

Aus der Poliklinik für Kieferorthopädie  
der Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Unterschiede im Schmelzaufbau und Mineralgehalt bei bukkalem und lingualem  
Zahnschmelz:  
Eine in vitro Studie

Inauguraldissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Zahnmedizin  
der Universitätsmedizin  
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Vorgelegt von

Mirjam Johanna van Eickels  
aus Münster (Westf.)

Mainz, 2020

Tag der Promotion:

08. Dezember 2020

„Und sie schlug auf die Pauke  
und alle Frauen zogen mit ihr,  
tanzend und mit Tamburinen“  
(vgl. 2. Mo 15,20)

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis .....	i
Abbildungsverzeichnis.....	iii
1. Einleitung.....	1
2. Literaturübersicht.....	4
2.1. Aufbau des menschlichen Zahnschmelz .....	4
2.2. Zahnhartsubstanzveränderungen.....	7
2.2.1. Karies .....	7
2.2.2. Erosion .....	10
2.2.3. Attrition .....	12
2.2.4. Abrasion .....	13
2.2.5. Abfraktion .....	14
2.3. Aufarbeitung bisheriger Studien zu Eigenschaften der Zahnschmelz .....	15
2.3.1. (Mikro-) Struktur und Prismenausrichtung .....	15
2.3.2. Physikalische/mechanische Eigenschaften .....	17
2.3.2.1. Dichte .....	17
2.3.2.2. Härte.....	19
2.3.3. Mineralgehalt.....	20
2.4. Einflussfaktoren auf den Zahnschmelz.....	30
2.4.1. Speichel.....	30
2.4.2. Zahnfehlstellungen .....	31
2.4.3. Ernährung.....	32
3. Material und Methode.....	34
3.1. Material.....	34
3.1.1. Auswahl der Proben .....	34
3.2. Methode .....	35
3.2.1. Herstellung der Zahnschnitte.....	35
3.2.2. Politur der Zahnschnitte.....	36
3.2.3. Einbetten der Zahnschnitte.....	38
3.2.4. ICP-MS mit Laserablation (induktiv-gekoppelte Massenspektrometrie mit Laserablation).....	40
3.2.5. Elektronenstrahl-Mikrosonde (JXA, Jeol, Eching bei München, Deutschland) .....	42
3.2.6. Statistische Auswertung .....	43
4. Ergebnisse .....	45

4.1. Allgemeines.....	45
4.2. Vergleich bukkal – lingual.....	46
4.3. Vergleich der Zahngruppen.....	53
4.4. Veränderungen im Zahninneren.....	58
5. Diskussion.....	63
5.1. Kritische Betrachtung der eigenen Untersuchung.....	63
5.2. Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Erkenntnissen aus der Literatur.....	66
6. Zusammenfassung.....	73
7. Literaturverzeichnis.....	74

## Abkürzungsverzeichnis

%wt .....	<i>Gewichtsprozent</i>
Ag.....	Silber
Al.....	Aluminium
Ar.....	<i>Argon</i>
Au.....	Gold
Ba.....	Barium
Br.....	Brom
bzw.....	beziehungsweise
Ca.....	<i>Kalzium</i>
Cd.....	Cadmium
Cl.....	Chlor
Co.....	Cobalt
CO <sub>2</sub> .....	Kohlenstoffdioxid
Cr .....	Chrom
Cu.....	Kupfer
DAI .....	Dental Aesthetic Index
DMFT .....	Decayed/Missing/Filled Teeth
EDS.....	<i>energiedispersive Analytik</i>
F .....	Fluor
Fe.....	Eisen
He.....	<i>Helium</i>
K .....	Kalium
KHN.....	<i>Knoop Härte Nummer</i>
LA-ICP-MS .....	Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry mit Laserablation
Mg .....	Magnesium, Magnesium
Mn .....	Mangan
Na.....	Natrium
nm .....	<i>Nanometer</i>
OH-Gruppe.....	<i>Hydroxygruppe</i>
Pb.....	Blei
ppm .....	parts per million
Rb.....	Rubidium

S .....	Schwefel
Si .....	Silicium
Sn .....	Zinn
Sr .....	Strontium, Strontium
V .....	Vanadium
Vol % .....	Volumenprozent
W .....	Wolfram
WDS .....	<i>wellendispersive Analytik</i>
z.B. ....	<i>zum Beispiel</i>
z.T. ....	<i>zum Teil</i>
Zn .....	Zink

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Diamantierte Horico Diaflex Scheibe zur Trennung der Zahnkrone.....	36
Abbildung 2 Poliervorrichtung mit diamant-ingesinterter Bronzescheibe und Wasserkühlung für den ersten Politurschritt.....	37
Abbildung 3 Diamant-ingesinterter Bronzescheibe.....	37
Abbildung 4 Poliervorrichtung zur Hochglanzpolitur.....	38
Abbildung 5 Geöltes diamantiertes Poliertuch mit Diamantierung von 1µm.....	38
Abbildung 6 In Kunststoff eingebettete Zahnschnitte nach Entfernen der Förmchenringe.....	39
Abbildung 7 Hochglanzpolierte Zahnschnitte, nach Einbetten in Kunststoffkörper und nach Entfernen aller Rückstände.....	40
Abbildung 8 Je fünf Messstellen in gleichen Abständen zueinander an drei der eingebetteten Zahnproben.....	41
Abbildung 9 Vergrößerung eines Zahnschnitts mit fünf der Messstellen für LA-ICP-MS.....	42
Abbildung 10 Verlaufskurven für die Magnesiumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm.....	50
Abbildung 11 Verlaufskurven für die Bariumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm.....	50
Abbildung 12 Verlaufskurven für die Siliziumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm.....	51
Abbildung 13 Verlaufskurven für die Strontiumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm.....	51
Abbildung 14 Verlaufskurven für die Bleiverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm.....	52
Abbildung 15 Verlaufskurven für die Kalziumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm.....	52
Abbildung 16 Verlaufskurven für die Magnesiumverteilung bei fünf Prämolaren.....	54
Abbildung 17 Verlaufskurve für die Magnesiumverteilung von einem Eckzahn.....	55
Abbildung 18 Verlaufskurven für die Magnesiumverteilung bei vier Molaren.....	55
Abbildung 19 Verlaufskurven für die Zinkverteilung bukkal und lingual für vier Prämolaren.....	56
Abbildung 20 Verlaufskurven für die Zinkverteilung lingual und bukkal für fünf Molaren.....	56



Abbildung 21 Verlaufskurven für die Zinkverteilung lingual und bukkal für einen Eckzahn .....	57
Abbildung 22 Darstellung der Verteilung von Magnesium in Gewichts-ppm in verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten .....	60
Abbildung 23 Darstellung der Verteilung von Barium in Gewichts-ppm in verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten .....	61
Abbildung 24 Darstellung der Verteilung von Strontium in Gewichts-ppm in verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten .....	61
Abbildung 25 Darstellung der Verteilung von Zink in Gewichts-ppm in fünf verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten .....	62
Abbildung 26 Darstellung der Verteilung von Silizium in Gewichts-ppm für fünf verschiedene Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten .....	62

# 1. Einleitung

Ausgereifter Zahnschmelz stellt die härteste Substanz des menschlichen Körpers dar (1, 2) und besteht zu 96%wt aus anorganischem und zu 4% aus organischem Material (2, 3) hauptsächlich aus Hydroxylapatit (3). Neben Hydroxylapatit werden jedoch auch kleinere Elemente gefunden wie u.a. Magnesium, Eisen, Strontium (4).

Ameloblasten bilden eine Schmelzmatrix, die in einer sogenannten prä- und posteruptiven Schmelzreifung mineralisiert. Porositäten zwischen Kristallen werden posteruptiv durch Aufnahme von Mineralien aus dem, den Zahn umgebenden Millieu ausgeglichen. Vorwiegend handelt es sich dabei um Kalzium und Phosphat (1).

Ab dem Zahndurchbruch ist der Zahn verschiedenen Einflussfaktoren ausgesetzt, die die Mineralzusammensetzung beeinflussen. Dazu gehört die individuelle und z.T. ethnisch bedingte Ernährung (1, 5), Umweltfaktoren wie Verschmutzung und Belastungen z.B. mit Schwermetallen (6), aber auch Wasserzusammensetzung, Kariesbefall und vorhandene Füllungen, sowie das Alter der Zähne (7-10). Dadurch kommt es zu Schwankungen der Elementanteile, unter anderem Fluorid, Eisen, Zinn, Chlor, Karbonat, Magnesium, Natrium betreffend (1), an verschiedenen Stellen des Zahns.

In diversen früheren Untersuchungen (4, 11-14) wurde bereits herausgefunden, dass die Struktur und der Aufbau innerhalb eines Zahnes variieren. So wurde äußerer und innerer, an der Schmelz-Dentin-Grenze gelegener Zahnschmelz untersucht und festgestellt, dass im äußeren Schmelz eine regelmäßige Prismenausrichtung auftritt (11) während weiter innen der Verlauf immer ungeordneter wird. Zudem nehmen Härte und Mineralgehalt in weiter innen gelegenen Schichten ab (11-14). Es lassen sich aber auch Unterschiede bezogen auf die Schmelzformation zwischen den verschiedenen Zahngruppen nachweisen, wie Castro (4) in seiner Studie beschreibt.

Abhängig von oben genannten Einflussfaktoren, wie der Ernährung oder dem Speichelfluss, ist der Schmelz besser oder schlechter mineralisiert und somit besser oder schlechter geschützt vor Kariesentstehung. Die Entwicklung von Karies wird durch Plaque begünstigt, bestehend aus Speichelbestandteilen, bakteriellen Stoffwechselprodukten, Nahrungsresten und Bakterienzellen. Diese Plaque führt dann, gerade bei hohem Angebot niedermolekularer Kohlehydrate, zu einer

Produktion von Säuren, die bei langem Einwirken besonders an Prädilektionsstellen zu Entmineralisierung von Zahnhartsubstanz, dem Schmelz, führen (1).

Van der Veen (15) hat in ihrer Studie überprüft, ob lingual geklebte Brackets bei Abschluss der Therapie mit einem geringeren Kariesaufkommen einhergehen als bukkal geklebte Brackets. Bezug nehmend auf Koroluk et al. (16), Muller et al. (17), Birkeland et al. (18) und Bjarnson et al. (19) die feststellten hatten, dass zum einen die Plaquemenge und zum anderen die Kariesinzidenz bukkal höher ist, war ihre Arbeitshypothese, dass daher die Kariesentstehung bei gleicher Behandlungsdauer lingual langsamer voranschreitet als bukkal. Auch van der Veen stellt in ihrer Studie die Vermutung an, dass dies Folge sowohl von kariesprotektiven und kariesbegünstigenden Faktoren ist, und bezieht unter anderem die bukkal und lingual differierende Oberflächenmorphologie als einen wichtigen Einflussfaktor ein (15).

Der Vergleich zwischen bukkalem und lingualem Schmelz wurde allerdings bisher noch in keiner Studie untersucht und ist in der Literatur nicht belegt

In der vorliegenden Arbeit wurde das Verfahren der Inductively coupled Plasma - Mass Spectrometry mit Laserablation (LA-ICP-MS) gewählt, welches eine mikromechanische Bestimmung und Analyse von Spurenelementkonzentrationen darstellt. Dabei wird mit einem hochenergetischen Laser Oberflächenmaterial der Probe abgetragen und mit Massenspektrometrie erfasst und ausgewertet. Diese Untersuchungsmethode gewährleistet ein hohes Level an Elementunterscheidungen.

Für die LA-ICP-MS-Methode wird ein interner Standardwert benötigt. In dieser Studie wurde Kalzium als interner Standard gewählt. Kalzium ist im Zahnschmelz deutlich vorhanden, so dass auch dafür die Messwerte interessierten. Aus diesem Grund wurde als zusätzliche Methode die Elektronenmikrostrahlsonde angewendet und so zusätzlich der Kalzium-Wert ermittelt.

Die Elektronenmikrostrahlsonde ist ein Verfahren, bei dem mit einem fokussierten Strahl Elektronen in inneren, atomkernnahen Schichten angeregt werden. Durch Hin- und Herspringen zwischen verschiedenen Bahnen wird eine elementspezifische Röntgenstrahlung emittiert, die mit verschiedenen Analyseverfahren spezifischen Elementmengen zugeordnet werden kann.

Das Ziel der vorliegenden in vitro Studie war es herauszufinden, ob es signifikante Unterschiede im Mineralgehalt zwischen lingualem und bukkalem Zahnschmelz gibt und welche Elemente besonders hervortreten.

Außerdem sollte die Probenauswahl den Vergleich der Spurenelementverteilung verschiedener Zahngruppen ermöglichen.

Für die Analyse wurde die induktiv gekoppelte Massenspektrometrie mit Laserablation und die Elektronenmikrostrahlsonde verwendet.

## 2. Literaturübersicht

### 2.1. Aufbau des menschlichen Zahnschmelz

Der menschliche Zahnschmelz stellt im ausgereiften Zustand die am stärksten mineralisierte und härteste Substanz, gleichzeitig aber auch das sprödeste Gewebe des Körpers dar (1, 20-22). Bis er diesen Zustand erreicht, unterliegt er diversen Veränderungen, Entwicklungs- und Reifungsprozessen.

Grundsätzlich ist der Zahnschmelz, der äußere Mantel der menschlichen Zahnkrone, das Produkt zellulärer Leistung und verkörpert ein nahezu rein kristallines Gefüge. Bei seiner Entstehung verlaufen diverse Prozesse parallel: Zum einen die Bildung der Schmelzmatrix und ihre initiale Mineralisation; zum anderen die Rückresorption der Matrix und (außerdem) die sekundäre Mineralisation und Reifung des kristallinen Gefüges (23).

Als Schmelzmatrix wird das Primärprodukt der Ameloblasten bezeichnet. Sie wird durch die Tomesfortsätze der Ameloblasten sezerniert und hat einen hohen nicht-kollagenen (23) Protein- und Kohlenhydratanteil. Diese Matrixsezernierung findet schubweise statt, wobei das Amelogenin die Anordnung und Ausrichtung der Hydroxylapatitkristalle steuert (20). In histologischen Schnitten kann eine typische Retzius-Streifung festgestellt werden, die den Jahresringen von Bäumen ähnelt. Sie kommt durch periodische Ruhephasen bei der Schmelzbildung oder durch physiologische Unterbrechungen während der Schmelzentwicklung zustande (1, 24). Die Mineralisation und Reifung der Schmelzmatrix (1) folgt sehr zeitig nach der Sezernierung. Es kommt zur Ausbildung von Apatitkristallen, die durch die Tomesfortsätze zu charakteristischen Prismenstäben angeordnet werden. In der Regel bilden ca. 100 Schmelzkristalle zusammengefügt einen im Querschnitt fast hexagonalen Prismenstab (1, 25). Die Prismenstäbe werden dabei in okkulozervikaler Richtung in Reihen übereinander angeordnet und können als Schlüsselloch- oder Hufeisen-Muster mikroskopisch dargestellt werden. Diese Konfigurationen entstehen dadurch, dass die Fortsätze sich wellenförmig bewegen und somit die Prismenstabreihen gegeneinander verschoben werden. Die Prismen mineralisieren durch die Kontrolle der Ca-Zufuhr und dem zunehmenden Kristall-Wachstum. Die Mineralisationsdichte nimmt zu (23) und die Kristalle wachsen auf eine Dicke von 20-60nm und eine Breite von 30-90 nm (26). Sobald die für einen bestimmten Zahn

vorbestimmte Schmelzdicke erreicht ist, verschwinden die Ameloblasten und Tomesfortsätze. Dadurch verschwindet auch die Anordnung der Kristalle in ihrer Prismenform, und es kann eine prismenfreie Schmelzschicht aufgefunden werden. Bei permanenten Zähnen geht diese Schicht infolge von Attrition und Abrasion jedoch relativ schnell verloren und kann nur selten an Glattflächen, durchaus aber noch für längere Zeit in interdentalen Zonen nachgewiesen werden (23). Neben den Retziusstreifen bedingt die Anordnung der Prismenstäbe noch weitere Charakteristika, die mikroskopisch und z.T. auch makroskopisch als Hunter-Schregersche Streifungen und als Perikymatien nachgewiesen werden können.

Die Schmelzreifung gliedert sich in eine präeruptive und eine posteruptive Reifungsphase (1). In der präeruptiven Phase werden zum einen Kalzium- und Phosphatverbindungen kristallisiert, zum anderen nimmt das Wachstum der Kristalle zu und das mineralisierte Gefüge verdichtet sich und erhärtet. Dies geht einher mit einer Volumenreduktion der organischen Matrix und einer Minderung des Wasseranteils (23). Während der posteruptiven Schmelzreifung werden Mineralien aus dem umliegenden Milieu in den Schmelz aufgenommen und Mikroporositäten zwischen Kristallen, die nach der präeruptiven Schmelzreifung verbleiben, werden ausgeglichen (1).

Im Verlauf des Reifungsprozesses verliert der Zahnschmelz über die Zeit einen Großteil des Wasseranteils. Die Proteine der organischen Matrix, die initial einen Anteil von 80% halten, werden mit Beginn der Schmelzkalzifizierung schnell verdrängt und durch Ameloblasten rückresorbiert (20), sodass 90% des Amelogenin verschwindet (25). Somit entwickelt sich die organische Matrix stark zurück, und befindet sich vorwiegend noch im inneren Drittel des Schmelzmantels (23). Dazu kann es durch äußere Einflussfaktoren zu Substitutionsprozessen kommen, die die Zusammensetzung des Schmelzes beeinflussen. Das Kristallgefüge verdichtet sich und mindert daraufhin ihre Permeabilität; zudem wird es mit dem Alter zusehends spröder und bruchanfälliger (23).

Der anorganische Anteil im Schmelz beträgt mit Abschluss der Reifung zwischen 93-98%wt (20), der Wasseranteil zwischen 1,4-4 % wt und der übrige Anteil setzt sich aus Proteinen, Lipiden und geringfügig Kohlehydraten (1, 3, 23) zusammen. Die anorganischen, kristallinen Bestandteile des reifen Schmelzes sind vorwiegend Kalzium und Phosphat, aber auch mit geringen Anteilen Natrium, Magnesium und Kalium. Infolge von Substitutionsvorgängen oder durch Aufnahme weiterer (Spuren-)

Elemente liegt Schmelzapatit in einer nicht stöchiometrischen Hydroxylapatit-Verbindung ( $\text{Ca}_{10}[\text{PO}_4]_6[\text{OH}]_2$ ) vor (25). Durch den Einbau von Fluor in das Kristallgitter des Apatits wird die Hydroxylgruppe ersetzt, und es kommt zur Entstehung von Fluorapatit. Fluorapatit unterscheidet sich, was chemische und physikalische Eigenschaften angeht, von Hydroxylapatit (25). Durch den Einbau kleinerer Fluor-Ionen anstelle der OH-Gruppe weist Fluorapatit eine stabilere Kristallgitterstruktur auf. Des Weiteren sinkt die Löslichkeit auf Säuren und die Remineralisationsrate steigt, wohingegen die Demineralisationsrate sinkt (25). Neben Fluor sind auch viele weitere Spurenelemente, bis zu 40 verschiedene (1, 25), zu finden, die in das Kristallgefüge aufgenommen werden. Diese entwickeln dabei eine unterschiedliche Wirkung auf das Kariesgeschehen. Neben Fluor haben außerdem, z.B. Vanadium, Mangan, Molybdän, positiven Einfluss auf die Kariesresistenz (23, 25). Andererseits ist erwiesen, dass Magnesium, Platin und Blei eine kariespotenzierende Wirkung auf die Kariesrate haben (25). Auch Carbonat, welches in die Apatit-Verbindung eingebaut werden kann, nimmt Einfluss auf das Kariesgeschehen. Carbonat weist deutlich labilere und weniger stabile Eigenschaften auf als andere Komponenten, die im Schmelz sonst eingebaut sind, und geht daher bei kariösen Angriffen und chemisch-erosiven Vorgängen einfacher und schneller verloren. Dies erhöht das Risiko der Ausbildung kariöser Läsionen (1, 25). Die genannten Austauschprozesse zwischen Oberflächenschmelz, sowie Ionen und Molekülen der Umgebung sind zumeist diffusionskontrolliert und erklären dadurch ein Gefälle zwischen innerem und äußerem Schmelz. Es kommt zu einem ansteigenden Gradienten, der mit der Zeit zu steigenden Konzentrationsunterschieden zwischen außen und innen führt und mit dem Alter dann zu einer höheren Stabilität des Schmelzes (25).

Wasser liegt im reifen Schmelz in zwei Formen und insgesamt nur zu einem geringen Anteil vor (1-4%wt (1, 25, 27) ). Zu einem Großteil ist das vorhandene Wasser als Hydratationsschale kristallin an das Schmelzgitter gebunden. Nur geringe Mengen des Wassers liegen frei vor und können unter Umständen verdampfen, aber auch erneut vom Schmelz aufgenommen werden. Diese Tatsache macht anhand von Molekularsieb und Ionenaustauscher die Erklärung von physikalischen Phänomenen möglich (1). Chemische Veränderungen am Zahnschmelz sind somit möglich, obwohl das Mineralgefüge Schmelz ansonsten keinem physiologischen Metabolismus unterliegt (23).

Die Mineraleichte, d.h. der Anteil des Volumens, der von Schmelzkristallen eingenommen wird, nimmt mit der Reifung des Schmelzes zu, schwankt aber an verschiedenen Stellen eines Zahns, sodass sie in der Regel hin zur Schmelz-Dentin-Grenze abfällt und der zur Fissur geneigten Seite eines Höckers erhöht ist (23).

Auch die Schmelzhärte variiert an unterschiedlichen Stellen eines Zahnes und ist abhängig vom Grad der Mineralisation. Entsprechend der Mineraleichte nimmt also auch die Härte zur Schmelz-Dentin-Grenze ab (23). Nichts desto trotz stellt der Zahnschmelz mit einem Wert 5 auf der Mohs'schen Härteskala, 260-360 KHN (= Knoop-Härte-Nummer)(1) die härteste und sprödeste Masse im menschlichen Körper dar.

Wie schon Mineralgehalt, Mineraleichte und Schmelzhärte ist auch die Schmelzdicke nicht einheitlich am Zahn, sondern zeigt Veränderung im Bereich von wenigen Mikrometern am Zahnhals und 2,5 mm an der Inzisalkante der Frontzähne (23).

Der Zahnschmelz wird nicht an jeder Stelle des Zahnes gleich schnell gebildet und mineralisiert, so dass infolgedessen die Reifung innerhalb eines Zahnes, besonders auch zwischen den verschiedenen Zahngruppen, variiert. So nimmt unter anderem die Schmelzdicke unterschiedlich schnell zu, die koronozervikale Schmelzausdehnung geht nicht in einem einheitlichen Tempo vonstatten, und stellenweise stagnieren einige Zähne länger oder kürzer in einem unreifen Schmelzstadium. In dieser Zeit sind sie stärker gefährdet (23).

Da der Zahnschmelz avaskulär und azellulär ist, ist er unfähig im Kariesprozess Widerstand zu leisten (25).

## **2.2. Zahnhartsubstanzveränderungen**

### **2.2.1. Karies**

Karies ist eine zivilisationsbedingte Erkrankung des Zahnhartgewebes, die durch Metaboliten bakterieller Mikroorganismen ausgelöst wird (25). Sie stellt die häufigste lokalisierte Erkrankung des Zahnhartgewebes dar. Bei ausbleibender Behandlung kann sie zur progredienten Zerstörung und zu nicht heilbaren Defekten des betroffenen Zahnes führen (1, 27). Karies ist keinesfalls direkt lebensbedrohlich, kann aber in unbehandeltem Zustand durchaus zu starker Leistungsminderung und im



fortgeschrittenen Stadium auch zu schwerwiegenden Folgen an anderen Stellen im Körper führen. Die kariösen Defekte sind irreversibel, da der avaskuläre Schmelz über keinerlei natürliche Abwehrmechanismen verfügt, die auf zellulärer Aktivität basieren. So kann keine inflammatorische Reaktion gegen mikrobielle Invasion stattfinden und eine Heilung durch zelluläre Reparatur ist nicht möglich (25).

Die heutige Vorstellung zur Kariesentstehung geht auf die chemoparasitäre Theorie von Miller (1890) zurück und wurde mittlerweile von weiteren Studien bestätigt. Sie besagt, dass die durch orale Mikroorganismen metabolisierten niedermolekularen Kohlenhydrate Auslöser für kariöse Läsionen darstellen (27). Es kommt bei dem Metabolismus zur Freisetzung organischer Säuren, die hauptverantwortlich sind für die Demineralisation der Zahnhartsubstanz.

Generell wird die Kariesentstehung auch als ein multifaktorielles Geschehen beschrieben. Wichtige Einflussfaktoren stellen demnach das Zahnhartgewebe, d.h. der Zahn selbst, dar, außerdem der bakterielle Zahnbelag (Plaque) und des Weiteren die Zufuhr kariogener Substrate (niedermolekulare Kohlenhydrate) (27). Defacto kann es als ein Zusammenspiel von potenziell pathogenen Mikroorganismen und potentiell pathogenen ökologischen Faktoren bezeichnet werden (1). Hinzu kommen noch zahlreiche weitere sekundäre Faktoren, wie beispielsweise Speichelfluss und – Zusammensetzung, Zahnfehlstellungen oder auch sozioökonomische Faktoren (1, 25, 27).

Einflussfaktoren, die auf Seiten des Wirts eine große Rolle spielen, sind die Zahnmorphologie und die Zahnhartsubstanz. Zusätzlich ist es von Bedeutung, in welchem Maß Fluoride oder Carbonate ins Hartgewebe eingelagert sind, die eine karies-protective oder - begünstigende Wirkung haben (27).

Weiterhin sind Qualität und Quantität des Speichels von Bedeutung, da über dessen bzw. deren diverse Funktionen Einfluss auf das Kariesgeschehen genommen wird. Diesbezüglich ist die Spülfunktion wichtig, die zur Auflösung und Beseitigung von Kohlenhydraten und Säuren beiträgt. Der anorganische Bestandteil, die Tatsache, dass der Speichel eine mit Kalzium- und Phosphat übersättigte Lösung ist, trägt wiederum zur Remineralisation des Schmelzes bei. Eine weitere wichtige Aufgabe, die der Speichel übernimmt, ist das Abpuffern organischer Säuren, die im Rahmen einer kariösen Attacke durch Plaque-Bakterien gebildet werden (1).

Bezogen auf das Substrat sind Qualität und Quantität der Nahrung entscheidend. In besonderer Weise ausschlaggebend für die Entwicklung von Karies ist allerdings die Häufigkeit der Nahrungszufuhr (1). Daraus ergibt sich, dass ein schlecht mineralisierter Zahn nicht zwangsläufig kariesanfälliger ist als ein hochmineralisierter (1). Der Metabolismus von Substraten durch kariogene Mikroorganismen führt zu Freisetzung organischer Säuren. Ihr Vorkommen in hoher Anzahl und bei großer Masse führt zu Demineralisationsprozessen in der Zahnhartsubstanz (27).

Die Klassifikation der Schmelzkaries findet bisher nicht einheitlich statt und kann unter verschiedenen Gesichtspunkten vorgenommen werden. Dabei gehören zu den Hauptunterscheidungen die Morphologie, die Dynamik, mit der die Karies fortschreitet, und die Chronologie. Diese Unterscheidung und Einteilung bedeutet allerdings nicht, dass der benannten Karies eine veränderte Ätiologie zugrunde liegt (25). Diese ist für alle klinischen Typen gleich. Dennoch weist das Kariesrisiko an bestimmten Flächen des Zahnes, bei speziellen Zähnen im Zahnbogen oder zwischen Individuen, eine große Variationsbreite auf (25).

Die Kariesentstehung geht schrittweise vonstatten und es bedarf einiger Faktoren, die erfüllt sein müssen.

Von Bedeutung ist zunächst die Plaque, da ohne sie keine kariöse Läsion entstehen kann (25). Dabei sammeln sich kariogene Bakterien und vermehren sich. Diese Plaque entsteht dadurch, dass sich grampositive Kokken oder Aktinomyzeten als Erstbesiedler über ihre Eigenladung in einer Adhäsionsphase zunächst unspezifisch reversibel über Van-der-Waalsche oder elektrostatische Kräfte an den Pellikel binden. Im Anschluss daran können weitere Bakterien an die Oberflächenrezeptoren der Erstbesiedler sekundär kolonisieren (1). Die ausgereifte Plaque besteht schließlich aus dicht gepackten Bakterien, die in eine Plaquematrix eingebettet sind und ca. 60-70 Vol % ausmachen. In diesem Stadium ist die physiologische Selbstreinigung nicht mehr in der Lage, den Zahn von der Plaque zu befreien. Die Plaque wird zusehends heterogener und anaerober. Infolgedessen kommt es zu einer interzellulären Kommunikation zwischen den Bakterien.

Bei einer ausreichenden Substratzufuhr, wobei Saccharose, Oligosaccharide, Glucose, Fruktose unter anderem jeweils eine Rolle spielen, beginnen die Bakterien diese zu metabolisieren und es werden organische Säuren wie Milch-, Essig-, oder Ameisensäure freigesetzt. Sie führen zum einem pH-Abfall in der Plaque und, wenn

dieser einen für den Zahnschmelz kritischen Wert von 5,5 unterschreitet, dissoziiert die Säure in den Schmelz; dadurch beginnen H<sup>+</sup>-Ionen Apatitkristalle aus dem Schmelz zu lösen (1). Es kommt zu Zerstörung oder Verlust von Kristallen und Ionen, wie Mg, Ca und F, gehen dem Schmelz entlang eines Konzentrationsgradienten in Richtung Schmelzoberfläche verloren. Da der Konzentrationsgradient Richtung Oberfläche abfällt und geringer wird, bilden die wandernden Ionen zum Teil neue Kristalle oder werden in defekte Kristalle eingebaut, sodass die Defekte tiefer im Schmelz meist gravierender sind. Es entsteht eine pseudointakte Oberfläche wobei es gleichzeitig zu einer weiteren Säuredissoziation über interprismatische Zonen in die Tiefe kommt (1). Dieser Demineralisationsprozess hält solange an, wie die Noxe, d.h. die Säureproduktion, nicht beseitigt ist, und kann sich in schlimmen Fällen auf das Dentin ausweiten.

Bei initialen kariösen Läsionen spricht man auch von White Spot Läsionen. Sie sind das Produkt aus De- und Remineralisationsvorgängen, bei denen die Demineralisation überwiegt. Die Entstehung ist, wie oben genannt, abhängig von der Art und der Menge der Bakterien in der Plaque, von Metaboliten und der Säureproduktionsrate (1). Morphologisch gibt bei einer White Spot Läsion die Schmelzoberfläche zunächst in diesem Stadium noch ein intaktes Bild ab und es kommt zu keinerlei Kontinuitätsunterbrechung. Bei näherer Untersuchung können jedoch in der Tiefe Demineralisationen festgestellt werden. Klinisch ist am Zahn eine weißlich-opake Veränderung zu erkennen (1, 25).

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass neben dem Mineralisationsgrad des Zahnes vor allem seine Bakterienbesiedlung von Bedeutung ist. Im Zusammenspiel mit der Häufigkeit der Zufuhr von niedermolekularen Kohlenhydraten sind diese Faktoren als hauptverantwortlich für die Ausbildung von Karies anzusehen.

### **2.2.2. Erosion**

Erosion ist ein säurebedingter Verlust von Zahnhartsubstanz, der nicht durch die Beteiligung von oralen Mikroorganismen bedingt ist (1, 27-29). Dabei kommt es von der Oberfläche beginnend zu einem schichtweisen, zunächst auf die Oberfläche beschränkten Verlust der Zahnhartsubstanz. Diese lässt sich an der typischen Scheibenform identifizieren (29) und stellt damit einen großen Unterschied zum kariesbedingten Mineralverlust in der Tiefe unterhalb der Plaque dar (30). Die Säuren

werden nicht von der oralen Mundflora produziert und stehen in keiner Verbindung zu Mikroorganismen, sondern werden zu einem Großteil über die Diät zugeführt. Vor allem der häufige Verzehr von Zitrusfrüchten und Fruchtsäften stellt derzeit eine häufige Quelle dar (28-31). Aber auch aus intrinsischen Quellen, wie dem Magen (Magensäure), bei psychosomatischen Erkrankungen wie Bulimie oder bei gehäuft auftretenden Reflux- Erkrankungen gelangen Säuren in die Mundhöhle und lösen dort Erosionen aus (28, 30). Es kommt dabei vorwiegend an Glattflächen zu chemischen Auflösungen des Zahnschmelzes. Klinisch ist eine poliert aussehende Oberfläche an charakteristischen Stellen wie den labialen Glattflächen sichtbar (28). Erosionen sind multifaktorielle Zustände, die begünstigt und meist ausgelöst werden durch extrinsische Faktoren wie den häufigen Genuss von süßen Limonaden und Fruchtsäften, Medikamente wie  $\beta$ 2-Agonisten (Salbutamol), Lifestyle oder Arbeitsbedingungen, bei denen das Individuum sich sauren Dämpfen oder Aerosolen aussetzt (1, 28-32). Hinzu kommen intrinsische Faktoren wie Reflux oder psychosomatische Erkrankungen wie Bulimie, bei denen es vermehrt zu Magensäure in der Mundhöhle kommt (28, 30, 31). Wie bei der Karies kommt es auch in diesem Fall zu Demineralisationen, die zur Schädigung und zum Verlust von Zahnschmelz führen (1). Falls die Säureeinwirkung auf den Zahn relativ selten und nicht über einen längeren Zeitraum stattfindet, ist der Zahn in der Lage sich auf natürlichem Wege über die Mineralien im Speichel zu regenerieren. Wird der Zahnschmelz allerdings häufig und über längeren Zeitraum einer Säurezufuhr ausgesetzt, ist der natürliche Remineralisationsmechanismus überfordert und es entstehen, gerade bei starken Säuren, irreversible Hartsubstanzverluste (1). Außerdem sind Chelatbildner (1, 30, 31), wie beispielsweise Zitrone, in der Lage, Kalzium zu komplexieren, was die natürliche Remineralisation durch Speichel herabsetzt.

Erosive Prozesse sind komplex. Bei Kontakt von Säure und Zahn, muss die Säure zunächst die natürliche Schicht des Zahns, den Pellikel, überwinden. Ist der noch frisch und nicht vollständig ausgebildet, stellt er kein sehr großes Hindernis für die Säure dar. Diese kann nach Überwindung der natürlichen Barriere in Kontakt mit der Zahnoberfläche treten und Kristalle des Schmelzes auflösen (1). Ein ausgereifter Pellikel jedoch kann durch seine Dicke den Diffusionsprozess von Säuren in gewissem Rahmen herabsetzen und somit den Zahn für einen bestimmten Zeitraum schützen (1, 30). Nachdem Ionen, vorwiegend im Falle von Kalzium und Phosphat, aus dem Schmelz herausgelöst wurden, steigt automatisch der pH –Wert an und führt somit

natürlicherweise zu einem Stopp des Säureangriffs. Mit jeder erneuten Säurezufuhr wird der Kontakt mit der Zahnoberfläche jedoch wieder hergestellt und die Auflösung des Apatits schreitet fort.

Insofern wird deutlich, dass Speichel ein hemmender Faktor bei der Entstehung von Erosionen spielt. Fehlender Speichelfluss und Krankheiten wie Xerostomie hingegen begünstigen ihre Ausbildung. Zugeführte Säuren üben eine stimulierende Wirkung auf die Speichelproduktion aus. Der Speichel kann daraufhin durch eine erhöhte Fließrate aufgrund seiner Pufferkapazität die Zähne schützen. Zudem bilden die Speichelmuzine den oben genannten Pellikel und somit für einen gewissen Zeitraum eine Schutzschicht auf dem Zahn, die eine direkte Minerallösung aus dem Schmelz verhindert (30). Wie Imfeld (31) in seiner Studie darstellt, steht ein verminderter Speichelfluss in direktem Zusammenhang mit der Entstehung von Erosionen; so ist bei geringen Mengen unstimulierten Speichels das Risiko für Erosionen entscheidend erhöht.

### **2.2.3. Attrition**

Bei der Attrition handelt es sich um eine Form der mechanischen Abnutzung des Zahns (1). Hierbei findet ein physiologischer Abrieb von Zahnhartsubstanz durch den antagonistischen und approximalen Kontakt von Zähnen, bzw. Zahnflächen statt (1, 28). Es kommt zu Substanzverlust durch den Zahn-Zahn-Kontakt ohne Beteiligung einer Drittschubstanz (31-33). Die Ursachen hierfür sind physiologischer Natur, d.h. dieser Zahnkontakt findet beispielsweise beim Schlucken, Kauen statt (1, 31, 32) oder auch beim Heben schwerer Gegenstände statt (31). Der Substanzverlust ist hierbei relativ gering und wird erst in höherem Alter deutlicher sichtbar (1, 31). Mit dem Alter kommt es, begünstigt durch die mit der Zeit wachsende physiologische Beweglichkeit der Zähne und ihrer zunehmenden Mesialwanderung, zu einer Ausprägung interdentaler Kontakte. Diese Approximalkontakte wandeln sich von punktförmig nach flächig (1).

Neben diesem physiologischen Prozess können allerdings auch falsch modellierte Kauflächen von Restaurationen, neuromuskuläre Störungen und Stellungsanomalien die Abnutzung von Zähnen triggern und Grund für eine pathologische Zahnabnutzung sein (1).

Klinisch sind im Mund des Patienten Schliffacetten zu erkennen, plane, harte und glänzende Flächen, die vorwiegend, in einem frühem Stadium, zunächst am Schmelz auftreten, sich im weiteren Verlauf aber auch an freigelegte Dentin zeigen können (1, 28). Zumeist stehen diese Facetten winklig zueinander und bei der Lateralbewegung des Unterkiefers ist zu erkennen, dass die antagonistischen Zähne über diese Flächen aneinander vorbeigleiten. Attrition ist hauptsächlich für eine solche Facettenbildung im Mund verantwortlich (31).

Bei ausgeprägten Abnutzungsvorgängen gehen mit den Jahren erhebliche Anteile des koronalen Zahnes verloren (1), vorwiegend okklusal und inzisal (31).

#### **2.2.4. Abrasion**

Auch bei der Abrasion handelt es sich um einen Abtrag von Zahnhartsubstanz durch mechanische Prozesse (1, 31), wie Knirschen, Pressen (Bruxismus) oder Reiben (1, 31, 32). Im Gegensatz zur Attrition ist bei der Abrasion ein Fremdkörper mitbeteiligt (1, 28). Diese mechanischen Prozesse, bei denen regelmäßig Fremdkörper in die Mundhöhle eingebracht werden, sind häufig pathologisch.

Für den Fall, dass Nahrungsbestandteile den Fremdkörper darstellen, spricht man auch von Demastikation (1, 31, 32). Die bedeutet einen Abrieb der Zähne durch Nahrungsmittel, dessen Ausmaß abhängig ist von der jeweiligen Abrasivität der Nahrung (31). Demastikation stellt normalerweise einen physiologischen Prozess dar, der vorwiegend auf okklusalen und inzisalen Flächen auftritt, wird allerdings als pathologisch bezeichnet, wenn beispielsweise Nüsse mit den Zähnen geknackt werden (31). Durch die Veränderung der Essgewohnheiten in der westlichen Welt mit einem zunehmend erhöhten Anteil an weicher Kost (Fastfood) hat diese Komponente an Gewicht verloren.

Besonders früher kam es aber auch häufiger zu Zahnhartsubstanzverlusten, die im Zusammenhang mit dem Arbeitsumfeld standen. Bis heute führt der Staub in Bergwerken oder das Mehl in Backstuben zu höherem Schmelzabrieb, auch die Berufsgruppen Näher und Schuster (32) zeigten typische abrasive Läsionen. Diese Phänomene treten heute allerdings eher selten auf (1, 31).

Als Usuren bezeichnet man Angewohnheiten, Habits genannt, die zu charakteristischen Abnutzungen und Defekten an den Zähnen führen. Dazu zählen

regelmäßiges Aufbeißen auf Gegenstände oder Festhalten von Gegenständen mit den immer gleichen Zähnen in der immer gleichen Position (1, 31, 32).

Zudem können auch Mundhygienemaßnahmen zu Substanzabrieb führen, wenn beispielsweise Zahnpasten mit zu starken abrasiven Putzkörpern verwendet werden oder die Reinigung der Zähne mit einer falschen Zahnputztechnik („Schrubben“) erfolgt (1). Da die Abrasionsläsionen häufig zervikal auftreten, ist die zu intensiv ausgeführte Mundhygiene laut Dugmore (28) und Imfeld (28, 31) hauptverdächtig als Ursache. Imfeld unterscheidet weiter zwischen Patientenfaktoren und Materialfaktoren. Zu ersteren zählt er die Putztechnik, -häufigkeit, -dauer und die Kraft, die dabei auf den Zahn gebracht wird. Zu letzteren gehören für ihn die Materialauswahl, Borstenbeschaffenheit sowie Abrasivität, pH-Wert und Menge an Zahnpasta. Unter Einfluss dieser verschiedenen Faktoren kann es dann entweder zu lokalisierten oder diffusen Läsionen kommen.

Auch bei der Abrasion ist es so, dass die Folgen mit dem Alter, d.h. mit der Zeit immer deutlicher werden und sich durch Verlust von Perikymatien und prismenfreiem Schmelz darstellen (1).

### **2.2.5. Abfraktion**

Abfraktion ist ein vorwiegend im Schmelz auftretender keilförmiger Defekt, der oft zervikal in der Nähe der Schmelz-Zement-Grenze auftritt (1, 31, 32). Die Form ist nahezu dreieckig, mit einer kürzeren Fläche im koronalen Bereich und in der Tiefe z.T. bis ins Dentin reichend. Die Ätiologie ist nicht abschließend geklärt. Es ist allerdings davon auszugehen, dass es durch multifaktorielle Geschehnisse an der schon vorgeschädigten Zahnhartsubstanz von erosiv, kariös und abrasiv vorgeschädigten Zähnen zu Fehlbelastungen durch z.B. Knirschen oder okklusale Störkontakte und Balancehindernisse kommt. Darüber werden dann Biege- und Zugbelastungen durch exzentrisch angesetzte okklusale Kräfte (31) auf den Zahn im Bereich des Drehpunktes ausgeübt. Der Zahn kann diesen fokussierten Kräften nicht standhalten und es kommt infolge dieser extremen mechanischen Überbelastung zu Mikrofrakturen, die sich im Laufe der Zeit senkrecht zur Längsachse des Zahns ausbreiten und zu mikro- und makroskopischen sichtbaren Schmelzaussprengungen führen (1, 31, 32). Vermehrt treten diese Phänomene an Einzelzähnen oder nicht

benachbarten Zähnen aus, die bei Mal- oder Hyperokklusion mastikatorischen oder parafunktionalen Kräften ausgesetzt sind (31).

## **2.3. Aufarbeitung bisheriger Studien zu Eigenschaften der Zahnschmelz**

### **2.3.1. (Mikro-) Struktur und Prismenausrichtung**

Histologisch betrachtet besteht der Zahnschmelz aus einer Anhäufung seiner kleinsten Einheit, den hexagonalen Schmelzkristallen. Etwa 100 von ihnen schließen sich zusammen und bilden sogenannte Schmelzprismen. Die Ausrichtung der Schmelzprismen ist in verschiedenen Regionen der Zahnkrone durchaus unterschiedlich und beeinflusst somit die Eigenschaften des Zahns. Die Prismen-Größe variiert abhängig von der Reife des Schmelzes und der Position innerhalb der Zahnschicht. Zudem kommt es zu prismenfreien Zonen an der Oberfläche von Schmelz (1). Prismen-Anzahl und -Vorkommen sind außerdem von äußeren Einflüssen wie beispielsweise Attrition abhängig. Das Gesamtmuster des Schmelzes ist festgelegt, sobald der Schmelz formiert ist. Im Weiteren kommt es zu keinen großartigen Variationen mehr (34, 35). Die Kristalle sind nicht nur in ihrer Ausrichtung entscheidend für die Widerstandsfähigkeit des Schmelzes auf die mechanischen Einflüsse (13), sondern bedingen aufgrund ihrer Oberflächenbeschaffenheit auch die Reaktivität des Schmelzes, d.h. wie viel Fluorid beispielsweise eingebaut werden kann. Im Laufe der Jahre können sich die Kristalle in äußeren und inneren Bereichen des Schmelzes deutlich voneinander unterscheiden (3).

Wie bereits ausgeführt, ist der menschliche Zahnschmelz keine homogene Masse (11-13, 36). Aufgrund der phasenweise (20) stattfindenden Bildung kommt es zu deutlichen Unterschieden, was den Aufbau und die Struktur innerhalb eines Zahnes angeht und ebenso bei dem Vergleich unterschiedlicher Zahn- und Altersgruppen (4, 35, 37). Dies wurde bereits unter Berücksichtigung unterschiedlicher Gesichtspunkte in diversen Studien überprüft und festgestellt.

Johnston et al. (38) untersuchten die Eigenschaft von Schmelz, ein für konservierende Maßnahmen adäquates Ätzmuster herzustellen, und stellten fest, dass vor allem bukkal an den Molaren eine starke Zone prismenfreien Schmelzes vorhanden ist und somit gerade in dieser Zahnregion Ätzmuster schwer zu erzeugen sind.



Hueb de Menezes et al. (37) verglichen gezielt das Milchgebiss und die permanente Dentition. Dabei stellten sie deutliche Unterschiede fest. So ist im Schmelz der Milchzähne zahlenmäßig eine höhere Dichte an Prismen zu finden als im permanenten Gebiss, allerdings ist bei den bleibenden Zähnen die Schmelzschicht insgesamt dicker und höher mineralisiert.

Ekstrand et al. et al. (39) hingegen haben Fissurenschmelz und lingualen Schmelz verglichen. Sie stellten fest, dass die Organisation des lingualen Schmelzanteils deutlich besser ist. Okklusal hielten sie vermehrt negative Entwicklungsunregelmäßigkeiten, wie Löcher und Mulden fest, während lingual häufiger positive Unregelmäßigkeiten wie Schmelzkappen und Vorwölbungen aufzutreten scheinen. Diese Umstände verschaffen dem lingualen Zahnschmelz deutliche Vorteile in Bezug auf die Kariesresistenz

Cuy et al. et al. (13) überprüften in ihrer Studie 2002 die mechanischen Eigenschaften und konnten auch dabei feststellen, dass die Prismenausrichtung deutliche Variationen in verschiedenen Schmelzarealen aufweist und die Widerstandsfähigkeit des Zahnes somit stark beeinflusst. Sie belegten zudem, dass die Prismenorientierung lingual eine größere Ordnung als bukkal besitzt. Auch ist die Ausrichtung der Prismen im Inneren des Schmelzes deutlich ordentlicher und paralleler als hin zur Oberfläche, wo sie diverse Winkel, gemessen von der Prismenlängsachse, annehmen können.

Theuns und van Dijk (40) haben bereits 1983 Versuche zur Ausrichtung der Kristalle und Prismen im Schmelz durchgeführt und festgestellt, dass in der Kronenmitte die Prismen nahezu exakt parallel verlaufen während es hin zur Oberfläche zu deutlichen Abweichungen kommt, die zervikal am größten sind.

Stern und Skobe (15) stellten fest, dass sich die Mikroorganisation des Zahnschmelzes in Abhängigkeit von bzw. in Korrelation mit der Makromorphologie des Zahns vollzieht. Es kann dabei zu einer großen Variationsbreite, gerade auch an Schnittstellen innerhalb eines Zahntypes, kommen. Sie überprüften eine recht kleine Probenzahl auf typische Schmelzmerkmale wie Perikymatien, Retziusstreifen und Hunter-Schreger-Streifung. Dabei fanden sie heraus, dass die Anzahl der Perikymatien mit denen der Retziusstreifen korreliert und diese zervikal, d.h. am Zahnhals, größer sind. Die Perikymatien verändern in Abhängigkeit von der Morphologie ihre Erscheinungsform, von überlappend, verschuppt bis hin zu einem konvexen Relief (34).

Bei der Untersuchung von Brosh und Strouthou (26) über die Reaktion der Zahnoberfläche auf Schmelz-Ätz-Techniken, stellten sie fest, dass linguale und bukkale Seiten eines Zahnes unterschiedlich reagieren. Grund dafür sei das auf beiden Seiten quantitativ unterschiedliche Auftreten von Perikymatien. Bukkal zeigen sich deutlich mehr, wohingegen gelegentlich lingual gar keine auftreten (41).

### **2.3.2. Physikalische/mechanische Eigenschaften**

Zahnschmelz ist, wie bereits ausgeführt, die härteste Substanz des menschlichen Körpers und hat, bedingt durch seine Zusammensetzung, besondere mechanische Eigenschaften, die für die Funktion der Zähne von großer Bedeutung sind.

Bestimmt wird die Beschaffenheit des Zahnschmelzes in besonderer Weise dadurch, dass er zu 96 wt % aus anorganischem und nur zu 4% aus organischem Material besteht (1, 3).

Diverse Faktoren haben Einfluss auf die Qualität und Eigenschaften des Zahnes. Dazu gehören unter anderem Alter, Reife, Mineralisationsgrad, Prismenorientierung (11, 13) und Chemie des Zahnschmelzes (11).

#### **2.3.2.1. Dichte**

Die Dichte ist definiert als der Quotient aus Masse  $m$  eines Körpers und seinem Volumen  $V$ . Sie wird angegeben in  $\text{g/cm}^3$  oder  $\text{kg/L}$ .

Die Dichte der äußeren Substanz des Zahnes schwankt je nach „Reifezustand“ des Zahnes. Das bedeutet, dass die Dichte während der verschiedenen Schritte der Schmelzreifung variiert. Auch die chemische Zusammensetzung des Zahnes hat Einfluss auf die Dichte, wie auch die Messstelle, d.h. ob beispielsweise zervikal oder in den Fissuren gemessen wird (1, 42). Als weiterer Einflussfaktor auf die Dichte des Zahnschmelzes gilt das Alter eines Menschen bzw. des Zahnes. Mit dem zunehmenden Alter finden viele (Re-) Mineralisationsprozesse statt, die ab einem gewissen Zeitpunkt für einen durchschnittlichen Verlust von Mineralien und einem Austausch mit organischen Substanzen aus dem Speichel sorgen. Dadurch kommt es zu einer Abnahme der Dichte (3).

Es scheint zudem eine Korrelation zwischen den Magnesium- und Karbonatanteilen und der Dichte des Zahnschmelzes stattzufinden. So ist die Dichte z.B. nahe den

Dentinhörnern, an denen ein hoher Magnesiumgehalt gemessen werden kann, geringer als an den lingualen und bukkalen Zahnflächen. Diese Zonen sind stark mineralisiert und weisen eine hohe Dichte auf (1). Diese Feststellung wird durch Weatherell (35) bestätigt; auch er belegt durch seine Studie, dass die Dichte in Zusammenhang steht mit histologischen Eigenschaften und z.B. ein Abfall der Dichte nahe den Dentinhörnern nachweisbar sei.

Durchschnittliche Werte für die Dichte von Zahnschmelz liegen bei 2,8-3,0 g/cm<sup>3</sup> (1).

Weidmann (42) hat schon 1969 in einer Studie die Dichte-Variationen an unterschiedlichen Stellen am Zahn überprüft und festgehalten. So ergaben seine Messungen hohe Dichtewerte für Schmelz lingualer und bukkaler Zahnflächen, vor allem in Bereichen der Höckerspitzen. Insgesamt stellte Weidmann auch nur geringe Variationen der Dichtewerte in mesio-distaler Richtung der bukkalen und lingualen Flächen fest. Allerdings fand er in seiner Studie heraus, dass die Dichte von okklusal nach zervikal deutlich abnimmt und auch von der Zahnoberfläche ins Zahninnere. Bei den Messungen von der Zahnoberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze variierten die Werte um 0,07-0,15g/ml von meist 2,97 nach 2,87 g/ml (42). Er untersuchte gesondert die verschiedenen Zahngruppen und verglich sie im Anschluss. So zeigte sich bei Prämolaren das gleiche oben genannte Bild (bukkal & lingual höhere Dichte; von okklusal nach zervikal abnehmende Dichte). Er stellte allerdings fest, dass die Dichte insgesamt, verglichen mit Molaren, deutlich geringer ist. Bei Inzisiven maßen sie den höchsten Dichtewert knapp unterhalb der Inzisalkante, ebenfalls mit abnehmender Tendenz Richtung zervikal. Für Canini stellten sie fest, dass die Gesamtdichte höher ist als bei (Prä-) Molaren, aber geringer als bei Inzisivi. Die Milchzähne zeigen bei allen Messungen deutlich geringere Dichte-Werte als die bleibende Dentition.

Bing He (36) konzentrierte sich in einer Studie 2010 auf die Dichte von Hydroxylapatit und die Knoop-Härte und untersuchte, ob eine Verbindung bestehe. Auch er stellte fest, dass die Dichte von der Höckerspitze Richtung Zahnhals abnimmt, allerdings keine Unterschiede zwischen lingual und bukkal bestehen. Bei der Vermessung des Schmelzes in drei verschiedenen Tiefen kam er zu dem Ergebnis, dass die Werte in der äußeren Schicht lingual signifikant niedriger Werte sind als bukkal, während es in den zwei inneren Schichten zu keinen signifikanten Unterschieden kam. Er stellte fest, dass Dichte und Härte stark linear miteinander verbunden sind, die Werte für die Härte aber wesentlich mehr variieren als bei der Dichte.

Diese Mineraldichteabnahme vom Äußeren zum Inneren eines Zahnes überprüfte He (11) in einer weiteren Studie und konnte diese teilweise mit signifikanten Messungen belegen. Er vermaß den Schmelz in drei Schichten (außen, mittig, innen) und untersuchte dabei die Mineraldichte und zusätzlich die Elementverteilung in den verschiedenen Schichten. Die Dichteabnahme konnte er sowohl bei den Zähnen älterer wie auch jüngerer Personen feststellen. Jedoch zeigte sich, v.a. bei den alten Zähnen im Vergleich der äußeren und inneren Schmelzschicht signifikante Unterschichte der Dichtewerte.

### **2.3.2.2. Härte**

Die Härte ist definiert als der mechanische Widerstand, den ein Material dem mechanischen Eindringen entgegensetzt.

Die Härte des Schmelzes beträgt im Durchschnitt im äußeren Schmelz 390 KHN (Knoop -hardness numbers), nimmt Richtung Schmelz-Zement-Grenze jedoch ab und beträgt dort lediglich 290 KHN (1).

Cuy et al. (13) führten in einer Studie 2002 diverse Tests zu mechanischen Eigenschaften von Zähnen durch mit dem Ziel, das Konzept der Heterogenität des Zahns weiter zu beleuchten. Wie sie bei ihren Tests feststellten, spielte auch die Härte, die zwischen verschiedenen Zahnzonen variiert, eine Rolle. Sie führten Nanoindentionstests im gesamten Zahnschmelz durch. Das Team gelangte zu der Erkenntnis, dass auch die Härte eines Zahnes unter anderem von seiner Struktur, d.h. seiner Prismen-Anordnung, abhängt. So ist die gemessene Härte beispielsweise größer, wenn eine Belastung senkrecht zur Prismen-Achse eintrifft. Schlussfolgernd ergab die Studie jedoch, dass mehr noch als die Struktur des Schmelzes, der Mineralisationsgrad die Härte beeinflusst.

In einer weiteren Studie maßen Cuy et al. (13) die Maxima sowohl von Härte- als auch Elastizitätsmodul im Schmelz. Die höchsten Werte wiesen dabei die lingualen Höcker auf. Von diesen Höckern erstreckten sich die nächsthöheren Werte über die Kaufläche. Im Schmelzinneren zeigten sich bukkal höhere Werte als lingual. Ihre Erklärung für höhere Werte bei den lingualen Höckern im Oberkiefer und bei den bukkalen Höckern im Unterkiefer, war die dort einwirkende höhere Belastung beim Kauen. Dies bietet ebenfalls eine Erklärung dafür, dass die gemessenen Werte an den Seitenflächen der Zähne geringer ausfallen.

Wie Cuy (13) hat auch Braly (12) die inhomogene Schmelzsubstanz hinsichtlich ihrer mechanischen Eigenschaften untersucht. In dieser Studie kamen die Wissenschaftler ebenfalls zu dem Ergebnis, dass die Werte des Härte- und Elastizitätsmoduls okklusal und insbesondere in Bereichen der Höckerspitzen höher sind als in Seitenbereichen des Zahns. Braly fand heraus, dass zur Schmelz-Dentin-Grenze eine Abnahme der E- und H-Werte von bis zu 50 % stattfindet. Im Unterschied zur Cuy konnte Braly allerdings nicht feststellen, dass die Prismenorientierung einen Einfluss hat, was zunächst auch eine seiner Arbeitshypothesen gewesen war. Er geht davon aus, dass auch bei bisherigen Studien die Variationen des Mineralgehalts als Hauptursache für Härteunterschiede anzusehen sind.

He (36) hat in seiner Studie 2010 die Hydroxylapatitdichte sowie die Knoop-Härte gemessen und ihre Wechselbeziehung analysiert. Seine Ergebnisse in Bezug auf die Härte stimmen mit Cuys Studien, dass sowohl bukkal als auch lingual die Härte von der Oberfläche in Richtung Schmelz-Dentin-Grenze abnimmt, überein. Zusätzlich fand er heraus, dass die Härte der lingualen Oberfläche signifikant geringer ist, als an der bukkalen, während in mittleren und inneren Schichten kaum Unterschiede zwischen beiden Zahnseiten auffielen.

Eine weitere Erkenntnis dieser Studie ist, dass die Variationen bei der Härte sowohl lingual als auch bukkal deutlich höher sind als die Dichtevariationen.

He maß mittlere Knoop-Werte von lingual 352,5 und bukkal 351,7 KHN.

Wie bei Cuy ergab diese Studie ebenfalls Maximalwerte für die Härte im Oberkiefer an den lingualen, im Unterkiefer an den bukkalen Höckerspitzen. Diese Tatsache erklärt auch er, ebenso wie Cuy, mit einer höheren Kaubelastung an diesen Zähnen und einer Härtesteigerung zum Schutz der inneren Zahnschichten.

He's Überlegungen zur Erklärung der Ergebnisse bestätigen ebenfalls, dass der äußerste Zahnschmelz höhere anorganische Anteile besitzt. Dies ist bedingt durch Umwelteinflüsse, die wiederum keinen Einfluss auf tiefere Schmelzschichten haben.

### **2.3.3. Mineralgehalt**

Im Zahnschmelz wurden bisher über 40 Spurenelemente nachgewiesen. Die Schmelzzusammensetzung unterliegt dabei neben dem Alter und der Ernährung zahlreichen weiteren, unterschiedlichen Einflussfaktoren. Es lassen sich

Konzentrationsschwankungen verschiedener Elemente auch an charakteristischen Stellen des Zahnes nachweisen. So nimmt die Konzentration einiger Elemente deutlich von der Oberfläche zur Schmelz-Dentin-Grenze ab.

Kalzium und Phosphor liegen im Zahn in Kristallform als Apatitverbindung vor. Durch interne Substitutionsreaktionen können diese Apatitverbindungen im Laufe der Zeit zu Fluoridapatit oder fluoridierten Hydroxylapatit umgebaut werden. Sie werden in die Kristallstruktur integriert und machen sie dadurch stabiler (1).

In „structural and chemical organization of teeth“ von Miles et al. (43) ist ein Kapitel der Chemie und Mineralisation des Zahnschmelzes gewidmet. Darin stellen Brudevold und Söremark (3) ihre Erkenntnisse zu diesem Thema dar und gehen z.T. sehr detailliert auf einzelne, im Zahnschmelz vorkommende, Spurenelemente ein. Sie beschreiben dabei sehr ausführlich, dass die Mineralisation keineswegs gleichmäßig ist, sondern deutlich variiert und von Diffusionswegen abhängig ist. So kommt es vor, dass in äußeren Schichten, aufgrund der im Kristallgitter verbauten Spurenelemente Diffusionswege nach innen, beispielsweise für Fluorid, blockiert werden. Sie beschreiben den Oberflächenschmelz, wie in folgenden Studien häufig, als resistenter gegen Karies, geringer löslich bei Säureangriffen und weniger reaktiv auf Fluoride. Der Wasseranteil der äußeren Schichten ist geringer und die Mineralkonzentration grundsätzlich höher. Ihre Messergebnisse belegen einen Mineralisationsunterschied zwischen innen und außen von 5,7 Vol %. Die Mineralisationsrate sei am Anfang der Mineralisation relativ hoch, bis der durch die Fluoride stark mineralisierte Oberflächenschmelz den weiteren Diffusionsweg für die Ionen ins Innere des Zahns versperrt. Dabei werden im Kristallgitter Komponenten ausgetauscht: für Kalzium vermehrt Strontium und Radium, für Phosphat Vanadium und Karbonat. Fluorid ersetzt die Hydroxyl-Gruppe. Aber auch Natrium, Magnesium, Bikarbonat und Zitrat können an der Kristalloberfläche nachgewiesen werden. Sie stellen zudem dar, dass nicht alle Elemente fest im Kristallgitter gebunden sein müssen, da der Austausch von Ionen von Apatit und umgebenden Fluiden sowohl die Kristalloberfläche, als auch den Kristallkörper und zudem auch die Hydratationsschale betreffen können.

In ihrem Kapitel listen sie Fluor (F), Eisen (Fe), Zink (Zn), Strontium (Sr), Rubidium (Rb), Brom (Br), Kupfer (Cu), Mangan (Mn), Wolfram (W), Gold (Au), Silber (Ag),

Chrom (Cr), Cobalt (Co), Vanadium (V) als nachgewiesene kleinere anorganische Bestandteile im Schmelz auf (3).

Durch den Ionenaustausch und den Mineralisationsprozess wird das Wasser aus der äußeren Schmelzschicht verdrängt. Die inverse Beziehung von Mineralisationsgrad und Wasserkonzentration trägt somit ebenfalls zur größeren Härte im äußeren Schmelz bei (3) Die Ionenaufnahme, beziehungsweise der Austausch beginnt schon vor dem Durchbruch des Zahns, sobald ein Kontakt vom Schmelz zu den Fluiden besteht.

Brudevold und Sörenmark gehen in ihrem Kapitel detailliert auf die Veränderungen im Schmelz ein, die aufgrund der Austauschreaktionen stattfinden. Dabei unterscheiden sie in ihrer Darstellung nach abnehmenden, gleichbleibenden und zunehmenden Bestandteilen/Spurenelementen von äußerem zum inneren Schmelz.

Wie bereits ausgeführt, nehmen gewisse Bestandteile Richtung Zahnzentrum ab, da mit der Akkumulation an der Oberfläche eine Penetration von Elementen ins Innere des Zahns nur noch bis zu einem gewissen Grad möglich ist. Zum einen gehört zu diesen Elementen Fluorid. Die Autoren berufen sich dabei auf Messungen von Jenkins & Speirs aus dem Jahr 1953, laut derer der Fluoridgehalt außen am Schmelz 20x so hoch ist wie innen. Die Fluoridaufnahme ist dabei präeruptiv höher, je höher der Gehalt von Fluorid im Wasser ist. Fluorid diffundiert zunächst und wird gegen Anionen im fest gebundenen Wasser nahe der Kristalloberfläche ausgetauscht. Es ersetzt dann Hydroxyl- oder Bikarbonat Ionen und ist so an Hydroxylapatit fixiert. Dadurch kann in der Folge die Migration in den Kristallkörper und die Integration in die innere Gitterstruktur stattfinden.

Die Ergebnisse von Brudevold und Sörenmark belegen ebenfalls, dass die Konzentration von Zink außen im Schmelz 10x höher ist als innen. Damit ist Zink das einzige Mikroelement, das an die Konzentration von Fluorid heranreicht. Zink wird überwiegend präeruptiv eingelagert und ist nicht schrittweise mit dem Alter zunehmend.

Blei nimmt mit dem Alter zu und ist, wenn auch im geringeren Ausmaß (550ppm – 1247ppm), ähnlich verteilt wie Fluorid. Es besitzt vor allem in der äußeren Schicht hohe Werte. Die Aufnahme findet über eine Oberflächenreaktion an den Apatitkristallen statt und führt schließlich zu einer Position im Kristallgitter.

Auch Eisen und Zinn zeigen im Oberflächenschmelz höhere Konzentrationen, wobei in beiden Fällen die Gründe für die Aufnahme nicht ganz geklärt seien.

Laut ihren Messungen und Ergebnissen sind Strontium und Kupfer im Schmelz relativ gleichmäßig verteilt. Der Gesamtanteil kann bei beiden Elementen jedoch von Zahn zu Zahn variieren. Strontium sei zudem abhängig von Nahrung und Trinkwasser und ersetzt im Apatitkristall entweder oberflächengebundenes- oder interkristallines Kalzium, wobei Kalzium immer favorisiert wird.

Bei Kupfer bleibt die Konzentration mit dem Alter konstant und es gibt auch keine Hinweise, dass Nahrung, Getränke oder Speichelzusammensetzung Einfluss auf Aufnahme in den Schmelz haben (3).

Carbonat und Magnesium-Anteile nehmen laut Brudevolt und Sörenmark (3) mit zunehmender Schmelztiefe zu. So ist die Karbonatkonzentration innen doppelt so hoch und die Magnesiumkonzentration sogar dreimal so hoch wie an der Schmelzoberfläche. Die Aufnahme von Magnesium ist bei höherem pH begünstigt und Magnesium konkurriert um die Position von Kalzium. Auch für Natrium, Silizium, Mangan, Silber, Aluminium, Vanadium, Molybdän und Selen fanden sie geringere Werte im Inneren des Schmelzes, jedoch ohne genauere Aussagen zu Aufnahme und Einflussfaktoren treffen zu können. Als Fazit der Ergebnisse Brudevólts und Sörenmarks ist festzuhalten, dass der totale Mineralgehalt im äußeren Schmelz am höchsten ist und ins Innere des Zahns abnimmt. Für F, Pb, Zn, S, Fe, Cl, Al und Si erhoben sie höhere Werte außen, für Karbonat, Mg, Na höhere Werte im Inneren. Zudem stellten sie bei ihren Untersuchungen fest, dass die Fluorid-Aufnahme mit dem Alter zunimmt und mit der Konzentration im Trinkwasser korreliert. CO<sub>2</sub>, Na, Mg, Cl, K, F, Zn konnten sie in relativ hohen Konzentrationen nachweisen, wohingegen für Al, Sr, Pb, Mn, Cu, Si, Ag, Fe, Sn nur geringe Werte gemessen und somit für sie der Einfluss dieser Elemente auf die physikalischen Eigenschaften von Schmelz fragwürdig sind.

Weatherell et al. (35) führten bereits 1974 eine Studie durch, in der sie sich mit der chemischen Zusammensetzung des Zahnschmelzes ausführlich beschäftigten. Sie betrachteten dabei die Verteilungsmuster der Spurenelemente in verschiedenen Bereichen des Zahns, überprüften die Stabilität von chemischen Mustern im Schmelz und maßen die Variationen des Fluoridgehalts im Oberflächenschmelz. Sie kamen zu dem Schluss, dass die chemischen Variationen im Schmelz evident sind und dies als Anzeichen auf ihren Einfluss auf die Kariesentstehung anzusehen sind.



Im Speziellen fanden sie heraus, dass sich sowohl das Verteilungsmuster der Spurenelemente in verschiedenen Zahnbereichen (Höcker, Fissur, Zervix) unterscheidet, aber auch eine Tiefenabhängigkeit besteht. So nimmt laut ihren Ergebnissen der Gehalt an Kalzium, Phosphor und Fluor unterhalb der Oberfläche ab, während die Werte von Magnesium, Karbonat und Chlor zur Schmelz-Dentin-Grenze zunehmen. Der jeweilige Gradient sei dabei aber, wie bereits oben aufgeführt mit festen histologischen Eigenschaften (bspw. Dentinhörner) vergesellschaftet.

Sie beachteten bei dem Verteilungsmuster auch kleinere anorganische Bestandteile und brachten diese in Verbindung mit der Kariesentstehung. Dabei konnten sie Molybdän und Vanadium nachweisen, welches durch Trinkwasser aufgenommen einen kariostatischen Effekt hat, wohingegen Selen, trotz geringer Menge, kariesbegünstigend wirkt. Da ihre Konzentration an der Zahnoberfläche erhöht ist, darf angenommen werden, dass Zink, Blei und Zinn die Löslichkeit des Schmelzes reduzieren und ebenfalls kariesprotektiv wirken. Allerdings hat diese Untersuchung das nicht valide nachgewiesen.

Ein zusätzliches interessantes Ergebnis ihrer Studie besteht in der Feststellung, dass das Muster ab der Formierung des Zahns konstant bleibt. Dies bedeutet, dass die durch Attrition und Abrasion entstandene „neue“ äußere Zahnschicht ihre vorherigen Eigenschaften und ihr Mineralisationsmuster weitestgehend beibehält. Trotz speichelbedingter möglicher Fluorid-Einlagerungen bleibt der Gesamtfluoridgehalt gleich und unterscheidet sich nur geringfügig von Messwerten innerer Schichten, obwohl die Aufnahme von Fluorid weiterhin möglich ist (35).

Weatherell und Robinson (35) beschäftigten sich zunehmend auch mit dem Fluorid-Gehalt im Schmelz. Ihr Interesse resultierte aus der Erkenntnis, dass eine Fluorid-Veränderung auch andere Elementveränderungen nach sich ziehen kann und sich dadurch die Eigenschaften von Schmelz insgesamt wandeln können.

Sie stellten mit ihren Studien (35) fest, dass der Fluorid-Gehalt stark mit der Abnutzung der Zähne korreliert. Es kommt zu einem Wechselspiel von Fluorid-Verlust durch Abnutzung und Aufnahme aus dem Speichel, wobei es durchaus bei starker Abnutzung des Schmelzes zu Minimal-Fluorid-Werten an der Oberfläche kommen kann, die Werten im Inneren des Schmelzes entsprechen. Da die Abnutzung von Zähnen unterschiedlich ist, variiert somit auch der Fluoridgehalt der Zähne. Zudem ist

es so, dass ein gesunder Schmelz weniger Fluorid aufnimmt, als ein angegriffener, abgenutzter Schmelz.

Die Aufnahme von Fluorid ist nicht in jeder Zahnregion gleich. So nimmt laut der vorliegenden Studie der Zahn durch die Inhomogenität des Schmelzes zervikal am meisten Fluorid auf, da dort der Schmelz rau und porös ist. Dies liege darin begründet, dass an dieser Stelle der Schmelz noch weniger homogen ist und durch Plaque-Ablagerungen der pH-Wert stark absinken kann.

Mizuno (44) untersuchte in seiner Studie von 1990 die Fluorid-Konzentration an nicht eruptieren und gerade eruptierten Prämolaren von Jungen und Mädchen. Dabei stellte er keinen signifikanten Unterschied zwischen den durchgeführten bukkalen und lingualen Messungen fest. Unterschiede, in Form von höheren Messwerten, zeigten sich lediglich an den okklusalen Flächen der eruptierten Zähne. Die Ergebnisse bei den Geschlechtern weichen jedoch deutlich voneinander ab. An okklusalen Messstellen zeigten die Fluorid-Konzentrationen bei Mädchen signifikant höhere Werte als bei Jungen. Auch generell konnte Mizuno mit seinem Team eine grundsätzliche Tendenz zu höheren Fluoridwerten bei weiblichem Oberflächenschmelz festhalten.

Kodaka (45) untersuchte 1991 die innerste Schmelzschicht gezielt auf den Gehalt von Kalzium und Phosphat und verglich die Werte mit denen der angrenzenden, etwas weiter außengelegenen Schicht. Der Anreiz bestand darin, die unterschiedlichen Erkenntnisse von Studien, die den inneren Schmelz entweder als hypo- oder hypermineralisiert beschrieben hatten (45), zu überprüfen. Seine Messergebnisse belegten, dass Kalzium signifikant geringer in der innersten Schicht vorkommt, sowohl an den Höckern als auch mittkoronal und zervikal. Zudem nimmt die mittlere Kalzium-Konzentration von den Höckern zum Zahnhals signifikant zu. Bei Phosphat war es aufgrund der Proben-Anzahl nicht möglich eine eindeutige Aussage zu treffen. Er erklärt die Unterschiede, bzw. den höheren Ca-Gehalt zervikal mit dem vergleichsweise hohen Einbau von Mineralien im zervikalen Bereich. Dieser sei begründet durch die Schmelzdicke und den Speichereinfluss. Im Höckerbereich verbleiben somit zunächst höhere organische Anteile, sodass keine so großen Unterschiede zwischen innerer und mittlerer Schmelzschicht entstehen.

Brown und Chenery (8) erforschten in ihrer vergleichenden Studie von 2004 genauer, welchen Einfluss Umweltfaktoren auf den Spurenelement-Gehalt im Zahn haben. Sie

untersuchten europäische und afrikanische Zahnproben, um soziale, kulturelle und ökologische Faktoren beurteilen zu können. Es gelang ihnen zu belegen, dass die Unterschiede der Spurenelement-Verteilung aus dem kausalen Zusammenhang mit der Geographie, der Mangelernährung und der Umweltverschmutzung zu erklären sind. So wiesen sie in den afrikanischen Zähnen größere Mengen an Cerium nach, welches bei 74% der europäischen Zähne unterhalb der Nachweisgrenze lag. Für Zink hingegen fanden sie eine deutlich höhere Konzentration bei den europäischen Zähnen. Diesen Unterschied brachten sie mit Mangelernährung (Ballaststoffe können Zink-Absorption verringern) in Verbindung, während Zink in Europa in Farben, Insektiziden und Medikamenten vorkommt und so aufgenommen wird (46). Auch für Kupferwerte konnte bei den europäischen Zähnen ein Rückschluss auf Umweltfaktoren gezogen werden. So sind die Werte im Vergleich zu den afrikanischen Zähnen deutlich höher, was durch Kupfereinlagerungen aus Amalgam-Füllungen oder Rückständen von Rohrsystemen zu erklären ist. Bei ihren Ergebnissen konnten die Autoren allerdings trotz Mangelernährung keine signifikant geringeren Werte für Magnesium oder Kalzium bei den afrikanischen Zähnen feststellen. Im Fall der Magnesiumkonzentration gehen die Autoren davon aus, dass Magnesium zum einen ausreichend vorhanden ist, zusätzlich aber auch die Konservierung durch die Nieren effizient ist. Im Fall von Kalzium ist die Erklärung schwieriger. Die Autoren gehen jedoch davon aus, dass der Kalziumspiegel nicht signifikant unterschiedlich ist, da die hohe Sonnenkonzentration (Vitamin D triggert massiv die Resorption von Kalzium) in Afrika in der Lage ist, die grundsätzlich durch eine protein-arme Ernährung verursachte geringere Kalzium-Aufnahme zu kompensieren (8).

Anders als Studien, die den Zahn als Ganzes betrachtet und vermessen haben (9) und bereits den Einfluss von beispielsweise Fluorid auf die Kariesentstehung nachgewiesen haben (5), wollten Saiki und Adachi (47) 2009 den Zahnschmelz gezielt nach Spurenelementen untersuchen, um vor allem hinsichtlich kariöser Läsionen Unterschiede zu gesunden Zähnen herausstellen. Sie bestimmten gesondert Ca-, Cl-, Mg-, Mn-, Na-, Sr-, Zn- Werte für Dentin und Schmelz. Die Studie ergab, dass keine signifikanten Unterschiede für Ca, Mg, Na bestehen. Allerdings wurden höhere Messwerte in kariösen Zähnen für Cl, Mn, Sr, Zn dargestellt. Bei dem Vergleich zwischen gesundem Schmelz und gesundem Dentin ergaben sich deutlich höhere Werte im Schmelz für Ca, Cl, Mn, Zn, allerdings höhere Mg-Werte im Dentin. Dies

ergänzt bisherige Studien, die im Schmelz ansteigende Werte für Magnesium Richtung Schmelz-Dentin-Grenze erfassten (3, 10, 35).

Eine ähnliche Hypothese und ein vergleichbarer Versuchsaufbau lag 2009 der Studie von Riyat (48) zugrunde. Er versuchte 35 verschiedene Elemente sowohl in gesundem als auch kariösem Zahn nachzuweisen und dabei Einflussfaktoren auf die Kariesentwicklung zu ermitteln. Außer Bor, Molybdän, Mangan und Fluorid verringerte sich bei allen anderen Elementen die Konzentration im kariösen Milieu. Die Erklärung sehen die Autoren im generellen Mineralverlust, der durch Karies verursacht wird. Die Werte der vier oben genannten Elemente waren jedoch im kariösen Schmelz signifikant erhöht. Eine Erklärung dafür liefern sie nicht. Zudem ist die Feststellung der Autoren interessant, dass der Strontium-Gehalt bei Karies abfallende Werte aufweist. Sie belegen damit die Erkenntnisse einiger bereits vorgelegter Studien. Bei diesen war festgestellt worden, dass Strontium die Kalzium-Aufnahme fördert und die Dentinbildung anregt (49). Zudem wurde belegt, dass bei einer Vorbehandlung mit Strontium weniger Kalzium freigesetzt wird (48, 50).

Bing He et al. (11) haben in ihrer Studie 2011 als Erste untersucht, inwiefern sich die Mineraldichte und der Spurenelementgehalt in verschiedenen Schichten des Zahnes verändern. Dabei stellten sie fest, dass die Mineraldichte deutlich vom äußeren des Zahnes ins Innere abnimmt, also ein signifikanter Unterschied zwischen innen und außen besteht. Dies stellten sie sowohl bei älteren als auch bei jüngeren Zähnen fest, d.h. bei Zähnen die länger in der Mundhöhle verbracht hatten, und bei Zähnen, deren Verweildauer in der Mundhöhle kürzer gewesen war. Diese Tatsache bezogen sie in seine Diskussion mit ein und folgerten daraus, dass die Exposition zum Mundhöhlenmilieu, somit also der Kontakt des Zahnes zu Nahrung, Speichel, Mundhygienemaßnahmen für mitentscheidend für den Spurenelementgehalt ist und für die Unterschiede zwischen innen und außen.

Hanc (10) legte in seiner Studie 2012 grundsätzlich mehr Wert auf den Test des „Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry“ (ICP-MS) Verfahrens. Im Rahmen des Tests untersuchte er allerdings mittels dieses Verfahrens die Elementverteilung im Zahn. Als Ergebnisse hält er fest, dass Strontium und Magnesium Richtung Schmelz-Zement-Grenze zunehmen, Kupfer, Eisen, Mangan, Blei und Zinn jedoch abnehmen. Höhere Aluminiumwerte fanden sich in Zähnen, die bereits mit Füllungen

versorgt waren, was wie bei Brown, Chenerey (8) und Chew (9) belegt, dass die Zahnschmelz unterschiedlichsten Einflüssen von außen unterliegt. Hanc (10) bezeichnet Füllungen als „Spurenelementdonator“, die zum einen kariesprotektiv, zum anderen aber auch toxisch wirken können. So ergaben seine Messungen, dass der Barium-Gehalt im Zahnschmelz mit dessen Löslichkeit in Verbindung steht. Darüber hinaus belegt er, dass Lanthanum grundsätzlich nur in gefüllten Zähnen nachweisbar ist und die Tendenz hat, Kalzium zu ersetzen.

Bereits 1983 führte Theuns et al. (40) in einer Studie eine Vermessung des Zahnes durch mit dem Ziel, den Mineralgehalt anhand verschiedener Verfahren herauszufinden. Schon sie stellten damals fest, dass der Mineralgehalt zum Inneren des Zahns hin abnimmt (zur Schmelz-Zement-Grenze). Zudem kamen sie zu der Erkenntnis, dass von okklusal nach zervikal der Mineralgehalt dort die höchsten Werte aufweist, wo der Schmelz am dicksten ist.

Die Untersuchungen der Universität Birmingham aus dem Jahr 1998, in der die Säureanfälligkeit des Zahnes getestet wurde, liefert indirekt Auskunft über die Mineralisation des Zahns an verschiedenen Seiten und bei verschiedenen Zahngruppen verschiedener Kiefer. Sie kamen zu dem Ergebnis, dass linguale / palatinale Schmelz eine deutlich höhere Anfälligkeit für Säure besitzt und deutlich höhere Auflösungserscheinungen nach dem Ablauf der Einwirkzeit zeigte. Das Ausmaß der Auflösung stellte sich palatinal gleichmäßig an allen Zähnen dar, jedoch sehr unregelmäßig an den bukkalen Zahnseiten. Auch bei dieser Studie wurden bzw. konnten nicht alle Faktoren berücksichtigt werden, weil nicht bei allen Zähnen Herkunft, Alter und Zustand bekannt war (51). Dies mindert die Aussagekraft insofern, als diese Gesichtspunkte, wie oben bereits ausgeführt, die Qualität des Zahnschmelzes beeinflussen können.

Brosh und Strouthou (41) belegten in ihrer Studie, ebenfalls die Säureanfälligkeit betreffend, dass Unterschiede zwischen bukkalen und lingualem Schmelz bestehen. Sie überprüften 2005 hinsichtlich der Säurekonditionierung die Säureanfälligkeit von Schmelz in verschiedenen Bereichen. Ihre Ergebnisse stellten nach der gleichen Säureeinwirkzeit eine höhere Prismenauflösung bukkal als lingual fest. Zudem zeigten sich bei beidseitig auftretenden Poren bukkal größere Durchmesser als lingual.

Die Erforschung der Mineralisation und die Suche nach Unterschieden innerhalb des Schmelzes wurden auch schon 1963 betrieben. Angmar und Carlström (52) untersuchten mit verschiedenen Verfahren die Variationen an gesundem Schmelz.

Sie stellten zudem eine durchschnittliche Mineralisation von 86,2 Vol % fest, wobei die höchsten und niedrigsten Mineralisationsgrade bei 92,4 Vol % bzw. 81,0 Vol % gemessen wurden. Ihre Ergebnisse zeigen einen Mineralisationsabfall von außen nach innen, allerdings keine abrupten Veränderungen innerhalb kleinerer Schmelzareale.

Shashikiran et al. (5) beschäftigte sich 2007 in seiner Studie mit dem Spurenelementgehalt von Schmelz. Dabei legte er ein besonderes Augenmerk auf den Vergleich zwischen kariösen und gesunden Zähnen, sowie der Unterscheidung zwischen dem Milchgebiss und dem permanenten Erwachsenengebiss. Ihm lag in seiner Studie daran, den schon oft angedeuteten Effekt von Spurenelementen auf die Kariesentstehung zu überprüfen. Er konnte in seiner Studie 18 Spurenelemente nachweisen: Fluor, Strontium, Kalium, Aluminium, Silicium, Stickstoff, Bor, Eisen, Kupfer, Mangan, Cobalt, Chrom, Zink Magnesium, Selen Blei, Molybdän, Vanadium. Laut seiner Ergebnisse waren die Signifikanzen allerdings unterschiedlich. Im Vergleich mit den Milchzähnen stellten sich deutlich und signifikant höhere Werte im permanenten Schmelz für F, Sr, K dar. Bei dem Vergleich zwischen gesunden und kariösen Proben fanden sich bei den permanenten Zähnen höhere Messwerte bzw. Konzentrationen für F, Sr, K, Al und Fe.

Eine ähnliche Untersuchung führte im Jahr 2010 dann auch Amr (53) durch, unter dem zusätzlichen Aspekt, Zähne als Indikatoren für Umweltexposition und Ernährungszustand zu betrachten. Er verglich in seiner Studie 16 Spurenelemente bezüglich ihrem unterschiedlichen Nachweis bei Milchzähnen und permanenten Zähnen. Die Grundlage für seine Arbeit sind die Annahmen, dass Spurenelemente auf unterschiedlichen Wegen in den Körper aufgenommen werden (Nahrung, Wasser, Erdboden, Haut) und dass deren Abwesenheit bzw Präsenz im Zahnschmelz bedingt ist durch ihre Verfügbarkeit in der Umwelt des Menschen.

Amr (53) kam, wie Kollegen zuvor auch, zu dem Ergebnis, dass Spurenelemente nicht gleichmäßig im Zahn verteilt sind. Natrium, Magnesium, Aluminium, Zink, Strontium, Blei, Cadmium, Barium warden mit höheren Konzentrationen bei bleibenden Zähnen auf. Mg, Cd, Pb und Ba positiv mit Karies assoziiert (höhere Konzentration in kariösen

Pulpen.) Cd, das nach Benzinverbrennungen, in Tabakrauch und Abwasserschlämme nachweisbar ist, kann durch diese Studie in Verbindung mit einem erhöhten Kariesrisiko gebracht werden, wenn eine Cd-Aussetzung in Umwelt stattgefunden hat.

Einen ähnlichen Ansatz wählten auch Tvinnereim et al. 2000 (6) für ihre Studie. Sie untersuchten, welchen Einfluss Schwermetalle aus der Umwelt auf den Zahn und die Karies-Entstehung haben. Sie gelangten dabei zu dem Ergebnis, dass Blei, Zink und Quecksilber positiv mit Karies korrelieren, wenngleich unterschiedlich in den verschiedenen Zahngruppen (Molaren, Prämolaren, Canini, Inzisivi). Ihre Messungen ergeben zudem eine Korrelation mit der sozio-ökonomischen Bevölkerungsschichtung.

## **2.4. Einflussfaktoren auf den Zahnschmelz**

### **2.4.1. Speichel**

Der Speichel, in seiner speziellen Zusammensetzung, übt diverse Funktionen aus und ist insgesamt ein wichtiges Schutzsystem.

Gerade auf die Kariesentstehung hat der Speichel mit seinen speziellen Eigenschaften und Zusammensetzungen einen wichtigen Einfluss. Neben seiner Spülfunktion sind für die Schmelzeigenschaften zudem die Pufferqualität und die (Re-)Mineralisation wichtige Leistungsmerkmale des Speichels.

Die Speichelfließrate hat maßgeblich Einfluss auf die Clearance, d.h. auf die Auflösung und Beseitigung von Säuren und Kohlehydraten.

Der Speichelfluss wird zirkadian gesteuert und steht zudem unter dem Einfluss emotionaler und psychischer Reize-, sowie von Umweltfaktoren. Die Flussrate stimulierten Speichels liegt zwischen 1-3 ml/min, kann jedoch z.B. unter medikamentösen Einflüssen unter 0,7 ml/min sinken.

Mit dem Speichelfluss, steigt die Pufferkapazität des Speichels an, da der Gehalt an Bikarbonat sich erhöht. Dies führt dazu, dass der pH im Speichel ansteigt und Bikarbonat durch Plaque diffundiert und organische Säuren neutralisiert. Somit verlängern sich die Remineralisationsphasen und bereits demineralisierte Bereiche im

Schmelz können wieder gestärkt werden. Speichel ist eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung, die in geringen Mengen Fluorid enthält. Somit besitzt er einen großen Einfluss auf die Remineralisation des Zahnschmelzes und wirkt auf diese Weise der Karies entgegen.

Bestimmte Enzyme des Speichels, wie z.B. Lysozym, verfügen des Weiteren über das Potential, Bakterien zu zerstören, Zellwände aufzulösen oder Bakterienwachstum zu verhindern (1).

#### **2.4.2. Zahnfehlstellungen**

Die Morphologie der einzelnen Zähne und deren Position im Zahnkranz ist grundlegend vorbestimmt und darauf ausgelegt gewisse Funktionen zu erfüllen. Dazu gehört, bezüglich der Randleisten einer Kaufläche, das Verteilen der Nahrungsbestandteile bei der Mahlbewegung in eine bestimmte Richtung und bezüglich der bukkal wulstigen Form der Unterkiefermolaren durch das Abgleiten der Nahrungsbestandteile der Schutz des Zahnfleischs vor Verletzungen.

Ebenso hat die Stellung von Oberkiefer zu Unterkiefer Einfluss auf die Mundgesundheit. Kommt es zum Verlust von Zähnen ohne Ersatz oder zur unphysiologischen Positionierung der Kiefer zueinander, sind häufig Kippungen und Fehlbelastungen die Folge. Diese Zustände wiederum führen dazu, dass oben genannte, natürliche Mechanismen außer Kraft gesetzt werden. So kommt es durch Fehlbelastungen oft zu parodontalen Schädigungen, wie pathologischer Taschenbildung, Rezessionen am Zahnfleisch oder in der Folge auch Karies. Aufgrund von Zahnfehlstellungen ergeben sich zusätzliche Retentionsstellen für Plaque die der natürlichen Reinigung, durch Speichel, Lippen-, Zungen- oder Wangenkontakt nicht mehr zugänglich sind (1).

Baskaradoss (54) konnte bei seinen Untersuchungen 2013, in die er fast 2000 Kinder einbezog, einen signifikanten Zusammenhang zwischen Zahnfehlstellungen und Karies festhalten. Er nahm zu dem Zweck bei allen Studienteilnehmern sowohl den DAI (Dental Aesthetic Index) als auch den DMFT (Decayed/Missing/Filled Teeth). Je gravierender der DAI-Wert, das Ausmaß der Zahnfehlstellungen, desto schlechter fielen auch die DMFT-Werte aus (54). Die gleichen signifikanten Zusammenhänge konnte auch Mtaya 2009 in ihrer Studie festhalten (55). Sie wollte bei ihren Messungen



Zahnfehlstellungen sowohl mit sozio-demographischen Faktoren als auch mit Karies in Verbindung bringen.

### **2.4.3. Ernährung**

Zahngesunde Ernährung setzt sich aus unterschiedlichen Aspekten zusammen. Vor allem lassen sich systemische und lokale Effekte unterscheiden.

Zu den systemischen Effekten werden Mangel- oder Fehlernährung gezählt, wodurch es zu Veränderungen der Mineralisation kommen kann oder zur Veränderung beispielsweise der Speichelzusammensetzung.

Lokal betrachtet ist für die Zahngesundheit insbesondere interessant, wie viel oder wenig bakteriell abbaubare Kohlenhydrate in Kontakt mit der Zahnhartsubstanz kommen. Das bedeutet, je kleiner die Menge ist, desto geringer ist das Kariesrisiko. Übertragen auf die Ernährung bedeutet das, dass die Reduktion von zuckerhaltigen Lebensmitteln, vor allem von süßen Zwischenmahlzeiten, die Kariesinzidenz deutlich mindert. Wichtig ist dabei zusätzlich die Zeitspanne am Tag, in der diese leicht zu metabolisierenden Kohlenhydrate im Mund wirken können (1).

Unterschieden wird außerdem zwischen Faktoren der Kariesentstehung am Zahn, die Individuum- und produktbezogenen sind. Wie oben bereits ausgeführt spielt die Häufigkeit der Zufuhr von Kohlehydraten eine Rolle, zusätzlich allerdings auch die Reihenfolge und zudem die individuelle Mundhygiene. Auf der Produktseite ist sodann die Menge und der Typ der Kohlenhydrate, sowie die chemische Zusammensetzung und ihre physikalischen Eigenschaften (z.B. Festigkeit, Klebrigkeit) von Bedeutung.

Neben der Bedeutung der niedermolekularen Kohlenhydrate ist die Ausbildung dentaler Läsionen auch auf den Säureanteil eines Produkts zurückzuführen. So können vor allem bestimmte süße Getränke und eine Reihe Obstsorten wegen ihres hohen Säuregehalts in der Folge Erosionen verursachen. Das bedeutet, dass auch an sich als „gesund“ geltende Lebensmittel im Fall eines erhöhten Konsums Läsionen verursachen können.

Aus kariologischer Sicht ist bei guter Mundhygiene und Auslassen süßer Zwischenmahlzeiten der mäßige Zuckergenuss unbedenklich (1).

Das Ziel dieser Studie war es zu überprüfen, ob ein grundsätzlicher Unterschied im Mineralgehalt zwischen der Bukkal - und Lingualfläche eines Zahns besteht.

Aufgrund der Probenauswahl war in dieser Studie außerdem interessant zu überprüfen, ob es einen grundsätzlich statistisch signifikanten Unterschied der Spurenelementverteilung zwischen den verschiedenen Zahngruppen gibt. So wurde zusätzlich zum Seitenvergleich lingual versus bukkal, ebenfalls überprüft, ob die Mineralisation von Molaren, Inzisiven und Canini sich signifikant unterscheidet.

## **3. Material und Methode**

### **3.1. Material**

#### **3.1.1. Auswahl der Proben**

Für die Studie wurden insgesamt elf extrahierte, kariesfreie, humane Zähne verwendet. Davon waren vier Zähne Prämolaren, fünf Molaren, ein Weisheits- sowie ein Eckzahn. Die Zähne wurden zunächst in Chloramin B gelagert und wurden dann, nach einer Umlagerung in destilliertes Wasser, im Kühlschrank bei 7°C aufbewahrt. Über die Herkunft der Zähne liegt im Einzelnen keine Information vor. Sie wurden der Poliklinik für Kieferorthopädie unter anderem von diversen niedergelassenen Oralchirurgen, zum Teil aber auch von der Poliklinik für zahnärztliche Chirurgie überlassen.

Bei der Auswahl der Zähne wurde darauf geachtet, dass sie sich zum Zeitpunkt der Extraktion bereits einige Zeit im Mundhöhlenmilieu befunden hatten und somit Nahrung, Speichel, Säuren, etc. ausgesetzt waren. Impaktierte Weisheitszähne, die operativ entfernt worden waren, wurden aufgrund der ihnen fehlenden Einflussfaktoren von der Studie ausgeschlossen.

Zudem wurden Zähne unterschiedlicher Zahngruppen ausgewählt. Ziel der Studie ist es, zu einem möglichst aussagekräftigen Ergebnis zu gelangen, das für alle Zahngruppen gleichermaßen gültig ist. Inzisiven konnten in dieser Studie nicht einbezogen werden, da aufgrund geringer Extraktionszahlen dieser Zahngruppe keine kariesfreien adäquaten Proben zur Verfügung standen.

Tabelle 3 1 Nummerierung und Zahngruppenzuordnung der verwendeten Zähne

Nummerierung	Zahngruppe
Zahn 1	Prämolar
Zahn 2	Prämolar
Zahn 3	Molar
Zahn 4	Molar
Zahn 5	Prämolar
Zahn 6	Caninus
Zahn 7	Molar
Zahn 8	Molar
Zahn 9	Prämolar
Zahn 10	Molar
Zahn 11	Molar

## 3.2. Methode

### 3.2.1. Herstellung der Zahnschnitte

Da das Ziel dieser Studie war zu überprüfen, ob ein grundsätzlicher Unterschied im Mineralgehalt zwischen zwei verschiedenen Seiten (bukkal, lingual) des Zahns besteht, wurden defekte Zähne von der Untersuchung ausgeschlossen. Ausgeschlossen

wurden somit Zähne, die kariöse Defekte oder Zerstörungen aufwiesen, sowie Zähne mit erosiven oder mechanischen Läsionen. Auf diese Weise sollte der Einfluss von Faktoren, die potentiell die Studie verfälschen könnten, weitestgehend minimiert werden.

Die Zahnkrone wurde jeweils auf Höhe des anatomischen Äquators horizontal mit einer diamantierten Scheibe (Grober Super Diaflex 120-135µm, Horico Dental, Berlin, Deutschland) unter konstanter Wasserkühlung geteilt. (Abbildung 1) Zusätzlich wurde darauf geachtet, dass sowohl lingual als auch bukkal die Schmelzlamelle gut sichtbar erhalten blieb. Es war also wichtig, dass bei der Schnitthanfertigung, die Schmelzlamelle nicht verletzt oder weggesprengt wurde. In Abbildung 7 ist die äußere

Schmelzschicht gut zu erkennen, wie sie das innere Dentin umzieht und ohne Defekte ausreichend Breite für die Messungen liefert.



*Abbildung 1 Diamantierte Horico Diaflex Scheibe zur Trennung der Zahnkrone*

### **3.2.2. Politur der Zahnschnitte**

Die Methode der Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma, kurz ICP-MS mit Laserablation (englisch: inductively coupled plasma mass spectrometry) und auch die Elektronenstrahlmikrosonde erfordern eine glatte, polierte Oberfläche. Andernfalls, dies wurde durch eine Probemessung bestätigt, führt die aufgeraute Messfläche zu Streueffekten und dadurch bedingt zu Verfälschungen der späteren Ergebnisse. Aus diesem Grund wurde jede Zahnprobe unter Berücksichtigung der Zahnhärte 5 (nach Mohs) in zwei Schritten poliert und für die Messungen vorbereitet.

In einem ersten Schritt, einer groben Politur, wurden mit der in Abbildung 2 dargestellten Poliervorrichtung die Schnitte unter Wasserkühlung einzeln bei leichtem Druck von stärkeren Unebenheiten befreit und geglättet. Dazu wurde eine Diamant-ingesinterte Bronzescheibe verwendet (Abbildung 3).

In einem zweiten Schritt wurden die Flächen auf einem, wie in Abbildung 5 dargestellt, geölten diamantierten Poliertuch mit einer Diamantkörnung von 1µm fein und hochglänzend poliert. In Abbildung 4 ist die Poliervorrichtung für den Schritt der Hochglanzpolitur zu sehen. Bei beiden Schritten wurde die jeweilige Probe mit Druck auf eine entsprechend präparierte rotierende Scheibe gebracht und bis zum gewünschten Ergebnis poliert.



*Abbildung 2 Poliervorrichtung mit diamant-ingesinterter Bronzescheibe und Wasserkühlung für den ersten Politurenschritt*



*Abbildung 3 Diamant-ingesinterter Bronzescheibe*



Abbildung 4 Poliervorrichtung zur Hochglanzpolitur

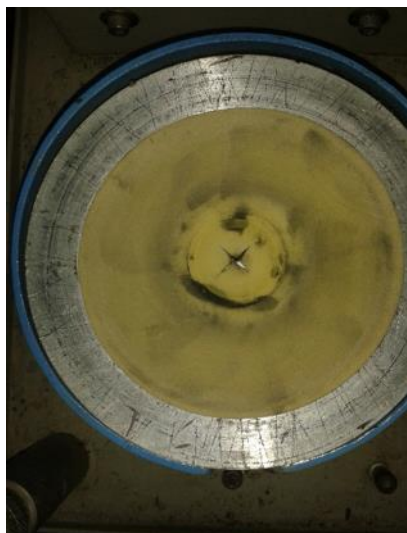


Abbildung 5 Geöltes diamantiertes Poliertuch mit Diamantierung von  $1\mu\text{m}$

### 3.2.3. Einbetten der Zahnschnitte

Für eine bessere Handhabung und Positionierung der Schnitte bei der Untersuchung mit LA-ICP-MS und der Elektronenstrahlmikrosonde wurden die Proben mit Einbettförmchen (Typ Multiform Einbettförmchen, 25mm, Struers, Kopenhagen, Dänemark) mit Kunststoff gefasst und so im Durchmesser vergrößert. Dabei wurden die Schnitte zunächst mit der später zu untersuchenden Seite mit doppelseitige Klebefolie (wie Premium MountFilm, ASLAN, Overath, Deutschland) auf einem Förmchenteller befestigt. Der Förmchenring wurde anschließend ergänzt und dann die

Proben in einen Kunststoffkörper eingebettet (Technovit 5071 Monomer, Fa. Heraeus Kulzer; Technovit 5071 Polymer, Heraeus Kulzer, Hanau, Deutschland). Auf diese Art und Weise konnten bestimmte Zonen der Probe gezielter angesteuert und somit auch genauer gemessen werden.

Nach dem Ausbetten wurde der Kleber entfernt und die Oberfläche mit Ethanol gereinigt und von Rückständen befreit. In Abbildung 6 und Abbildung 7 sind die polierten Zahnschnitte nach abgeschlossenem Einbett-Vorgang abgebildet. Die Vergrößerung der Fläche und die dadurch verbesserte Handhabung sind gut zu erkennen. Die für die Messung interessanten Schmelzzonen der zu untersuchenden Zahnseiten wurden mit Pfeilen auf der Kunststoffmasse mit einem Permanentmarker (Lumocolor permanent, Staedtler, Nürnberg, Deutschland) markiert. Dabei wurde allerdings nur die Einbettmasse beschriftet und nicht Stellen des Zahnschnitts.



*Abbildung 6 In Kunststoff eingebettete Zahnschnitte nach Entfernen der Förmchenringe*





*Abbildung 7 Hochglanzpolierte Zahnschnitte, nach Einbetten in Kunststoffkörper und nach Entfernen aller Rückstände*

#### **3.2.4. ICP-MS mit Laserablation (induktiv-gekoppelte Massenspektrometrie mit Laserablation)**

In dieser Studie wurde das UP213 (New Wave) NWR 193 (ESI New Wave) ICP-Massenspektrometer (Agilent, Santa Clara, Kalifornien, USA verwendet).

Die Methode der ICP-MS mit Laserablation wird zur mikrochemischen Analyse von Spurenelementkonzentrationen und Isotopenverhältnissen in festen Materialien verwendet. Dabei wird mit einem hochenergetischem Laser Material von der Probenoberfläche ablatiert und die entstehenden Mikropartikel über ein Aerosol in einem Trägergas in das heiße Plasma des ICP MS überführt. Auf diese Art wird dann die Elementkonzentration analysiert und quantifiziert. Dieses Verfahren ermöglicht Ergebnisse, die bis auf wenige Gewicht - ppm – Abweichungen (10.000ppm = 1%) genau sind.

Hierbei ist keine Beschichtung der Probe notwendig, jedoch eine bekannte Standardgröße (sog. Interner Standard), Kalzium, die dann eine Quantifizierung möglich macht. Kalzium wird als interner Speicher verwendet, da es interferenzfrei ist und aufgrund des hohen Gehalts im Zahn, ca. 35% (3, 56), Ablationsfehler korrigieren kann. Zudem liegen recht gute Informationen zum ungefähren Gehalt von Kalzium im Zahn vor. Als externer Standard wurde NIST (National Institute of Standards and

Technology) 610 herangezogen, welches einen Standard für Spurenelemente in Gas darstellt. NIST 612 wurde zudem hinzugezogen, um die Güte der Messung zu überprüfen.

Wie in Abbildung 8 zu erkennen wurden an den für die Studie interessanten Stellen (je eine bukkal, lingual/palatinal, mesial und distal) mit dem Laser von außen in Richtung Zahninneres fünf Messlöcher, d.h. insgesamt pro Zahnschnitt 20 Löcher, gebohrt und ausgewertet. Diese fünf Messpunkte, in Abbildung 9 gut zu erkennen, haben jeweils den gleichen Abstand zueinander. An diesen Stellen wurden dann unter anderem Blei, Barium, Strontium, Kupfer, Zink in ppm erfasst.

In das ICP-MS-Gerät wurden die getrockneten Proben eingesetzt und mit dem Laser, dessen Strahl auf einen Durchmesser von 100µm und eine Wellenlänge von 193nm eingestellt wurde, bearbeitet. Argon(Ar) und Helium (He) dienen bei den Messungen als Trägergase.

Um die Daten und spätere Ergebnisse repräsentativ angeben zu können, wurden die Messungen mit der Elektronenstrahlmikrosonde (JXA 8200, Jeol, Eching bei München, Deutschland) in enger Lagebeziehung zu den für die ICP MS Methode angelegten Messpunkten durchgeführt. Dies ermöglicht es, Werte für nahezu identische Zahnareale zu erzielen und statistisch auszuwerten.



*Abbildung 8 Je fünf Messstellen in gleichen Abständen zueinander an drei der eingebetteten Zahnproben*



*Abbildung 9 Vergrößerung eines Zahnschnitts mit fünf der Messstellen für LA-ICP-MS*

### **3.2.5. Elektronenstrahl-Mikrosonde (JXA, Jeol, Eching bei München, Deutschland)**

Bei der Elektronenstrahlmikrosonde handelt es sich um ein Rasterelektronenmikroskop, welches mit Spektrometern kombiniert wird, und so in der Lage ist, Konzentrationen von Haupt-, Neben- und Spurenelemente zu messen. Mit der Elektronenstrahlmikrosonde lassen sich Elementkonzentrationen hoch ortsauflösend und zerstörungsfrei ermitteln.

Die Probe muss für dieses Messverfahren vorab poliert und mit einer leitenden Schicht bedampft werden, damit es zu keiner negativen Probenaufladung kommt. Im Anschluss daran können dann mit einem stark fokussierten Elektronenstrahl (10-50kV) innere Elektronen, die sich in Atomkernnähe befinden, angeregt werden. Es wird eine charakteristische Röntgenstrahlung emittiert, die durch das Hin- und Herspringen der Elektronen zwischen atomkernnahen und -fernen Bahnen zustande kommt.

Zur Identifizierung des emittierenden Atoms wird die freigesetzte Röntgenstrahlung entweder mittels wellendispersiver Analytik (WDS) oder energiedispersiver Analytik (EDS), d.h. mit einem Kristallspektrometer oder einem gekühlten Halbleiter, ausgewertet.

Beide Analyseverfahren sind durch Standards geeicht und ermitteln auf diese Weise die Menge eines Elements.

Zudem werden über Sekundärelektronen und rückgesteuerte Primärelektronen Bildinformationen übermittelt.

Vorteil der Methode ist, dass extrem kleine Bereiche, Bereiche die unterhalb von 1µm liegen, analysiert werden können, was im Falle eines Zahns und im Speziellen der festgelegten, eingeschränkten Messstellen in der Schmelzlamelle von Notwendigkeit ist.

Außerdem besteht mit diesem Verfahren die Möglichkeit, die Verteilung chemischer Komponenten auf einer bestimmten festgelegten Fläche in einem Raster zu kartieren.

Für die vorliegende Studie war diese Methode zudem wichtig, um ergänzend zur ICP-MS die Kalziumkonzentration des Zahnschmelzes zu erfassen. Diese stellt bei LA-ICP-MS den internen Standard dar, ist somit ein festgelegter Wert, und es werden keine Informationen zum speziellen Kalzium-Gehalt des Zahnschmelzes der vorliegenden Zahnproben gewonnen. Da Kalzium allerdings ein wichtiger Bestandteil der Zahnhartsubstanz ist, war es bedeutend, die Studie um diese Methode zu erweitern.

### **3.2.6. Statistische Auswertung**

Bei der Auswertung der erlangten Messergebnisse war es wichtig, die absoluten Werte daraufhin zu überprüfen, ob ein tatsächlich signifikanter Unterschied der Mineralisation lingualer und bukkaler Zahnanteile, d.h. des Zahnschmelzes, besteht.

Für die Auswertung wurde SPSS Statistics 22 (IBM, Armonk, New York, USA) angewendet.

Zunächst wurden die erlangten Werte in der Tabelle so aufgeteilt, dass in gesonderten Spalten für jedes Element die bukkalen, lingualen, mesialen und distalen Werte getrennt voneinander aufgelistet und gut nachvollziehbar einsehbar waren. Durch diese Aufteilung war es dann möglich, diese einzelnen Gruppen mithilfe deskriptiver Statistik auf den Mittelwert hin zu überprüfen. So wurden individuell die Mittelwerte der fünf Messpunkte von bukkal, lingual, mesial und distal von allen elf Schnitten ermittelt, bezogen auf alle getesteten Spurenelemente.

Da der Vergleich von bukkalen und lingualen Schmelzanteilen im Vordergrund der Studie stand, wurde außerdem mit Boxplots und Verlaufskurven der Mittelwertvergleich für die entsprechenden Elemente visuell dargestellt.

Um allerdings aussagekräftige Ergebnisse formulieren zu können, war zudem wichtig die Ergebnisse, bzw. speziell die Mittelwerte der bukkalen und lingualen Zahnflächen auf ihre Signifikanz hin zu überprüfen. Wenn die Werte, die für die Schiefe ermittelt wurden, zwischen -1 und 1 lagen, wurde der Wilcoxon- und t-Test (p-Wert  $\leq 5\%$ ) angewendet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Allgemeines

Insgesamt wurden mit den beiden dieser Arbeit zugrundeliegenden Messmethoden, der ICP-MS mit Laserablation und der Elektronenmikrostrahlsonde die Zahnschnitte auf 30 verschiedene Spurenelemente untersucht. Bei vielen Spurenelementen lagen die Messwerte allerdings unterhalb der Nachweisgrenze. Aus diesem Grund wurden diese entsprechenden Elemente im weiteren Verlauf der Auswertung nicht weiter oder nur am Rande berücksichtigt. Das Hauptaugenmerk wurde folgerichtig auf die acht aussagekräftigsten Elemente gelegt.

Zwar wurden auch die Werte für die mesiale und distale Zahnseite gemessen, wegen ihrer mangelnden Relevanz für die Aufgabenstellung dieser Arbeit jedoch in der statistischen Auswertung vernachlässigt. Zur Betrachtung der Gesamtverteilung im Zahn, auch im Verhältnis zu bukkalen und lingualen Seite sind in einigen Fällen Darstellungen gewählt worden, die auch mesiale und distale Werte beinhalten.

Bei den gemessenen Spurenelementen handelt es sich um Magnesium, Silicium, Kupfer, Zink, Strontium, Kalzium, Blei, Barium, Mangan, Natrium, Chlor, Kalium, Eisen, Phosphor, Aluminium, Schwefel, Yttrium, Lanthan, Cer, Neodym, Samarium, Europium, Gadolinium, Terbium, Dysprosium, Erbium, Ytterbium, Lutetium, Thorium, Uran. Wegen der schon festgestellten begrenzten Messwerte oberhalb der Nachweisgrenze, wurden gezielt Magnesium, Silicium, Kupfer, Zink, Strontium, Kalzium, Blei, Barium näher betrachtet und statistisch ausgewertet.

Für die Darstellung wurden Verlaufskurven gewählt. Diese stellen die jeweiligen Messwerte der einzelnen Spurenelemente im Verlauf von der äußersten zur innersten Messstelle dar. Auf diese Weise lässt sich die sehr ähnliche Verteilung der Spurenelemente angemessen bzw. anschaulich darstellen, doch auch „Ausreißer“, die sicherlich in der Diskussion kommentiert und bewertet werden müssen, werden deutlich sichtbar.

## 4.2. Vergleich bukkal – lingual

Tabelle 4. 1: Test bei gepaarten Stichproben. Aufgeführte P-Werte für den Vergleich zwischen bukkal und lingual

		Sig. (2-Seitig)
Paaren 1	Mg25 bukkal – Mg25 lingual	0,594
Paaren 2	Si29 bukkal - Si29 lingual	0,337
Paaren 3	Ca43 bukkal - Ca43 lingual	0,512
Paaren 4	Cu63 bukkal – Cu63 lingual	0,718
Paaren 5	Cu65 bukkal – Cu65 lingual	0,788
Paaren 6	Zn66 bukkal – Zn66 lingual	0,656
Paaren 7	Zn67 bukkal – Zn67 lingual	0,683
Paaren 8	Sr88 bukkal – Sr88 lingual	0,408
Paaren 9	Ba137 bukkal – Ba137 lingual	0,486
Paaren 10	Pb208 bukkal – Pb208 lingual	0,792

Ziel der vorliegenden Studie war es, herauszufinden, ob sich der Mineralisationsgrad von bukkalem und lingualem Schmelz signifikant unterscheidet. Dabei ergaben die absoluten Messwerte nur geringe Variationen. Dies führte bei der statistischen Auswertung dazu, dass bei dem Vergleich der Mittelwerte beider Seiten keine Ergebnisse erzielt wurden, die signifikant waren. Bei der statistischen Auswertung der Mittelwerte der jeweils fünf Messstellen von bukkalem und lingualem Schmelz konnte in keinem der elf überprüften Fälle für keines der acht Spurenelemente ein so deutlicher Unterschied nachgewiesen werden, dass von einer allgemein gültigen Signifikanz gesprochen werden kann. Tabelle 4.1 stellt die p-Werte für den Vergleich der acht wichtigen Spurenelemente dar. Es ist klar zu sehen, dass in allen Fällen die Werte deutlich oberhalb des für eine Signifikanz bedeutenden Grenzwertes von 0,05 liegen. Mit 0,788 für Kupfer und 0,683 für Zink sogar bedeutend. Bei keinem der acht untersuchten Spurenelemente ergaben die Messungen Mengenunterschiede der zwei Zahnseiten, die im Signifikanzbereich lagen.

Der Anteil der verschiedenen Spurenelemente innerhalb des Zahnschmelzes unterscheidet sich allerdings z.T. deutlich. So ist Kalzium mit durchschnittlich 50ppm deutlich stärker im Schmelz vertreten als beispielsweise Blei mit durchschnittlich nur

0,3 ppm. Die Verteilung der jeweiligen Spurenelemente ist jedoch lingual und bukkal sehr ähnlich und unterscheidet sich nicht signifikant. Tabelle 4.2 gibt einen Überblick darüber. Dort aufgeführt sind die durchschnittlichen ppm-Mittelwerte der elf Proben für die acht deutlich messbaren Spurenelemente.

*Tabelle 4. 2: Zusammengefasste Mittelwerte von 11 Proben für 8 Spurenelemente. Angabe in Gewichts-ppm*

	Bukkal	Lingual
Mg25	2927,8045	3026,9775
Si29	325,3064	319,7429
Ca43	49,9092	49,7921
Cu63	0,4064	0,4244
Cu65	0,5235	0,5359
Zn66	159,1435	147,4722
Zn67	151,7616	141,4249
Sr88	141,1487	146,3749
Ba137	2,7130	2,7952
Pb208	0,3328	0,3162

Im weiteren Verlauf werden die einzelnen Spurenelemente losgelöst von einander in Verlaufskurven betrachtet. Dabei wird auch graphisch gut sichtbar, dass es zu keinen signifikanten Abweichungen kommt. Der Kurvenverlauf der einzelnen Proben für jeweils ein Spurenelement zeigt in keinem der Fälle Abweichungen, die so groß sind, dass sie sich drastisch von dem Gesamtbild abheben. Dennoch können in einigen Fällen Auffälligkeiten und Abweichungen beschrieben werden, die unterschiedlich zu bewerten sind.

So zeigt im Seitenvergleich für Magnesium Zahn 6, in Abbildung 10 dargestellt, lingual einen deutlich höheren Wert (4322,896 lingual zu 2980,638 ppm bukkal). Die Messungen an Zahn 10 ergaben jedoch einen höheren Wert an der bukkalen Messstelle (2809,298 lingual zu 3756,844 ppm bukkal). Insgesamt betrachtet liegen die Verlaufskurven für Magnesium jedoch sehr dicht beieinander, d.h. die ähnlichen Messwerte sind auch optisch gut nachvollziehbar. Das stellt sich im Fall des Spurenelements Barium (Abbildung 11) anders dar. Da die Werte etwas stärker variieren, liegen die Verlaufskurven weniger dicht beieinander. Dennoch sind die



Abweichungen der Werte nicht signifikant. Zudem fällt die Verlaufskurve des Zahns 8 auf, der mit 0,52360 ppm lingual einen auffallend höheren Wert als bukkal (0,13300ppm) zeigt.

Bei Betrachtung von Abbildung 13 fällt für Strontium ebenfalls auf, dass die Kurven der einzelnen Zähne grundsätzlich vergleichbar verlaufen. Die Wertevariationen liegen nie so weit auseinander, dass dies als signifikanter Unterschied gewichtet werden müsste. Sie befinden sich alle in ähnlichen Wertebereichen. Der Verlauf der Kurven zeigt bei allen Proben ansteigende Tendenzen mit höheren Werten im Inneren des Zahnschmelzes, nahe der Schmelz-Dentin-Grenze. Zahn 1, 6 und 9 sind hier auffallend. Zahn 6 (Caninus) und Zahn 9 (Prämolar) weisen mit 209,168 ppm, bzw. 183,486 ppm lingual (148,100 ppm, bzw. 169,022ppm bukkal) höhere Werte auf, während Zahn 1 bukkal einen höheren Wert für Strontium aufweist (171,394 ppm zu 156,29ppm lingual).

Anders als bei Strontium verlaufen die Kurven von Silizium (Abbildung 12) für jeden Zahn sehr individuell. Es finden sich jedoch für jeden Zahn durchschnittlich Werte, die in einem ähnlichen Bereich liegen, sodass es auch hier keinen signifikanten Unterschied zwischen der lingualen und bukkalen Zahnseite gibt. Die lediglich geringen Unterschiede die gemessen werden konnten lassen sich in den Kurven ablesen. Zähne 3 (337,232ppm – 316,046ppm), 4 (367,200ppm – 334,918ppm) und 7 (323,156ppm – 297,068ppm) zeigen sichtbar höhere Werte bukkal, während Zahn 1 (Prämolar) einen auch in der Kurve nachvollziehbar höheren Wert lingual zeigt (339,780ppm lingual – 307,094ppm bukkal) Bei der Betrachtung der Verteilung von Silizium im Schmelz, dargestellt in Abbildung 12, ist eindeutig zu erkennen, dass keine allgemeine Aussage getroffen werden kann. Die Kurven zeigen keinen vergleichbaren Verlauf, sondern vielfältige Variationen. Die Mittelwerte liegen zwischen 290ppm und 367ppm. Der niedrigste gemessene Wert für dieses Spurenelement ist bukkal in der äußersten Schmelzzone. Er liegt bei 237 ppm. Der höchste gemessene Wert liegt bei 380ppm sowohl bukkal als auch lingual. Einige Kurven zeigen einen grundsätzlichen Anstieg im Zahninneren, andere wiederum grundsätzlich einen Abfall

Bei der Kalziumverteilung (Abbildung 15) liegen die Kurven der gemessenen Werte in ähnlichen Bereichen (bei ca. 50 ppm). Bei Betrachtung der Verlaufskurven von Zahn 2 (Prämolar) fällt auf, dass er bukkal einen deutlich abweichenden Messwert im

inneren des Schmelzes zeigt. Zahn 5 (Prämolar) ist lingual auffällig, da im äußeren Schmelzbereich mit 43,86 ppm der Wert v.a. optisch sichtbar abweicht vom Mittelwert (49,9 ppm). Der Kalziumanstieg nach innen zeigt hier eine steilere Kurve. Alle Kurven zeigen einen Ausschlag im mittleren Schmelz. Jedoch nicht alle in die gleiche Richtung. Einige Zähne zeigen höhere, andere niedrigere Werte.

Im Fall des Spurenelements Blei (Abbildung 14) ist die sehr gleichmäßige Verteilung lingual und bukkal sehr gut zu erkennen. Abgesehen von geringen Variationen im äußeren Schmelzbereich, sowohl lingual als auch bukkal, ist lediglich der Zahn 6 (Caninus) auffällig. Er hebt sich deutlich von den ansonsten nahezu übereinanderliegenden Kurven ab. Die Werte für Zahn 6 liegen insgesamt (im Mittelwert bukkal bei 2,379 ppm und lingual bei 1,88 ppm) oberhalb von dem, was für alle anderen Zähne gemessen wurde. Alle anderen Zahnproben liegen bei Mittelwerten zwischen 0,05 und 0,21 ppm. Zudem stellt es sich so dar, dass bukkal der Bleigehalt von außen nach innen drastisch abfällt, hingegen lingual von außen nach innen massiv ansteigt. Zahn 8 (Molar) fällt dahingehend auf, dass er im Bereich des äußeren Schmelzes auf der lingualen Zahnseite von 2,21 ppm am äußersten Messpunkt auf nur noch 0,07 ppm im angrenzenden Schmelzareal abfällt. Bukkal liegen die Messwerte bei der gleichen Probe bei allen fünf Messstellen im Bereich von 0,06 und 0,28 ppm.

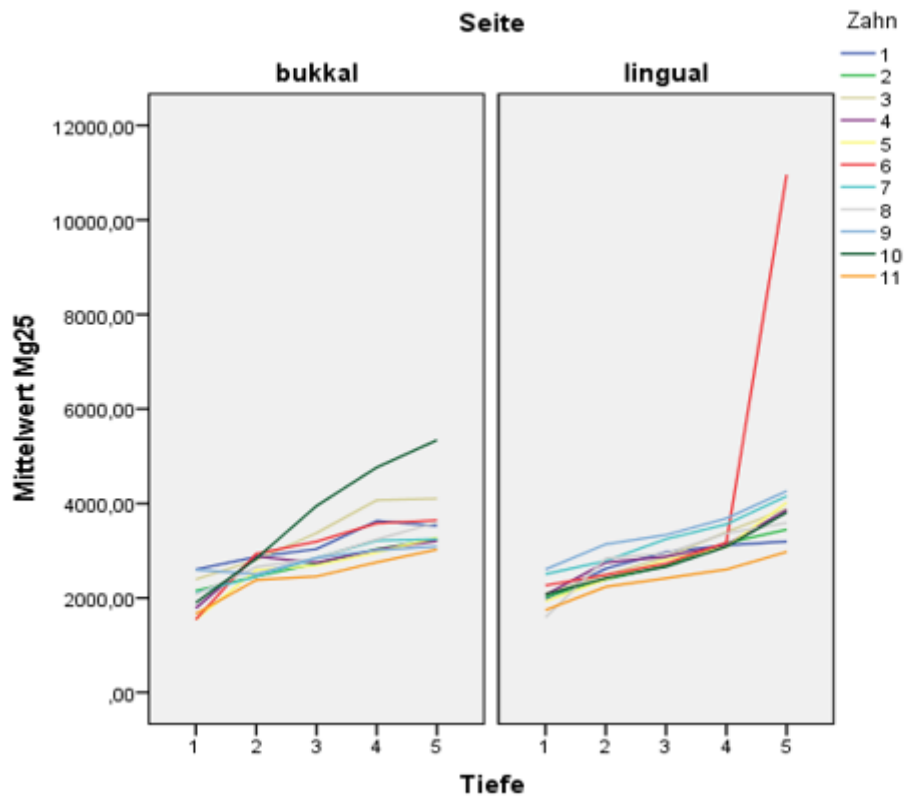


Abbildung 10 Verlaufskurven für die Magnesiumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm

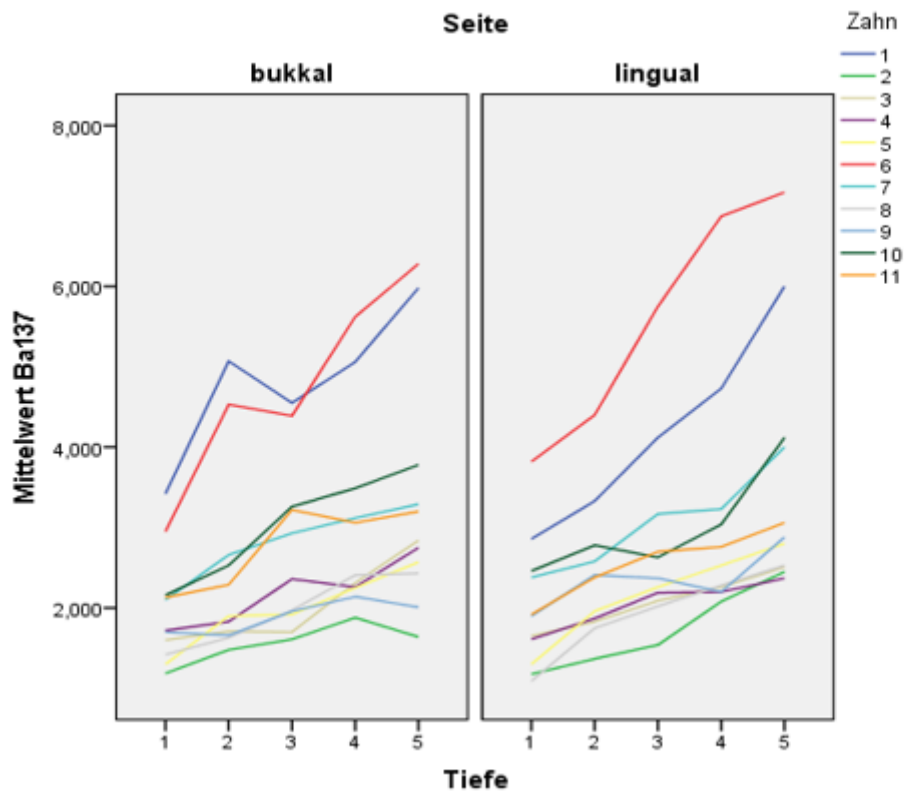


Abbildung 11 Verlaufskurven für die Bariumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm

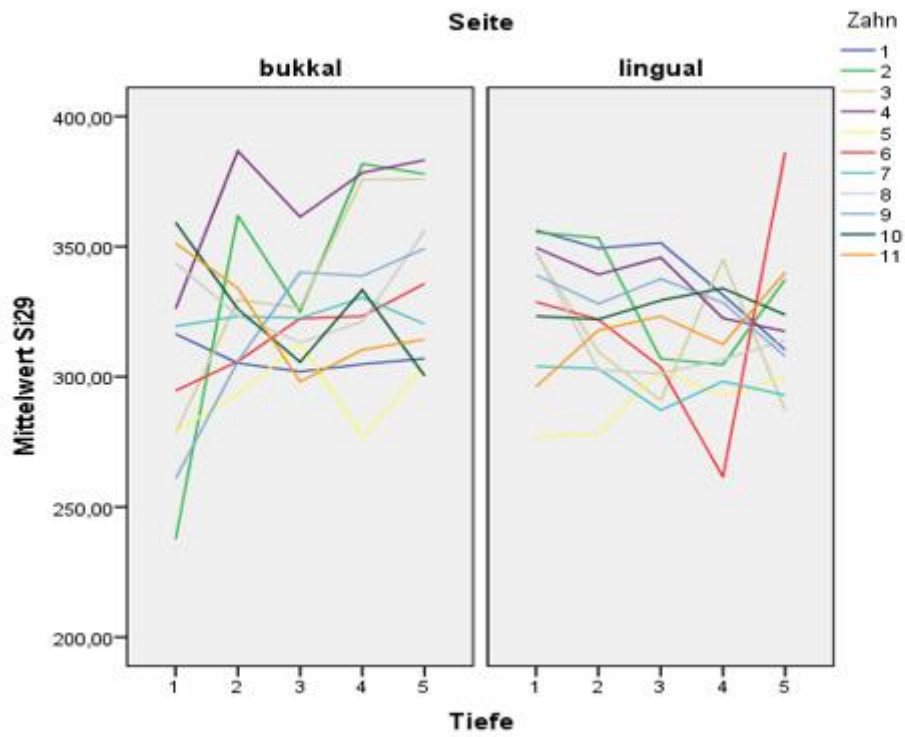


Abbildung 12 Verlaufskurven für die Siliziumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm

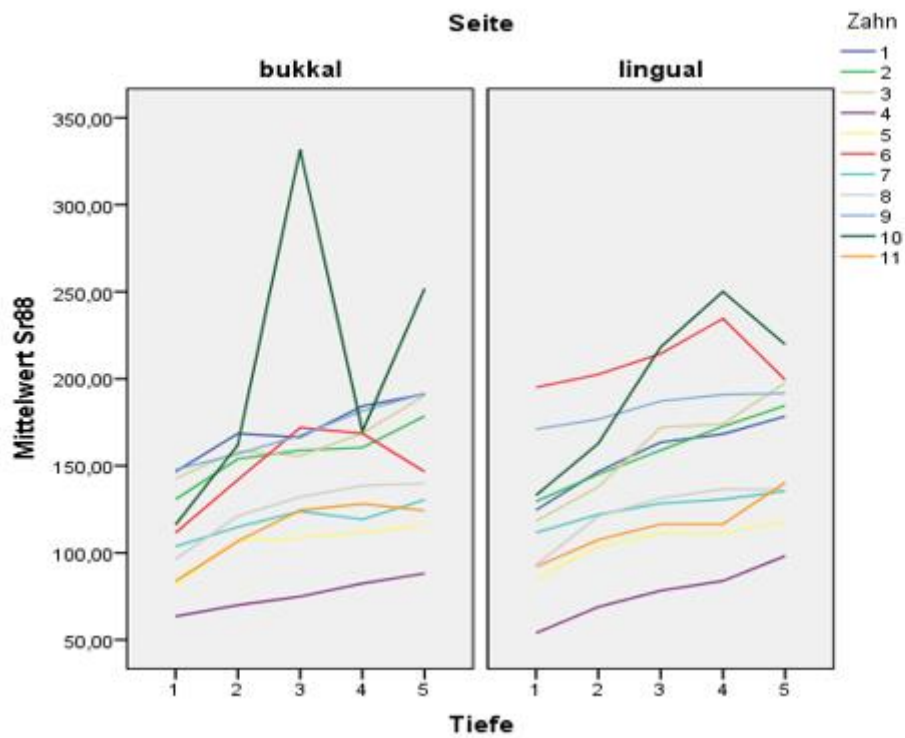


Abbildung 13 Verlaufskurven für die Strontiumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm

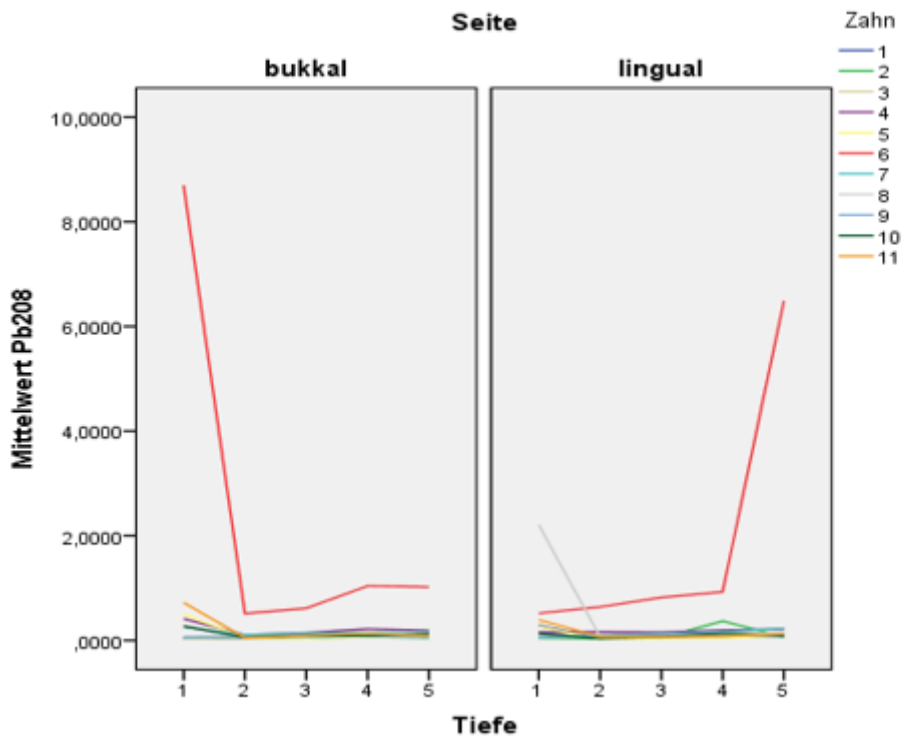


Abbildung 14 Verlaufskurven für die Bleiverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm

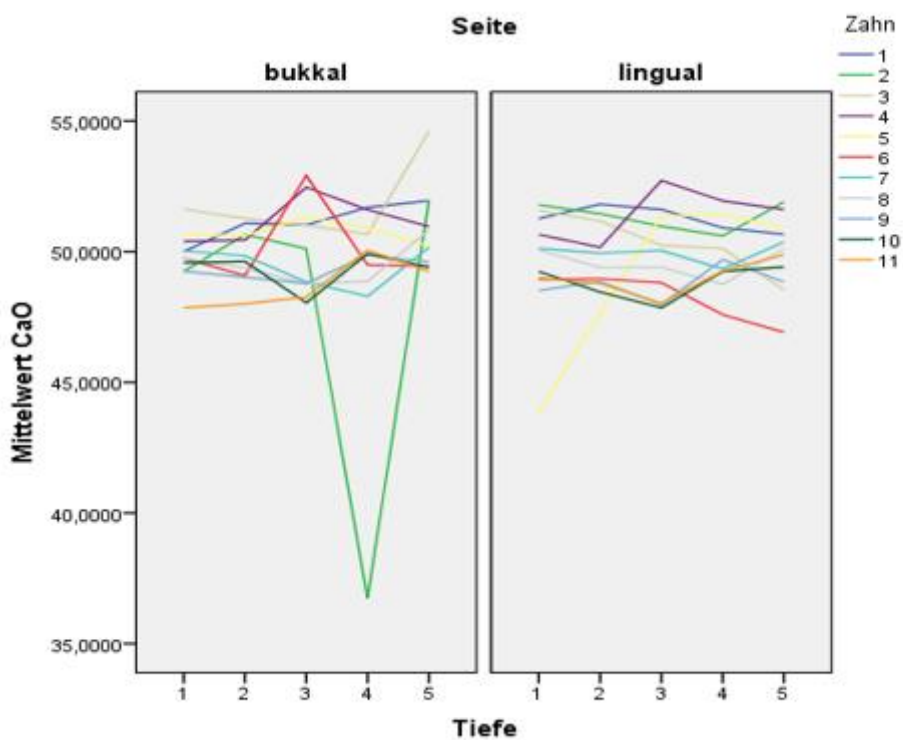


Abbildung 15 Verlaufskurven für die Kalziumverteilung der elf Zahnproben bukkal und lingual in ppm

### 4.3. Vergleich der Zahngruppen

Ergänzend zu dem Vergleich von bukkalem und lingualem Schmelz, konnte in dieser Arbeit ein Vergleich der verschiedenen Zahnproben in Abhängigkeit ihrer Zugehörigkeit zu unterschiedlichen Zahngruppen angestellt werden. Hintergrund ist die Fragestellung, ob gegebenenfalls signifikante Unterschiede bei der Spurenelementverteilung zwischen verschiedenen Zahngruppen bestehen.

In dieser Studie wurden Zahnschnitte von Molaren, Prämolaren und einem Caninus angefertigt.

Allerdings konnten auch bei diesem Gruppenvergleich keine entscheidenden Unterschiede festgestellt werden. Die statistische Gegenüberstellung ergab auch hier, dass kein signifikanter Unterschied zwischen lingual und bukkal besteht. Auch die Variationen der Spurenelementanteile, d.h. die absoluten Werte rangieren in ähnlichen Bereichen und ändern sich nur geringfügig.

Exemplarisch werden im Folgenden die Zahngruppenvergleiche für Magnesium und Zink dargestellt. Beide veranschaulichen graphisch besonders gut, was auch für die anderen Spurenelemente gemessen wurde.

Betrachtet man den Verlauf von Magnesium für den Eckzahn (Abbildung 17) losgelöst von den anderen Zahngruppen, fällt auf, dass der Anstieg lingual bedeutend höher ist. Da allerdings die Gruppe der Eckzähne nur durch einen Zahn repräsentiert wird, ist die Aussagekraft stark reduziert. Bezieht man zusätzlich auch die Molaren (Abbildung 18) und Prämolaren (Abbildung 16) ein, fällt auf, dass der Kurvenverlauf in sämtlichen Fällen grundsätzlich ähnlich dargestellt ist. In allen Fällen, sowohl lingual als auch bukkal, nimmt der Gehalt an Magnesium bei den drei Zahngruppen von außen nach innen zu. Bei dem Eckzahn rangieren die Werte von 1544- 3646 ppm im bukkalen Zahnschmelz und zwischen 2265 – 10958ppm im lingualem Schmelz. Molaren und Prämolaren rangieren in ähnlichen Wertebereichen. Bei allen Zähnen zeigen sich deutlich höhere Werte im inneren Zahnschmelz. So liegen bei den Molaren der niedrigste Wert für bukkalen Schmelz bei 1666ppm und der höchste bei 5342ppm. Ähnlich variieren beim lingualem Zahnschmelz der Molaren die Werte zwischen 1588ppm außen und 4154ppm innen im Zahnschmelz. Bei den Prämolaren ergaben die Messungen für bukkalen Schmelz für äußeren Schmelz 1542ppm und inneren Schmelz 3524ppm. Lingual liegt die Spanne zwischen außen 1929ppm und innen 4264ppm. Es ist auch bei Zink deutlich zu erkennen, dass die Graphen für alle drei

Zahngruppen sehr ähnlich verlaufen. Im Gegensatz zu den Messungen bei Magnesium wurden allerdings bei Zink bezüglich der drei Zahngruppen an beiden Zahnseiten die höchsten Werte für Zink im äußeren Schmelz gemessen. Die Werte fallen anschließend zur Mitte der Schmelzzone stark ab und zeigen in einigen wenigen Fällen eine leicht steigende Tendenz Richtung Schmelz-Zement-Grenze. Dazu gehören, der Eckzahn (Abbildung 21) Zahn 6, der lingual ansteigende Messwerte ergab und der Prämolare (Abbildung 19) Zahn 9 mit einer lingual innen ansteigenden Tendenz. Bukkal ist für den Eckzahn ein starker Abfall von 1081ppm auf 42ppm festzustellen, der auf der lingualen Zahnseite sichtlich flacher und zuletzt auch wieder ansteigend verläuft. Bei den Molaren (Abbildung 20) sind keine so offensichtlichen Differenzen zu erkennen. Bukkal ist der höchste Wert bei 867ppm und fällt Richtung Schmelz-Dentin-Grenze auf 40ppm ab. Lingual wurde an Zahn 8 mit 1025ppm der höchste Wert gemessen, der niedrigste Wert lingual liegt bei 44ppm. Es ist somit auch an den absoluten Zahlen zu erkennen, dass sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Zahnseiten und den Zahngruppen zeigen.

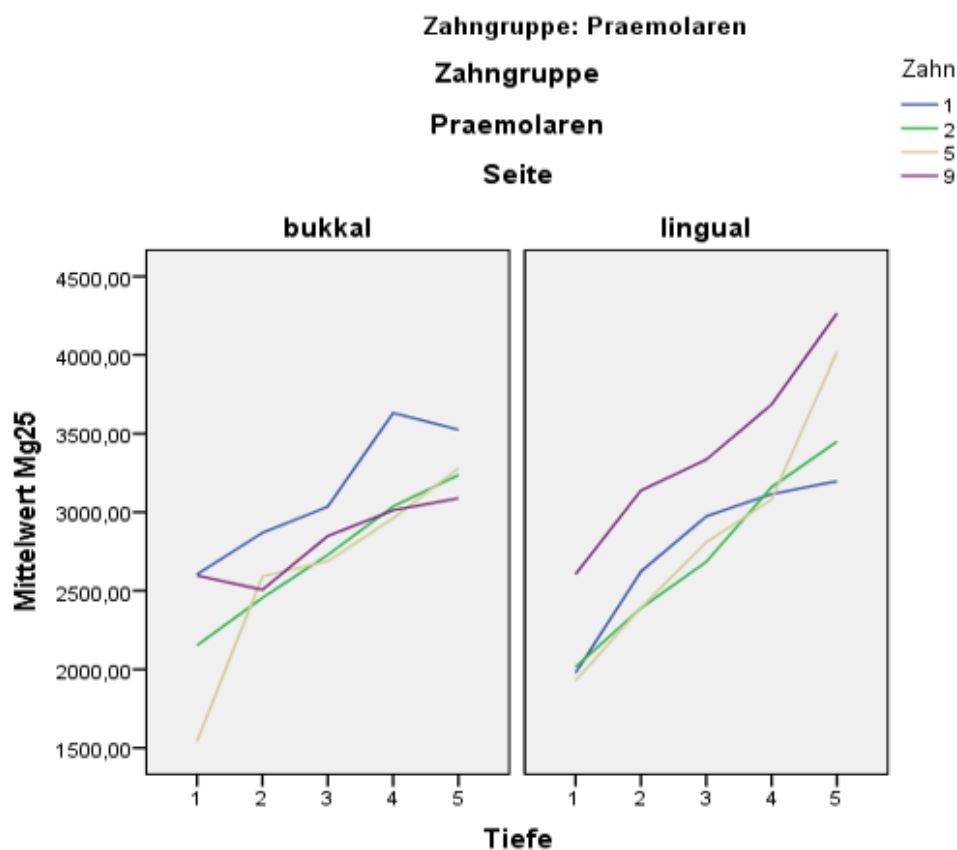


Abbildung 16 Verlaufskurven für die Magnesiumverteilung bei fünf Prämolaren

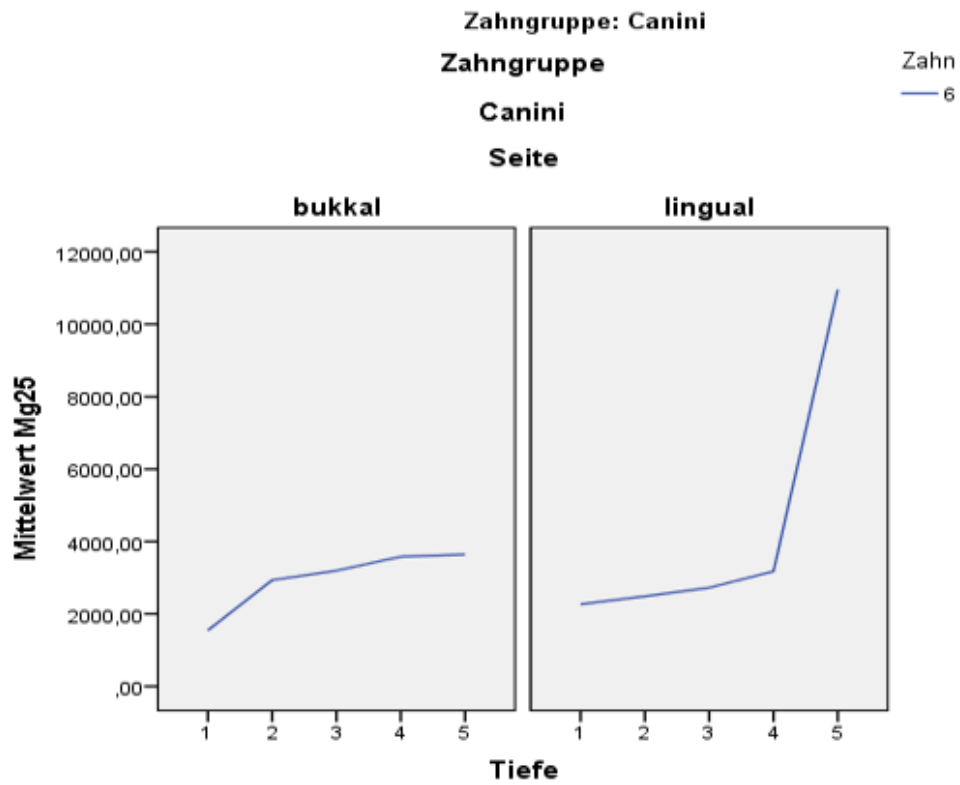


Abbildung 17 Verlaufskurve für die Magnesiumverteilung von einem Eckzahn

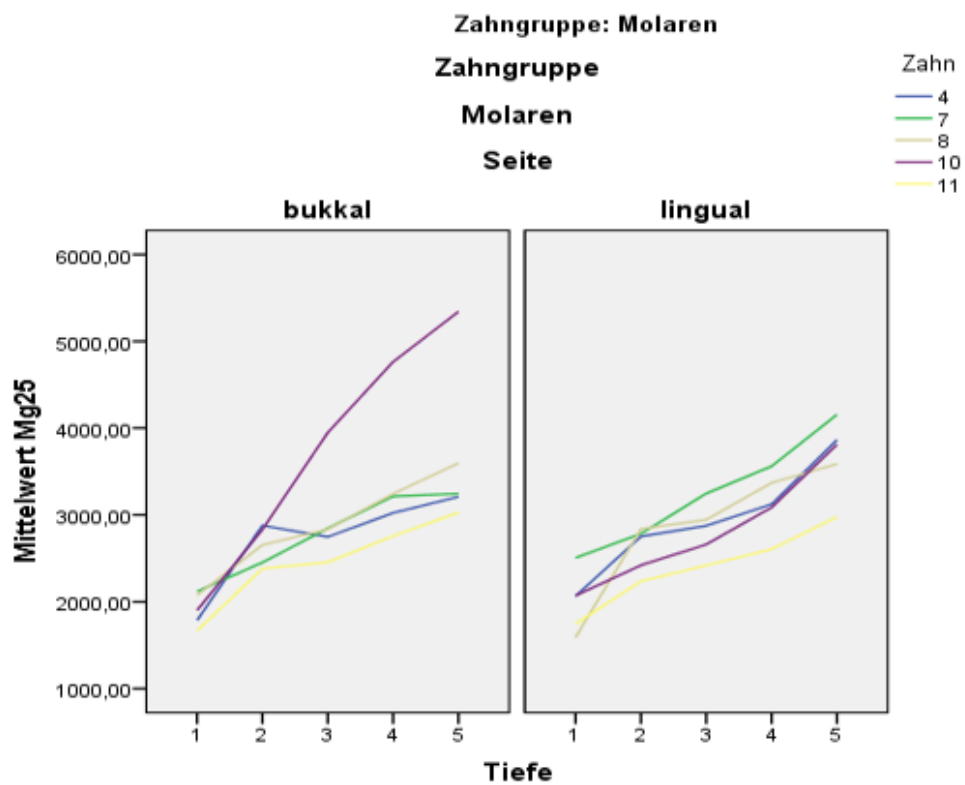


Abbildung 18 Verlaufskurven für die Magnesiumverteilung bei vier Molaren



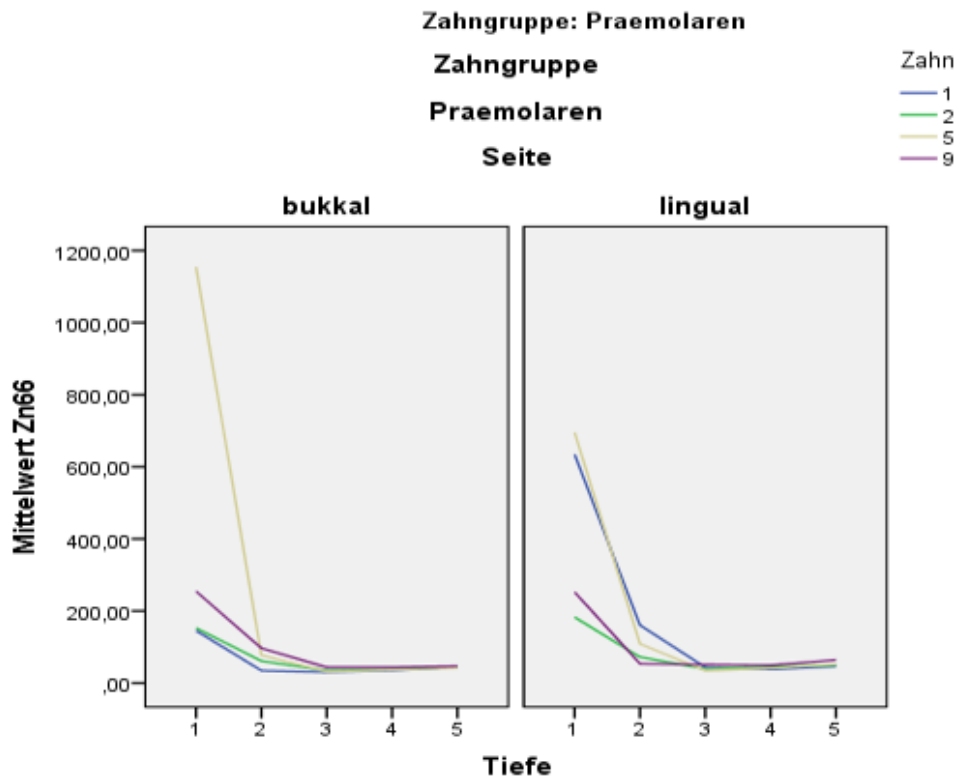


Abbildung 19 Verlaufskurven für die Zinkverteilung bukkal und lingual für vier Prämolaren

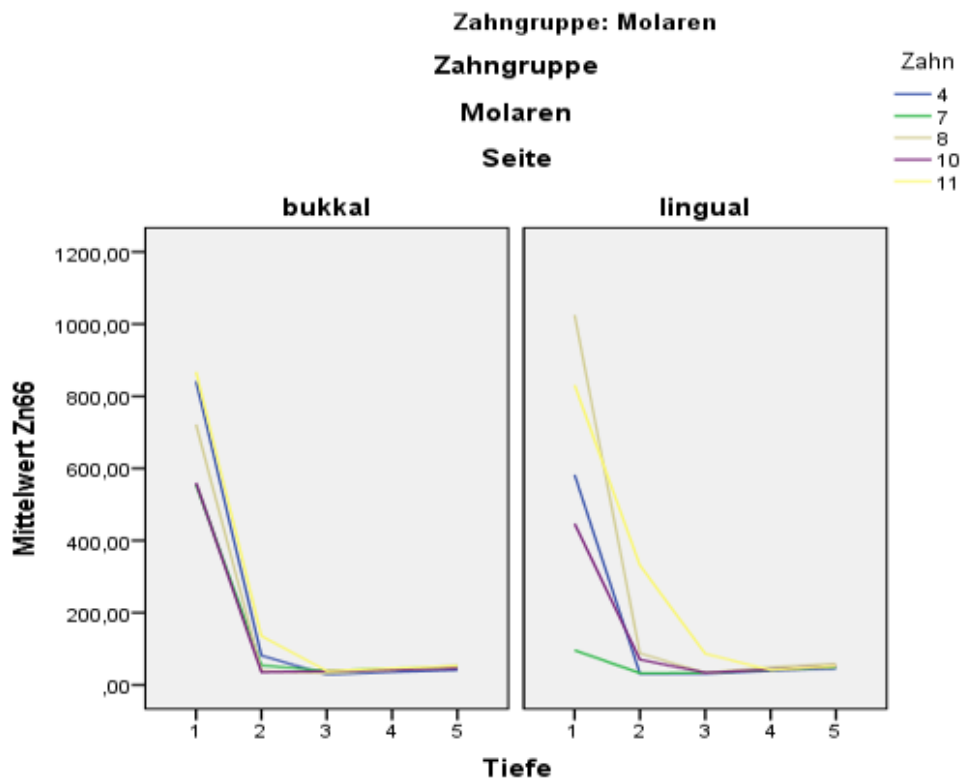


Abbildung 20 Verlaufskurven für die Zinkverteilung lingual und bukkal für fünf Molaren.

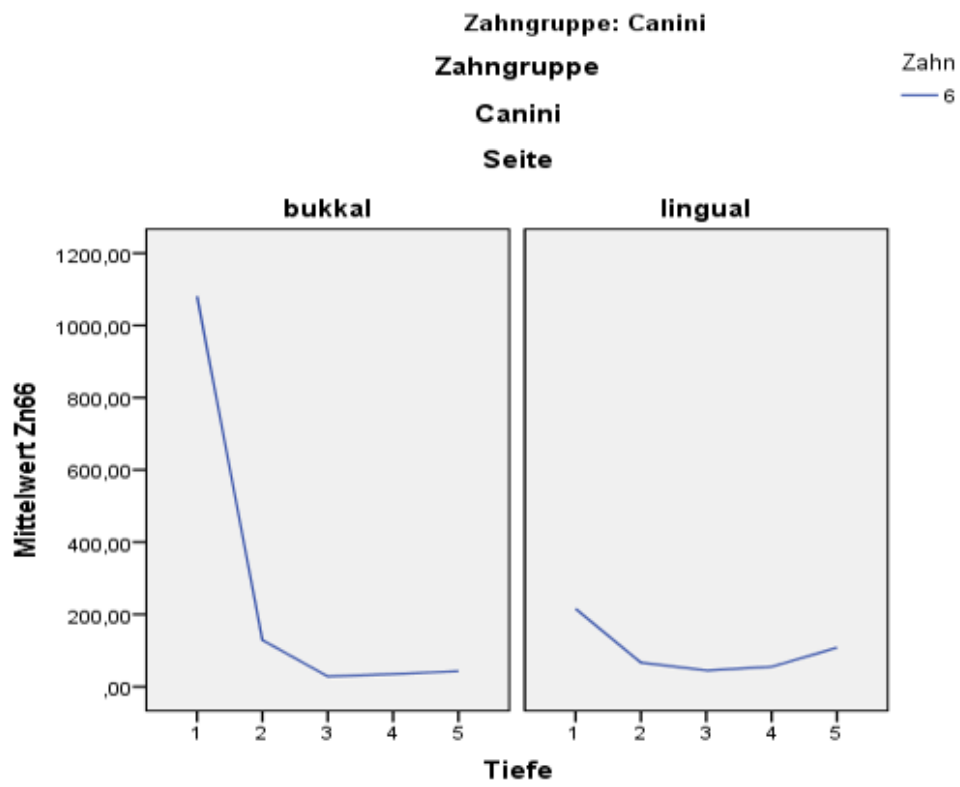


Abbildung 21 Verlaufskurven für die Zinkverteilung lingual und bukkal für einen Eckzahn

#### **4.4. Veränderungen im Zahninneren**

Nach Auswertung aller Messwerte lässt sich im Rahmen dieser Arbeit bezüglich des Grades der Mineralisation des Schmelzes feststellen, dass die jeweilige Seite/Fläche (bukkal/lingual) des Zahns nicht von großer Bedeutung zu sein scheint. Stattdessen legen die Ergebnisse den Schluss nahe, dass in der Tiefe der entscheidende Faktor zu bestehen scheint.

Die in der Tiefe z.T. deutlich variierenden Werte und Unterschiede konnten an allen Zahnseiten ähnlich festgestellt werden. Da dieser Verteilungstrend allgemeingültig für den gesamten Zahnschmelz ist, sind in den folgenden Diagrammen neben den Verlaufskurven für die bukkale und linguale Zahnseite auch Darstellungen für die mesialen und distalen Anteile der untersuchten Zähne dargestellt.

So wurden für einige Spurenelemente ansteigende Werte im Inneren des Zahns gemessen, während in anderen Fällen der umgekehrte Trend mit abfallenden Messwerten zur Schmelz-Dentin-Grenze aufgezeigt wurde.

Zu den Elementen, deren Gehalt im Inneren des Zahnes ansteigt, gehören Magnesium, Barium und Strontium. Mit zunehmender Nähe zur Schmelz-Dentin-Grenze zeigen sich in den Messungen deutliche Anstiege der Gehaltswerte.

In einer anderen Anordnung stellt die Abbildung 22 erneut die Spurenelementverteilung für Magnesium dar. An allen vier Zahnseiten zeigt sich eindeutig der ansteigende Trend von der äußersten Messstelle zur Innersten. Die Kurven aller Zahnproben steigen, mit mehr oder weniger steilen Verläufen an. Insgesamt wird auch in dieser Abbildung deutlich, dass an allen vier Zahnseiten die Kurven in ähnlichen ppm-Bereichen verlaufen.

Bei dem Vergleich fällt vor allem lingual und mesial (d.h. Seite 2 und 3) auf, dass Zahn 6 in deutlich auffälliger Weise außergewöhnlich ansteigende Werte im Inneren an der Schmelz-Dentin aufweist. Die Werte von Zahn 1 distal besitzen im Zentrum vom Zahnschmelz ihren Maximalwert. Zur Schmelz-Dentin-Grenze hin ergibt sich dann wieder eine leicht abfallende Tendenz.

Bei dem Spurenelement Barium ergibt die Vergleichsdarstellung der Abbildung 23 ein ähnliches Bild. Alle Kurven verlaufen von Messstelle 1 in Richtung Messstelle 5 insgesamt ansteigend. Auch hier bewegen sich alle Verlaufskurven in ähnlichen ppm-Wertebereichen. Zahn 6 fällt im Fall von Barium durch einen stark abweichenden Wert

der Messung an der mesialen Zahnseite auf. Anders als bei dem Gesamttrend der Verlaufskurven lassen sich für Zahn sechs im äußeren Schmelz bedeutend erhöhte Werte ablesen, die im Schmelzzentrum stark abfallen und erst dann ebenfalls eine ansteigende Tendenz Richtung Schmelz-Dentin-Grenze aufweisen.

Abbildung 24 zeigt die Verteilung von Strontium im Zahnschmelz. Strontium ist ebenfalls eines der Elemente, dessen Werte mit der Schmelztiefe zunehmen. Auch bei diesem Spurenelement finden sich an keiner der Zahnseiten größere Werteabweichungen. Bei den Verlaufskurven von Strontium ist allerdings Zahn 10 auffällig. Auch bei ihm ist innen ein grundsätzlich höherer Wert als außen nachweisbar. Allerdings zeigen die Kurven aller Zahnseiten dieser Probe deutliche Peaks jeweils im Zentrum des Schmelzes (3). Bukkal und mesial ist dies besonders auffällig. An den dafür vorgesehenen Messpunkten steigt der Wert von 161ppm auf 331ppm an und fällt daraufhin auf 169 wieder herab. Mesial erfolgt ein Sprung von 172ppm an Messstelle drei auf 354ppm; abschließend fällt der Wert wieder auf 163ppm an Messstelle fünf. Vorab ist bereits ein Anstieg zu erkennen, und auch der Endwert an der Schmelz-Dentin-Grenze ist an allen vier Zahnseiten höher als an der Schmelzaußenseite. Es ist allerdings festzustellen, dass Strontium in Zahn 10 vor allem in der mittleren Schmelzzone (3) seine Maximalwerte hat. In abgeschwächter Form zeigt Zahn 6 ebenfalls diesen Kurvenverlauf. Zahn 1 hat distal im Inneren des Zahns geringere Strontiumwerte, d.h. besitzt eine absteigende Tendenz von außen nach innen. Distal zeigt der Zahn somit im Vergleich mit den übrigen drei Zahnseiten, an denen sich ein ansteigender Trend darstellt, eine entgegengesetzte Situation.

Das gegenteilige Bild zu Strontium, Barium und Magnesium zeigen vor allem die Verlaufskurven von Zink (Abbildung 25) sehr anschaulich. Darin ist ein massiver Abfall der Messwerte in Richtung der Schmelz-Dentin-Grenze zu erkennen. Der Gehaltsabfall stellt sich dabei so dar, dass vor allem von den äußeren zu den zentralen Messpunkten (1-3) eine drastische Reduktion von Zink in den entsprechenden Schmelzarealen nachweisbar ist. Im Anschluss bleibt das Zink-Niveau (3-5) bis zur Schmelzinnenseite annähernd konstant. Lediglich in einigen Fällen kommt es nahe der Schmelz-Zement-Grenze zu einem geringfügigen Anstieg. Grundsätzlich ist trotzdem der Wert außen in allen Fällen deutlich höher als innen. Die tatsächliche Differenz von Außen- und Innenseite variiert jedoch bei den Zähnen. So zeigen die Zähne 5, 6 und 11 die z.T. höchsten Werte für die äußere Schmelzzone. Da sie jedoch auf ähnliche Werte wie die übrigen Zähne im Inneren der Schmelzzone abfallen, ist

der Kurvenverlauf deutlich steiler. Der durchschnittliche Wert im Inneren des Zahnschmelzes liegt für alle vier Zahnseiten bei 51,45ppm. Im Gegenteil zu den Zähnen 5, 6 und 11 stehen die Zähne 1, 2 und 7. Diese haben schon im äußeren Schmelz weniger hohe Werte, sodass die absolute Differenz zur Schmelz-Dentin-Grenze bedeutend geringer ist. Während bei Zahn 5 bukkal die Werte von 1154ppm in der äußeren Schmelzzone auf 41ppm an der Schmelz-Dentin-Grenze abfallen, liegt die Differenz an der entsprechenden Zahnseite bei Zahn 1 nur bei 101ppm (von 145ppm außen nach 44ppm innen).

Die Abbildung 26 zeigt die Siliziumverteilung für alle vier Zahnseiten. Der Unterschied zu den bisher dargestellten Diagrammen ist deutlich sichtbar. Anders als bei Barium, Strontium und Magnesium oder auch Zink ist für Silizium keine allgemeine Aussage zu treffen hinsichtlich eines Verteilungstrends. Die Messwerte und daraus folgend die Verlaufskurven in der graphischen Darstellung sind für Silizium sehr uneinheitlich. Die Werte rangieren alle in einem ähnlichen Bereich. Daraus lässt sich jedoch nicht grundsätzlich schlussfolgern, ob im Äußeren oder Inneren des Zahnschmelzes grundsätzlich höhere Werte zu erwarten sind.

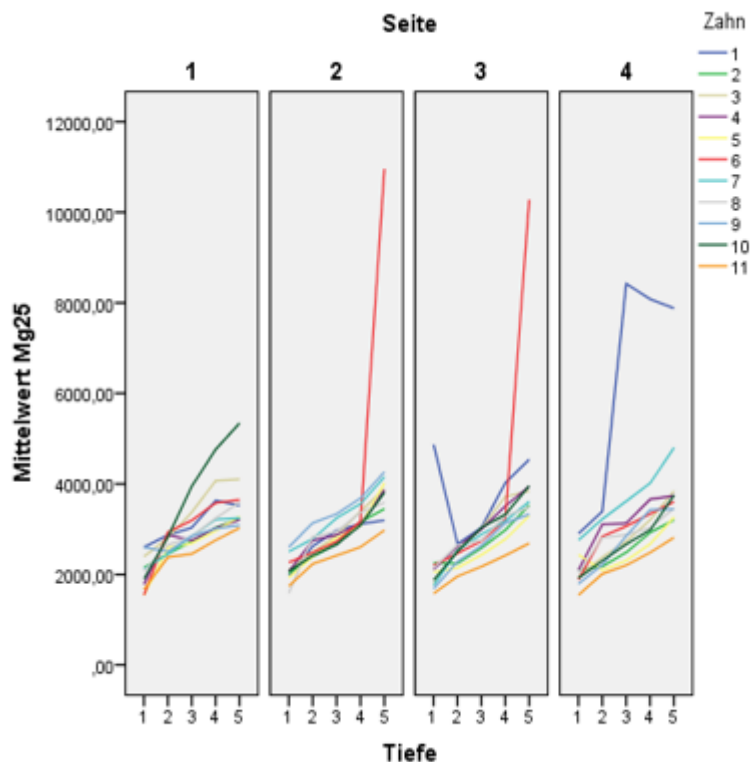


Abbildung 22 Darstellung der Verteilung von Magnesium in Gewichts-ppm in verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten

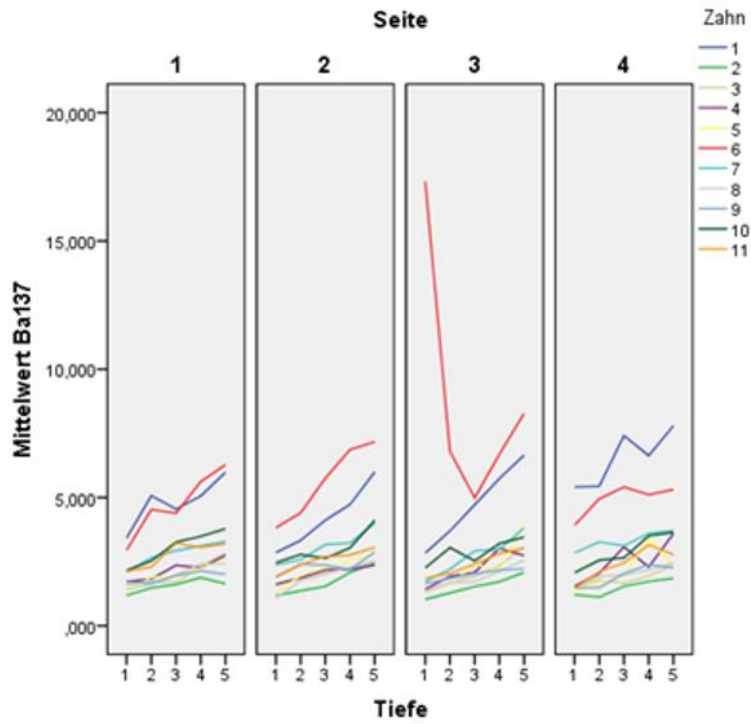


Abbildung 23 Darstellung der Verteilung von Barium in Gewichts-ppm in verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten

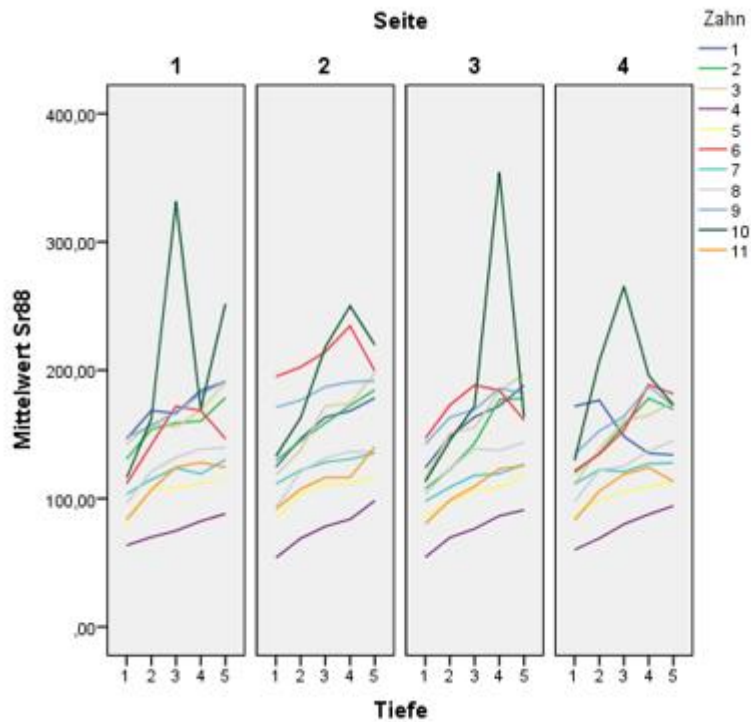


Abbildung 24 Darstellung der Verteilung von Strontium in Gewichts-ppm in verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten

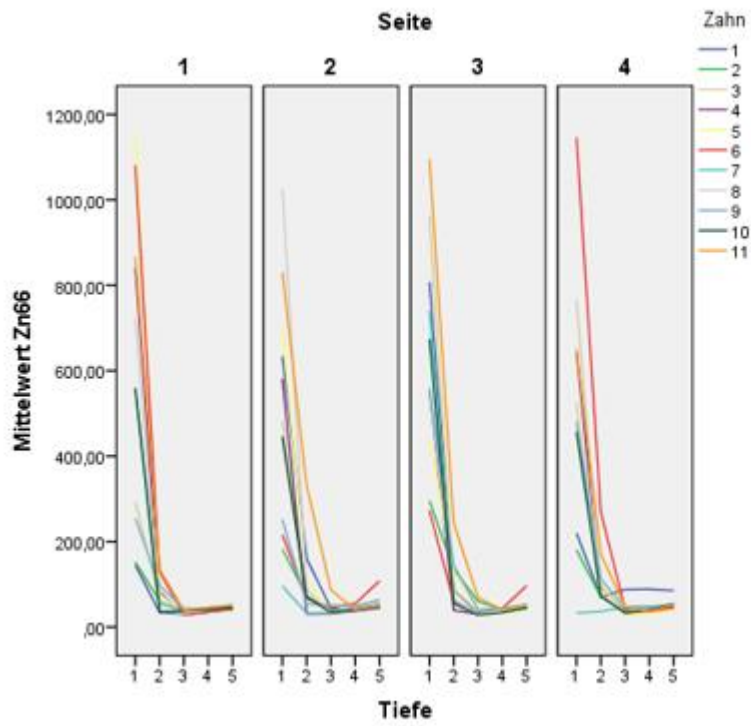


Abbildung 25 Darstellung der Verteilung von Zink in Gewichts-ppm in fünf verschiedenen Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten

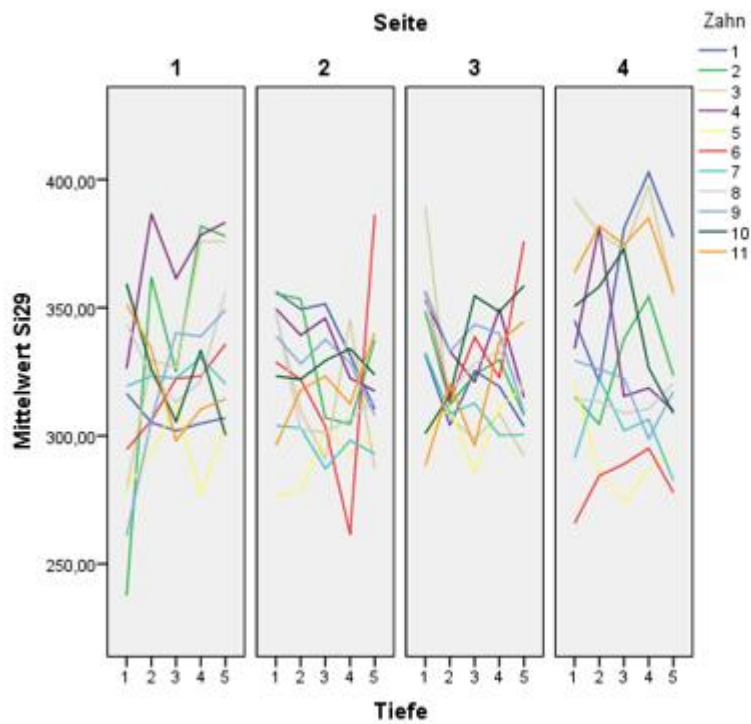


Abbildung 26 Darstellung der Verteilung von Silizium in Gewichts-ppm für fünf verschiedene Tiefen des Zahnschmelzes für vier verschiedene Zahnseiten

## **5. Diskussion**

### **5.1. Kritische Betrachtung der eigenen Untersuchung**

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie fügen sich in die Erkenntnisse vorangegangener Studien ein.

Sie unterstreichen, dass der menschliche Zahnschmelz tatsächlich keine homogen mineralisierte Substanz ist und Variationen durch differenzierte Messungen deutlich nachweisbar sind. Die Studie konnte zeigen, dass vor allem im Bereich der Zahntiefe Veränderungen der Mineralisation und Unterschiede der Spurenelementverteilung auftreten. Allerdings konnten in keinem Fall signifikante Unterschiede des Spurenelementgehalts zwischen lingualem und bukkalem Zahnschmelz dargestellt werden.

Die Arbeitshypothese, dass sich lingualer von bukkalem Schmelz signifikant hinsichtlich der Mineralisation unterscheidet, konnte somit nicht bestätigt werden. Auch konnte keine Signifikanz bei dem Vergleich der verschiedenen Zahngruppen (Canini, Prämolaren und Molaren) festgestellt werden.

Hierbei muss die Probenanzahl der Studie kritisch bewertet werden, die mit elf Proben recht gering ausfällt. Bei einer größeren Anzahl von untersuchten Zähnen würden kleinere Veränderungen, Fehlmessung, Abweichungen aufgrund von Kontamination oder Durchführungsfehlern statistisch nicht so schwer ins Gewicht fallen, wie es vorliegend der Fall ist.

Hinzu kommt, dass keinerlei Angaben zur Herkunft der Zähne gemacht werden können. Dies bedeutet, dass weder Informationen zum Geschlecht noch zum Alter der Personen vorliegen. Es gibt keine Auskunft darüber, in welchem Mundhygieniezustand sich das Gebiss des Probanden befunden hat, ob Fluoride zugeführt wurden oder nicht, wie die Speichelzusammensetzung war oder welche Ernährungsgewohnheiten der Proband vor der Extraktion hatte. Ob konservierende oder prothetische Versorgungen im Mund vorhanden waren, kann ebenfalls nicht angegeben werden. Wie in der Literatur mehrfach dargestellt, haben aber all diese Faktoren durchaus mehr oder weniger großen Einfluss auf den Gehalt und die Verteilung gewisser Spurenelemente (8, 57, 58).



Im Hinblick auf den Vergleich der Zahngruppen wird zudem deutlich, dass eine größere Anzahl von Proben zu statistisch spürbar aussagekräftigeren Ergebnissen geführt hätte. So konnte nur ein Caninus untersucht werden und leider kein einziger Inzisivus in die Studie einbezogen werden. Da darüber hinaus defekte Zähne von Beginn an aus der Untersuchung ausgeschlossen worden waren und Schneidezähne grundsätzlich seltener extrahiert werden und damit weniger zur Verfügung stehen, musste die vorliegende Studie im Aussagewert begrenzt bleiben.

Trotz der Anwendung der aktuell gültigen Erkenntnisse über die Lagerung von Proben vor der Schnitthanfertigung, kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Art und Lagerung zu einer Veränderung der Proben geführt haben. Solche Veränderungen könnten die Messergebnisse unter Umständen ebenfalls in entscheidender Form beeinflusst haben (59-61).

Auch bei der darauffolgenden Anfertigung der Schnitte können nicht ersichtliche Veränderungen an den Proben vorgenommen worden sein, die Einfluss auf letztendliche Messergebnisse haben (62, 63).

So wurden Schnitte auf Polierscheiben poliert, bei denen nicht ausgeschlossen werden kann, dass von ihnen eine Kontamination der Oberfläche ausgegangen ist, Partikel gelöst oder gar zugefügt wurden. Ähnlich kann es auch beim Einbetten der polierten Schnitte zu entscheidenden Beeinflussungen der Zahnproben und somit der Messergebnisse gekommen sein. Bei diesen Arbeitsvorgängen wurde zunächst ein Kleber zur Fixierung der Proben verwendet, dann die Probe in Kunststoffe eingebettet und später mit Alkohol gereinigt. All diese Schritte können Partikel ergänzt oder gelöst haben, die nicht als solche ermittelt und beurteilt werden können.

Zur Auswahl des geeigneten Messverfahrens wurden vorab einige vorherige Studien und deren jeweilige Verfahren ausgewertet. Die Aus- bzw. Bewertung der Verfahren fand unter Berücksichtigung der Faktoren Darstellungsgenauigkeit und –umfang statt. Für diese Studie war es wichtig, dass auf kleinster Fläche Spurenelemente in höchst möglicher Zahl und Genauigkeit gemessen werden konnten. Zusätzlich wurde Rücksprache mit dem geologischen Institut der Universität Mainz gehalten und daraufhin die Wahl für LA ICP-MS getroffen. In vorangegangenen Studien (4, 10, 53)

konnte bereits gezeigt werden, dass diese Methode für die Messung von Spurenelementkonzentrationen gut geeignet ist. Sie zeigt ein sehr hohes Level an Unterscheidung (64, 65), was mit dem Ziel, viele Spurenelemente zu messen und zu

differenzieren, besonders wichtig ist. Durch die Laserablation ist eine räumliche Auflösung im Bereich von  $\mu\text{m}$  möglich, und es stellt eine sehr gute Methode dar, quantitative Analysen durchzuführen. Ein weiterer positiver Aspekt dieses Verfahrens ist die wenig aufwändige Vorbereitung von Proben.

In einigen vorangegangenen Untersuchungen wurde die Zahnhartsubstanz vorab zermahlen (4) und dann als Gesamtmenge auf vorkommende Spurenelemente überprüft. Von dieser Vorgehensweise wurde in dieser Studie Abstand genommen, da bei zermahlener Schmelzsubstanz nicht mehr zwischen bukkal und lingual hätte differenziert werden können. Zudem können bei diesem Vorgehen die Tiefenveränderungen im Schmelz nicht analysiert werden.

Kritisch muss bei dem Messverfahren ICP-MS mit Laserablation immer betrachtet werden, dass die Lasereinstellungen, wie z.B. Laser-Durchmesser, Laser-Energie und Pulsfrequenz über die Qualität der Ergebnisse entscheiden (66). Zudem hat die Temperatur im Gerät Einfluss auf die Resultate. So kann es bei inkonstanten Temperaturen im Gerät zu Ablagerungen kommen, da Aerosol dann unvollständig verdampft und zerstäubt. Dies bedeutet für die Messungen fehlerhafte Werte.

Der Laserdurchmesser wurde auf  $100\mu\text{m}$  eingestellt, was sich auch in vorangegangener Studie bereits als sinnvoll für die Untersuchung von Zahnschmelz herausgestellt hat (10).

Die Entscheidung, Kalzium als internen Speicher bei den Messungen mit LA ICP-MS zu wählen, wurde uns von unserem Kooperationspartner für diese Studie "Institut für Geowissenschaften" der Universität Mainz angeraten und ist ebenfalls in der Literatur erfolgreich beschrieben. Als Substanz, die mit hohem Anteil in der Probe vorhanden ist, bietet sie sich sehr gut an, da sie Signalabweichungen verhindert (10, 66). Im Hinblick auf die Untersuchung des Zahnschmelzes ist vor diesem Hintergrund die Verbindung von Kalzium zur Matrix des Gewebes entscheidend. Nachteil ist sicherlich, dass gerade zur Erhebung des Anteils von Kalzium noch eine zusätzliche Messmethode herangezogen werden muss. Dabei kann nicht vollständig gewährleistet werden, dass die Messstellen übereinstimmen. Die daraus resultierenden Folgen für die Ergebnisse sind allerdings tolerierbar.

Zudem ist die von den Geowissenschaftlern vorgeschlagene Elektronenstrahl-Mikrosonde eine ebenso zuverlässige Methode auch kleinste Spurenelemente ohne hohes Risiko der Probenzerstörung zu analysieren (67). In unserem Fall die Methode

der Wahl um Kalziumkonzentrationen zu messen und die vorab gemessenen Werte der LA-ICP-MS Methode zu kontrollieren und bestätigen.

## **5.2. Vergleich der eigenen Ergebnisse mit den Erkenntnissen aus der Literatur**

In vielen vorangegangenen Untersuchungen wurden die Zahnschmelzsubstanzen und im speziellen auch die äußere härteste Zahnschicht, der Zahnschmelz, untersucht und verglichen. Es ist mehrfach in der Literatur beschrieben worden, dass deutliche Unterschiede bestehen, was die Eigenschaften (41, 51) und den Grad der Mineralisation (1) der Zahnhartsubstanzen angeht. Besonders zwischen den verschiedenen Zahnschmelzsubstanzen, d.h. Schmelz, Dentin und Zement (4, 47, 68), zwischen verschiedenen Zahntypen (6), aber auch innerhalb des Zahnschmelzes (11, 36, 45), der auch in der vorliegenden Studie genauer betrachtet wurde, kommt es zu deutlichen Unterschieden (35, 45).

Viele Studien wurden in den letzten Jahrzehnten zur Mineralisation und Struktur der Zahnhartsubstanz durchgeführt. Der Fokus dieser Arbeiten war jeweils unterschiedlich ausgelegt. Eine dieser Studien führte mit ihrer Erkenntnissen zur Fragestellung der vorliegenden Studie (15), andere kamen bei abweichenden Fragestellungen zu ähnlichen Ergebnissen oder betten die vorliegenden Ergebnisse ein (3, 10, 11, 35, 45, 47).

Viele der Studien haben den Einfluss von Fluoriden (44, 69-71) und Lebensalter (11, 35) auf den Zahnschmelz überprüft, die Säureanfälligkeit (38, 41, 51) und Remineralisationsfähigkeit (68, 69) von Schmelz betrachtet, oder den strukturellen Aufbau (12, 13, 34, 71, 72) von Schmelz analysiert.

Wieder andere Studien haben sich damit befasst, welchen Einfluss Umweltfaktoren (5, 8, 53), Ethnien und medizinische Versorgung (10, 73) - bzw. Mundhygieneerziehung auf die Mineralisation und Kariesanfälligkeit (48) von Zähnen haben - bzw. welche Korrelation zwischen Mineralisationsgrad und Kariesentstehung besteht (5, 35, 39, 48, 53).

Auch die Mineralisation (3, 35), das Vorkommen und die Verteilung unterschiedlicher Spurenelemente im Zahn, wurde intensiv erforscht und erbrachte viele Erkenntnisse. Dabei wurde gesunder (40, 52) und kariöser Zahnschmelz betrachtet, aber auch

Milchzahnschmelz (6) untersucht. Andere Studien wiederum verglichen gesunde und kariöse permanente (47, 48) Zähne, andere stellten den Vergleich von Milchzähnen zu permanenten Zähnen (37, 53) an (5).

Die konkrete Untersuchung des Zahnschmelzes dahingehend, ob die Mineralisation sich bukkal von lingual unterscheidet, wurde bisher noch nicht angestellt. Die Literatur liefert aus dem Grund ausschließlich einbettende Informationen, die die vorliegenden Ergebnisse zum Teil erklären oder aber mit Zusatzinformationen unterstützen können. So wurden durchaus gezielt bukkal und lingual verglichen. Manchmal nur einzelne Zahngruppen, manchmal mit Fokus auf einzelne losgelöste Mineralien oder auf die Struktur des Schmelzes.

Weatherell et al. (35) beschreiben schon 1974 „Variationen des Fluoridgehalts in Oberflächenschmelz“. Sie beschreiben dabei, dass sich im Laufe des Lebens durch Abnutzung und Wiedereinbau aus dem Speichel die Mineralisation verändert und insbesondere Fluoridanteile deutlich variieren können. Diese Variationen treten v.a. auch von Zahn zu Zahn auf, da die Abnutzung der verschiedenen Zähne eines Gebisses sich sehr stark unterscheiden kann. Je nach Abnutzungsgrad, beschreibt er, könne der Oberflächenschmelz Fluoridwerte von inneren Schichten aufweisen (35). Grundsätzlich sind Fluoridwerte laut seinen Angaben zur Schmelz-Dentin-Grenze abnehmend, und es zeigen sich abweichende Werte für zervikale, Höcker- und Fissuren-Bereiche.

Hinsichtlich ihrer Kenntnisse ist kritisch zu diskutieren, dass in der vorliegenden Arbeit keine Angaben zur Mundhygiene oder Fluorideinwirkungen auf die Zahnproben gemacht werden können. Auch das Alter eines Zahns, welches Weatherell et al. als Einflussfaktor auf die Schmelzbeschaffenheit angeben, kann hier nicht einbezogen werden. Sie beschreiben, dass das Fluoridvorkommen abhängig ist von Belastungen am Zahn. Aufgrund der Anonymität der Probanden, ist vorliegend auch kein Okklusionsprofil bekannt, welches Rückschlüsse liefern könnte. Jedoch kann in der vorliegenden Arbeit auch dargestellt werden, dass die Werte der Spurenelemente sich mit Zahnschmelztiefe verändern. Einige fallen, wie Fluorid, zur Schmelz-Dentin-Grenze ab, andere zeigen höhere Werte in der Tiefe der äußersten Zahnhartsubstanz.

Mizuno et al. (44) untersuchten 1990 in ihrer Arbeit ausschließlich Prämolaren des Unterkiefers, um herauszufinden, ob bei Fluorid Konzentrationsunterschiede bukkal, lingual und okklusal bestehen. Zudem differenzierten sie ihre Proben nochmal

hinsichtlich der Fragestellung, ob sie bereits in der Mundhöhle durchgebrochen waren. Sie konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen bukkal und lingual feststellen; allerdings konnten okklusal signifikant höhere Werte bei den durchgebrochenen Zähnen gemessen werden.

Mizuno konzentriert sich auf Fluorid, kam aber, ebenso wie die vorliegende Studie, zu dem Schluss, dass keine Unterschiede zwischen bukkal und lingual bestehen. Die zusätzliche Untersuchung, die durchgebrochene und nicht durchgebrochene Zähne vergleicht, wird in der vorliegenden Arbeit nicht angestellt. Aufgrund des Wissens um die nach dem Durchbruch folgenden Veränderungen des Zahnschmelzes beispielsweise durch Fluorideinfluss aus Speichel und Umwelt oder durch Ernährungsgewohnheiten (10, 69, 73), wurden ausschließlich bereits durchgebrochene Zähne ausgewählt und Weisheitszähne von der Studie ausgeschlossen. Vor allem bei Weisheitszähnen ist oftmals unklar, ob sie vor Entfernung aus der Mundhöhle noch vollständig impaktiert, d.h. von Knochen bedeckt, waren, oder schon in die Mundhöhle durchgebrochen waren.

1996 führten Hirose et al. (70) ebenfalls eine Studie durch, um zu klären, ob ein Unterschied zwischen bukkalem und lingualem Fluoridprofilen besteht. Allerdings führten sie eine In-Vivo-Studie durch und untersuchten einzig erste Molaren des Oberkiefers. Das Ergebnis ihrer Studie war, dass die Fluoridkonzentration von distobukkal über mesiobukkal und distolingual nach mesiolingual abnehmend ist. Als Erklärung dafür führten sie an, dass lingual der Zahn größeren Belastungen ausgesetzt ist, mehr Zungenkontakt besteht und bukkal die Glandula parotidea ihren Austrittspunkt hat, was eine höhere Aufnahme von Fluoriden aus dem Speichel bukkal begünstigt und trotz größerer Plaquebelastung bukkal für eine höhere Fluoridkonzentration sorgt. Sie konnten keinen Zusammenhang zwischen der Fluoridkonzentration im Schmelz und der Fluoridkonzentration im Speichel herstellen. Sie konnten also, begrenzt auf die ersten oberen Molaren und die Konzentration von Fluorid, einen Unterschied bei lingualem und bukkalem Schmelz nachweisen. Die im Anschluss an diese Studie entstandene Frage, ob nicht nur für Fluorid, sondern auch für die Gesamtmineralisation ein Unterschied nachweisbar ist und ob dies nicht nur für Oberkiefer- Molaren, sondern für die gesamte Dentition gültig ist, konnte durch die vorliegende Studie, allerdings nicht verifiziert werden.

Takagi et al. berücksichtigten in ihrer Studie 2000 (69) nicht den Seitenvergleich zwischen lingual und bukkal. Sie überprüften allerdings, wie sich Fluorid nach einem

Angriff an den Zahn bindet. Nach einer solchen Remineralisation sei weniger loses und mehr zahngelbendes Fluorid vorhanden, welches somit für eine im Folgenden höhere Resistenz gegen Angriffe sorgt.

Da in der vorliegenden Studie Zahnproben verwendet wurden, die z.T. schon über einige Zeit gelagert worden waren, kann zu der Fluoridanamnese und Mundhygiene des Probanden keine Aussage getroffen werden. Unter Berücksichtigung der oben genannten Studien können also keine Informationen über mögliche, vor der Extraktion stattgefundenen, Remineralisationsprozesse erhoben und bewertet werden. Damit ist keine Aussage zu abgewehrten Angriffen und stattgefundenen Remineralisationsprozessen möglich.

Die bisher diskutierten Studien zeigen allerdings alle deutlich, dass keinesfalls eine durchweg homogene Verteilung von Mineralien im Zahn vorkommt. Zudem wurde bisher nicht allgemein geklärt, ob Unterschiede bukkal und lingual auftreten. Diese Frage zu klären, war das Ziel der vorliegenden Studie.

Zwar ohne Bezug zu Fluorid oder zur Mineralisation, schauten Brosh et al. (41) und Tucker et al. (51) jedoch im Vergleich bukkal und lingual auf das Verhalten der beiden Zahnseiten bei Säureangriffen. Tucker in seiner Studie von 1998 führte extrahierten Zähnen Säure zu und stellte als Ergebnis ein unterschiedliches Auflösungsverhalten fest. Zum einem an einzelnen Zähnen, aber auch zwischen verschiedenen Zahngruppen konnte er Variationen festhalten. So war eine seiner Hauptkenntnisse, dass palatinaler bzw. lingualer Schmelz um einiges säureanfälliger ist als bukkaler Schmelz. Brosh stellt in seiner Arbeit darüber hinaus die strukturellen Unterschiede vom lingualen und bukkalen Perikymatienverlauf dar. Damit erklärt er zudem die in der Studie auftretenden Ätzmuster. Lingual sind laut seiner Studie wenige bis keine Perikymatien festzustellen; eine mechanische Retention durch Ätzen zu erzielen, sei fast nicht möglich. Allerdings stellen seine Ergebnisse an der lingualen Messstelle größere Schmelzschäden fest. Diese sind um einiges höher als bei bukkalem Schmelz, bei dem sehr viele wellenartig verlaufende Perikymatien (=Retziuslinien) nachweisbar sind.

Wie unter anderem Brosh et al. (41) in der oben genannten Studie darstellen, bestehen eindeutig Unterschiede der Zahnschmelzstruktur in verschiedenen Bereichen des Zahns. Die hier vorliegende Studie konnte allerdings nicht belegen, dass die Verteilung der Spurenelemente dieser erfassten strukturellen Änderungen folgt. Trotz

strukturellen Unterschiede zwischen bukkal und lingual konnten in dieser Arbeit keine signifikanten Veränderungen der Spurenelementverteilung lingual und bukkal belegt werden.

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Studien durchgeführt, die sich damit befassen haben, welche Spurenelemente im Zahnschmelz vorkommen, wie sie sich innerhalb des Schmelzes verteilen und wovon ihr Vorkommen abhängig ist (8, 37, 41, 53, 68, 70).

2004 führten Brown et al. (8) eine Studie an Milchzähnen durch mit der Ausgangshypothese, dass eine systematische aber inhomogene und zudem von Umweltfaktoren abhängige Verteilung von Spurenelementen stattfindet. Sie wollten außerdem überprüfen, ob Mangelernährung anhand der im Zahn vorkommenden Spurenelemente nachzuweisen ist. Wie in der vorliegenden Studie stellten auch sie fest, dass Kalzium, Magnesium, Kupfer und Zink zu den wichtigsten Spurenelementen gehören (Sie gruppierten die Spurenelemente nach der Wichtigkeit). In der zweiten Gruppe, auch mit deutlichen Messergebnissen, erfassten sie Strontium. Kalzium, Magnesium, Kupfer, Zink und auch Strontium stellen in der vorliegenden Studie fünf der acht Spurenelemente dar, die deutlich oberhalb der Nachweisgrenze lagen. Brown et al. stellten fest, dass die Konzentration für einige Spurenelemente bedeutend höher für die Versuchsgruppe aus Uganda, für andere bedeutend höher bei der Versuchsgruppe aus Großbritannien war. Ihr Erklärungsversuch basiert unter anderem darauf, dass in beiden Ländern unterschiedliche sozio-ökonomische Zustände herrschen. So konnten sie bei den Zähnen aus Uganda nachweisen, dass die Aluminium- und Cerium- Werte deutlich höher waren. Dies bringen sie argumentativ in Verbindung mit dem hohen Bodengehalt an Cerium und Aluminium in Uganda. Damit verdeutlicht ihre Studie, dass die Herkunft von Zähnen durchaus eine Rolle spielt und unter Umständen Spurenelementkonzentrationen beeinflussen können. In der vorliegenden Studie konnten keine Angaben zur Herkunft der extrahierten Zähne gemacht werden, sodass dieser Faktor bei der Untersuchung keine Berücksichtigung finden konnte.

Amr et al. (53) führten eine ähnliche Untersuchung mit einer Versuchsgruppe aus Ägypten durch. Die Arbeitshypothese ihrer Arbeit bestand darin, dass die Präsenz oder Abwesenheit von Spurenelementen in der Umwelt die Verfügbarkeit für den Menschen bedingen und im Zahn als Ernährungszustände bzw. Vergiftung nachgewiesen werden können. Zusätzlich brachte er die Spurenelemente in Verbindung mit

Kariesvorkommen. Nach den Erkenntnissen seiner Studie sind Magnesium, Cadmium, Blei und Barium positiv mit Karies assoziiert. Blei sowie Cadmium stellte er zudem als Indikatoren für Umweltverschmutzung heraus.

Shashikiran et al. (5) konnte mit seiner Studie 2007 Veränderungen von Spurenelementkonzentrationen mit kariösen Läsionen in Verbindung bringen. Er vergleicht in seiner Studie die bleibende Milchdentition, wobei ebenfalls durch eindeutig unterschiedliche gemessene Werte einmal mehr verdeutlicht wird, dass die Dentition der Milchzähne grundsätzlich differenziert zur permanenten Dentition betrachtet werden muss. Für die vorliegende Studie führte diese Erkenntnis zu der grundsätzlichen Entscheidung, ausschließlich läsionsfreie Zähne der permanenten Dentition in die Studie einzubeziehen. Verfälschungen der Messwerte durch Spurenelementveränderungen aufgrund von Karies sollten nicht riskiert werden. Stattdessen sollten aussagekräftige Messungen für bleibende Zähne getroffen werden.

Riyat et al. konzentrierte sich (48) weniger auf einen Vergleich, sondern wollte konkret Spurenelemente nachweisen, die im Zahnschmelz vorkommen. Zudem untersuchte er, welchen Einfluss die Konzentration der Spurenelemente auf Karies hat. Einige Spurenelemente lagen unterhalb der Nachweisgrenze, für 23 weitere konnte er verringerte Werte in kariösen Zähnen nachweisen, z.T. signifikant. Bei Karies ansteigende Werte konnte er für Bor, Mangan, Molybdän und Fluorid nachweisen, was er bei einem generellen Mineralverlust bei Karies als besonders interessant herausstellte. Daraus leitete er die Hypothese einer Beteiligung der vier Elemente an der Kariesanfälligkeit ab. Besonders signifikant abfallend bei kariösem Schmelz war Strontium.

Auch hier wird deutlich, dass der Ausschluss von kariös defekten Zähnen in unserer Studie sinnvoll und nötig war, um aussagekräftige Messwerte zu erlangen. Zudem ist für unsere Studie der Aspekt relevant, dass Karies mit generellem Mineralisationsrückgang einhergeht. Daraus ergibt sich für uns die interessante Fragestellung, ob für bukkale oder linguale Proben, bei divergierenden Messergebnissen, ein größeres Risiko zu erwarten ist. Die Ergebnisse unserer vorliegenden Studie ergaben keine sich signifikant unterscheidenden Werten für linguale und bukkale Messungen, konnten somit diese Vermutung nicht bestätigen.



Hanc et al. (10) hielt es für interessant zu überprüfen, inwieweit heutige Füllungsmaterialien Einfluss nehmen auf die Mineralisation des Zahns, da auch in vorherigen Studien schon Untersuchungen in die Richtung angestellt worden waren (8, 73). Sie nutzten dabei ebenfalls, wie die hier vorliegende Studie, das ICP-MS-Verfahren mit Laserablation. Sie konnten dabei feststellen, dass beispielsweise Lanthanum, was laut seinen Angaben sonst nicht im Zahn nachgewiesen wird, nach der Füllungstherapie vorhanden und messbar war. Aluminium zeigte nach ihren Messungen in gefüllten Zähnen merklich höhere Werte, genauso wie Barium. Sie konnten zudem Werte für Magnesium und Strontium messen, die übereinstimmend mit unserer Studie zur Schmelz-Dentin-Grenze ansteigend sind und umgekehrt Zink mit fallenden Werten vom Schmelzäußeren ins Innere nachweisen. Auch für Kupfer ergaben seine Messungen fallende Werte Richtung Schmelz-Dentin-Grenze, wohingegen unsere Studie eine gleichmäßige Verteilung für Kupfer ergab. Diese Unterschiede, können unter Umstände an der geringen Probenzahl in der vorliegenden Studie liegen.

## 6. Zusammenfassung

Hintergrund der vorliegenden Arbeit war das Wissen darum, dass menschlicher Zahnschmelz ab dem Zahndurchbruch unterschiedlichen Einflussfaktoren unterliegt, welche die Mineralzusammensetzung im Zahnschmelz beeinflussen. Beschrieben werden diese Unterschiede in der Literatur bereits zahlreich, jedoch untersuchte keine der Studien je den Unterschied zwischen verschiedenen Zahnseiten.

Ziel dieser Studie war es den menschlichen Zahnschmelz dahingehend zu untersuchen, ob signifikante Unterschiede zwischen der bukkalen und lingualen Zahnseite hinsichtlich der Verteilung von Spurenelementen bestehen.

Für diese Studie wurden kariesfreie, extrahierte Zähne verschiedener Zahngruppen verwendet. Von diesen Zähnen wurden histologische Schnitte angefertigt, zum einen mit der Inductively coupled Plasma Mass Spectrometry mit Laserablation und zum anderen mit der Elektronenstrahlmikrosonde auf den Gehalt von 30 verschiedenen Spurenelemente untersucht wurden. Davon wurden acht Elemente, die oberhalb der Nachweisgrenze lagen, im Anschluss mit Wilcoxon- und t-Test auf ihre Signifikanz im Seitenvergleich statistisch ausgewertet.

Die absoluten Messwerte ergaben geringe Variationen zwischen lingualer und bukkaler, jedoch in keinem der acht Fälle einen allgemeingültigen signifikanten Unterschied zwischen beiden Zahnseiten. Auch der Vergleich der Spurenelementverteilung von verschiedenen Zahngruppen ergab keine signifikanten Variationen. Der Anteil der verschiedenen Spurenelemente im Zahnschmelz unterschied sich allerdings zum Teil deutlich.

Außerdem konnte festgestellt werden, dass deutliche Unterschiede der Messwerte in Abhängigkeit der Schmelztiefe bestehen. Einige Spurenelemente zeigen ansteigende, andere wiederum abfallende Messwerte Richtung Zahninneres.

Die vorliegende Studie konnte keine signifikanten Unterschiede der Spurenelementverteilung zwischen lingualem und bukkalem Schmelz aufzeigen. Jedoch konnte bestätigt werden, dass Zahnschmelz nicht homogen mineralisiert ist.

Aufgrund fehlender Angaben zu den verwendeten Proben, ist die Statistik kritisch zu bewerten und weitere Untersuchungen ratsam.

## 7. Literaturverzeichnis

1. E H, Klimek J, Attin T, Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. 6., überarb. Aufl. ed. Köln: Dt. Zahnärzte-Verl.; 2013.
2. Baldassarri M. MHC, Beniash E. Compositional Determinants of mechanical Properties of enamel. *Journal of Dental Research* 2008;87(7):645-9.
3. Brudevold F. SR. Chemistry of the mineral phase of enamel. In: Miles AEW, editor. *Structural and chemical organization of teeth* ; 2. New York [u.a.]: Acad. Pr.; 1967. p. 247-78.
4. Castro W, Hoogewerff J, Latkoczy C, Almirall JR. Application of laser ablation (LA-ICP-SF-MS) for the elemental analysis of bone and teeth samples for discrimination purposes. *Forensic science international*. 2010;195(1-3):17-27.
5. Shashikiran ND, Subba Reddy VV, Hiremath MC. Estimation of trace elements in sound and carious enamel of primary and permanent teeth by atomic absorption spectrophotometry: an in vitro study. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research*. 2007;18(4):157-62.
6. Tvinnereim HM, Eide R, Riise T. Heavy metals in human primary teeth: some factors influencing the metal concentrations. *The Science of the total environment*. 2000;255(1-3):21-7.
7. Bercovitz K, Laufer D. Carious teeth as indicators to lead exposure. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*. 1993;50(5):724-9.
8. Brown CJ, Chenery SR, Smith B, Mason C, Tomkins A, Roberts GJ, et al.. Environmental influences on the trace element content of teeth--implications for disease and nutritional status. *Archives of oral biology*. 2004;49(9):705-17.
9. Chew LT, Bradley DA, Mohd AY, Jamil MM. Zinc, lead and copper in human teeth measured by induced coupled argon plasma atomic emission spectroscopy (ICP-AES). *Applied radiation and isotopes : including data, instrumentation and methods for use in agriculture, industry and medicine*. 2000;53(4-5):633-8.
10. Hanć A, Olszewska A, Barańkiewicz D. Quantitative analysis of elements migration in human teeth with and without filling using LA-ICP-MS. *Microchemical Journal*. 2013;110:61-9.
11. He B, Huang S, Zhang C, Jing J, Hao Y, Xiao L, et al.. Mineral densities and elemental content in different layers of healthy human enamel with varying teeth age. *Archives of oral biology*. 2011;56(10):997-1004.
12. Braly A, Darnell LA, Mann AB, Teaford MF, Weihs TP. The effect of prism orientation on the indentation testing of human molar enamel. *Arch Oral Biology*. 2007;52(9):856-60.
13. Cuy JL ABM, K.J. Livi, M.F. Teaford, T.P. Weihs. Nanoindentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Archives of Oral Biology* 2002:281-91.
14. Park S, Wang DH, Zhang D, Romberg E, Arola D. Mechanical properties of human enamel as a function of age and location in the tooth. *Journal of materials science Materials in medicine*. 2008;19(6):2317-24.
15. van der Veen MH AR, Schwestka-Polly R, Wiechmann D. Caries Outcomes after orthodontic treatment with fixed appliances do lingual brackets make a difference.pdf>. *European Journal of Oral Sciences*. 2010(118):298-303.
16. Koroluk LD, Hoover JN, Komiyama K. Factors related to plaque distribution in a group of Canadian preschool children. *International journal of paediatric dentistry / the British*

Paedodontic Society [and] the International Association of Dentistry for Children.

1994;4(3):167-72.

17. Muller HP, Heinecke A, Eger T. Site-specific association between supragingival plaque and bleeding upon probing in young adults. *Clinical oral investigations*. 2000;4(4):212-8.

18. Birkeland JM, Ibrahim YE, Ghandour IA, Haugejorden O. Severity of dental caries among 12-year-old Sudanese children with different fluoride exposure. *Clinical oral investigations*. 2005;9(1):46-51.

19. Bjarnason S, Grondahl HG. Relationships between free smooth surface and proximal caries in the young permanent dentition. *Community dentistry and oral epidemiology*. 1996;24(1):7-10.

20. Steiniger B, Schwarzbach H, Stachniss V, Steiniger B, Schwarzbach H, Stachniss V. *Mikroskopische Anatomie der Zähne und des Parodonts*. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 2010  
Online Dokument; Titel:Mikroskopische Anatomie der Zähne und des Parodonts;  
Autor(en):Birte Steiniger ; Hans Schwarzbach ; Vitus Stachniss; Autor(en):Steiniger, Birte ;  
Autor(en):Schwarzbach, Hans ; Autor(en):Stachniss, Vitus ; Auflage:[Online-Ausg.];  
Verlagsort:Stuttgart [u.a.]; Verlag:Thieme; Erscheinungsjahr:2010; Umfang:VIII, 64 S.; ISBN:3-13-147141-7; Jahr:2010].

21. Mjör IA. Frequency of secondary caries at various anatomical locations. *Operative Dentistry*. 1985;10(3):88-92.

22. Fejerskov O, Josephsen, K., Nyvad, B. Surface ultrastructure of unerupted mature human enamel. *Caries Research*. 1984;18:302-14.

23. Schroeder HE, Schroeder HE. *Orale Strukturbiologie*. 4., überarb. Aufl. ed. Stuttgart [u.a.]: Thieme; 1992.

24. Gustafson G GA-G. Microanatomy and histochemistry of Enamel. In: Miles AEW, editor. *Structural and chemical organization of teeth*. 2. New York [u.a.]: Acad. Pr.; 1967. p. 76-129.

25. Nikiforuk G. *Understanding dental caries*. Basel [u. a.]: Karger.

26. HJ O. Ultrastructural study of human dental enamel using selected-area argon-ion-beam thinning. *Archs of Biology*. 1976;21:663-75.

27. Lehmann K, Hellwig E, Wenz H-J, Lehmann KM, Hellwig E, Wenz H-Jr. *Zahnärztliche Propädeutik*. 11., überarb. und erw. Aufl. ed. Köln: Dt. Zahnärzte-Verl.; 2009.

28. Dugmore CR, Rock WP. A multifactorial analysis of factors associated with dental erosion. *British dental journal*. 2004;196(5):283-6; discussion 73.

29. Lussi A. SM. Dental erosion in a population of swiss adults. *Dent oral Epidemiol*. 1991;19:286-90.

30. ten Cate J.M. IT. Dental erosion, summary. *European Journal of Oral Sciences*. 1996(104):241-4.

31. Imfeld T. Dental erosion. Definition, classification and links. *European Journal of Oral Sciences*. 1996(104):151-5.

32. JO G. Attrition, abrasion, corrosion and abfraction revisited A new perspective on tooth surface lesions. *The Journal of the American Dental Association*. 2004;135:1109-18.

33. Gatou T, Mamai-Homata E. Tooth wear in the deciduous dentition of 5-7-year-old children: risk factors. *Clinical oral investigations*. 2012;16(3):923-33.

34. Doris Stern ZS, Harvard University. Individual variation in enamel structure of human mandibular first premolars.pdf>. *American Journal of physical anthropology* 68: 201-213 (1985). 1985.

35. Weatherell JA, Robinson C, Hallsworth AS. Variations in the Chemical Composition of Human Enamel. *Journal of Dental Research*. 1974;53(2):180-92.

36. He B, Huang S, Jing J, Hao Y. Measurement of hydroxyapatite density and Knoop hardness in sound human enamel and a correlational analysis between them. *Archives of oral biology*. 2010;55(2):134-41.
37. De Menezes Oliveira MA, Torres CP, Gomes-Silva JM, Chinelatti MA, De Menezes FC, Palma-Dibb RG, et al.. Microstructure and mineral composition of dental enamel of permanent and deciduous teeth. *Microscopy research and technique*. 2010;73(5):572-7.
38. C. Johnston DH, D.Burden. The effect of etch duration on the microstructure of molar enamel: An in vitro study. *American Journal of Orthodontics and dentofacial Orthopedics* 1996;109:531-4.
39. Ekstrand KR, Holmen, L., Qvortrup, K. A polarized Light and Scanning Electron Microscopic Study of Human Fissure and Lingual Enamel of Unerupted Mandibular Third Molars. *Caries Research*. 1999;33:41-9.
40. Theuns HM vDW, Jongebloed WL, Groenenveld A. The Mineral Content of the Human enamel studies by polarizing microscopy, microradiography and scanning electron microscopy. *Arch of Biology*. 1983;28(9):797-803.
41. Brosh T, Strouthou, S. Sarne, O. Effects of buccal versus lingual surfaces, enamel conditioning procedures and storage duration on brackets debonding characteristics. *Journal of Dentistry*. 2005.
42. Weidmann SM JAW, S. Hamm. Variations of enamel density in sections of human teeth.pdf>. *Archs of Biology*. 1967;12:85-97.
43. Structural and chemical organization of teeth ; 2. Miles AEW, editor. New York [u.a.]: Acad. Pr.; 1967.
44. Mizuno T NH, Weatherell. Differences in fluoride concentrations in the enamel surfaces of lower first premolars from young human males and females. *Archs of Biology*. 1990;35(12):977-81.
45. Kodaka T. <Mineral Content of the Innermost Enamel in Erupted Human Teeth.pdf>. 1991;40:19-23.
46. Little MF. SL. Chemical and physical properties of altered and sound enamel-IV. Trace element composition. *Arch of Oral Biology*. 1966;11:273-8.
47. Saiki M, Adachi LK, Adachi EM. Elemental comparison in sound and carious human teeth by instrumental neutron activation analysis. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2009;282(1):29-32.
48. Riyat M, Sharma DC. Analysis of 35 inorganic elements in teeth in relation to caries formation. *Biological trace element research*. 2009;129(1-3):126-9.
49. JP. W. Effects of strontium on the incisor of the rat—I. Injections of small doses of strontium chloride as a means of measuring the rate of incremental dentine apposition. *J Dent Res*. 1942;21:497.
50. M. R. An experimental study on the effect of strontium pre-treatment on calcium release from carious and non-carious teeth. 2009.
51. K. Tucker MA. <Human enamel as a substrate for in vitro acid dissolution studies.pdf>. *Caries Research*. 1998;32:135-40.
52. Angmar A. CD, Glas JE. Studies on ultrastructure of dental Enamel - The Mineralization of Normal Human Enamel. *Journal of ultrastructure research*. 1963(8):12-23.
53. Amr\* M. FA. Analysis of trace elements in teeth by icp-ms: Implications for Caries. *Journal of Physical Science*. 2010;21(2):1-12.

54. Baskaradoss J. GA. Prevalence of malocclusion and its relationship with caries among school children aged 11-15 years in southern India. *The Korean Journal of Orthodontics*. 2013.
55. Mtaya M. BP. Prevalence of malocclusion and its relationship with socio-demographic factors, dental caries, and oral hygiene in 12- to 14-year-old Tanzanian schoolchildren. *European Journal of Orthodontics*. 2009;31:467-76.
56. Arora M, Kennedy BJ, Elhlou S, Pearson NJ, Walker DM, Bayl P, et al.. Spatial distribution of lead in human primary teeth as a biomarker of pre- and neonatal lead exposure. *The Science of the total environment*. 2006;371(1-3):55-62.
57. Curzon MJ, Losee FL. Dental caries and trace element composition of whole human enamel: Eastern United States. *Journal of the American Dental Association (1939)*. 1977;94(6):1146-50.
58. F. G-G. Maintaining the integrity of the enamel surface the role of dental biofilm, saliva and preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *Journal of the American Dental Association*. 2008;139:25-35.
59. Attin TB, K.; Roos, M.; Attin, R.; Paqué, F. Impact of storage conditions on profilometry of eroded dental hard tissue. *Clinical oral investigations*. 2009;13:473-8.
60. Attin TK, U.; Buchalla, W.; Schaller, H.G.; Kielbassa, A.M.; Hellwig, E. Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel. *Archives of Oral Biology*. 1997;42(3):243-50.
61. Moore CA, M. Wear of dentine in vitro by toothpaste abrasives and detergents alone and combined. *Journal of Clinical Periodontology*. 2005;32(12):1242-6.
62. Nguyen DC, K.; Hedayatollahnajafi, S.; Staninec, M.; Chan, K.; Lee, R.; Fried, D. High-speed scanning ablation of dental hard tissues with a  $\lambda = 9.3 \mu\text{m}$  CO<sub>2</sub> laser: adhesion, mechanical strength, heat accumulation, and peripheral thermal damage. *Journal of Biomedical Optics*. 2011;16(7).
63. Berthume MW, J.; Kupczik, K. *Plos ONE*. 2019;14(5).
64. Berends-Montero S, Wiarda W, de Joode P, van der Peijl G. Forensic analysis of float glass using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS): validation of a method. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 2006;21(11):1185.
65. Trejos T, Montero S, Almirall JR. Analysis and comparison of glass fragments by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) and ICP-MS. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2003;376(8):1255-64.
66. Hanc A, Komorowicz I, Iskra M, Majewski W, Baralkiewicz D. Application of spectroscopic techniques: ICP-OES, LA-ICP-MS and chemometric methods for studying the relationships between trace elements in clinical samples from patients with atherosclerosis obliterans. *Analytical and bioanalytical chemistry*. 2011;399(9):3221-31.
67. Wörner H. WH. Zerörungsfreie Analyse von Zahnhartsubstanzen mit der Elektronenstrahlmikroskopie. *Vth International Congress on X-Ray Optics and Microanalysis*. 1969:601-7.
68. Hariri I, Sadr A, Nakashima S, Shimada Y, Tagami J, Sumi Y. Estimation of the enamel and dentin mineral content from the refractive index. *Caries Res*. 2013;47(1):18-26.
69. Takagi S HL, L.C. Chow. Effect of tooth-bound fluoride on Enamel Demineralization/Remineralization in vitro. *Caries Research* 2000(34):281-8.
70. Hirose MNT, T. In vivo Fluoride profiles at different sites of buccal and lingual enamel surfaces obtained by enamel biopsy of human maxillary first permanent molars in young adults. *Arch of Biology*. 1996;41(12):1178-90.

71. A. Huang HN, S. Tsuboi, H. Ji, N. Ohno, R. chen, N. Ha, J. Kim. Fluoride profiles of perikymata in enamel surfaces of human premolars. *Archives of Oral Biology* 1998. 1998; 43:669-77.
72. Daculsi GK, B. <High resolution electron microscope study of human enamel crystallites.pdf>. *Journal of Ultrastructure research* 1978(65):163-72.
73. Oilo G. Biodegradation of dental Composites/Glass-Ionomer Cements. *Adv Dent Res* 1992;6:50-4.