

**In-vitro-Erosion von menschlichen Milchzähnen verursacht durch
Zitronensäure, vergleichend gemessen mit Profilometer und
konfokalem Laser Scanning Mikroskop**

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Katrin Flemming

geboren am 06.03.1981 in Karl-Marx-Stadt, jetzt Chemnitz

Gutachter:

Prof. Dr. med dent. Eike Glockmann

Poliklinik für Konservierende Zahnheilkunde des Universitätsklinikums Jena,
Friedrich-Schiller-Universität Jena

Prof. Dr. rer. nat. Dipl.-Phys. Klaus D. Jandt

Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

Prof. Dr. med. dent. Hans-Günter Schaller

Poliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie des Universitätsklinikums
Halle (Saale), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Datum der Verteidigung: 01.12.2009

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	
Tabellenverzeichnis	
Abkürzungs- und Symbolverzeichnis.....	
1 Zusammenfassung	1
2 Einleitung	3
2.1 Anatomie des Zahnes.....	6
2.1.1 Makroanatomie des bleibenden Zahnes	6
2.1.2 Makroanatomie des Milchzahnes	8
2.1.3 Mikroanatomie und Zusammensetzung des Zahnschmelzes.....	
bleibender Zähne	9
2.1.4 Besonderheiten von Mikroanatomie und Zusammensetzung des	
Zahnschmelzes von Milchzähnen.....	13
2.1.5 Mikroanatomie von Dentin und Pulpa	14
2.2 Verlust von Zahnhartsubstanz	15
2.2.1 Erosion.....	15
2.2.2 Dentale Abrasionen	17
2.2.3 Karies.....	18
2.3 Literaturüberblick Erosion.....	19
2.3.1 Profilometrie.....	21
2.3.2 Konfokale Laser Scanning Mikroskopie (CLSM).....	22
2.3.3 Andere Messverfahren.....	22
2.3.4 Studien mit Milchzähnen.....	24
2.4 Messgeräte	25
2.4.1 Profilometer	25
2.4.2 Konfokales Laser Scanning Mikroskop	26
3 Zielstellung	29
4 Materialien und Methoden.....	30
4.1 Akquirieren und Erfassen der Zähne	30
4.2 Probenpräparation.....	30
4.3 Verwendete Chemikalien	33

Inhaltsverzeichnis

4.4 Versuchsablauf	34
4.5 Messungen am Profilometer	35
4.6 Messungen am konfokalen Laser Scanning Mikroskop.....	35
4.7 Statistik	36
5 Ergebnisse.....	37
6 Diskussion	54
6.1 Versuchsaufbau	54
6.1.1 Probenmaterial und Probenvorbereitung für den Erosionsversuch	54
6.1.2 Erosionserzeugung	57
6.1.3 Messmethoden	59
6.2 Diskussion der Ergebnisse.....	62
7 Schlussfolgerungen.....	66
Literaturverzeichnis	68
Anhang	78
Danksagung	82
Ehrenwörtliche Erklärung.....	83

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	Pro-Kopf-Verbrauch von Erfrischungsgetränken 2005.....	
	nach Getränkearten (AFG-Markt 2005).	4
Abb. 2:	Makroanatomie eines bleibenden Zahnes (Schumacher 1997, S. 275).....	6
Abb. 3:	Topographie der Zahngewebe (Schumacher 1997, S. 295).....	7
Abb. 4:	Spezifische Schmelzstrukturen (Schumacher 1997, S. 301).....	10
Abb. 5:	Modelldarstellungen der Schmelzprismen (Schumacher 1997, S. 299).....	11
Abb. 6:	SEM-Aufnahmen der Schmelzoberfläche bleibender Zähne nach.....	
	Säurebehandlung (Helmich 2003).	20
Abb. 7:	Profilometer Form Talysurf der Firma Taylor Hobson,	
	Foto: Katrin Flemming.	25
Abb. 8:	Skizze Diamantspitze des Profilometers (Katrin Flemming).	25
Abb. 9:	LSM 510 META der Firma Carl Zeiss, Institut für Materialwissenschaft.....	
	und Werkstofftechnologie, FSU Jena, Foto: Katrin Flemming.....	27
Abb. 10:	LSM 510 META der Firma Carl Zeiss, Aufbau und Strahlengang,.....	
	aus Prospekt Mikroskopie von Carl Zeiss.	27
Abb. 11:	Diamantsäge Isomet low speed saw der Firma Buehler, Institut für.....	
	Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie, FSU Jena,.....	
	Foto: Katrin Flemming.	31
Abb. 12:	Skizze einer fertigen Milchzahnprobe (Katrin Flemming).....	32
Abb. 13:	Eingebettete Milchzahnprobe, fertig zur Politur, Foto: Katrin Flemming. .	32
Abb. 14:	Poliermaschine Phoenix 4000 der Firma Buehler, Institut für	
	Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie, FSU Jena,.....	
	Foto: Katrin Flemming.	32
Abb. 15:	Übersicht über den Getränkekonsum der Kinder.	37
Abb. 16:	Oberflächenrauigkeit vor Erosion, dargestellt mit R_q	38
Abb. 17:	Gesamthöhe des Primärprofils P_t nach Erosion mit 0,3%iger.....	
	Zitronensäure (pH 3,2) ermittelt mit Profilometer und CLSM.....	
	in Abhängigkeit von der Erosionszeit.....	39

Abbildungsverzeichnis

Abb. 18:	Aufnahme mit Profilometer nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Primärprofil.....	40
Abb. 19:	Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Primärprofil parallel zur sichtbaren Messspur des Profilometers.	41
Abb. 20:	3D-Aufnahme (schwarz-weiß) mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2).	42
Abb. 21:	3D-Aufnahme (farbig) mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2).	43
Abb. 22:	Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Tiefe der Profilometermessspur, vom Prismenzentrum aus gemessen.	44
Abb. 23:	Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Tiefe der Profilometermessspur, von der Prismenperipherie aus gemessen.	45
Abb. 24:	Tiefe der Profilometermessspur, ermittelt mit CLSM, vom Prismenzentrum und von der Prismenperipherie aus gemessen.	46
Abb. 25:	Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Primärprofil in der sichtbaren Messspur des Profilometers.	48
Abb. 26:	Gesamthöhe P_t des Primärprofils nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit Profilometer und CLSM. in Abhängigkeit von der Erosionszeit; zusätzlich zu Abb. 16: Werte in der Profilometermessspur, ermittelt mit CLSM.	49
Abb. 27:	Volumenverlust nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) in Abhängigkeit von der Erosionszeit, ermittelt mit CLSM.	51
Abb. 28:	Oberflächenrauigkeit, dargestellt mit R_q , vor und nach Erosion mit destilliertem Wasser in Abhängigkeit von der Erosionszeit, ermittelt mit Profilometer und CLSM.	53
Abb. 29:	Quadratischer Mittenrauhwert (Hommelwerke GmbH 2002).	80
Abb. 30:	Oberflächenprofile – Gesamthöhe des Profils (Hommelwerke GmbH 2002).	80

Tabellenverzeichnis

Tab. 1:	Profilometer Form Talysurf der Firma Taylor Hobson, technische Daten..	26
Tab. 2:	LSM 510 META der Firma Carl Zeiss, technische Daten.	28
Tab. 3:	Mittelwerte für R_q [μm] und Standardabweichungen vor Erosion, ermittelt mit Profilometer und CLSM.	38
Tab. 4:	Mittelwerte für P_t [μm] und Standardabweichungen nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit Profilometer und CLSM...	39
Tab. 5:	Mittelwerte und Standardabweichungen der Tiefe der..... Profilometermessspur (Spurtiefe) [μm] nach Erosion mit 0,3%iger..... Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit CLSM, vom Prismenzentrum und von der Prismenperipherie aus gemessen.	46
Tab. 6:	Mittelwerte für P_t [μm] und Standardabweichungen nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit Profilometer und CLSM..... in Abhängigkeit von der Erosionszeit; zusätzlich zu Tab. 4: Werte..... in der Profilometermessspur, ermittelt mit CLSM.	49
Tab. 7:	Mittelwerte für den Volumenverlust [μm^3] und Standardabweichungen..... nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit CLSM...	50
Tab. 8:	Mittelwerte für R_q [μm] und Standardabweichungen vor und nach..... Erosion mit destilliertem Wasser, ermittelt mit Profilometer und CLSM...	52

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

A	numerische Apertur
AFM	atomic force microscope = Atomkraftmikroskop
CLSM	confocal laser scanning microscope = konfokales Laser Scanning Mikroskop
d	Abstand zwischen zwei Punkten (betrifft Auflösungsvermögen eines Objektivs)
g	Gramm
GERD	gastro esophageal reflux disease = Refluxkrankheit
λ_c	Grenzwellenlänge (charakterisiert das Filter, das zur Trennung der Welligkeit vom Rauheitsprofil verwendet wird)
μm	Mikrometer
min	Minute
mg	Milligramm
mN	Millinewton
n	Brechzahl des Mediums zwischen Präparat und Frontlinse des Objektivs (betrifft numerische Apertur)
nm	Nanometer
p	kritische Irrtumswahrscheinlichkeit, Signifikanzniveau
PBS-Lösung	phosphate buffered saline = Phosphat gepufferte Kochsalzlösung
P_t	Gesamthöhe des Primärprofils = Erosionstiefe
R_a	arithmetischer Mittenrauwert
R_q	quadratischer Mittenrauwert
σ	halber Öffnungswinkel des Objektivs (betrifft numerische Apertur)
s	Standardabweichung des Stichprobenumfanges
sek.	Sekunde
SEM	Scanning Elektronenmikroskop
U/min	Umdrehungen pro Minute

Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

VH	Vickershärte
$V_m(z)$	Material volume at a given height
wt%	Gewichtsprozent
x	Mittelwert des Stichprobenumfangs
$X \times Y \times Z$	die drei Dimensionen des Raumes (betrifft CLSM-Messungen)

1 Zusammenfassung

Erosion ist ein irreversibler Verlust von Zahnhartsubstanz durch Kontakt mit extrinsischen und/oder intrinsischen Säuren, definiert als chemische Auflösung von Zahnhartsubstanzen ohne Beteiligung von Bakterien, die sowohl Milchzähne als auch bleibende Zähne betrifft. Als Darstellungs- und Messverfahren von Erosion und Erosionstiefen wurden bisher sowohl die Profilometrie als mechanische Methode als auch das wesentlich genauere Verfahren der Atomkraftmikroskopie (AFM) genutzt. Das konfokale Laser Scanning Mikroskop (CLSM) scheint ebenfalls geeignet, Substanzverlust durch Erosion darzustellen und zu quantifizieren. Das Verfahren wird in dieser In-vitro-Studie im Vergleich zur Profilometrie angewandt, um Erosionstiefen an Milchzähnen zu messen.

Aus Milchfrontzähnen wurden 45 Proben hergestellt, die Oberflächen poliert und in 3 Gruppen mit jeweils 10 Proben und 3 Gruppen mit jeweils 5 Proben aufgeteilt.

Vor den Erosionsversuchen wurde der quadratische Mittenrauwert (R_q) mit Profilometer und CLSM ermittelt. Anschließend wurden auf der Labialseite der Proben abgeklebte Fenster von ca. $1 \text{ bis } 1,5 \times 2 \text{ mm}$ Größe mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) 10, 20 und 30 Minuten erodiert. Die Kontrollgruppen wurden 10, 20 und 30 Minuten mit destilliertem Wasser behandelt. Mittels Profilometrie und konfokaler Laser Scanning Mikroskopie wurden Erosionsprofile erstellt und die Gesamthöhe des Primärprofils (P_t = Erosionstiefe) ermittelt. Diese lag bei den Profilometermessungen nach 10 Minuten Erosion bei $3,27 \pm 0,62 \mu\text{m}$, nach 20 Minuten Erosion bei $5,85 \pm 1,04 \mu\text{m}$ und nach 30 Minuten Erosion bei $9,31 \pm 0,81 \mu\text{m}$. Bei den Messungen mit CLSM wurden Erosionstiefen nach 10 Minuten Erosion von $3,30 \pm 0,58 \mu\text{m}$, nach 20 Minuten Erosion von $5,16 \pm 0,93 \mu\text{m}$ und nach 30 Minuten Erosion von $8,36 \pm 1,23 \mu\text{m}$ ermittelt. Destilliertes Wasser verursachte keine Erosion. Hier wurde erneut der quadratische Mittenrauwert (R_q) mittels Profilometrie und CLSM ermittelt.

Mittels CLSM wurden zusätzlich die Tiefe der Profilometermessspur und die Volumenverluste nach 10, 20 und 30 Minuten Erosion ermittelt.

Die Ergebnisse zeigen einen signifikanten Substanzverlust nach 10, 20 und 30 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2). Je länger die Erosionszeit, desto größer

ist die Erosionstiefe bei beiden Messgeräten bzw. der Volumenverlust bei CLSM. Ebenso erhöht sich die Streuung der Messwerte um den Mittelwert bei beiden Messgeräten. Die Unterschiede der Messwerte zwischen Profilometer und CLSM waren mit ansteigender Einwirkzeit der Säure ausgeprägter. Das Profilometer hinterlässt Spuren auf den erodierten Bereichen. Die Oberfläche wird eingeebnet und es kommt schließlich zum Kollaps der erweichten Schmelzoberfläche. Je länger die Erosionszeit, desto tiefer ist die Profilometermessspur.

Statistische Analysen zeigen nach 10 Minuten Erosion keine signifikanten Unterschiede der Messwerte für P_t zwischen Profilometer und CLSM. Aufgrund der großen Streuung der Messwerte nach 20 und 30 Minuten Erosion können nur im t-Test signifikante Unterschiede festgestellt werden. Signifikante Unterschiede zwischen den Tiefen der Profilometermessspuren in Abhängigkeit von der Erosionszeit und den Volumenverlusten in Abhängigkeit von der Erosionszeit sind nachweisbar.

Es gibt keine signifikanten Unterschiede der Varianzen von R_q vor und nach dem Erosionsversuch mit Wasser bei beiden Messgeräten.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlussfolgert werden, dass die konfokale Laser Scanning Mikroskopie im Gegensatz zur Profilometrie ein geeigneteres Verfahren zur Ermittlung der Erosionstiefen und Volumenverluste auf durch Säureeinwirkung erweichten Oberflächen darstellt.

Es wird vorgeschlagen, in weiteren In-vitro- als auch In-situ-Studien zum Vergleich Weisheitszahnproben zu verwenden. Um möglichst frühe Stadien der Erosion nachzuweisen, ist eine weitere Reduktion der Erosionszeiten anzustreben.

2 Einleitung

Erosionen sind pathologische, chronische Zahnhartsubstanzverluste, die durch Säuren ohne Beteiligung von Mikroorganismen hervorgerufen werden. Sie gehören zu den nicht kariesbedingten destruktiven Prozessen an Schmelz, Dentin und Zement und sind abzugrenzen von Abrasionen, Demastikationen und Attritionen.

Der kritische pH-Wert für erosive Defekte liegt bei 4 bis 4,5. Die Läsionen sind in der Regel schmerzlos und werden oft erst wahrgenommen, wenn es bereits zu erheblichen Verlusten der Zahnhartsubstanz oder zu Farbveränderungen durch das durchscheinende Dentin gekommen ist.

Die Prävalenz erosiver Zahnhartsubstanzverluste hat in den zurückliegenden Jahren stark zugenommen. Bei Erwachsenen liegt die Prävalenz bei etwa 11 Prozent. Hauptsächlich betroffen sind jedoch Jugendliche und Kinder. Hier hat sich die Prävalenz in letzter Zeit fast verdoppelt. Zeigen Kinder im Alter von durchschnittlich zehn Jahren zu etwa 95 Prozent keine Anzeichen von Erosionen, so sind es fünf Jahre später nur noch durchschnittlich 77 Prozent. Darüber hinaus weisen Patienten mit säurebedingten Defekten im Milchgebiss ein deutlich höheres Risiko für Erosionen im bleibenden Gebiss auf als Patienten ohne Erosionen in der ersten Dentition (Bekes 2006).

Die Säureexposition hat u. a. ihre Ursache im exzessiven Genuss von säurehaltigen Erfrischungsgetränken, wie Fruchtsaft-, Sportgetränken und Limonaden (z. B. Cola). Der erosive Charakter dieser Getränke hängt von verschiedenen Faktoren ab. Neben dem pH-Wert und der Art der Säure spielt die Pufferkapazität, der Phosphat-, Calcium- und Fluoridgehalt eine wichtige Rolle.

Bei den enthaltenen Säuren handelt es sich vor allem um Zitronensäure. Aber auch Phosphorsäure, Ascorbinsäure und Kohlensäure kommen in solchen Softdrinks vor.

Der pH-Wert von Softdrinks liegt bei 2,4 bis 4,0. Ihr Säuregehalt ist damit 100.000-mal höher als der von reinem Wasser. Kohlensäurehaltige Getränke hinterlassen eine Restsäure im Mund, die den natürlichen Basis-pH-Wert des Speichels senkt (Muthmann et al. 2007).

Die Abbildung 1 zeigt den Pro-Kopf-Verbrauch von Erfrischungsgetränken 2005 in Deutschland. Zwischen 2001 und 2005 ist vor allem der Konsum von Brausen und sonstigen Erfrischungsgetränken (+27 %) sowie von Cola und Cola-Mischgetränken (+9,0 %) angestiegen (Schroeder et al. 2005).

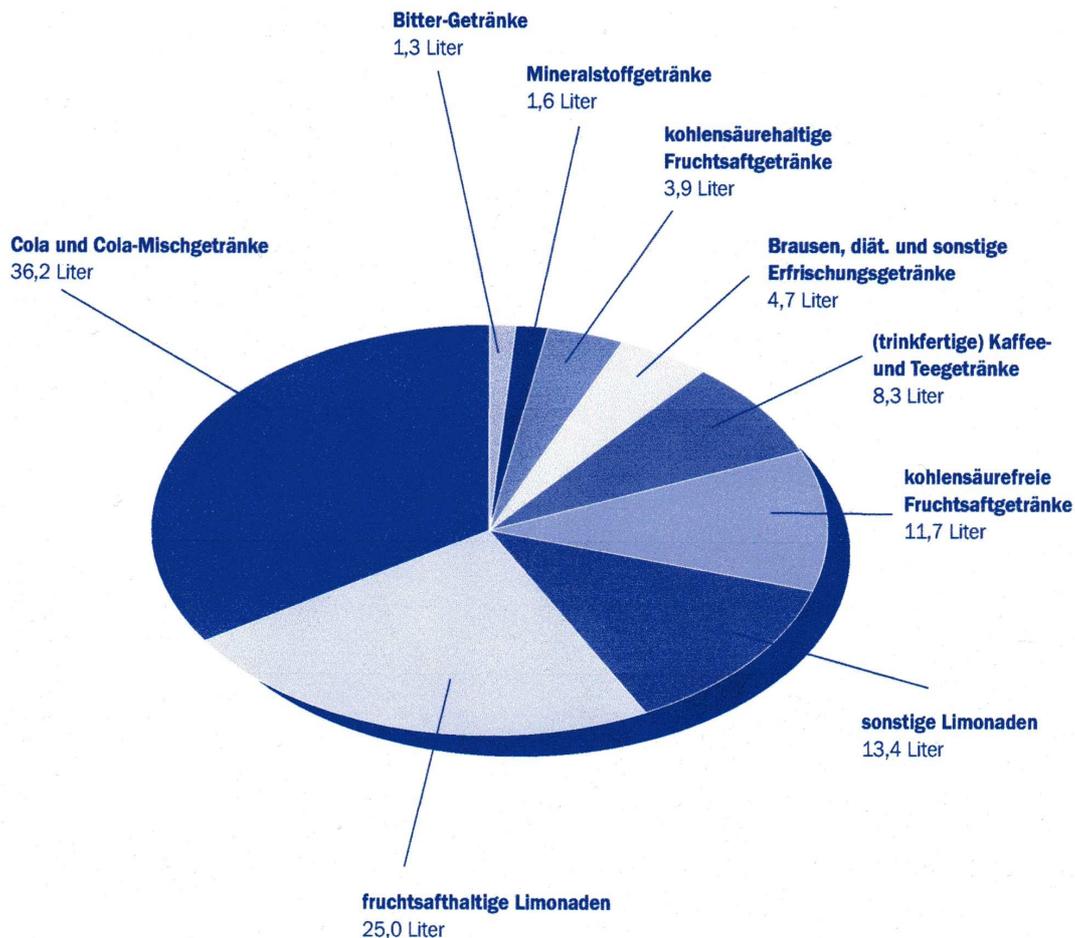


Abb. 1: Pro-Kopf-Verbrauch von Erfrischungsgetränken 2005 nach Getränkearten (AFG-Markt 2005).

In der Literatur werden In-vitro-Versuche beschrieben, um Schmelzerosionen zu messen, z. B. Rytomaa et al. und Rugg-Gunn et al. (1988), Hughes et al. und West et al. (1998 bis 2001), Hunter et al. (2000), Fontana et al. (1996), Gonzales-Cabezas et al. und Iijima et al. (1998).

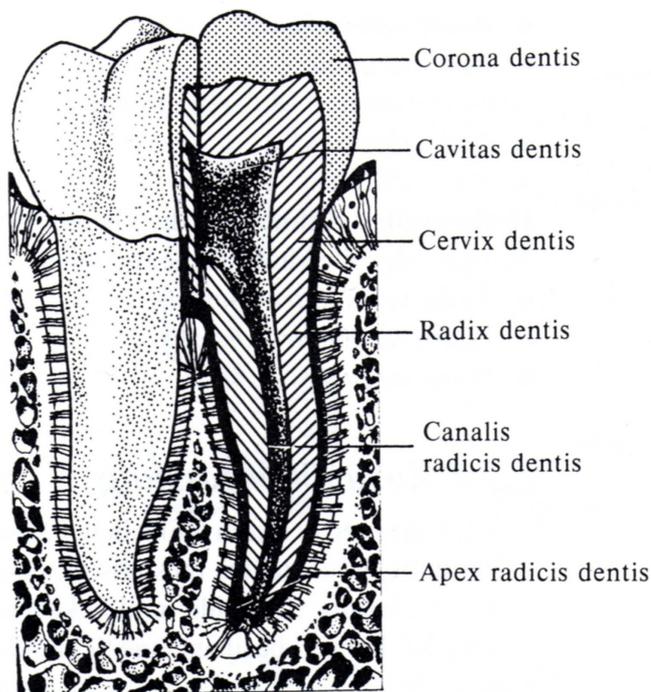
Traditionell wird zur Messung von Schmelzerosionen ein mechanisches System zur Oberflächenerfassung genutzt, die Profilometrie. Dabei wird der Höhenunterschied zwischen einem nicht erodierten Referenzbereich und einem erodierten Bereich der Schmelzproben gemessen. Der Nachteil besteht darin, dass die durch Erosion erweichte Schmelzoberfläche beim Abtasten kollabieren kann. Dadurch werden möglicherweise größere Schmelzverluste gemessen, als real erfolgt sind.

In dieser Arbeit soll zur Erfassung von Schmelzverlusten das traditionelle Messverfahren der Profilometrie mit dem Messverfahren der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie (CLSM) verglichen werden. Da es sich bei der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie um ein optisches System zur Oberflächenerfassung handelt, werden genauere Messergebnisse zur Erosionstiefe erwartet. Eventuell kann der Kollaps der erweichten Schmelzoberfläche nachgewiesen werden.

2.1 Anatomie des Zahnes

2.1.1 Makroanatomie des bleibenden Zahnes

Jeder Zahn besitzt eine Zahnkrone (Corona dentis), sowie eine oder mehrere Zahnwurzeln (Radix dentis). Zahnkrone und Zahnwurzel sind durch den Zahnhals (Cervix dentis) miteinander verbunden, der etwa der Schmelz-Zement-Grenze entspricht. Im Inneren des Zahns befindet sich ein Hohlraum (Cavitas dentis), der das Zahnmark (Pulpa dentis) enthält (vgl. Abb. 2).



Zahn mit Zahnhalteapparat

Abb. 2: Makroanatomie eines bleibenden Zahnes (Schumacher 1997, S. 275).

Der menschliche Zahn besteht aus Hart- und Weichgeweben. Zahnhartgewebe sind der Zahnschmelz (Enamelum), das Zahnbein (Dentinum) und das Zahnzement (Cementum). Zahnweichgewebe sind das Zahnmark (Pulpa dentis), sowie einige Gewebe des Zahnhalteapparates. Der Zahnhalteapparat (Parodontium = Periodontium) verbindet den Zahn gelenkig mit dem Kiefer. Zum Parodontium gehören Gingiva, Ligamentum parodontale, Zahnzement und Os alveolare. Zwischen Zahnzement und Os alveolare liegt der Parodontalspalt (vgl. Abb. 3).

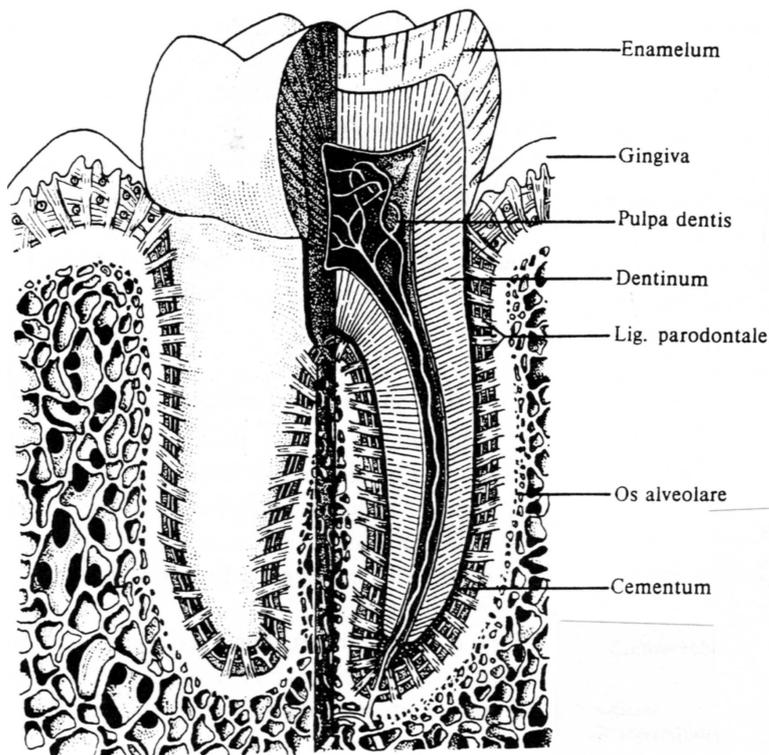


Abb. 3: Topographie der Zahngewebe (Schumacher 1997, S. 295).

Der Mensch besitzt 28 bleibende Zähne (ohne Weisheitszähne). Jeder Zahn hat eine durch seine Funktion geprägte Form und Größe. Mit der Vergrößerung der Zahnkronen ist auch eine Vermehrung der Wurzeln verbunden. Zwei benachbarte Zähne berühren sich an ihren Kontaktpunkten, diese haben für die Biostatik der Zahnreihen besondere Bedeutung, weil sie Druck- und Schubkräfte gleichmäßig verteilen. Zur Unterscheidung von Zähnen beider Seiten dienen Bogen-, Winkel- und Wurzelmerkmal. Die Farbe der Zähne wird durch die des Dentins und den Transparenzgrad des Schmelzes bestimmt. Bleibende Zähne unterliegen einem mechanischen Verschleiß durch Abschleife (dentale Abrasionen). (Schumacher 1997, S. 274 ff.)

2.1.2 Makroanatomie des Milchzahnes

Die Milchzähne stellen die erste Zahngeneration beim Menschen dar. Im 6. Lebensjahr, teilweise schon im 5. Lebensjahr, beginnt der Zahnwechsel, bei welchem die Milchzähne durch bleibende Zähne (Ersatzzähne) ersetzt werden und Zusatzzähne durchbrechen.

Die Makroanatomie der Milchzähne entspricht im Wesentlichen der der bleibenden Zähne. Zwischen Milchzähnen und bleibenden Zähnen bestehen u. a. folgende Unterschiede:

- Die Anzahl der Milchzähne beträgt 20.
- Die Milchzähne haben eine kürzere Lebensdauer als die bleibenden Zähne.
- Der Farbton von Milchzähnen ist porzellanartig weiß.
- Milchzähne sind in allen Dimensionen kleiner als die entsprechenden bleibenden Zähne.
- Die Milchzahnkronen sind relativ breit, sie weisen einen ausgeprägten cervicalen Schmelzwulst auf.
- Die Milchzahnkronen unterliegen einer schnelleren Abnutzung.
- Die Pulpahöhle von Milchzähnen ist relativ groß.
- An Milchzähnen ist das Wurzelmerkmal im Allgemeinen schwächer ausgebildet als bei den bleibenden Zähnen.
- Die Milchzahnwurzeln der Frontzähne sind vestibulär abgebogen und die der Milchmolaren stärker gespreizt. (Schumacher 1997, S. 350)

2.1.3 Mikroanatomie und Zusammensetzung des Zahnschmelzes bleibender Zähne

Der menschliche Zahnschmelz (Synonym Enamelum oder Substantia adamantina) ist ein durchscheinender Überzug der Zahnkrone, wodurch er deren Form bestimmt. Er ist eine von den Ameloblasten gebildete Substanz. Mit einem Mineralgehalt von 95 wt% ist er das am stärksten mineralisierte Gewebe des menschlichen Körpers und mit einer Vickershärte von 300 bis 400 VH das härteste Zellprodukt des menschlichen Organismus. Er ist wenig elastisch und zugfest. Seine Abriebfestigkeit ist geringer als diejenige keramischer Massen. Nach Abschluss seiner Bildung und Mineralisation stellt er zum Zeitpunkt der Eruption kein Gewebe mehr dar. Sein Aufbau ist kristallin.

Chemisch handelt es sich um Hydroxylapatit, eine Calcium-Phosphat-Mineralisation mit zusätzlicher Beteiligung von Carbonaten und anderen Bestandteilen. Daraus ergibt sich eine spezifische Zusammensetzung aus Wasser, organischer Substanz der Matrix und Elementen der Mineralisation (Gängler 1995, S. 43).

Während der Schmelzbildung beginnt mit der Keimbildung der Apatitkristalle sehr rasch die Mineralisation. Die schmelzbildenden Ameloblasten bündeln während ihrer zentrifugalen Migration im glockenförmigen Stadium der Zahnentwicklung die Schmelzkristallite zu einem Schmelzprisma. Die Umrisse der Schmelzprismen werden beim Anätzen durch Säure deutlich und ergeben ein retentives Relief, welches große Bedeutung für die Befestigung adhäsiver Füllungswerkstoffe in der Zahnmedizin hat. Die Ameloblastenbewegung bedingt den wellenförmigen Verlauf der Schmelzprismen und damit deren große Härte. Aufbau und Anordnung der Schmelzprismen werden durch die Kristallite des ausgereiften Zahnschmelzes bestimmt. Diese Kristallite sind große hexagonale Apatitstäbe von $25 \times 40 \times 160$ nm (Dicke \times Breite \times Länge). Die Prismen haben einen Prismenstabdurchmesser von 3 bis 6 μ m (Finke et al. 2000).

Der Wechsel im Prismenverlauf unterliegt einer gewissen Rhythmik, wodurch es zu engen Verflechtungen der Schmelzprismen untereinander sowie zur optischen Erscheinung der Hunter-Schreger-Streifen kommt.

Andere Effekte sind die Retzius-Linien, die durch plötzliche Veränderung der Mineraldichte und -zusammensetzung des Schmelzes hervorgerufen werden und an der Schmelzoberfläche in den Perikymatien enden. Sie weisen auf ein rhythmisches Wachstum während der Schmelzbildung hin. Ein besonders ausgeprägter Retzius-Streifen ist der Geburtsstreifen (Neonatallinie), der bei den Milchzähnen und am

mesiobuccalen Höcker des ersten bleibenden Molaren zu finden ist. Abbildung 4 zeigt diese spezifischen Schmelzstrukturen.

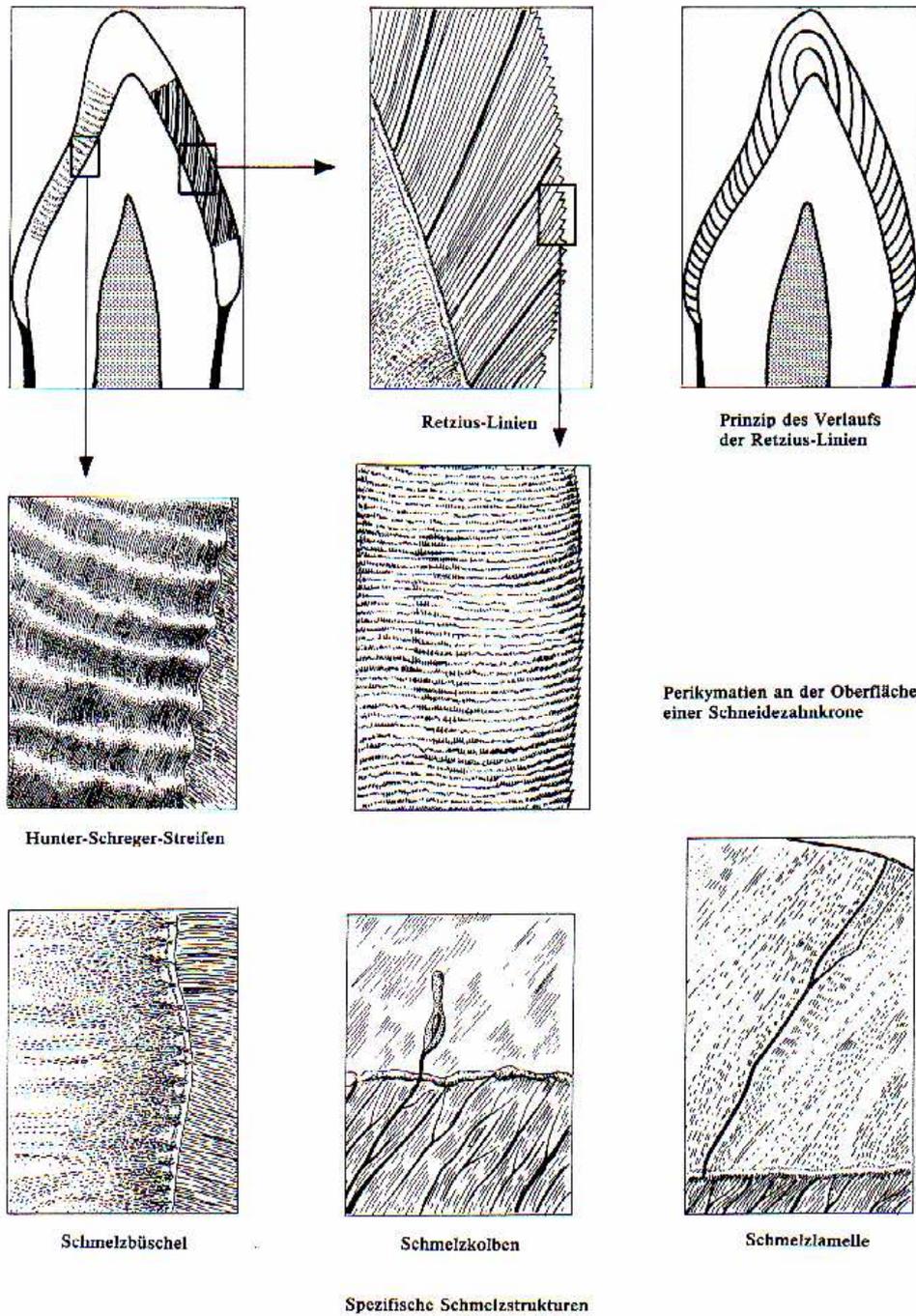
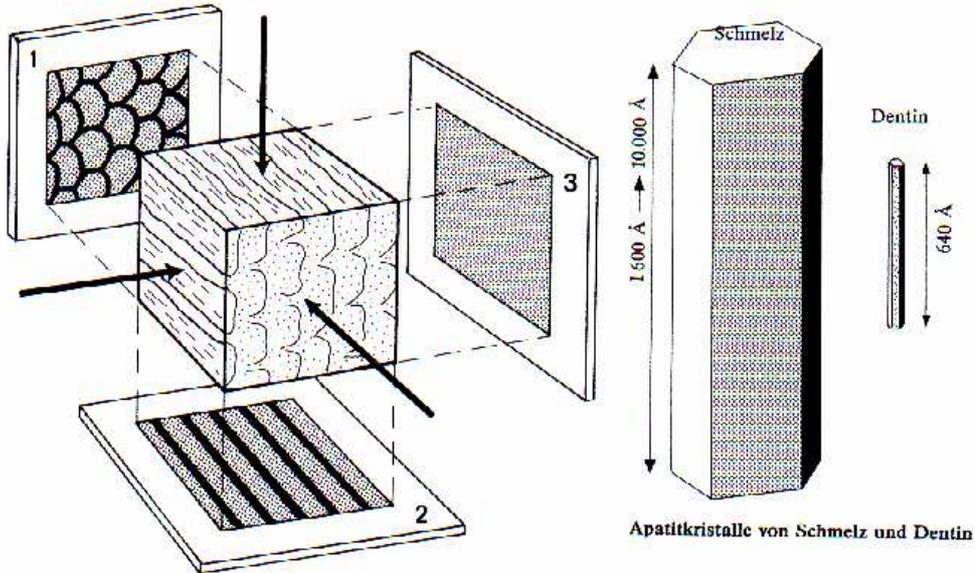


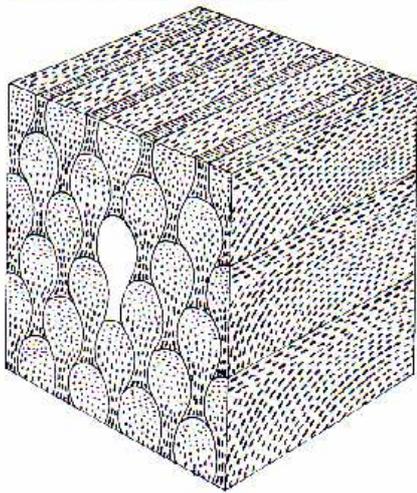
Abb. 4: Spezifische Schmelzstrukturen (Schumacher 1997, S. 301).

Nach dem Aussehen der Querschnitte der Schmelzprismen unterscheidet man zwei Haupttypen, den Schlüsselloch- und den Pferdehuftyp (vgl. Abb. 5). Das Modell des

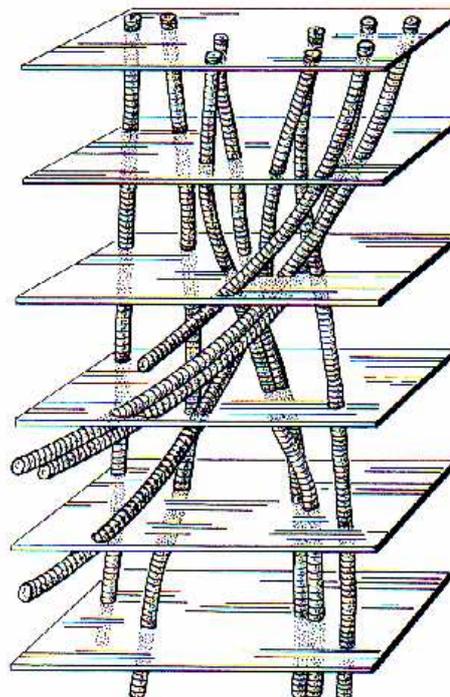
Schlüssellochtyps wurde von Meckel et al. (1965) entwickelt. Dabei hat der Kopf des Prismas einen Durchmesser von $5\ \mu\text{m}$ und der Bart eine Höhe von $9\ \mu\text{m}$. Zwischen den Köpfen zweier Prismen liegt der Bartteil eines oberen Prismas.



Strukturmodell menschlicher Schmelzprismen mit seinen Projektionen auf das mikroradiographische Bild (nach J. E. Glas, M. U. Nysten 1965)



Schlüssellochmodell der Schmelzprismen mit eingezeichneter Lagerung der Apatitkristalle (nach A. H. Meckel, W. J. Griebstein, R. J. Neal 1965)



Raummodell über den Verlauf der Schmelzprismen beim Rhesusaffen (nach J.-G. Helmcke 1964)

Abb. 5: Modelldarstellungen der Schmelzprismen (Schumacher 1997, S. 299).

Bei allen Milchzähnen und bei 70% der bleibenden Zähne findet man eine prismenlose Schmelzschicht an der Oberfläche mit einer Dicke von 6 bis 220 μm . Die Kristallite liegen hier dicht gepackt parallel zur Oberfläche. Die prismenlose Schmelzschicht ist dichter mineralisiert, härter und enthält mehr Fluorideinlagerungen als der übrige Schmelz (Schumacher 1997, S. 298 f.).

Die Prismen als Organisationsstruktur der Kristallite liegen wiederum eingebettet in einer interprismatischen Substanz, die aber auch aus Apatitkristalliten gebildet wird. Die Kristalle des prismatischen Schmelzes sind parallel angeordnet, während die Kristalle der prismenlosen Schmelzschicht abrupte Änderungen in ihrer Ausrichtung zeigen und mit der Längsachse der Prismen einen Winkel von annähernd 90 Grad bilden (Finke et al.2000).

Schwächer mineralisierte Segmente der Schmelzprismen sind Schmelzbüschel und Schmelzlamellen. Ihr Gehalt an organischen Substanzen ist erhöht, wodurch sie Prädilektionsstellen für Karies darstellen (vgl. Abb. 4). Schmelzkolben sind Erweiterungen von Dentinkanälchen, die bis in den Schmelz reichen (Schumacher 1997).

Chemisch besteht Zahnschmelz zu 95 wt% aus Hydroxylapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$, dabei kann OH^- beim Menschen bis zu etwa 10 % durch F^- ersetzt werden. Es entsteht dann Fluorapatit $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2]$. Phosphat kann zum Teil durch Carbonat substituiert werden. Weiterhin sind kleine Mengen an Natrium (0,6 wt%), Magnesium (0,2 wt%), Kalium (0,03 wt%) und Fluorid (0,01 wt%) enthalten. Oberflächlicher Zahnschmelz hat einen höheren Fluorid- und einen niedrigeren Carbonatanteil als darunter liegende Schichten. Die genaue Zusammensetzung variiert zwischen einzelnen Zähnen, zwischen verschiedenen Teilen desselben Zahnes und sogar zwischen Zentrum und Peripherie desselben Schmelzprismas (Finke et al.2000). Zahnschmelz ist also nicht nur in seiner Mikrostruktur, sondern auch in seiner chemischen Zusammensetzung inhomogen.

2.1.4 Besonderheiten von Mikroanatomie und Zusammensetzung des Zahnschmelzes von Milchzähnen

Der Zahnschmelz von bleibenden Zähnen und Milchzähnen unterscheidet sich nicht in seiner chemischen Zusammensetzung in Bezug auf Calcium, Natrium und Carbonat (Naujoks et al. 1967). Der Schmelz von Milchzähnen ist nur halb so dick wie der bleibender Zähne und die Schmelzprismen sind etwa 2 μm schmaler (Mortimer 1970). Auch bei Milchzähnen kommt es durch plötzliche Veränderung der Mineraldichte und -zusammensetzung des Schmelzes zur optischen Erscheinung der Retzius-Linien, von denen der Geburtsstreifen (Neonatallinie) bei den Milchzähnen besonders ausgeprägt ist. Im Gegensatz zu bleibenden Zähnen weisen alle Milchzähne eine oberflächliche prismenlose Schmelzschicht auf (ca. 30 bis 220 μm). Die Apatitkristalle des prismenlosen Schmelzes verlaufen parallel zueinander und senkrecht zur Peripherie. Tiefer liegende Schmelzschichten zeigen eher ein Aufspreizen der Kristallorientierung (Gwinnett 1966). Die aprismatischen Schmelzbereiche weisen eine stärkere Mineralisierung als prismatischer Schmelz auf (Robinson et al. 1995). Die Kristallorientierung des prismatischen Schmelzes kann sich an den Grenzen der Prismen abrupt ändern. Dadurch und durch die unterschiedlichen Anteile von interprismatischer Substanz und prismatischem Schmelz entstehen schwächere, geringer mineralisierte Schmelzebenen (Paulson 1981). Der Anteil an interprismatischem Schmelz und die Häufigkeit von Prismenverzweigungen sind im Schmelz von Milchzähnen größer, wodurch dieser weniger säureresistent als der Schmelz von bleibenden Zähnen ist (Shellis 1984). Läsionen schreiten etwa 1,5-mal schneller voran als im bleibenden Schmelz (Featherstone und Mellberg 1981).

2.1.5 Mikroanatomie von Dentin und Pulpa

Das Dentin besteht aus einer mineralisierten organischen Matrix, die vorwiegend kollagene Fibrillen enthält. Seine markantesten Strukturen sind die Dentinkanälchen, welche die Odontoblastenfortsätze enthalten. Der Volumenanteil der Odontoblastenfortsätze ist im pulpenahen Dentin wesentlich größer als in der Peripherie. Auf 1 mm² Dentinoberfläche kommen ca. 40.000 Odontoblastenfortsätze.

Im Gegensatz zum Zahnschmelz ist das Dentin regenerationsfähig (Schumacher 1997, S. 308).

Die Zahnpulpa liegt in der Pulpahöhle (Cavitas dentis), man unterscheidet eine Kronen- und Wurzelpulpa. Die Aufgaben der Pulpa bestehen in der Dentinbildung, Ernährung und Innervation des Zahnes sowie in der Abwehr infektiöser Erreger oder körperfremder Stoffe. Das Pulpengewebe ist mit lockerem Bindegewebe vergleichbar, dessen fixe Zellen Pulpozyten genannt werden. Die spezifischen Zellen sind die Odontoblasten, die ihren Fortsatz in das Dentin entlassen. Im Pulpengewebe finden sich außer Nerven und Gefäßen freie Bindegewebszellen sowie undifferenzierte mesenchymale Ersatzzellen, die sich in Odontoblasten umwandeln können (Schumacher 1997, S. 314).

2.2 Verlust von Zahnhartsubstanz

2.2.1 Erosion

Erosion ist definiert als chemische Auflösung von Zahnhartsubstanzen ohne Beteiligung von Bakterien. Durch direkte und häufige Säureeinwirkung kommt es zu einer flächenhaften Demineralisation der Schmelzoberfläche. Der Zahnhartsubstanzverlust verläuft meist schmerzlos. Im fortgeschrittenen Stadium der Erosion kommt es zur Dentinbeteiligung und schließlich zur irreversiblen Schädigung der Pulpa (Pindborg 1970, Schweizer-Hirt et al. 1978, Hotz 1987). Die Erosion stellt eine häufige chemische Reaktion in der Mundhöhle dar. Der irreversible Verlust von Zahnhartsubstanz entsteht durch Kontakt mit extrinsischen und/oder intrinsischen Säuren und schreitet ausgeprägter und schneller voran als bei Karies (Larsen 1973). Die Prävalenz der dentalen Erosion hängt mit der Frequenz der Aufnahme von sauren Substanzen aus der Nahrung zusammen (Millward et al. 1994).

Die häufigsten Ursachen für dentale Erosion sind der exzessive Konsum säurehaltiger Nahrungsmittel und Getränke, Erkrankungen wie Bulimie oder gastrooesophageale Refluxkrankheit, sowie berufsbedingt auftretende Erosionen z. B. bei Weinverkostern oder Industriearbeitern in Batteriefabriken.

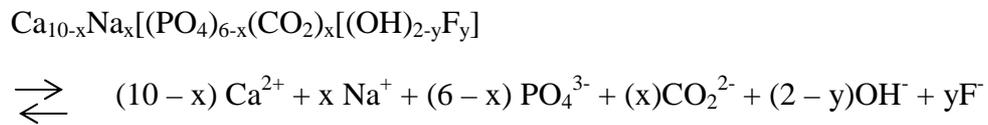
Der ungehinderte Säureangriff erfolgt meist in einem vorbildlich gepflegten Gebiss an den labialen Frontzahnflächen und führt zu flächenhaften Defekten. Charakteristisch ist der Erhalt eines gingivalen Schmelzsaumes, das freiliegende Dentin ist riefig. Die Erosion wird durch Zyklen mit rauer (Demineralisation) und glatter (Remineralisation) Schmelzoberfläche klinisch manifestiert. Phasen der Progression werden von stagnierenden Phasen abgelöst (Gängler 1995).

Makroskopisch werden Erosionen nach der Klassifizierung nach Eccles (1979) in drei Klassen eingeteilt:

- Klasse I: oberflächliche Läsionen, ausschließlich im Schmelz.
- Klasse II: lokalisierte Läsionen mit Dentinbeteiligung. Das Dentin liegt zu weniger als ein Drittel der Zahnfläche frei.
- Klasse III: generalisierte Läsionen. Das Dentin liegt zu mehr als ein Drittel der Zahnfläche frei.

Die Hauptkomponenten des Zahnschmelzes, welche die Löslichkeit durch Säuren beeinflussen, sind das Fluorid und das Carbonat. Fluorid setzt die Löslichkeit herab während Carbonat die Löslichkeit steigert. Ein Anteil von 4 bis 5 wt% Carbonat kann die Löslichkeit von Hydroxylapatit verdoppeln (Nelson 1983). Die negativen Auswirkungen der Substitution von Phosphat durch Carbonat kann durch die Substitution von Calcium durch Natrium kompensiert werden (Shellis et al. 1999).

Während der Erosionsreaktion dissoziiert Hydroxylapatit zu Calcium-, Phosphat-, Carbonat- und Hydroxid-Ionen. Fluorapatit dissoziiert zu Calcium-, Phosphat-, Carbonat- und Fluorid-Ionen.



mit $0,3 \leq x \leq 0,6$ und $0 \leq y \leq 0,3$ (Finke et al. 2000).

2.2.2 Dentale Abrasionen

Zahnschmelz und Dentin unterliegen einem mechanischen Verschleiß durch Abschleife. Man unterscheidet 3 Formen dentaler Abrasionen, die Demastikation, Attrition und artifizielle Abrasion.

Unter Demastikation versteht man die Abnutzung der Zahnkronen durch die Schleifkraft der Nahrung. Sie betrifft hauptsächlich die Schneidekanten und Kauflächen (Schumacher 1997, S. 334). Durch die moderne Ernährung findet die Demastikation meist nicht mehr statt. Dafür sind pathologische Abrasionsfolgen bei Zahnputzdefekten, bei Parafunktionen und Bruxismus häufiger geworden (Gängler 1995, S. 48 f.).

Als Attrition bezeichnet man Abschleife, die durch Reibkontakte antagonistischer Bereiche entstehen, z. B. bei Parafunktionen. Sie betrifft den inzisalen, okklusalen und approximalen Schmelz. Durch die vertikale Abrasion verkleinert sich der mesiodistale Kronendurchmesser und es entstehen scharf begrenzte, spiegelglatte Schliffacetten. Eine Lückenbildung wird durch Mesialdrift der Zähne verhindert.

Artifizielle Abrasionen sind Defekte der Zahnhartsubstanzen, die durch Gegenstände verursacht werden. Man findet sie z. B. an den Schneidezahnkanten bei Pfeifenrauchern, Näherinnen oder Tapezierern (Schumacher 1997, S. 334).

Erosionen und Abrasionen können sich überlagern. Der erweichte Schmelz bzw. das erweichte Dentin kann z. B. durch Zähneputzen mit hochabrasiven Pasten flächig abgenutzt werden (Gängler 1997).

2.2.3 Karies

Karies ist die Bezeichnung für spezifische (kariöse) Demineralisationsdefekte der Zahnhartsubstanzen und ihre pathologischen Folgen im Weichgewebe. Die Zahnkaries stellt einen subfiziell am Schmelz beginnenden, anfangs reversiblen Demineralisationsprozess durch pH-Abfall in den organischen Oberflächenschichten im Gefolge bakterieller Vergärung von Mono- und Disacchariden sowie hydrolysierbaren Polysacchariden dar. Die Karies ist infektiöser Natur, da sie durch die Störung des normalen Gleichgewichtes der De- und Remineralisation zwischen Zahnoberfläche und Speichel mit pathogener bakterieller Zahnplaque ausgelöst wird. Es besteht also ein Wechselspiel von superfiziellen bakteriellen und alimentären Säureattacken, subfizieller Läsionsbildung und Remineralisationsschüben. Die Kariesauslösung erfolgt durch wiederholte Säureangriffe, wodurch die Remineralisationsmöglichkeit unterliegt und Bakterien in die subfiziellen Defekte vordringen können (Gängler 1995, S.132 ff.). Die ursächlichen Faktoren der Karies wurden bereits 1889 von Miller in der chemo-parasitären Theorie formuliert: Wirt (Zähne, Speichel), Substrat (Kohlenhydrate), Mikroflora (Bakterien) (Splieth 2002, S.101).

2.3 Literaturüberblick Erosion

1910 wurde erstmals der Unterschied zwischen Karies und Erosion definiert. Beide Vorgänge waren als Ursache für Zahnhartsubstanzverlust bekannt. Erosion wurde als Zahnhartsubstanzverlust, verursacht durch saure Getränke und Nahrungsmittel definiert (Head 1910). Bei der Erosion treffen die Säuren im Gegensatz zur Karies auf saubere Zahnoberflächen. Sie lassen den pH-Wert im Mund rasch unter 4 absinken, der dann aber wieder innerhalb von 1 bis 3 Minuten in den neutralen pH-Wert-Bereich über 6 ansteigt (Imfeld 1983). Bleibt der pH-Wert dauerhaft im sauren Bereich unter 4,5, z. B. bei exzessivem Konsum von säurehaltigen Getränken, kann es zu Zahnerosionen kommen.

Die Löslichkeit von Zahnschmelz ist während der ersten Minuten der Säureeinwirkung am größten (Benedict und Kanthak 1932). Sie ist abhängig von der Konzentration, dem pH-Wert und dem Grad der Calcium- und Phosphatsättigung der Säure (Hay et al. 1962, Theuns et al. 1985 und Barbour et al. 2005). Die Erosionstiefe steigt mit zunehmender Dauer der Säureeinwirkung sowie mit zunehmender Temperatur und zunehmender Strömungsgeschwindigkeit der Säure im In-vitro-Versuch (Eisenburger und Addy 2003). Unterhalb eines pH-Wertes von 2,9 weist Zahnschmelz den niedrigsten Härtegrad auf. Dabei kann eine pH-Wert-Erhöhung über 2,9 den Grad der Erosion nur wenig verringern. Eine Modifikation säurehaltiger Getränke, wie der Zusatz von Calcium, kann das erosive Potential vermindern (Barbour et al. 2003).

Neben dem irreversiblen Substanzverlust kann ein reversibler Substanzverlust festgestellt werden, der sich in einer Erweichung der Schmelzoberfläche äußert. Der erweichte Bereich der Schmelzoberfläche kann durch mechanische Einflüsse wesentlich leichter abgetragen werden (Eisenburger et al. 2003).

Mit Säure behandelte Zahnschmelz zeigt charakteristische Ätzmuster, bei denen entweder das Zentrum der Schmelzprismen bei intakter Peripherie einen Substanzverlust erfährt oder die Peripherie der Schmelzprismen bei intaktem Zentrum erodiert. Auch gemischte Typen sind möglich. Die Unterschiede im Ätzmuster werden durch Variationen der chemischen Zusammensetzung und der Kristallausrichtung begründet (Silverstone et al. 1975).

Abbildung 6 zeigt die Schmelzoberfläche menschlicher retinierter Weisheitszähne nach Säureeinwirkung mit typischer Anordnung der Schmelzprismen nach dem Schlüssellochprinzip und charakteristischem Ätzmuster.

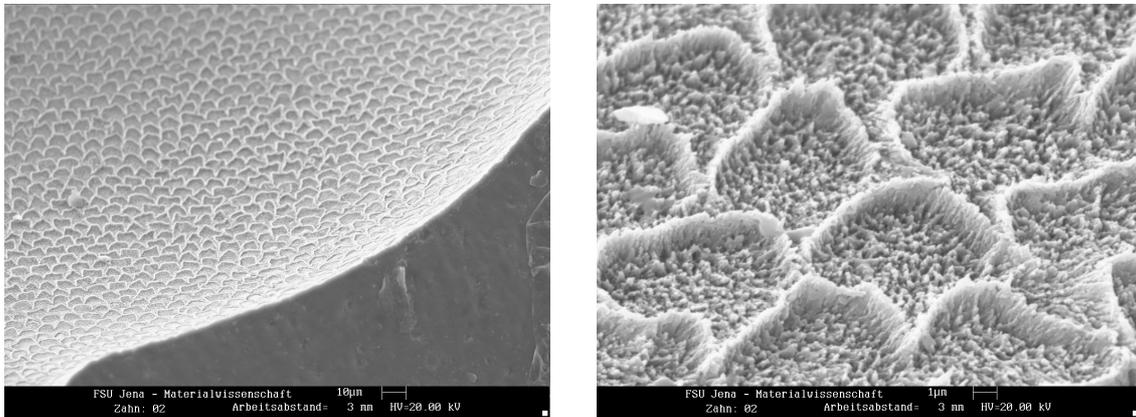


Abb. 6: SEM-Aufnahmen der Schmelzoberfläche bleibender Zähne nach Säurebehandlung (Helmich 2003).

Nach Säureeinwirkung löst sich aus dem prismatischen Schmelz von Menschen zuerst die Schmelzprismenscheide, danach die Prismenzentren und später die interprismatische Schmelzsubstanz. Aprismatischer Schmelz ist resistenter gegen Erosionen (Meurman und Frank 1991). Erosive Läsionen weisen eine sehr unregelmäßige Struktur auf (Meurman und ten Cate 1996).

Der weitere Literaturüberblick erfolgt chronologisch und geordnet nach Messverfahren. Zum Schluss wird ein Überblick über Studien mit Milchzähnen gegeben.

2.3.1 Profilometrie

Die ersten In-vitro-Studien wurden an Rinderzähnen durchgeführt, deren Schmelzoberfläche poliert wurde. Bei langen Erosionszeiten ergaben sich große Erosionstiefen über 20 µm, wobei die Einwirkung von Speichel und von fluoridiertem Speichel die Läsionsbildung nicht verhindern konnte (Rytomaa et al. 1988).

Um die Situation in der Mundhöhle nachvollziehen zu können, wurden Möglichkeiten der Behandlung von Proben aus Rinderzähnen mit Säuren in situ entwickelt. Probanden trugen herausnehmbare Apparaturen, an denen die Proben befestigt waren. Die Proben wurden mit verschiedenen Getränken behandelt, die einen unterschiedlichen pH-Wert und eine unterschiedliche Calciumkonzentration aufwiesen. Die Erosion war geringer, wenn den Getränken Calcium zugesetzt wurde (Rugg-Gunn et al. 1998 und Hooper et al. 2004).

Ende des 20. Jahrhunderts wurde in England ein zahnfreundlicher schwarzer Johannisbeersaft, Ribena toothkind, entwickelt. In mehreren In-vitro- und In-situ-Studien, bei denen menschliche retinierte Weisheitszähne verwendet wurden, konnte nachgewiesen werden, dass dieser Johannisbeersaft weniger Erosion verursacht als Orangensaft. Bei Zusatz von Calcium konnte die Erosionstiefe im Vergleich zum Johannisbeersaft ohne Calcium vermindert werden. In vitro war die Erosionstiefe größer als in situ. Die Positionierung der Proben an der herausnehmbaren Apparatur bei In-situ-Studien, palatinal oder anterior auf der Gaumenplatte, hatte keinen relevanten Einfluss auf die Erosionstiefe (Hughes et al. 1999 und West et al. 1999).

Unter Verwendung des In-situ-Modells wurde die Erosion von menschlichen Milchzähnen mit der Erosion von menschlichen retinierten Weisheitszähnen verglichen. Dabei war die Erosion bei den Milchzähnen größer als bei den bleibenden Zähnen (Hunter et al. 2000).

In weiteren In-vitro-Studien wurde der Einfluss von Temperatur, Art der Säure, Einwirkzeit und pH-Wert untersucht. Dabei wurden Phosphor-, Zitronen-, Milch- und Apfelsäure verwendet. Diverse andere Säurezubereitungen wurden auf pH-Werte von 6 bis 1 gepuffert. Je höher die Temperatur, je länger die Einwirkzeit und je stärker die Konzentration der Säure war, desto ausgeprägter war die Erosion. Phosphorsäure hatte die erosivste Wirkung (West et al. 2000). Aber nicht nur die Art der Säure, sondern

auch der pH-Wert bestimmt das Maß der Erosion bei gleicher Einwirkzeit. Bei pH-Werten zwischen 2 und 3 stieg die Erosion sprunghaft an (West et al. 2001).

In den meisten Studien wurden die Proben des Zahnschmelzes poliert. Bei einem Vergleich der Erosion von polierten Proben und Proben von natürlichem Zahnschmelz zeigten die polierten Proben eine signifikant größere Erosionstiefe (Ganss et al. 2000).

2.3.2 Konfokale Laser Scanning Mikroskopie (CLSM)

Zur Ermittlung reversibler und irreversibler Substanzverluste wurden die Mikroradiographie und die konfokale Laser Scanning Mikroskopie im Fluoreszenzmodus verwendet. Die Proben wurden nach den De- und Remineralisationsversuchen senkrecht zur Oberfläche geschnitten und mit Rhodamin B (Leuchtrot, Fluoreszenz-Farbstoff) behandelt. In Seitenansicht der Proben wurden Röntgenbilder angefertigt und Fluoreszenzmessungen durchgeführt (Fontana et al. 1996, Gonzalez-Cabezas et al. 1998 und Iijima et al. 1998).

Messungen im 3D-Modus, die vergleichbar mit dem Messprinzip des Profilometers wären, wurden bisher nicht durchgeführt.

2.3.3 Andere Messverfahren

Da bei der Behandlung von Schmelzoberflächen mit Säure eine Erweichung der Oberfläche erfolgt, kann über die Messung der Mikrohärtigkeit (z. B. Vickershärtigkeit, Knoophärtigkeit) Erosion quantifiziert werden. In Studien, die dieses Messverfahren verwendeten, wurden die Mikrohärtigkeit und die Tiefe des Eindruckes vor und nach der Erosion gemessen. Die Erosionstiefe wurde aus der Differenz der beiden Messwerte ermittelt (Lussi et al. 1993 und Maupome et al. 1998). Bei anderen Studien wurden zusätzlich zur Messung der Vickershärtigkeit vor und nach der Säureeinwirkung Abrasionsversuche mittels Zahnbürste durchgeführt und anschließend die Abrasionstiefe durch Profilometrie ermittelt. Je länger die Erosionszeit war, desto geringer war die Vickershärtigkeit und desto größer war der Substanzverlust nach den Abrasionsversuchen (Attin et al. 1997).

Weitere Möglichkeiten Erosion darzustellen und zu messen bieten das Atomkraftmikroskop (AFM, atomic force microscope) und die Nanohärtemessung (nanoindentation). Dadurch wird die Messung kleinster Erosionstiefen unter 100 nm ermöglicht, die durch andere Messgeräte wie die Profilometrie nicht ermittelt werden können. Auch die Erosion an natürlichen Zahnoberflächen kann mit AFM dargestellt werden, wobei im Vergleich zu den Studien von Hughes und West von 1999, die polierten Zahnschmelz verwendeten, ein geringerer Materialverlust bei natürlichem Zahnschmelz ermittelt wurde. Mit der Nanohärtemessung konnten sehr geringe Veränderungen in der Oberflächenhärte ermittelt (Parker et al. 1998 und Finke et al. 2000 und 2001), sowie die Vorgänge der De- und Remineralisation von Zahnschmelz mit hoher Genauigkeit untersucht werden (Lippert et al. 2004).

Eine Methode, die der Profilometrie ähnelt, ist die optische Abtastung der Probe mittels non contacting laser profilometer. Eine 2001 durchgeführte Studie verwendete nicht polierte menschliche bleibende Zähne, die über lange Zeit (4 bis 16 Stunden pro Tag, 6 Tage) erodiert wurden. Anschließend wurde die mittlere Oberflächenrauigkeit R_a ermittelt und festgestellt, dass die Rauigkeit nach Demineralisation angestiegen ist (Zhang et al. 2000).

2.3.4 Studien mit Milchzähnen

Gegen Ende der 80er Jahre des 20. Jahrhunderts kamen die ersten Babyfruchtsäfte auf den Markt. Es wurde vermutet, dass diese Getränke säurehaltig sind und deshalb möglicherweise erosiv auf menschlichen Zahnschmelz wirken. Als Folge wurden erste In-vitro-Studien über Erosion an Milchzähnen durchgeführt (Smith und Shaw 1987, Grando et al. 1996), die aber den Substanzverlust nicht quantifizierten, sondern lediglich mittels polarisierter Lichtmikroskopie und SEM darstellten. Weitere klinische Studien registrierten Erosion an Milchzähnen durch Befragung und Untersuchung von Patienten und schlussfolgerten, dass der Grad der Erosion abhängig ist vom Konsum erosiver Nahrungsmittel und Getränke (Asher und Read 1987, Millward et al. 1994 und Shaw et al. 1998).

1999 wurden erste Studien durchgeführt, die den Substanzverlust durch Erosion mit Softdrinks quantifizierten. Erosion an Milchzähnen wurde mit Profilometrie ermittelt und mit der Erosion an bleibenden Zähnen verglichen, wobei die Milchzähne einen größeren Substanzverlust zeigten (Hughes et al. 1999 und Hunter et al. 2000). Eine weitere Studie 2001 bestätigte diese Ergebnisse (Johansson et al. 2001), andere Studien (Lussi et al. 2000 und Lippert et al. 2004) nicht.

Des Weiteren wurden klinische Studien durchgeführt, die sich mit dem Problem der Erosion bei Milchzähnen, auch im Zusammenhang mit sozialen Hintergründen und Erkrankungen wie GERD (gastro esophageal reflux disease = Refluxkrankheit), befassten (Al Dlaigan et al. 2001 und 2002, Ganss et al. 2001, Linnett et al. 2002 und Dahshan et al. 2002).

2.4 Messgeräte

2.4.1 Profilometer

Für die Messungen der Erosionsprofile wurde ein Profilometer der Firma Taylor Hobson Ltd., Ausführung FormTalysurf Serie 2 Laser, verwendet. Das Gerät steht im Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie (Lehrstuhl Oberflächentechnologie) der Friedrich-Schiller-Universität Jena (Abb. 7).

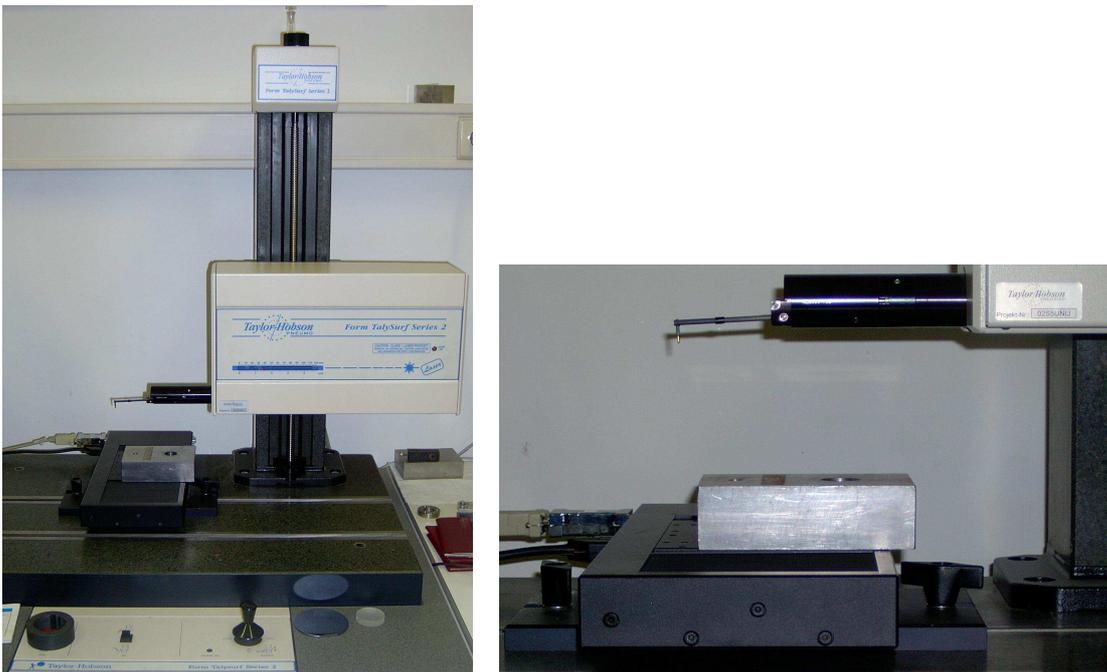


Abb. 7: Profilometer Form Talysurf der Firma Taylor Hobson, Foto: Katrin Flemming.

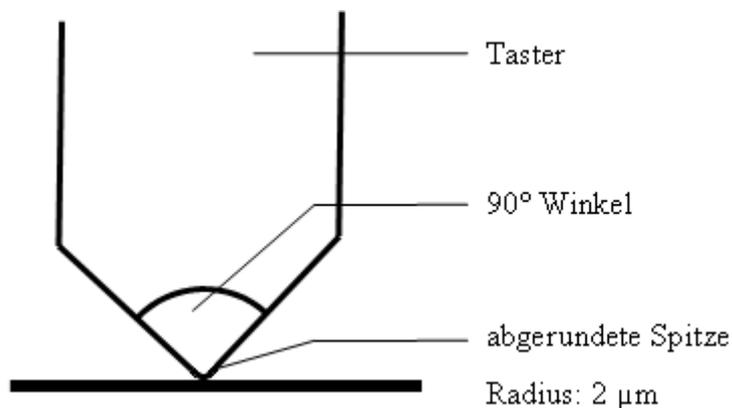


Abb. 8: Skizze Diamantspitze des Profilometers (Katrin Flemming).

Es handelt sich um ein mechanisches (taktiles) System zur Erfassung von Gestaltabweichungen (Rauheit, Welligkeit, Formabweichung) von Oberflächen.

Das Messprinzip besteht darin, dass ein Tastarm mit einem nadelförmigen Tastkörper (Abb. 8) in Kontakt mit der Oberfläche des Messobjektes gebracht und dieses Tastsystem in Richtung der Oberfläche verschoben wird.

Durch die Relativbewegung des Tastsystems in x-Richtung wird der Tastarm entsprechend dem Oberflächenprofil in z-Richtung ausgelenkt. Mit einem interferometrischen Messsystem erfolgt die Umwandlung der Auslenkung in ein elektrisches Signal.

Das Signal $z_i(x_i)$ (linearer Scan) kann dann mit einem Rechner hinsichtlich verschiedener Kriterien ausgewertet werden (Messung von Rauheits-, Welligkeits- und Form-Parametern).

In Tabelle 1 sind die technischen Daten des Profilometers zusammengestellt.

Tab. 1: Profilometer Form Talysurf der Firma Taylor Hobson, technische Daten.

Vorschublänge	120 mm
Vorschubgeschwindigkeit	10 mm/sek. maximal
Messgeschwindigkeiten	1 mm und 0,5 mm/sek.
Auflagekraft	1 mN (100 mg)
Spitzenradius	2 μm
Auflösung:	
x-Richtung	0,25 μm (4 Messpunkte/ μm)
z-Richtung	10 nm

2.4.2 Konfokales Laser Scanning Mikroskop

Für die Messungen der Erosionsprofile wurde ein konfokales Laser Scanning Mikroskop der Firma Carl Zeiss, Ausführung LSM 510 META, verwendet. Das Gerät steht im Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie (Lehrstuhl Materialwissenschaft) der Friedrich-Schiller-Universität Jena (Abb. 9 und 10).

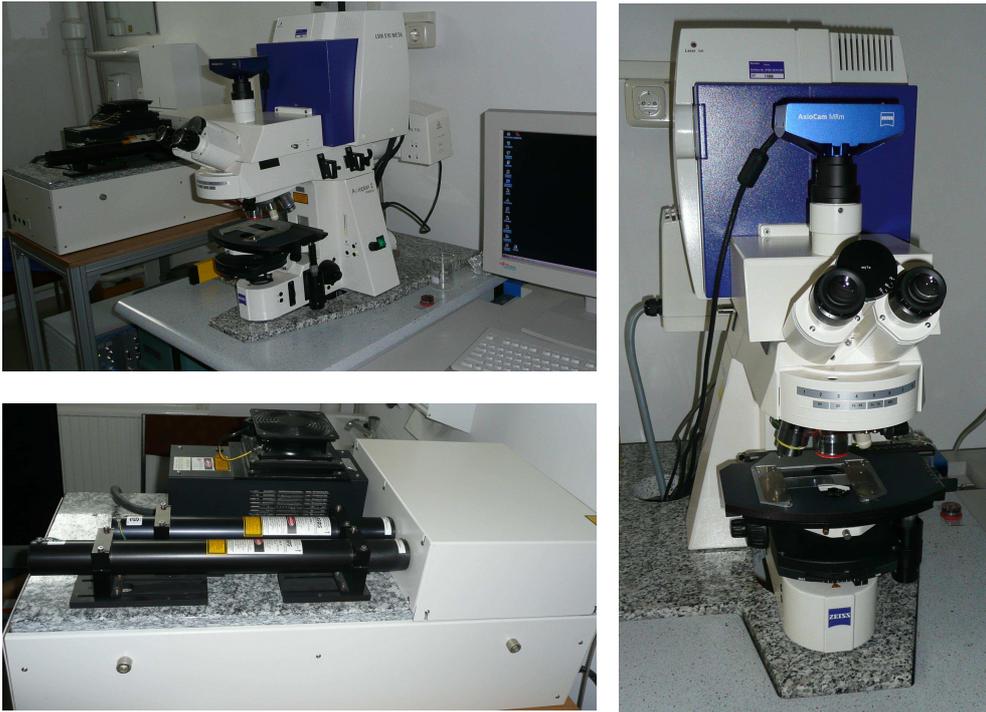


Abb. 9: LSM 510 META der Firma Carl Zeiss, Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie, FSU Jena, Foto: Katrin Flemming.

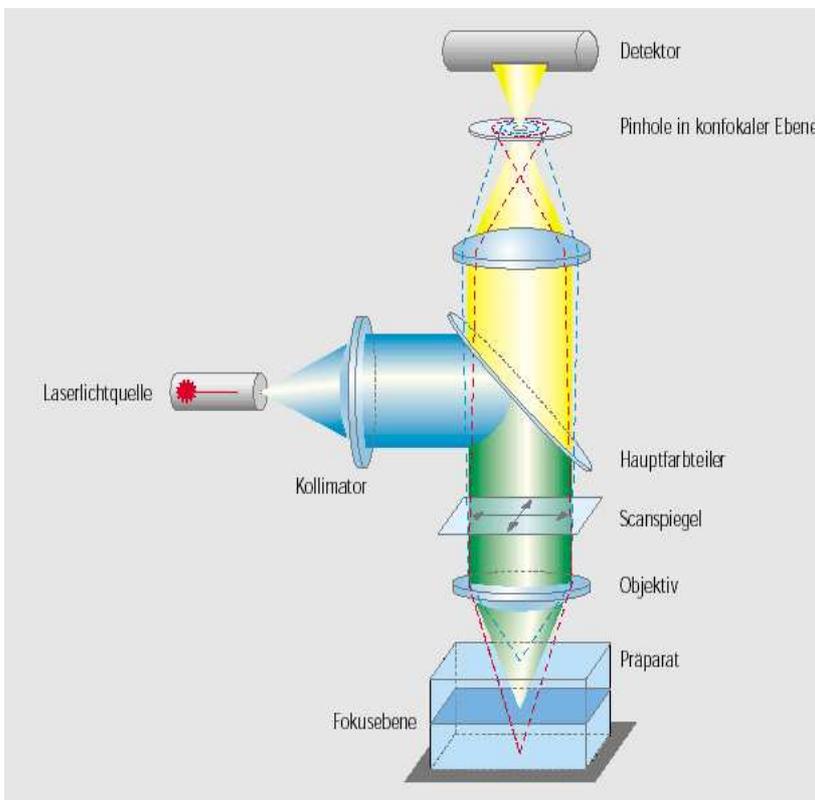


Abb. 10: LSM 510 META der Firma Carl Zeiss, Aufbau und Strahlengang, aus Prospekt Mikroskopie von Carl Zeiss.

Es handelt sich um ein optisches System zur Erfassung von Oberflächen.

Das CLSM findet hauptsächlich Verwendung in der Biologie und Medizin für fluoreszenzmikroskopische Aufgabenstellungen, aber auch in der Materialkunde mit reflexionsmikroskopischen Anwendungen.

Die Proben werden mittels Laser abgetastet. Das von der Probe reflektierte Licht aus einer einzigen Ebene wird zum Detektor weitergeleitet. Alle Strukturen außerhalb der Fokusebene werden durch die konfokale Blende (Pinhole) herausgefiltert. Der Durchmesser der Blende ist variabel und im Idealfall unendlich klein (punktförmige Beobachtung). Der durch punkt- und zeilenweises Abtasten erzeugte optische Schnitt ist ein kontrastreiches, in X, Y und Z hochaufgelöstes Abbild der Probe. Durch schrittweises Verschieben der Fokusebene lassen sich die Bilder zu einem dreidimensionalen Bildstapel (Z-Stapel) zusammensetzen und anschließend digital verarbeiten.

Tabelle 2 gibt einen Überblick über die technischen Daten des konfokalen Laser Scanning Mikrokops.

Tab. 2: LSM 510 META der Firma Carl Zeiss, technische Daten.

Mikroskop:	
Z-Antrieb	kleinste Schrittweite 25 bzw. 50 nm
XY-Tisch	kleinste Schrittweite 1 µm
Scanmodul:	
Scanauflösung	4 x 1 bis 2048 x 2048 Pixel, kontinuierlich einstellbar
Scangeschwindigkeit	13 x 2 Geschwindigkeitsstufen, bis zu 5 Bilder pro Sekunde bei 512 x 512 Pixeln
Scanzoom	0,7x bis 40x, digital in Schritten von 0,1 einstellbar
Pinhole	in Größe und Position individuell einstellbar
Datentiefe	8 bit oder 12 bit wählbar
Laser:	Argonlaser, $\lambda = 488 \text{ nm}$

3 Zielstellung

Ziel der Untersuchung ist es, durch Zitronensäure in vitro erzeugte Erosion am Zahnschmelz menschlicher Milchzähne zu messen. Die aus der Literatur abgeleiteten Hypothesen sollen bestätigt werden.

- 0,3%ige Zitronensäure (pH 3,2) verursacht nach 10, 20 und 30 Minuten Säureexposition eine Erosion des Zahnschmelzes von Milchzähnen.
- Es besteht eine Abhängigkeit der Erosionstiefe von der Erosionszeit: Je länger die Erosionszeit, desto größer ist die Erosionstiefe.
- Das für die Kontrollgruppe verwendete destillierte Wasser verursacht nach 10, 20 und 30 Minuten Exposition keine Erosion des Zahnschmelzes von Milchzähnen.
- Die in vitro erzeugten Erosionstiefen sind sowohl mit dem Profilometer FormTalysurf Serie 2 Laser (Taylor Hobson Ltd.) als auch mit dem konfokalen Laser Scanning Mikroskop LSM 510 META (Carl Zeiss) messbar.
- Es wird erwartet, dass die mit CLSM gemessenen Erosionstiefen geringer sind als die mit Profilometer ermittelten Tiefen.
- Vermutlich kommt es durch die taktile Messung mit dem Profilometer mit einem Tastspitzenradius von 2 μm und einer Auflagekraft von 1 mN (100 mg) zum Kollaps der durch Säureeinwirkung erweichten Schmelzoberfläche.
- Der Taster des Profilometers hinterlässt auf den erodierten Oberflächen bei gleicher Auflagekraft von 1 mN in Abhängigkeit von der Erosionszeit Messspuren unterschiedlicher Tiefe und ebnet die Oberfläche der erodierten Bereiche ein, was mit Hilfe der CLSM-Messungen geprüft werden soll.
- Ziel soll es außerdem sein, einen Ansatz zur Ermittlung von Volumenverlusten nach Säureeinwirkung mit CLSM zu finden.

Nach Auswertung der Messergebnisse gilt es die aufgestellten Hypothesen zu diskutieren.

4 Materialien und Methoden

4.1 Akquirieren und Erfassen der Zähne

In dieser Studie wurden ausgefallene oder vom Zahnarzt extrahierte Milchzähne verwendet. Dazu wurden Kindergärten, Grundschulen, Zahnärzte und Privatpersonen im Bekanntenkreis um Mithilfe gebeten, um eine ausreichende Menge an Milchzähnen zu sammeln. Als Grundlage für die spätere Zuordnung der Proben zu den Kindern wurden ein Anschreiben und ein Fragebogen (siehe Anhang) erarbeitet. Die Erziehungsberechtigten der Kinder haben den Fragebogen ausgefüllt, ihr Einverständnis zur Verwendung der Milchzähne in einer Studie gegeben und kurze Angaben dazu gemacht, wann und wie der Zahn verloren gegangen ist und welche Trinkgewohnheiten ihr Kind hat. Jedem Kind wurde eine Nummer zugeordnet. Waren pro Kind mehrere Zähne vorhanden, wurde jeder Zahn mit der Nummer des zugehörigen Bogens und der dem Zahnschema entsprechenden Bezeichnung benannt (z. B. Bogen 1, Zahn 61 → 1/61). Um den Überblick zu behalten wurde eine Tabelle über Anzahl der Zähne und der daraus gewonnen Proben erstellt.

Die Zähne wurden post extractionem bzw. direkt nach Erhalt in jeweils eigene gekennzeichnete Probengefäße in 12%ige Natriumhypochloritlösung eingelegt, um Bakterien abzutöten und verbliebenes Gewebe abzulösen. Nach 24 Stunden wurde die Natriumhypochloritlösung durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt und die Zähne darin bei Zimmertemperatur gelagert.

Für die Studie wurden nur Milchfrontzähne verwendet.

4.2 Probenpräparation

Da obere Frontzähne eine relativ große labiale Fläche haben, können aus diesen Zähnen in der Regel zwei Proben gewonnen werden. Untere Frontzähne liefern nur eine Probe je Zahn. Dazu wurden die Zähne mit der Restwurzel in ein klares Epoxydharz (Stycast 1266, härtet innerhalb von 16 Stunden aus) in Silikonformen eingebettet, so dass die

Zahnkronen weiter bearbeitet werden konnten. Um Verwechslungen auszuschließen wurde ein Papierstreifen mit der Bezeichnung des Zahns mit eingebettet. Nach frühestens 10 Stunden konnten die gesockelten Zähne aus den Silikonformen entnommen werden und wieder feucht in physiologischer Kochsalzlösung gelagert werden.

Die so vorbereiteten Zähne wurden mit der Diamantsäge Isomet low speed saw der Firma Buehler (Abb. 11) bei niedriger Geschwindigkeit (Auflagegewicht 25 g + 75 g, kurz vor Schnittbeendigung 25 g) der Länge nach geteilt. Jede Einzelprobe des Zahns war nun etwa 2×5 mm groß.



Abb. 11: Diamantsäge Isomet low speed saw der Firma Buehler, Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie, FSU Jena, Foto: Katrin Flemming.

Für eine bessere Handhabung der Proben wurden die gesägten Proben der oberen Milchfrontzähne sowie die unteren Frontzähne einzeln in das Epoxydharz in Silikonformen eingebettet, so dass die Labialflächen sichtbar blieben. Ein Papierstreifen mit der entsprechenden Probenbezeichnung (z. B. 1/61lab1) wurde mit eingebettet. Die Proben hatten danach eine Größe von ca. $5 \times 8 \times 2$ mm (vgl. Abb. 12 und 13). Nach einer Härtezeit von 16 Stunden konnten die Proben aus den Formen entnommen werden und wieder in physiologischer Kochsalzlösung gelagert werden.

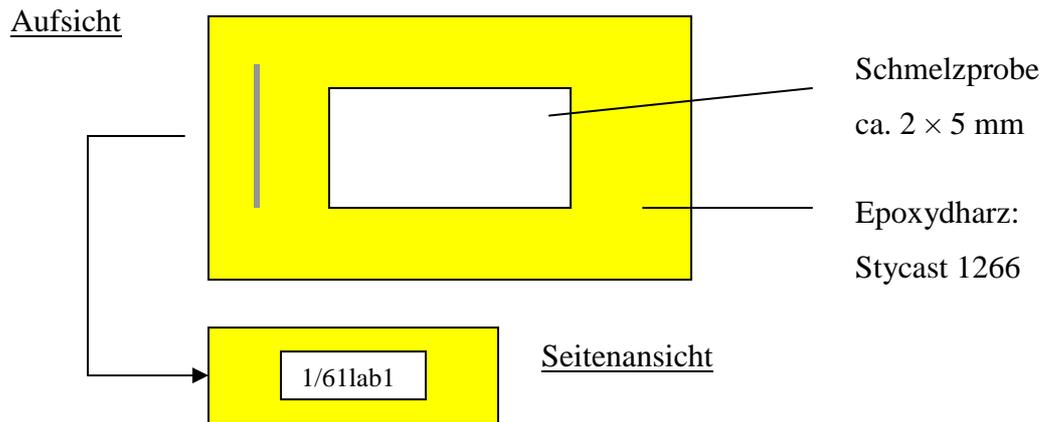


Abb. 12: Skizze einer fertigen Milchzahnprobe (Katrin Flemming).



Abb. 13: Eingebettete Milchzahnprobe, fertig zur Politur, Foto: Katrin Flemming.

Die Labialflächen der fertigen Proben wurden anschließend mit der Poliermaschine Phoenix 4000 der Firma Buehler poliert (vgl. Abb. 14). Dazu wurden möglichst viele Proben auf einen Probenhalter aufgeklebt und gleichzeitig poliert.



Abb. 14: Poliermaschine Phoenix 4000 der Firma Buehler, Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie, FSU Jena, Foto: Katrin Flemming.

Die Politur wurde in folgender Reihenfolge durchgeführt:

- Siliciumcarbid – Nass – Schleifpapier P600 (ca. 26 μm)
- Siliciumcarbid – Nass – Schleifpapier P1200 (ca. 15 μm)
- Siliciumcarbid – Nass – Schleifpapier P2500 (ca. 10 μm)
- Diamantsuspension gelb (6 μm)
- Diamantsuspension, monoklin, grün (3 μm)
- Diamantsuspension, monoklin, blau (1 μm).

Danach wurden die Proben auf Planparallelität geprüft und die Oberflächen mit dem Lichtmikroskop auf Kratzer und durchpolierte Stellen überprüft.

Die Lagerung bis zum Erosionsversuch erfolgte wieder in physiologischer Kochsalzlösung.

4.3 Verwendete Chemikalien

Für den Erosionsversuch wurden folgende Chemikalien verwendet:

- 0,3%ige Zitronensäure gepuffert mit Natriumhydroxid auf einen pH-Wert von 3,2
- destilliertes Wasser für die Kontrollgruppen.

Zum Anmischen der Zitronensäure wurden 0,3 g Zitronensäure-Monohydrat mit destilliertem Wasser auf insgesamt 100 g Lösung aufgefüllt. Es wurde eine für die Erosionsversuche ausreichende Menge 0,3%ige Zitronensäure hergestellt. Zum Puffern der Lösung auf einen pH-Wert von 3,2 wurde 0,1 N Natriumhydroxidlösung hergestellt.

Unter Kontrolle mittels pH-Meter wurde die 0,3%ige Zitronensäure solange mit 0,1 N Natriumhydroxidlösung titriert, bis ein pH-Wert von 3,2 eingestellt war. Die Menge der zugegebenen 0,1 N Natriumhydroxidlösung wurde dokumentiert.

4.4 Versuchsablauf

Aus 45 Milchzahnproben wurden sechs Versuchsgruppen gebildet: drei Gruppen zu je zehn Proben und drei Gruppen zu je fünf Proben. Die Proben wurden nach Probennummern sortiert und nacheinander zugeordnet bis alle Proben verteilt waren. So wurde eine zufällige Verteilung der Proben auf die Versuchsgruppen erreicht.

Vor den Erosionsversuchen wurde von allen Proben der Oberflächenrauheitswert R_q ermittelt. Die Oberflächenrauigkeit sollte bei allen Proben möglichst gleich sein und nicht mehr als $\pm 0,03 \mu\text{m}$ abweichen. Pro Probe wurden zwei dieser Baseline-Messungen sowohl mit Profilometer, als auch mit CLSM durchgeführt.

Für den Erosionsversuch wurden die Proben wie folgt vorbereitet: Die trockenen polierten Oberflächen wurden von zwei Seiten mit wasserfestem Klebeband (Leukoflex[®], BSN medical GmbH & Co.KG) so abgeklebt, dass ein Fenster von ca. 1 bis $1,5 \times 2 \text{ mm}$ Größe für die Erosion übrig blieb. Danach wurden die Proben wieder in physiologische Kochsalzlösung zurückgelegt.

Ein 400 ml Becherglas wurde mit 200 ml 0,3%iger Zitronensäure oder 200 ml destilliertem Wasser gefüllt und auf einen Magnetrührer gestellt. Bei 600 U/min wurde die Zitronensäure bzw. das destillierte Wasser in ständiger Bewegung gehalten. Die Proben einer Versuchsgruppe wurden in einem Sieb liegend eingetaucht und die Zeit gestoppt. So wurden jeweils 10 Proben 10, 20 und 30 Minuten mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) erodiert und jeweils 5 Proben 10, 20 und 30 Minuten mit destilliertem Wasser behandelt. Nach Ablauf der Erosionszeit wurden die Proben aus dem Sieb genommen, mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült, das Klebeband entfernt und die Probenoberflächen luftgetrocknet. Das Erosionsmedium wurde verworfen. Direkt nach der Erosion erfolgten die Messungen mit Profilometer und CLSM.

4.5 Messungen am Profilometer

An jeder Probe wurden zwei parallele Linienscans mit einer Messstreckenlänge von 1,5 mm und einem Abstand von 0,3 mm aufgenommen. Zur Unterdrückung höherfrequenter (kurzwelliger) Signalanteile in den Profilen kam ein Tiefpass (Gauß-Filter, Grenzwellenlänge (Cut off) $\lambda_c = 0,08$ mm) zur Anwendung. Für jeden Linienscan wurde als Wert für die Erosionstiefe die Profiltiefe P_t (Definition siehe Anhang) innerhalb der letzten 0,1 mm der Referenzfläche und der ersten 0,3 mm der erodierten Fläche für die rechte und linke Stufe berechnet. Dadurch ergaben sich für jede Probe vier gemessene Stufenhöhen.

Da bei den mit Wasser behandelten Proben keine Stufenbildung erfolgt ist, wurde erneut der Oberflächenrauheitswert R_q ermittelt (Definition siehe Anhang).

4.6 Messungen am konfokalen Laser Scanning Mikroskop

Jede Probe wurde zunächst im Auflicht betrachtet, der Messbereich ausgesucht und fokussiert. Je Seite wurde ein Messbereich von $90 \mu\text{m} \times 90 \mu\text{m}$, direkt neben der Profilometerspur liegend, festgelegt. Das Objektiv Epiplan Neofluar $100\times / 0,90$ HD DIC wurde verwendet. Danach wurde auf Laser (Argon, 488 nm) umgeschaltet, Auflösung (1024×1024), Scangeschwindigkeit (scan speed 7), Datentiefe (data depth 8 Bit) und Pinhole (0,3 Ary Units) eingestellt, sowie Anfangs- und Endpunkt des Z-Stapels festgelegt. Nacheinander wurden je Probe zwei Z-Stapel aufgenommen. Zur Unterdrückung höherfrequenter (kurzwelliger) Signalanteile in den Profilen kam ein Tiefpass (Gauß-Filter, Grenzwellenlänge (Cut off) $\lambda_c = 250 \mu\text{m} = 0,25$ mm) zur Anwendung. Für jeden Messbereich wurden als Werte für die Erosionstiefe zwei Werte für die Profiltiefe P_t über die gesamte Messbereichslänge von $90 \mu\text{m}$ berechnet (mind. $50 \mu\text{m}$ erodierter Bereich). Dadurch ergaben sich für jede Probe vier gemessene Stufenhöhen.

Da bei den mit Wasser behandelten Proben keine Stufenbildung erfolgt ist, wurde erneut der Oberflächenrauheitswert R_q ermittelt.

4.7 Statistik

Zunächst wurden die Messergebnisse auf Normalverteilung überprüft. Bei symmetrischen Verteilungen fallen Modus, Median und Mittelwert auf den gleichen Wert zusammen. Da die Messergebnisse annähernd normal verteilt sind, konnten einfache statistische Tests durchgeführt werden.

Unter Anwendung der Varianzanalyse (F-Test) wurden die Varianzen der Oberflächenrauigkeit R_q vor und nach dem Erosionsversuch und die Varianzen der Erosionstiefen P_t zwischen beiden Messverfahren verglichen.

In Fällen, in denen im F-Test keine signifikanten Unterschiede festzustellen waren, wurden unter Anwendung des t-Tests die entsprechenden Mittelwerte verglichen.

Ein Unterschied wurde als statistisch signifikant angesehen, wenn die Wahrscheinlichkeit p für sein Auftreten kleiner als oder gleich der kritischen Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % ($p \leq 0,05$) war.

Die Diagramme wurden mit Hilfe von Microsoft Office Excel 2003 erstellt.

5 Ergebnisse

103 Milchzähne von 66 Kindern, davon 43 Mädchen und 23 Jungen im Alter von 5 bis 12 Jahren, wurden in die Studie einbezogen.

Nach Angaben der Erziehungsberechtigten sind 57,5 % der Zähne von allein heraus gefallen, 23,3 % wurden vom Kind selbst gezogen und 19,2 % vom Zahnarzt extrahiert.

Abbildung 15 zeigt den Getränkekonsum nach Angaben der Kinder. Dabei werden Fruchtsäfte mit 22,6 % am häufigsten konsumiert, gefolgt von Milch mit 16,7 % und Tee mit Zucker mit 15,6 %. Wasser landet im Mittelfeld mit 14,5 %.

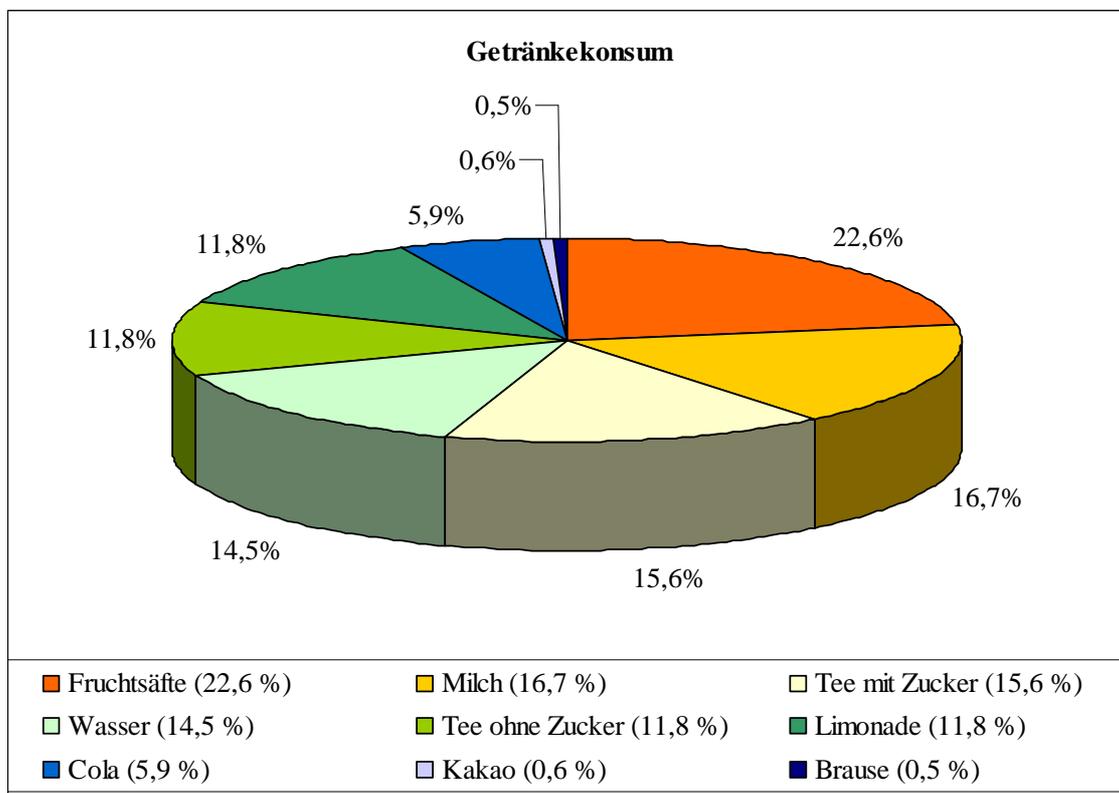


Abb. 15: Übersicht über den Getränkekonsum der Kinder.

Aus den Milchzähnen konnten 135 Proben hergestellt werden, davon 70 aus Frontzähnen und 65 aus Milchmolaren. Nach der Politur der Proben und den Baseline-Messungen wurden einige Proben aussortiert, 45 Frontzahnproben wurden für die Erosionsversuche ausgewählt.

Im Folgenden werden die Messergebnisse an Profilometer und CLSM dargestellt.

Tabelle 3 und Abbildung 16 zeigen die Ergebnisse der Baseline-Messungen am Profilometer und am CLSM, bei denen der Parameter R_q ermittelt wurde.

Tab. 3: Mittelwerte für R_q [μm] und Standardabweichungen vor Erosion, ermittelt mit Profilometer und CLSM.

	Oberflächenrauigkeit R_q [μm]	Standardabweichung s [μm]
Profilometer	0,00812	0,00252
CLSM	0,02507	0,00510

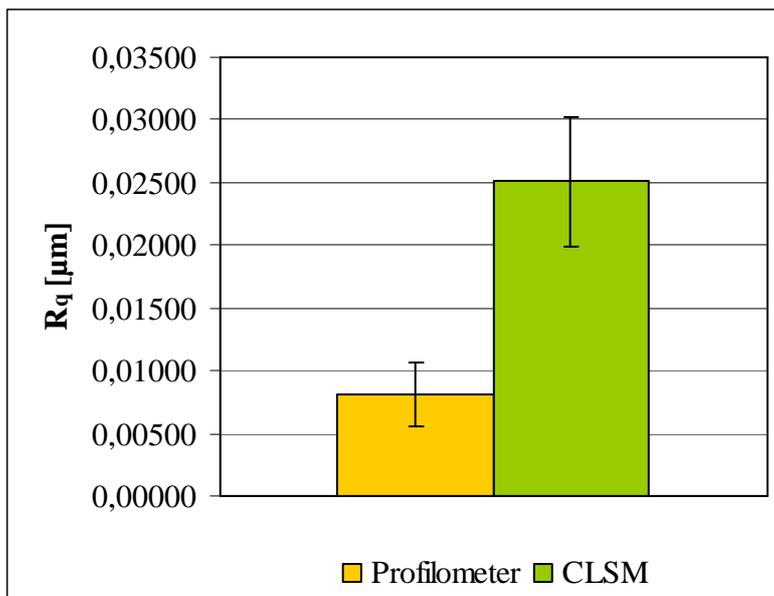


Abb. 16: Oberflächenrauigkeit vor Erosion, dargestellt mit R_q .

Nach der Durchführung des F-Tests unterscheiden sich die am CLSM ermittelten Werte für R_q signifikant von den am Profilometer ermittelten Werten für R_q , sie sind etwa dreimal größer.

Tabelle 4 und Abbildung 17 zeigen die Ergebnisse der Messungen nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) am Profilometer und am CLSM, bei denen der Parameter P_t als Erosionstiefe ermittelt wurde.

Tab. 4: Mittelwerte für P_t [μm] und Standardabweichungen nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit Profilometer und CLSM.

Zeit [min]	Profilometer		CLSM	
	P_t [μm]	s [μm]	P_t [μm]	s [μm]
10	3,26514	0,62471	3,29798	0,58001
20	5,84860	1,03797	5,16380	0,92529
30	9,31247	0,8142	8,36402	1,23088

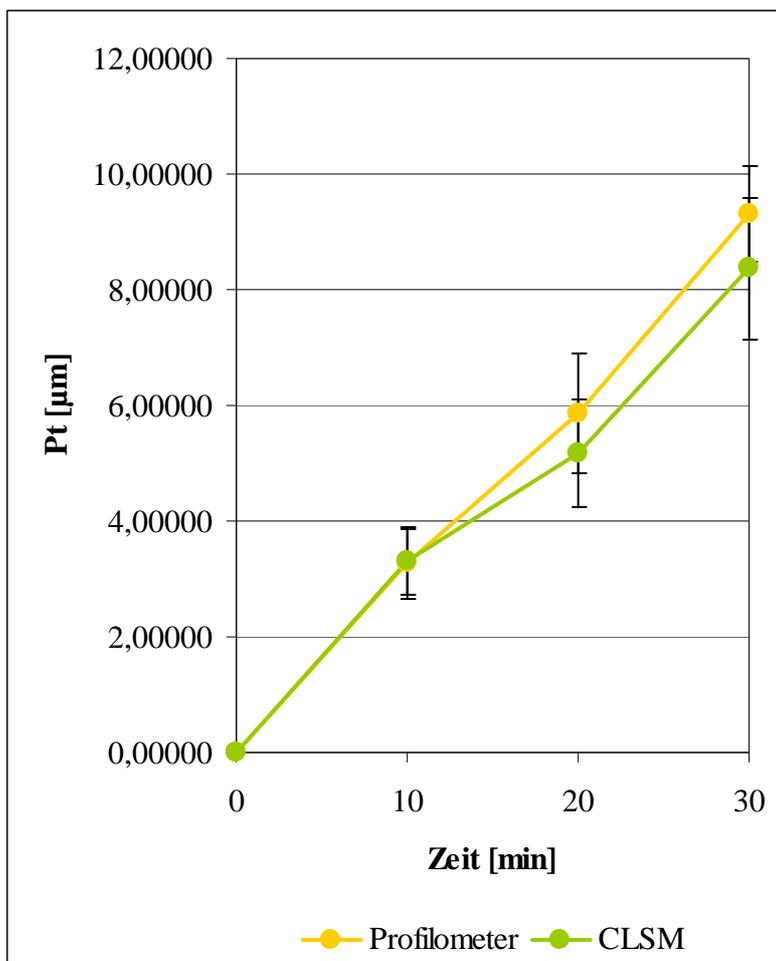


Abb. 17: Gesamthöhe des Primärprofils P_t nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) ermittelt mit Profilometer und CLSM in Abhängigkeit von der Erosionszeit.

Die Erosion der Proben führte zu einem signifikanten Substanzverlust nach 10, 20 und 30 min. Je länger die Erosionszeit, desto größer ist die Erosionstiefe bei beiden Messgeräten, desto größer ist die Streuung der Messwerte um den Mittelwert bei beiden Messgeräten und desto größer sind die Unterschiede der Messwerte zwischen Profilometer und CLSM. Nach 10 Minuten Erosion konnten weder im F- noch im t-Test signifikante Unterschiede der Messwerte zwischen Profilometer und CLSM festgestellt werden. Aufgrund der großen Streuung der Messwerte nach 20 und 30 Minuten Erosion konnten nur im t-Test signifikante Unterschiede festgestellt werden.

Die Abbildungen 18 bis 25 zeigen Primärprofile derselben Probe aufgenommen mit Profilometer in 2D und mit CLSM in 2D und 3D.

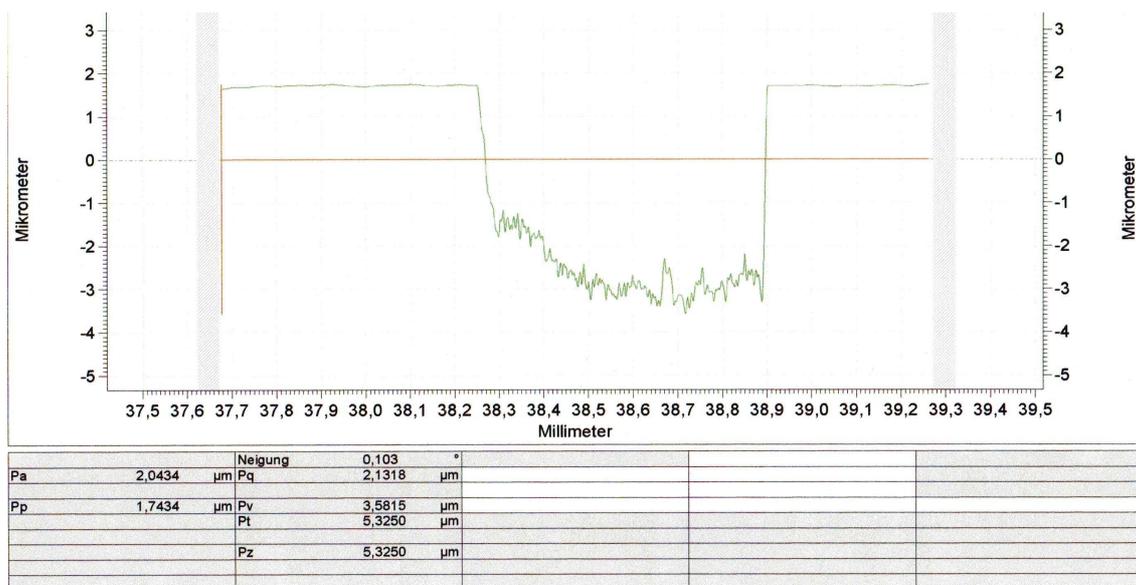
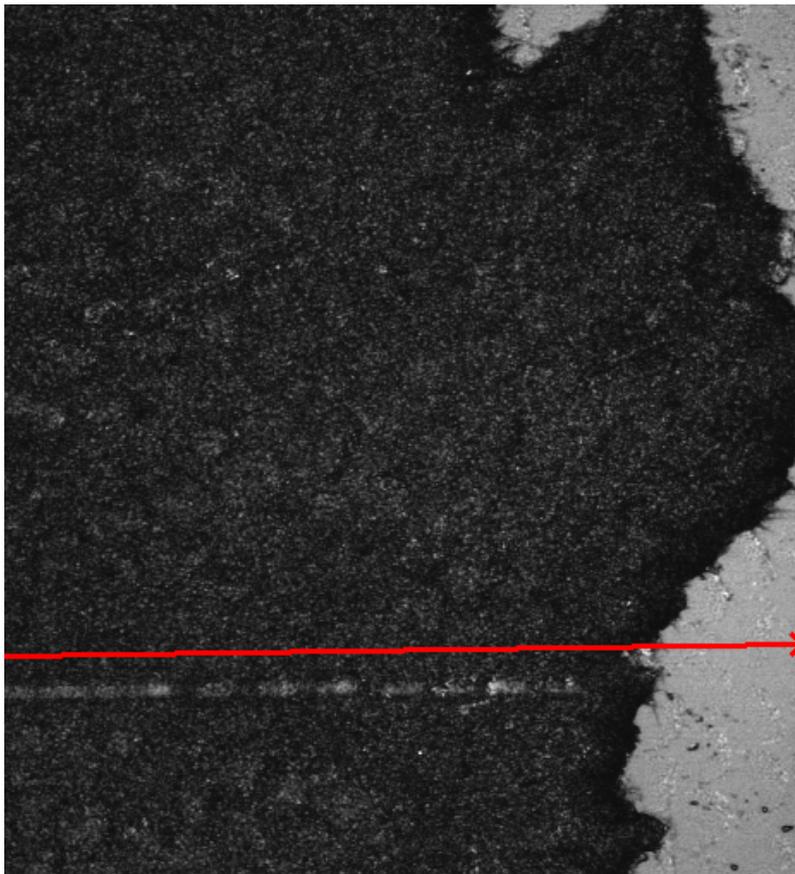
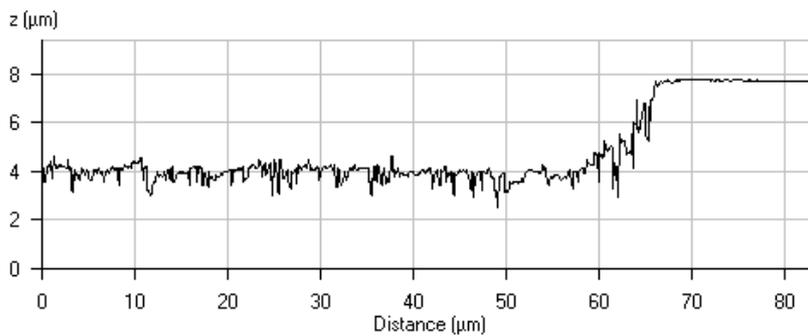


Abb. 18: Aufnahme mit Profilometer nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Primärprofil.

Außerhalb der Referenzebene ist es zum Verlust von Zahnhartsubstanz gekommen. Eine deutliche Stufenbildung ist nachweisbar. Die Oberfläche des erodierten Bereiches weist eine erhöhte Oberflächenrauigkeit auf.



PSc	4.557	μm
PSa	1.102	μm
PSq	1.463	μm
PSsk	-1.346	
PSku	3.487	
PSp	4.876	μm
PSv	4.405	μm
PSt	9.281	μm
PSz	4.316	μm
PSmax	8.977	μm



Pc	4.812	μm
Pa	1.313	μm
Pq	1.585	μm
Psk	-1.151	
Pku	2.593	
Pp	2.958	μm
Pv	2.298	μm
Pt	5.256	μm
Pz	1.375	μm
Pmax	4.779	μm

z —

Abb. 19: Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Primärprofil parallel zur sichtbaren Messspur des Profilometers.

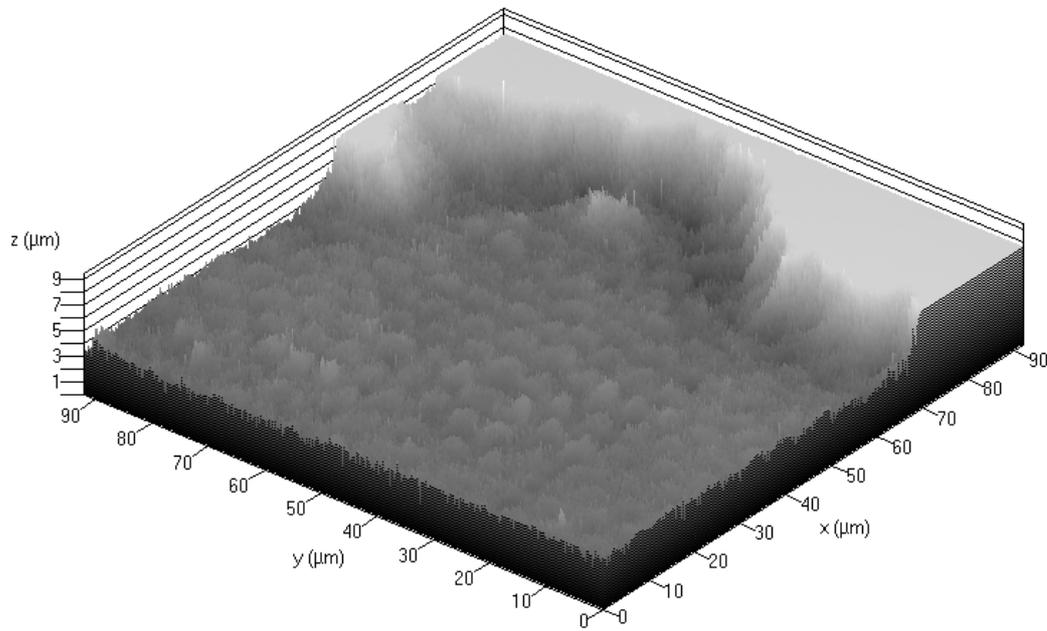


Abb. 20: 3D-Aufnahme (schwarz-weiß) mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2).



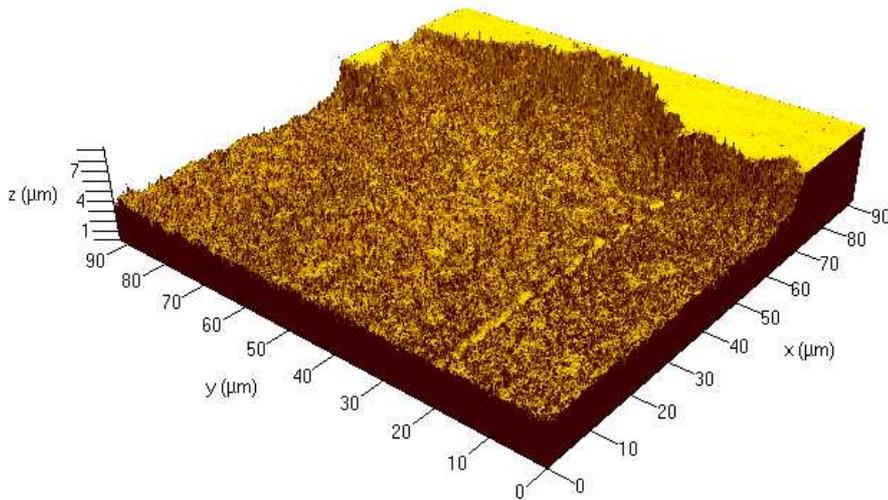
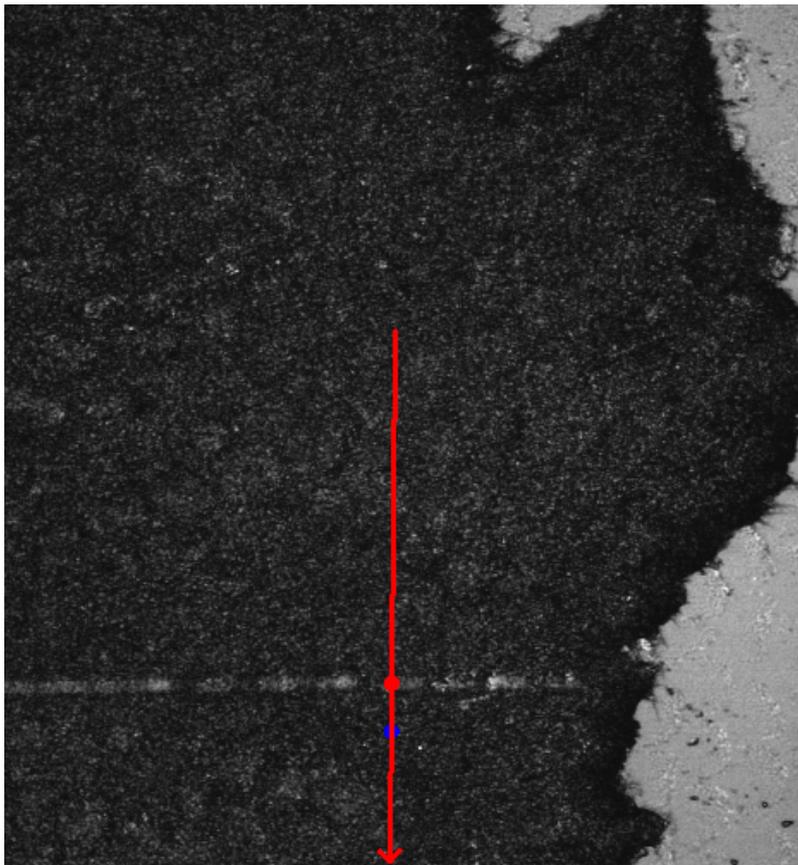


Abb. 21: 3D-Aufnahme (farbig) mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2).

In den Abbildungen 19 bis 21 sind die Veränderungen auf der erodierten Seite sichtbar. Die Struktur der Schmelzprismen ist zu erkennen. Durch die Säureeinwirkung hat sich das charakteristische Ätzmuster gebildet. Dabei ist die Prismenperipherie stärker erodiert als das Prismenzentrum. Die Profilometermessspur ist deutlich sichtbar. Die Struktur des angeätzten Zahnschmelzes ist kollabiert, das Ätzmuster ist unterbrochen.

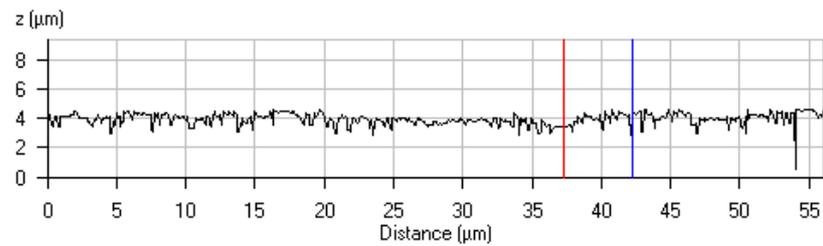
In den Abbildungen 22 und 23 wurde mittels CLSM der Höhenunterschied zwischen erodierter Oberfläche und Profilometermessspur ermittelt, einmal vom Zentrum eines Schmelzprismas und einmal von der Prismenperipherie aus gemessen.



PSc	4.557	μm
PSa	1.102	μm
PSq	1.463	μm
PSsk	-1.346	
PSku	3.487	
PSp	4.876	μm
PSv	4.405	μm
PSt	9.281	μm
PSz	4.316	μm
PSmax	8.977	μm

	Marker 1	Marker 2	Difference
x	37.250 μm	42.289 μm	5.039 μm
z	3.45 μm	4.38 μm	0.94 μm

Pc	3.956	μm
Pa	0.311	μm
Pq	0.406	μm
Psk	1.422	
Pku	10.572	
Pp	0.701	μm
Pv	3.442	μm
Pt	4.143	μm
Pz	1.599	μm
Pmax	4.143	μm

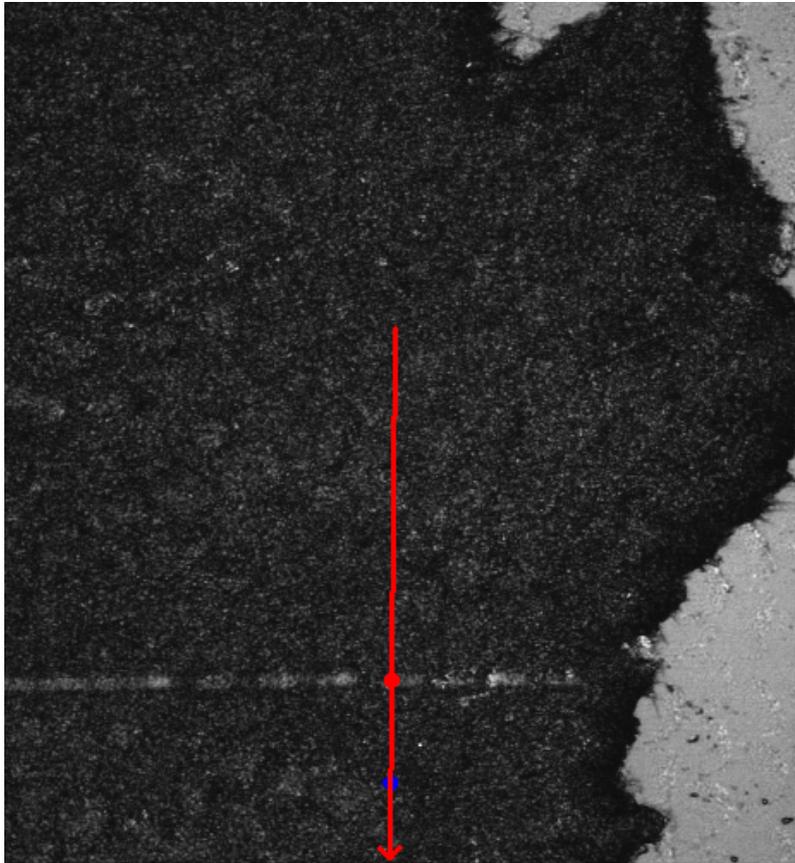


z —

Abb. 22: Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Tiefe der Profilometermessspur, vom Prismenzentrum aus gemessen.

In Abbildung 22 wurde ein Profil senkrecht zur Profilometermessspur gelegt. Marker 1 (rot) wurde in der Profilometermessspur positioniert. Der Bereich ist im Profil sichtbar eingeebnet. Marker 2 (blau) wurde im Prismenzentrum positioniert und die Höhendifferenz als Messwert der Zeile z und Spalte Difference aus der Tabelle in Abbildung 22 entnommen (hier 0,94 μm).

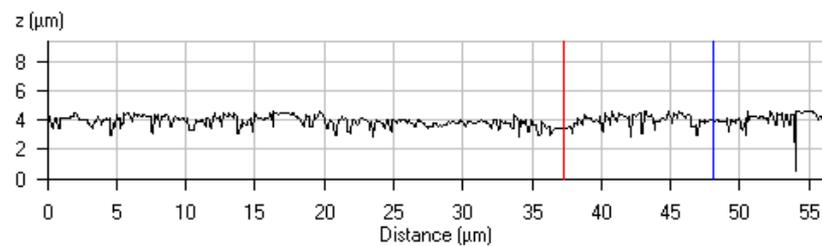
Analog wurde in Abbildung 23 verfahren, wobei Marker 2 (blau) in der Prismenperipherie positioniert wurde.



PSc	4.557	μm
PSa	1.102	μm
PSq	1.463	μm
PSsk	-1.346	
PSku	3.487	
PSp	4.876	μm
PSv	4.405	μm
PSt	9.281	μm
PSz	4.316	μm
PSmax	8.977	μm

	Marker 1	Marker 2	Difference
x	37.250 μm	48.048 μm	10.797 μm
z	3.45 μm	3.92 μm	0.47 μm

Pc	3.956	μm
Pa	0.311	μm
Pq	0.406	μm
Psk	1.422	
Pku	10.572	
Pp	0.701	μm
Pv	3.442	μm
Pt	4.143	μm
Pz	1.599	μm
Pmax	4.143	μm



z —

Abb. 23: Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Tiefe der Profilometermessspur, von der Prismenperipherie aus gemessen.

In Tabelle 5 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der ermittelten Spurtiefen aufgelistet und in Abbildung 24 im Diagramm dargestellt.

Tab. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen der Tiefe der Profilometermessspur (Spurtiefe) [μm] nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit CLSM, vom Prismenzentrum und von der Prismenperipherie aus gemessen.

	Tiefe der Profilometermessspur (Spurtiefe)			
	vom Prismenzentrum aus gemessen		von der Prismenperipherie aus gemessen	
Zeit [min]	x [μm]	s [μm]	x [μm]	s [μm]
10	1,110	0,219	0,412	0,136
20	1,301	0,416	0,585	0,203
30	1,577	0,491	0,725	0,141

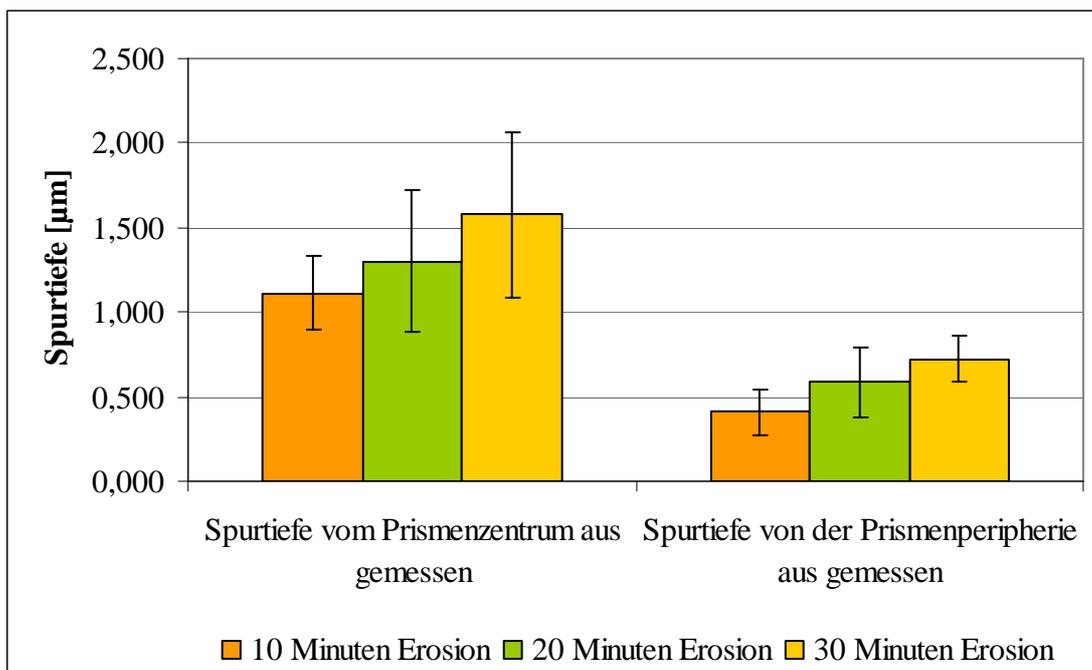


Abb. 24: Tiefe der Profilometermessspur, ermittelt mit CLSM, vom Prismenzentrum und von der Prismenperipherie aus gemessen.

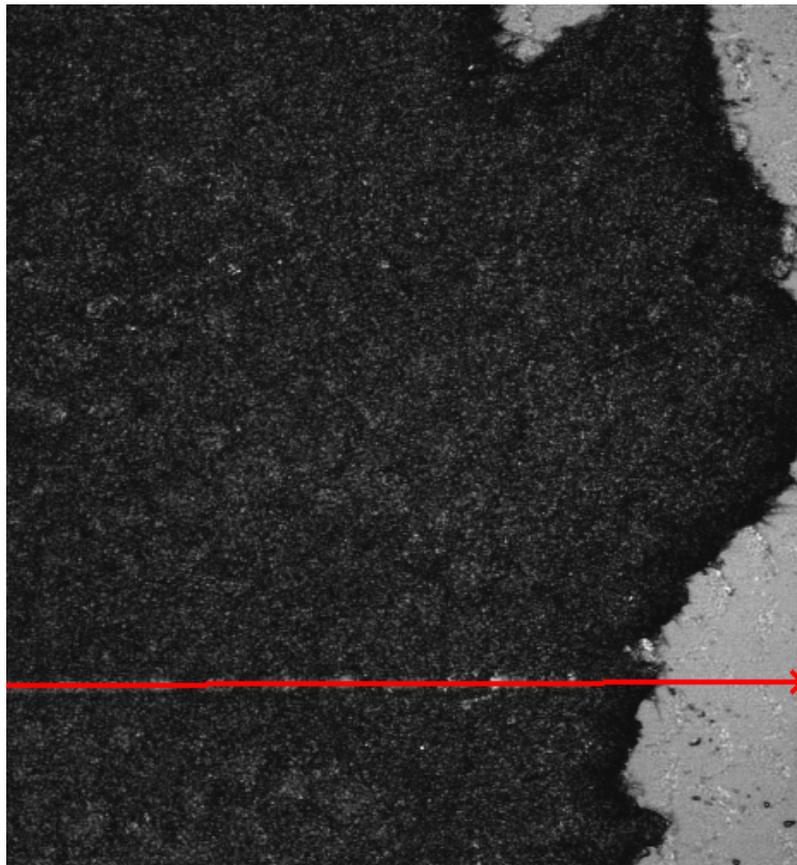
Mit steigender Erosionszeit hinterlässt das Profilometer beim Abtasten der Proben eine tiefere Messspur. Die Messwerte streuen mit steigender Erosionszeit stärker um den Mittelwert.

Im F-Test konnten signifikante Unterschiede zwischen den Werten nach 10 und 20 Minuten, gemessen vom Prismenzentrum und von der Prismenperipherie aus, nachgewiesen werden. Zwischen den Werten nach 20 und 30 Minuten, vom Prismenzentrum und von der Prismenperipherie aus gemessen, konnten aufgrund der großen Streuung der Messwerte nur im t-Test signifikante Unterschiede nachgewiesen werden. Signifikante Unterschiede bestehen nach F-Test auch zwischen den Werten nach 10 und 30 Minuten, vom Prismenzentrum aus gemessen. Zwischen den Werten nach 10 und 30 Minuten, von der Prismenperipherie aus gemessen, wurden im t-Test signifikante Unterschiede nachgewiesen.

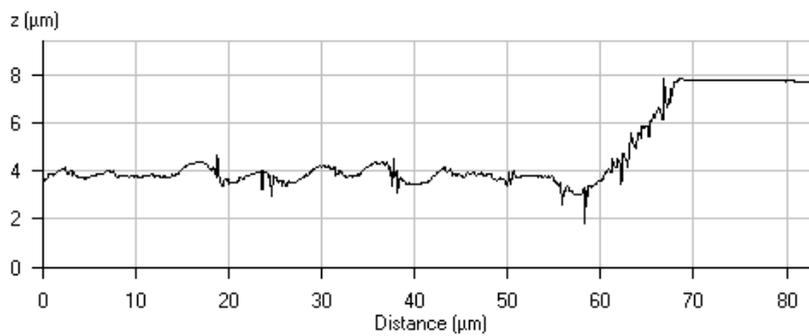
Der Vergleich der Werte Prismenzentrum – Prismenperipherie ergab nach 10, 20 und 30 Minuten Erosion signifikante Unterschiede im F-Test.

Bei der Auswertung der CLSM-Daten konnten auch Profile direkt über die Profilometermessspur gelegt werden (siehe Abb. 25). Im Vergleich zu Abbildung 19 ist eine deutliche Einebnung der Oberfläche im Bereich der Profilometermessspur zu erkennen.

Es konnten für 10 und 20 Minuten Erosion 22 Werte für P_t und für 30 Minuten Erosion 13 Werte für P_t ermittelt werden. In Tabelle 6 sind die Werte für P_t und die Standardabweichungen aufgelistet und in Abbildung 26 als Diagramm dargestellt.



PSc	4.557	µm
PSa	1.102	µm
PSq	1.463	µm
PSsk	-1.346	
PSku	3.487	
PSp	4.876	µm
PSv	4.405	µm
PSt	9.281	µm
PSz	4.316	µm
PSmax	8.977	µm



Pc	4.668	µm
Pa	1.313	µm
Pq	1.601	µm
Psk	-1.238	
Pku	2.807	
Pp	3.157	µm
Pv	2.871	µm
Pt	6.028	µm
Pz	1.233	µm
Pmax	4.684	µm

z —

Abb. 25: Aufnahme mit CLSM nach 20 min Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), Primärprofil in der sichtbaren Messspur des Profilometers.

Tab. 6: Mittelwerte für P_t [μm] und Standardabweichungen nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit Profilometer und CLSM in Abhängigkeit von der Erosionszeit; zusätzlich zu Tab. 4: Werte in der Profilometermessspur, ermittelt mit CLSM.

Zeit [min]	Profilometer		CLSM		CLSM in Spur	
	P_t [μm]	s [μm]	P_t [μm]	s [μm]	P_t [μm]	s [μm]
10	3,26514	0,62471	3,29798	0,58001	3,66114	0,63094
20	5,84860	1,03797	5,16380	0,92529	6,17641	1,04117
30	9,31247	0,8142	8,36402	1,23088	8,99115	0,93165

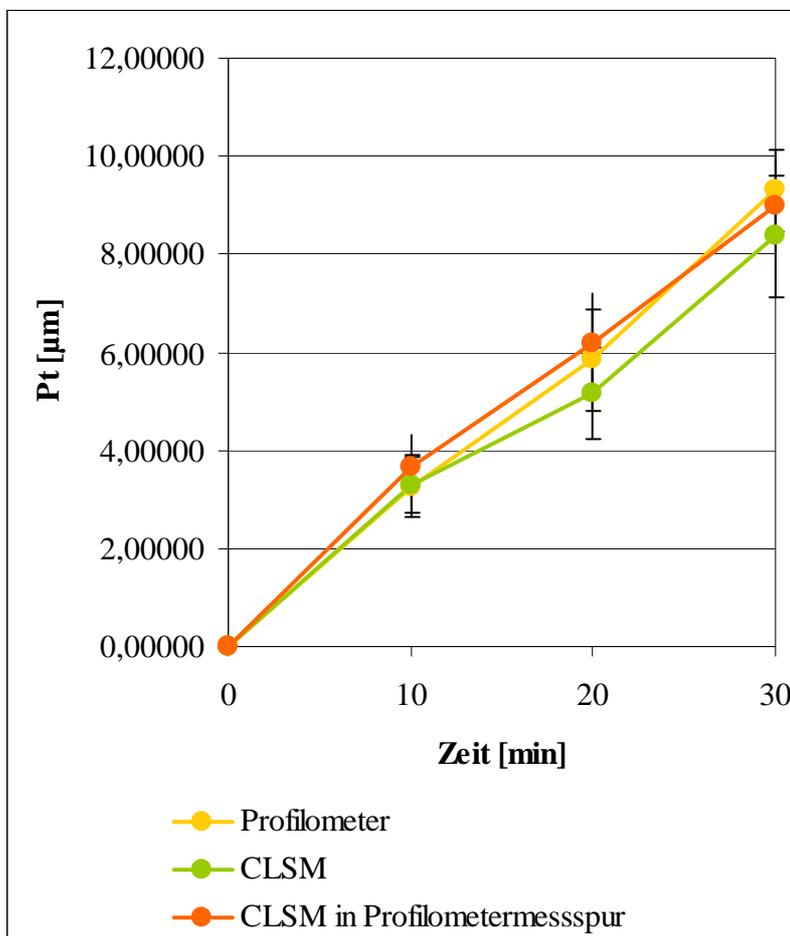


Abb. 26: Gesamthöhe P_t des Primärprofils nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit Profilometer und CLSM in Abhängigkeit von der Erosionszeit; zusätzlich zu Abb. 16: Werte in der Profilometermessspur, ermittelt mit CLSM.

Tabelle 6 und Abbildung 26 zeigen, dass die Werte für P_t , die mit CLSM in der Profilometermessspur ermittelt wurden, größer sind als die direkt neben der Profilometermessspur ermittelten Werte. Der Vergleich der Werte, die mit CLSM neben der Profilometermessspur und direkt über der Profilometermessspur ermittelt wurden, ergab aufgrund der großen Streuung der Werte nur im t-Test signifikante Unterschiede. Zwischen den Werten, die mit Profilometer ermittelt wurden und denen die mit CLSM direkt über der Profilometermessspur ermittelt wurden, konnten im F-Test keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

In Tabelle 7 und Abbildung 27 wird der Volumenverlust nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) in Abhängigkeit von der Erosionszeit dargestellt. Der Volumenverlust wurde berechnet aus der Differenz von Stapelhöhe bis Referenzebene mal Stapellänge mal Stapelbreite und $V_m(z)$ (Material volume at a given height, definiert nach ISO 25178).

Tab. 7: Mittelwerte für den Volumenverlust [μm^3] und Standardabweichungen nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2), ermittelt mit CLSM.

Zeit [min]	Mittelwert Volumenverlust [μm^3]	s [μm^3]
10	11.652,463	917,195
20	16.642,139	3857,681
30	23.777,469	3948,434

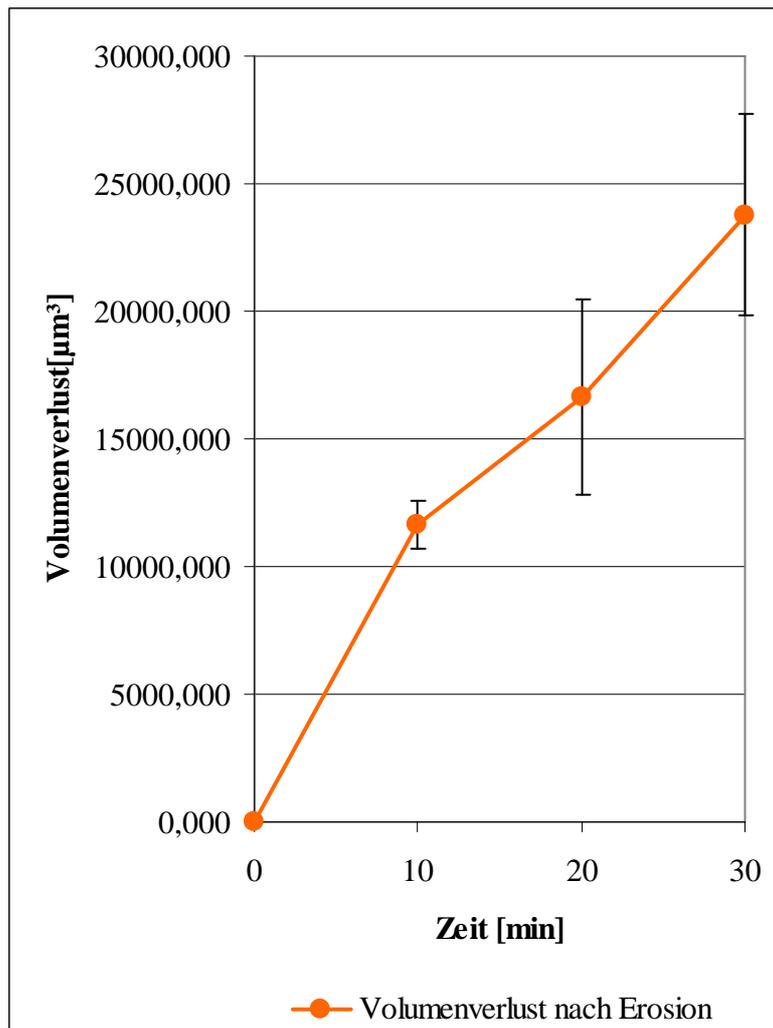


Abb. 27: Volumenverlust nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) in Abhängigkeit von der Erosionszeit, ermittelt mit CLSM.

Wie auch nach Linienmessung wird hier die Abhängigkeit des Zahnhartsubstanzverlustes von der Zeit deutlich: Je länger die Erosionszeit, desto höher ist der Substanzverlust. Auch die Streuung der Werte um die Mittelwerte nimmt mit steigender Erosionszeit zu.

Aufgrund der großen Streuung der Werte konnte nur im t-Test ein signifikanter Unterschied zwischen den Werten nach 10 und 30 Minuten bei $p \leq 0,05$ nachgewiesen werden. Bei $p \leq 0,1$ konnten auch zwischen den Werten nach 10 und 20 Minuten und nach 20 und 30 Minuten signifikante Unterschiede im t-Test nachgewiesen werden.

Tabelle 8 und Abbildung 28 zeigen die Ergebnisse der Messungen vor und nach Erosion mit destilliertem Wasser am Profilometer und am CLSM. Dabei wurde auch nach Erosion der Parameter R_q ermittelt, da sich bei den Wasserproben keine Veränderungen im Primärprofil (keine Stufenbildung) ergeben haben.

Tab. 8: Mittelwerte für R_q [μm] und Standardabweichungen vor und nach Erosion mit destilliertem Wasser, ermittelt mit Profilometer und CLSM.

Zeit [min]	Profilometer				CLSM			
	vor Erosion		nach Erosion		vor Erosion		nach Erosion	
	R_q [μm]	s [μm]						
10	0,00880	0,00213	0,00939	0,00187	0,03490	0,00288	0,03500	0,00183
20	0,00535	0,00142	0,00774	0,00177	0,02310	0,00228	0,02370	0,00241
30	0,00879	0,00296	0,00794	0,00324	0,01890	0,00166	0,01890	0,00208

Es gibt keine signifikanten Unterschiede der Varianzen von R_q vor und nach dem Erosionsversuch mit destilliertem Wasser bei beiden Messgeräten, außer beim Profilometer nach 20 Minuten. Der leichte Abfall der CLSM-Kurven scheint zufällig durch die Probenverteilung nach Zufallsprinzip. Die gesetzte Voraussetzung der Abweichung der Oberflächenrauigkeit von $\pm 0,03 \mu\text{m}$ ist erfüllt. Destilliertes Wasser hat keine erosive Wirkung auf Zahnschmelz.

Auch beim Erosionsversuch mit destilliertem Wasser bestehen signifikante Unterschiede zwischen den Werten des Profilometers und des CLSM. Am CLSM ermittelte Werte für R_q sind etwa dreimal größer als die am Profilometer ermittelten Werte für R_q .

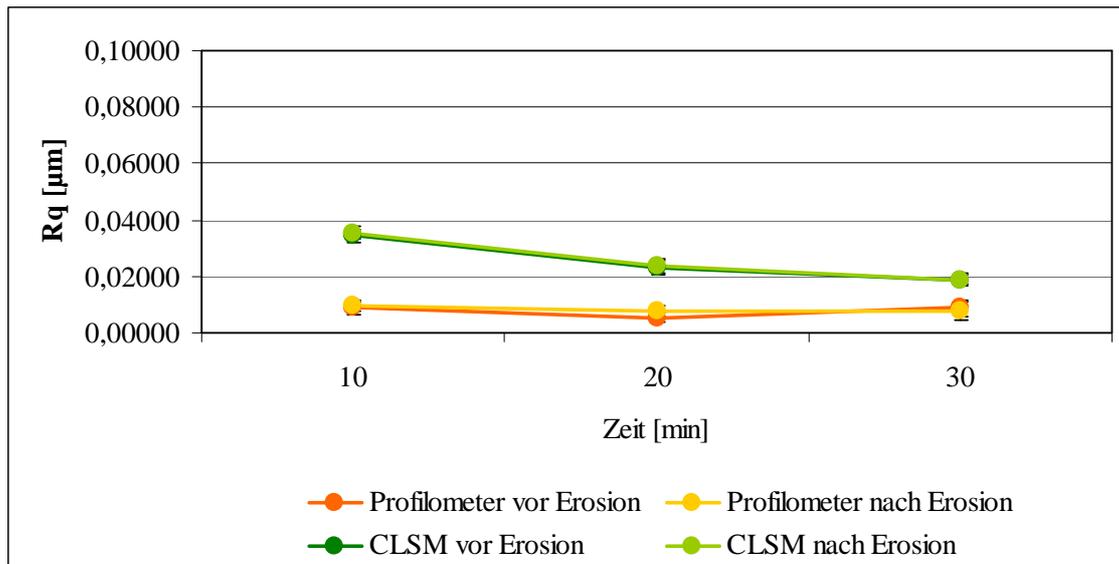


Abb. 28: Oberflächenrauigkeit, dargestellt mit R_q , vor und nach Erosion mit destilliertem Wasser in Abhängigkeit von der Erosionszeit, ermittelt mit Profilometer und CLSM.

6 Diskussion

6.1 Versuchsaufbau

In der vorliegenden Studie wurden Veränderungen der Schmelzoberfläche von Milchzähnen nach Einwirkung von 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) und destilliertem Wasser (Kontrollgruppe) untersucht. Zur Messung der Erosionstiefen wurde in dieser Untersuchung das bereits in vorherigen Studien von West et al. (1999, 2000, 2001) und Hughes et al. (1999, 2000) verwendete Verfahren der Profilometrie herangezogen und vergleichend das Verfahren der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie (CLSM) angewandt.

Das Verfahren der Profilometrie wurde verwendet, da es eine sehr genaue Messmethode darstellt und die Auswertung unterschiedlicher Kenngrößen zur exakten Quantifizierung der Oberflächenrauigkeiten möglich macht. Allerdings führt das mechanische Abtasten mit einer Auflagekraft von in diesem Fall 1 mN (100 mg) zum Kollaps der erweichten Schmelzoberfläche (Oberflächendestruktion) und zum Phänomen der Oberflächenpressung, d. h. zur plastischen und elastischen Verformung der Oberfläche infolge des Tasterkontaktes mit der zu messenden Oberfläche. Deshalb wurde nach einem geeigneten Verfahren gesucht, bei dem die zu messenden Oberflächen berührungslos abgetastet und so die Destruktionen auf der Oberfläche vermieden werden. Die konfokale Laser Scanning Mikroskopie scheint ein dazu geeignetes Verfahren zu sein, was geprüft werden sollte.

6.1.1 Probenmaterial und Probenvorbereitung für den Erosionsversuch

In dieser Studie wurden Milchzähne verwendet, da hauptsächlich Kinder mit Milch- und Wechselgebiss von erosiven Zahnhartsubstanzverlusten betroffen sind. Hier ist es in den letzten Jahren zu einer Verdopplung der Prävalenz gekommen (Bekes 2006). Der Grad der Erosion hängt entscheidend von individuellen Kau- und Trinkgewohnheiten ab. Bei Kleinkindern sind Fruchtsäfte oder verdünnte Fruchtsäfte die am häufigsten konsumierten erosiven und kariogenen Getränke (vgl. auch Abb. 15). Die Verweildauer

in der Mundhöhle ist besonders lang, wenn diese Getränke per Nuckelflasche zum Einschlafen gegeben werden. Im Schlaf kommt die Speichelproduktion fast völlig zum Erliegen, so dass der Abtransport der Flüssigkeit eingeschränkt ist und die Puffer- und Remineralisationswirkung des Speichels nicht zum Tragen kommen (Strippel 2004). Menschen, deren Milchzähne erosionsbefallen waren, haben ein erhöhtes Risiko für Erosionen der bleibenden Zähne, da häufig Verzehrsgewohnheiten, die das Risiko von Zahnerosionen erhöhen, auch später beibehalten werden (Schmidt et al. 2003).

Nach dem Zahndurchbruch kommt es in Abhängigkeit von Alter und Lebensgewohnheiten zur Einlagerung von Calcium, Phosphat und Fluorid in den Zahnschmelz, was zu einer individuell unterschiedlichen Zusammensetzung des Zahnschmelzes führt (Schuster 2003). Die Fluoridkonzentration im Zahnhartgewebe wird auch durch den Fluoridgehalt im Trinkwasser beeinflusst (Takeuchi et al. 1996). Die in der Studie verwendeten Zähne stammten von Personen aus dem Umkreis von Glauchau, Zwickau und Jena mit einem Trinkwasserfluoridgehalt von 0,15 mg/l, 0,25 mg/l und <0,1 mg/l.

Die Säurelöslichkeit des Schmelzes kann aus den oben genannten Gründen unterschiedlich sein.

Ein Vergleich unter gleichen Bedingungen mit retinierten Weisheitszähnen bietet Ansätze für weitere Untersuchungen, da sich diese in vorangegangenen Studien von West et al. (1999, 2000, 2001) und Hughes et al. (1999, 2000) als Probenmaterial bewährt haben. Retinierte Weisheitszähne unterliegen keinen posteruptiven Einflüssen und weisen daher homogenere Materialeigenschaften auf (Jandt 2005).

Zur Herstellung der Proben wurden Milchfrontzähne verwendet. Frontzähne eignen sich gut, da ihre Labialfläche relativ plan und großflächig ist. So konnten einheitliche Proben hergestellt werden.

Die Milchzähne und anschließend auch die daraus hergestellten Proben wurden in physiologischer Kochsalzlösung gelagert. Als physiologische Kochsalzlösung bezeichnet man eine 0,9%ige Lösung von NaCl in Wasser, die in ihrer Osmolarität dem Blutplasma entspricht (isoton). Sie wird zur parenteralen Flüssigkeitssubstitution und als Trägerlösung für die Infusion von Medikamenten verwendet und bot sich zur Lagerung der Schmelzproben an.

In zukünftigen Untersuchungen kann die Lagerung der Proben auch in Phosphat gepufferter Kochsalzlösung (phosphate buffered saline = PBS-Lösung) ohne Magnesium und Calcium erfolgen. Diese wird als Reinigungslösung für Zellkulturen verwendet, ist isotonisch und hat einen konstanten pH-Wert von $7,2 \pm 0,1$.

Für die Messverfahren war es notwendig, plane Probenoberflächen zu erzeugen. Die Milchzahnproben wurden, nachdem sie in Epoxidharz eingebettet waren, mit Schleifpapier (26 μm bis 10 μm) und anschließend mit Diamantsuspension (6 μm bis 1 μm) poliert. Die Politur der Proben führt zur Entfernung des oberflächlichen prismenfreien Schmelzes, der eine größere Resistenz gegenüber Säureeinwirkung besitzt (Davis und Winter 1980, Meurman und Frank 1991). Polierte Proben sind weniger säureresistent als unpolierte Schmelzproben, da sich der Mineralgehalt in der Tiefe verändert. Allerdings kommt es gerade bei Patienten mit nicht kariesbedingten Zahnhartsubstanzverlusten aufgrund chemischer und physikalischer Einwirkungen ebenfalls zu einem Verlust der aprismatischen Schmelzoberfläche (Noack 1989, Lussi et al. 1991). Die Verwendung bearbeiteter Schmelzproben stellt somit eine Situation dar, wie sie klinisch bei Patienten mit häufigem Genuss erosiver Nahrungsmittel auftreten könnte. Da jedoch in vivo nach einem säurebedingten Zahnhartsubstanzverlust auch wieder Remineralisierungsprozesse stattfinden, dürfte bei den verwendeten polierten Proben dennoch mit einem etwas größeren Substanzverlust zu rechnen sein (Schuster 2003), was bei Rückschlüssen auf die klinische Situation berücksichtigt werden muss. Die Politur ermöglicht außerdem, dass Proben immer wieder reproduzierbar mit einheitlichen Oberflächen hergestellt werden können, was als großer Vorteil angesehen werden kann.

Vor den Erosionsversuchen wurden Baseline-Messungen durchgeführt, um sicher zu stellen, dass die Oberflächenrauigkeit bei allen Proben etwa gleich ist und nicht mehr als $\pm 0,03 \mu\text{m}$ abweicht. Dazu wurde der quadratische Mittenrauwert R_q ermittelt. Als mittlere quadratische Abweichung der Rauheits-Ordinatenwerte von der Mittellinie entspricht R_q der Standardabweichung der Profilordinaten und ist demnach statistisch wesentlich repräsentativer als der arithmetische Mittenrauwert R_a . Die Messparameter wurden nach DIN EN ISO 4288:1998 festgelegt. Einem Tastspitzenradius von $2 \mu\text{m}$ und einem arithmetischen Mittenrauwert $>0,006$ bis $0,02 \mu\text{m}$ ist eine Grenzwellenlänge von $0,08 \text{ mm}$ zugeordnet (Hommelwerke GmbH 2002).

Nach den Profilometer-Messungen war die Oberflächenrauigkeit (Parameter R_q) bei allen Proben etwa gleich und wich nicht mehr als $\pm 0,03 \mu\text{m}$ ab. Allerdings zeigten sich signifikante Unterschiede zu den CLSM-Messungen. Für sich betrachtet zeigten die CLSM-Messungen ebenfalls eine etwa gleiche Oberflächenrauigkeit der Proben, aber im Vergleich zu den Ergebnissen am Profilometer ergaben sich etwa dreimal so hohe Werte für R_q . Der Grund für diesen markanten Unterschied liegt mit großer Wahrscheinlichkeit im Messverfahren der Profilometrie begründet, denn Strukturen, die kleiner als der Tastspitzendurchmesser sind, können nicht aufgelöst werden. Der Spitzenradius des Diamanttasters beträgt $2 \mu\text{m}$. Dies ist ein Vielfaches der bei den Baseline-Messungen am Profilometer gemessenen Rautiefen, die bei $0,008 \pm 0,0025 \mu\text{m}$ lagen. Daher ist davon auszugehen, dass diese Messwerte nicht der Realität entsprechen (Kullmann 1985, Tjan und Chan 1989, Hondrum und Fernandez 1997). Ein weiteres Indiz ist die stärkere Streuung der CLSM-Baseline-Werte um den Mittelwert, die aufgrund der inhomogenen Eigenschaften der Milchzahnschmelzproben zu erwarten war.

6.1.2 Erosionserzeugung

Für die Erosionserzeugung wurde 0,3%ige Zitronensäure (pH 3,2) verwendet. Zitronensäure ist ein typischer Hauptbestandteil von Fruchtsäften und säurehaltigen Erfrischungsgetränken und kommt darin meist in einer Konzentration von etwa 0,3 % vor. Der pH-Wert solcher Softdrinks liegt zwischen 2,4 und 4,0 (Mittelwert 3,2).

Es wurde bereits mehrfach belegt, dass Zitronensäure im Vergleich zu anderen Fruchtsäuren stärkere Schmelzdeminalisationen hervorruft (Meurman et al. 1987,

Meurman und Frank 1991). Neben der demineralisierenden Wirkung der H⁺-Ionen spielt dabei die Fähigkeit der Zitronensäure, Calcium als Chelatkomplex zu binden, eine große Rolle (Schuster 2003).

In-vitro-Untersuchungen zur Ermittlung eines pH-Wert-Bereichs, in dem erste Anzeichen von Erosionen erkennbar sind, zeigten, dass Nahrungsmittel mit einem pH-Wert unter 4 eine deutlich erosive Wirkung haben (Rytomaa et al. 1988).

Eine Kontrollgruppe wurde mit destilliertem Wasser behandelt, mit der Erwartung, dass keine Erosion eintritt.

Die Proben wurden für den Erosionsversuch von zwei Seiten mit wasserfestem Klebeband abgeklebt, so dass ein Fenster von ca. 1 bis 1,5 × 2 mm Größe für die Erosion übrig blieb. Die Schwierigkeit bestand darin, ein geeignetes Tape zu finden, welches eine gute Klebekraft aufweist, wasserdicht ist und keine Rückstände beim Abziehen hinterlässt. Verschiedene Tapes wurden getestet, schließlich war das Fixierpflaster Leukoflex[®] (BSN medical GmbH&Co.KG) am geeignetsten. Leukoflex[®] ist ein transparentes, gut anschmiegsames Fixierpflaster mit Polyacrylat-Klebmasse. Der Träger besteht aus einer dünnen und dehnbaren Polyethylenfolie. Es weist eine gute Sofort- und Dauerklebekraft auf, ist dicht nach innen und außen, dehnbar, wasserfest und rückstandsfrei entfernbar.

Um die Abhängigkeit der Erosionstiefe von der Zeit nachzuweisen, wurden die Proben 10, 20 und 30 Minuten lang erodiert. Ziel sollte es sein, möglichst frühe Stadien der Erosion nachzuweisen. Deshalb wurden nicht zu lange Erosionszeiten gewählt.

Um noch frühere Stadien der Erosion nachzuweisen und so der Situation in vivo noch näher zu kommen, sollte die weitere Reduktion der Erosionszeit Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

Die Proben wurden für alle drei Versuchsdurchgänge einem identischen Versuchsablauf unterzogen. Zur Erosionserzeugung wurden 200 ml 0,3%ige Zitronensäure bzw. 200 ml destilliertes Wasser verwendet. Die Menge entspricht einem normalen Trinkglas. Um ein erhöhtes Erosionsrisiko durch häufigen Verzehr von erosiven Nahrungsmitteln zu

simulieren, wurde die Zitronensäure bzw. das destillierte Wasser mit Hilfe eines Magnetrührers in ständiger Bewegung gehalten.

Nach der Erosion müssen die Proben mit physiologischer Kochsalzlösung abgespült und getrocknet werden. Die Lagerung muss dann absolut staubdicht erfolgen, sonst kommt es zur Verfälschung der Messergebnisse durch Staubverunreinigungen.

6.1.3 Messmethoden

Direkt im Anschluss an die Erosionsversuche wurden zunächst die Messungen am Profilometer zur Ermittlung der Erosionstiefe P_t (Summe aus der Höhe der größten Profilspitze und der Tiefe des größten Profiltales innerhalb der Auswertelänge) und der Oberflächenrauigkeit R_q bei den Wasserproben durchgeführt. Diese konnten zügig absolviert werden, da eine Messung nur etwa 1 Minute inklusive Auswertung dauerte. Um repräsentative Ergebnisse zu erhalten, wurden pro Probe mehrere Linienmessungen durchgeführt. Flächenscans sind auch möglich, sind aber sehr zeitaufwendig und können nur näherungsweise durch mehrere parallele Tastschnitte erfolgen. Mit dem Profilometer können nur oberflächliche Substanzverluste bestimmt werden. Eine Remineralisierung erodierter Areale bleibt bei den profilometrischen Messungen unberücksichtigt.

Da die ermittelten Erosionstiefen größer sind als der Tastspitzendurchmesser (zumindest nach 20 und 30 Minuten Erosion), kann man davon ausgehen, dass die Messwerte eher der Realität entsprechen. Die Ergebnisse vorausgegangener Studien von West et al. (1999, 2000, 2001) und Hughes et al. (1999, 2000), bei denen ein Profilometer mit einem Tastspitzenradius von 20 μm verwendet wurde, sollten kritisch betrachtet werden.

Ein weiterer Nachteil der Profilometrie liegt im mechanischen Abtasten der Proben, was zu Oberflächendestruktion und Oberflächenpressung führt. Beides führt zu Messungenauigkeiten (Pelka et al. 1993, Jung 1998). Die Messergebnisse werden verfälscht und sind teilweise nicht reproduzierbar, weshalb sich dieses Verfahren nur für eine begrenzte Anzahl harter Werkstoffe eignet (Stöhr 2004).

Ein direkter Vergleich der eigenen profilometrischen Ergebnisse mit denen anderer Autoren ist schwierig, da viele verschiedene Untersuchungsbedingungen die Ergebnisse beeinflussen können. Vor allem die Bearbeitung der Proben und der Versuchsaufbau

haben starken Einfluss auf die späteren Resultate. Auch die Auswahl der Tastspitze, die Festlegung der Messparameter sowie die zu bestimmenden Messgrößen beeinflussen die Vergleichbarkeit der Studien.

Unverzüglich nach den Profilometermessungen wurden die CLSM-Messungen durchgeführt, die vergleichsweise viel Zeit in Anspruch genommen haben. Je nach Größe des Z-Stapels dauert ein Scan etwa 3 bis 10 Minuten zuzüglich der Zeit für die Auswertung.

Mit dem konfokalem Prinzip können optische Schnitte aufgenommen werden. Damit ist es möglich, Flanken mit einem Winkel bis zu 70° und Oberflächen transparenter Materialien zu vermessen (Stöhr 2004). So konnten die Zahnschmelzproben mit Referenzebene und erodierten Bereichen dargestellt und die Oberflächenveränderungen nach der Profilometermessung sichtbar gemacht werden. Durch die Möglichkeit der Punktbeleuchtung und -detektion können genau festgelegte Ebenen in der Probe untersucht werden (Kamseder 2004). Es können Oberflächenprofile mit größerer Auflösung bzw. Tiefenschärfe gemessen werden. Dabei hängt das Auflösungsvermögen eines Objektivs davon ab, wie viel Licht von einer Struktur des Präparates in das Objektiv gelangt. Diese Lichtmenge ist wiederum abhängig vom so genannten Öffnungswinkel des entsprechenden Objektivs. Je größer der Öffnungswinkel ist, desto besser löst ein Objektiv Details eines Präparates auf (numerische Apertur, Definition siehe Anhang).

Ein Nachteil besteht in dem kleinen Messbereich ($90 \times 90 \mu\text{m}$) bei 100-facher Vergrößerung. Aber das verwendete Objektiv Epiplan Neofluar $100\times / 0,90$ HD DIC hat eine hohe numerische Apertur von 0,90 (dies entspricht einem halben Öffnungswinkel des Objektivs von $64,12^\circ$). Eine große numerische Apertur ist wichtig, damit die Strahlen möglichst steil auf die Probe einfallen und der Fokuspunkt entlang der optischen Achse eine möglichst geringe Ausdehnung hat (Kamseder 2004). Dies ist wiederum wichtig für die Tiefenschärfe. Das theoretisch mögliche Auflösungsvermögen dieses Objektivs lässt sich aus der numerischen Apertur berechnen und beträgt $d = 0,27 \mu\text{m}$ (d : Abstand zwischen 2 Punkten). Weitere Objektive, die zur Verfügung standen (Epiplan Neofluar $10\times / 0,30$ HD $\rightarrow d = 0,49 \mu\text{m}$ und Epiplan Neofluar $20\times / 0,50$ HD

→ $d = 0,81 \mu\text{m}$), hätten ein größeres Messfeld ermöglicht, weisen aber eine kleinere numerische Apertur und damit eine geringere Auflösung auf.

Das CLSM als ein nicht destruktives Messverfahren ermöglicht eine Weiterverwertung des zu untersuchenden Materials nach einer Messung.

Mit dem CLSM kann neben der Auswertung von Oberflächenprofilen auch der flächenhafte Schmelzverlust bestimmt werden. Weiterhin könnte die gesamte Probe schrittweise flächenhaft gescannt und anschließend durch die Software rechnerisch zusammengesetzt werden. Der große Nachteil liegt in der zeitlichen Komponente, da die Aufnahmen bei starker Vergrößerung und hoher Auflösung Stunden dauern würden.

Das verwendete Tastsystem (Laser oder mechanische Tastspitze) hat starken Einfluss auf die Größe der gemessenen Rautiefen. Die laterale Auflösung eines konfokalen Lasermikroskops beträgt etwa ein Viertel der Laserwellenlänge (hier ca. $122 \text{ nm} = 0,122 \mu\text{m}$), während Tastspitzenradien im Bereich von 2 bis $5 \mu\text{m}$ liegen. Aufgrund dieses Unterschieds ist die Vergleichbarkeit der Ergebnisse von optischen Messungen und taktilen Messungen eingeschränkt (Stöhr 2004, Brandt 2006).

Durch die Vielzahl der Fragestellungen kann nicht ein bestimmtes Verfahren als Methode der Wahl angesehen werden. Allgemein sollte ein Messverfahren für Studien der De- und Remineralisation von Zahnhartgeweben bestimmte Anforderungen erfüllen. Es sollte nicht destruktiv sein, um Sequenzen aus Erosion und Messung zu ermöglichen, und die Möglichkeit bieten, Materialverluste und auch -gewinne zu quantifizieren. Auch eine Beurteilung von nicht polierten Proben (natürlicher Zahnschmelz) sollte möglich sein. Weiterhin sollte es sowohl für In-vitro-Studien als auch für anschließende In-situ-Studien anwendbar sein (Schuster 2003).

6.2 Diskussion der Ergebnisse

Nach Erosion mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede der Mittelwerte der Erosionstiefen von Profilometrie und CLSM nach 20 und 30 Minuten Erosion, jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede der Varianzen. Nach 10 Minuten Erosion zeigten sich noch keine Unterschiede der Erosionstiefen bei Prüfung mittels Profilometrie und CLSM. Destilliertes Wasser verursachte wie erwartet keine Erosion.

Die Versuche wurden unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Die Standardabweichung steigt mit steigender Erosionstiefe. Die starke Streuung ist darauf zurückzuführen, dass die genaue Zusammensetzung zwischen einzelnen Zähnen, zwischen verschiedenen Teilen desselben Zahnes und zwischen Zentrum und Peripherie desselben Schmelzprismas variiert, da Zahnschmelz in seiner Mikrostruktur und seiner chemischen Zusammensetzung inhomogen ist (Finke et al. 2000). Bei Milchzähnen kommen, im Vergleich zu retinierten Weisheitszähnen, die post eruptiven Einflüsse noch hinzu. Demnach ist die starke Streuung nicht durch Erhöhung der Probenanzahl und Messungen pro Probe zu verringern.

Die Oberflächenveränderungen nach der Profilometermessung konnten mit CLSM sichtbar gemacht werden. Der Taster des Profilometers hinterlässt auf den erodierten Bereichen der Proben eine Messspur, er ebnet die Oberfläche der erodierten Bereiche ein. Die Tiefe der Messspuren ist messbar. Bei gleicher Auflagekraft hinterlässt der Taster des Profilometers Messspuren unterschiedlicher Tiefe: Mit steigender Erosionszeit hinterlässt das Profilometer beim Abtasten der Proben eine tiefere Messspur. Die Tiefe des erweichten Teils der Schmelzoberfläche nimmt mit steigender Erosionszeit zu. Streuungen der Messwerte nehmen mit der Erosionszeit zu. Die Profilometermessspur ist vom Prismenzentrum aus gemessen tiefer als von der Prismenperipherie aus gemessen. Dies spiegelt sich in dem charakteristischen Ätzmuster nach Säureeinwirkung wider.

Mit Hilfe der CLSM-Software ist es möglich, flächenhaften Substanzverlust zu ermitteln. Da die Studie ursprünglich nicht dazu ausgelegt war Volumenverluste zu

ermitteln, konnten nur wenige Messdateien zur Auswertung herangezogen werden. Referenzbereich und erodierter Bereich müssen bei allen Messungen gleich groß sein, die Proben müssen absolut planparallel sein. Für die Erstellung von Linienprofilen reicht eine annähernde Planparallelität aus. Aufgrund dieser Kriterien konnten 11 Messdateien hinsichtlich der Volumenverluste ausgewertet werden. Dabei war der erodierte Bereich 52 μm breit. Diese Auswahl kann nicht repräsentativ sein, gibt aber eine Tendenz wieder, die Gegenstand weiterer Studien sein sollte. Nachteilig wirkt sich auch die Tatsache aus, dass die Oberflächen bereits durch das Abtasten mit dem Profilometer verändert wurden. Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs und der großen Streuung der Werte um die Mittelwerte konnten signifikante Unterschiede im t-Test nur bei Verwendung einer sehr hohen Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,1$ nachgewiesen werden. Eine weitere Studie zur Ermittlung von Volumenverlusten könnte nach Optimierung der Probenpräparation und -weiterbehandlung signifikante Unterschiede nachweisen. Die Proben müssen absolut planparallel geschliffen bzw. poliert werden. Es ist eine absolut gerade Grenze zwischen Referenzebene und erodiertem Bereich zu schaffen. Hinsichtlich der einheitlichen Größe von Referenzebene und erodiertem Bereich im Messfeld jeder Messung müssen die mikroskopischen Aufnahmen standardisiert werden.

Zur Beantwortung der eingangs aufgestellten Hypothesen ist festzustellen:

- Nach 10, 20 und 30 Minuten Säureexposition verursacht 0,3%ige Zitronensäure (pH 3,2) eine Erosion des Zahnschmelzes von Milchzähnen.
- Es besteht ein Zusammenhang zwischen Erosionszeit und Erosionstiefe. Je länger die Erosionszeit, desto größer ist die mit Profilometer und CLSM gemessene Erosionstiefe.
- Destilliertes Wasser verursacht nach 10, 20 und 30 Minuten Exposition keine Erosion des Zahnschmelzes von Milchzähnen.
- Die in vitro erzeugten Erosionstiefen sind sowohl mit dem Profilometer FormTalysurf Serie 2 Laser (Taylor Hobson Ltd.) als auch mit dem konfokalen Laser Scanning Mikroskop LSM 510 META (Carl Zeiss) messbar.
- Die Profilometermessung verändert die Schmelzoberfläche. Der Taster des Profilometers ebnet die Oberfläche der erodierten Bereiche ein, das charakteristische Ätzmuster kollabiert.
- Bei gleicher Auflagekraft hinterlässt der Taster des Profilometers Messspuren unterschiedlicher Tiefe: Je länger die Erosionszeit, desto tiefer ist die Profilometermessspur. Es kommt zur Oberflächendestruktion und Oberflächenpressung. Deshalb ist die Profilometrie zur Ermittlung von Profiltiefen auf durch Erosion erweichten Oberflächen ungeeignet. Optische Verfahren wie CLSM oder Verfahren zur mechanischen Abtastung von Oberflächen und Messung atomarer Kräfte auf der Nanometerskala wie AFM sind zu bevorzugen. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse von optischen und taktilen Messungen ist eingeschränkt.
- Mit CLSM ermittelte Erosionstiefen sind geringer als die mit Profilometer ermittelten Erosionstiefen.

- CLSM ist ein geeignetes Verfahren zur Ermittlung der Erosionstiefen an Linienprofilen und Flächenprofilen und zur Ermittlung von Volumenverlust nach Erosion. Zur Volumenverlustermittlung ist eine Optimierung der Probenpräparation und -weiterbehandlung (Planparallelität, Kleben des Tapes) notwendig.
- Mit CLSM können auch Veränderungen nach kürzeren Erosionszeiten sichtbar gemacht werden. Nach Meurman et al. (1990) führt eine 5-minütige Einwirkzeit eines sauren Getränkes zu einer messbaren Erweichung von Zahnschmelz, während kürzere Einwirkzeiten keine signifikanten Härteveränderungen bewirken. Gewöhnlich neutralisiert sich der pH-Wert der Mundflüssigkeiten innerhalb von ein bis drei Minuten nach Aufnahme eines sauren Getränkes (Imfeld 1983, Meurman et al. 1987). Manchmal kann aber der saure pH-Wert auch vier bis zehn Minuten in der Mundhöhle anhalten (Imfeld 1983). Die weitere Reduktion der Erosionszeit sollte aufgrund der klinischen Relevanz Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

7 Schlussfolgerungen

Zusammenfassend hat die vorliegende In-vitro-Studie zeigen können, dass sowohl mit dem Profilometer FormTalysurf Serie 2 Laser (Taylor Hobson Ltd.), als auch dem konfokalen Laser Scanning Mikroskop LSM 510 META (Carl Zeiss) die Erfassung von Gestaltabweichungen (Rauheit, Welligkeit, Formabweichung) von Zahnoberflächen möglich ist.

Die Vorteile der Profilometrie liegen in der großen Genauigkeit der Messmethode, die durch die Auswertung unterschiedlicher Kenngrößen eine exakte Quantifizierung von Oberflächenrauigkeiten ermöglicht. Allerdings führt das mechanische Abtasten der mit 0,3%iger Zitronensäure (pH 3,2) erodierten Proben zu Oberflächendestruktion und Oberflächenpressung und beides führt zu Messungenauigkeiten. Aus diesem Grund ist die Profilometrie zur Erfassung von Gestaltabweichungen an durch Erosion erweichten Oberflächen ungeeignet. Die zeilenartige Abtastung der zu messenden Oberfläche ist ebenfalls als Nachteil der profilometrischen Untersuchung anzusehen, eine flächenhafte Erfassung ist nur näherungsweise durch mehrere parallele Tastschritte möglich.

Die Vorteile des konfokalen Laser Scanning Mikroskops (CLSM) liegen in der berührungslosen Abtastung der zu messenden Oberfläche. So lassen sich Destruktionen auf der durch Erosion erweichten Zahnoberfläche vermeiden, wie sie bereits nach einmaliger Abtastung unter Oberflächenkontakt mit einem mechanischen Taster nachweisbar sind. Mit dem CLSM ist eine flächenhafte Erfassung der zu messenden Oberfläche mit großer Genauigkeit möglich.

Das verwendete Tastsystem, mechanische Tastspitze oder Laser, hat starken Einfluss auf die Größe der gemessenen Rautiefen, was den Vergleich der Untersuchungsergebnisse einschränkt.

Vorausschauend auf folgende Studien wird vorgeschlagen, die Parameter für die Erosionsversuche in Anlehnung an die Verhältnisse in der Mundhöhle zu verändern, z. B.:

Durch die Erhöhung der Temperatur auf 37 °C entsprechend der Körpertemperatur wird mehr Erosion erwartet. West et al. (2000) haben die Abhängigkeit der Erosionstiefe von der Temperatur nachgewiesen.

Die Verteilung von mehreren kurzen Erosionszeiten über den Tag würde den Haupt- und Zwischenmahlzeiten entsprechen. Es könnte so ein Wechsel zwischen saurem und neutralem pH-Wert nachgeahmt werden.

Bei Anwesenheit von künstlichem Speichel wird ein abschwächender Effekt der erosiven Wirkung saurer Substanzen durch die Pufferkapazität und Verdünnungseffekte des Speichels sowie Freisetzung von Calcium- und Phosphationen erwartet.

Um In-vivo-Verhältnissen näher zu kommen, sollte versucht werden, die Proben nicht mehr zu polieren, sondern natürlichen (unpolierten) Zahnschmelz zu verwenden. So ist eine geringere Erosion zu erwarten, da unpolierter Schmelz säureresistenter ist. Polierte Proben sind weniger säureresistent, da sich der Mineralgehalt in der Tiefe verändert.

Die Remineralisation erweichter Schmelzareale durch Anwendung von Fluoriden könnte ebenfalls Bestandteil weiterer Untersuchungen sein.

Messungen in gleicher Art und Weise (Stufenhöhen und Volumenverluste) sollten mit retinierten Weisheitszähnen durchgeführt werden. Eine geringere Streuung der Messwerte wird aufgrund der homogeneren Materialeigenschaften erwartet. Beim Vergleich der Werte mit den Milchzahnergebnissen wird ein geringerer Materialverlust bei retinierten Weisheitszähnen erwartet, da Milchzähne mehr aprismatischen Schmelz besitzen und deshalb weniger säureresistent sind.

Den In-vitro-Untersuchungen sollten In-situ-Untersuchungen folgen, bei denen die Proben an herausnehmbaren Apparaturen befestigt werden (vgl. Hughes et al. 1998, 1999).

Literaturverzeichnis

Al Dlaigan YH, Shaw L, Smith A. 2001. Dental erosion in a group of British 14-year-old, school children. Part I: Prevalence and influence of differing socioeconomic backgrounds. *Brit Dent J*, 190(3):145-149.

Al Dlaigan YH, Shaw L, Smith A. 2001. Dental erosion in a group of British 14-year-old school children Part II: Influence of dietary intake. *Brit Dent J*, 190(5):258-261.

Al Dlaigan YH, Shaw L, Smith AJ. 2002. Dental erosion in a group of British 14-year-old, school children. Part III: Influence of oral hygiene practises. *Brit Dent J*, 192(9):526-530.

Asher C, Read MJF. 1987. Early Enamel Erosion in Children Associated with the Excessive Consumption of Citric-Acid. *Brit Dent J*, 162(10):384-387.

Attin T, Koidl U, Buchalla W, Schaller HG, Kielbassa AM, Hellwig E. 1997. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Arch Oral Biol*, 42(3):243-250.

Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. 2003. Human enamel dissolution in citric acid as a function of pH in the range $2.30 \leq \text{pH} \leq 6.30$ - a nanoindentation study. *Eur J Oral Sci*, 111(3):258-262.

Barbour ME, Parker DM, Allen GC, Jandt KD. 2005. Human enamel erosion in constant composition citric acid solutions as a function of degree of saturation with respect to hydroxyapatite. *J Oral Rehabil*, 32(1):16-21.

Bekes K. 2006. Verlust von Zahnhartsubstanz durch Erosion und Abnutzung – Ursachen, Erscheinungsbilder und Therapien. *Zahnärzteblatt Sachsen*, 17(01): 23-27.

Benedict HC, Kanthak FF. 1932. Solubility of Dental Enamel in Various Buffered Solutions. *J Dent Res*, 12:277.

Dahshan A, Patel H, Delaney J, Wuerth A, Thomas R, Tolia V. 2002. Gastroesophageal reflux disease and dental erosion in children. *J Pediatr*, 140(4):474-478.

Davis WB, Winter PJ. 1980. The effect of abrasion on enamel and dentine after exposure to dietary acid. *Brit Dent J*, 148:253-256.

Eccles JD. 1979. Dental erosions of nonindustrial origin. A clinical survey and classification. *J Prosthet Dent*, 42:649-653.

Eisenburger M, Shellis RP, Addy M. 2003. Comparative study of wear of enamel induced by alternating and simultaneous combinations of abrasion and erosion in vitro. *Caries Res*, 37(6):450-455.

Eisenburger M, Addy M. 2003. Influence of liquid temperature and flow rate on enamel erosion and surface softening. *J Oral Rehabil*, 30(11):1076-1080.

Featherstone JDB, Mellberg JR. 1981. Relative rates of progress of artificial carious lesions in bovine, ovine and human enamel. *Caries Res*, 15:109-114.

Finke M, Jandt KD, Parker DM. 2000. The Early Stages of Native Enamel Dissolution Studied with Atomic Force Microscopy. *J Colloid Interf Sci*, 232:156-164.

Finke M, Hughes JA, Parker DM, Jandt KD. 2001. Mechanical properties of in situ demineralised human enamel measured by AFM nanoindentation. *Surf Sci*, 491(3):456-467.

Fontana M, Li Y, Dunipace AJ, Noblitt TW, Fischer G, Katz BP, Stookey GK. 1996. Measurement of enamel demineralization using microradiography and confocal microscopy - A correlational study. *Caries Res*, 30(5):317-325.

Ganss C, Klimek J, Schwarz N. 2000. A comparative profilometric in vitro study of the susceptibility of polished and natural human enamel and dentine surfaces to erosive demineralization. *Arch Oral Biol*, 45(10):897-902.

Ganss C, Klimek J, Giese K. 2001. Dental erosion in children and adolescents - a cross-sectional and longitudinal investigation using study models. *Community Dent Oral Epidemiol*, 29(4):264-271.

Gängler P. 1995. *Lehrbuch der konservierenden Zahnheilkunde*. 3. Auflage. Berlin/Wiesbaden: Ullstein Mosby GmbH & Co.KG.

Gonzalez-Cabezas C, Fontana M, Dunipace AJ, Li Y, Fischer GM, Proskin HM, Stookey GK. 1998. Measurement of enamel remineralization using microradiography and confocal microscopy - A correlational study. *Caries Res*, 32(5):385-392.

Grando LJ, Tames DR, Cardoso AC, Gabilan NH. 1996. In vitro study of enamel erosion caused by soft drinks and lemon juice in deciduous teeth analysed by stereomicroscopy and scanning electron microscopy. *Caries Res*, 30(5):373-378.

Gwinnett AJ. 1966. The ultrastructure of the „prismless“ enamel of deciduous teeth. *Arch Oral Biol*, 11(11):1109-1115.

Hay DI, Pinsent BRW, Schram CJ, Wagg BJ. 1962. *Brit Dent J*, 112:283-287.

Head. 1910. Enamel softening and rehardening as a factor in erosion. *Dent Cosmos*, 52:46-48.

Helmich R. 2003. SEM-Aufnahmen der Schmelzoberfläche bleibender Zähne nach Säurebehandlung. Jena: Friedrich-Schiller-Universität (Institut für Materialwissenschaft und Werkstofftechnologie).

Hondrum SO, Fernandez R jr. 1997. Contouring, finishing and polishing class 5 restorative materials. *Oper Dent*, 22:30-36.

Hommelwerke GmbH. 2002. Oberflächen-Messsysteme für Produktion und Messraum - Oberflächenkenngrößen und Messbedingungen. VS-Schwenningen.

Hooper S, West NX, Sharif N, Smith S, North M, De'Ath J, Parker DM, Roedig-Penman A, Addy M. 2004. A comparison of enamel erosion by a new sports drink compared to two proprietary products: a controlled, crossover study in situ. *J Dent*, 32(7):541-545.

Hotz PR. 1987. Erosion des Zahnschmelzes. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 97:219-222.

Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. 1999. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink in vitro and in situ - 1. Comparison with orange juice. *J Dent Res*, 27:285-289.

Hughes JA, West NX, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. 1999. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 3. Final drink and concentrate, formulae comparisons in situ and overview of the concept. *J Dent*, 27:345-350.

Hughes JA, Hunter ML, West NX, Newcombe RG, Addy M. 1999. Susceptibility of deciduous and permanent dental hard tissues to erosion in vitro. *J Dent Res*, 78(5):1083.

Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. 2000. Erosion of deciduous and permanent dental hard tissue in the oral environment. *J Dent*, 28(4):257-263.

Hunter ML, West NX, Hughes JA, Newcombe RG, Addy M. 2000. Relative susceptibility of deciduous and permanent dental hard tissues to erosion by a low pH fruit drink in vitro. *J Dent* 28 (4), 265-270.

Imfeld T. 1983. Identification of low caries risk dietary components. Basel: Karger. 165-174.

Iijima Y, Takagi O, Duschner H, Ruben J, Arends J. 1998. Influence of nail varnish on the remineralization of enamel single sections assessed by microradiography and confocal laser scanning microscopy. *Caries Res* 32 (5), 393-400.

Jandt KD. 2005. Was passiert bei der Zahnschmelzerosion?. *Thüringer Zahnärzteblatt*, 15(05):23-27.

Johansson IAK, Sorvari R, Birkhed D, Meurman JH. 2001. Dental erosion in deciduous teeth - an in vivo and in vitro study. *J Dent*, 29(5):333-340.

Jung M. 1998. Ausarbeitung und Politur von laborgefertigten Keramik- und Kompositinlays in-vitro und in-vivo [Dissertation]. Gießen: Justus-Liebig-Universität.

Kamseder C. 2004. Konfokale Mikroskopie [Seminarvortrag]. Regensburg: Universität Regensburg.

Kullmann W. 1985. Die Oberflächenbeschaffenheit so genannter Hybrid-Komposite. *Dtsch Zahnärztl Z*, 40:915-921.

Larsen MJ. 1973. Dissolution of enamel. *Scand J Dent Res*, 81:518-522.

Linkenheld C. 2000. Numerische Apertur und Auflösung. In: www.mikroskopie.de.

Linnett V, Seow WK, Connor F, Shepherd R. 2002. Oral health of children with gastro-esophageal reflux disease: A controlled study. *Aust Dent J*, 47(2):156-162.

Lippert F, Parker DM, Jandt KD. 2004. Susceptibility of deciduous and permanent enamel to dietary acid-induced erosion studied with atomic force microscopy nanoindentation. *Eur J Oral Sci*, 112(1):61-66.

Lippert F, Parker DM, Jandt KD. 2004. In vitro demineralization/remineralization cycles at human tooth enamel surfaces investigated by AFM and nanoindentation. *J Colloid Interf Sci*, 280(2):442-448.

Lussi A, Schaffner M, Hotz P, Suter P. 1991. Dental erosion in a population of Swiss adults. *Community Dent Oral Epidemiol*, 19:286-290.

Lussi A, Jaggi T, Scharer S. 1993. The Influence of Different Factors on In-Vitro Enamel Erosion. *Caries Res*, 27(5):387-393.

Lussi A, Kohler N, Zero D, Schaffner M, Megert B. 2000. A comparison of the erosive potential of different beverages in primary and permanent teeth using an in vitro model. *Eur J Oral Sci*, 108(2):110-114.

Maupome G, Diez-de-Bonilla J, Torres-Villasenor G, Andrade-Delgado LD, Castano VM. 1998. In vitro quantitative assessment of enamel microhardness after exposure to eroding immersion in a cola drink. *Caries Res*, 32(2):148-153.

Meurman JH, Rytömaa I, Kari K, Laakso T, Murtomaa H. 1987. Salivary pH and glucose after consuming various beverages, including sugar-containing drinks. *Caries Res*, 21:353-359.

Meurman JH, Härkönen M, Näveri H, Koskinen J, Torkko H, Rytömaa I, Järvinen V, Turunen R. 1990. Experimental sports drinks with minimal dental erosion effect. *Scand J Dent Res*, 98:120-128.

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

Meurman JH, ten Cate JM. 1996. Pathogenesis and modifying factors of dental erosion. *Eur J Oral Sci*, 104:199-206.

Millward A, Shaw L, Smith A. 1994. Dental Erosion in 4-Year-Old Children from Differing Socioeconomic Backgrounds. *J Dent Child*, 61(4):263-266.

Millward A, Shaw L, Smith AJ, Rippin JW, Harrington E. 1994. The distribution and severity of tooth wear and the relationship between erosion and dietary constituents in a group of children. *Int J Pediat Dent*, 4:151-157.

Mortimer KV. 1970. The relationship of deciduous enamel structure to dental disease. *Caries Res*, 4:206-223.

Muthmann I et al. 2007. Giftige Softdrinks?. In: www.zentrum-der-gesundheit.de. Sinsheim: Zentrum der Gesundheit, Gesellschaft für Ernährungsheilkunde GmbH.

Naujoks R, Schade H, Zelinka F. 1967. Chemical composition of different areas of the enamel of deciduous and permanent teeth: The content of Ca, P, CO₂, Na and N₂. *Caries Res*, 1:137-143.

Nelson. 1983. Effect of Carbonate and Fluoride on the Dissolution Behavior of Synthetic Apatites. *Caries Res*, 17:200-211.

Noack MJ. 1989. REM-Untersuchungen an Erosionen der Zahnhartsubstanzen in vivo. *Dtsch Zahnärztl Z*, 44:517-520.

Parker DM, Finke M, Addy M, Hughes JA, Macdonald E, Jandt KD. 1998. Preliminary investigation of measuring enamel erosion with atomic force microscopy (abstract 1708). *J Dent Res*, 77(special issue B):845.

Paulson RB. 1981. Scanning electron microscopy of enamel tuft development in human deciduous teeth. *Arch Oral Biol*, 26(2):103-109.

Pelka M, Krämer N, Kunzelmann KH. 1993. Oberflächenveränderungen verschiedener Modelmaterialien durch mechanische Profilometrie. *Dtsch Zahnärztl Z*, 48:488-491.

Pindborg JJ. 1970. Pathology of the dental hard tissues. Copenhagen: Munksgaard. 312-325.

Robinson C, Kirkham J, Shore R. 1995. Dental enamel: formation to destruction. Boca Raton, FL: CRC Press. 1-243.

Rugg-Gunn AJ, Maguire A, Gordon PH, McCabe JF, Stephenson G. 1998. Comparison of erosion of dental enamel by four drinks using an intra-oral appliance. Caries Res, 32(5):337-343.

Rytomaa I, Meurman JH, Koskinen J, Laakso T, Gharazi L, Turunen R. 1988. Invitro Erosion of bovine enamel caused by acidic drinks and other foodstuffs. Scand J Dent Res, 96(4):324-333.

Schmidt N, Ganß C, Klimek J. 2003. Ätiologie, Epidemiologie und Therapie von Erosionen. Oralprophylaxe, 25:101-109.

Schroeder P et al. 2005. Prokopfverbrauch Erfrischungsgetränke. In: www.wafg.de. Berlin: Wirtschaftsvereinigung Alkoholfreie Getränke e.V., VDM, VdF.

Schumacher GH. 1997. Anatomie für Zahnmediziner. 3. Auflage. Heidelberg: Hüthig GmbH.

Schuster FJ. 2003. In vitro Untersuchung zum Einfluss von Fluorid und Milch auf die erosive Demineralisation des menschlichen Zahnschmelzes mit zwei unterschiedlichen Analysemethoden [Dissertation]. Gießen: Justus-Liebig-Universität

Schweitzer-Hirt CM, Schait A, Schmid R, Imfeld T, Lutz F, Mühlemann HR. 1978. Erosion und Abrasion des Schmelzes. Eine experimentelle Studie. Schweiz Monatsschr Zahnmed, 88:497-529.

Shaw L, Weatherill S, Smith A. 1998. Tooth wear in children: An investigation of etiological factors in children with cerebral palsy and gastroesophageal reflux. *J Dent Child*, 65(6):484-486.

Shellis RP. 1984. Relationship between human enamel structure and the formation of caries-like lesions. *Arch Oral Biol*, 29:975-981.

Shellis RP, Lee AR, Wilson RM. 1999. Observations on the Apparent Solubility of Carbonate–Apatites. *J Colloid Interf Sci*, 218(2):351-358.

Silverstone LM, Saxton CA, Dogon IL, Fejerskov O. 1975. Variation in Pattern of Acid Etching of Human Dental Enamel Examined by Scanning Electron-Microscopy. *Caries Res*, 9(5):373-387.

Smith IAJ, Shaw L. 1987. Baby Fruit Juices and Tooth Erosion. *Brit Dent J*, 162(2):65-67.

Splieth C. 2002. *Kinderzahnheilkunde in der Praxis*. Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH.

Stöhr U. 2004. *Untersuchungen zur Rauheitsmessung mittels konfokaler Lasermikroskopie [Praktikumsarbeit]*. Freiburg: Albert-Ludwigs-Universität.

Strippel H. 2004. *Gesundheitsaufklärung bei Kinderarzt und Zahnarzt. Interventionsstudie zur Effektivität der Primärprävention von Nuckelflaschenkaries*. Weinheim und München: Juventa Verlag.

Takeuchi K, Nakagaki H, Toyama G, Kimata N, Ito F, Robinson C, Weatherell JA, Stosser L, Kunzel W. 1996. Fluoride concentrations and distribution in premolars of children from low and optimal fluoride areas. *Caries Res*, 30:76-82.

Theuns HM, van Dijk JWE, Driessens FCM, Groeneveld A. 1985. Effect of time, degree of saturation, pH and acid concentration of buffer solutions on the rate of in-vitro demineralization of human enamel. *Arch Oral Biol*, 30:37-42.

Tjan AHL, Chan CA. 1989. The polishability of posterior composites. *J Prosthet Dent*, 61:138-146.

West NX, Hughes JA, Parker DM, Newcombe RG, Addy M. 1999. Development and evaluation of a low erosive blackcurrant juice drink 2. Comparison with a conventional blackcurrant juice drink and orange juice. *J Dent*, 27:341-344.

West NX, Hughes JA, Addy M. 2000. Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time. *J Oral Rehabil*, 27:875-880.

West NX, Hughes JA, Addy M. 2001. The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro. *J Oral Rehabil*, 28(9):860-864.

Zhang XZ, Anderson P, Dowker SEP, Elliott JC. 2000. Optical profilometric study of changes in surface roughness of enamel during in vitro demineralization. *Caries Res*, 34(2):164-174.

Anhang

Anschreiben an die Eltern und Fragebogen

!!! Mithilfe für Doktorarbeit gesucht !!!

Liebe Eltern,

ich, Katrin Flemming, bin Student der Zahnmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität Jena. Im Rahmen einer wissenschaftlichen Studie hoffe ich auf Ihre Unterstützung:

Ihr Kind befindet sich im Zahnwechsel und die Milchzähne werden durch bleibende Zähne ersetzt. Falls sie einen oder mehrere dieser herausgefallenen Milchzähne entbehren können, bitten wir sie diesen Zahn /diese Zähne einer Studie über die Wirkung von verschiedenen Getränken auf Milchzähne zur Verfügung zu stellen und den zugehörigen Fragebogen auszufüllen.

Für Ihre Bemühungen bedanke ich mich im Voraus.

Mit freundlichen Grüßen

Katrin Flemming

Fragebogen

(nur von Erziehungsberechtigten auszufüllen)

Name, Vorname: _____ (Bitte immer angeben für Rückfragen)

Adresse: _____

Telefon: _____

Geburtsjahr: _____

Geschlecht: weiblich männlich

Wann wurde der Milchzahn verloren (ca. Monat / Jahr)? _____

Wie ist der Milchzahn verloren gegangen?

- von allein / beim Essen herausgefallen
- selbst gezogen
- gezogen von: _____
- sonstiges: _____

Welche Getränke nimmt ihr Kind regelmäßig zu sich? (bitte ankreuzen welches u. wie viel davon)

	1 - 3 Gläser (0,2 l) am Tag	3 - 6	mehr als 6
Cola	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Limo	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fruchtsaft	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tee mit Zucker	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tee ohne Zucker	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Wasser	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
andere: _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Persönliche Angaben werden vertraulich behandelt und dienen lediglich der Dokumentation, nicht der Veröffentlichung!

Einverständniserklärung

Ich/Wir erkläre/n mich/uns einverstanden, dass der Milchzahn meines/unseres Kindes für wissenschaftliche Zwecke verwendet wird.

Unterschrift des/der Erziehungsberechtigten: _____

Parameter R_q und P_t

Statistisch betrachtet ist R_a zugleich die mittlere arithmetische Abweichung der Rauheits-Ordinatenwerte von der Mittellinie. Die Aussagekraft von R_a ist gering. R_a reagiert unempfindlich gegenüber extremen Profilspitzen und -tälern. Deshalb wird zur Auswertung der Oberflächenrauigkeit der Parameter R_q herangezogen. Als mittlere quadratische Abweichung der Rauheits-Ordinatenwerte von der Mittellinie entspricht R_q der Standardabweichung der Profilordinaten und ist demnach statistisch wesentlich repräsentativer als R_a .

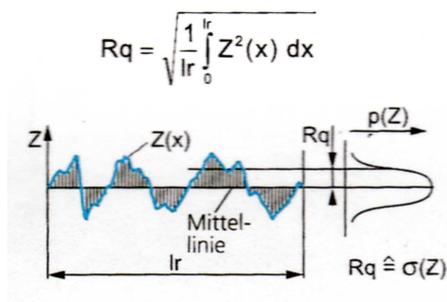


Abb. 29: Quadratischer Mittenrauhwert (Hommelwerke GmbH 2002).

Nach DIN EN ISO 4287 gelten alle Kenngrößen-Definitionen sowohl für das Rauheitsprofil als auch für das Primär- und das Welligkeitsprofil.

Die Gesamthöhe P_t des Primärprofils ist definiert als Summe aus der Höhe der größten Profilspitze und der Tiefe des größten Profiltales innerhalb der Auswertelänge (Hommelwerke GmbH 2002).

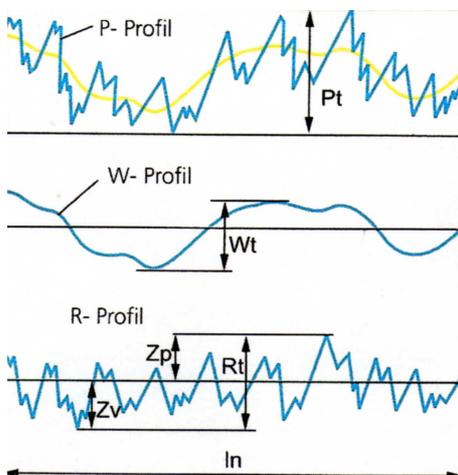


Abb. 30: Oberflächenprofile – Gesamthöhe des Profils (Hommelwerke GmbH 2002).

Numerische Apertur

Das Auflösungsvermögen eines Objektivs ist davon abhängig, wie viel Licht von einer Struktur des Präparates in das Objektiv gelangt. Diese Lichtmenge ist wiederum abhängig vom so genannten Öffnungswinkel des entsprechenden Objektivs. Je größer der Öffnungswinkel ist, desto besser löst ein Objektiv Details eines Präparates auf. Wie gut ein Objektiv Details auflöst hängt neben dem Öffnungswinkel auch von der Brechzahl des Mediums (Brechzahl von Luft beträgt 1,0003) zwischen Präparat und Objektiv ab. Die numerische Apertur wird wie folgt definiert:

$$A = n \cdot \sin\sigma$$

A: numerische Apertur

n: Brechzahl des Mediums zwischen Präparat und Frontlinse des Objektivs

σ : halber Öffnungswinkel des Objektivs

Die numerische Apertur ist das Produkt aus der Brechzahl n des Mediums zwischen Präparat und Frontlinse des Objektivs, und dem Sinus des Brechungswinkels σ . Je höher der Wert für die numerische Apertur ist, desto größer ist auch das Auflösungsvermögen eines Objektivs (Linkenheld C 2000).

Danksagung

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Eike Glockmann, der mir das Thema überließ, sowie Herrn Prof. Dr. Klaus D. Jandt für die großzügige Bereitstellung von Materialien und Messgeräten. Weiterhin möchte ich der gesamten Arbeitsgruppe um Herrn Prof. Dr. Klaus D. Jandt für die wissenschaftlichen Gespräche und Klärung von Fragen und Problemen in den Arbeitsgruppenbesprechungen danken.

Ein spezielles Dankeschön gilt dabei Frau Ines Thiele für die große Unterstützung bei der Probenherstellung, insbesondere der Probenpolitur, Herrn Dipl.-Ing. Rainer Helmich für die Anfertigung der SEM-Aufnahmen, Herrn Dr. Vinoy Thomas für die Unterstützung bei der Chemikalienherstellung, Herrn Jürgen Hempel für die Hilfe bei den CLSM-Messungen, sowie Herrn Ralf Wagner für die Unterstützung bei technischen Problemen.

Besonders möchte ich mich auch bei Herrn Dr.-Ing. habil. Volker Herold für die Zeit und Geduld bei der Durchführung der Profilometermessungen und deren Auswertung bedanken, sowie bei Herrn Dipl.-Ing. Andreas Koch für die Einführung in das Thema Profilometrie.

Ein spezielles Dankeschön gilt Frau Ina Schlimper, Leiterin Grundschule Wilkau-Haßlau, und ihrem Team, Frau Annelore Littmann, ehem. Leiterin Kita Pustebblume Glauchau, und ihrem Team und dem Team der Zahnarztpraxis Dres. Leike in Jena für die Bereitstellung der Milchzähne, sowie allen privaten „Spendern“.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Anja Horn bedanken, die mir beim Aquirieren und Erfassen der Zähne, sowie bei der Probenpräparation hilfreich zur Seite stand.

Ein besonderer Dank gilt meiner Schwester Anett Flemming und meiner Mutter Marlies Flemming für die wertvollen Tipps bei der Formatierung, für die Durchsicht und Korrektur meiner Arbeit.

Schließlich gilt mein ganz besonderer Dank meinem Lebensgefährten René Friedrich, meiner Familie, meinem Arbeitgeber und meinen Arbeitskollegen, die mir jeder Zeit mit Verständnis und moralischer Unterstützung zur Seite standen.

Katrin Flemming

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes unterstützt haben:

Prof. Dr. med. dent. Habil. E. Glockmann,

Prof. Dr. rer. nat. Dipl.-Phys. K. D. Jandt,

Herrn Dr.-Ing. habil. Volker Herold;

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Glauchau, den 18.02.2009

Katrin Flemming