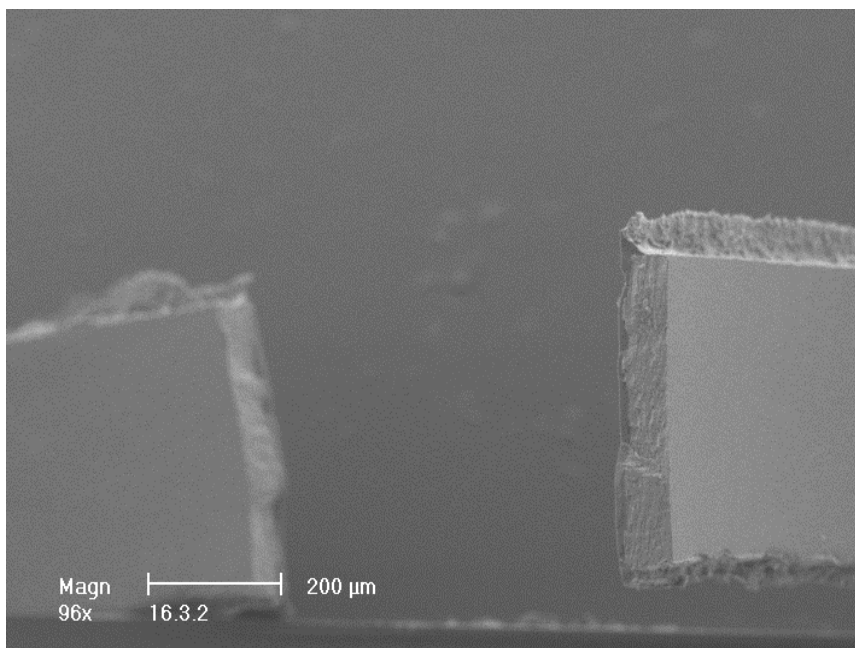
Methodenauswahl: Die vier Methoden modifizierte Knoophärtemessung, Laserprofilometrie, transversale Mikroradiographie und CLSM sind in der Erosionsforschung zum Einsatz gekommen und dementsprechend ist die jeweilige Handhabung bekannt und gut beschrieben.

Diese vier Methoden sind die gängigsten Messmethoden in der Erosionsmessung außer RDA. Da diese Methode aber sehr teuer und aufwendig und nur an Zentren möglich ist und darüber hinaus sie Ergebnisse sehr stark zwischen Einzeluntersuchern an den verschiedenen Zentren variieren (Carlos Gonzáles-Cabezas *J Clin Dent* 21, 2010) wurde sie in dieser Studie nicht berücksichtigt.

Zu den vier beschriebenen Methoden kam noch eine fünfte: das Rasterelektronenmikroskop. Diese schied aber nach ersten Vorversuchen aus, da es durch das vor den Aufnahmen zu erzeugende Vakuum die Dentinproben stark beschädigte.



Riss in Dentinprobenblock nach REM Vakuum



Durchbrochene Dentinprobe nach REM Vakuum

Die so gerissenen und stark deformierten Proben können meiner Meinung nach nicht mehr zu einem validen Messergebnis führen, da selbst die Unterscheidung gesund/krank nicht mehr möglich ist.

Aufgrund der durch diese Studie gezeigten und im nachfolgenden diskutierten Vor- und Nachteile dieser vier Messmethoden kann eine Tendenz hin zu validen und nicht-validen Messmethoden aufgezeigt werden.

## **Diskussion der Ergebnisse**

### Voraussetzungen der ANOVA

Die ANOVA ist grundsätzlich robust gegenüber kleinen Abweichungen von der Normalverteilungsvoraussetzung (Stevens, Intermediate Statistics. A Modern Approach. London: Erlbaum 1999, S. 75). Aus diesem Grund schränkt die Abweichungen die Gültigkeit der folgenden inferenzstatistischen Ergebnisse nicht ein.

Die ANOVA erweist sich bei annähernd gleicher Probenanzahl als robust gegenüber Verletzung der Varianzhomogenitätsvoraussetzung (z.B. Field, Sage Publications 2005). Eine annähernd gleiche Probenbesetzung ist in unserer Studie gegeben. Aus diesem Grund kann die ANOVA ohne Modifikation interpretiert werden. Für die Post-hoc Tests wird jedoch ein Verfahren genutzt, das ungleiche Varianzen zwischen den Faktorstufen berücksichtigt.

### Vorversuch mit Öl:

Dentinproben sind sehr anfällig gegenüber Austrocknung. Besonders die durch Erosion freigelegte Kollagenmatrix kollabiert bei zu langer Austrocknung. (Ganss *et al*, Caries Res 2009b) Da man beim Erstellen der Mikroradiogramme der auf 100µm dünn geschliffenen Dentinproben eine Austrocknung nicht vermeiden kann, wurde vor Beginn des Hauptversuchs ein Vorversuch mit Chinolinöl durchgeführt. Dieser sollte den Einfluss der Austrocknung der Dentinproben auf die Messergebnisse zeigen.

Wie in Material und Methode beschrieben verhindert das Chinolinöl die Austrocknung der Dentinproben. Das Ergebnis ergab keinen signifikanten Unterschied beider Gruppen ( $p=0,801$  siehe auch S. 49 Tab.3) und somit konnte auf eine vorherige Behandlung der Proben mit Chinolinöl in unserem Fall verzichtet werden.

Wie in der oben genannten Studie von Ganss *et al*, betrifft die Schrumpfung durch Austrocknung bei Dentinproben zum größten Teil das freigelegte Kollagengeflecht. Diese

organische Komponente wird durch den TMR nicht dargestellt. Hierdurch lässt sich auch sehr gut die fehlende Signifikanz im Unterschied mit und ohne Chinolinöl erklären.

Diese Beobachtung lässt sich nicht ohne weitere Forschung auf alle Arten von Erosionen an Dentin übertragen. So ist es durchaus vorstellbar, dass bei deutlich tieferen Erosionen mit einem größeren Anteil von erweichtem, aber nicht komplett demineralisierten Dentin unterhalb der Erosion ein anderes Ergebnis dieses Vorversuchs zu erwarten wäre.

### Objektivität der Messmethoden und des Versuchsaufbaus

Wie eingangs beschrieben, ist eine klare, nachvollziehbare und von jedem reproduzierbare Versuchsanordnung und Probenauswertung sehr wichtig.

Um zu prüfen, ob die gewählten Auswertungskriterien und Programme diesen Zielen genügen, wurde wie in Material und Methode beschrieben, jede Probe von zwei Untersuchern nach gleicher Methodik vermessen.

Das heißt die Maßgaben nach welchen Kriterien jedes Bild vermessen wird, kann den jeweiligen Abschnitten in Material und Methode entnommen werden und war dementsprechend jedem der beiden Untersuchern bekannt.

In wie weit dieses, bei beiden Untersuchern vorhandene und annähernd gleiche Fachwissen die jeweilige Auswertung der Einzelaufnahmen der vier Messmethoden beeinflusste, wurde in dieser wissenschaftlichen Arbeit nicht weiter untersucht.

Jedoch ist dies ein möglicher Faktor, welcher Einfluss auf die Messgenauigkeit und Reproduzierbarkeit der Messmethoden nehmen könnte. Diesen Behandlerfaktor zwischen ungeschultem Untersucher und geschultem Untersucher sollte in zukünftigen Forschungsarbeiten ergründet werden.

Um die Objektivität der Messergebnisse graphisch und zahlenbasiert darstellen zu können wurden Standardabweichung und Streudiagramme der Messergebnisse erstellt. (Abb.43, Abb.44 )

Die Güte der Übereinstimmung wurde mittels Determinationskoeffizienten  $R^2$  festgehalten. Bezüglich der Streudiagramme gilt bis  $R^2= 0,8$  der Versuchsaufbau als ausreichend objektiv. Wie auf S.51, 52 der graphischen Darstellungen zu entnehmen ist sind bei allen vier Messmethoden die Auswertungskriterien so, dass sie zu einem nachvollziehbaren und reproduzierbaren Ergebnis führen.

Jedoch ist schon eine Tendenz abzulesen anhand der Abb.43. In ihr wurden die Messergebnisse und die Standardabweichung der beiden Behandler gegenübergestellt. Zum einen ist zu erkennen, dass die Übereinstimmungen der Messungen und somit auch die Standardabweichung bei der TMR besser waren, als bei den anderen Messmethoden. Zum anderen sind die Messwerte höher als bei der modifizierten Knoophärtemessung und der Laserprofilometrie, und jedoch kleiner als beim CLSM. Dieses Ergebnis korrekt zu interpretieren soll im Folgenden versucht werden.

### **Festlegung des Goldstandards**

Bei der Bestimmung des Goldstandards für die korrekte Detektion von nichtkariösen Zahnhartsubstanzverlusten spielten die besonderen Eigenschaften des erodierten Dentins die zentrale Rolle. Wenn Dentin einem Säureangriff ausgesetzt wird, führt dies nachweislich dazu, dass auf der erodierten Oberfläche eine Kollagenmatrix freigelegt wird. (Schuck BD and CM Carey, *J Res NIST* 2010) (Breschi *et al*, *Dent Mater* 2002)

Dieses Kollagengeflecht ist sehr robust, solange es nicht vollkommen austrocknet. Es ist bei der von mir gewählten Versuchsanordnung davon auszugehen, dass sich bei jeder Einzelmessung der verschiedenen Methoden freiliegendes Dentin auf der Oberfläche befindet. (Ganss *et al*, *Eur J. Oral Sci* 2007)

Das bei Dentin- und Schmelzerosionsmessungen *in vitro* und *in situ* am häufigsten verwendete Messverfahren ist die Laserprofilometrie. ([www.karger.com/doi/10.1159/000326819](http://www.karger.com/doi/10.1159/000326819)) Bei der von Hooper *et al* (*J Clin Periodontol* 2003) durchgeführten Studie an Schmelz und Dentin wird eine Messgenauigkeit von unter 1µm erreicht. Daher ist sie für Erosionsmessungen an Schmelz sicher sehr gut geeignet, jedoch bei Dentin unter Berücksichtigung der speziellen Erosionsanatomie meinen Ergebnissen nach nicht.

Die TMR hingegen bedient sich, wie in Material und Methode ausführlich beschrieben, Röntgenstrahlen zur Darstellung der Zahnhartsubstanzen und dementsprechend auch der Erosion. Hieraus ergibt sich, dass ausschließlich röntgendichte Strukturen, wie erweichtes oder vollkommen intaktes Dentin dargestellt werden.

Das auf der Oberfläche freiliegenden Kollagengeflecht wird somit nicht dargestellt und kann das Ergebnis nicht beeinflussen. (Schlueter/Hara/Shellis/Ganss, 2011. *Methologie and Models in Erosion Research*)

Das Gleiche gilt natürlich auch für die longitudinale Mikroradiographie (LMR) jedoch ging es in dieser Studie um die Detektion von kleinen, frühen Erosionen und hierfür ist das TMR besser geeignet als das LMR. (Schlueter/Hara/Shellis/Ganss, 2011. *Methologie and Models in Erosion Research*)

Aufgrund der angeführten Vorteile, welche sich aus der Nichtdarstellung des sich an der Oberfläche der Erosion befindlichen Kollagens gegenüber der anderen rein optisch messenden Methoden ergibt, fällt die Wahl des Goldstandards auf die TMR. (Schlueter/Hara/Shellis/Ganss, *Methologie and Models in Erosion Research* S.18 2011) (Barbour and Rees, *J Dent* 2004; Attin *et al*, *Oral Sci* 2006)

Im Folgenden soll ergründet werden, wie die dort festzustellenden Unterschiede der Messergebnisse zu erklären sind.

### **Modifizierte Knoophärtemessung misst geringere Werte als der Goldstandard TMR**

Die Methode wurde durch Featherstone (Featherstone *et al*, *Caries Res* 1983) auf Schmelzproben beschrieben. Weiterhin kommt sie in anderen, späteren Publikationen als mögliche Methode zur Detektion von zumeist Schmelzerosionen vor. (Lussi *et al*, *Clin Oral Investig.* 1997; Jaeggi and Lussi, *Caries Res.* 1999; Attin *et al*, *Caries Res* 2001)

Wie in Tab. 10 zu sehen ist, misst das mod. Knoophärteverfahren im Vergleich zu unserem Goldstandart TMR signifikant geringere Erosionstiefen. Zusätzlich wird die Differenz bei zunehmender Säurestärke signifikant größer. (Tab.11,Abb. 46) Diese Ergebnisse lassen sich folgendermaßen erklären: Zum einen sind die Impressionen, wie in Material und Methode ausführlich beschrieben, vor Erosion auf der fein polierten glatten Oberfläche sehr gut mittels Auflichtmikroskop aufzunehmen und dies auch mit einer relativ hohen Vergrößerung (100fach Vergrößerung). Hierbei sind die Grenzen der Impression scharf begrenzt und gut zu messen. Nach Erosion ändert sich dieses Bild grundsätzlich.

Durch die Säureeinwirkung erscheint die Oberfläche matt, da das nun freiliegende Kollagengeflecht das Licht nicht mehr in der Weise reflektiert, wie es die fein polierte intakte Oberfläche getan hat.

Das so aufgenommene Bild macht es dem Untersucher deutlich schwerer, die exakten Umrisse der Impression zu bestimmen. Die vormals spitz zulaufenden Ecken der Impression sind nun eher Rund und erscheinen ausgewaschen, womit die Präzision der Messstreckenbestimmung abnimmt.

Zum anderen ist das theoretische Modell, welches der von mir angewandten modifizierten Knoophärtemessung zugrunde liegt, in der Praxis nicht realistisch. Das Schema (Abb. 14) geht von einem oberflächlichen Säureangriff aus, welcher die Impression schrumpfen lässt. Die so entstandene Differenz der Diagonallängen der Impressionen führt über die bereits bekannte Formel zu der gemessenen Erosionstiefe.

Das Schema berücksichtigt aber nicht, dass die Säure auch in der Tiefe der Impression zu einem Zahnhartsubstanzverlust führt. Somit schrumpft die Diagonaldifferenz weniger, als es laut Schema der Fall sein müsste.

Diese beiden Hauptgründe und der Fakt, dass man auf den Aufnahmen auf das freigelegte Kollagengeflecht schaut und diese somit die Messung zusätzlich beeinflusst, führt zu einem signifikant geringeren Messergebnis im Vergleich zu dem Goldstandard TMR. Dass diese Messungenauigkeiten mit zunehmender Säurestärke signifikant ansteigen, erklärt sich somit auch.

Bei Schmelz scheinen diese Messungenauigkeiten nicht so zum Tragen zu kommen, denn das Verfahren ist hier häufiger zum Einsatz gekommen. (Featherstone *et al*, Caries Res 1983) Jedoch bleibt auch hier das Problem, dass die Säure anders als im Schema auch am Boden der Impression zu einer Erosion führt und das Ergebnis somit ungenau werden müsste. Die Versuchsanordnung so zu verändern, dass dieses Problem gelöst werden würde, besteht aus meiner Sicht auch nicht, denn wenn man den Impressionsboden in irgendeiner Weise gegen den Säureangriff schützt, indem man ihn abdeckt, würde dies das Gesamtergebnis auch zum negativen beeinflussen.

Somit konnten die Aussagen von Attin, dass sich die modifizierte Knoophärtemessung nicht zur Dentinerosionsmessung eignet, bestätigt werden (Attin *et al*, Monogr. Oral Sci 2006)



## Das Laserprofilometer misst signifikant geringere Werte als der Goldstandard TMR

Die Effekte, welche ein standardisierter Säureangriff auf das bovine Dentin hat werden von dem LPM unterschätzt.

Nun stellt sich die Frage, wie das signifikant geringere Messergebnis, welches bei zunehmender Säurestärke auch noch ungenauer wird im Vergleich zu dem Goldstandard TMR zu erklären ist (Tab. 9,10,11 Abb. 46)

Wie schon beschrieben wird bei einem Säureangriff auf Dentin Kollagen freigelegt (Breschi *et al*, Dent Mater 2002), welches sich sehr robust gegen physikalische Reize zeigt. (Ganss *et al*, Eur J. Oral Sci 2007)

Da diese sehr invasiven Reize, wie zum Beispiel Bürsten der Erosion in unserem Versuchsaufbau vermieden wurden, ist davon auszugehen, dass sich das freigelegte Kollagengeflecht zum Zeitpunkt der einzelnen Messungen noch auf der Dentinerosion befindet.

Der Ablauf der LPM Messungen wurde so gewählt, dass die Dentinproben möglichst kurze Zeit (6-9Min) nur trockneten und somit eine Übertrocknung vermieden werden konnte, welche das Messergebnis hätte beeinflussen können. Diese Vorgehensweise führt nachweislich dazu, dass die Kollagenmatrix nur in geringem Maße schrumpft und das LPM nur eine geringe Stufe detektieren kann. (Ganss *et al*, Caries Res. 2009b)

An Hand dieses Vorwissens aus früheren Forschungsergebnissen lässt sich das Ergebnis erklären. Das LPM misst wie in Material und Methode beschrieben über optische Reflektion auf der Oberfläche der Proben. Diese Oberfläche ist aber nicht der Boden der Erosion, sondern das nun frei liegende Kollagengeflecht. Die so entstandenen Werte spiegeln nicht das ganze Ausmaß der Erosion wieder.

Um dieses Problem zu umgehen und den Ungenauigkeitsfaktor Kollagengeflecht auszuschalten gehen einzelne Forschungsgruppen dazu über, dass freigelegte Kollagengeflecht mittels spezieller Enzyme zu entfernen. (Ganss *et al*, Eur J. Oral Sci 2009a)

Die hiernach gemessenen Erosionstiefen entsprechen eher den tatsächlichen Erosionstiefen, jedoch ist somit aus einem nicht-destruktivem Verfahren zur Erosionstiefenbestimmung ein destruktives geworden. Zudem wird so dem Dentin das natürlicherweise gegebene Potential zur Remineralisation genommen, da dies ohne Kollagengerüst nicht möglich ist.

Da der Einfluss des durch Säureeinwirkung freigewordenen Kollagens auf den weiteren Erosionsprozess und dessen Progression noch sehr wenig erforscht und nicht in Gänze verstanden ist, ergibt das Vorgehen das Kollagen nach einmaliger Säureeinwirkung komplett zu entfernen, um genaue Ergebnisse der LPM zu generieren, keinen Sinn.

Denn Forschungsergebnisse zeigen, dass Kollagen auf das Fortschreiten des Dentinverlusts einen limitierenden Effekt hat. (Hara *et al*, Caries Res. 2005)

Um hier in weiteren Forschungen eine Verlaufskontrolle über den Einfluss des Kollagens auf die einzelnen Schritte in voranschreiten der Erosion darzustellen, muss dieses natürlich erhalten bleiben und sollte nicht enzymatisch entfernt werden.

Hier ist weitere Forschung unerlässlich: (Lussi/Schlueter/Rakhmatullina/Ganss, Methodologie and Models in Erosion Research S.10 2011)

### **CLSM misst signifikant größere Erosionstiefen als der Goldstandard TMR**

Die Effekte, welche ein standardisierter Säureangriff auf das bovine Dentin hat werden von der CLSM überschätzt.

Es ist davon auszugehen, dass Kollagen nach Erosion auf der erodierten Dentinoberfläche freigelegt wurde. Bei der Interpretation der Messungen von Dentinerosionen mittels CLSM kommt ein weiterer Aspekt der Dentinerosion zum Tragen, welcher zuvor in der Diskussion noch keine übergeordnete Rolle gespielt hat.

Unterhalb des freigelegten Kollagens liegt keineswegs sofort gesundes, intaktes Dentin. Wie auch bei der Schmelzerosion sieht man bei Dentin eine teilweise demineralisierte Zone. Dieses Ergebnis wurde als „Softening“ also Erweichung beschrieben. (Kinney *et al*, J Dent Res 1995)

Bei genauer Betrachtung der CLSM-Bilder und vor dem Hintergrund der Methodik des Versuchs ist davon auszugehen, dass der erodierte Streifen, welcher nicht wie bei der TMR leer erscheint, nicht nur das freigelegte Kollagen darstellt, sondern auch die erweichten, jedoch nicht vollständig demineralisierten Areale des Dentins.

Die von uns vermessene Erosion beinhaltet also nicht nur die reine Erosion, sondern auch vorgeschädigte Areale unter dieser. Es lässt sich jedoch nicht abgrenzen, wo das Kollagen anfängt und das erweichte Dentin aufhört.

Die so gemessenen Ergebnisse müssen signifikant größer sein, als die des TMR, da wir dort nur bis zum Boden der Erosion gemessen haben, ohne die erweichten Areale zu berücksichtigen.

Auch in diesem Fall ist zu sehen, dass die Differenz der Ergebnisse mit zunehmender Säurestärke signifikant ansteigt. Dies lässt die Vermutung zu, dass bei stärkeren Säuren die erweichten, vorgeschädigten Schichten dicker sind als bei schwächeren Säuren. Hier ist jedoch noch weitere Forschung notwendig.

Ein Vorteil des CLSM ist, dass die Dentinproben während der kompletten Messung feucht gehalten werden können, da diese durch ein Mikroskopierplättchen und einen Tropfen Flüssigkeit bedeckt sind und somit keine Übertrocknungseffekte das Ergebnis beeinflussen können.

## **Fazit**

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass alle Messverfahren signifikant vom Goldstandard (TMR) abweichen. Diese Abweichung ist einerseits im Messverfahren selber, andererseits in einem Wechselspiel zwischen Messverfahren und Säurestärke begründet. Mit zunehmender Erosionstiefe vergrößern sich die Messunterschiede zwischen den Verfahren signifikant. Die Messungen von CLSM überschritten unter jeder Bedingung den Goldstandard TMR; Laserprofil und Knoophärte unterschritten ihn unter jeder Bedingung.

Jedoch muss an dieser Stelle klar gestellt werden, dass die Komplexität der Dentinerosion mit keinem der uns heute zur Verfügung stehenden Methoden in seiner Gänze erfasst werden kann. (Schlueter/Hara/Shellis/Ganss, Methodologie and Models in Erosion Research S.13 2011)

Die TMR eignet am besten, jedoch würde eine ergänzende Betrachtung der Erosion mittels CLSM durchaus Sinn machen. Denn wie zuvor beschrieben, schließen sich die Messergebnisse dieser beiden Verfahren nicht aus, auch wenn es signifikante Unterschiede bestehen. Dies liegt doch eher an den unterschiedlichen Strukturen, welche die Methoden darstellen, als an einer elementaren Messungenauigkeit.

Aus diesen Gründen ergänzen sich diese beiden Methoden sehr gut und lassen eine adäquate Vermessung und Beurteilung auch kleiner Dentinerosionen zu.

Abschließend lässt sich also festhalten, dass die Arbeitshypothese klar widerlegt wurde und die Alternativhypothese stattdessen zutrifft.

## Zusammenfassung

Die korrekte Detektion von nicht-kariösen-Zahnhartsubstanzverlusten spielt in der Zahnmedizin eine zunehmend wichtige Rolle, da die Zahl der Patienten, die auch im hohen Alter noch voll- bzw. teilbezahnt ist, zunimmt. Somit steigt auch das Risiko der Zähne nicht-kariöse-Zahnhartsubstanzverluste zu entwickeln.

Zielsetzung dieser In-vitro-Studie war demnach, eine möglichst einfache, genaue, trennscharfe und dennoch valide und für jeden reproduzierbare Methode zu finden, mit welcher man den Zahnhartsubstanzverlust nach Säureexposition an Dentin messen kann.

Die wichtigsten hierzu zur Verfügung stehenden Messmethoden LPM, mod. Knoophärtemessung, CLSM und TMR wurden miteinander verglichen, wobei die TMR der Goldstandard dieser Studie war.

Es wurden bovine Wurzeldentinproben hergestellt und in vier Gruppen mit jeweils 24 Proben unterteilt. An der ersten Gruppe wurde mittels 1% Zitronensäure eine standardisiert Erosion erzeugt. An der zweiten Gruppe mittels 0,25% Zitronensäure und an der dritten Gruppe mittels 0,07% Zitronensäure. Die vierte Gruppe wurde als Negativkontrollgruppe mit deionisiertem Wasser behandelt.

Alle vier verwendeten Messmethoden wurden an allen Proben durchgeführt und die Aufnahmen von zwei unabhängig unter gleichen Gesichtspunkten messenden Untersuchern vermessen.

Zur Bestimmung des Standardfehlers jeder Methode wurde vorab ein Standardgrit (Sci G400 C3, Science Service, München) aufgenommen und vermessen.

Anhand der Bestimmung der Standardfehlers (Tab. 1.2) waren alle getesteten Messmethoden ausreichend genau und konnten somit unter der jeweils verwendeten Versuchs- und Messanordnung als ausreichend valide betrachtet werden.

Um eine Aussage bezüglich der Objektivität der Messungen treffen zu können, wurden alle Aufnahmen der vier Messmethoden von zwei unabhängig voneinander, aber unter gleichen Gesichtspunkten vermessenden Untersuchern, vermessen und die Ergebnisse mittels Streudiagramm dargestellt. Zur Abbildung der Güte der Übereinstimmung der Einzelmessungen der Untersucher wurde der Determinationskoeffizient  $R^2$  bestimmt und als Grenze  $R^2=0,8$  gesetzt. (Abb.44)

Die Verfahren TMR ( $R^2= 0,980$ ), CLSM ( $R^2= 0,991$ ), und LPM ( $R^2= 0,963$ ) zeigen eine sehr hohe Übereinstimmung. Lediglich die mod. Knoophärtemessung ( $R^2= 0,831$ ) zeigt eine leicht niedrigere Übereinstimmung. Insgesamt konnten somit alle vier angewendeten Messmethoden mit der verwendeten Messmethodik als ausreichend reproduzierbar bezeichnet werden.

Die Anwendung von multivarianten Signifikanztests auf die Messergebnisse (Tab. 7) ergab, dass die angewendeten Messmethoden und auch die verwendeten Säurekonzentrationen einen signifikanten Einfluss auf die Messwerte hatten. (Tab. 8) Hieraus ließ sich folgern, dass nicht nur die Messverfahren unterschiedliche Ergebnisse liefern, sondern dass auch die Säurestärke und somit die Erosionstiefe die Unterschiede der Messmethoden beeinflussten. Je größer die Erosion war, je größer viel auch der Messunterschied aus. (Abb. 46)

Um genauer zu ermitteln welches der Messverfahren sich signifikant von unserem Goldstandard TMR unterscheidet wurde ein Post-Hoc-Test der Varianzanalyse durchgeführt. (Tab. 9) Das Ergebnis zeigte, dass sich alle Verfahren signifikant von unserem Goldstandard TMR unterscheiden. Hinzu kommt, dass der Unterschied mit zunehmender Säurekonzentration zunimmt. (Abb.46)

Somit wurde die Alternativhypothese, dass ein signifikanter Unterschied zwischen den Messmethoden mod. Knoophärtemessung, CLSM und LPM und unserem Goldstandard TMR besteht, bestätigt.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass nicht jedes der verwendeten Messverfahren geeignet ist, die komplexe Struktur einer Dentinerosion korrekt abzubilden, um somit dem Untersucher ein korrektes Ergebnis dieser Erosion zu liefern.

## Literaturverzeichnis

Absi EG, Addy M, Adams D (1992). Dentine hypersensitivity. The effects of tooth brushing and dietary compounds on dentine in vitro: a SEM study. *J Oral Rehabil* 1992 Mar 19(2):101-110.

Addy M, Pearce N (1994). Aetiological, predisposing and environmental factors in dentine hypersensitivity. *Arch Oral Biol*. 1994; 39(suppl):33S-38S. Review.

Addy M, Hunter ML (2003). Can tooth brushing damage your health? Effects on oral and dental tissues. *Int Dent J* 2003; Suppl 3:177-86. Review.

Addy M, Shellis RP (2006). Interaction between Attrition, Abrasion and Erosive in Tooth Wear. *Monogr Oral Sci*. 2006; 20:17-31. Review

Ahmed AA, Garcia-Gogoy F, Kunzelmann KH (2008). Self-limiting caries therapy with protheolytic agents. *Am J Dent* 2008 Oct; 21(5):303-312.

Albandar JM, Kingman A (1999). Gingival recession, gingival bleeding, and dental calculus an adult 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol* 1999 Jan; 70(1):30-43.

Amaechi BT, Higham SM (2001) In vitro remineralization of eroded enamel lesions by saliva. *J Dent*. 2001 Jul; 29(5):371-376.

Amaechi BT, Higham SM (2001). Eroded enamel lesion remineralized by saliva as a possible factor in the site-specificity of human enamel erosion. *Arch Oral Biol.* 2001 Aug; 46(8):697-703.

Attin T, Knöfel S, Buchalla W, Tütüncü R (2001) In situ evaluation of different remineralization periods to decrease brushing abrasion of demineralized enamel. *Caries Res.* 2001 May-Jun; 35(3): 216-222.

Attin T, Buchalla W, Putz B (2001). In vitro evaluation of different remineralization periods in improving the abrasion resistance of previously abraded bovine dentine against tooth-brushing abrasion. *Arch Oral Biol.* 2001 Sep; 46(9):871-874.

Attin T, Siegel S, Buchalla W, Lennon AM, Hannig C, Becker K (2004). Brushing Abrasion of Softening and Remineralised Dentin: An in situ Study *Caries Res.* 2004 Jan-Feb; 38(1):62-66

Attin T (2006). Methods for Assessment of Dental Erosion *Monogr Oral Sci.* 2006; 20:152-172  
*Review.*

Barbour ME, Rees JS (2004). The laboratory assessment of enamel erosion: a review. *J Dent.* 2004 Nov; 32(8):591-602 *Review.*

Bartlett D, Smith BGN (2000). Definition, classification, and clinical assessment of attrition, erosion and abrasion of enamel and dentin; in Addy M, Embery G, Edgar WM, Orchardson R (eds): *Tooth Wear and Sensitivity. London 2000; Martin Dunitz pp 171-180*



Breschi L, Gobbi P, Mazzotti G, Falconi M, Ellis TH, Stangel I (2002). High resolution SEM evaluation of dentine etched with maleic and citric acid. *Dent Mater* 2002 Jan; 18(1):26-35

Calvadini C, Siega-Riz AM, Popkin BM (2000). US adolescent food intake trends from 1965 to 1996. *Arch Dis Child*. 2000 Jul; 83(1):18-24

Duschner H, Sønju-Clasen B, Øgaard B (1996). Detection of early caries by confocal laser scanning microscopy; in Stookey GK (ed): Early Detection of Dental Caries. *Indianapolis, Indiana University Press* pp 145-156

Duschner H, Götz H, Walter H, Lussi A (2000). Erosion of dental enamel visualized by confocal laser scanning microscopy; in Addy M, Embery G, Edgar WM, Orchardson R (eds): Tooth Wear and Sensitivity. *London, Martin Dunitz* pp 67-73

Eisenburger M, Hughes J, West NX, Jandt K, Addy M (2000). Ultrasonication as a method to study enamel demineralization during acid erosion. *Caries Res* 2000 Jul-Aug; 34(4):289-294

Eisenburger M, Addy M (2002). Erosion and attrition of human enamel in vitro. II. Influence of time and loading. *J Dent*. 2002 Sep-Nov; 30(7-8):349-352

Eisenburger M, Shellis RP, Addy M (2004). Scanning electron microscopy of softened enamel. *Caries Res* 2004 Jan-Feb; 38(1):67-74

Featherstone JD, ten Cate JM, Shariati M, Arends J (1983). Comparison of artificial caries like lesions by quantitative microradiography and mikrohardness profiles. *Caries Res* 1983; 17(5):385-391

Ganss C, Lussi A, Klimek J (2005). Comparison of calcium/phosphorus analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosive demineralization. *Caries Res.* 2005 May-Jun; 39(3):178-184

Ganss C, Lussi A (2006). Diagnosis of Erosive Tooth Wear; in Lussi A (ed): Dental Erosion. *Monogr Oral Sci.*2006; 20:32-43

Ganss C (2006). Definition of Erosion and Links to Tooth Wear; in Lussi A (ed): Dental Erosion. *Monogr Oral Sci.*2006; 20:9-16

Ganss C, Schlueter N, Hardt M, von Hinckeldey J, Klimek J (2007). Effects of toothbrushing on eroded dentine. *Eur J Oral Sci* 2007 Oct; 115(5):390-396

Ganss C, Hardt M, Blazek D, Klimek J, Schlueter N (2009). Effects of toothbrushing force on the mineral content and demineralized organic matrix on eroded dentine. *Eur J Oral Sci* 2009 Jun; 117(3):255-260

Ganss C, Lussi A, Scharmann I, Weigelt T, Hardt M, Klimek J, Schlueter N (2009). Comparison of calcium analysis, longitudinal microradiography and profilometry for the quantitative assessment of erosion in dentine. *Caries Res* 2009; 43(6):422-429

González-Cabezas C. (2010). Determination of the Abrasivity of Dentifrices on Human Dentin using the Radioactive (also known as the Relative) Dentin Abrasion (RDA) Methods. *J Clin Dent* 2010; (Supplement): S1-S13

Hall AF, Sadler JP, Strang R, de Josselin de Jong E, Foye RH, Creanor SL (1997). Application of transverse microradiography for measurement of mineral loss by acid erosion. *Adv Dent Res* 1997 Nov; 11(4):420-425

Hara AT, Ando M, Cury JA, Serra MC, Gonzalez-Cabezas C, Zero DT (2005). Influence of the organic matrix on root dentine erosion by citric acid. *Caries Res* 2005 Mar-Apr; 39(2)-134-138

Hardie JM, Silverstone LM, Bowden GH (1971). Modification of acid attack on enamel surfaces in vitro by aggregation of bacteria. *Caries Res* 1971; 5(3):290-304

Hefferen JJ (1976). A laboratory method for assessment of dentifrice abrasivity. *J Dent Res* 1976 Jul-Aug; 55(4):563-573

Heurich E, Beyer M, Jaridt KD Reichert J, Herold V, Schnabelrauch M, Sigusch BW (2010). Quantification of dental erosion – a comparison of stylus profilometry and confocal laser scanning microscopy (CLSM). *Dent Mater* 2010 Apr; 26(4):326-336

Hooper S, West NX, Pickles MJ, Joiner A, Newcombe RG, Addy M (2003). Investigation of erosion and abrasion on enamel and dentin: a model in situ using toothpastes of different abrasivity. *J Clin Periodontol*. 2003 Sept; 30(9): 802-808

Hunter ML, Addy M, Pickles MJ, Pointer A (2002). The role of toothpastes and toothbrushes in the etiology of toothwear. *Int Dent J* 2002; 52:399-405

Jaeggi T, Lussi A (1999). Toothbrush Abrasion of erosive altered enamel after intraoral exposure to saliva: an in situ study. *Caries Res* 1999; 33(6):455-461

Kinney JH, Balooch M, Haupt DL, Marshall SJ, Marshall GW Jr. (1995). Mineral distribution and dimensional changes in human dentine during demineralization. *J Dent Res* 1995 May; 74(5):1179-1184

Koulourides T (1968). Experimental changes of mineral density; in Harris RS (ed): Art and Science of Dental Caries Research. *New York, Academic Press, pp 355-378*

Lamprechts P, Bream M, Vuylsteke-Wauters M, Vanherle G (1989). Quantitative in vivo wear of human enamel. *J Dent Res* 1989 Dec; 68(12):1752-1754

Loee H, Theilade E, Jensen SB (1965). Experimental Gingivitis in Man. *J Periodontol* 1965; 36:177-87

Lussi A, Portmann B, Burhop B. (1997). Erosion and abraded dental hard tissues by acidic lozenges: an in situ study. *Clin Oral Investig* 1997 Dec; 1(4):191-194

Lussi A, Schaffner M (2000). Progression and risk factors for dental erosion and wedge-shaped defects over a 6-year period. *Caries Res* 2000 Mar-Apr; 34(2):182-187

Lussi A, Hellwig E (2001). Erosive potential of oral care products. *Caries Res* 2001; 35(suppl 1):52-56

Lussi A (2006). Erosive Tooth Wear – A Multifactorial Condition of Growing Concern and Increase Knowledge. *Monogr Oral Sci.*2006; 20:1-8

Lussi A, Schlueter N, Rakhmatullina E, Ganss C (2011). Dental Erosion – An Overview with Emphasis on Chemical and Histopathological Aspects. *Caries Res* 2011; 45(suppl 1):2-12

Mahoney E, Beattie J, Swain M, Kilpatrick N (2003). Preliminary in vitro assessment of erosive potential using the ultra-micro-indentation system. *Caries Res* 2003 May-Jun; 37(3):218-224

Meurman JH, Frank RM (1991). Progression and surface ultrastructure of in vitro caused erosive lesions in human and bovine enamel. *Caries Res* 1991; 25(2):81-87

Meyer-Lückel H, Rieben AS, Kielbassa AM (2005). Filament end-rounding quality in electric toothbrushes. *J Clin Periodontol* 2005 Jan; 32(1):29-32

Micheelis W, Schiffner U (2006) Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV). *Institut der Deutsche Zahnärzte (IDZ Materialbandreihe Band 31). Deutscher Ärzte-Verlag, Köln*

O`Sullivan EA, Curzon MEJ (2000). A comparison of acidic dietary factors in children with and without dental erosion. *J Dent Child* 2000 May-Jun; 67(3):186-192

Petersen PE (2003). The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21th century-the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dentistry and Oral epidemiology* 2003; Wiley Online Library

Sangnes G (1976). Traumatization of teeth and gingiva related to habitual tooth cleaning procedures. *J Clin Periodontol* 1976 May; 3(2):94-103

Schlueter N, Ganss C, De Sanctis S, Klimek J (2005). Evaluation of a profilometrical method for monitoring erosive tooth wear. *Eur J Oral Sci* 2005 Dec; 113(6):505-511

Schlueter N, Hara A, Shellis RP, Ganss C (2011). Methods for the Measurement and Characterization of Erosion in Enamel and Dentine. *Caries Res* 2011; 45(suppl 1):13-23

Schmuck BD, Carey CM (2010). Improved Contact X-Ray Microradiographic Method to Measure Mineral Density to Hard Dental Tissues. *J Res NIST* 2010 Apr; 115(2):1-9.

Shellis RP, Ganss C, Ren Y, Zero DT, Lussi A (2011). Methodology and Models in Erosion Research. *Caries Res* 2011; 45(suppl 1) 1-78

Sivasithamparam K, Harbrow D, Vinczer E, Young WG (2003). Endodontic sequelae of dental erosion. *Aust Dent J* 2003 Jun; 48(2):97-101

Stookey GK (1978). In vitro estimates of enamel and dentin abrasion associated with a prophylaxis. *J Dent Res* 1978 Jan; 57(1):36.

Vanuspong W, Eisenburger M, Addy M (2002). Cervical tooth wear and sensitivity: Erosion, softening and rehardening of dentine; effects of pH, time and Ultrasonication. *J Clin Periodontol* 2002 Apr; 29(4):351-357

Von der Fehr FR, Loe H, Theilade E (1970) Experimental caries in man. *Caries Res* 1970; 4(2):131-48.

Waltimo A, Nyström M, Könönen M (1994). Bite force and dentofacial morphology in men with severe dental attrition. *Scand J Dent Res* 1994 Apr; 102(2):92-96

Wefel JS (1994). Root Caries histopathology and chemistry. *Am J Dent* 1994 Oct; 7(5):261-165

[www.karger.com/doi/10.11.59100326819](http://www.karger.com/doi/10.11.59100326819)

Zero DT (1996). Etiology of dental erosion – extrinsic factors. *Eur J Oral Sci* 1996 Apr; 104:162-177

## Lebenslauf

Name: Geert Felstehauen

Geburtsdatum: 07.11.1984

Geburtsort: Bremen

Familienstand: verheiratet

Staatsangehörigkeit: deutsch

### Ausbildung:

1991-1995 Grundschule Asendorf

1995-1997 Orientierungsstufe Bruchhausen-Vilsen

1997-2004 Gymnasium Syke

23.06.2004 Abitur

2004-2005 Zivildienst DRK Sulingen

2005-2010 Studium der Zahnmedizin an der CAU Kiel

10.12.2010 Approbation als Zahnarzt

Jan. 2011-Aug.2011 Beendigung der Forschungsarbeiten meiner Dr. Arbeit

Sept.2011-Aug.2013 Assistenz Zahnarzt in der Praxis Dr. Brinkhoff in Marklohe

Sept.2013-Dez. 2014 Juniorpartner der Zahnarztpraxis Anuth in Martfeld

Ab Jan. 2015 Partner der Gemeinschaftspraxis Anuth und Felstehauen in Martfeld



## **Danksagung**

Besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. Christof Dörfer für die Bereitstellung des Dissertationsthemas, für seine große Geduld in der Beantwortung meiner Fragen und in der großen Hilfe beim Lösen von scheinbar unüberwindbaren Problemen und der statistischen Auswertung.

Darüber hinaus möchte ich den Mitarbeitern der Abteilung Forschung der Klinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel für Ihre große Ruhe und Hilfsbereitschaft während der ganzen Zeit meiner Forschung danken.

Ebenso danke ich meiner Familie besonders meinen Eltern, ohne Ihre Unterstützung und fortdauernde Ermunterung diese Arbeit sicher nie beendet worden wäre.

Und besonderer Dank gilt meinem guten Freund und Kollegen Dominik Hauk, welcher seine Freizeit und unzählige Stunden für das Gelingen meiner bzw. unserer Ergebnisauswertung geopfert hat.

Vielen Dank!

## Anhang

### Messergebnisse der Einzelversuche

Verschlüsselung	Probe	Ergebnis TMR	Ergebnis LPM	Ergebnis CLSM	Ergebnis mod. Knoop
	1 13.1	12,08	4,40	19,48	4,45
	2 14.1	11,39	4,02	16,63	4,14
	3 15.1	11,85	2,34	16,63	4,53
	4 16.1	12,24	1,76	15,65	4,44
	5 17.1	12,86	1,36	16,81	6,28
	6 18.1	11,31	7,10	14,74	
	7 19.1	11,78	2,46		3,77
	8 20.1	8,84	2,54	13,77	3,14
	9 21.1	13,01	2,30	15,25	5,78
	10 22.1	12,16	2,26		3,38
	11 23.1	10,85	3,00	17,70	4,04
	12 24.1	10,61	2,04	16,88	3,85
	13 25.1	12,63	2,96	14,71	3,72
	14 26.1	11,47	2,72		1,64
	15 27.1	14,55	3,70	23,91	2,41
	16 28.1	14,56	2,44	18,64	4,06
	17 29.1	10,93	3,54	15,38	6,51
	18 30.1	13,79	1,88	18,88	7,53
	19 31.1	11,08	1,24	16,04	4,28
	20 32.1	12,70	1,98	16,62	2,60
	21 33.1	12,16	2,36		3,71
	22 34.1	11,62	4,60	12,82	3,80
	23 35.1	13,63	1,40	22,05	2,83
	24 36.1	10,92	1,96	16,13	6,50
	25 13.2	7,13	2,34	10,26	2,31
	26 14.2	6,82	1,94	8,55	2,78
	27 15.2	5,35	0,96	8,68	3,77
	28 16.2	6,66	0,72	12,52	3,17
	29 17.2	6,36	1,42	8,61	3,54
	30 18.2	5,35	2,30	7,62	
	31 19.2	5,89	1,42		1,86
	32 20.2	6,20	2,14	7,87	2,01
	33 21.2	5,43	1,70	9,99	0,99
	34 22.2	7,12	1,24	9,67	1,59
	35 23.2	6,97	1,70	8,31	3,57
	36 24.2	6,43	1,80	7,07	1,94
	37 25.2	7,13	2,36	10,47	3,20
	38 26.2	4,73	1,60	7,89	2,47
	39 27.2		2,70	8,30	3,44
	40 28.2	5,58	1,78		1,77
	41 29.2	6,51	1,50	8,76	1,91
	42 30.2	6,50	2,70	11,27	2,19

---

Verschlüsselung	Probe	Ergebnis TMR	Ergebnis LPM	Ergebnis CLSM	Ergebnis mod. Knoop
	43 31.2	5,89	2,20		2,68
	44 32.2	6,20	0,96	10,02	1,73
	45 33.2	5,89	1,92		
	46 34.2	5,74	1,44	7,38	2,00
	47 35.2	6,67	2,48		3,05
	48 36.2	6,05	1,64	7,86	2,26
	49 13.3	3,79	1,36	4,98	0,40
	50 14.3		1,70	3,52	1,15
	51 15.3	3,64	0,46	4,84	0,46
	52 16.3	3,25	0,96	4,44	0,45
	53 17.3	3,80	0,82	4,97	1,86
	54 18.3	3,56	1,72		0,18
	55 19.3	3,41	0,64		0,81
	56 20.3	3,80	1,50	6,06	1,31
	57 21.3	4,26	0,68	6,95	1,59
	58 22.3	4,26	0,76	5,50	1,82
	59 23.3	4,95	0,44	4,65	0,60
	60 24.3	3,88	0,52	5,66	1,49
	61 25.3	3,38	1,66	4,76	0,95
	62 26.3	2,95	0,28	4,61	1,98
	63 27.3	3,25	0,70	4,77	0,47
	64 28.3	2,72	0,30	4,60	1,07
	65 29.3	3,71	0,60	2,94	0,98
	66 30.3	2,94	0,28	5,62	1,09
	67 31.3	3,73	0,36	3,74	0,87
	68 32.3	3,95	0,18	4,32	1,28
	69 33.3	3,95	1,00		1,81
	70 34.3	2,79	0,22	4,65	1,86
	71 35.3	4,49	-0,04	5,28	1,21
	72 36.3	2,94	0,54	6,27	1,17
	73 3.1	0,08	0,10	0,10	0,31
	74 3.2	0,08	0,34		-0,07
	75 3.3	0,15	0,34		0,08
	76 4.1	0,00	0,22	0,06	0,26
	77 4.2	0,08	0,38	0,00	-0,10
	78 4.3	0,15	0,40	0,10	0,02
	79 5.1	0,00	0,30	0,03	0,12
	80 5.2	0,15	0,24	0,10	0,07
	81 5.3	0,08	0,34	0,13	0,08
	82 7.1	0,15	0,22	0,07	0,11
	83 7.2	0,08	0,16		-0,14
	84 7.3	0,15	0,20	0,10	-0,03
	85 8.1	0,15	0,38	0,06	-0,07
	86 8.2	0,15	0,24	0,06	0,26
	87 8.3	0,00	0,36	0,00	0,37

Verschlüsselung	Probe	Ergebnis TMR	Ergebnis LPM	Ergebnis CLSM	Ergebnis mod. Knoop
87	8.3	0,00	0,36	0,00	0,37
88	10.1	0,08	0,46	0,19	-0,09
89	10.2	0,15	0,28	0,09	-0,04
90	10.3	0,15	0,06	0,10	0,01
91	11.1	0,15	0,32	0,11	-0,36
92	11.2	0,15	0,06	0,00	0,06
93	11.3	0,00	0,14	0,19	-0,14
94	12.1	0,15	0,10	0,10	0,21
95	12.2	0,08	0,50	0,13	0,64
96	12.3	0,00	0,24	0,00	-0,13

### Exemplarische Darstellung aller angewandten Messmethoden

Die dargestellten Messergebnisse stammen alle von der gleichen bovinen Dentinprobe!

#### CLSM:

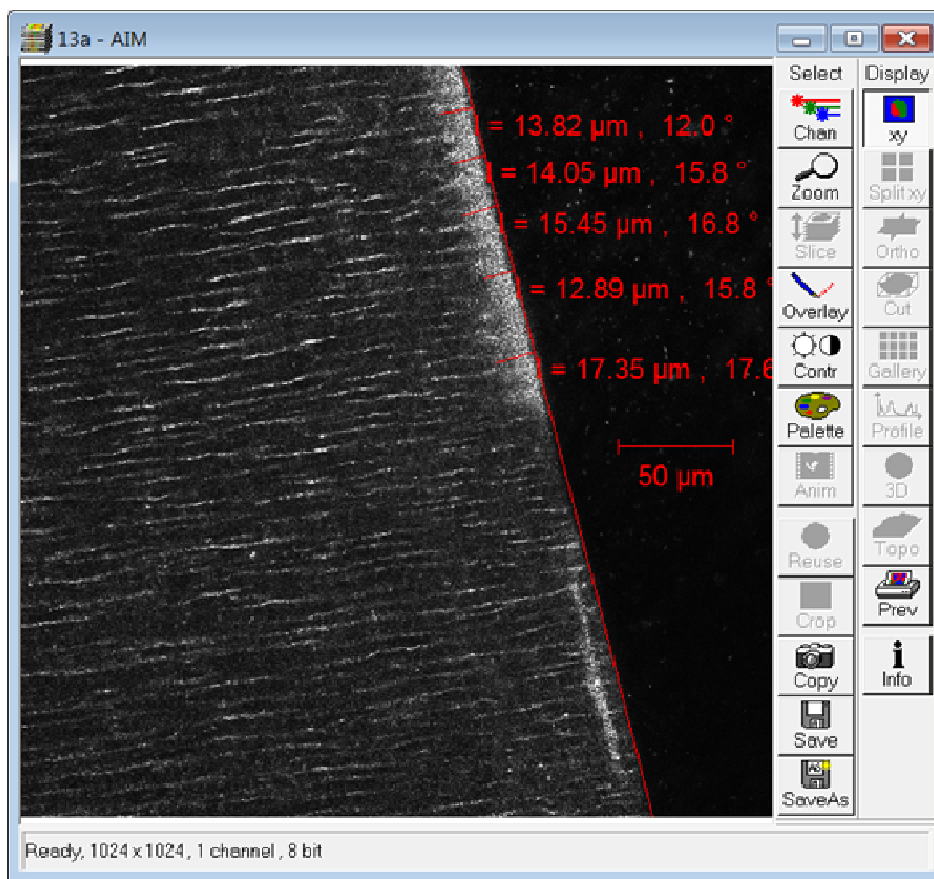


Abb.47 CLSM Bild mit Vermessung

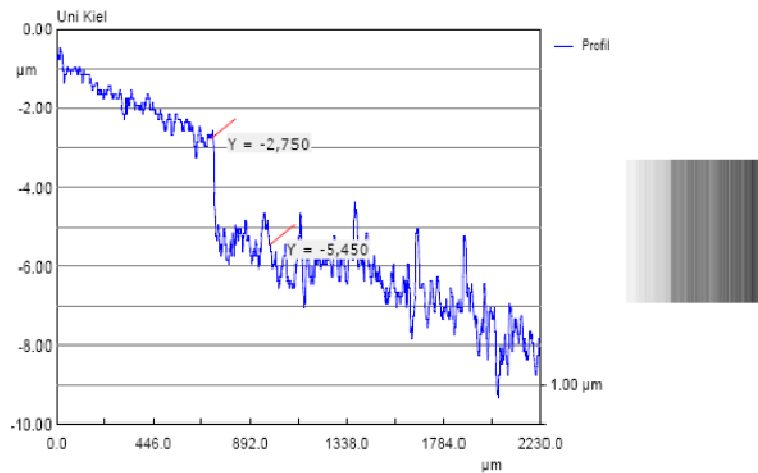
## Laserprofilometer:

Messprotokoll

**nanofocus**  
see more

Beschreibung -

Messbedingungen  
 Sensor - CP I/II      Geschwindigkeit - 1.0 mm/s  
 Sensor Abtastrate - 1000 Hz      Messlänge - 0,001 mm  
 Messtyp - Profil      Auflösung - 0,1000 mm  
 Profilrichtung - Extern      Punkte - 0



Profilparameter	Profilwerte
Länge = 2,230 mm	X: 711µm Y: -2,750µm
Punkte = 2229	X: 966µm Y: -5,450µm
Punkte/mm = 1000	
Minimum = -9,450 µm	
Maximum = -0,450 µm	
Differenz = 9,000 µm	
Mittelwert = -4,948 µm	
Standardabw. = 2,310 µm	

Abb.48 linearer Laserprofilometer Scan mit Vermessung

## Modifizierte Knoophärte:

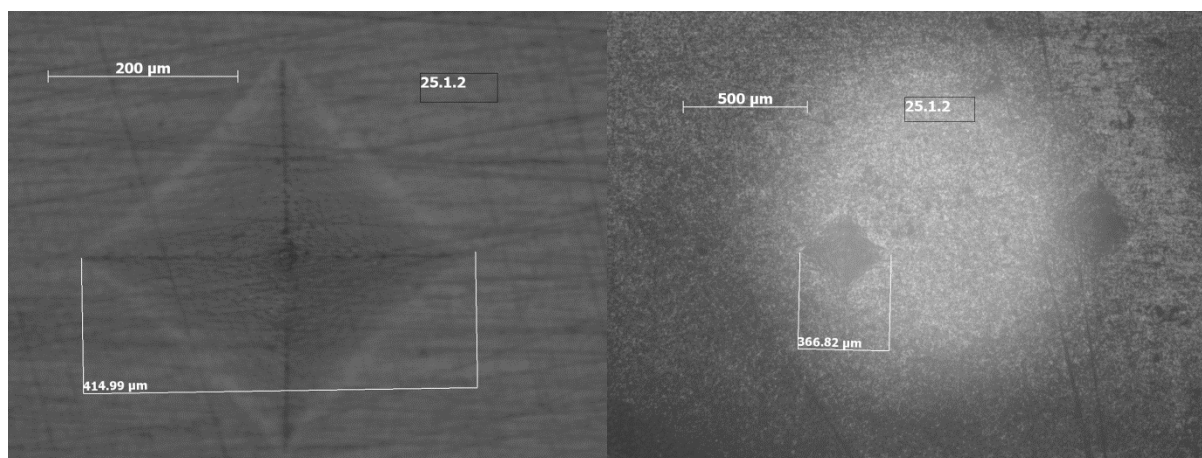


Abb.49 Auflichtfotographien der mod. Knoophärteimpressionen vor und nach Erosion

Transversale Mikroradiographie:

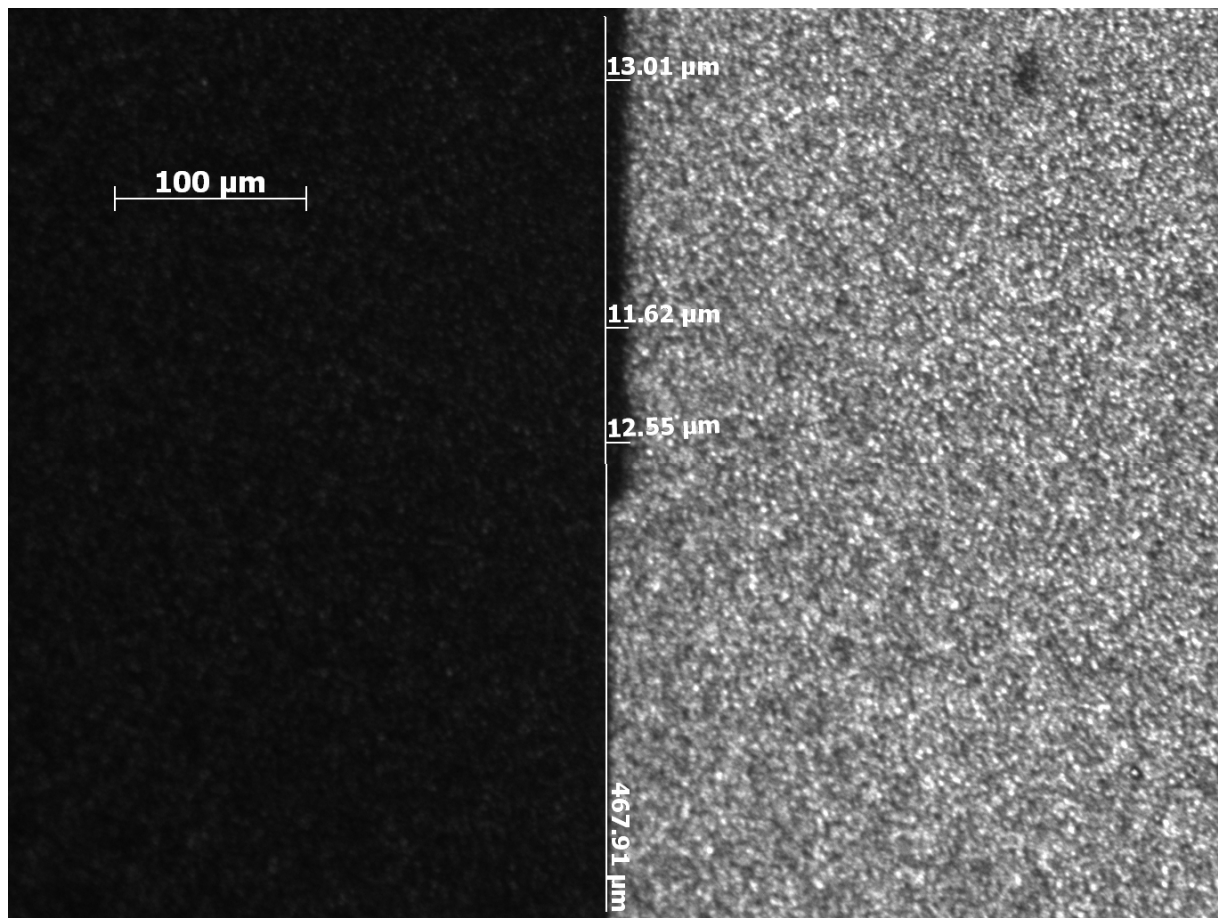


Abb.50 digitalisierte transversale Mikroradiographie mit Vermessung

## **Liste der verwendeten Abkürzungen**

RDA-Wert: relative (od. radioactive) dentine abrasivity

TMR: Transversale Mikroradiographie

LPM: Laserprofilometrie

CLSM: Convocal Laser Scanning Mikroskope

GDA Lösung: Glutaraldehyde Lösung

NaOCl: Natriumhypochlorit

Mod. Knoophärtemessung: modifizierte Knoophärtemessung

KOH: Kaliumhydroxid

HCl: Salzsäure

CCD Kamera: charge-coupled-device Kamera

Cu Anode: Kupfer Anode

ANOVA: zweifaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung

REM: Rasterelektronenmikroskop

LMR: longitudinale Mikroradiographie