

**Aus dem Department für Zahn-, Mund-, Kieferheilkunde  
Universitätspoliklinik für Zahnerhaltungskunde und Parodontologie  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. H.-G. Schaller)**

**Einfluss der Lagermedien auf die mechanischen Eigenschaften  
von dentalen Hartgeweben – Eine Nanoindenter-Studie**

**Dissertation**

**zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Zahnmedizin (Dr. med. dent.)**

**vorgelegt**

**der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg**

**von Christian Grünberg  
geboren am 8. 10. 1978 in Halle/Saale**

**Gutachter:**

- 1. Prof. Dr. Hans – Günther Schaller**
- 2. Prof. Dr. Jürgen Setz**
- 3. Prof. Dr. Elmar Hellwig**

**Eröffnungsdatum: 11.09.2012**

**Verteidigungsdatum: 24.04.2013**

## Referat

Für die Erprobung neuer dentaler Werkstoffe oder zur Untersuchung verschiedenster Einflüsse auf dentale Hartgewebe müssen diese über längere Zeit, zumeist in wässrigen Medien, gelagert werden.

Innerhalb dieser Studie wurde untersucht welchen Einfluss diese Medien auf die Eigenschaften Härte, Elastizitätsmodul sowie auf die Oberflächenbeschaffenheit der dentalen Hartgewebe haben. Als Lagermedien dienten physiologische Natriumchloridlösung, Kalziumchloridlösung, Hanks buffered salt solution, 0,1%ige Thymollösung und der pH – neutrale Speichel nach Fusayama. Als Proben wurden nur vollständig ausgereifte impaktierte 3. Molaren verwendet. Die Lagerungszeit betrug für jede Probe 50 Tage im entsprechenden Medium. Jeweils am 1.; 3.; 5.; 7.; 10.; 20.; 30. und 50. Tag wurden die Messungen mit dem Nanoindenter®II durchgeführt.

Es konnte gezeigt werden, dass physiologische Natriumchloridlösung über den gesamten Lagerungszeitraum keine Veränderung der mechanischen sowie optischen Eigenschaften zur Folge hat. Auch bei der Lagerung im pH – neutralen Speichel nach Fusayama zeigten sich keine signifikanten Veränderungen der mechanischen- und optischen Eigenschaften. Hanks buffered salt solution zeigte sich als gutes Lagermedium, wenn es nur auf die mechanischen Eigenschaften der dentalen Hartgewebe ankommt. Die optischen Eigenschaften zeigten hingegen eine deutliche Veränderung während der Lagerungsperiode. Kalziumchloridlösung zeigte sich als ungeeignetes Lagermedium für dentale Hartgewebe. Während der Lagerungszeit nahm die Schmelzhärte um 58% ab. Die Dentinhärte verlor sogar 62%. Der E- Modul vom Schmelz war nach den 50 Lagerungstagen um 51% und der vom Dentin um 67% gesunken. Auch die optischen Eigenschaften zeigten starke Veränderungen. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch bei der Lagerung in 0,1%iger Thymollösung. Die Messungen zeigten, dass die Härte vom Schmelz um 54% über den gesamten Lagerungszeitraum sank. Die Dentinhärte verlor in der gleichen Zeit 51%. Der E-Modul des Schmelzes sank um 41% und der des Dentins um 52%. Auch hier zeigten sich deutliche Veränderungen der optischen Eigenschaften.

Eine Konsequenz dieser Arbeit besteht darin, dass wässrige Lagermedien die mechanischen sowie auch die optischen Eigenschaften von dentalen Hartgeweben stark verändern können.

Als ein sehr gutes Lagermedium kann physiologische Natriumchloridlösung betrachtet werden. Allerdings sollte bei Verwendung dieser Lösung immer der pH-Wert vor der Lagerung bestimmt werden, da dieser laut Herstellerangaben variieren kann.

Grünberg, Christian: Einfluss der Lagermedien auf die mechanischen Eigenschaften von dentalen Hartgeweben – Eine Nanoindenter Studie. Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 80 Seiten, 2012

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung und Problemstellung</b>	<b>1</b>
<b>2. Grundlagen</b>	<b>3</b>
2.1. Entstehung der Zahnhartgewebe	3
2.1.1. Allgemeine Entstehung	3
2.1.2. Amelogenese	4
2.1.3. Dentinogenese	6
2.2. Struktur von Zahnhartgeweben	7
2.2.1. Schmelzstruktur	7
2.2.2. Dentinstruktur	9
2.3. Mineralisierung und Entwicklung von Zahnhartgeweben	11
2.3.1. Biomineralisation	11
2.3.2. Schmelzmineralisation	12
2.3.3. Zeitliche Entwicklung der Zähne	12
2.4. Der dritte Molar – der Weisheitszahn	14
2.5. Lagerung von humanen Zahnhartgeweben	16
2.6. Physikalische Grundlagen der Nanoindentierung	17
2.6.1. Mechanisches Verhalten von Festkörpern bei lokaler Belastung	17
2.6.2. Bestimmung mechanischer Parametern aus Eindruckversuchen	24
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>28</b>
3.1. Art der Proben	28
3.2. Vorbereitung der Proben	28
3.3. Lagerung der Proben	29
3.3.1. Physiologische Natriumchloridlösung	29
3.3.2. Kalziumchloridlösung	30
3.3.3. Hanks buffered salt solution (HBSS)	30
3.3.4. 0,1%ige Thymollösung	30
3.3.5. pH-neutraler Speichel nach Fusayama	31
3.4. Messtechnik	31
3.4.1. Aufbau und Funktionsweise des Nanoindenter®II	31
3.4.2. Messroutine	33
3.5. Auswertung der Messergebnisse	35
<b>4. Ergebnisse</b>	<b>36</b>
4.1. Kraft-Eindringtiefen-Diagramme	36
4.2. Grundlagen zu den Ergebnissen	37

4.3. Ergebnisse für die Lagerung in physiologischer Natriumchloridlösung	38
4.3.1. Ergebnisse für den Schmelz	38
4.3.2. Ergebnisse für das Dentin	40
4.4. Ergebnisse für die Lagerung in Kalziumchloridlösung	42
4.4.1. Ergebnisse für den Schmelz	42
4.4.2. Ergebnisse für das Dentin	44
4.5. Ergebnisse für die Lagerung in Hanks buffered salt solution	46
4.5.1. Ergebnisse für den Schmelz	46
4.5.2. Ergebnisse für das Dentin	48
4.6. Ergebnisse für die Lagerung in 0,1%iger Thymollösung	50
4.6.1. Ergebnisse für den Schmelz	50
4.6.2. Ergebnisse für das Dentin	52
4.7. Ergebnisse für die Lagerung in Speichel nach Fusayama	54
4.7.1. Ergebnisse für den Schmelz	54
4.7.2. Ergebnisse für das Dentin	56
<b>5. Diskussion</b>	<b>58</b>
5.1. Art der Verwendeten Proben	58
5.2. Diskussion der Ergebnisse für physiologische Natriumchloridlösung	61
5.3. Diskussion der Ergebnisse für Kalziumchloridlösung	62
5.4. Diskussion der Ergebnisse für Hanks buffered salt solution	63
5.5. Diskussion der Ergebnisse für 0,1%ige Thymollösung	64
5.6. Diskussion der Ergebnisse für Speichel nach Fusayama	65
5.7. Schlussfolgerungen	66
<b>6. Zusammenfassung</b>	<b>67</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>69</b>
<b>8. Abbildungsverzeichnis</b>	<b>77</b>
<b>9. Thesen</b>	<b>80</b>

## Abkürzungs- und Kurzzeichenverzeichnis

Abb.	Abbildung
ca.	zirka
CaCl <sub>2</sub>	Kalziumchlorid
d	Tag
d. h.	das heißt
E-Modul	Elastizitätsmodul
ER	Endoplasmatisches Retikulum
et al.	et altera
Gew-%	Gewichtsprozent
Gl.	Gleichung
Gy	Gray
HBSS	Hanks buffered salt solution
H <sub>2</sub> O	Wasser
J	Jahr
KCl	Kaliumchlorid
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Kaliumhydrogenkarbonat
M	Monat
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO <sub>3</sub>	Natriumhydrogenkarbonat
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Natriumhydrogenphosphat
rel.	relativ
ROI	Region of interest
Str.	Stratum
Tab.	Tabelle
z. B.	zum Beispiel

## 1. Einleitung und Problemstellung

Für die Erprobung von z. B. neuen Füllungsmaterialien oder der Untersuchung von schädigenden Einflüssen auf dentale Hartgewebe werden in vielen In-vitro-Studien extrahierte humane Zähne genutzt. Da die meisten dieser Studien sich über längere Zeiträume erstrecken können, stellt sich die Frage nach einer günstigen Form der Lagerung. Die Lagerung sollte möglichst keinen Einfluss auf die Eigenschaften der Zahnhartgewebe haben.

Bei der Lagerung lassen sich grundlegend zwei Formen unterscheiden.

Als erste Form die trockene Lagerung, wo es zu einer Austrocknung der Zahnhartgewebe kommt. Diese einfache und kostengünstige Lagerungsform führt aber zu starken Veränderungen der mechanischen Eigenschaften (Ebstein/Pruitt 2006, Fränzel/Gerlach 2008b). Wie Ebstein und Pruitt (2006) und Fränzel/Gerlach (2008b) nachwies, veränderten trockene Zahnhartgewebe ihre mechanischen Eigenschaften nach tumortherapeutischer Bestrahlung kaum. Dies würde zu der falschen Aussage führen, dass sich unter Bestrahlung die mechanischen Eigenschaften der Zahnhartgewebe nicht verändern. Zahnhartgewebe, die feucht gelagert wurden, zeigten im gleichen Versuch drastische Veränderungen der mechanischen Eigenschaften. Diese Veränderungen zeigten sich als eine starke Verringerung der Härte und des Elastizitätsmoduls. Diese Veränderungen passen besser zu mikroskopischen Beobachtungen, bei denen es zur Veränderung der Struktur der Schmelzprismen nach tumortherapeutischer Bestrahlung kommt (Grötz et al. 1998).

Das führt zur zweiten Form der Lagerungsmöglichkeiten: die Lagerung in feuchten, meist wässrigen Lösungen. In der Literatur werden verschiedene Arten der feuchten Lagermedien beschrieben. In zahlreichen Untersuchungen wird physiologische Natriumchloridlösung als Lagermedium genutzt. Es werden ausschließlich positive Ergebnisse für die Lagerung in physiologischer Natriumchloridlösung angegeben (Retief et al. 1989, Fränzel et al. 2006, Fränzel und Gerlach 2008a). Eine andere Methode ist die Lagerung von Zahnhartgeweben in 0,1%iger Thymollösung. Da Thymol eine antibakterielle Wirkung hat, wird es bei solchen Lagerungen vor allem als Bakterieninhibitor verwendet (Imbeni et al. 2005, Mahoney et al. 2004, Bor et al. 2003, Ziskind et al. 2003b).

Für die Lagerung von humanem Knochen hat sich eine Kalziumchloridlösung bewährt (Gustafson et al. 1996). Allerdings wurden diese guten Lagerungseigenschaften von Kalziumchlorid bei Zahnhartgeweben nicht bestätigt (Habelitz et al. 2002).

Um die Bedingungen im Mundmilieu besser nachzustellen, kann menschlicher (Hall et al. 1999), aber auch künstlicher Speichel verwendet werden (Gal et al. 2001, Campus et al. 2007). Vor allem in der dentalen Materialforschung sind künstliche Speichelersatzlösungen wichtig. In vielen dieser Versuche wird der Speichel nach Fusayama in originaler (Grosogeat et al. 1999,

Campus et al. 2007, Kaplan et al. 2003) oder modifizierter Zusammensetzung (Unger 2004, Ziskind 2003a) benutzt.

Eine weitere Möglichkeit ist die Lagerung von Zahnhartgeweben in Hanks buffered salt solution. Bei dieser Methode der Lagerung verändern sich die mechanischen Eigenschaften Härte und Elastizitätsmodul nicht (Guidoni 2008, Habelitz et al. 2002).

Das Ziel der vorliegenden Dissertation war es, den Einfluss verschiedener wässriger Lagermedien auf die mechanischen Eigenschaften, Härte und Elastizitätsmodul, von Zahnhartgeweben bei einer Lagerungszeit von bis zu 50 Tagen zu untersuchen. Als Lagermedien wurden physiologische Natriumchloridlösung, 0,1%ige Thymollösung, Hanks buffered salt solution, Kalziumchloridlösung und Speichel nach Fusayama verwendet.

Für die Medien Speichel nach Fusayama und Thymollösung gab es noch keine Untersuchung in Bezug auf die mechanischen Eigenschaften.

Physiologische Natriumchloridlösung wurde untersucht, da sie zur kurzen Zwischenlagerung der Proben zwischen Extraktion und Referenzmessung verwendet wurde, um eine Austrocknung zu vermeiden.

Kalziumchlorid wurde untersucht, weil es für Knochen hervorragende Lagereigenschaften zeigte, diese aber für dentale Hartgewebe nicht bestätigt werden konnten.

Hanks buffered salt solution wurde in Bezug auf die mechanischen Eigenschaften bei der Lagerung von Zahnhartgeweben in der Literatur ausschließlich als sehr gut beschrieben.

In allen bisherigen Untersuchungen wurden allerdings keine Angaben zu den verwendeten Zähnen gemacht. Für alle Lagermedien erfolgte deshalb die Untersuchung unter Berücksichtigung des Reifegrades der verwendeten Probenzähne.

## 2. Grundlagen

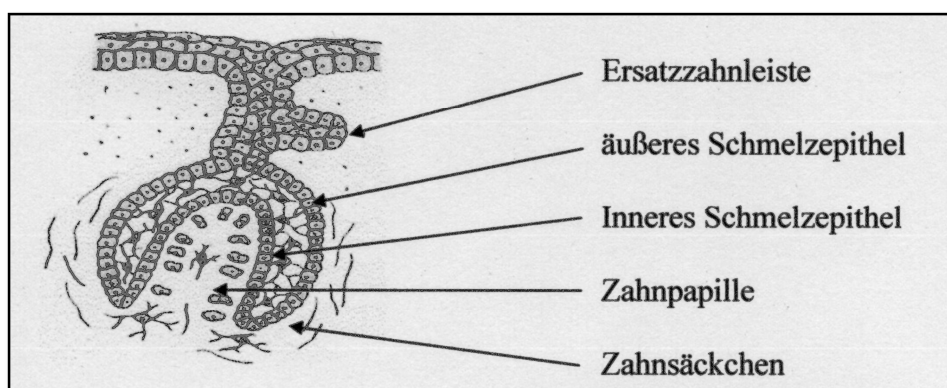
### 2.1. Entstehung der Zahnhartgewebe

#### 2.1.1. Allgemeine Entstehung

Mitte des 2. Embryonalmonats beginnt die Entwicklung der Zahnhartgewebe. Als Erstes werden, und zwar fast gleichzeitig, die Milchzähne angelegt. Die Zähne der 2. Dentition entwickeln sich ab der 14. Embryonalwoche mit dem 1. Molar. Ab dem 5. Lebensjahr wird der 3. Molar als Letztes angelegt. Im Prinzip ist die Entwicklung von Milch- und bleibenden Zähnen gleich. Alle Zähne entstehen aus ektodermalem und mesenchymalem Ursprungsgewebe (Junqueira und Carneiro 1991, Lippert 2006, Moll 2002). Das Fortschreiten der Entwicklung hängt von einem intensiven Zusammenwirken dieser Gewebe ab (Chai und Slavkin 2003, Koyama et al. 2003, Ruch 1998).

Das ektodermale Epithel der Mundbucht bildet den Zahnschmelz. Aus dem Mesektoderm des Kopfes entwickeln sich die übrigen Zahnhartsubstanzen, wozu auch das Dentin zählt (Schiebler und Schmidt 2002). Die Entwicklung beginnt mit einer Einstülpung des Mundhöhlenepithels und der daraus folgenden Bildung der Zahnleiste. Durch Mitosen entstehen hier im Bereich des späteren Ober- und Unterkiefers jeweils 10 Zahnknospen.

Durch das schnellere Wachstum an den Rändern der Knospen bekommen die Knospen erst Kappen- und später Glockenform, die in Abbildung 1 dargestellt ist. (Schiebler und Schmidt 2002, Langmann 1985).



**Abb. 1: Zahnglocke im 3. Embryonalmonat**

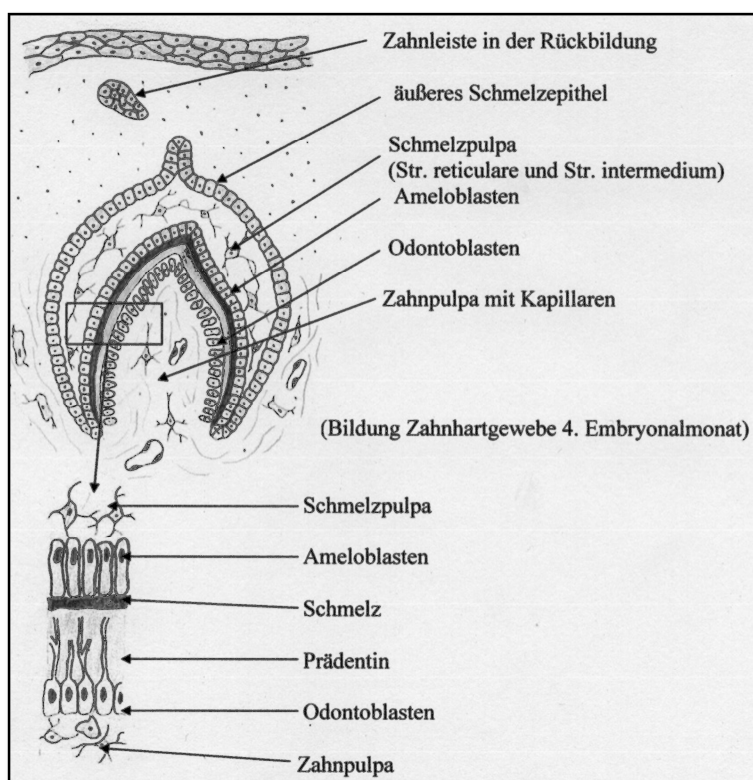
Im 4. Embryonalmonat geht die Verbindung zur Zahnleiste verloren. Das Mesenchym, welches das Schmelzorgan umgibt, verdichtet sich zu Zahnsäckchen. Von der Zahnleiste bleibt nur die Ersatzzahnleiste zurück, welche für die Entwicklung der 2. Dentition verantwortlich ist (Schieb-



ler/Schmidt 2002). Ab diesem Zeitpunkt beginnt auch die Bildung der Zahnhartsubstanzen (Junqueira und Carneiro 1991).

Das Schmelzorgan ist nun in äußeres Schmelzepithel, Schmelzpulpa und inneres Schmelzepithel unterteilt (siehe Abb. 2). An der Grenze zwischen Schmelzepithel und Zahnpapille bildet sich die Membrana praeformativa aus (Lüllmann/Rauch 2006). Die Zellen des inneren Schmelzepithels wandeln sich in Präameloblasten um.

Die Odontoblasten gehen aus Zellen hervor, die der Membrana praeformativa auf der Seite der Zahnpulpa her anliegen. Die Odontoblasten sind für die Dentinbildung und die Ameloblasten für die Schmelzbildung verantwortlich (Lippert 2006, Schiebler und Schmidt 2002, Moll 2002).



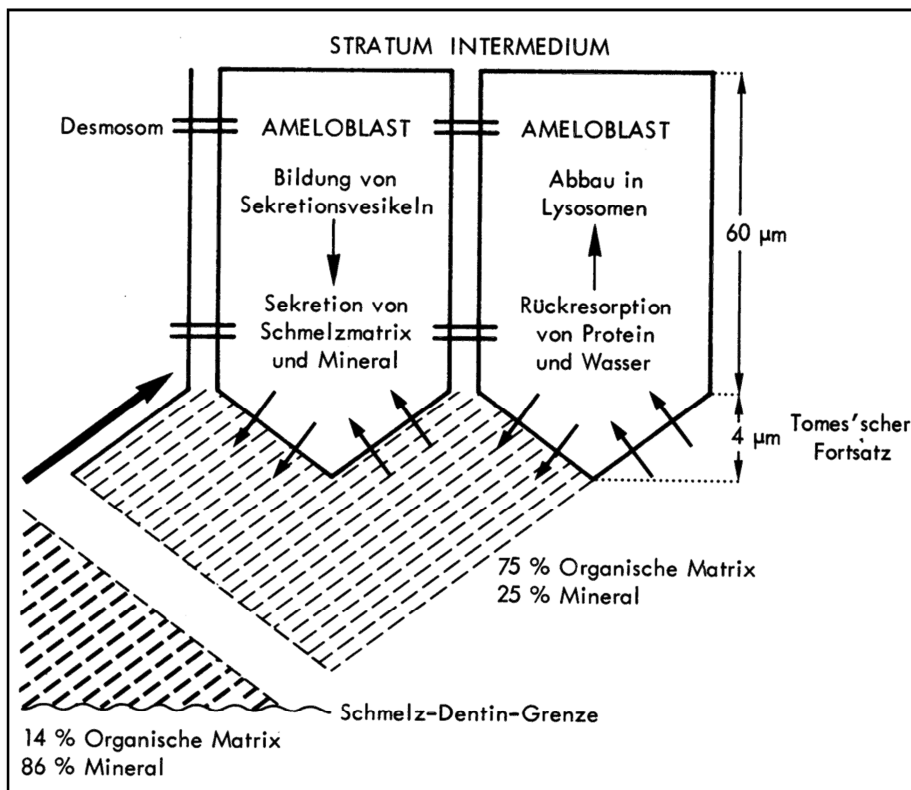
**Abb. 2: Bildung von Zahnhartgeweben im 4. Embryonalmonat, und vergrößerter Bereich**

### 2.1.2. Amelogenese

Das Schmelzorgan (äußeres Schmelzepithel, Stratum reticulare und intermedium und das innere Schmelzepithel) des Zahnkeims ist zuständig für die Bildung des Zahnschmelzes. Die Zellen, die für die eigentliche Schmelzbildung verantwortlich sind, sind die Ameloblasten (Schiebler und Schmidt 2002).

Die Ameloblastenvorläufer sind die Präameloblasten, die für sekretorische Zellen schon typische Zellorganellen aufweisen und nicht mehr teilungsfähig sind. Präameloblasten differenzieren sich zu Ameloblasten durch Vergrößerung und Sekretion.

Ameloblasten sind etwa 60–70 µm hoch und 7 µm breit (Junqueira und Carneiro 1991). Am Pol der Ameloblasten häufen sich Sekretionsvesikel, welche die Bestandteile der Schmelzmatrix enthalten. Die Ausschüttung der Vesikel erfolgt an den Seitenflächen und an der Spitze des pyramidalen Zellfortsatzes der Ameloblasten, dem Tomes'schen Fortsatz, wie aus Abbildung 3 hervorgeht (Buddecke 1981, Sasaki 1997).



**Abb. 3: Schema der Entstehung und der Mineralisierung der Schmelzprismen**

In der gelartigen nichtstrukturierten Matrix entstehen schnell Kristallisationskeime (Fincham et al. 1999). Die ersten Schmelzkristalle werden auf das etwas früher gebildete Dentin aufgelagert (Buddecke 1981). Die Mineralisation beginnt am Grund der späteren Kaufläche und schreitet nach außen fort, da sich die Ameloblasten zur Peripherie bewegen (Schiebler und Schmidt 2002, Sobotta und Hammerson 1985). Nach Ende der ersten Bildungsphase beträgt der Gehalt an anorganischem Material ein Viertel des vollständig mineralisierten Schmelzes.

In der zweiten Phase nehmen die Kristalle an Größe zu. Zunächst bestehen die Keime aus Okta-kalziumphosphat, welches dann zu Hydroxyl- oder Fluorapatit hydrolysiert. Bei fortschreitender Mineralisation nimmt die Resorptionsfähigkeit der Ameloblasten zu und die Sekretionsfähigkeit

wird geringer (Barlett und Simmer 1999, Sasaki 1984). Bei Abschluss der Mineralisation bilden die Kristalle lange Platten und Bänder und erscheinen in ihrer Struktur prismenförmig. Diese Schmelzprismen durchsetzen dann radiär den gesamten Zahnschmelz (Buddecke, 1981).

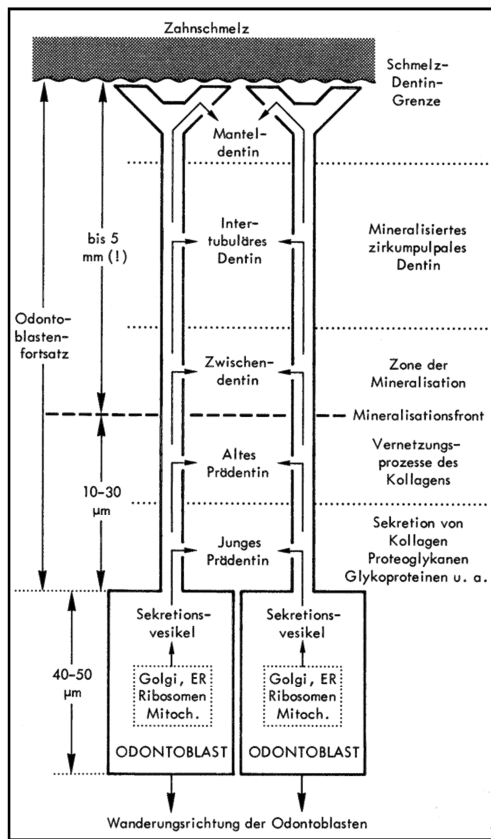
### 2.1.3. Dentinogenese

Der Dentinbildung geht eine Umorientierung der sternförmigen Mesenchymzellen der Zahnpapille voraus. Vor allem die Zellen direkt unter dem Schmelzorgan ändern ihre Form. Sie werden säulenförmig und stellen sich palisadenartig gegen das Schmelzepithel auf. Aus diesen Mesenchymzellen werden die Präodontoblasten. Die Differenzierung schreitet fort und es entsteht ein zytoplasmatischer Fortsatz, der Tomes'sche Fortsatz, der relativ kurze Seitenäste entwickelt.

Der reife Odontoblast hat eine Länge von 40–50  $\mu\text{m}$  und eine Dicke von 7  $\mu\text{m}$  (Junqueira/Carneiro, 1991).

Die Odontoblasten synthetisieren Proteoglykane, Glycoproteine und Prokollagen in den Sekretionsgranula, welche ein Gitterwerk für mineralische Ablagerungen bilden. Diese Granula werden im Bereich des Odontoblastenfortsatzes in den Extrazellularraum abgegeben (siehe Abb. 4). Dort beginnt die Bildung des Prädentins, das später mineralisiert. Bei beginnender Mineralisation wird das Prädentin zum Zwischendentin. Die Mineralisation beginnt damit, dass die Odontoblasten Matrixvesikel abgeben, welche Kalzium und Phosphat in hohen Konzentrationen enthalten (Butler et al. 1997, Thesleff et al. 1991).

Die Bildung der einzelnen Apatitkristalle verläuft entlang der Kollagenfibrillen. Im Dentin handelt es sich fast ausschließlich um Kollagen Typ I (Wiesmann et al. 2005, Butler 1995). Die Odontoblasten bewegen sich immer weiter von der Schmelz-Dentin-Grenze weg. Dadurch verlängern sich die Odontoblastenfortsätze. Sie durchziehen das gesamte Dentin und bilden so die Dentinkanälchen. Von den Odontoblastenfortsätzen geht auch die Bildung des peritubulären Dentins aus. Die Matrix hierfür wird in den Odontoblastenkörpern gebildet und vom Fortsatz zwischen mineralisierter Kanalwand und Zytoplasmamembran abgelagert. Diese Matrix enthält keine kollagenen Fibrillen mehr. Die kontinuierliche Bildung verringert das Volumen der Dentinkanälchen und kann bis zur Sklerosierung führen (Buddecke, 1981).



**Abb. 4: Topochemie der Dentinbildung durch Odontoblasten in schematischer Ansicht**

Während der gesamten Lebenszeit des Zahns wird weiter Dentin gebildet (Morse 1991, Sohlheim 1992, Nitzan et al. 1986, Schroeder 2000). Alles Dentin, das bis zum Ende des Wurzelwachstums gebildet wird, ist Primärdentin. Sekundärdentin ist alles regulär gebildete Dentin nach dieser Zeit. Aufgrund eines Reizes kann auch noch Tertiärdentin gebildet werden, welches als Abwehrbarriere dient (Hellwig/Klimek/Attin 2003, Magloire et al. 1996).

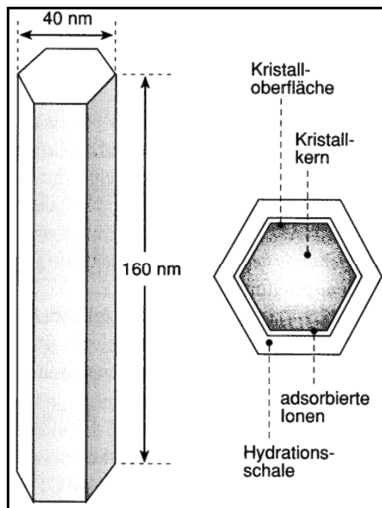
## 2.2. Struktur von Zahnhartgeweben

### 2.2.1. Schmelzstruktur

Der Zahnschmelz ist die härteste Substanz im menschlichen Körper. Nach der Eruption unterliegt der Schmelz keinem aktiven Stoffwechsel mehr, aber ein Ionenaustausch ist trotzdem immer noch möglich. Die Schmelzdicke geht von wenigen Mikrometern im Bereich des Zahnhalbes bis hin zu einer Dicke von 2,5 mm.

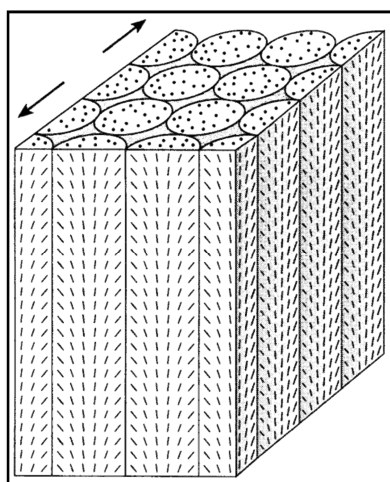
Zahnschmelz besteht zu 95 Gew.-% aus anorganischen Verbindungen. Bei 4 Gew.-% handelt es sich um Wasser. Die restlichen 1 Gew.-% sind organische Substanzen wie glyzerinhaltige Polypeptide und unlösliche Matrixproteine (Buddecke 1981, Ten Cate 2007).

Der Zahnschmelz besteht aus annähernd hexagonalen kleinen Stäbchen, den Apatitkristallen (Fujita 1952). Die Kristalle sind 160 nm lang, 40–70 nm breit und 26 nm dick. Alle Kristalle sind von einer Schicht aus Proteinen und Lipiden umgeben, der Hydratschale (siehe Abb. 5). Etwa 100 Schmelzkristalle bilden ein Prisma.



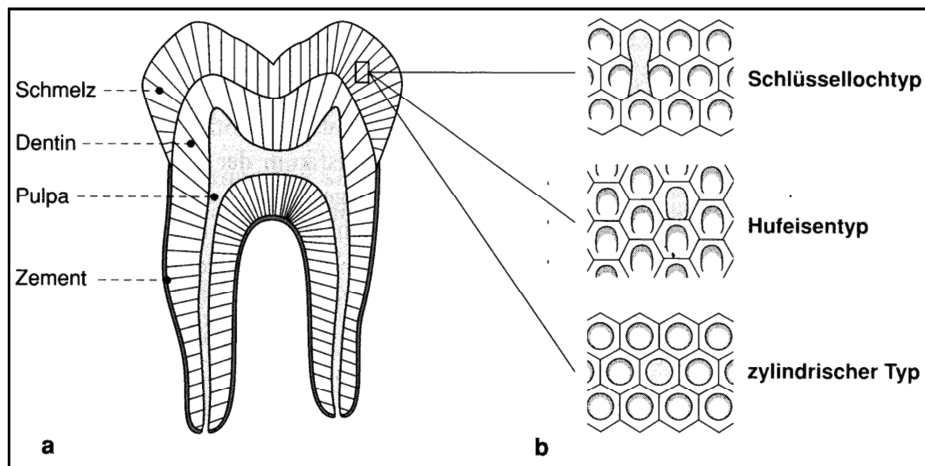
**Abb. 5: Schematische Darstellung eines Hydroxylapatitkristalls**

Die Prismen verlaufen wellenförmig in horizontaler sowie vertikaler Richtung. Im Kern der Prismen stehen die Kristalle parallel zur Längsachse, weiter nach außen hin fiedern sie aus und bilden einen Winkel zu dieser Achse, wie aus Abbildung 6 hervorgeht. Zwischen den einzelnen Prismen liegt die zwischenprismatische Substanz, welche aus ungeordneten Kristallen besteht.



**Abb. 6: Ausrichtung der Schmelzkristalle innerhalb der Schmelzprismen**

Man unterscheidet verschiedene Formen der Prismenverbände: den Pferdehuf- und den Schlüsselochtyp sowie den zylindrischen Typ (Abb.7).



**Abb. 7: Schematische Darstellung des histologischen Aufbaus des Zahnschmelzes**

Durch die räumliche Ordnung der Prismen entstehen polarisations- sowie lichtmikroskopische Besonderheiten. Einmal die Hunter-Schräger-Streifung die unter dem Polarisationsmikroskop auftritt. Sie entsteht dadurch, dass die Prismen sowohl längs als auch quer geschnitten werden durch die horizontale wie auch vertikale Wachstumsrichtung. Deshalb entstehen helle und dunkle Streifen. Im Durchlichtmikroskop werden die Retzius-Streifen erkennbar. Sie sind Ausdruck periodischer Ruhephasen der Ameloblasten (Hellwig/Klimek/Attin 2003).

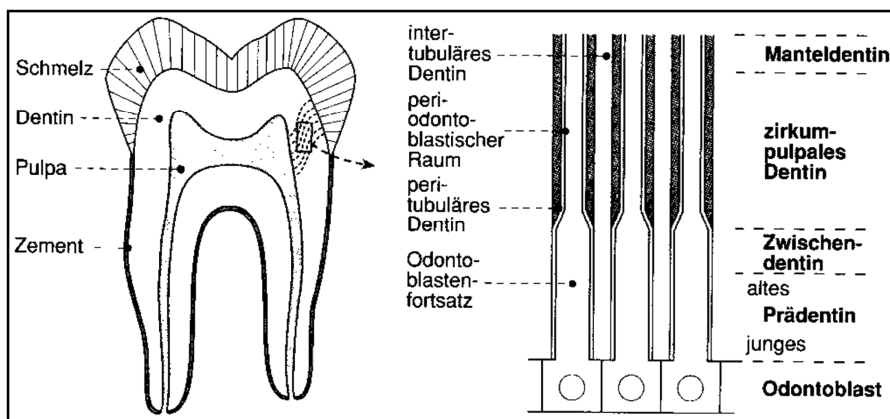
### 2.2.2. Dentinstruktur

Dentin bildet den größten Anteil der Zahnhartgewebe und ähnelt in physikalischen und optischen Eigenschaften dem Elfenbein. Dentin ist härter als Knochen, aber weniger hart als Schmelz.

Dentin ist hochgradig elastisch, verformbar und hat eine gelbliche Eigenfarbe. Dentin besteht zu 70 Gew.-% aus anorganischen Substanzen. Organische Substanzen sind zu 20 Gew.-% enthalten. 90 % davon ist Kollagen (Kawasaki 1997) und die anderen 10 % bestehen aus Proteinen, Glykoproteinen, Proteoglykanen und Zitrat. Die restlichen 10 Gew.-% werden vom Wasser gebildet (Buddecke 1981).

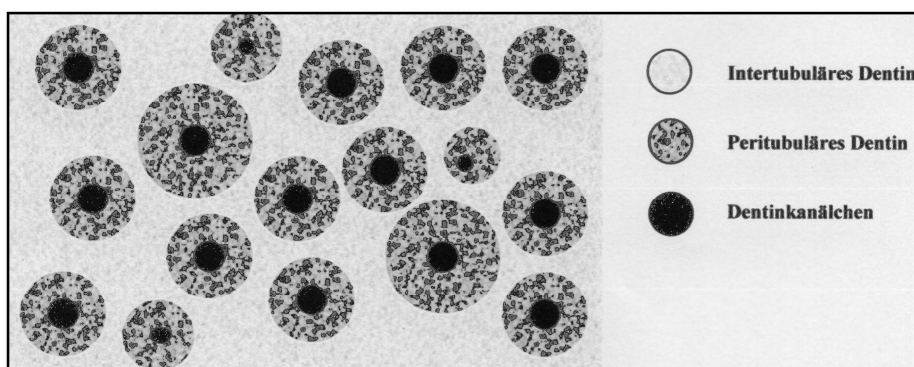
Dentin wird von den Odontoblasten gebildet, welche in der Zahnpulpa liegen. Die Odontoblastenfortsätze durchziehen das gesamte Dentin von der Pulpa bis zum Schmelz in den Dentinkanälchen. Die Fortsätze bilden Seitenäste bis tief ins intertubuläre Dentin. Die Kanälchen verlaufen im koronalen Zahnbereich s-förmig und im Bereich der Zahnwurzel geradlinig (Hellwig, Klimek, Attin 2003). Das Volumen der Kanälchen nimmt nach peripher um 30 % ab (Pilz 1985). Pulpennah liegt der Durchmesser bei 2–3  $\mu\text{m}$  und nimmt bis hin zur Schmelz-Dentin-

Grenze auf 0,5–0,9  $\mu\text{m}$  ab. An der Pulpa-Dentin-Grenze befinden sich ca. 65000–45000 Dentinkanälchen/ $\text{mm}^2$ . An der Schmelz-Dentin-Grenze beträgt diese Zahl nur noch 15000–20000/ $\text{mm}^2$  (Pashley 1991). Im Dentinlängsschnitt lässt sich das Dentin in 4 Zonen unterteilen (Abb. 8). An der Pulpa-Dentin-Grenze beginnen diese Zonen mit dem Prädentin, welches nicht vollständig ausgereift ist. Prädentin ist noch hypomineralisiert (Hellwig, Klimek, Attin 2003). Die folgende Zone ist das Zwischendentin. Hier beginnt die Mineralisation des Prädentins. Die dritte Zone bildet das zirkumpulpale Dentin, welches die Hauptmasse des Dentinkerns bildet. Die letzte Zone bildet das Manteldentin. Diese äußere Schicht hat eine Dicke von 10–30  $\mu\text{m}$ . Die Mineralisierung des Manteldentins erreicht eine weniger hohe Dichte als das zirkumpulpale Dentin (Buddecke 1981).



**Abb. 8:** Schem. Darstellung der Dentinstruktur und der Dentinkanälchen im Längsschnitt

Im Querschnitt lässt sich von den Kanälchen aus das peritubuläre und das intertubuläre Dentin unterscheiden (Abb. 9). Das peritubuläre Dentin bildet die Wände der Dentinkanälchen. Es ist sehr homogen und von allen Dentinstrukturen am stärksten mineralisiert. Durch weitere Apposition nimmt die Dicke im Alter zu. Das intertubuläre Dentin ist weniger dicht mineralisiert. Etwa 50 % seines Volumens besteht aus kollagenen Fasern die quer zu den Dentinkanälchen verlaufen (Hellwig, Klimek, Attin 2003).



**Abb. 9:** Schem. Darstellung der Dentinstruktur und der Dentinkanälchen im Querschnitt

## 2.3. Mineralisierung und Entwicklung von Zahnhartgeweben

### 2.3.1. Biomineralisation

In der Tier- und Pflanzenwelt ist die Biomineralisation ein weitverbreiteter Prozess, bei dem verschiedene anorganische Verbindungen beteiligt sein können. Noch vor den ersten Skelettknochen tauchten in der Evolution bei den Paraconodata/Euconodata Hartgewebsbildungen in der Form von Zähnen auf (Donoghue et al. 2000). Schmelz, Dentin und Knochen sind das Ergebnis von sehr komplexen Biomineralisierungsvorgängen. Diese Vorgänge kommen schon bei Einzellern vor, die die Fähigkeit besitzen, Magnetit und andere eisenhaltige Mineralien zu bilden (Fortin et al. 2000, Webb et al. 1990).

Die hauptsächlichlichen Produkte der Biomineralisation sind verschiedene Kalziumphosphate, vor allem Hydroxylapatit  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$ , das auch den Hauptbestandteil der Zahnhartgewebe bildet. Kalziumphosphate sind ideale biologische Mineralisationsprodukte, denn sie können sich unter physiologischen körperlichen Bedingungen bilden (pH, Temperatur, Druck). Im leicht sauren Milieu zeigen Kalziumphosphate eine gute Löslichkeit. Sie unterliegen damit einem ständigen Stoffwechsel im Organismus, einem ständigen Auf- (Remineralisation) und Abbau (Demineralisation).

Störungen in diesem Gleichgewicht führen zu pathologischen Veränderungen wie z. B. der Zahnkaries, bei der die Demineralisation überwiegt (Gängler et al. 2005). Brushit (Dikalziumphosphat-Dihydrat) und Oktakalziumphosphat sind als Bestandteile vom Zahnstein nachgewiesen, einem Produkt einer übersteigerten Mineralisation (LeGeros und Shannon 1979, LeGeros 1991). Diese Kalziumphosphate sind aber auch Hauptbestandteile bei der Knochenbildung (Lijima et al. 1996). Auch die Bildung von Gallensteinen beruht auf einer Störung von Mineralisationsgleichgewichten.

Außer Kalziumphosphat können bei der Mineralisation von Zähnen auch andere Ionen beteiligt sein. Eine wichtige Rolle zu Beginn der Biomineralisation spielen auch Natrium, Kalium, Magnesium und Fluorid. Im Prädentin konnte ein erhöhter Kalium- und Natriumwert nachgewiesen werden (Höhling 1991, Wiesmann et al. 1995). Durch das Kalium werden z. B. einige der Matrixproteine, die für die Mineralisation wichtig sind, aktiviert (Suelter 1970). Auch Magnesium beeinflusst die Biomineralisation durch Veränderung der Enzymaktivität der alkalischen Phosphatase (Althoff et al. 1982) sowie der Veränderung der Kristallgröße von Apatit (Tsuboi et al. 1994, Bigi et al. 1992). Weitere Ionen bei der Biomineralisation von Zahnhartgeweben sind außerdem noch Barium, Eisen, Blei, Silizium, Strontium und Zink.



Abschließend kann man sagen, dass die Biomineralisation ein Vorgang ist, bei dem lebende Zellen, in diesem Fall Ameloblasten und Odontoblasten, anorganische Kristalle produzieren.

### 2.3.2. Schmelzmineralisation

Die Schmelzmineralisation lässt sich in 2 Phasen unterteilen. In der ersten Phase, der präeruptiven Schmelzmineralisation, bilden die Ameloblasten die Schmelzmatrix. Diese mineralisiert in dieser Phase und reift weiter aus. Während dieser Mineralisation findet eine Kristallisation von Kalziumphosphat statt. Dabei wachsen die Kristalle. Im Zahnschmelz verbleiben aber Mikroporositäten zwischen den Kristallen und Ionendefekte in den Gitterstrukturen (Hellwig, Klimek, Attin 2003).

Nach vollständiger präeruptiver Schmelzreifung verwandeln sich die Ameloblasten in Epithelzellen und wandern gegen den Sulcus gingivae. Sie bleiben nicht teilungsfähig und werden dann abgestoßen.

Trotzdem unterliegt die Zusammensetzung des Zahnschmelzes in den späteren Lebensjahren weiteren Veränderungen. Diese Veränderungen werden als posteruptive Schmelzreifung bezeichnet. Der Zahnschmelz unterliegt nach seiner Bildung keinen aktiven Reparaturmechanismen (Hellwig, Klimek, Attin 2003).

Der Ionenaustausch kann aber nun nur von außen, also von der Mundhöhle her, oder von innen her (Schmelz-Dentin-Grenze) erfolgen. Auf diese Weise wird der Zahnschmelz durch Abnahme des Karbongehalts und Substitution der OH<sup>-</sup>-Gruppen durch Fluoridionen dichter (Buddecke 1981).

Dadurch werden die Porositäten und Ionendefekte der präeruptiven Schmelzreifung ausgeglichen (Brudevold et al. 1982, Hellwig, Klimek, Attin 2003). Die Folge ist, dass der Schmelz im Alter weniger permeabel und weniger leicht säurelöslich wird. Gleichzeitig wird der Zahnschmelz aber spröder und bruchanfälliger.

### 2.3.3. Zeitliche Entwicklung der Zähne

Die zeitliche Entwicklung der Zähne verläuft fast immer gleich und benötigt einen ungefähren Zeitraum von 14–16 Lebensjahren, wenn die Weisheitszähne außer Betracht gelassen werden

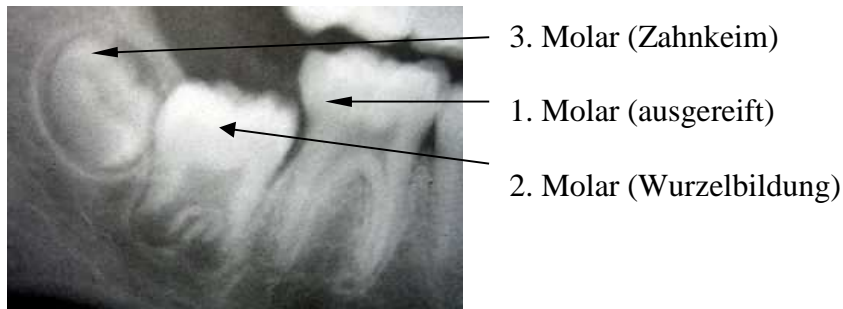
(Bock 2005). Die in Tabelle 1 aufgeführten Zeiten zeigen den Verlauf von erster Verkalkung bis hin zum vollständigen Abschluss des Wurzelwachstums der bleibenden Zähne.

**Tab. 1: Zeitlicher Ablauf der Bildung der permanenten Zähne**

	Zentraler Schneidezahn	Seitlicher Schneidezahn	Eckzahn	Erster Prä-molar	Zweiter Prä-molar	Erster Molar	Zweiter Molar	Dritter Molar
<b>Zähne im Oberkiefer</b>								
<b>Erste Verkalkung</b>	3–4 M.	10–12 M.	4–5 M.	1,5–1,7 J.	2–2,25 J.	bei Geb.	2,5–3 J.	7–9 J.
<b>Krone vollständig</b>	4–5 J.	4–5 J.	6–7 J.	5–6 J.	6–7 J.	2,5–3 J.	7–8 J.	12–16 J.
<b>Wurzel vollständig</b>	10 J.	11 J.	13–15 J.	12–13 J.	12–14 J.	9–10 J.	14–16 J.	18–25 J.
<b>Zähne im Unterkiefer</b>								
<b>Erste Verkalkung</b>	3–4 M.	3–4 M.	4–5 M.	1,5–2 J.	2–2,25 J.	bei Geb.	2,5–3 J.	8–10 J.
<b>Krone vollständig</b>	4–5 J.	4–5 J.	6–7 J.	6–7 J.	6–7 J.	2,5–3 J.	7–8 J.	12–16 J.
<b>Wurzel vollständig</b>	9 J.	10 J.	12–14 J.	12–13 J.	13–14 J.	9–10 J.	14–15 J.	18–25 J.

Tabelle 1 liefert auch den Grund, dass für diese Arbeit nur Weisheitszähne von Patienten, die das 25. Lebensjahr überschritten hatten, infrage kamen, denn nach dem 25. Lebensjahr sind die Weisheitszähne vollständig entwickelt. Dies bestätigen auch forensische Untersuchungen, die besagen, dass etwa ab dem 25. Lebensjahr alle Wachstumsvorgänge im Kiefer abgeschlossen sind (Eidam et al. 1990).

In Abbildung 10 ist ein Röntgenbild eines 11-jährigen Patienten zu sehen. In diesem Bild sind die Stadien der in Tabelle 1 aufgeführten Werte deutlich zu erkennen. Das Röntgenbild zeigt den Bereich der Molaren des Unterkiefers. Es ist zu erkennen, dass der erste Molar vollständig ausgebildet ist, Kronenbildung und Wurzelwachstum sind abgeschlossen. Der zweite Molar befindet sich in der Phase der Wurzelbildung, die Krone ist schon vollständig ausgereift und die Wurzeln sind fast bis zur Hälfte ausgebildet. Der dritte Molar (Weisheitszahn) liegt noch als Zahnkeim vor, die Krone wird gerade gebildet und die Wurzeln sind noch nicht erkennbar.



**Abb. 10: Röntgenbild der verschiedenen Stadien der Zahnentwicklung**

#### 2.4. Der dritte Molar – der Weisheitszahn

Weisheitszähne (dritte Molaren) sind die achten Zähne ab der vertikalen Mittellinie des menschlichen Gebisses. In ihrer Grundform entsprechen sie den Molaren, sind aber in Form von Krone und Wurzel sehr variabel. Die Wurzeln können vor allem bei den oberen Weisheitszähnen zu einer Pfahlwurzel verschmolzen sein (Lehmann und Hellwig 2002).

Weisheitszähne entwickeln sich erst spät beim Menschen. Sie brechen erst spät, unregelmäßig oder gar nicht durch (Dietrich 2000). Weil sie als Letzte durchbrechen und weit hinten am Kieferwinkel liegen, haben sie häufig nicht genug oder gar keinen Platz. Dadurch besteht auch die Möglichkeit, dass sie nur zum Teil durchbrechen.

Daraus ergeben sich nun verschiedene Formen für den Durchbruch. Ist genügend Platz vorhanden brechen sie ungehindert hinter den zweiten Molaren durch. Dieser Zustand ist in Abbildung 11, dem Röntgenbild eines Patienten mit durchgebrochenem Weisheitszahn, zu sehen.



**Abb. 11: Röntgenbild eines durchgebrochenen Weisheitszahns**

Von Retention spricht man, wenn die Zähne nicht zeitgerecht oder gar nicht durchbrechen und in Funktion treten, was bei ca. 20 % der Zähne zu erwarten ist (Waes/Stoeckli 2001). Ist der Zahn allseits von Gewebe umschlossen, spricht man von kompletter (totaler) Retention (Abb. 12).



**Abb. 12: Röntgenbild eines retinierten Weisheitszahns**

Eine partielle (teilweise) Retention ergibt sich, wenn die Zahnkrone die Schleimhaut perforiert (Abb. 13).



**Abb. 13: Röntgenbild eines teilretinierten Weisheitszahns**

Eine Sonderform bilden die impaktierten Weisheitszähne. Sie sind komplett retiniert und ausschließlich von Knochen umgeben, wie Abbildung 14 zeigt (Schwenzer und Ehrenfeld 2000).



**Abb. 14: Röntgenbild eines impaktierten Weisheitszahnkeims**

## 2.5. Lagerung von humanen Zahnhartgeweben

Humane Zahnhartgewebe werden bei vielen verschiedenen Versuchen über längere Zeit untersucht. Um eventuelle Gefahren auszuschließen, werden diese Untersuchungen oft an extrahierten Zähnen durchgeführt. Bei allen Versuchen dieser Art, die über einen längeren Zeitraum angelegt sind, müssen die Zähne entsprechend gelagert werden. Bei Zähnen gibt es grundsätzlich zwei verschiedene Möglichkeiten der Lagerung.

Die erste Form dieser Lagerungsmöglichkeiten ist die trockene Lagerung. Bei dieser Möglichkeit kommt es zu einer Austrocknung der Zahnhartgewebe. Diese Form der Lagerung ist sehr einfach und kostengünstig. Allerdings führt die trockene Lagerung zu starken Veränderungen der mechanischen Eigenschaften (Ebstein und Puritt 2006, Fränzel und Gerlach 2008). Fränzel und Gerlach wiesen 2008 nach, dass trockene Zahnhartgewebe bei tumortherapeutischer Bestrahlung keine Veränderungen der mechanischen Eigenschaften zeigen. Dies kann zu der falschen Aussage führen, dass Bestrahlung keinen Einfluss auf dentale Hartgewebe ausübt. Zahnhartgewebe, die feucht gelagert werden, zeigen unter tumortherapeutischer Bestrahlung dramatische Einbrüche der mechanischen Eigenschaften (Fränzel und Gerlach 2008). Nach einer Bestrahlung mit der Gesamtdosis von 60 Gy kam es bei den feucht gelagerten Proben zu einer mehr als 90%igen Verringerung von Schmelzhärte und E-Modul. Dies passt auch besser zu den klinischen Beobachtungen, hier kommt es bei Bestrahlung zur sogenannten „Strahlenkaries“ (Grötz et al. 2001). Außerdem zeigten auch mikroskopische Untersuchungen deutliche Veränderungen der Schmelzstruktur nach tumortherapeutischer Bestrahlung (Grötz 1998).

Die zweite Form der Lagerungsmöglichkeiten ist die Lagerung in wässrigen Medien. Hier werden in der Literatur viele verschiedene Lagermedien beschrieben.

Ein mögliches Lagermedium ist physiologische Natriumchloridlösung. In der Literatur wird physiologische Natriumchloridlösung durchgehend als gutes Lagermedium beschrieben. Allerdings schwankt laut Herstellerangaben der pH-Wert von physiologischen Natriumchloridlösungen von leicht sauren (4,0) bis hin zu leicht basischen (9,0) Werten. Durch leicht saure pH-Werte kann es zu Demineralisierungen kommen, die die mechanischen Eigenschaften verändern könnten. Aus diesem Grund wurde vor den Messungen immer der pH-Wert der verwendeten physiologischen Natriumchloridlösung überprüft.

Als ein weiteres Lagermedium kann eine Thymollösung Verwendung finden. Thymol dient in solchen Lösungen durch seine antibakterielle Wirkung als Bakterieninhibitor (Imbeni et al. 2005, Mahoney et al. 2004, Bor et al. 2003). Die verwendeten Konzentrationen vom Thymol schwanken zwischen 0,05 und 3 %. Um vorhandene Bakterien zu entfernen, wird auch Wasser-

stoffperoxid häufig verwendet. Allerdings verändern dentale Hartgewebe bei dieser Form der Desinfektion ihre mechanischen Eigenschaften sehr stark (Nizam, Lim 2009).

Kalziumchlorid wurde für die Lagerung von humanen Knochen zwar als sehr gut geeignet beschrieben (Gustafson et al. 1996), für die Verwendung als Lagermedium von dentalen Hartgeweben allerdings als nicht geeignet dargestellt (Habelitz et al. 2002).

Um die Bedingungen der Mundhöhle realistischer nachstellen zu können, kann menschlicher (Hall et al. 1999), aber auch künstlicher Speichel (Gal et al. 2001) Verwendung finden. In solchen Versuchen findet man häufig den Speichel nach Fusayama in originaler (Grosogeat et al. 1999, Campus et al. 2007, Kaplan et al. 2003) oder modifizierter Zusammensetzung (Unger 2004, Ziskind et al. 2003a).

Als ein weiteres wässriges Lagermedium für dentale Hartgewebe kann Hanks buffered salt solution Verwendung finden. Bei diesem Lagermedium verändern dentale Hartgewebe ihre mechanischen Eigenschaften während der Lagerungsperiode nicht (Guidoni 2008, Habelitz et al. 2002).

Destilliertes Wasser ist ein einfach herzustellendes und kostengünstiges Lagermedium. Aus diesem Grund findet es bei der Lagerung von dentalen Hartgeweben häufig Verwendung. Allerdings verändern sich die mechanischen Eigenschaften der dentalen Hartgewebe bei dieser Lagerungsform sehr stark (Habelitz et al. 2002). E-Modul und Härte vom Schmelz und Dentin zeigen bei dieser Lagerungsform eine beständige Verringerung bei steigender Lagerungszeit. Es ist ersichtlich, dass es für die feuchte Lagerung mit wässrigen Medien eine Vielzahl von Möglichkeiten gibt. Allerdings sind nicht alle Lösungen für eine Lagerung von dentalen Hartgeweben geeignet, vor allem wenn es auf die Beurteilung der mechanischen Eigenschaften ankommt.

## 2.6. Physikalische Grundlagen der Nanoindentierung

### 2.6.1. Mechanisches Verhalten von Festkörpern bei lokaler Belastung

Die Reaktion von Festkörpern auf mechanische Einwirkungen lässt sich in verschiedene Qualitäten unterteilen, die materialabhängig sind. Beim Einfluss äußerer Kräfte spielt vor allem die Verformung eine wichtige Rolle. Sie setzt eine Relativbewegung zwischen den einzelnen Körperelementen, z. B. den Molekülen, voraus. Bei kristallinen Festkörpern z. B., bei denen die Atome eine gitterperiodische Anordnung aufweisen, kann eine elastische Verformung als reversible Auslenkung der Atome aus ihrer Gleichgewichtslage verstanden werden. Der Übergang zwischen elastischer und plastischer Deformation ist also vom Verhalten der einzelnen Materia-

lien abhängig. In Kristallen entstehen Versetzungen durch ein schrittweises Gleiten der Netzebenen aufeinander. Das ruckartige Lösen und Neubilden von Gitterverbindungen regt die beteiligten Gitterbausteine zu stärkeren Gitterschwingungen an. Duktile Materialien neigen nach Erreichen der Elastizitätsgrenze zu einem ausgedehnten plastischen Fließen. Bei praktisch konstanter Spannung entsteht eine sehr hohe Dehnung. Bei spröden Stoffen dagegen besteht die Möglichkeit des Brechens noch vor dem Erreichen dieser Grenze (Kuchling 2001).

Zur Untersuchung des mechanischen Verhaltens von Festkörpern gibt es daher verschiedene Methoden. Von Bedeutung sind neben Zug- und Drucksteifigkeit auch Torsions-, Biege- und Scherfestigkeit. Da bei der vorliegenden Untersuchung die Nanoindentierung als Testmethode verwendet wurde, wird in den folgenden Abschnitten vor allem auf die Punktbelastung eingegangen. Die Punktbelastung ist die Belastungsart, die ein härterer Indenter auf einen Körper ausübt. Hierbei ist die genaue Kenntnis von Druck- bzw. Spannungsverteilung im Kontaktbereich erforderlich. Die Plastizitäts- bzw. die Fließgrenze bestimmt hier den maximal erreichbaren Druck und ist somit proportional zur materialspezifischen Härte. Die Härte ist das Maß für den Widerstand, den ein fester Körper dem Eindringen eines anderen Körpers entgegensetzt. Die Härte entsteht aus dem Verhältnis zwischen einwirkender Kraft  $F$  und realer Kontaktfläche  $A_K$ :

$$p_{max} \propto H = \frac{F}{A_K}. \quad (1)$$

Die Kontaktfläche  $A_K$  wird mithilfe der Kraft-Eindringtiefe-Daten bestimmt, wobei hier elastische sowie plastische Anteile Berücksichtigung finden. Wegen der Besonderheiten beim Aufbau der Kontaktfläche ist die Analyse des genauen Zusammenhangs von Kraft  $F$  und Eindringtiefe  $h$  das Ziel vieler theoretischer Überlegungen. Allerdings gibt es bisher nur empirische Ansätze zur Beschreibung der Kraft-Eindringtiefe-Beziehung, ausgenommen bei der elastischen Deformation.

Bei der elastischen Deformation tritt nach der Krafteinwirkung keine Verformung des Körpers auf, der Körper kehrt somit in seine Ausgangslage zurück. Hooke beschrieb erstmals 1676 den linearen Zusammenhang zwischen Spannung  $\sigma$  und der Dehnung  $\varepsilon$  auf makroskopischer Ebene. Das Verhältnis von angreifender Zug- bzw. Druckkraft und der Querschnittsfläche bestimmt hierbei die mechanische Spannung. Die Dehnung wird über die Längenänderung  $\Delta l$  eines stabförmigen Körpers definiert als

$$\varepsilon = \frac{\Delta l}{l}. \quad (2)$$

Das heute bekannte Hooke'sche Gesetz enthält als Proportionalitätsfaktor die Materialkonstante  $E$ . Diese Materialkonstante stellt den Elastizitätsmodul dar. Aus der linearen Beziehung zwi-

schen Spannung und Dehnung folgt, dass die angreifende Kraft  $F$  zur Längenänderung  $\Delta l$  proportional ist. Außerdem verursacht eine mechanische Spannung in Längsrichtung auch eine Querkontraktion – die Abmessung des Körpers quer zur Kraft wird verändert. Dies führt zur Einführung der Poissonzahl  $\nu$ , die das Verhältnis von Quer- und Längsdehnung angibt. Die Zahlenwerte für die Poissonzahl  $\nu$  liegen etwa zwischen 0,2 und 0,5 (Kuchling 2001).

Die Theorie der Punktbelastung stellt ein Problem auf der mikroskopischen Ebene dar. Hertz beschäftigte sich als Erster mit dem Kontaktproblem und konnte 1881 die Lösung für zwei sich berührende elastische Kugeln angeben (Hertz 1881). Dabei muss von folgenden Kontaktbedingungen ausgegangen werden:

- Die am Kontakt beteiligten Körper spannen einen elastischen Halbraum auf, d. h., der Radius der Kugeln  $R_1$  und  $R_2$  ist groß gegenüber dem Kontaktradius  $a$ . Folge ist die Konzentration der Kontaktspannung auf den Kontaktbereich.
- Die Körper besitzen eine kompakte Oberfläche, was zu einer reibungsfreien Verschiebung der sich berührenden Kontaktflächen führt und damit nur zu einer Druckwirkung senkrecht zur Oberfläche.

Für den mittleren Kontaktdruck  $p_m$ , der als Quotient von belastender Kraft und projizierter Kontaktfläche  $A_p$  definiert ist, konnte Hertz somit die folgende Gleichung herleiten (Hertz 1981):

$$p_m = \frac{F}{A_p} = \frac{2}{3} \left( \frac{6FE_r^2}{\pi^3 R^2} \right)^{1/3} = \frac{2}{3} p_{max} \text{ mit} \quad (3)$$

$$\frac{1}{R} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \text{ und} \quad (4)$$

$$\frac{1}{E_r} = \frac{1-\nu_1^2}{E_1} + \frac{1-\nu_2^2}{E_2} . \quad (5)$$

$E_{1,2}$  kennzeichnen die Elastizitätsmodule und  $\nu_{1,2}$  die Poissonzahlen der jeweiligen Kugelmateriale. Mit diesen Ergebnissen kann nun auch die Annäherung der beiden Kugelmittelpunkte berechnet werden:

$$\delta = \left( \frac{9}{16} \frac{F^2}{RE_r^2} \right)^{1/3} . \quad (6)$$

Für  $R_2 \rightarrow \infty$  wird die Kugel zu einem unendlich ausgedehnten elastischen Halbraum mit ebener Begrenzung und somit entspricht die Annäherung  $\delta$  der Eindringtiefe  $h_{el}$ . Mit  $R_1$  gleich  $R$  ergibt Gleichung (6) umgestellt auf die Kraft-Eindringtiefe-Beziehung:

$$F = \frac{4}{3} R^{1/2} E_r h_{el}^3 . \quad (7)$$



Sneddon konnte 1965 eine allgemeinere Theorie ausarbeiten (Sneddon 1965). Er berechnete das elastische Kontaktproblem sich berührender Körper mit beliebiger geometrischer Form für den axialsymmetrischen Fall mit folgenden Bedingungen:

- Es gilt die Annahme, dass der Kontakt reibungsfrei ist. Dies ist eine Näherung, wenn die beiden Körper nicht die gleichen mechanischen Eigenschaften aufweisen.
- Die variable Druckverteilung im Kontaktbereich soll nur in Radialrichtung verteilt sein.

Verallgemeinert kann das Resultat für den Zusammenhang zwischen Kraft und Eindringtiefe in folgender Gleichung dargestellt werden:

$$F = C_g E_r h_{el}^\gamma, \quad (8)$$

wobei die Konstanten  $C_g$  und  $\gamma$  von der Indentergeometrie abhängen. Als Indenterformen sind mehrere Varianten möglich. Als Beispiel können ein flacher Stempel, eine Kugel oder auch ein Kegel angenommen werden. Für alle Versuche in der vorliegenden Arbeit kam ein Berkovich-Indenter zur Verwendung. Dieser Diamantindenter hat die Form einer dreiseitigen Pyramide und weist somit eine Ähnlichkeit zu Indentern mit Kegelform auf. Für den Berkovich-Indenter gilt allgemein die Kraft-Eindringtiefen-Beziehung:

$$F = C_g E_r h_{el}^2. \quad (9)$$

Die Geometriekonstante  $C_g$  für den Berkovich-Indenter errechnet sich aus den verschiedenen Winkeln der Pyramide. Für den Berkovich-Indenter beträgt der Winkel zwischen Kante und gegenüberliegender Fläche  $142,3^\circ$ , der Winkel zwischen Pyramidenseite und Pyramidennormale  $65,3^\circ$ . Aus diesen Werten folgt die Geometriekonstante:

$$C_g = \frac{2}{\pi} \tan \frac{142,3}{2} = 1,865. \quad (10)$$

Als ein weiteres wichtiges Ergebnis der Sneddon'schen Lösungen ist außerdem noch die Kontaktsteifigkeit  $S$  zu sehen (Sneddon 1965). Die Kontaktsteifigkeit  $S$  ist dabei die Ableitung der Kraft  $F$  nach der Eindringtiefe  $h_{el}$  und ergibt:

$$S = \frac{dF}{dh_{el}} = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \frac{1}{E_r} \sqrt{A_p}. \quad (11)$$

Aus Gleichung (11) ist ersichtlich, dass die Kontaktsteifigkeit bei der elastischen Deformation nur von den mechanischen Eigenschaften der beteiligten Körper und von der projizierten Kontaktfläche  $A_p$  abhängt. Damit ist es egal, wie kompliziert der Eindringkörper beschaffen ist. Außerdem bedeutet dies für den Eindruckversuch, dass die Kontaktsteifigkeit  $S$  als Anstieg der elastischen Entlastung bestimmt werden kann, auch wenn vorher plastische Vorgänge abgelaufen sind.

fen sind. Dies ist von ganz wesentlicher Bedeutung für die weitverbreitete Methode von Oliver und Pharr (Oliver/Pharr 1992) auf die unter 2.6.2. näher eingegangen wird.

Wenn die Grenze der Elastizität überschritten wird, kommt es zu plastischen Verformungen (Plastische Deformation). Das bedeutet, dass irreversible Form- bzw. Volumenveränderungen des Körpers auch nach dem Ende der Krafteinwirkung bestehen bleiben. Bei einem Versuch mit dem Indenter bedeutet das, dass ein bleibender Eindruck nach der Entlastung im Körper bestehen bleibt. Dabei kommt es im Material zu Veränderungen in Form von Phasenumwandlungen und dem Neubilden von Bindungen.

Die Elastizitätsgrenze wird durch die Einführung der kritischen Fließspannung charakterisiert. Für die Berechnung dieser Fließspannung gibt es verschiedene Modelle, in Fischer-Cripps (2000) werden folgende Ansätze diskutiert:

- Von Mises Fließkriterium (1913) wird durch die folgende Gleichung beschrieben, wobei die Hauptspannungen im Spannungsraum mit  $\sigma_1$ ,  $\sigma_2$  und  $\sigma_3$  bezeichnet werden.

$$2\sigma_v^2 = (\sigma_1 - \sigma_2)^2 + (\sigma_1 - \sigma_3)^2 + (\sigma_2 - \sigma_3)^2 \quad (12)$$

- Das Tresca-Fließkriterium sagt aus, dass die kritische Fließspannung der Differenz aus maximaler ( $\sigma_1$ ) und minimaler ( $\sigma_3$ ) Hauptspannung entspricht:

$$\sigma_v = \sigma_1 - \sigma_3. \quad (13)$$

Beide Kriterien gelten unter den Voraussetzungen, unabhängig von der Vorgeschichte, im elastischen Bereich zu sein und von der Deformation nicht beeinflusst zu werden. Unter einem kegelförmigen Indenter mit einem großen Öffnungswinkel (stumpfer Winkel) ist bei einem rein plastischen Kontakt der mittlere Druck unabhängig von der Belastung und der Eindruckgröße. Dies folgt aus dem „expanding cavity model“ und dem Kick’schen Prinzip der geometrischen Ähnlichkeit (Kick 1985). Johnson beschreibt im „expanding cavity model“, dass in elastisch-plastischen Materialien die Ausweitung einer Kavität, die sich der Kontaktfläche des Indenters anschließt, zu einer Erhöhung der hemisphärischen plastischen Zone im Material führt. Nach der Definition des mittleren Kontaktdrucks gelten für rein plastische Deformationen mit stumpfen konischen Indentern bei Eindruckversuchen:

$$F = C_{pg} h_{pl}^2. \quad (14)$$

Die Konstante  $C_{pg}$  hängt von der Geometrie des Indenters und der Fließspannung des Materials ab. Mithilfe der Gleichung (1) und der Kontaktfläche

$$A_K = ch_{pl}^2 \quad (15)$$

kann die Konstante  $C_{pg}$  nach

$$C_{pg} = cH \quad (16)$$

angegeben werden, wobei  $c$  die Indentergeometriekonstante darstellt. Für den Berkovich-Indenter berechnet sich diese Konstante aus den Geometriebeziehungen:

$$c = 3\sqrt{3} \frac{\tan 65,3^\circ}{\cos 65,3^\circ} = 27,05. \quad (17)$$

In der Praxis entsteht bei allen Messungen ein komplexes und nicht exakt lösbares Problem, denn alle Eindruckversuche enthalten neben der elastischen Deformation auch immer plastische Anteile (Elastisch-plastische Deformation). Das mögliche Materialverhalten basiert deshalb auf experimentellen Erfahrungen und der Finiten Elemente Simulation (FEM). Nach Paufler und Schulz (Paufler und Schulz 1978) ergibt sich die Gesamtverformung aus der Summe der Einzeldehnungen:

$$\varepsilon = \varepsilon_{el} + \varepsilon_{pl}. \quad (18)$$

Verwendet man diese Information für Eindruckexperimente, kommt man bei plastisch-elastischem Materialverhalten unter der Belastung zu einer Addition der plastischen und elastischen Eindringtiefen:

$$h = h_{el} + h_{pl}. \quad (19)$$

Für einen stumpfen kegelförmigen Indenter ergibt sich somit unter Berücksichtigung der Gleichungen (3–7) und (3–12) folgende Kraft-Eindringtiefen-Beziehung:

$$F = \left( \frac{1}{\sqrt{c_g E_r}} + \frac{1}{\sqrt{c_{pg}}} \right)^{-2} h^2. \quad (20)$$

Bei Eindruckexperimenten bildet sich bei der Entlastung der elastische Verformungsanteil zurück und es bleiben nur die Veränderungen des plastischen Verformungsanteils. Erste Versuche, in denen die Kraft und auch die Eindringtiefe aufgezeichnet wurden führten Tabor (Tabor 1948) und Stillwell und Tabor (Stillwell/Tabor 1961) an Metallen durch. Sie zeigten, dass der Einfluss der Plastizität auf die elastische Entlastung durch Einarbeitung der Form der gestörten Oberfläche in elastische Analysen erfolgen kann (Oliver/Pharr 1992).

Die Kontaktsteifigkeit ist ein wichtiger Parameter, der sich aus den Daten der Kraft-Eindringtiefen-Werte bei der Entlastung ergibt. Von Sneddon wurde die Gleichung (3–8) für einen elastischen Kontakt hergeleitet, allerdings ergibt sich ein Problem mit der Ermittlung der projizierten Fläche  $A_p$ . Eine Methode zur Bestimmung der Kontaktfläche wurde mithilfe der Kraft-Eindringtiefen-Kurven und der Kenntnis der Indenterformfunktion  $F_i(h)$ , welche die Querschnittsfläche des Indenters als Funktion des Abstandes von seiner Spitze (Kontakttiefe  $h_c$ ) beschreibt, zuerst von W. C. Oliver, R. Hutchings und J. B. Pethica ermittelt.

Doerner und Nix (Doerner und Nix 1986) untersuchten die Entlastungskurve unter der Annahme, dass das elastische Verhalten einem Eindruckversuch mit einem flachen Zylinder gleicht. So würde ein linearer Zusammenhang zwischen Kraft und Eindringtiefe bestehen. Allerdings konnte das nur bei der anfänglichen Entlastung nachgewiesen werden.

Genauere Untersuchungen an der Entlastungskurve zeigten, dass sich kein linearer Zusammenhang zwischen Kraft und Eindringtiefe bei amorphen und kristallinen Materialien ergibt. Daraus folgt, dass sich Kontaktfläche und Steifigkeit kontinuierlich verändern. Die elastische Eindringtiefe besteht also nicht nur aus der Deformation am Eindruckrand, sondern der gesamte Eindruck verändert sich. Somit bleibt der Öffnungswinkel des Eindrucks nicht konstant und die zur Kontaktfläche gehörende Kontakttiefe  $h_c$  enthält elastische Anteile. Oliver und Pharr geben heute in der am weitesten verbreiteten Methode eine Korrektur der Kontakttiefe an und beschreiben die Entlastungskurve mit dem Potenzansatz

$$F = K(h - h_f)^m, \quad (21)$$

wobei  $K$  eine Konstante,  $h_f$  die Tiefe des Eindrucks nach vollständiger Entlastung und  $m$  der Entlastungsexponent ist.

Die Viskoelastizität kennzeichnet die zeit-, temperatur- und frequenzabhängige Elastizität von polymeren Stoffen und Festkörpern. Die Viskoelastizität beruht dabei auf einer verzögerten Gleichgewichtseinstellung der Makromoleküle im Körper, nachdem eine äußere Kraft auf den Körper einwirkt. Für das Verformungs- und Fließverhalten von Materie für die lineare Fließei-genschaft wird von einem Newton-Element ausgegangen. Für eine lokale Belastung mit einem Indenter werden die Ansätze, wie sie Meinhard (1999) angegeben sind, verwendet:

$$\sigma = \frac{F}{ch_{ve}^2} \quad (22)$$

$$\frac{d\varepsilon}{dt} = \frac{1}{h_{ve}} \frac{dh_{ve}}{dt}. \quad (23)$$

Dabei wird mit  $h_{ve}$  der Eindringtiefenanteil angegeben, der durch Kriech- bzw. Fließprozesse entstanden ist. Das Kraft-Eindringtiefen-Verhalten mit der Viskosität lässt sich wie folgt darstellen:

$$F = c\eta h_{ve} \frac{dh_{ve}}{dt}. \quad (24)$$

In der Literatur gibt es auch andere Ansätze zur Berechnung der viskoelastischen Deformation (Oyen und Cook 2003), (Sakai und Shimizu 2002). Als Beispiel wird bei M. L. Oyen und R. L. Cook die Kraft proportional zum Quadrat der Eindringtiefe betrachtet:

$$F = \alpha_3 \eta_Q \left( \frac{dh_{ve}}{dt} \right)^2 \quad (25)$$

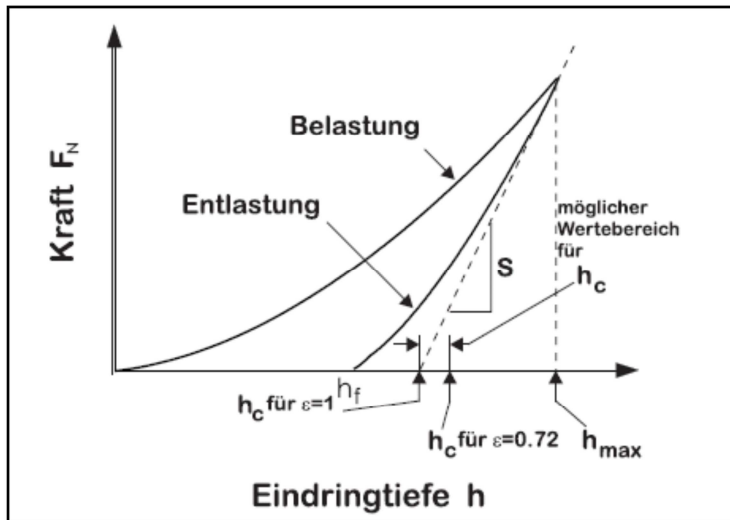
mit  $\alpha_3$  als Geometriefaktor und  $\eta_Q$  als Viskosität aus dem quadratischen Ansatz.

## 2.6.2. Bestimmung mechanischer Parameter aus Eindruckversuchen

Die bisher erläuterten theoretischen Beschreibungen dienen als Grundlage für die Bestimmung mechanischer Materialparameter aus den Experimenten mit dem Nanoindenter®II.

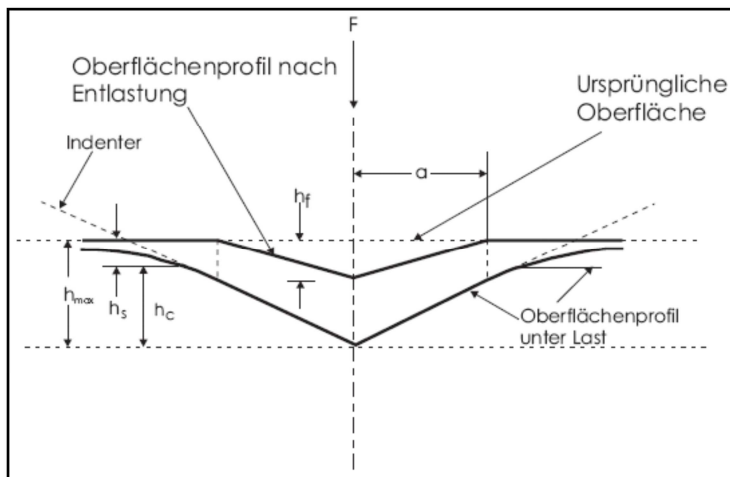
In der vorliegenden Arbeit wurde für den Schmelz wie auch für das Dentin die Messung der mechanischen Eigenschaften mittels Nanoindentierung vorgenommen. Hierbei wurden die Kraft-Eindringtiefen-Messung bzw. Universalhärtemessung angewandt. Beide beruhen auf dem Zusammenhang zwischen Indenterkraft und Eindringtiefe. Alle Daten wie Prüfkraft, Eindringtiefe und Prüfzeit werden dabei ständig erfasst.

Für alle Messungen wurde ausschließlich mit einem Berkovich-Indenter (Standard ISO 14577) als Prüfkörper gearbeitet. Am Prüfgerät kam immer der Load-Step-Typ zur Anwendung. Bei dieser Form der Anwendung wird die Kraft auf den Indenter mittels elektromagnetischer Induktion realisiert und wird so in die Probe gefahren. Während dieses Eindringvorganges werden die Kraft  $F_N$  und die Eindringtiefe  $h$  kontinuierlich gemessen. Aus diesen Messergebnissen kann eine Kurve erstellt werden, wie sie in Abbildung 15 zu sehen ist. An dieser Kurve ist zu erkennen, dass es sich um plastische und elastische Anteile handelt. Der plastische Verformungsbereich ( $h_f$ ) ergibt sich aus der Differenz zwischen maximaler Eindringtiefe ( $h_{max}$ ) und der elastischen Verformung ( $h_c$ ). Der elastische Bereich ist auch von der geometrischen Form des Indenters abhängig. Diese Form spiegelt sich in der Konstante  $\varepsilon$  wieder. Daraus ergibt sich, dass es für verschiedene Indenterformen, mit unterschiedlichen Konstanten, auch veränderte elastische Bereiche gibt (Unterschiedliche  $h_c$  in Abb. 15).



**Abb. 15: Kraft-Eindringtiefen-Diagramm**

Der Eindruckquerschnitt zeigt diese elastischen und plastischen Veränderungen auch sehr deutlich. Wie aus Abbildung 16 hervorgeht, reduziert sich die maximale Eindringtiefe  $h_{\max}$  während der Entlastung um den Betrag von  $h_c$ . Ein Resteindruck (plastische Verformung) verbleibt mit der Tiefe von  $h_s$  (Enders 2000).



**Abb. 16: Schematische Darstellung eines Eindruckquerschnitts**

Die Martens-(Universal-)Härte bezeichnet das Verhältnis von Kraft und aktuellem Oberflächenkontakt  $A_s(h)$  des Eindrucks unter Belastung. Sie ist für alle Kraft-Eindringtiefen-Paare während der Belastung bestimmbar, allerdings nur bei Paaren, bei denen die Eindringtiefe größer als 200 nm ist:

$$H_M = \frac{F}{A_s(h)}. \quad (26)$$

Die Martens-Härte ist für den Berkovich- und Vickers-Indenter definiert und nicht, wie früher bekannt, als Universalhärte. In dieser Arbeit wurde mit einem Berkovich-Indenter gearbeitet.

Aus diesem Grund werden folgend die für ihn geltenden Gleichungen angegeben. Die Gleichung für die geometrische Oberflächenkontaktfläche lautet (vereinfacht über Kontakttiefe  $h_c$ ):

$$A = 24,5h_c^2 \quad (27)$$

und für die Martens-Härte folgt daraus:

$$H_M(\text{Berkovich}) = \frac{F}{24,5h_c^2}. \quad (28)$$

Für alle durchgeführten Eindruckversuche wurde die Martens-Härte aus der maximalen Kraft und der dazugehörigen Eindringtiefe bestimmt.

Die Härte wurde bei der Nanoindentation aus Kraft pro Oberfläche bestimmt. Die Bestimmung des E-Moduls erfolgte nach der Methode von W. C. Oliver und G. M. Pharr. Hierbei werden für die Parameteranalyse die Werte der Entlastungskurve herangezogen. Ausgangspunkt für diese Methode sind die Sneddon'schen Lösungen (2.6.1.). Die grundlegende Annahme bei der Ableitung dieser Lösung besteht darin, dass die Gleichung für die Entlastung eines unendlichen Halbraumes nach rein elastischer Deformation auch für die Entlastung einer Oberfläche mit bleibendem Eindruck gilt, da hier während der Entlastung nur elastische Verformungen wirksam werden (Enders 2000).

Die Beziehung zwischen Indenterkraft  $F$  und elastischer Eindringtiefe  $h$  kann für den Berkovich-Indenter angegeben und an jedem Punkt der Entlastungskurve nach Gleichung (29) ermittelt werden:

$$F = \alpha h^m \cdot \frac{dF}{dh} m \alpha h^{m-1}. \quad (29)$$

Dabei stellen  $m$  und  $\alpha$  Materialkonstanten dar.

Die Kontaktsteifigkeit zwischen Indenter und Probe, die sich während der Entlastung kontinuierlich ändert, ist aus dem Anstieg  $S$  der Entlastungskurve (siehe Abb. 15) nach Gleichung (30) zu ermitteln:

$$S = \frac{dF}{dh_{Fmax}}. \quad (30)$$

Die Kontakttiefe  $h_c$  des Indenters in der Probe ist meist geringer als die Gesamteindringtiefe  $h_{max}$ . Dies erklärt sich aus der elastischen Eindringtiefe der Probenoberfläche  $h_s$ . Die maximale Eindringtiefe  $h_{max}$  kann nach Gleichung (31) zu jedem Zeitpunkt berechnet werden:

$$h_{max} = h_c + h_s. \quad (31)$$

Die bleibende Eindringtiefe in der Probe ist nach der Belastung weit geringer als die maximale Eindringtiefe unter Belastung. Dies liegt daran, dass sich die elastischen Verformungsanteile

zurückbilden. Die Kontakttiefe  $h_c$  wird nun für die Bestimmung der Kontaktfläche  $A$  benötigt und lässt sich nach der Gleichung (32) ermitteln:

$$h_c = h_{max} - \varepsilon \frac{F_{max}}{S}. \quad (32)$$

Dabei stellt  $\varepsilon$  eine geometrische Konstante dar, die sich aus der Form des Berkovich-Indenters ergibt ( $\varepsilon = 0,75$ ).

Es erfolgt nun die Ermittlung der Kontaktfläche  $A$  zwischen Indenter und Probe, um die mechanischen Eigenschaften bestimmen zu können. Für den Berkovich-Indenter kann diese vereinfacht über die Kontakttiefe  $h_c$  nach der Gleichung (33) berechnet werden:

$$A = 24,5h_c^2. \quad (33)$$

Da die Indenterspitze aber nie als Ideal angenommen werden kann, muss eine Funktion ermittelt werden, welche diese Diamantspitze des Indenters genauer beschreibt. Diese Funktion wird in Gleichung (34) veranschaulicht, wobei der Koeffizient  $C_i$  experimentell für jede Indenterspitze ermittelt wird:

$$A = 24,5h_c^2 + \sum_0^7 C_i h_c^{\frac{1}{2i}}. \quad (34)$$

Die Härte kann nun aus der Gleichung (35) bestimmt werden:

$$H = \frac{F}{A}. \quad (35)$$

Der direkt aus den Informationen von Kraft und Eindringtiefe bestimmte Elastizitätsmodul kann nur als reduzierter Elastizitätsmodul  $E_r$  betrachtet werden, da er durch den E-Modul von der Probe und vom Indenter bestimmt ist. Der reduzierte E-Modul kann nach der Gleichung (36) ermittelt werden:

$$S = \frac{2}{\sqrt{\pi}} E_r \sqrt{A} \rightarrow E_r = \frac{2}{\sqrt{\pi}} S \sqrt{A}. \quad (36)$$

Der eigentliche Elastizitätsmodul  $E_s$  der Probe kann nun aus der Gleichung (37):

$$\frac{1}{E_r} = \left[ \frac{1-v_s^2}{E_s} + \frac{1-v_i^2}{E_i} \right] \quad (37)$$

bestimmt werden.

Die mechanischen Eigenschaften Härte und Elastizitätsmodul für einen Probenkörper bestimmen sich somit bei der Nanoindentation aus den Gleichungen (35) und (37).



## 3. Material und Methoden

### 3.1. Art der Proben

Als Proben für diese Arbeit wurden ausschließlich impaktierte Weisheitszähne, die operativ entfernt wurden, benutzt. Da impaktierte Zähne noch vollständig von Knochen umgeben sind, waren sie noch nie im Kontakt mit dem Milieu der Mundhöhle. Dies garantiert, dass die Zähne für diese Untersuchungen ihre mechanischen Eigenschaften nicht aufgrund von äußeren Einflüssen verändert haben konnten.

Da auch der Reifegrad der Zähne Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften hat, wurden nur ausgereifte Zähne verwendet. Um dieses Kriterium zu erfüllen, wurden ausschließlich Zähne von Patienten, die das 25. Lebensjahr vollendet hatten, verwendet. Ein weiterer wichtiger Indikator für dieses Kriterium war der Abschluss des Wurzelwachstums sowie die Größe des Foramen apikale. Nur bei vollständiger Wurzel und engem Foramen apikale wurden die Zähne als Proben benutzt.

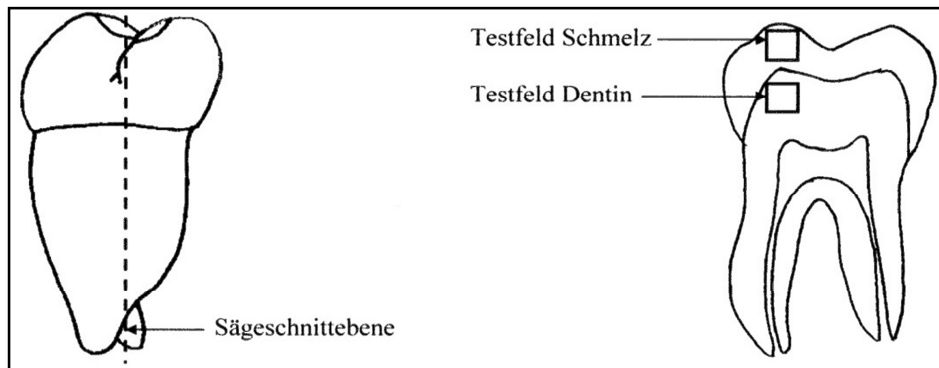
### 3.2. Vorbereitung der Proben

Als Erstes wurden die Proben mit einer Bandsäge unter ständiger Wasserkühlung mit einem diamantbesetzten Sägeblatt (Exakt Bandsäge, Norderstedt, Deutschland) in zwei Hälften geteilt (Abb. 17).

Danach wurden die Proben mit einer Schleifmaschine (Exakt Schleifmaschine, Norderstedt, Deutschland) und Siliziumkarbid-Schleifpapier angeschliffen. Die Körnung des Schleifpapiers wurde in abnehmender Rauigkeit benutzt, beginnend mit 800 über 1200, 2400 bis hin zu einer 4000er Körnung. Der gesamte Schleifvorgang wurde unter ständiger Wasserkühlung durchgeführt.

Abschließend wurden die Proben mit einem Logitec Poliergerät und Polierscheiben (MD-Plan, Struers) sowie Diamantspray (PD Spray, Struers, 1 $\mu$ m und 0,25 $\mu$ m) unter Ethylenglykolkühlung (Merck) poliert. Nach der Politur erfolgte die gründliche Reinigung der Proben, um alle Reste des Poliervorgangs zu beseitigen. Zur besseren Handhabung und zur sicheren Fixierung der Proben wurden diese mit Acrylatkleber auf kleine Kunststoff-Probenträger aufgebracht. Auf allen Proben wurde mit einem wasserfesten Marker (Edding) ein 4 mm<sup>2</sup> großer Bereich auf dem Dentin sowie auf dem Schmelz markiert (Abb. 17). Dieser Bereich diente bei allen Messungen als Messfeld (ROI). Nach Abschluss der Probenaufbereitung wurden alle Proben in physiologi-

scher Natriumchloridlösung zwischengelagert, um eine Austrocknung zu vermeiden. Aus der Literatur ist zu entnehmen, dass sich die mechanischen Eigenschaften während dieser kurzen Lagerungsperiode in physiologischer Natriumchloridlösung nicht verändern (Retief et al. 1989, Fränzel et al. 2006). Dann erfolgte eine Nullmessung zur Bestimmung der Ausgangswerte, d. h. bei allen Proben wurden vor der Lagerung im jeweiligen Lagermedium die mechanischen Eigenschaften vom Schmelz und Dentin mittels Nanoindentierung bestimmt. Nach dieser Messung wurden alle Proben im entsprechenden Lagermedium aufbewahrt.



**Abb. 17: Schematische Darstellung der Probenaufbereitung**

### 3.3. Lagerung der Proben

Jede Probe wurde im entsprechenden Lagermedium über 50 Tage bei durchschnittlich 6 °C im Kühlschrank gelagert. Um Schimmelbefall zu vermeiden, wurde das entsprechende Lagermedium täglich gewechselt. Die Proben wurden dem entsprechenden Lagermedium und der Kühlung nur zu Messzwecken entnommen.

#### 3.3.1. Physiologische Natriumchloridlösung

Für die Lagerung der Proben wurde sterile physiologische 0,9%ige Kochsalzlösung der Firma Braun verwendet. Der pH-Wert dieser Lösung lag bei 7,3 und somit im neutralen Bereich. Die Bestimmung des pH-Werts war wichtig, da bei eigenen Messungen festgestellt wurde, dass verschiedene physiologische Natriumchloridlösungen starke pH-Wert-Schwankungen aufweisen können.

### 3.3.2. Kalziumchloridlösung

Die 1996 von Gustafson verwendete Kalziumchloridlösung, die dort zur Knochenlagerung erfolgreich eingesetzt wurde, kam in der gleichen Zusammensetzung zum Einsatz: 57,5 mg  $\text{CaCl}_2$  wurden auf 1000 ml einer 0,9%igen Natriumchloridlösung gelöst. Der pH-Wert der Lösung lag nach der Einstellung des Gleichgewichts bei 5,5, also einem leicht sauren Wert.

### 3.3.3. Hanks buffered salt solution (HBSS)

Die Hank'sche Lösung wurde von der Firma Invitrogen in sterilen Flaschen geliefert. Die verwendete Zusammensetzung entsprach der Hank'schen Lösung, die auch Habelitz (2002) erfolgreich verwendete und die schon 1949 von Hanks beschrieben wurde:

**Tab. 2: Chemische Zusammensetzung von Hanks buffered salt solution**

NaCl	8000 mg/l
Glucose	1000 mg/l
KCl	400 mg/l
$\text{NaHCO}_3$	350 mg/l
$\text{CaCl}_2$	140 mg/l
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	90 mg/l
$\text{MgCl}_2 \times 7\text{H}_2\text{O}$	100 mg/l
$\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$	100 mg/l
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	60 mg/l

### 3.3.4. 0,1%ige Thymollösung

Thymol, ein Monoterpen mit der Summenformel  $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{O}$ , ist Bestandteil der ätherischen Öle aus Thymian, Oregano und Bohnenkraut. Durch seine stark desinfizierende Wirkung ist es ein häufiger Zusatz in Mundwässern und Zahnpasten. Diese desinfizierenden Eigenschaften werden auch bei der Lagerung von humanen dentalen Hartgeweben genutzt. Thymol kann dementsprechend zur Verwendung kommenden Lagermedium als Bakterieninhibitor zugesetzt werden. In dieser Untersuchung wurde eine 0,1%ige Thymollösung verwendet. Die Herstellung erfolgte durch die Universitätsapotheke des Universitätsklinikums Halle.

### 3.3.5. pH-neutraler Speichel nach Fusayama

Als weiteres Medium wurde Fusayama-Speichel mit neutralem pH-Wert verwendet. Die Herstellung erfolgte durch die Universitätsapotheke. Verwendet wurde folgende Zusammensetzung:

**Tab. 3: Chemische Zusammensetzung von Fusayama-Speichel**

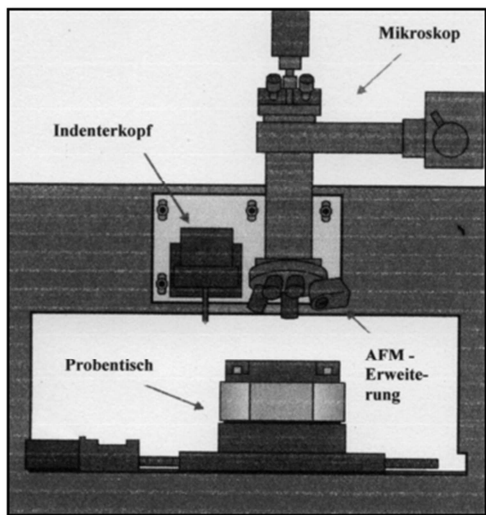
1000 ml enthalten in gereinigtem Wasser:	
Natriumsulfid	0,0016 g
Magnesiumpyrophosphat	0,0016 g
Mucin	4,0 g
Harnstoff	1,0 g
Dinatriumhydrogenphosphat-Dihydrat	0,6 g
Kalziumchlorid	0,6 g
Kaliumchlorid	0,4 g
Natriumchlorid	0,4 g

## 3.4. Messtechnik

### 3.4.1. Aufbau und Funktionsweise des Nanoindenter<sup>®</sup> II

Die Messung der lokalen mechanischen Eigenschaften mittels Nanoindentation ist eine anerkannte Technik (Cuy et al. 2002, Habelitz et al. 2002, Kinney et al. 1996, Rho et al. 1997, Zysset et al. 1999, Willems et al. 1993). Für alle Versuchsreihen stand der Nanoindenter<sup>®</sup> II der Firma MTS System Corporation (Nano Instruments Innovation Center, Oak Ridge, Tennessee) zur Verfügung. Der Nanoindenter<sup>®</sup> II ist eine mechanische Mikrosonde, die es ermöglicht, Eindrucksexperimente im Nanobereich durchzuführen. In dieser Arbeit lagen die Eindringtiefen zwischen 60 nm für den Schmelz bis hin zu 600 nm für Dentin, welches schon über längere Zeit gelagert wurde. Der Nanoindenter nutzt induktive und kapazitive Messtechnik für die Bestimmung der mechanischen Eigenschaften von Festkörpern und Verbundsystemen in oberflächennahen Bereichen. Die Möglichkeiten der Messungen mit diesem Gerät beziehen sich auf statische Eindruckversuche und dynamische Ritzversuche, mit kontinuierlichen Eindringtiefen und Tangentialkraftmessung. Diese Versuche erfolgten alle kraftgesteuert. Damit arbeitet der Nanoindenter<sup>®</sup> II verschieden im Vergleich zu den Geräten, die mit einem geschlossenen Kraftkreis arbeiten, bei denen der Eindringvorgang über die Probenbewegung realisiert wird.

Der Nanoindenter besteht im Prinzip aus drei Hauptkomponenten: dem Indenterkopf, dem Mikroskop und dem Präzisionsprobentisch. Diese Hauptelemente sind in Abbildung 18 dargestellt.



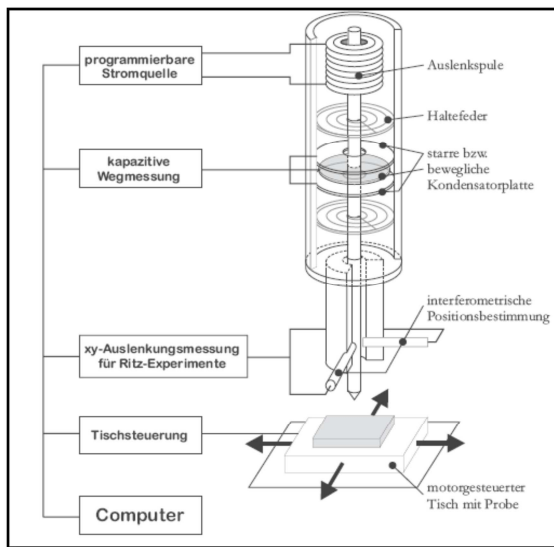
**Abb. 18: Schematische Darstellung Nanoindenter® II**

Das Mikroskop dient der Positionierung der Eindrücke auf der Probenoberfläche. Durch das Mikroskop ist nach Abschluss der Messungen eine Sichtkontrolle der Eindrücke auf der Probe möglich. Eine CCD-Kamera leitet das Bild auf einen Computerbildschirm um, was der einfacheren Kontrolle der Positionierung dient. Die Fokussierung erfolgt dabei in der z-Achse über die Bewegung des Probentisches.

Der Probentisch ist in der x-, y- und z-Achse verstellbar. Die Proben werden für jede Messung fest auf dem Probentisch montiert. Die Probenzustellung mit dem Präzisionstisch erfolgt mit einer Genauigkeit von ca.  $\pm 0,5 \mu\text{m}$ . Somit ist ein präzises Anfahren und Indentieren der vorher ausgewählten Messstellen möglich.

Eine weitere Hauptkomponente, der Indenterkopf, ist schematisch in Abbildung 19 dargestellt. Der Indenterkopf besteht aus einer Art Stab-Röhren-Kombination. Ein 3-Platten-Kondensator ist in Höhe der Mitte am äußeren Rohr angebracht. Diese Kondensatoranordnung stellt das Weg-Messsystem für die Normalauslenkung des Indenters dar. Die maximale Auslenkung ist auf  $40 \mu\text{m}$  in z-Richtung beschränkt. Das Kraftübertragungselement ist der Innenstab. Der Innenstab ist wie ein Doppelrohr aufgebaut, somit stehen Kraft- und Weg-Messeinrichtung nicht in direkter Verbindung. Der austauschbare Diamant, der Indenter, befindet sich an der Unterseite des Innenstabs, im Fall dieser Messungen ein Berkovich Indenter. Das obere Ende des Doppelrohres bildet einen Eisenkern, der von einer Spule umgeben ist. Diese Spule wird von einer regelbaren Stromquelle gespeist. Das dabei entstehende Magnetfeld bewirkt über einen Eisenkern eine definierte Normalkraft auf den Indenter. Der Spannungsabfall über einen der Spule nachgeschalteten Widerstand dient der Bestimmung der Normalkraft. Die relative Verschiebung der Mittelplatte gegen die Außenplatte des Kondensators wird aus der Symmetrierverschiebung

ermittelt und entsprechend der Kalibrierungsdaten in die Eindringtiefe umgerechnet. Die theoretische Auflösung der Kraft wird mit  $\pm 7$  nN angegeben. Die theoretische Auflösung der Wegmessung wird mit 0,04 nm angegeben, wobei diese durch die thermische Drift schlechter einzuschätzen ist. Die computergesteuerten Messprozesse der Kraft- und Wegmessungen werden mit einer Zeitauflösung von maximal sechs Werten pro Sekunde aufgezeichnet. Diese Rohdaten werden mit den Kalibrierungsdaten des Gerätes in Kraft und Eindringtiefe umgerechnet.



**Abb. 19: Schematischer Aufbau des Indenterkopfes**

### 3.4.2. Messroutine

Um die Veränderungen der mechanischen Eigenschaften während der Lagerungsperiode im entsprechenden Medium kontrollieren zu können, wurde für jede Probe eine Eingangsmessung (Referenzmessung) durchgeführt. Die Eingangsmessung wurde so zeitnah wie möglich nach der Probenpräparation durchgeführt (max. 12 Stunden). Die Eingangsmessung diente zur Erfassung der mechanischen Eigenschaften Härte und E-Modul von Schmelz und Dentin vor dem Beginn der Lagerungsperiode im entsprechenden Lagermedium. Für jedes Lagermedium wurden mindestens je neun Proben untersucht. Am 1., 3., 5., 7., 10., 20., 30. und 50. Tag erfolgten für jede Probe weitere Messungen, um die Veränderungen über einen längeren Zeitraum dokumentieren zu können. Für die Messungen wurden die jeweiligen Proben den Lagermedien entnommen und auf speziellen Probenhaltern des Nanoindenter®II fixiert. Um eine Vergleichbarkeit der Messwerte bei jeder einzelnen Probe zu sichern, wurde immer im Bereich der ROI (Abb. 17) gemessen. Nach dem Einbau der Probe in das Nanoindenter®II wurde der gesamte Versuchsablauf rechnergesteuert durchgeführt. Die Kalibrierung des Nanoindenter®II erfolgte auf den lastgesteuerten Modus mit einer Maximallast von 1 mN. In den für die Messungen relevanten Berei-

chen (ROI) wurden unter Sicht durch das Mikroskop jeweils 9 individuelle Messpunkte im Schmelz wie auch im Dentin für jede Probe festgelegt. Pro Nacht wurden maximal 3 Proben untersucht, um eine zu lange Verweildauer im Nanoindenter und damit eine Austrocknung der Proben zu vermeiden.

Der Messvorgang vollzieht sich vollautomatisch in immer der gleichen Reihenfolge für jeden Eindruck. Dabei ist der Ablauf in einzelne Segmente unterteilt, wobei das erste und das letzte immer das Annäherungs- bzw. das Entlastungssegment darstellte. Zwischen diesen beiden Segmenten findet die eigentliche Messung statt. Die Messungen bestehen aus Be- und Entlastungssegmenten. Der Probenstisch wird zu Beginn jeder Messung auf den ersten Eindruck, dem Nullpunkt, gefahren. Bevor jedoch der erste Eindruck gesetzt wird, wird eine Oberflächenfindung in einem benutzerdefiniertem Abstand von 20 µm durchgeführt. Dies ist wichtig zur genauen Findung des Kontaktpunktes zwischen Indenter und Probe. Ist der erste Kontaktpunkt ermittelt, werden die einzelnen Segmente der Messung für jeden Messpunkt abgearbeitet. Die Eindruckexperimente dieser Arbeit bestanden immer aus den folgenden Segmenten:

#### Segment 1 – Annäherung:

Dieses Segment dient der Bestimmung des Kraft-Weg-Nullpunktes. Der Indenter wird hierbei kraftgesteuert mit einer Geschwindigkeit von 10 nm/s auf die Probe abgesenkt. Die hierbei verwendete Kraft und die Auslenkung wird kontinuierlich gemessen und die daraus entstehende Steifigkeit ermittelt. Solange der Indenter keinen Kontakt zur Probenoberfläche hat, muss dieser Wert konstant bleiben, da der Indenter nur gegen die Federkraft des Systems arbeitet (50 N/m). Der Kontakt zwischen Indenter und Probe äußert sich in einem sprunghaften Anstieg der Steifigkeit. Ist das Dreifache des Ausgangswertes der Steifigkeit erreicht, wird das nächste Segment gestartet.

#### Segment 2 – Belastung:

Der Eindruckversuch zur Bestimmung von Härte und Elastizitätsmodul bestand aus einem Belastungsvorgang mit kontinuierlicher Kraftzunahme von  $\frac{F_{Nmax}}{100} \left( \frac{Nm}{s} \right)$ . Alle Messungen wurden bis zu einer Maximalkraft von 1 mN durchgeführt.

#### Segment 3 – Entlastung:

Anschließend wurde mit der gleichen Rate bis zu einer Kraft von  $F_{N95} = 0,05 F_{Nmax}$  (entspricht 5 % der Maximalkraft) entlastet.

Segment 4 – Haltesegment:

Mit 5 % der Maximalkraft wird die Kraft auf die Probe für 100 s konstant gehalten. Dieses Segment dient dem Ausgleich der thermischen Drift. Es wird davon ausgegangen, dass die vollständige Wegänderung während der Zeit durch die thermische Ausdehnung der Apparatur verursacht wird. Bei der Auswertung werden alle Messwerte um diesen Wert korrigiert.

Segment 5 – vollständige Entlastung:

Die Probe wird vollständig entlastet.

Immer nach dem letzten Segment jeder Indentation bewegt sich der Indenter auf eine definierte Entfernung von der Probenoberfläche zurück. Nun wird die nächste einprogrammierte Eindruckposition angefahren und der Ablauf der einzelnen Segmente startet neu. Bei Veränderungen der Oberfläche, z. B. Schmelz zum Dentin, oder beim Anfahren einer neuen Probe wird eine neue Oberflächenfindung durchgeführt. Sind alle programmierten Eindrücke abgearbeitet, fährt der Probentisch in Richtung Mikroskop zurück und bleibt über dem letzten Eindruck stehen. Erst nach Abschluss der Messung ist die Auswertung der Ergebnisse nach der in 2.6.2. beschriebenen Methode nach Oliver und Pharr möglich.

### 3.5. Auswertung der Messergebnisse

Die Auswertung erfolgte anhand der Messwerte mit dem Programm Origin Pro 7.5 der Firma OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA. Origin Pro 7.5 ist ein wissenschaftliches Programm zur Auswertung, Beurteilung und grafischen Darstellung von Dateien. Mit diesem Programm wurden aus den Messdaten alle Diagramme und Tabellen für die Auswertung erstellt, und auch der t-Test für die Sicherung der Signifikanz aller Messreihen wurde mit diesem Programm durchgeführt.

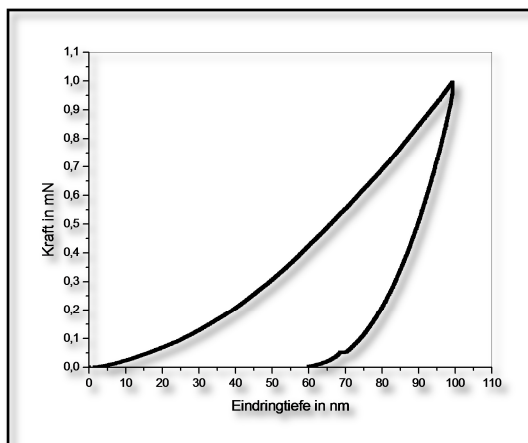


## 4. Ergebnisse

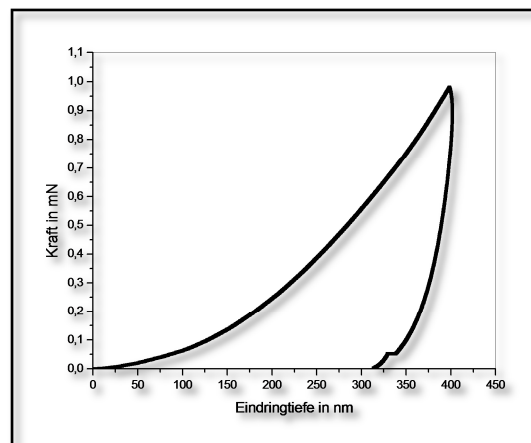
### 4.1. Kraft-Eindringtiefen-Diagramme

Die vom Nanoindenter<sup>®</sup> II erstellten Kraft-Eindringtiefen-Diagramme sind die Grundlage für die Berechnung und Auswertung der mechanischen Eigenschaften Härte und Elastizitätsmodul.

Der Vergleich einer Einzelmessung für Schmelz und Dentin zeigt die deutlichen Materialunterschiede beider Zahnhartgewebe. Ein Beispiel für eine ideale Messkurve für den Schmelz bei einer Einzelmessung ist in Abbildung 20 dargestellt. Aus dieser Abbildung wird ersichtlich, dass mit zunehmender Kraft die Eindringtiefe steigt. Bei der Maximalkraft von 1 mN ist eine Eindringtiefe im Schmelz von 98 nm zu verzeichnen. Bei der Entlastung bis zu einer Kraft von 5 % der Maximalkraft sinkt die Eindringtiefe auf 70–68 nm ab, dies zeigt schon die elastischen Anteile der Verformung. Es schließt sich das Haltesegment für die Korrektur der thermischen Drift an (siehe 3.4.2.). Bei vollständiger Entlastung beträgt der Wert für die Eindringtiefe im Schmelz 60 nm.



**Abb. 20: Einzelmessung im Schmelz**



**Abb. 21: Einzelmessung im Dentin**

Abbildung 21 zeigt eine ideale Messkurve für eine Einzelmessung im Dentin. Auch bei dieser Messkurve steigt mit zunehmender Kraft die Eindringtiefe an, allerdings stärker als im Schmelz. Bei der maximalen Belastung, die auch hier 1 mN beträgt, ist eine Eindringtiefe von 400 nm zu verzeichnen, auch dieser Wert liegt deutlich höher als der für Schmelz. Auch für die Messung im Dentin ist die Bestimmung der thermischen Drift aus dem Haltesegment bei einer Kraft von 5 % der Maximalkraft zu bestimmen. In diesem Beispiel schwankt die Eindringtiefe für diesen Teil der Messung zwischen 325 und ca. 340 nm. Aus dieser Schwankung wird die thermische Drift errechnet. Bei vollständiger Entlastung der Dentinoberfläche beträgt die Eindringtiefe ca. 310 nm, was auch deutlich höher ist als im Schmelz. Der Vergleich dieser beiden Einzelmess-

sungen zeigt, dass bei diesem Beispiel die Eindringtiefe im Dentin etwa fünfmal größer ist als die im Schmelz. Dies lässt auf eine weichere Struktur des Dentins und härtere des Schmelzes schließen.

Dieses Verhalten lässt sich mit den strukturellen Unterschieden beider Zahnhartgewebe erklären. Zahnschmelz besteht zu 95 Gew.-% aus anorganischen Verbindungen. Die Schmelzprismen bilden eine dichte und kompakte Anordnung. Dentin besteht nur zu 70 Gew.-% aus anorganischen Verbindungen. Die organischen Substanzen bestehen fast ausschließlich aus Kollagen. Diese Zusammensetzung verleiht dem Dentin elastischere Eigenschaften, macht es aber auch weicher im Vergleich zum Schmelz (siehe 2.2.).

Die mechanischen Eigenschaften, die sich anhand dieser Messungen ergeben, zeigen für Schmelz höhere Werte für die Härte sowie für den E-Modul im Vergleich zum Dentin. Dieses Verhalten entspricht der Zusammensetzung beider Zahnhartgewebe. Dentin ist elastischer als Schmelz, dafür aber auch weicher. Als Beispiel: Bei den für diese Arbeit durchgeführten Messungen lagen die durchschnittlichen Werte für die Härte des Schmelzes bei der Referenzmessung um 4 GPa und die für Dentin um 0,5 GPa. Der Elastizitätsmodul vom Schmelz lag bei der Nullmessung durchschnittlich um 110 GPa und der vom Dentin um 19 GPa.

## 4.2. Grundlagen zu den Ergebnissen

Bei allen Diagrammen der Auswertung wurden die Werte von Härte und Elastizitätsmodul immer in relativen Einheiten angegeben. Der Begründung dafür liegt in der Tatsache, dass jede Probe etwas unterschiedliche Ausgangswerte (Referenzmessung) hatte. Zum Beispiel variierte der E-Modul vom Schmelz bei der Referenzmessung zwischen 90 und 130 GPa, die Härte zwischen 3 und 4,5 GPa. Im Dentin lag der E-Modul zwischen 17 und 25 GPa, die Härte zwischen 0,5 und 1 GPa. Diese unterschiedlichen Referenzdaten ergeben sich daher, dass jede Probe von einem anderen Spender stammt. Jede Probe ist somit individuellen Schwankungen des Spenders unterworfen, was diese geringen Unterschiede in den Referenzmessungen der mechanischen Eigenschaften zur Folge hat. Die Angabe in relativen Einheiten erlaubt eine bessere Vergleichbarkeit, da die Individualität jeder Einzelprobe so reduziert wird.

Trotz der Angabe in relativen Einheiten entstehen in den Diagrammen der Auswertung immer Fehlerbalken. Diese resultieren daraus, dass die Einzelproben nie zu einhundert Prozent das gleiche Verhalten aufwiesen. Diese Schwankungen ergeben sich durch die Messtechnik, die individuelle Streuung und auch verschiedene Umwelteinflüsse. Möglich sind aber auch individuelle Einflüsse der Probe auf die Messung wie z. B. das bei der Messung einer Einzelprobe an

einem bestimmten Messtag, im Dentin, Messpunkte benutzt wurden, unter denen ein Dentinkanälchen verlief. Die Folge ist, dass der Indenter in das Kanälchen einbricht und es so zu veränderten Werten für die mechanischen Eigenschaften für diesen Messpunkt kommt. In der Summe verändern diese Einzelwerte für die Probe den Durchschnitt der ganzen Probe. Im Schmelz besteht die Möglichkeit, dass der Indenter auf schlechter mineralisierte Bereiche trifft, die sich optisch nicht von den normal mineralisierten Bereichen unterscheiden. Auch das führt zu einer Veränderung des Durchschnittswertes für die Probe.

Aus diesen Gründen wurden für jedes Lagermedium mindestens 9 Proben verwendet, um eine statistisch sichere Aussage zu erhalten. An jedem Messtag wurden für Schmelz und Dentin jeweils 9 Eindrücke erzeugt. Daraus ergibt sich, dass an jedem Messtag jeweils mindestens 81 Eindrücke für Schmelz und Dentin erstellt wurden.

Diese Menge an Daten reduzierte die Schwankungen, aber deren vollständige Beseitigung ist nicht möglich. Das spiegelt sich somit in den Fehlerbalken der Diagramme wieder.

### 4.3. Ergebnisse für die Lagerung in physiologischer Natriumchloridlösung

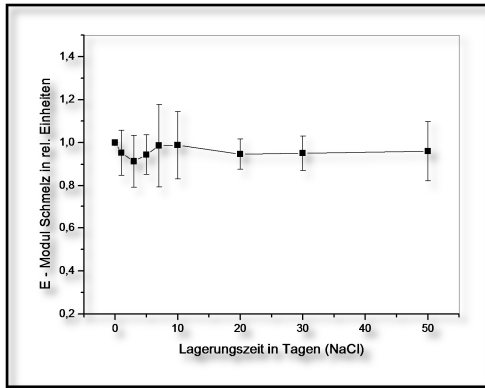
#### 4.3.1. Ergebnisse für den Schmelz

Bei der Lagerung in physiologischer Natriumchloridlösung wurden über den gesamten Lagerungszeitraum von 50 Tagen keine Veränderungen der mechanischen Eigenschaften festgestellt.

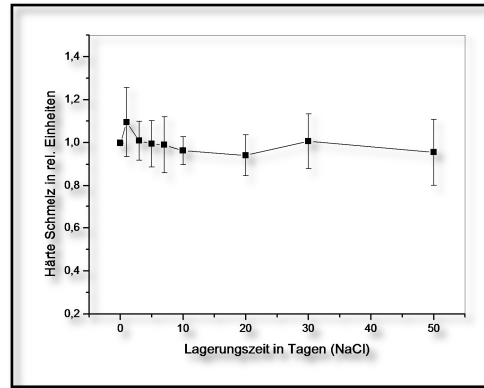
Die Abbildungen 22 und 23 zeigen die mechanischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der Lagerungszeit. Die genauen Werte können auch der Tabelle 4 entnommen werden, hier sind auch die Ausgangsdaten (Referenzmessung) in realen Werten dargestellt. Hieraus wird ersichtlich, dass der Elastizitätsmodul vom Schmelz um maximal 9 % von den Ausgangswerten abweicht. Die Härte variiert im Schmelz um maximal 6 %. Nach der kompletten Lagerungszeit hat der Elastizitätsmodul um 4 % und die Härte um 4,5 % abgenommen. Zur Sicherung der Signifikanz wurde für alle Messwerte der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 durchgeführt. Hierbei wurden für die mechanischen Eigenschaften vom Schmelz über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in physiologischer Natriumchloridlösung keine signifikanten Änderungen zu den Ausgangsdaten festgestellt. Der p-Wert für die Härte lag bei 0,45 und für den E-Modul bei 0,44. Bei der Auswertung der Oberflächeneigenschaften über den gesamten Lagerungszeitraum konnten im Schmelz keine Veränderungen festgestellt werden. Abbildung 24 zeigt die

Oberflächenbeschaffenheit einer Probe an den Messtagen 10 und 50 sowie am Tag der Referenzmessung in der ROI.

Somit korrelieren mechanische und optische Eigenschaften für den Zahnschmelz bei einer Lagerung über 50 Tage in physiologischer Natriumchloridlösung, sie zeigen keinerlei Veränderungen.



**Abb. 22: Änderung des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**



**Abb. 23: Änderung der Härte des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**

**Tab. 4: Ergebnisse aus den Messungen für Schmelz in physiologischer Natriumchloridlösung**

Messtag	E-Modul des Schmelzes in rel. Einheiten	Härte des Schmelzes in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	0,999
<b>1</b>	0,952	1,095
<b>3</b>	0,913	1,009
<b>5</b>	0,944	0,995
<b>7</b>	0,986	0,990
<b>10</b>	0,988	0,963
<b>20</b>	0,946	0,941
<b>30</b>	0,950	1,007
<b>50</b>	0,960	0,955
	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>
<b>0 (reale Werte)</b>	115,7	4,1



**Abb. 24:** Oberflächen vom Schmelz an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)

#### 4.3.2. Ergebnisse für das Dentin

Dentin verhält sich bei der Lagerung in 0,9%iger physiologischer Natriumchloridlösung wie der Schmelz. Die mechanischen Eigenschaften zeigen über den gesamten Lagerungszeitraum keine signifikanten Veränderungen.

Die Abbildungen 25 und 26 sowie Tabelle 5 zeigen die einzelnen Messwerte der mechanischen Eigenschaften E-Modul und Härte zu den jeweiligen Messtagen.

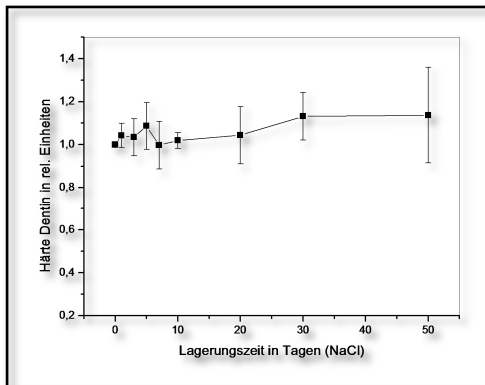
Hieraus geht hervor, dass der E-Modul vom Dentin maximal um 8,7 % am 7. Messtag abfällt und am Ende der Messungen mit ca. 2 % Abweichung vom Startwert endet. Die Härte schwankt konstant um ca.  $\pm 1$  % bis zum Messtag 30. Am 30. und 50. Messtag steigt die Härte um 13 % im Vergleich zum Ausgangswert. Über die gesamte Lagerungszeit gesehen, ändern sich die mechanischen Eigenschaften vom Dentin nicht signifikant, was der t-Test mit einem Signifikanzlevel mit 0,05 nachwies. Der p-Wert lag für die Dentinhärte bei 0,12 und der des E-Moduls bei 0,14.

Die Auswertung der Oberflächeneigenschaften ergab beim Dentin die gleichen Ergebnisse wie im Schmelz über den gesamten Lagerungszeitraum. Die Abbildung 27 zeigt die Dentinoberfläche am Tag der Referenzmessung sowie an den Messtagen 10 und 50. Aus dieser Abbildung wird ersichtlich, dass sich die Dentinoberfläche nicht veränderte.

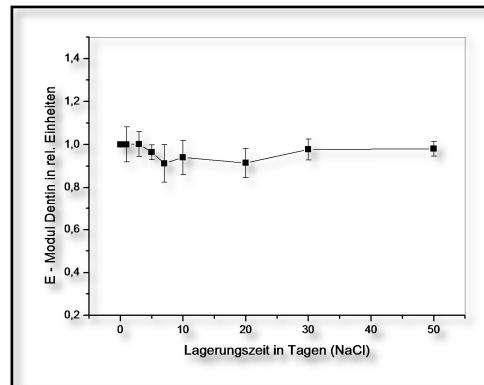
Somit korrelieren mechanische und optische Eigenschaften für das Dentin bei einer Lagerung über 50 Tage in 0,9%iger physiologischer Natriumchloridlösung, sie zeigen keine Veränderungen.

In Abbildung 27b zeigt sich eine Zunahme der Dentinkanälchen im Vergleich zu den Abbildungen 27a und 27c. Dieser Sachverhalt lässt sich damit erklären, dass selbst im kleinen Bereich der ROI die Dichte der Dentinkanälchen variiert. Bei Abbildung 27b wurde somit ein etwas

anderer Bereiche der ROI aufgenommen. Aber trotz der zahlreich vorhandenen Kanälchen ist ersichtlich, dass die Oberfläche keine Veränderung aufweist.



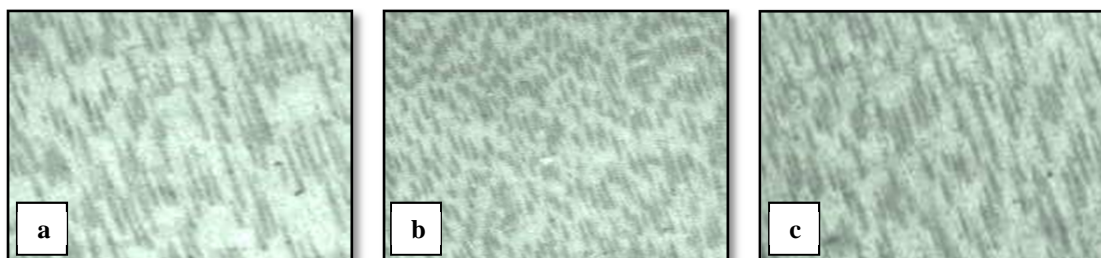
**Abb. 25: Änderung des E-Moduls von Dentin über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**



**Abb. 26: Änderung der Härte des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**

**Tab. 5: Ergebnisse aus den Messungen für Dentin in physiologischer Natriumchloridlösung**

Messtag	E-Modul des Dentins in rel. Einheiten	Härte des Dentins in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	1,001	1,043
<b>3</b>	1,001	1,035
<b>5</b>	0,965	1,087
<b>7</b>	0,913	0,998
<b>10</b>	0,940	1,019
<b>20</b>	0,915	1,044
<b>30</b>	0,977	1,132
<b>50</b>	0,980	1,137
	E-Modul Dentin in GPa	E-Modul Dentin in GPa
<b>0 (reale Werte)</b>	21,4	0,57



**Abb. 27: Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)**

## 4.4. Ergebnisse für die Lagerung in Kalziumchloridlösung

### 4.4.1. Ergebnisse für den Schmelz

Bei der Lagerung in Kalziumchlorid über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen kommt es im Zahnschmelz zu gravierenden Veränderungen der mechanischen Eigenschaften.

Die Abbildungen 28 und 29 zeigen die Entwicklung des E-Moduls und der Härte über die Lagerungszeit von 50 Tagen. Aus Tabelle 6 sind die genauen relativen Werte der mechanischen Eigenschaften sowie die realen Anfangswerte zu entnehmen.

Aus der Tabelle und den Abbildungen geht hervor, dass der Elastizitätsmodul vom Zahnschmelz schon nach den 1. Lagerungstag um 15 % gesunken ist. Dieser Trend setzt sich bis zum Ende des Messintervalls fort. Am 5. Tag der Lagerung ist der E-Modul bereits um weitere 15 % auf ca. 70 % des Ausgangswertes abgesunken. Nach 10 Lagerungstagen ist der E-Modul um 40 % abgesunken. Am letzten Tag der Lagerung ist der E-Modul auf 49 % des Ausgangswertes abgesunken. Es zeigt sich aus diesen Werten, dass der größte Teil des E-Moduls in den ersten 10 Tagen verloren geht (40 %). In den weiteren 40 Tagen der Lagerung ist diese Abnahme nicht mehr ganz so drastisch (12 %).

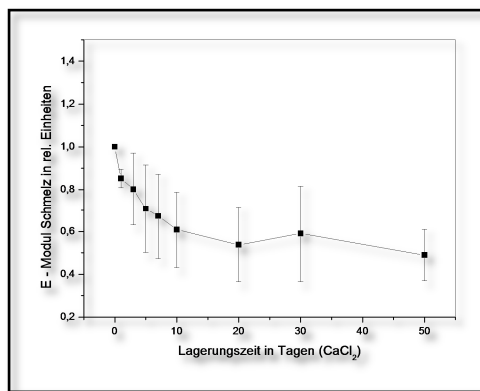
Die Härte zeigt ein ähnliches Verhalten, allerdings ist bei der Härte nach einem Tag der Lagerung noch kein signifikanter Unterschied festzustellen. Das ändert sich aber schon ab dem dritten Lagerungstag, denn bis dahin ist ein Verlust von 18 % im Vergleich zum Ausgangswert zu verzeichnen. Am 7. Tag der Lagerung hat sich diese Abnahme auf 39 % schon verdoppelt. Bis zum Ende der Messung fällt die Härte sogar noch auf 42 % des Ausgangswertes ab. Die Härte zeigt in ihrer Abnahme ein etwas anderes Verhalten als der E-Modul vom Schmelz. Sie sinkt mehr linear, das heißt, dass die Abnahme immer in etwa konstant bleibt.

Trotz dieser aussagekräftigen Werte wurde auch für diese Messungen von Härte und E-Modul am Schmelz der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 durchgeführt. Der p-Wert für die Härte und den E-Modul lag bei 0,00. Es konnte somit zweifelsfrei eine signifikante Änderung der Werte von Härte und E-Modul, ausgehend von denen der Referenzmessung, über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen festgestellt werden.

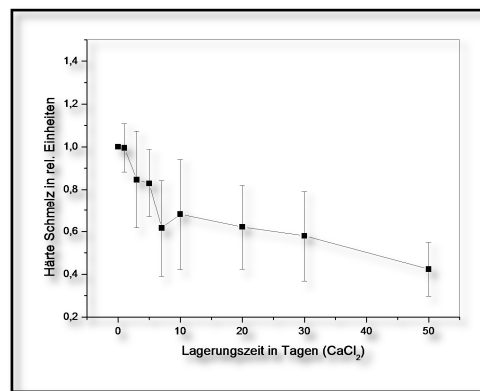
Bei der Auswertung der Oberflächenbeschaffenheit anhand der Fotodokumentation konnten auch gravierende Veränderungen in der Oberflächenstruktur festgestellt werden. Abbildung 30 zeigt die Schmelzoberfläche am Tag der Referenzmessung sowie an den Messtagen 10 und 50. Am 10. Tag sind auf dem Bild (Abb. 30b) nur leichte Veränderungen im rechten unteren Bildbereich zu sehen. Im Bild sieht diese Veränderung nur wie eine etwas dunklere Struktur aus.

Diese Veränderungen waren unter dem Mikroskop des Nanoindenter® II als Linien erkennbar. Diese Linien führten zu einer wellenförmigen Oberfläche im Zahnschmelz. Diese Veränderungen sind auf den Bildern leider nicht so deutlich erkennbar, da sie für die Vergrößerung, in der die Fotos erstellt wurden, noch zu gering waren. Allerdings sind auf dem Foto für den 50. Mess- tag die Demineralisierungen deutlich zu erkennen. Teilweise lassen sich noch glatte Schmelzbe- reiche, wie sie am Beginn der Lagerung vorhanden waren, erkennen. Der größte Teil der Ober- fläche ist allerdings rau und uneben. An diesen Oberflächenanteilen sind deutliche Substanzver- luste erkennbar.

Somit steht fest, dass die Veränderungen der Beschaffenheit der Schmelzoberfläche mit denen der mechanischen Eigenschaften vom Schmelz korrelieren. Die mechanischen Eigenschaften werden in diesem Fall der Lagerung mit zunehmender Zeit schlechter. Die Oberfläche, die sich anfangs wenig verändert, zeigt später auch eine deutliche Verschlechterung.



**Abb. 28: Änderung des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeit- raum von 50 Tagen**



**Abb. 29: Änderung der Härte des Schmelzes über einen Lagerungszeit- raum von 50 Tagen**

**Tab. 6: Ergebnisse aus den Messungen für Schmelz in Kalziumchloridlösung**

Messtag	E-Modul des Schmelzes in rel. Einheiten	Härte des Schmelzes in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	0,852	0,995
<b>3</b>	0,801	0,846
<b>5</b>	0,708	0,828
<b>7</b>	0,672	0,616
<b>10</b>	0,609	0,681
<b>20</b>	0,538	0,621
<b>30</b>	0,590	0,579
<b>50</b>	0,490	0,423
	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>
<b>0 (reale Werte)</b>	117,0	3,1





**Abb. 30 Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)**

#### 4.4.2. Ergebnisse für das Dentin

Das Dentin verhält sich bei der Lagerung in Kalziumchloridlösung ähnlich dem Zahnschmelz. Auch im Dentin kommt es zu gravierenden Veränderungen der mechanischen Eigenschaften. Allerdings sind die Veränderungen im Dentin noch stärker ausgeprägt als im Zahnschmelz.

Die Abbildungen 31 und 32 zeigen die Messwerte der Härte und des E-Moduls über den gesamten Lagerungszeitraum. Aus Tabelle 7 können die genauen Werte für die jeweiligen Messtage entnommen werden.

Aus den Abbildungen und der Tabelle wird ersichtlich, dass der E-Modul des Dentins schon nach einem Tag der Lagerung um 15 % gesunken ist. Nach 5 Tagen der Lagerung ist der E-Modul um weitere 17 % auf 68 % des Ausgangswertes abgesunken. Vom 5. bis zum 10. Lagerungstag ist die weitere Abnahme des E-Moduls ersichtlich. Am 10. Tag der Messung liegt er bei 53 % des Ausgangswertes. Am letzten Tag der Messungen ist der E-Modul des Dentins um 67 % abgesunken. Somit ist der E-Modul im Dentin bei der Lagerung in Kalziumchloridlösung sogar um 16 % stärker gesunken als der E-Modul vom Zahnschmelz. Allerdings verhält sich der E-Modul des Dentins, was die Geschwindigkeit der Abnahme angeht, ähnlich wie der vom Schmelz. In den ersten 10 Tagen fällt der E-Modul sehr stark ab. In den verbleibenden 40 Tagen der Lagerung ist zwar immer noch eine Abnahme vorhanden, die aber weit weniger drastisch ausfällt.

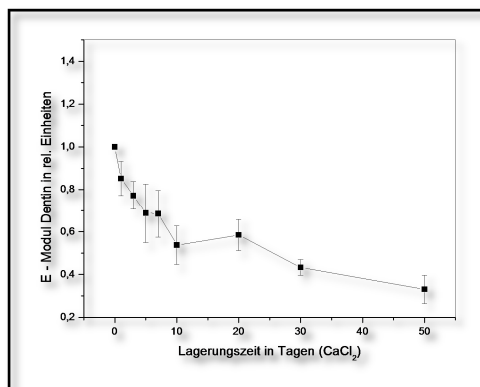
Die Dentinhärte zeigt ähnliche Veränderungen. Nach dem ersten Lagerungstag ist sie um 10 % gesunken. Nach 5 Tagen der Lagerung sinkt dieser Wert bereits auf nur noch 66 % des Ausgangswertes ab. Am 10. Tag der Messungen ist die Härte bereits um die Hälfte abgesunken. Bei der Härte des Dentins zeigt sich, dass die Abnahme in den ersten 10 Lagerungstagen am größten ist und in der restlichen Lagerungszeit nicht mehr so stark sinkt. Dies entspricht nicht ganz dem Verhalten der Härte des Schmelzes, die einen lineareren Abfall zeigt, sondern entspricht eher

dem Verhalten des E-Moduls von Schmelz und Dentin. Allerdings liegen die Endwerte für die Härte von Schmelz und Dentin nur um 4 % auseinander, denn bis zum letzten Tag der Messungen ist die Dentinhärte um 62 % gesunken.

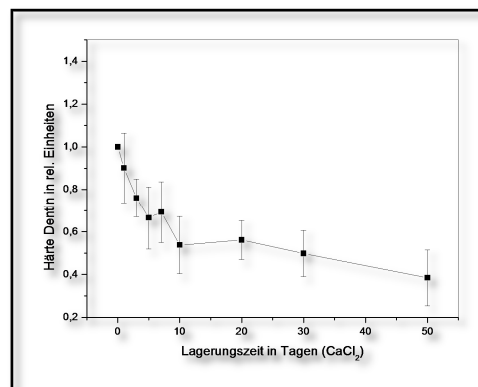
Auch für das Dentin wurde für die Härte und den E-Modul der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 durchgeführt. Der p-Wert betrug hierbei für die Härte sowie für den E-Modul vom Dentin 0,00. Es konnte somit zweifelsfrei eine signifikante Änderung der Werte von Härte und E-Modul, ausgehend von denen der Referenzmessung, über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen festgestellt werden.

Bei der Auswertung der Oberflächenbeschaffenheit von Dentin konnten anhand der Fotodokumentation auch Veränderungen festgestellt werden. Abbildung 33a zeigt die Dentinoberfläche am Tag der Referenzmessung. Hier kann man erkennen, dass die Bereiche zwischen den Dentinkanälchen hell und glatt sind. Die Ränder der Kanälchen sind glatt begrenzt. Am 10. Lagerungstag (Abb. 33b) sind die Veränderungen noch nicht so deutlich zu erkennen. Allerdings werden in der Dentinstruktur zwischen den Kanälchen kleine dunkle Flecken erkennbar. Unter dem Mikroskop erschienen diese Flecken wie kleine Krater. Am 50. Lagerungstag sind die Veränderungen in der Abbildung 33c schon deutlicher zu erkennen. Die Dentinoberfläche wirkt nicht mehr so glatt wie noch zu Beginn der Lagerungsperiode. Vor allem im rechten Bildbereich erscheint die Oberfläche rau. Die Dentinkanälchen sind nicht mehr so glatt begrenzt. Die Ränder der Kanälchen erscheinen „ausgefranzt“.

Die Veränderungen der Oberfläche sind im Dentin nicht so stark ausgeprägt wie im Zahnschmelz. Allerdings verändert sich die Beschaffenheit der Oberfläche, sie korreliert also mit den mechanischen Eigenschaften des Dentins. Auch im Dentin werden mit zunehmender Zeit die mechanischen Eigenschaften schlechter, und auch die Oberflächenbeschaffenheit verschlechtert sich mit zunehmender Lagerungsdauer.



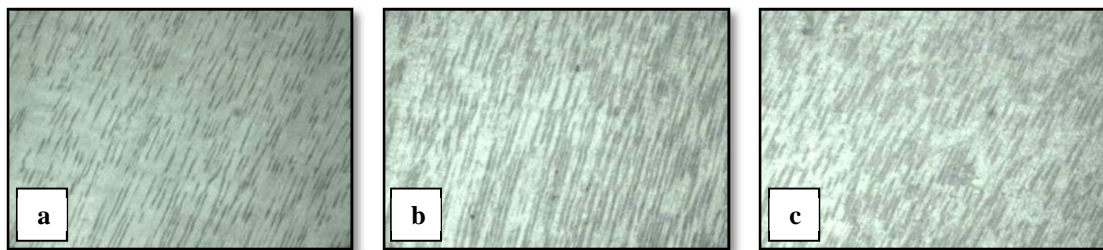
**Abb. 31: Änderung des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**



**Abb. 32: Änderung der Härte des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**

**Tab. 7: Ergebnisse aus den Messungen für Dentin in Kalziumchloridlösung**

Messtag	E-Modul des Dentins in rel. Einheiten	Härte des Dentins in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	0,852	0,901
<b>3</b>	0,772	0,761
<b>5</b>	0,687	0,666
<b>7</b>	0,685	0,693
<b>10</b>	0,537	0,538
<b>20</b>	0,585	0,561
<b>30</b>	0,433	0,498
<b>50</b>	0,330	0,384
	E-Modul Dentin in GPa	E-Modul Dentin in GPa
<b>0 (reale Werte)</b>	18,4	0,5



**Abb. 33: Oberflächen vom Dentin an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)**

#### 4.5. Ergebnisse für die Lagerung in Hanks buffered salt solution

##### 4.5.1. Ergebnisse für den Schmelz

Der Zahnschmelz zeigte bei der Lagerung über 50 Tage in Hanks buffered salt solution keine Veränderungen der mechanischen Eigenschaften,

Aus den Abbildungen 34 und 35 lässt sich der Verlauf der Lagerungszeit für die Härte und den E-Modul entnehmen. Die genauen Werte für jeden Messtag sind in Tabelle 8 in relativen Werten dargestellt. Der reale Wert für die Referenzmessung kann ebenfalls der Tabelle 8 entnommen werden.

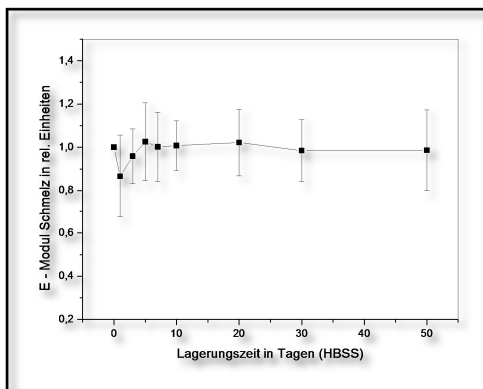
Hieraus wird ersichtlich, dass der Elastizitätsmodul vom Schmelz nach 10 Tagen der Lagerung noch fast genau dem Ausgangswert entspricht. Nach Ende der Lagerungsperiode ist der E-

Modul nur um 1,2 % gesunken. Die Härte ist nach 10 Tagen um 3 % gesunken. Nach 50 Tagen der Lagerung ist sie um 9 % gefallen.

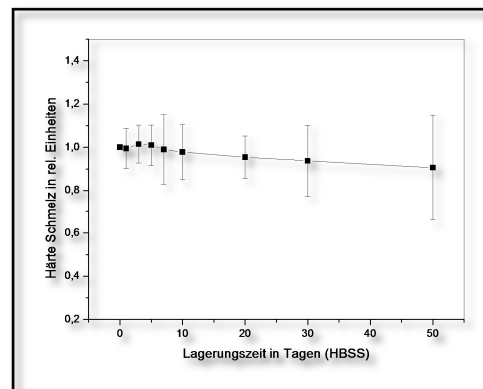
Zur Sicherung der Signifikanz der Werte wurde für alle Messungen der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 durchgeführt. Der p-Wert für die Härte betrug 0,26 und für den E-Modul 0,81. Es wurden dabei keine signifikanten Veränderungen der mechanischen Eigenschaften für den Zahnschmelz bei einer Lagerungszeit von 50 Tagen in Hanks buffered salt solution im Vergleich zu den Ausgangsdaten festgestellt.

Bei der Auswertung der Oberflächenbeschaffenheit fallen schnell Veränderungen im Zahnschmelz auf. Abbildung 36 zeigt die Schmelzoberflächen an den Tagen 10 (b) und 50 (c) der Messung sowie am Tag der Referenzmessung (a) im Bereich der ROI. Bereits am 10. Tag der Lagerung sind auf dem Foto Veränderungen der Oberfläche in Form von „Lochfraß“ zu erkennen. Diese Veränderungen nehmen bis zum 50. Tag der Lagerung auf der Schmelzoberfläche weiter zu. Es sind am 50. Messtag noch glatte Schmelzbereiche, wie sie am Tag der Referenzmessung vorhanden waren, zu sehen. Zwischen diesen Bereichen sind zahlreiche Substanzdefekte zu erkennen.

Bei der Lagerung in Hanks buffered salt solution über 50 Tage korrelieren die mechanischen Eigenschaften also nicht mit der Oberflächenbeschaffenheit.



**Abb. 34: Änderung des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**



**Abb. 35: Änderung der Härte des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**

**Tab. 8: Ergebnisse aus den Messungen für Schmelz in HBSS**

Messtag	E-Modul des Schmelzes in rel. Einheiten	Härte des Schmelzes in rel. Einheiten
0	1,001	1
1	0,866	0,995
3	0,959	1,015

<b>5</b>	1,026	1,010
<b>7</b>	1,002	0,990
<b>10</b>	1,008	0,978
<b>20</b>	1,022	0,955
<b>30</b>	0,985	0,937
<b>50</b>	0,986	0,906
	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>
<b>0 (reale Werte)</b>	114,3	4,37



**Abb. 36: Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)**

#### 4.5.2. Ergebnisse für das Dentin

Bei einer Lagerung in Hanks buffered salt solution verhält sich das Dentin wie der Zahnschmelz. Bei einer Lagerungszeit von 50 Tagen ändern sich die mechanischen Eigenschaften, Härte und E-Modul, nicht signifikant.

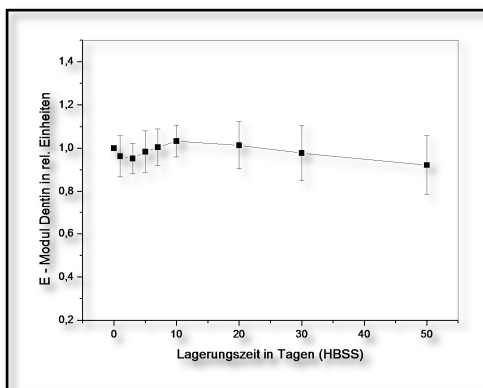
Die Abbildungen 37 und 38 zeigen den Verlauf der Lagerungszeit für die Härte und den E-Modul. Die genauen Werte für die Lagerungsperiode sind der Tabelle 9 zu entnehmen.

Aus den Messungen wird ersichtlich, dass sich der E-Modul des Dentins nach 10 Tagen der Lagerung kaum verändert hat (3 % gestiegen). Nach 50 Tagen der Lagerung in Hanks buffered salt solution ist der E-Modul um 9 % gesunken. Die Härte verhält sich sehr konstant in der gesamten Zeit der Lagerung. Nach 50 Tagen ist die Härte von Dentin um 6 % nur leicht gestiegen.

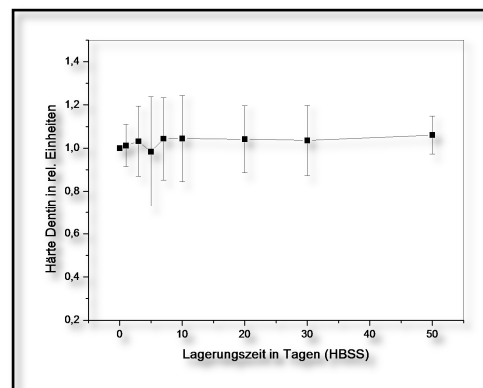
Der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 wurde auch für die mechanischen Eigenschaften E-Modul und Härte für das Dentin durchgeführt. Der Test ergab, dass sich die mechanischen Eigenschaften von Dentin über die gesamte Lagerungszeit von 50 Tagen in Hanks buffered salt solution nicht signifikant verändern. Der p-Wert für die Härte betrug 0,05 und für den E-Modul 0,09.

Die Oberflächenbeschaffenheit von Dentin zeigte während der Lagerungsperiode auch Veränderungen, die aber nicht so stark ausgeprägt waren wie die des Zahnschmelzes. Die Abbildung 39 zeigt diese Veränderungen an den Messtagen 10 (b) und 50 (c) sowie am Tag der Referenzmes-

sung (a). Zu Beginn der Messungen lässt sich in Abbildung 39a erkennen, dass die Dentinoberfläche zwischen den Dentinkanälchen glatt ist. Die Dentinkanälchen sind glatt begrenzt. Nach 10 Tagen der Lagerung sind noch keine Veränderungen zu erkennen. Am 50. Tag der Lagerung sind in den anfangs glatten Dentinbereichen einige kleine Substanzdefekte (Löcher) zu erkennen. Die Begrenzung der Dentinkanälchen wirkt auch unebener als zu Beginn. Die Dentinoberfläche verändert sich bei der Lagerung in Hanks buffered salt solution nur gering im Vergleich zum Schmelz. Trotz der nur geringen Oberflächenveränderungen zeigen optische und mechanische Eigenschaften ein gegensätzliches Verhalten.



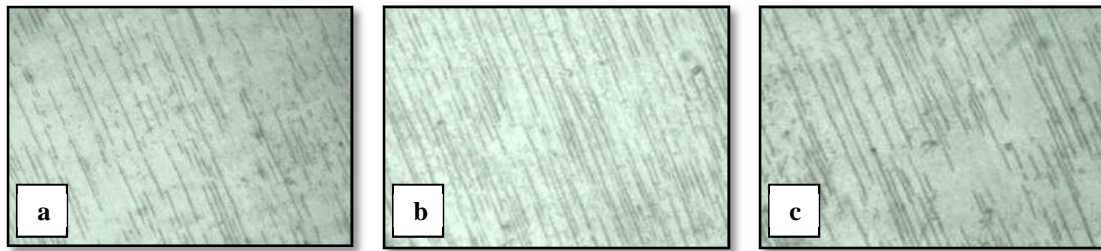
**Abb. 37: Änderung des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**



**Abb. 38: Änderung der Härte des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**

**Tab. 9: Ergebnisse aus den Messungen für Dentin in HBSS**

Messtag	E-Modul des Dentins in rel. Einheiten	Härte des Dentins in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	0,963	1,012
<b>3</b>	0,953	1,032
<b>5</b>	0,984	0,983
<b>7</b>	1,005	1,044
<b>10</b>	1,033	1,045
<b>20</b>	1,013	1,041
<b>30</b>	0,977	1,036
<b>50</b>	0,922	1,061
	<b>E-Modul Dentin in GPa</b>	<b>E-Modul Dentin in GPa</b>
<b>0 (reale Werte)</b>	17,9	0,47



**Abb. 39: Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) 50 (c)**

## 4.6. Ergebnisse für die Lagerung in 0,1%iger Thymollösung

### 4.6.1. Ergebnisse für den Schmelz

Der Zahnschmelz zeigt bei der Lagerung in 0,1%iger Thymollösung über eine Lagerungszeit von 50 Tagen eine deutliche Veränderung.

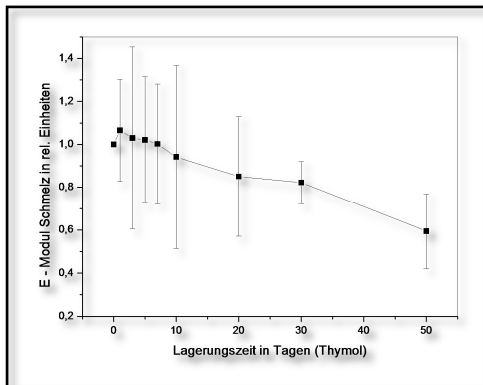
Aus den Abbildungen 40 und 41 lässt sich der Verlauf der mechanischen Eigenschaften über den gesamten Lagerungszeitraum entnehmen. Tabelle 10 zeigt die genauen Werte der Messungen in relativen Werten. Auch die realen Werte für die Referenzmessung gehen aus dieser Tabelle hervor.

Der E-Modul des Zahnschmelzes verändert sich während der ersten 7 Tage der Lagerung nicht. Nach 10 Tagen ist er auch nur um 6 % gesunken. Allerdings verändert sich der E-Modul bis zum Ende der Lagerung noch stark. Am 50. Tag der Lagerung ist der E-Modul um 41 % gesunken.

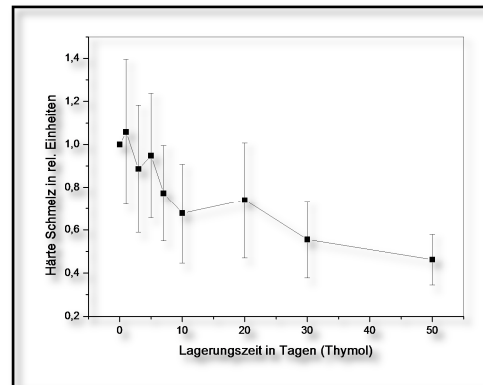
Die Härte des Zahnschmelzes zeigt die Veränderungen schon eher. Am 7. Tag der Messung ist die Härte auf 77 % des Ausgangswertes abgesunken. Nach 10 Tagen ist dieser Wert noch um weitere 10 % gesunken. Zum Abschluss der Messungen, am 50. Tag, ist die Härte um 54 % gesunken.

Zur Sicherung der Signifikanz der Werte wurde für die Messwerte der Härte und den des E-Moduls des Zahnschmelzes der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 durchgeführt. Der p-Wert für die Schmelzhärte und den E-Modul lag bei 0,00. Es konnte somit zweifelsfrei eine signifikante Änderung der Werte von Härte und E-Modul, ausgehend von denen der Referenzmessung, über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen festgestellt werden. Die Schmelzoberfläche zeigt auch leichte Veränderungen über die gesamte Lagerungsdauer. Am Tag der Referenzmessung (Abb. 42a) ist der Zahnschmelz glatt. Bereits nach 10 Tagen der Lagerung (Abb. 42b) sind strukturelle Veränderungen in Form einer „Schuppung“ zu erkennen. Diese Veränderungen sind in der Abbildung als helle und dunkle Bereiche zu erkennen. Am Ende der Lage-

ung (Abb. 42c) haben sich diese Veränderungen noch etwas verstärkt. Der anfangs noch glatte Schmelz wirkt jetzt inhomogener, rau und uneben. Allerdings sind die Veränderungen der mechanischen Eigenschaften deutlich ausgeprägter als die Veränderungen der Oberflächeneigenschaften.



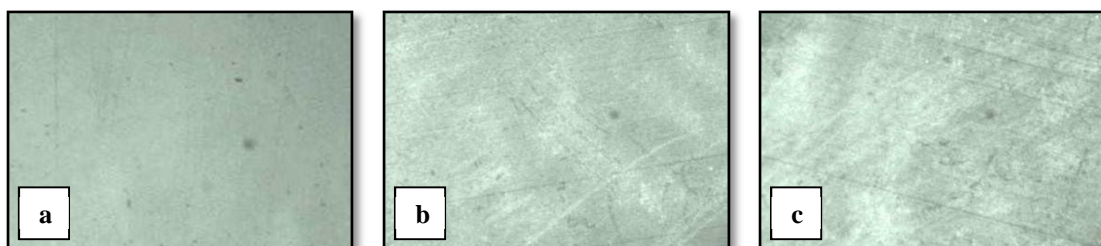
**Abb. 40** Änderung des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen



**Abb. 41:** Änderung der Härte des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen

**Tab. 10:** Ergebnisse aus den Messungen für Schmelz in 0,1%iger Thymollösung

Messtag	E-Modul des Schmelzes in rel. Einheiten	Härte des Schmelzes in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	1,065	1,058
<b>3</b>	1,029	0,886
<b>5</b>	1,021	0,947
<b>7</b>	1,002	0,772
<b>10</b>	0,941	0,677
<b>20</b>	0,850	0,739
<b>30</b>	0,823	0,556
<b>50</b>	0,594	0,462
	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>
<b>0 (reale Werte)</b>	107,6	3,0



**Abb. 42:** Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)



## 4.6.2. Ergebnisse für das Dentin

Dentin zeigt bei der Lagerung in 0,1%iger Thymollösung über 50 Tage ein ähnliches Verhalten wie der Zahnschmelz. Es zeigen sich deutliche Veränderungen der Härte und des E-Moduls.

Die Veränderungen von E-Modul und Härte über die gesamte Lagerungsperiode sind aus den Abbildungen 43 und 44 zu entnehmen. Die genauen relativen Werte sind aus Tabelle 11 ersichtlich.

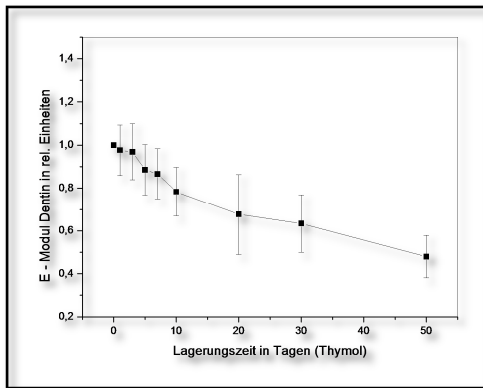
Der E-Modul des Dentins zeigt ein etwas anderes Verhalten als der E-Modul des Zahnschmelzes. Im Dentin fällt der E-Modul schon am 5. Tag der Lagerung auf 88 %, ausgehend vom Ausgangswert. Am 10. Lagerungstag ist der E-Modul um 22 % gesunken. Nach 50 Tagen ist der E-Modul um mehr als die Hälfte auf 48 % des Ausgangswertes gefallen.

Die Härte des Dentins zeigt fast das gleiche Verhalten wie die Härte des Zahnschmelzes. Am 5. Lagerungstag ist die Dentinhärte um 12 % gefallen. Am 10. Lagerungstag ist dieser Abfall auf 74 % des Ausgangswertes fortgeschritten. Am Ende der Lagerungszeit ist die Härte des Dentins um 51 % abgesunken. Diese Verringerung entspricht fast ganz genau dem Verhalten der Schmelzhärte.

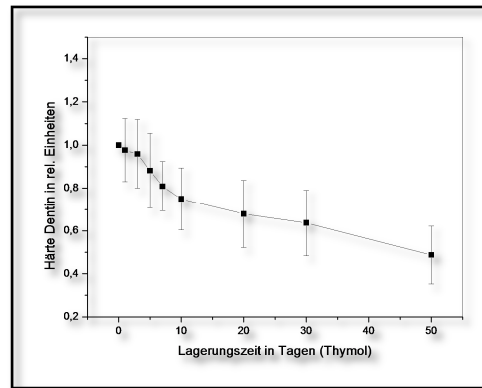
Der t-Test für die mechanischen Eigenschaften von Dentin zeigt auch eine signifikante Veränderung im Vergleich zu den Werten der Referenzmessung. Der p-Wert betrug 0,00 für die Härte und den E-Modul des Dentins.

Die Beschaffenheit der Oberfläche des Dentins zeigt im Vergleich zum Schmelz nur sehr geringe Veränderungen. Die Abbildungen 45a–c zeigen die Dentinoberfläche am Tag der Referenzmessung und am 10. sowie am 50. Tag der Messung. Die Veränderungen lassen sich auf den Fotos kaum darstellen. Dennoch sind geringe Veränderungen, die sich als „Schuppung“ darstellen, zu erkennen. Unter dem Mikroskop war diese Veränderung deutlicher.

Die Veränderungen der Oberfläche des Dentins entsprechen den Veränderungen der mechanischen Eigenschaften. Allerdings sind die Veränderungen bei den mechanischen Eigenschaften von Dentin weit deutlicher ausgeprägt als die Veränderungen der Oberflächenbeschaffenheit.



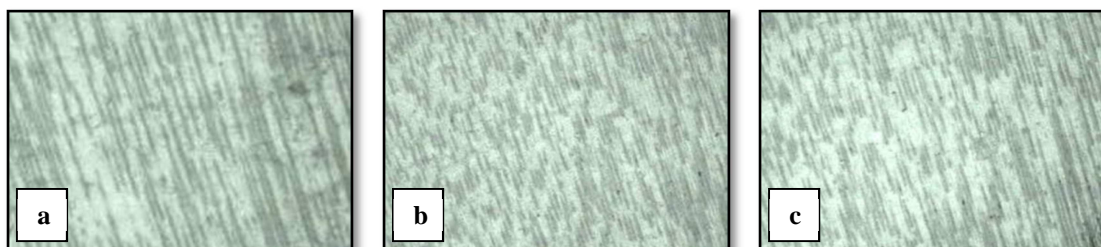
**Abb. 43** Änderung des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen



**Abb. 44** Änderung der Härte des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen

**Tab. 11:** Ergebnisse aus den Messungen für Dentin in 0,1%iger Thymollösung

Messtag	E-Modul des Dentins in rel. Einheiten	Härte des Dentins in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	0,977	0,976
<b>3</b>	0,969	0,959
<b>5</b>	0,885	0,882
<b>7</b>	0,867	0,809
<b>10</b>	0,783	0,749
<b>20</b>	0,676	0,679
<b>30</b>	0,634	0,636
<b>50</b>	0,479	0,488
	<b>E-Modul Dentin in GPa</b>	<b>E-Modul Dentin in GPa</b>
<b>0 (reale Werte)</b>	20,1	0,53



**Abb. 45:** Oberflächen vom Dentin an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)

## 4.7. Ergebnisse für die Lagerung in Speichel nach Fusayama

### 4.7.1. Ergebnisse für den Schmelz

Bei der Verwendung von Fusayama-Speichel als Lagermedium können über den gesamten Lagerungszeitraum von 50 Tagen keinerlei Veränderungen der mechanischen Eigenschaften vom Schmelz festgestellt werden.

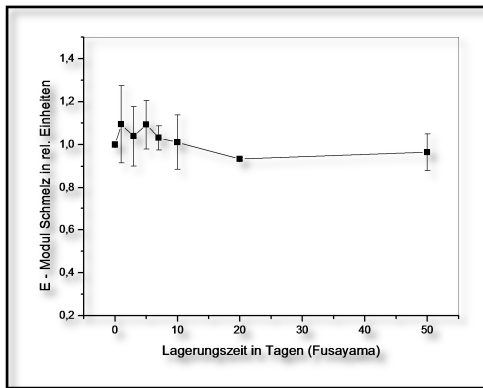
Die Abbildungen 46 und 47 zeigen den Verlauf des E-Moduls und der Härte über den Lagerungszeitraum von 50 Tagen. Aus Tabelle 12 können die genauen Werte für jede Messung zu jedem Lagerungstag in relativen Einheiten entnommen werden.

Der E-Modul zeigt ein sehr konstantes Verhalten über den gesamten Lagerungszeitraum. Am 5. Tag der Lagerung ist der maximalste Wert der gesamten Messreihe mit 9 % Erhöhung des E-Moduls zu verzeichnen. Am letzten Messtag beträgt die Abweichung zum Ausgangswert bei nur 3,5 %.

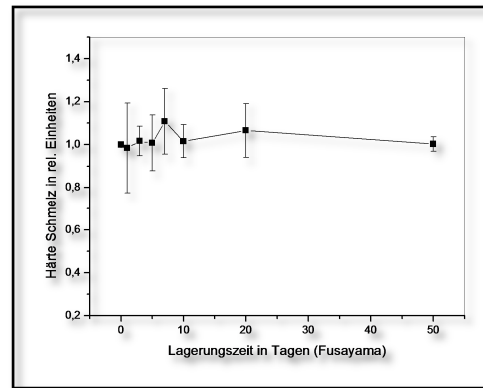
Die Härte des Schmelzes zeigt auch ein sehr konstantes Verhalten. Mit 10 % Erhöhung der Härte am 7. Tag der Messungen ist der Maximalwert der Abweichung erreicht. Dieser Wert liegt aber noch im normalen Schwankungsbereich und zeigt keine Signifikanz. Nach 50 Tagen der Lagerung in Fusayama-Speichel zeigt die Härte keine Veränderung zum Ausgangswert.

Für die Härte und den E-Modul des Zahnschmelzes wurde zur Sicherheit noch der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 erstellt. Der Test ergab, dass es zu keinem Messtag zu einer signifikanten Abweichung zu den Ausgangswerten kam. Der p-Wert für die Härte lag bei 0,78 und für den E-Modul bei 0,27. Die Oberflächeneigenschaften des Zahnschmelzes zeigten über den gesamten Lagerungszeitraum keine Veränderungen. Die Abbildung 48 zeigt die Schmelzoberflächen am Tag der Referenzmessung (a), am 10. (b) und am 50. (c) Tag der Messung.

Die optischen und die mechanischen Eigenschaften des Zahnschmelzes zeigen also das gleiche Verhalten, sie zeigen über den gesamten Lagerungszeitraum von 50 Tagen in Fusayama-Speichel keine Veränderungen.



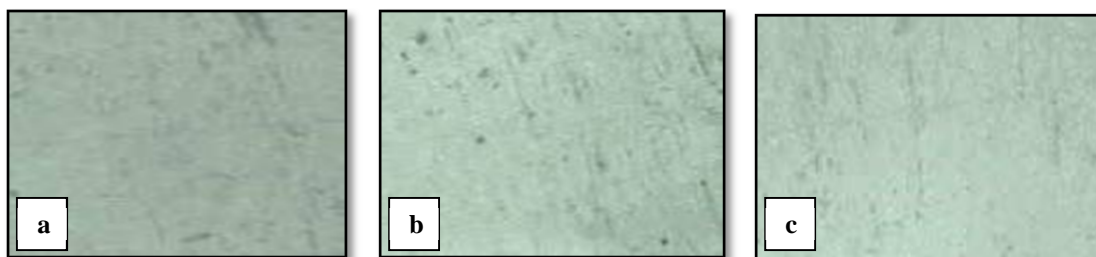
**Abb. 46** Änderung des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen



**Abb. 47:** Änderung der Härte des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen

**Tab. 12:** Ergebnisse aus den Messungen für Schmelz in Fusayama-Speichel

Messtag	E-Modul des Schmelzes in rel. Einheiten	Härte des Schmelzes in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	1,095	0,984
<b>3</b>	1,039	1,017
<b>5</b>	1,093	1,008
<b>7</b>	1,031	1,108
<b>10</b>	1,012	1,016
<b>20</b>	0,934	1,066
<b>50</b>	0,965	1,003
	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>	<b>E-Modul Schmelz in GPa</b>
<b>0 (reale Werte)</b>	110,0	3,3



**Abb. 48:** Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)

#### 4.7.2. Ergebnisse für das Dentin

Das Dentin zeigt bei der Lagerung in Fusayama-Speichel keine Veränderungen der mechanischen Eigenschaften.

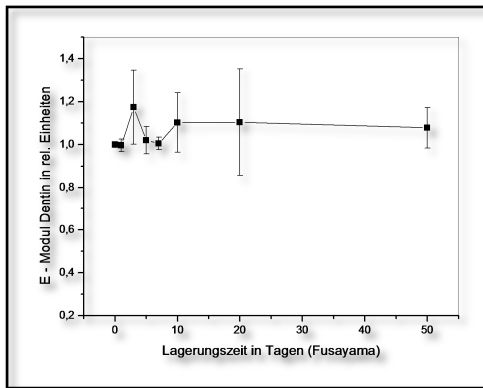
Die Abbildungen 49 und 50 zeigen den E-Modul und die Härte über den gesamten Verlauf der Lagerungszeit von 50 Tagen. Aus Tabelle 13 sind die relativen Werte für jeden Messtag zu entnehmen.

Der E-Modul zeigt über den Lagerungsverlauf keine signifikanten Änderungen, obwohl die Schwankungen etwas größer als die des Schmelzes bei der Lagerung in Fusayama-Speichel sind. Der t-Test mit einem Signifikanzlevel von 0,05 ergab für den E-Modul des Dentins keine signifikanten Veränderungen im Vergleich zu den Werten der Referenzmessung. Der p-Wert für den E-Modul lag bei 0,07. Nach 50 Tagen der Lagerung ist der E-Modul um 7 % höher als am Tag der Referenzmessung.

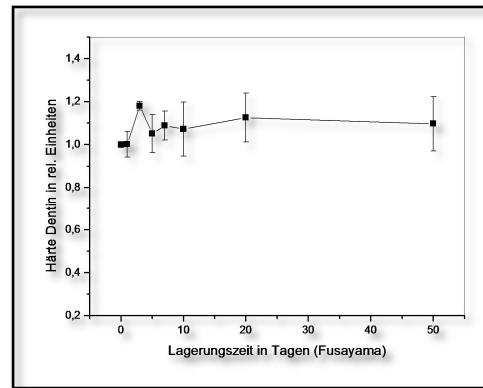
Die Härte vom Dentin verhält sich ähnlich dem E-Modul. Die Schwankungen in den Härtewerten des Dentins sind etwas größer als die vom Zahnschmelz. Aber auch für die Dentinhärte ergaben sich keine signifikanten Veränderungen. Der p-Wert lag für die Dentinhärte bei 0,09. Nach 50 Tagen der Lagerung ist die Dentinhärte um 9 % gegenüber der Härte am Tag der Referenzmessung gestiegen.

Die Auswertung der Oberflächenbeschaffenheit des Dentins über den gesamten Zeitraum der Lagerung ergab ebenfalls keine Veränderungen. Die in Abbildung 51 dargestellten Bilder zeigen die Dentinoberfläche am Tag der 0-Messung (a) und am 10. Lagerungstag (b) sowie am letzten Tag der Messungen (c). In dieser Abbildung lassen sich keine Veränderungen erkennen. Auch unter dem Mikroskop mit höherer Vergrößerung blieb die Oberfläche unverändert.

Die optischen Eigenschaften der Dentinoberfläche sowie die mechanischen Eigenschaften des Dentins veränderten sich in der gesamten Lagerungsdauer in Fusayama-Speichel nicht. Optische und mechanische Eigenschaften korrelieren also sowohl im Dentin wie auch im Zahnschmelz.



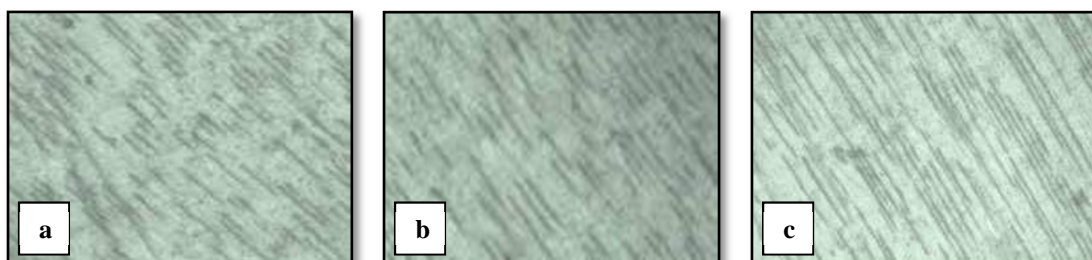
**Abb. 49: Änderung des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**



**Abb. 50: Änderung der Härte des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen**

**Tab. 13: Ergebnisse aus den Messungen für Dentin in Fusayama-Speichel**

Messtag	E-Modul vom Dentin in rel. Einheiten	Härte vom Dentin in rel. Einheiten
0	1	1
1	0,997	1,002
3	1,174	1,181
5	1,021	1,052
7	1,006	1,089
10	1,103	1,073
20	1,104	1,126
50	1,078	1,097
	<b>E-Modul Dentin in GPa</b>	<b>E-Modul Dentin in GPa</b>
0 (reale Werte)	17,5	0,44



**Abb. 51: Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)**

## 5. Diskussion

### 5.1. Art der verwendeten Proben

Für diese Arbeit wurden ausschließlich impaktierte humane 3. Molaren (Weisheitszähne) verwendet. Durch diese Vorgabe kann davon ausgegangen werden, dass die Proben zu keiner Zeit Kontakt zur Mundhöhle hatten. Auf dieses Kriterium wurde deshalb so viel Wert gelegt, weil sich schnell Veränderungen der Zähne nach ihrem Durchbruch in die Mundhöhle zeigen können.

Als erste Veränderung kann die posteruptive Schmelzreifung angesehen werden. Hierbei wird der Zahnschmelz durch Abnahme des Karbongehalts und Substitution der OH<sup>-</sup>-Gruppen durch Fluoridionen dichter. Gleichzeitig wird er weniger stark säurelöslich, härter und spröder. Diese Veränderungen verlaufen bei jedem Menschen individuell, was die Vergleichbarkeit der einzelnen Proben beeinträchtigen kann.

Eine weitere wichtige Veränderung der Zahnhartgewebe nach dem Durchbruch in die Mundhöhle sind Demineralisierungen in Form von z. B. white spots oder Karies. Durch die Lage im hinteren Bereich des Kiefers ist der Weisheitszahn der Pflege schwerer zugänglich, was die Gefahr von Demineralisierung und Karies noch erhöht. Des Weiteren ist er in der Zeit des Durchbruchs häufig lange von der Schleimhaut teilweise bedeckt, was zu einer Erhöhung des Kariesrisikos führt. Karies führt je nach Stadium der Ausbreitung zu gravierenden Veränderungen im Zahnschmelz und im Dentin. Im Anfangsstadium wird der Schmelz demineralisiert, was zu einer Reduktion von Härte und E-Modul führt. Im Dentin beginnt in diesem Stadium die Bildung von Reizdentin (Lehmann und Hellwig 2003), welches die Dentinkanälchen verschließen kann und veränderte mechanische Eigenschaften aufweist. In späteren Stadien ist der Schmelz zerstört und das Dentin erweicht. Eine Messung mittels Nanoindentation wäre in diesem Fall zwar möglich, aber die Werte wären nicht mehr unbeeinflusst.

Durch die Verwendung impaktierter Weisheitszähne konnte mit absoluter Sicherheit davon ausgegangen werden, dass solche Veränderungen an den Versuchsproben nicht vorlagen.

Ein weiterer wichtiger Punkt bei der Probenauswahl war der Mineralisierungsgrad. Die Weisheitszähne, die verwendet wurden, sollten die präeruptive Mineralisierung abgeschlossen haben. Um dies zu gewährleisten, wurden nur Weisheitszähne von Patienten verwendet, die das 25. Lebensjahr abgeschlossen hatten. Ab diesem Alter kann laut forensischen Studien (Eidam et al. 1991) davon ausgegangen werden, dass im Kiefer- und Zahnsystem keine Veränderungen mehr eintreten. Eine weitere Kontrollmöglichkeit für den Reifegrad ist die Größe des Foramen apika-

le sowie der Stand des Wurzelwachstums. Bei ausgereiften nicht durchgebrochenen Zähnen ist das Foramen apikale sehr eng und die Wurzeln sind vollständig ausgebildet.

Der Reifegrad ist bei den Messungen der mechanischen Eigenschaften mittels Nanoindentation sehr wichtig. Nicht vollständig ausgereifte Zähne zeigen bei den Messungen vollständig veränderte Messergebnisse. Um dies zu belegen, wurden Zahnkeime auf die gleiche Weise wie in der vorliegenden Dissertation untersucht. Die verwendeten Weisheitszahnkeime waren ebenfalls impaktiert und die Krone war vollständig ausgebildet. Allerdings war das Wurzelwachstum nicht abgeschlossen und das Foramen apikale war noch sehr weit. Das Alter der Patienten lag bei unter 20 Jahren.

Diese Weisheitszahnkeime wurden in 0,9%iger physiologischer Natriumchloridlösung mit einem pH-Wert um 7,4 für 6 Wochen gelagert. Physiologische Natriumchloridlösung kam zur Verwendung, da seine guten Lagereigenschaften in dieser Dissertation sowie in der Literatur (Fränzel et al. 2006, Hawkins et al. 1997, Cooley und Dodge 1989) bestätigt wurden.

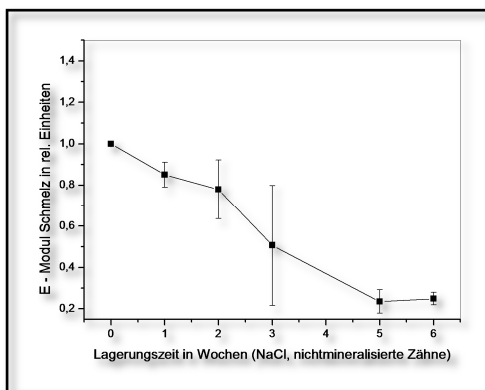
Aus den Abbildungen 52 und 53 geht der Verlauf der mechanischen Eigenschaften des Zahnschmelzes hervor. Aus Tabelle 14 sind die relativen Werte für den E-Modul und die Härte des Zahnschmelzes an jedem Messtag zu entnehmen. E-Modul und Härte des Zahnschmelzes nehmen über den gesamten Lagerungszeitraum sehr stark ab. Nach einer Woche der Lagerung ist der E-Modul bereits um 15 % abgesunken, nach der dritten Woche der Lagerung schon auf 50 % des Ausgangswertes. Die Härte zeigt nach drei Wochen der Lagerung sogar noch einen stärkeren Rückgang, obwohl sie nach einer Woche noch keine Veränderung zeigte. Sie sinkt auf nur noch 42 % des Ausgangswertes. Nach der vollständigen Lagerungszeit ist der E-Modul des Zahnschmelzes um 75 % gesunken, die Härte sogar um 77 %. Auch für diese Werte von E-Modul und Härte des Zahnschmelzes wurde der t-Test durchgeführt. Der Test ergab das sich Härte und E-Modul des Zahnschmelzes über den gesamten Lagerungszeitraum signifikant verändern.

Die Abbildungen 54 und 55 zeigen die Härte und den E-Modul des Dentins und deren Veränderungen über die gesamte Lagerungszeit von 6 Wochen. Aus Tabelle 15 werden die relativen Werte sowie die realen Werte am Tag der Referenzmessung ersichtlich. Das Dentin zeigt ein ähnliches Verhalten wie der Zahnschmelz bei der Lagerung in physiologischer Natriumchloridlösung. Nach einer Lagerungswoche ist der E-Modul um 14 % und die Härte um 19 % gesunken. Nach drei Wochen der Lagerung sinkt die Härte drastisch um 67 % ab. Somit sind nach drei Wochen der Lagerung nur noch 36 % des Ausgangswertes der Härte vorhanden. Der E-Modul sinkt in der gleichen Zeit um 51 %. Nach der vollständigen Lagerungsdauer sind die Härte auf 31 % und der E-Modul auf 29 % des Ausgangswertes gesunken. Trotz der sehr eindeutigen Ergebnisse wurde auch für die Härte und den E-Modul des Dentins der t-Test durchge-

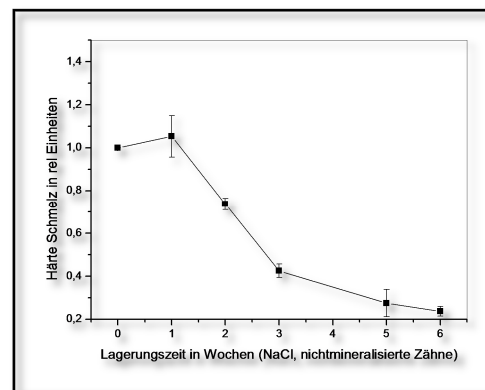


führt. Mit dem Test konnte die signifikante Veränderung der Werte gesichert werden. Aus diesen Ergebnissen für Schmelz und Dentin geht eindeutig hervor, dass sich nicht vollständig ausgereifte Weisheitszähne in ihren mechanischen Eigenschaften komplett von ausgereiften Weisheitszähnen unterscheiden. Aus den Messungen mit ausgereiften Zähnen geht eindeutig hervor, dass sich die mechanischen Eigenschaften bei einer Lagerung in 0,9%iger physiologischer Natriumchloridlösung nicht signifikant verändern. Bei Zahnkeimen lag nach 6 Wochen der Lagerung im gleichen Medium eine Reduktion der mechanischen Eigenschaften von durchschnittlich über 70 % vor.

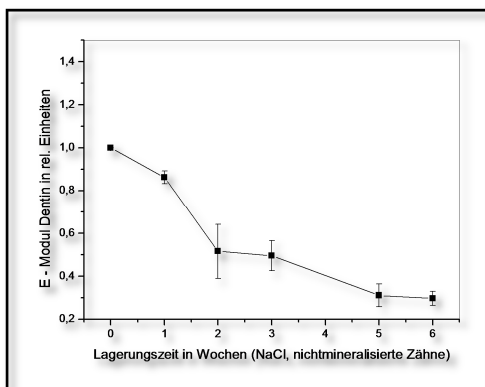
Diese Ergebnisse sind ausschlaggebend für die Tatsache, dass für alle Messungen und bei allen Lagermedien nur ausgereifte Weisheitszähne verwendet wurden.



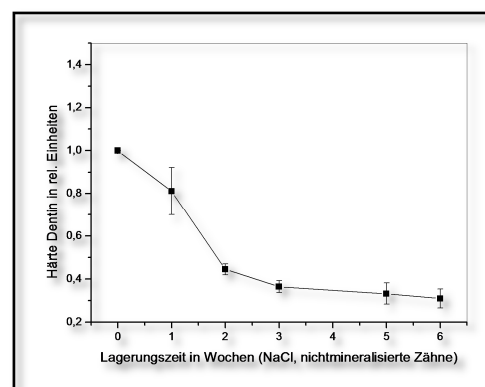
**Abb. 52: Änderung des E-Moduls des Schmelzes im Lagerungszeitraum von 6 Wochen**



**Abb. 53: Änderung der Härte des Schmelzes im Lagerungszeitraum von 6 Wochen**



**Abb. 54: Änderung des E-Moduls des Dentins im Lagerungszeitraum von 6 Wochen**



**Abb. 55: Änderung der Härte des Dentins im Lagerungszeitraum von 6 Wochen**

**Tab. 14: Ergebnisse aus den Messungen für nichtmineralisierten Zahnschmelz in physiologischer Natriumchloridlösung**

Messwoche	E-Modul des Schmelzes in rel. Einheiten	Härte des Schmelzes in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	0,851	1,053
<b>2</b>	0,779	0,737
<b>3</b>	0,507	0,425
<b>5</b>	0,235	0,275
<b>6</b>	0,249	0,237
	E-Modul Schmelz in GPa	E-Modul Schmelz in GPa
<b>0 (reale Werte)</b>	69,55	1,77

**Tab. 15: Ergebnisse aus den Messungen für nichtmineralisiertes Dentin in physiologischer Natriumchloridlösung**

Messwoche	E-Modul des Dentins in rel. Einheiten	Härte des Dentins in rel. Einheiten
<b>0</b>	1	1
<b>1</b>	0,863	0,811
<b>2</b>	0,516	0,445
<b>3</b>	0,495	0,365
<b>5</b>	0,311	0,332
<b>6</b>	0,297	0,310
	E-Modul Dentin in GPa	E-Modul Dentin in GPa
<b>0 (reale Werte)</b>	21,19	0,62

## 5.2. Diskussion der Ergebnisse für physiologische Natriumchloridlösung

Die Lagerungseigenschaften von physiologischer Natriumchloridlösung wurden schon mehrfach untersucht. Als Beispiel stellten Fränzel et al. (2006) und Retief et al. (1989) fest, dass sich physiologische Natriumchloridlösung sehr gut für die Lagerung von humanen Zahnhartgeweben eignet.

Physiologische Natriumchloridlösung wurde in dieser Arbeit untersucht, da alle Proben in diesem Medium für die kurze Zeit zwischen Extraktion und Referenzmessung zwischengelagert wurden, um eine Austrocknung zu vermeiden. Aus den Ergebnissen vorliegender Untersuchung geht hervor, dass nach 50 Tagen der Lagerung die Härte des Schmelzes nur um 4,5 % im Vergleich zum Wert der Referenzmessung gefallen ist. Der E-Modul des Schmelzes sank sogar um nur 4 % über die 50 Tage. Im Dentin waren über die lange Lagerungszeit gesehen auch keine

signifikanten Veränderungen zu beobachten. Der E-Modul hatte nach 50 Tagen der Lagerung noch 98 % des Ausgangswertes. Die Härte lag bei 113 % des Ausgangswertes, was auch keine signifikante Veränderung darstellte. Auch die Eigenschaften der Oberflächen von Schmelz und Dentin zeigten über den gesamten Lagerungszeitraum keine Veränderungen.

Somit geht aus diesen Messungen hervor, dass sich physiologische Natriumchloridlösung hervorragend als Lagermedium für humane Zahnhartgewebe eignet. Allerdings müssen diese Zähne vollständig ausgereift sein. Die Ergebnisse bestätigen also die Untersuchungen von Fränzel et al. (2006) und Retief et al. (1989). Bei der Lagerung von humanen Zahnhartgeweben in physiologischer Natriumchloridlösung ist aber auch zu beachten, dass der pH-Wert der Lösung bestimmt wird. Eigene Nachmessungen sowie Anfragen beim Hersteller ergaben, dass der pH-Wert von physiologischer Natriumchloridlösung einen Wert von bis zu 4,0 annehmen kann. Dieser saure Wert würde zweifelsfrei zu Demineralisierungen führen, welche die mechanischen Eigenschaften verändern. In dieser Arbeit wurde ausschließlich neutrale (pH-Wert um 7,4) physiologische Natriumchloridlösung verwendet.

Ein weiterer wichtiger Punkt ist der Reife- bzw. Mineralisierungsgrad der verwendeten Probenzähne. Nicht ausgereifte Zähne verhalten sich völlig anders als ausgereifte. Der Begriff der „Reife“ kann hier auch als Grad der Mineralisierung betrachtet werden. Als ausgereifte Zähne werden nur Zähne bezeichnet, die alle der in 3.1. genannten Kriterien erfüllen. Diese Zähne haben die präeruptive Schmelzreifung vollständig abgeschlossen, sie sind also vollständig ausmineralisiert. Bei nicht ausgereiften Zähnen handelt es sich um Zähne, die ein oder mehrere Kriterien aus 3.1. nicht erfüllen. Bei diesen Zähnen kann es sich um optisch reife Zähne handeln, welche aber noch nicht vollständig ausmineralisiert sind. Werden nicht vollständig ausgereifte bzw. ausmineralisierte Zähne in physiologischer Natriumchloridlösung gelagert, kommt es zu dramatischen Einbrüchen der mechanischen Eigenschaften (siehe 5.1.). Aus diesem Grund kamen nur vollständig ausmineralisierte Zähne zur Verwendung.

### 5.3. Diskussion der Ergebnisse für Kalziumchloridlösung

Für die Lagerung von humanen Zahnhartgeweben wurde die Kalziumchloridlösung in der gleichen Zusammensetzung verwendet, in der sie Gustafson et al. (1996) erfolgreich für die Lagerung von Knochen einsetzten. Da Knochen dem Dentin sehr ähnlich ist, könnte man davon ausgehen, dass dieses Lagermedium auch für Zahnhartgewebe geeignet ist. Eine von Habelitz et al. (2002) durchgeführte Untersuchung zur Lagerung von Zahnhartgeweben in Verbindung mit deren mechanischen Eigenschaften zeigte, dass sich Kalziumchloridlösung nicht als Lagermedium eignete. Hier fehlte allerdings der Verweis auf den Reife- bzw. Mineralisierungsgrad sowie darauf, ob die Proben schon Kontakt zum Mundhöhlenmilieu hatten.

Aus diesem Grund wurden die Lagerungseigenschaften von Kalziumchloridlösung ausschließlich mit Proben, die noch keinen Kontakt zum Milieu der Mundhöhle hatten und auch vollständig ausmineralisiert waren, untersucht.

Als Folgerung aus den Messergebnissen kann davon ausgegangen werden, dass eine Lagerung von humanen Zahnhartgeweben in Kalziumchloridlösung nicht zu empfehlen ist. Selbst für eine kurze Lagerungszeit ist dieses Lagermedium nicht empfehlenswert, da erste Veränderungen schon nach dem ersten Lagerungstag auftreten. Somit bestätigten sich in diesen Messungen die von Habelitz et al. (2002) gemachten Beobachtungen für die mechanischen Eigenschaften von Schmelz und Dentin. Die Ursache für die Veränderungen der mechanischen Eigenschaften von Schmelz und Dentin ist, dass diese Kalziumchloridlösung einen schwach sauren pH-Wert besitzt, der bei 5,5 liegt. Dadurch kommt es zu Demineralisierungen von Schmelz und Dentin. Diese Demineralisation bewirkt eine Strukturveränderung von Schmelz und Dentin ähnlich einer Karies. Die Prismenstruktur des Schmelzes wird zerstört und es kommt zu einer Herauslösung von Kristallen. Diese Veränderungen bewirken eine Verringerung der Härte und des E-Moduls. Diese Veränderungen in der Struktur der Zähne sind bei den Eigenschaften der Oberflächen der Proben auch sehr deutlich zu erkennen.

#### 5.4. Diskussion der Ergebnisse für Hanks buffered salt solution

Der Einfluss, den Hanks buffered salt solution bei der Lagerung humaner Hartgewebe ausübt, wurde schon von Guidoni et al. (2008) und Habelitz et al. (2002) untersucht. Aus beiden Untersuchungen geht hervor, dass Hanks buffered salt solution als Lagermedium geeignet ist. Bei beiden Untersuchungen fehlte aber der Verweis auf den Reifegrad sowie auf eventuellen Kontakt der Proben zum Milieu der Mundhöhle. Da diese beiden Kriterien aber großen Einfluss auf die Beschaffenheit von Zahnhartgeweben haben können (siehe 5.1.), wurden die Messungen für in Hanks buffered salt solution gelagerte Zahnhartgewebe nur mit Proben durchgeführt, die vollständig ausgereift waren sowie noch keinen Kontakt zur Mundhöhle hatten.

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass keine signifikanten Veränderungen der mechanischen Eigenschaften vom Schmelz und Dentin während der gesamten Lagerungsdauer auftraten. Die Ergebnisse für die mechanischen Eigenschaften der vorliegenden Arbeit bestätigen somit die Untersuchungen von Habelitz et al. (2002) und Guidoni et al. (2008).

Allerdings zeigten sich in der Oberflächenbeschaffenheit von Schmelz und Dentin Veränderungen. Im Schmelz zeigten sich bereits nach 10 Tagen der Lagerung Veränderungen in der Form von herausgelösten Bereichen („Lochfraß“). Diese Veränderungen nahmen bis zum 50. Tag der Lagerung kontinuierlich zu. Im Dentin waren diese Veränderungen der Oberfläche nicht so

stark ausgeprägt. Hier waren nach 10 Lagerungstagen noch keine Veränderungen zu erkennen. Nach 50 Tagen waren allerdings auch im Dentin kleine herausgelöste Bereiche zu erkennen.

Als Ursache, vor allem für die schnellen Oberflächenveränderungen im Schmelz, können die noch vorhandenen Ionendefekte und Mikroporositäten der präeruptiven Schmelzreifung angesehen werden. Diese Bereiche sind nicht vollständig mineralisiert. Aus diesem Grund besteht die Möglichkeit, dass die Hanks buffered salt solution den schlechter mineralisierten Schmelz dieser kleinen Regionen herausgelöst hat. Im Dentin befinden sich mit den Interglobularbezirken auch schlechter mineralisierte Bereiche. In diesem kleinen Bereich kann die Hanks buffered salt solution auch das schlechter mineralisierte Dentin herausgelöst haben.

Diese Ergebnisse zeigen, dass es eine Diskrepanz zwischen optischen und mechanischen Eigenschaften gibt, welche schnell zu Fehlinterpretationen führen können. Aus diesem Grund sollten für die Bestimmung der mechanischen Eigenschaften bei Lagerungsversuchen nicht nur optische oder mechanische Messungen vorgenommen werden, sondern immer beide Verfahren angewendet werden.

Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass sich Hanks buffered salt solution zur Lagerung von humanen Zahnhartgeweben eignet. Allerdings sollte sie bei Untersuchungen, wo es auch auf die Oberflächenbeschaffenheit ankommt, nicht verwendet werden.

## 5.5. Diskussion der Ergebnisse für 0,1%ige Thymollösung

Der Zusatz von Thymol zu Lagermedien für humane Zahnhartgewebe dient als Bakterieninhibitor. Da Thymol stark desinfizierend wirkt, verhindert es als Zusatz in Lagermedien den Schimmelbefall der Proben (Imbeni et al. 2005, Mahoney et al. 2004, Bor et al. 2003). Der Einfluss von Thymol auf die mechanischen Eigenschaften und die Beschaffenheit der Probenoberfläche wurde noch nicht mittels Nanoindentierung untersucht.

Die Messungen mit Thymol als Lagermedium wurden, wie bei den zuvor verwendeten Lagermedien, nur mit Proben, die vollständig ausmineralisiert waren und noch keinen Kontakt zur Mundhöhle hatten, durchgeführt. Dies sicherte die Vergleichbarkeit der Messungen.

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass die mechanischen Eigenschaften von Schmelz und Dentin über den gesamten Lagerungszeitraum kontinuierlich sinken. Auch die Oberflächen des Schmelzes und Dentin zeigten Veränderungen: Im Schmelz war bereits am 10. Lagerungstag eine leichte Veränderung in Form einer „Schuppung“ zu erkennen; dieser Effekt verstärkte sich zum Ende der Lagerungsperiode. Im Dentin waren diese Veränderungen weit weniger ausge-

prägt, allerdings zeigten sich die Veränderungen im Dentin ebenfalls in Form einer „Schupung“. Jedoch waren die Veränderungen der optischen Eigenschaften nicht so gravierend wie die Veränderung der mechanischen Eigenschaften. Diese Tatsache ist auch ein deutlicher Hinweis darauf, dass zur Bestimmung der mechanischen Eigenschaften immer optische sowie mechanische Messungen vorgenommen werden sollten.

Eine mögliche Ursache für diese Veränderungen der Eigenschaften von Schmelz und Dentin durch Thymollösung ist, dass Thymol die Möglichkeit hat, sich zwischen die Peptidketten des Kollagens zu lagern. Daraus folgt eine Veränderung der Sekundärstruktur des Kollagens über eine Veränderung der Van-der-Waals-Kräfte. Dies führt zu einem Bruch der Kalziumbrücken zwischen Apatit und Kollagen. Dieser Bruch führt zu Veränderungen der mechanischen Eigenschaften, wie sie aus den Ergebnissen der Messungen zu entnehmen sind. (Schindler 2007)

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass die Verwendung von Thymollösung zur Lagerung humaner Zahnhartgewebe nicht geeignet ist. Selbst für eine kurzfristige Lagerung sollte auf Thymol als Zusatz verzichtet werden.

## 5.6. Diskussion der Ergebnisse für Speichel nach Fusayama

Künstlicher Speichel wird häufig in Versuchen verwendet, in denen die Bedingungen der Mundhöhle nachempfunden werden sollen. Hierbei kommt häufig der Speichel nach Fusayama zur Anwendung (Grosogoeat et al. 1999, Campus et al. 2007, Kaplan et al. 2003). Da künstlicher Speichel als alternatives Lagermedium auch zur Lagerung für andere Versuche interessant sein kann, wurde der Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften sowie auf die Oberflächeneigenschaften von humanen Zahnhartgeweben untersucht. Zur Verwendung kam der pH-neutrale Speichel nach Fusayama und wie bei allen anderen Messungen kamen nur Proben infrage, die ausmineralisiert waren und noch keinen Kontakt zur Mundhöhle hatten.

Aus den Messungen geht hervor, dass über den gesamten Lagerungszeitraum keine Veränderung der mechanischen Eigenschaften eintreten, und auch die optischen Eigenschaften zeigen keinerlei Veränderungen. Ein wichtiger Grund für die guten Messergebnisse ist, dass der Speichel nach Fusayama in der neutralen Zusammensetzung verwendet wurde. Beim Speichel nach Fusayama gibt es auch eine leicht saure Variante – diese würde aber die mechanischen Eigenschaften sicherlich so verändern, dass es wie auch bei der Kalziumchloridlösung zu Demineralisierungen käme. Bei der Lagerung in Fusayama-Speichel kann allerdings ein anderes Problem beobachtet werden: Wenn das Lagermedium nicht täglich gewechselt wird, kommt es sehr schnell zur Schimmelbildung auf den Proben. Wird allerdings das Lagermedium täglich gewechselt und ständig kühl gestellt, tritt dieses Phänomen nicht auf.

Aus diesen Untersuchungen geht also hervor, dass sich der pH-neutrale Speichel nach Fusayama sehr gut zur Lagerung von humanen Zahnhartgeweben eignet. Allerdings muss sehr genau auf den Wechsel und die Temperatur des Lagermediums geachtet werden.

## 5.7. Schlussfolgerungen

Die vorliegende Studie führt zu folgenden 5 Ergebnissen:

1. Eine Lagerung humaner, ausmineralisierter Zahnhartgewebe für 50 Tage in physiologischer Natriumchloridlösung hat keinen Einfluss auf die mechanischen und optischen Eigenschaften.
  - 1.1. Physiologische Natriumchloridlösung ist sehr gut für die Lagerung von humanen ausmineralisierten Zahnhartgeweben geeignet.
2. Eine Lagerung humaner Zahnhartgewebe für 50 Tage in Kalziumchloridlösung führt zu einer drastischen Reduktion der mechanischen Eigenschaften.
  - 2.1. Eine Lagerung humaner Zahnhartgewebe für 50 Tage in Kalziumchloridlösung führt zu einer starken Veränderung der Oberflächenbeschaffenheit.
  - 2.2. Kalziumchloridlösung ist für die Lagerung humaner Zahnhartgewebe nicht geeignet. Selbst eine Kurzzeitlagerung in diesem Medium ist nicht zu empfehlen.
3. Eine Lagerung humaner Zahnhartgewebe für 50 Tage in Hanks buffered salt solution hat keinen Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften.
  - 3.1. Eine Lagerung humaner Zahnhartgewebe für 50 Tage in Hanks buffered salt solution führt in kleinen Bereichen zu drastischen Veränderungen der Oberflächenbeschaffenheit. Aus diesem Grund ist die Verwendung von Hanks buffered salt solution bei Versuchen, bei denen es auf die Oberfläche ankommt, nur bedingt zu empfehlen.
  - 3.2. Bei Versuchen, bei denen es nicht auf die Beschaffenheit der Oberfläche ankommt, kann Hanks buffered salt solution als Lagermedium problemlos verwendet werden.
4. Eine Lagerung humaner Zahnhartgewebe für 50 Tage in 0,1%iger Thymollösung führt zu einer drastischen Reduktion der mechanischen Eigenschaften.
  - 4.1. Eine Lagerung humaner Zahnhartgewebe für 50 Tage in 0,1%iger Thymollösung führt zu Veränderungen der Oberflächenbeschaffenheit.
  - 4.2. 0,1%ige Thymollösung ist somit für die Lagerung von humanen Zahnhartgeweben nicht zu empfehlen. Auch auf eine kurzfristige Lagerung in diesem Medium sollte verzichtet werden.

5. Eine Lagerung humaner Zahnhartgewebe für 50 Tage in pH-neutralem Speichel nach Fusayama hat keinen Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften. Auch die Eigenschaften der Oberflächen zeigen keine Veränderungen.
- 5.1. Der pH-neutrale Speichel nach Fusayama ist für die Lagerung dentaler Zahnhartgewebe sehr gut geeignet.

## 6. Zusammenfassung

Die Aufgabe der vorliegenden Arbeit war es, den Einfluss verschiedener wässriger Lagerungsmedien, über einen Zeitraum von 50 Tagen, auf die mechanischen Eigenschaften Härte und Elastizitätsmodul sowie auf die Oberflächeneigenschaften humaner Zahnhartgewebe zu untersuchen.

Als Proben wurden ausschließlich impaktierte Weisheitszähne verwendet, die operativ von Patienten entfernt wurden, die das 25. Lebensjahr überschritten hatten. Nach der operativen Entfernung wurden alle Proben gesichtet und das optische Kriterium, die Größe des Foramen apicale, bestimmt. Alle Proben wurden dann in der gleichen Form vorbereitet. Jede Probe wurde mit einer diamantbesetzten Bandsäge in zwei Hälften geteilt. Diese Hälften wurden dann auf Objektträgern fixiert. Zur Verbesserung der Oberfläche wurden diese Hälften dann mit Siliziumkarbidpapier in steigender Körnung aufgeschliffen. Anschließend wurden die Oberflächen mit Polierscheiben und Diamantspray poliert. Auf allen Proben wurde im Schmelz und im Dentin ein Bereich von 4 mm<sup>2</sup> markiert; dieser Bereich (ROI) diente bei allen Messungen als Messbereich.

Vor Beginn der Lagerungsperiode wurde für jede einzelne Probe eine Referenzmessung durchgeführt, um die Ausgangswerte der mechanischen Eigenschaften zu bestimmen. Um die Beschaffenheit der Oberfläche zu dokumentieren, wurden vom Schmelz und vom Dentin Fotos mit 200-facher Vergrößerung erstellt. Nach Abschluss der Referenzmessung wurden die Proben im entsprechenden Lagermedium im Kühlschrank bei durchschnittlich 6 °C gelagert. Als Lagermedien wurden physiologische Natriumchloridlösung, Kalziumchloridlösung, Hanks buffered salt solution, 0,1%ige Thymollösung und Speichel nach Fusayama verwendet. Die Proben wurden dem entsprechenden Lagermedium nur noch zum Zweck der Bestimmung der mechanischen Eigenschaften sowie der Oberflächendokumentation an den jeweiligen Messtagen (1; 3; 5; 7; 10; 20; 30; 50) entnommen.

Die Messungen wurden mit dem Nanoindenter<sup>®</sup> II durchgeführt. Das Nanoindenter ist eine mechanische Mikrosonde, welche es ermöglicht, Eindruckexperimente im Nanometerbereich



durchzuführen. Bei allen Messungen wurden für jede Probe im Schmelz und Dentin wenigstens jeweils 9 Eindrücke im Messfeld (ROI) erzeugt. Aus den Kraft-Eindringtiefen-Diagrammen der Messungen wurden die Werte für die Härte und den Elastizitätsmodul bestimmt. Nach jeder Messung wurden die Proben sofort zurück in das entsprechende Lagermedium eingelegt. Die Auswertung der Messergebnisse zeigte, dass physiologische Natriumchloridlösung die mechanischen Eigenschaften nicht signifikant verändert. Die Oberflächen der Proben blieben bei der Lagerung in physiologischer Natriumchloridlösung ebenfalls unverändert. Ähnlich gute Ergebnisse für die Lagerung konnten auch für den pH-neutralen Speichel nach Fusayama nachgewiesen werden. Auch in diesem Medium blieben mechanische Eigenschaften und die Beschaffenheit der Oberfläche unverändert. Bei der Lagerung in Hanks buffered salt solution zeigte sich, dass sich die mechanischen Eigenschaften nicht signifikant veränderten. Allerdings zeigten einige Bereiche der Oberfläche Veränderungen. Aus diesem Grund ist Hanks buffered salt solution nur bedingt zur Lagerung von dentalen Zahnhartgeweben geeignet. Für Untersuchungen, in denen es nur auf die mechanischen Eigenschaften ankommt, kann Hanks buffered salt solution allerdings Verwendung finden. Die Lagerung in Kalziumchloridlösung führte zu gravierenden Veränderungen der mechanischen Eigenschaften. Auch die Eigenschaften der Probenoberfläche zeigten starke Veränderungen. Für die Lagerung von dentalen Zahnhartgeweben sollte Kalziumchloridlösung nicht verwendet werden. Ähnlich verhält es sich mit der 0,1%igen Thymollösung. Die mechanischen Eigenschaften zeigten während der gesamten Lagerungszeit starke Veränderungen. Auch die Oberfläche der Proben zeigte leichte Veränderungen bei der Lagerung in 0,1%iger Thymollösung. Allerdings waren diese nicht so gravierend wie die Veränderungen der mechanischen Eigenschaften. Als insgesamt günstigstes Lagermedium kann nach Auswertung aller Ergebnisse physiologische Natriumchloridlösung angesehen werden, da sie am kostengünstigsten und auch sehr einfach in der Herstellung ist. Allerdings sollte zur Sicherheit immer der pH-Wert bestimmt werden, da dieser sehr starken Schwankungen unterworfen sein kann (bis pH 4). Außerdem müssen die Zähne vollständig ausgereift bzw. ausmineralisiert sein, weil es sonst zu erheblichen Veränderungen der mechanischen Eigenschaften kommt. Für Versuche, die dem Mundhöhlenmilieu ähneln sollen, kann der Speichel nach Fusayama verwendet werden. Auch in diesem Lagermedium kommt es zu keiner Beeinflussung der mechanischen Eigenschaften sowie der Oberflächenbeschaffenheit.

## 7. Literaturverzeichnis

- Althoff, J., Quint, P., Krefting, E. R., Höhling, H. J. (1982): Morphological studies on the epiphyseal growth plate combined with biochemical and X-ray microprobe analyses. *Histochemistry* 74: 541–552
- Barlett, J. D., Simmer, J. P. (1999): Proteinases in developing dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 10 (4): 425–441
- Bigi, A., Foresti, E., Gregorini, R., Ripamonti, A., Roveri, N., Shah J. S. (1992): The role of magnesium on the structure of biological apatites. *Calcif Tissue Int* 50: 439–444
- Bor, Shinun Lee, Chun, Pin, Feng, Hui Lin (2003): Effect of Nd: YAG Laser Irradiation on the Hardness and Elastic Modulus of Human Dentin. *Journal of clinical Laser Medicine Surgery* 21 (1): 41–46
- Brudevold, F., Aasenden, R., Bakhos, Y. (1982): A preliminary study of posteruptive maturation of teeth in situ. *Caries Res* 16 (3): 243–248
- Buddecke, E.: *Biochemische Grundlagen der Zahnmedizin*, Walter de Gruyter, Berlin/Heidelberg, 1981
- Butler, W. T. (01/1998) : Dentin matrix proteins. *Eur J Oral Sci*, 106
- Butler, W. T., Ritchi, H. H., Bronckers, A. L. (1997): Extrazellular matrix proteins of dentin. *Ciba Found Symp*, 205: 107–115, discussion 1154–1157
- Campus, G., Garcia-Godoy, F., Gaspa, L., Panzanelli, A., Piu, P., Micera, G., Iugli, P., Sanna G. (2007): Dependence of kinetic variables in the short-term release of  $\text{Hg}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Zn}^{2+}$  ions into synthetic saliva from an high-copper dental amalgam. *Journal of Material Sciences: Material in Medicine* 18 (8): 1521–1527
- Chai, Y., Slavkin, H. C. (2003): Prospects for tooth regeneration in the 21th century: a perspective. *Micros Res Tech* 60 (5): 469–479
- Cooley, R. L., Dodge, W. W. (1989): Bond strength of three dentinal adhesives on recently extracted versus aged teeth. *Quintessence Int.* 20 (7): 513–516
- Cuy, J. L., Mann, A. B., Livi, K. J., Teaford, M. F., Weihs, T. P. (04/2002): Nano-indentation mapping of the mechanical properties of human molar tooth enamel. *Arch Oral Biol* 47 (4): 281–291

- Dietrich, P.: Kieferorthopädie I, 4. Auflage, Urban & Fischer, München/Jena, 2000
- Doerner, M. F., Nix, W. D. (1986): A method for interpreting the data from depthsensing indentation instruments. *J Mat Res* 1: 601
- Donoghue, P. C., Forey, P. L., Aldridge, R. J. (2000) Conodont affinity and chordate phylogeny. *Biol Rev Camb Philos Soc* 75: 191–251
- Ebstein, D. M., Pruitt, L. A. (2006): Nanoindentation of biological materials. *Nanotoday* 1: 26–33
- Eidam, J., Kleemann, W. J., Urban, R. (1991): Altersbestimmungen am Lebenden – Erfahrungen aus den Untersuchungen in Hannover. *Beiträge zur Gerichtlichen Medizin* 49 (Austria): 67–73
- Enders, S. (2002): Untersuchung der mechanischen Eigenschaften von spröden Schicht- und Kompaktsystemen durch Deformation kleiner Volumina. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
- Fincham A. G., Moradian-Oldak, J., Simmer, J. P. (06/1999): The structural biology of the developing dental enamel matrix. *J Struct Biol* 126 (3): 270–299
- Fischer-Cripps, A. C.: *Introduction to Contact Mechanics*. Springer Verlag New York, 2000
- Fränzel, W., Gerlach, R.: The Irradiation Action on Human Dental Tissue by X-rays and Electrons – A Nanoindenter Study. *Z Med Phys* 18, 2008a (4), im Druck, DOI: 10.1016/j.zemedi.2008.10.009
- Fränzel, W., Gerlach, R.: Messung mechanischer Eigenschaften von Hartgeweben ist nicht nur eine Frage von Nass oder Trocken. 39. Jahrestagung der deutschen Gesellschaft für Medizinische Physik, Oldenburg, 10.–13.09.2008b
- Fränzel, W., Gerlach, R., Hein, H.-J., Schaller, H.-G. (2006): Effect of tumor therapeutic irradiation on the mechanical properties of teeth tissue. *Z Med Phys* 16: 148–154
- Fortin, D., Beveridge, T. J (2000): Mechanistic routes to biomineral surface development. *Biology to Biotechnology and Medical Application*, Wiley-VCH, Weinheim: 7–24
- Fujita, T. (1953): Über die Gestalt der Schmelzprismen menschlicher Zähne. *Cell and Tissue Research* 38 (3): 237–258
- Gal, J. Y., Fovet, Y., Adib-Yadzi, M. (2001): About a synthetic saliva for in vitro studies. *Talante* 53 (6): 1103–1115

- Gängler, F., Arnold, W. H., Steinberg, D.: Zahnkaries – Grundlagen und Diagnostik. Konservierende Zahnheilkunde und Parodontologie, Thieme, Stuttgart/New York 2005, S. 112–136
- Grosogoaet, G., Reclaru, L., Lissac, M., Dalard, F. (1999): Measurement and evaluation of galvanic corrosion between titanium/Ti<sub>6</sub>Al<sub>4</sub>V implants and dental alloy by electromechanical techniques and auger spectrometrie. *Biomaterials* 20 (10): 933–941
- Grötz, K. A., Duschner, H., Thelen, M., Wagner, W. (1998): Histotomographische Untersuchungen zur Frage direkt radiogener Schmelzveränderungen. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie* 2 (2): 85–90
- Grötz, K. A., Riesenbeck, D., Brahm, R., Seegenschmied M., Al-Nawas, B., Dörr, W., Kutzner, J., Willich, N., Thelen, M., Wagner, W. (2001): Chronische Strahlenfolgen an den Zahnhartgeweben („Strahlenkaries“). *Strahlentherapie und Onkologie* 177 (2): 96–104
- Guidoni, G. (2008): Nano-mechanische und -tribologische Eigenschaften von mineralisiertem Gewebe. Dissertation, Montanuniversität
- Gustafson, M. B., Martin, R. B., Gibson, V., Storms, D. H. , Stover, S. M., Gibeling, J., Griffin, L. (1996): Calcium buffering is required to maintain bone stiffness in saline solution. *Journal of Biomechanics* 29: 1191–1194
- Habelitz, S., Marshall, G. W., Balloch, M., Marshall, S. J. (2002): Nanoindentation and storage of teeth. *J. Biomech* 35: 995–998
- Hall, A. F., Buchanan, C. A., Millett, D. T., Creanor, S. I., Strang, R., Foye, R. H. (1999): The effect of saliva on enamel and dentin erosion. *J Dent* 27(5): 333–339
- Hanks, J. H., Wallace, R. E.: *Proc. Soc. Exp., Biol Med* 71; 1949; 196
- Hawkins, C., Sterret, J., Russel, C. (1997): Citric acid demineralisation of cementum and dentin: the effect of the storage medium. *Journal of clinical Parodontologie* 24 (4): 264–271
- Hellwig, Klimek, Attin: Einführung in die Zahnerhaltung, 3. Auflage, Springer Verlag Berlin/Heidelberg, 2003
- Hertz, H. (1881): Über die Berührung fester elastischer Körper. *J Reine Angewandte Mathematik* 92: 156–171
- Höhling, H. J.: Bauelemente von Zahnschmelz und Dentin aus morphologischer, chemischer und struktureller Sicht. Hanser Verlag, München/Berlin, 1966

- Imbeni, V., Kruzig, J. J., Marshall, G. W., Marshall, S. J. (2005): The dentin-enamel-junction and the fracture of human teeth. *Nature Materials* März: 225–228
- Junqueira, Carneiro: *Histologie*, 3. Auflage, Springer Verlag Berlin/Heidelberg, 1991
- Kaplan, A. E., Williams, J., Billington, R. W., Branden, M. (2004): Effect of variation in particle size on biaxial flexural strength of two conventional glass-ionomer cements. *Journal of Oral Rehabilitation* 31: 373–378
- Kawasaki, K. (1997): Effect of Collagenase on Root Demineralisation. *Journal of Dental Res* 67 (1): 585–595
- Kick, F.: *Das Gesetz der proportionalen Widerstände und seine Anwendungen*. Felix, Leipzig, 1885
- Kinney, J. H., Balooch, M., Marshall, S. J., Marshall, G. W., Weihs, T. P.: Hardness and Young's modulus of human peritubular and intertubular dentin. *Archives of Oral Biology* 41: 9–13
- Koyama, E., Wu, C., Shimo, T., Pacifici, M. (2003): Chick limbs with mouse teeth: an effective in vivo culture system for tooth germ development and analysis. *Dev Dyn* 226 (1), 149–54
- Kuchling, H.: *Taschenbuch der Physik*. Fachbuchverlag, Leipzig, 2000
- Langmann, J.: *Medizinische Embryologie. Die normale menschliche Entwicklung und ihre Fehlbildungen*. 7. Auflage, Thieme Verlag, New York, 1985
- LeGeros, R. Z., Shannon, I. L. (1979): The crystalline components of dental calcium human vs. dog. *J Dent Res* 58: 2371–2377
- LeGeros, R. Z.: *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*. Karger, Basel, 1991
- Lehmann, Hellwig: *Zahnärztliche Propädeutik*. 9. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München/Jena, 2002
- Lijima, M., Nelson, D. G., Pan, Y., Kreinbrink, A. T., Adachi, M., Goto, T., Moriwaki, Y. (1996): Fluoride analysis of apatite crystals with a central planer OCP inclusion: concerning the role of F Ions on apatite/OCP/apatite structure formation. *Calcif Tissue Int* 59: 377–384
- Lippert, H.: *Anatomie*. 8. Auflage, Urban & Fischer Verlag, München/Jena, 2006

- Lorenz, D.: Untersuchungen zur homologen Vernetzungsnukleation mittels Nanoindentierung. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 2001
- Lüllmann, Rauch, R: Taschenlehrbuch Histologie. 2. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart/New York, 2006
- Magloire, H., Joffre, A., Bleicher, F. (1996): An in vitro study of human dental pulp repair. *Jour Dent Res* 75 (12): 1971–1978
- Mahoney, E., Ismail, F. S. M., Lilpatrik, N., Swain, M. (2004): Mechanical properties across hypomineralized/hypoplastic enamel of first permanent molar teeth. *European Journal of oral Sciences* 112 (6): 497–502
- Meinhard, H.: Rheologische Untersuchungen zu Härteeindruckexperimenten im Nanometer-bereich. Dissertation, MLU Halle-Wittenberg, FB Physik 1999
- Moll, K. J., Moll, M.: Kurzlehrbuch Anatomie. 17. Auflage, Urban & Fischer, München/Jena, 2002
- Morse, D. R. (1991): Age – related changes of the dental pulp complex and their relationship to systemic aging. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 72 (6): 721–745
- Nikiforuk, G.: Understanding dental caries. Band 1 & 2, Karger, Basel, 1985
- Nitzan, D. W., Michaeli, Y., Weinreb, M., Azaz, B. (1986): The effect of aging on tooth morphology: a study on impacted teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 61 (1), 54–60
- Oliver, W. C., Pharr, G. M. (1992): An improved technique for determining hardness and elastic modulus using load and displacement sensing indentation experiments. *J Mat Res* 7: 1564–1582
- Oyen, M. L., Cook, R. F. (2003): Load-displacement behavior during sharp indentation of viscos-elastic-plastic materials. *J Mat Res* 18: 139–150
- Pashley, D. H. (1991) Clinical correlations of dentin structure and function. *J Prosthet Dent* 66 (6): 777–781
- Paufler, P., Schulz, G.: Physikalische Grundlagen mechanischer Festkörpereigenschaften. Band II, Akademie Verlag, Berlin, 1978
- Pilz, M. E. W.: Praxis der Zahnerhaltung und oralen Prävention. Johann Ambrosius Barth, Leipzig, 1985

- Retief, D. H., Wendt, S. L., Bradley, E. L., Denys, F. R. (1989): The effect of storage media and duration of extracted teeth on the shear bond strength of Scotchbond 2/Silux to dentin. *Am J Dent* 2 (5): 269–273
- Rho, J. Y., Tsui, T. Y., Pharr, G. M. (1997): Elastic properties of human cortical and trabecular lamellar bone measured by nanoindentation. *Biomaterials* 18: 1325–1330
- Ruch, J. H., Lesot, H., Begue-Kirn, C. (1995): Odotoblast differentiation. *Int J Dev Biol* 39 (1): 51–68
- Ruch, J. V. (1998): Odontoblast commitment and differentiation. *Biochem Cell Biol* 76 (6): 923–938
- Sakai, M., Shimizu, S. (2002): Viscoelastic Indentation of Silicate Glasses. *J Am Ceram Soc* 85 (5): 1210–1216
- Sasaki, T. (1997): Structure and function of secretory ameloblasts in enamel formation. *Ciba Found Sympo* 205: 32–46
- Sasaki, T. (1984): Tracer, cytochemical and freeze – fracture study on the mechanisms where by secretory ameloblasts absorb exogeneous proteins. *Acta Anat Basel* 118 (1): 23–33
- Schiebler, Schmidt: *Anatomie*. 8. Auflage, Springer Verlag, Berlin/Heidelberg, 2002
- Schindler: *Persönliche Mitteilung*, 2007
- Schröder, H. E.: *Orale Strukturbiologie: Entwicklungsgeschichte, Struktur und Funktion normaler Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle und des Kiefergelenks*. 5. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart/New York, 2000
- Schwenzer, N., Ehrenfeld, M.: *Zahnärztliche Chirurgie Band 3*; 3. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart/New York, 2000
- Sneddon, I. N. (1965): The relation between load and penetration in the axialsymmetric Boussinesq problem for a punch of arbitrary profile. *Int J Engng Sci* 3: 47–57
- Sobotta, Hammerson: *Histologie*. 3. Auflage, Urban & Schwarzenberg, München/Wien/Baltimore, 1985
- Sohlheim, T. (1992): Amount of secondary dentin as an indicator of age. *Scand J Dent Res* 100 (4): 193–199

- Stillwell, N.A., Tabor, D. (1961): Elastic recovery of conical indentations. Proc Phys Soc London 78: 169–179
- Suelter, C. H. (1970): Enzymes activated by monovalent cations. Science 168: 789–795
- Tabor, D. (1948): A simple theory of static and dynamic hardness. Proc Roy Soc A 192: 247–277
- Ten, Cate (2007): Oral Histologie: Development, Structure and Function. Elsevier Health Sciences Edition 7
- Thesleff, I., Partanen, A. M., Vainino, S.: Epithelial – mesenchymal interactions in tooth morphogenesis (1991) The role of extracellular matrix, growth factors and cell surfaces receptors. J Craniofac Genet Dev Biol, 11 (4): 229–237
- Tsuboi, S., Nakagaki, H., Ishiguro, K., Kondo, K., Mukai, M., Robinson, C., Weatherell, J. A. (1994): Magnesium distribution in human bone. Calcif Tissue int 54: 34–37
- Unger, S. S.: Untersuchungen zur Zytotoxizität von dentalen Füllungsmaterialien am Beispiel von Amalgam und Gallium – Alloy, Dissertation, Universität Tübingen, 2004
- Waes, H. J. M., Stoeckli PW: Farbatlanten der Zahnmedizin, Band 17: Kinderzahnheilkunde. Thieme Verlag, New York, 2001
- Webb, J., St Pierre, T. G., Macey, D. J. (1990): Iron in biomineralization in invertebrates. Iron Biomaterials, Plenum Publishing, New York: 193–229
- Willems, G., Celis, J. P., Lambrechts, P., Braem, M., Vanherle, G. (1993): Hardness and Young's modulus determinate by nanoindentation technique of filler particles of dental restorative materials compared with human enamel. Journal Biomed Mater Res 27 (6): 747–755
- Wiesmann, H. P., Höhling, H. J., Zierold, K., Barckhaus, R. (1995): Elemental distributions in predentine associated with dentin mineralization in rat incisor. Connect Tissue Res 33: 179–184
- Wiesmann, H. P., Meyer, U., Plate, U., Höhling, H. J. (2005): Aspects of collagen mineralization in hard tissueformation. Int Rev Cytol 242: 121–156
- Ziskind, D., Gleitman, J., Rotstein, J., Friedman, M. (2003b): Evaluation of cetylpyridinium chloride for infection control in storage solution. Journal of Oral Rehabilitation 30: 477



Ziskind, D., Venezia, E., Kreisman, I., Mass, E. (2003a): Amalgam Type, adhesive system and storage period as influencing factors on mikroleakage of amalgam restorations. *Journal of Prosthetic Dentistry* 90 (3): 255–260

Zysset, P. K., Guo, X. E., Hoffler, C. E., Moore, K. E., Goldstein, S. A. (1999): Elastic modulus and hardness of cortical and trabecular bone lamelle measured by nanoindentation in the human femur. *Journal of Biomechanics* 32: 1005–1012

## 8. Abbildungsverzeichnis

<b>Abb.</b>	<b>Titel und Quelle</b>	<b>Seite</b>
1	Zahnglocke im 3. Embryonalmonat (in Anlehnung an Schiebler/Schmidt 2002, S. 429)	3
2	Bildung von Zahnhartgeweben im 4. Embryonalmonat und vergrößerter Bereich (in Anlehnung an Schiebler/Schmidt 2002, S. 429)	4
3	Schema der Entstehung und der Mineralisation der Schmelzprismen (E. Buddecke 1981, S. 70)	5
4	Topochemie der Dentinbildung durch Odontoblasten in Schematischer Ansicht (Buddecke 1981, S. 66)	7
5	Schematische Darstellung eines Hydroxylapatitkristalls (Hellwig/Klimek/Attin 2003, S. 5, Hydratschale nach Nikiforuk 1985)	8
6	Ausrichtung der Schmelzkristalle innerhalb der Schmelzprismen (Hellwig/Klimek/Attin 2003, S. 5)	8
7	Schematische Darstellung des histologischen Aufbau des Zahnschmelzes (Hellwig/Klimek/Attin 2003, S. 6, Konfiguration der Prismen nach Höhling 1966)	9
8	Schematische Darstellung der Dentinstruktur und der Dentinkanälchen im Längsschnitt (Hellwig/Klimek/Attin 2003, S. 8)	10
9	Schematische Darstellung der Dentinstruktur und der Dentinkanälchen im Querschnitt (eigene Darstellung)	10
10	Röntgenbild der verschiedenen Stadien der Zahnentwicklung	14
11	Röntgenbild eines durchgebrochenen Weisheitszahns	14
12	Röntgenbild eines retinierten Weisheitszahns	15
13	Röntgenbild eines teilretinierten Weisheitszahns	15
14	Röntgenbild eines impaktierten Weisheitszahns (Quelle Abb. 10–14 <a href="http://www.wikipedia.de">www.wikipedia.de</a> )	15

15	Eindringtiefen-Kraft-Diagramm (Enders 2000, S. 12)	25
16	Schematische Darstellung eines Eindruckquerschnitts (Enders 2000, S. 12)	25
17	Schematische Darstellung der Probenaufbereitung (eigene Darstellung)	29
18	Schematische Darstellung des Nanoindenter®II (Lorenz 2001)	32
19	Schematische Darstellung des Aufbaus des Indenterkopfes (Lorenz 2001)	33
20–21	Einzelmessungen für Schmelz und Dentin (eigene Darstellung)	36
22–23	Änderung der Härte und des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in physiologischer Kochsalzlösung	39
24	Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	40
25–26	Änderung der Härte und des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in physiologischer Kochsalzlösung	41
27	Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	41
28–29	Änderung der Härte und des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in Kalziumchloridlösung	43
30	Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	44
31–32	Änderung der Härte und des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in Kalziumchloridlösung	45
33	Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	46
34–35	Änderung der Härte und des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in HBSS	47
36	Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	48
		49

37–38	Änderung der Härte und des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in HBSS	
39	Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	50
40–41	Änderung der Härte und des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in 0,1%iger Thymollösung	51
42	Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	51
43–44	Änderung der Härte und des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in 0,1%iger Thymollösung	53
45	Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	53
46–47	Änderung der Härte und des E-Moduls des Schmelzes über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in pH-neutralem Speichel nach Fusayama	55
48	Oberflächen des Schmelzes an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	55
49–50	Änderung der Härte und des E-Moduls des Dentins über einen Lagerungszeitraum von 50 Tagen in pH-neutralem Speichel nach Fusayama	57
51	Oberflächen des Dentins an den Lagerungstagen 0 (a), 10 (b) und 50 (c)	57
52–53	Änderung der Härte und des E-Moduls des Schmelzes nicht vollständig mineralisierter Zähne über einen Lagerungszeitraum von 6 Wochen in physiologischer Natriumchloridlösung	60
54–55	Änderung der Härte und des E-Modul des Dentins nicht vollständig mineralisierter Zähne über einen Lagerungszeitraum von 6 Wochen in physiologischer Natriumchloridlösung	60

## 9. Thesen

1. Natriumchlorid ist zur Lagerung humaner Zahnhartgewebe sehr gut geeignet.
2. Kalziumchloridlösung ist für die Lagerung humaner Zahnhartgewebe nicht geeignet.
3. Hanks buffered salt solution ist für die Lagerung humaner Zahnhartgewebe gut geeignet wenn die physikalischen Eigenschaften Härte und E-Modul untersucht werden sollen.
4. Hanks buffered salt solution ist für die Lagerung humaner Zahnhartgewebe nicht geeignet wenn die Oberflächeneigenschaften untersucht werden sollen.
5. Thymol ist für die Lagerung von humanen Zahnhartgeweben nicht geeignet.
6. Speichel nach Fusayama ist für die Lagerung von humanen Zahnhartgeweben sehr gut geeignet.

# **Lebenslauf**

## Persönliche Angaben

Name: Christian  
Vorname: Grünberg  
Geburtsdatum: 08.10.1978  
Geburtsort: Halle/Saale  
Familienstand: ledig

## Berufliche Tätigkeit

seit 02-2010 Selbstständigkeit in eigener Praxis  
Gemeinschaftspraxis Grünberg / Urbanek  
Bahnhofstr. 7, 17213 Malchow  
01-2008 bis 01-2010 Assistenzzeit zum Erhalt der Kassenzulassung  
Zahnarztpraxis Dr. F.-U. und Dr. G. Kühnl  
Schraplauer Str. 7, 06317 Röblingen am See

## Hochschulbildung

10-2002 bis 11-2007 Zahnmedizinstudium  
Martin Luther Universität Halle - Wittenberg

## Berufsausbildung

09-1999 bis 08-2002 Ausbildung zum Krankenpfleger  
Kreiskrankenhaus Blankenburg

## Zivildienst

08-1998 bis 09-1999 Zivildienst  
Neinstedter Anstalten

## Schulbildung

09-1991 bis 08-1998 Abitur  
„Gymnasium am Thie“ Blankenburg  
09-1985 bis 08-1991 Grundschule  
POS „Hans Böheim“ Wienrode

Malchow, den 14.07.2013

## **Selbstständigkeitserklärung**

Ich erkläre an Eides statt, dass ich vorliegende Dissertation selbstständig und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel erstellt habe.

Malchow, den 14.07.2013

## **Erklärung über frühere Promotionsversuche**

Hiermit erkläre ich, dass ich diesen Antrag auf Eröffnung des Promotionsverfahrens der vorliegenden Arbeit erstmalig beim Dekan des wissenschaftlichen Rates der medizinischen Fakultät der Martin - Luther - Universität Halle - Wittenberg stelle und in der Vergangenheit auch in keiner anderen Universität gestellt habe.

Malchow, den 14.07.2013

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Schaller, der mir dieses interessante Thema überlassen hat, den Weg wies und stets Zeit für meine Konsultationen fand.

Ebenso bin ich auch Dr. Fränzel aus dem Fachbereich Physik zu großem Dank verpflichtet. Er hatte stets Zeit für alle Probleme, die sich mit dieser Dissertation ergaben. Ohne seine Einweisung am Nanoindenter<sup>®</sup> II und seine hilfreichen Vorschläge wäre diese Arbeit in dieser Form nicht möglich gewesen.