

**Oberflächenmikrostruktur von Zahnhartgeweben nach
Bestrahlung mit unterschiedlichen Lasersystemen
- eine Pilotstudie unter Nutzung der AFM-Technologie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Matthias Josef Schäper

aus Vreden

2016

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. dent. M. Frentzen
2. Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. C. Bourauel

Tag der Mündlichen Prüfung: 24.05.2016

Aus der Poliklinik für Parodontologie, Zahnerhaltung und Präventive Zahnheilkunde
des Zentrums für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. med. dent. S. Jepsen

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	8
1.	Einleitung.....	9
1.1	Einführung.....	9
1.2	Wirkung von Lasern auf die Zahnhartsubstanz	10
1.2.1	Thermische Wechselwirkung	11
1.2.2	Thermomechanische Wechselwirkung.....	12
1.2.3	Photoablation/Photodisruption	12
1.3	Verschiedene Lasersysteme für die oralmedizinische Anwendung.....	14
1.3.1	Er:YAG- und Er,Cr:YSGG-Laser	14
1.3.2	Ultrakurzpulslaser.....	15
1.3.3	Diodenlaser	16
1.4	Methoden zur Darstellung von Laserinteraktion an Zahnhartsubstanz	19
1.4.1	Temperatursonde.....	19
1.4.2	Thermographie	19
1.4.3	Untersuchung der Morphologie	20
1.4.3.1	Lichtmikroskopie/Dünnschliffe	20
1.4.3.2	Rasterelektronenmikroskopie	20
1.4.3.4	Rasterkraftmikroskopie.....	21
1.5	Ziel der Untersuchung.....	22
2.	Material und Methode	23
2.1	Material	23
2.1.1	Lasersysteme	23
2.1.1.1	Er:YAG-Laser	23
2.1.1.2	Ultrakurzpulslaser.....	24
2.1.1.3	980 nm-Diodenlaser	25

2.1.1.4	445 nm-Diodenlaser	25
2.1.2	Probekörperherstellung	26
2.1.2.1	Fotodokumentation.....	27
2.2	Bearbeitung der Präparate mit den verschiedenen Lasersystemen	27
2.2.1	Er:YAG-Laser	27
2.2.2	Ultrakurzpuls laser.....	28
2.2.3	Diodenlaser	30
2.3	Konfokalmikroskopie	32
2.4	Rasterkraftmikroskopie.....	33
2.5	Vorbereitung der Präparate für das Rasterelektronenmikroskop	34
2.6	Rasterelektronenmikroskopie	35
2.7	Versuchssystematik	37
2.7.1	Vorbereiten der Dentin- und Schmelzproben	37
2.7.2	Bestrahlen der Proben mit den unterschiedlichen Lasersystemen.....	37
2.7.3	Untersuchung der Proben	39
2.8	Datenerfassung und Statistik	40
3.	Ergebnisse	41
3.1	Fotodokumentation.....	41
3.2	Konfokalmikroskopie	43
3.3	Rasterkraftmikroskopie.....	49
3.4	Rasterelektronenmikroskopie	58
4.	Diskussion	64
4.1	Methodenkritik.....	64
4.2	Bewertung der Ergebnisse und Literaturvergleich.....	65
4.3	Ausblick.....	70
5.	Zusammenfassung	72

6.	Tabellenverzeichnis	74
7.	Abbildungsverzeichnis	76
8	Literaturverzeichnis	80
9.	Danksagung.....	93

Abkürzungsverzeichnis

aPDT	antiinfektiöse Photodynamische Therapie
AFM	atomic force microscop, Rasterkraftmikroskop
CFM	Konfokalmikroskop
CO₂	Kohlendioxid
DGZMK	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
Er,Cr:YSGG	Erbium Chromium-dotierter Yttrium-Scandium-Gallium-Garnet-Laser
Er:YAG	Erbium-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat Y ₃ Al ₅ O ₁₂ -Laser
LED	light-emitting diode, Leuchtdiode
LLLT	Low Level Lasertherapie
Nd:YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser
ND: YVO₄	Neodym-dotierter Yttrium-Vanadat-Laser
REM	Rasterelektronenmikroskop
R_z	gemittelte Rauhtiefe

1. Einleitung

1.1 Einführung

Im Jahr 1960 entwickelte T. H. Maiman auf den theoretischen Grundlagen von Albert Einstein den ersten funktionierenden Laser (Maiman et al., 1960). Erste Versuche zur Ablation von Zahnhartgewebe wurden bereits 1964 mittels eines Rubin-Lasers durchgeführt (Goldman et al., 1964; Stern und Sognnaes, 1964). Seitdem hat sich die Laserforschung auf dem Gebiet der Zahnheilkunde stetig weiterentwickelt. Zu den wichtigsten Lasertypen in der Zahnmedizin gehören Halbleiter- (Dioden-), Er:YAG-, Er:YSGG-, Nd:YAG- und CO₂-Laser (Sulimann, 2005). Keiner dieser Laser erwies sich allerdings als echte Alternative zu konventionellen Bohrern und Diamanten (Altshuler et al., 1991). Auch wenn alle Laser auf denselben physikalischen Grundlagen beruhen, unterscheiden sie sich doch in vielen Punkten wie z. B. Wellenlänge, Pulslänge und Wiederholungsrate. Dies führt zu verschiedenen biologischen Wirkungen, die zu unterschiedlichen Zwecken eingesetzt werden können (Frentzen und Koort, 1991).

Die Indikation für Erbium-Laser (Er:YAG und Er:YSGG) zur Karies-Entfernung kann als gesichert angesehen werden (Meister, 2011). Zurzeit handelt es sich dabei um die einzigen Lasersysteme zur Kavitätenpräparation mit klinischer Relevanz (Matsumoto et al., 2007). Weitere Erfolge in diesem Bereich konnten auf In-Vitro-Basis mit der Anwendung eines modengekoppelten Nd:YAG-Lasers mit einer Pulslänge von 8 ps und einer Wellenlänge von 1064 nm erzielt werden (Engelbach et al., 2014; Schelle et al., 2013).

Erste vielversprechende Untersuchungen mit gepulsten Lasern mit Pulsdauern im Piko- und Femtosekundenbereich wurden bereits 1993 angestellt (Niemz et al., 1993).

Dioden-Laser im Wellenlängenbereich von 635 nm bis 980 nm werden neben der Parodontologie und der Endodontie hauptsächlich in der Weichgewebschirurgie erfolgreich angewendet und stellen eine echte Alternative zum Skalpell dar (Moritz et al., 2006). Einige Studien zeigen keine Veränderung von Zahnhartsubstanz nach Bestrahlung mit Diodenlasern (Borrajó et al., 2004; Castro et al., 2006), in anderen Studien konnten Karbonisierungserscheinungen und Oberflächenabsprengungen nachgewiesen werden (Kreiser et al., 2002a; Kreiser et al., 2002b; Schwarz et al., 2003). Bei der Applikation von Laserstrahlen in der Mundhöhle kann es versehentlich zu unkontrollierten Reflexionen kommen. Polierte Goldoberflächen können bis zu 90 % der Energie reflektieren (Sievers

et al., 1993). Hierbei kann es auch bei Weichgewebsinterventionen zu einer Schädigung benachbarter Hartgewebe kommen (Neiburger und Miserendo, 1988). Der in der vorliegenden Arbeit genutzte 445 nm-Diodenlaser ist ebenso wie der vorher genannte Ultrakurzpulslaser Teil der zahnmedizinischen Grundlagenforschung.

1.2 Wirkung von Lasern auf die Zahnhartsubstanz

Die Bestrahlung von biologischem Gewebe mit Laserlicht führt zu verschiedenen Interaktionsmechanismen. Sie beruhen stets auf Wechselwirkungen der Lichtquanten mit den Molekülen und Molekülverbänden in dem Zielmaterial (Koort, 1994).

Die daraus resultierenden Interaktionsmechanismen werden in folgende Arten eingeteilt (Niemz, 2002):

1. photochemische Wechselwirkungen
2. thermische Wechselwirkungen
3. Photoablation
4. plasma-induzierte Ablation
5. Photodisruption

Im Allgemeinen sind sie abhängig von den optischen Eigenschaften des bestrahlten Gewebes sowie dessen Zusammensetzung. Außerdem sind sie abhängig von den gewählten Laserparametern (Wellenlänge, Betriebsmodus, Energie- bzw. Leistungsdichte) (Abb. 1) und von der Handhabung des Applikators (Kontakt/ non-Kontakt) (Meister, 2011).

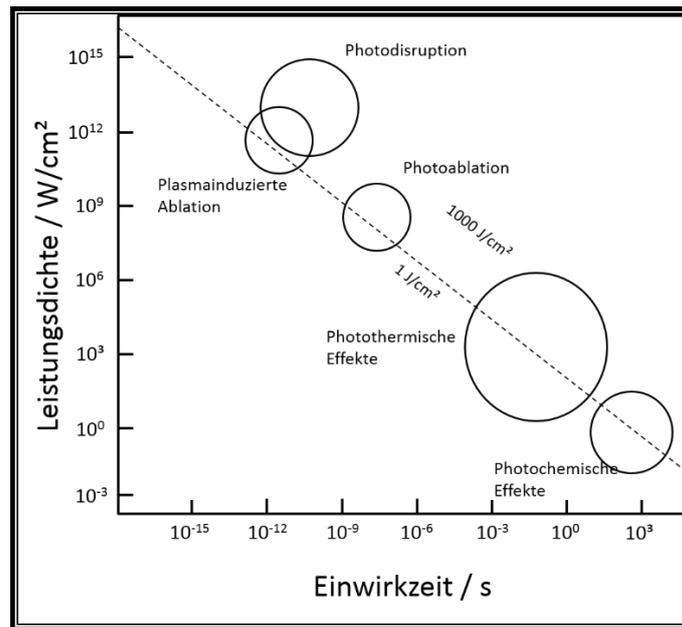


Abb. 1: Laser-Gewebe-Interaktion in der Abhängigkeit von Leistungsdichte pro Zeiteinheit (nach Berlien und Müller, 1989)

1.2.1 Thermische Wechselwirkung

Bei der Bestrahlung mit Laserlicht werden Photonen bei Auftreffen im Gewebe absorbiert. Ihre Energie wird in kinetische Energie und somit in Wärme umgewandelt. Abhängig von Dauer und Ausmaß der Erwärmung kann es zu verschiedenen Reaktionen im Gewebe kommen. Schädigungen im Gewebe sind ab einer Temperatur von 40 – 45 °C zu erwarten. Es kommt zur Ödembildung und bei längerer Bestrahlung zum Zelltod (Tab. 1). Zwischen 60 °C und 100 °C kommt es zur Koagulation (Denaturierung von Proteinen und Kollagen) und damit zu Gewebstnekrosen. In diesem Zusammenhang ist eine typische weißlich-graue Verfärbung zu beobachten. Ab 150 °C karbonisiert das Gewebe. Durch die Hitze wird Kohlenstoff freigesetzt und es kommt zur Schwarzfärbung. Bei weiteren Temperaturerhöhungen kommt es ab 300 °C zum Verdampfen des Gewebes.

Die räumliche Ausdehnung der Schädigung ist abhängig von den gewählten Laserparametern, aber auch von den optischen und thermischen Gewebeeigenschaften.

Die vorstehend genannten Eigenschaften können sich im Laufe der Laserbestrahlung ändern. Karbonisation führt zu einem erhöhten Absorptionsverhalten und damit zu einer verstärkten Temperaturerhöhung. Das Austrocknen von Gewebe beeinträchtigt dagegen die Wärmeleitfähigkeit und führt somit ebenfalls zu einer Temperaturerhöhung (Koort, 1994; Niemz, 2002).

Tab. 1: Laserwirkung und Gewebeveränderungen in Abhängigkeit von der Temperatur (nach Koort, 1994).

Temperatur	Auswirkung
37 °C	keine irreversiblen Gewebeschäden
40-45 °C	Enzyminduktion, Ödemausbildung, Membranauflockerung, Zelltod (zeitabhängig)
60 °C	Proteindenaturierung, Beginn der Koagulation, Nekrosen
80 °C	Kollagendenaturierung, Membrandefekte
100 °C	Trocknung
>150 °C	Karbonisierung
>300 °C	Verdampfung, Vergasung

1.2.2 Thermomechanische Wechselwirkung

Wird der Laserstrahl besonders gut im Wasser absorbiert, kommt es durch starke Volumenzunahme zu einem explosionsartigen Verdampfen des Wassers und zur mechanischen Beschädigung des Gewebes. Die thermischen Nebeneffekte sind nur in geringem Maße vorhanden. Diese Art der Wechselwirkung ist besonders beim Er:YAG-Laser ($\lambda = 2,94 \mu\text{m}$) und beim Er,Cr:YSGG-Laser ($\lambda = 2,78 \mu\text{m}$) zu beobachten. Häufig wird die thermomechanische Wechselwirkung zu den thermischen Effekten gezählt (Koort, 1994).

1.2.3 Photoablation/Photodisruption

Bei Leistungsdichten von 10^7 - 10^8 W/cm^2 bei Pulsdauern im Nanosekundenbereich kommt es zu einer direkten Dissoziation von Molekülen. Eine Übertragung von Wärme auf das Gewebe ist wegen der sehr kurzen Interaktionszeit stark eingeschränkt (Frentzen und Koort, 1991; Niemz, 2002). Mittels Photoablation können bestrahlte Bereiche präzise und klar definiert abgetragen werden. Durch das Aufspalten der Molekülverbindungen und der damit verbundenen Volumenexpansion werden die Fragmente des bestrahlten Gewebes

explosionsartig herausgeschleudert. Dieser Effekt kann erst bei einer Photonenenergie von $h\nu > 3,6 \text{ eV}$ bzw. einer Wellenlänge $\lambda < 350 \text{ nm}$ beobachtet werden (Niemz, 2002). Der Gewebeabtrag nimmt ab einer gewebespezifischen Energiedichte stark zu. Ab diesem Zeitpunkt spricht man von Ablation. Die Ablation steigt bis zu einem Sättigungsbereich an. An diesem Punkt bildet sich ein Plasma an der Oberfläche und absorbiert einen Teil der Strahlung (*plasma shielding*), deshalb stagniert die Ablationsrate ab einer gewissen Energiedichte (Berlien und Müller, 1998).

Wenn die Energiedichte 10^{11} W/cm^2 in Festkörpern und Flüssigkeiten übersteigt, kommt es zur Ionisation der Materie (optischer Durchbruch). Zur Entstehung dieses Effektes sind freie Elektronen notwendig. Diese entstehen durch Multiphotonenionisation von Atomen und Molekülen. Nachdem sie vorhanden sind spielt das Absorptionsverhalten des Gewebes keine Rolle mehr. Die freien Elektronen werden durch den Laserstrahl beschleunigt (inverse Bremsstrahlung). In einer lawinenartigen Kettenreaktion (*avalanche effect*) werden weitere Elektronen freigesetzt, die den gleichen Prozess durchlaufen. Eine weitere Möglichkeit der Plasmaentstehung ist das Aufheizen des absorbierenden Gewebes auf mehrere $1000 \text{ }^\circ\text{C}$ bei Pulsdauern im Mikrosekundenbereich. In beiden Fällen sind sekundäre Prozesse zu beobachten. Das Plasma dehnt sich mit einem mehrfachen der Schallgeschwindigkeit aus und es kommt zur Entstehung einer hörbaren Schall- bzw. Druckwelle. Des Weiteren strahlt heißes Plasma sichtbares und infrarotes Licht aus. Durch die plasmainduzierte Ablation kann ein sauberer, klar definierter Gewebeabtrag erreicht werden, ohne thermische oder mechanische Schädigungen der umliegenden Bereiche (Berlien und Müller, 1989; Frentzen und Koort, 1991; Koort, 1994; Niemz, 2002).

Je höher die Pulsenergien ansteigen desto größer wird der Einfluss der vorher genannten sekundären Effekte, insbesondere der Druckwelle. Während die Ablationsrate durch das *plasma shielding* begrenzt wird, skalieren die mechanischen Effekte der Druckwelle linear mit der absorbierten Energie. Das führt zu einem Aufbrechen des Gewebes und ist nicht auf den bestrahlten Bereich beschränkt. Bereits bei Pulsen im Nanosekundenbereich beträgt die räumliche Ausdehnung der Schockwelle mehrere Millimeter. Die aufgebauten Druckwellen liegen in einer Größenordnung von bis zu einigen Hundert kbar und sind durch ein knallendes Geräusch hörbar (photoakustischer Effekt). Dieser Typ der Laser-Gewebe-Interaktion wird als Photodisruption bezeichnet (Frentzen und Koort, 1991; Niemz, 2002).

1.3 Verschiedene Lasersysteme für die oralmedizinische Anwendung

Zu den vielfältigen Einsatzgebieten in der Zahnheilkunde gehören die lasergestützte Kavitätenpräparation, Photopolymerisation, Kariesprävention, Endodontie, Parodontaltherapie, Behandlung von Dentinhypersensibilität, Bleaching, Chirurgie, photodynamische Therapie und Therapie mit niedrig energetischen Lasern (LLLT) (Moritz et al., 2006). Im Folgenden sollen die in dieser Studie verwendeten Lasersysteme und ihre Einsatzmöglichkeiten näher beschrieben werden.

1.3.1 Er:YAG- und Er,Cr:YSGG-Laser

Der Er:YAG-Laser ist ein Festkörperlaser mit einer Emissionswellenlänge von 2,94 μm . Kommerzielle Laser mit einer Pulswiederholrate von bis zu 50 Hz und einer Durchschnittsleistung von 20 W können bei Pulsenergien von 1 J betrieben werden. Pulsdauern von 50 bis 1000 μs sind möglich. Die Wellenlänge entspricht einem Maximum der Absorption von Wasser. Durch den hohen Grad der Absorption kommt es im Gewebe nur zu einer geringen Eindringtiefe von wenigen Mikrometern und damit zu einem athermischen Gewebeabtrag (Meister, 2011). Meister et al. (2006) konnten zeigen, dass der Wassergehalt von Schmelz keinen und der Wassergehalt von Dentin nur einen geringen Einfluss auf die Ablation haben. Stattdessen kommt dem Wasserspray, welches beim Einsatz von Lasern obligatorisch ist, eine essentielle Rolle bei der Laser-Gewebe-Interaktion zu. Das Wasser wird stark erhitzt und vaporisiert. Durch die Volumenausdehnung wird das bestrahlte Gewebe explosionsartig herausgeschleudert. Durch die hohe Geschwindigkeit der Ablation wird kaum Temperatur an die Umgebung abgegeben. Beim Einsatz von Er:YAG-Lasern entsteht ein knallendes Geräusch. Hierbei handelt es sich um den photoakustischen Effekt (van As, 2004). Es konnte nachgewiesen werden, dass Laser eine bakterizide Wirkung haben. Das Wasser in den Bakterienzellen unterliegt denselben Mechanismen die auch bei der Ablation zum Tragen kommen (Ando et al., 1996; Hibst et al., 1996; Mehl et al., 1999). Zur Lichtübertragung vom Laser zum Patienten stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. Der Laserstrahl kann über einen Spiegelgelenkarm, eine Lichtleitfaser oder mittels Hohlwelle übertragen werden. Die Strahlung tritt entweder über ein Fenster (Non-contact Handstück) oder über einen Applikator-Tip aus (Meister, 2011).

Glockner et al. (1999) konnten nachweisen, dass es bei der Bestrahlung mit einem Laser zu einer deutlich geringeren Temperaturerhöhung in der Pulpa kommt als mit konventionellen rotierenden Instrumenten. Auch histologisch zeigen sich bei Verwendung des Lasers keine Nachteile (Miserendino et al., 1998). Den Wunsch nach einem „optischen Bohrer“ (Frentzen und Koort, 1991) und damit nach dem Ersatz von rotierenden Instrumenten kann der Laser allerdings nur in gewissen Bereichen bieten (Raucci-Neto et al., 2011; Bertrand et al., 2006). Von Nachteil ist der größere Zeitaufwand der Präparation (Shigetami et al., 2002). Dies führt allerdings nicht zwangsläufig zu einer längeren Behandlungsdauer. Keller et al. (1998) konnten zeigen, dass die Behandlung mittels Laser besser von den Patienten akzeptiert wird und in weniger Fällen eine Lokalanästhesie notwendig ist. Da sich Licht nur gerade ausbreiten kann ist es nicht möglich, unter sich gehende Bereiche zu präparieren. Auch die Präparation eines Zahnes für Kronen und Brücken ist nicht möglich, da der Laser nicht dafür geeignet ist, glatte Flächen zu produzieren. Diese Eigenschaft macht ihn deshalb besonders geeignet zur Präparation von Zahnhartsubstanz für die direkte Versorgung mit Restaurationsmaterialien, insbesondere zur Bearbeitung von Klasse V Kavitäten (Meister, 2011; Riess, 2005). Den Grund für die ungleichmäßige Gewebeablation konnten Meister et al. (2003) durch unterschiedliche Energiedichten im Strahlprofil des Lasers nachweisen. Wissenschaftliche Untersuchungen über die Verbundstärke von bestrahlter Zahnhartsubstanz und Füllungsmaterial konnten bisher keine eindeutigen Ergebnisse liefern (Visuri et al., 1996; Ramos et al., 2002). Für die Entfernung von Amalgam besteht eine Kontraindikation, da bei der Ablation gesundheitsschädliche Quecksilberdämpfe entstehen (Meister, 2011). Der Er:YAG-Laser ist zurzeit der einzige Laser, der von der DGZMK zur Ablation von Zahnhartgeweben empfohlen wird.

1.3.2 Ultrakurzpulslaser

Ultrakurzpulslaser arbeiten mit gepulstem Laserlicht mit Pulsdauern im Bereich von Piko- und Femtosekunden. Ihre Wellenlänge liegt im Bereich von 1 μm . Sie sind zurzeit Objekt der zahnmedizinischen Grundlagenforschung und man verspricht sich von ihnen hochpräzise Bearbeitung oraler Hart- und Weichgewebe. Es lassen sich Pulsleistungen von einigen Gigawatt pro Quadratzentimeter erreichen. Aufgrund der extrem kurzen Pulsdau-

ern liegt die übertragene Energiemenge nur im Bereich von einigen Mikrojoule ($\mu\text{J} = 10^6 \text{ J}$). Insoweit kommt es nur zu einer sehr geringen Erwärmung des Gewebes. Es ist möglich ohne Kühlmedium präzise Kavitäten zu schaffen ohne thermische Schädigung oder Rissbildung im umliegenden Gewebe (Niemz et al., 1993). Braun et al. (2013) haben allerdings gezeigt, dass die Temperaturerhöhung bei der Bestrahlung mit einem Ultrakurzpuls laser ohne Kühlmedium ausreichend sein könnte, um irreversible Pulpaschädigungen zu verursachen. Allerdings wurde hier der Einfluss der Mikrozirkulation in der Pulpa außen vor gelassen und auch die Fähigkeit von Dentin, als thermischer Isolator zu wirken wurde nicht beachtet. Die Bedeutung beider Effekte konnte bereits in vorhergehenden Studien nachgewiesen werden (Al-Qudah et al., 2005; Kodonas et al., 2009). Weitere Untersuchungen müssen ihren klinischen Einfluss und die Notwendigkeit eines Kühlprozesses klären (Braun et al., 2013). Niemz (1995) konnte nachweisen, dass die Ablationsrate in kariösem Schmelz etwa 10-mal so groß ist wie in gesundem Schmelz. Das bedeutet, dass effektive Kariesentfernung mit Ultrakurzpuls lasern möglich ist. Engelbach et al. (2014) bestätigen diese Erkenntnisse. Auch eine Ablation von Dentin, Schmelz, Keramik und Komposit kann durch Veränderung der Energieflussdichte erreicht werden (Schelle et al., 2013). Auch im Bereich der Ablation von Restaurationsmaterialien (Zement, Keramik, Komposit) muss die Hitzeentwicklung beachtet werden. Es ist zu klären, ob ein Kühlprozess bei der Ablation von Restaurationsmaterialien in pulpanahen Bereichen notwendig ist (Braun et al., 2012). Des Weiteren konnten vielversprechende Ergebnisse im Bereich der Ablation von Knochengewebe erzielt werden (Plötz et al., 2014). Auch hier sind weitere Untersuchungen notwendig um die klinische Relevanz der Ergebnisse zu bestätigen.

1.3.3 Diodenlaser

Diodenlaser arbeiten mit einer elektrisch gepumpten Halbleiterfaser als Medium. Ihre Wellenlänge kann zwischen 0,4 und 1 μm liegen. In der Zahnheilkunde finden sie seit Mitte der neunziger Jahre Anwendung. Eine Übersicht über die genutzten Wellenlängen ist in Tab. 2 zu finden.

Tab. 2: Anwendungsgebiete der Dioden-Laser in der Zahnmedizin und dazugehörige nutzbare Wellenlänge (nach Krause et al., 2007a).

Anwendungsgebiet	Wellenlängenbereich (nm)
Laserfluoreszenzdiagnostik von Karies und Konkrementen	655
antiinfektiöse Photodynamische Therapie (aPDT)	635, 660
Low Level Laser Therapie (LLLT)	z. B. 635, 830
Laserunterstützte Zahnaufhellung (Bleichen)	810-980
Gewebedesinfektion in der Endodontie und Parodontologie	810-980
Weichgewebeschirurgie	810-980

Die niedrig energetische Lasertherapie (LLLT) ist auch unter dem Namen „Soft-Lasertherapie“ oder Biostimulation bekannt. Meist wird sie mit Diodenlasern durchgeführt. Durch Laserstrahlen mit niedriger Intensität sollen Schmerzen reduziert, Entzündungen bekämpft und Wundheilung beschleunigt werden (Moritz et al., 2006). Walsh (1997) konnte eine Wirksamkeit für bestimmte Anwendungsgebiete nachweisen. Allerdings konnten in Doppel-Blindstudien keine Unterschiede zu Placebo-Gruppen festgestellt werden (Fernando et al., 1993; Røynesdal et al., 1993).

Es ist möglich, lichtaktivierbare Stoffe (Photosensibilisatoren) mittels Laserlicht mit niedriger Leistungsdichte zu verändern, so dass sie zytotoxische Effekte an Mikroorganismen bewirken (Braun, 2007). Diese Vorgänge macht man sich im Rahmen der antimikrobiellen Photodynamischen Therapie (aPDT) zu Nutze. Es konnte gezeigt werden, dass die aPDT als Ergänzung der konventionellen Therapie ein signifikant besseres Ergebnis in der Therapie der chronischen Parodontitis liefert (Andersen et al., 2007). Auch bei Wurzelkanal-desinfektion in der endodontischen Therapie konnten mittels aPDT vielversprechende Ergebnisse erzielt werden (Bonsor et al., 2006).

Aber auch durch direkte Bestrahlung mit einem 810 nm-Diodenlaser konnte eine 99,9% Bakterienreduktion im mit *E.coli* und *Enterococcus faecalis* beimpften Wurzelkanal erreicht werden (Moritz et al., 1997). Es wurde gezeigt, dass die direkte Bestrahlung von parodontalen Taschen nach mechanischer Bearbeitung eine Alternative zu chemischen

Spüllösungen darstellt (Moritz et al., 1998). Hierbei dürfen nur Wellenlängen eingesetzt werden, die das Hartgewebe nicht zerstören, gleichzeitig aber eine positive Wirkung auf das in der Tasche vorhandene Keimspektrum haben (Krause, 2007a). Eine Entfernung von subgingivalen Konkrementen ist mit dem Diodenlaser nicht möglich (Schwarz et al., 2003). Bach et al. (2000) zeigten aber, dass die desinfizierende Wirkung des Lasers zu einem verringerten Rezidiv in der Periimplantitistherapie führt.

Eine weitere Einsatzmöglichkeit des Diodenlasers erfolgt in der Weichteilchirurgie. Hier erfolgen eine gute Absorption im durchbluteten und pigmentierten Gewebe und eine geringe Absorption in Zahnhartgeweben. Er bietet gegenüber dem Skalpell einige Vorteile. Durch die erhöhte Koagulation beim Schneiden kommt es zu einem trockenen und übersichtlichen Operationsgebiet verbunden mit geringeren Schwellungen, weniger Ödemen, reduzierter Narbenbildung, Schmerzreduktion und damit zu erhöhter Patientenakzeptanz (Krause et al., 2007a). Er ist besonders für kleinere und mittlere Weichteilläsionen geeignet, während für größere Läsionen weiterhin auf das Skalpell zurückgegriffen werden soll (Stübinger et al., 2006). Da es sich bei der Laser-Gewebe-Interaktion um eine photothermische Reaktion handelt, kann eine schädigende Wirkung auf den Knochen nicht ausgeschlossen werden (Krause, 2007a). Ausschlaggebend dafür, ob es zu einer kritischen Temperaturerhöhung kommt, sind die gewählte Leistung und die Bestrahlungsdauer (Fontana et al., 2004)

Ein weiteres Einsatzgebiet des Diodenlasers ist das Aufhellen der Zähne (Bleaching). Er kann als Photokatalysator eingesetzt werden, um den Bleichvorgang zu beschleunigen. In der Regel wird 35%iges Wasserstoffperoxidgel eingesetzt. Es absorbiert den Laserstrahl und wird dadurch erwärmt. Durch die Temperaturerhöhung wird der chemische Prozess des Bleichens beschleunigt (Krause, 2007a). Während Wetter et al. (2004) ein besseres Bleichergebnis mit Laserunterstützung feststellen konnten, konnten Jones et al. (1999) keine signifikante Verbesserung zeigen.

Im Bereich der Kariesdiagnostik liefert der Dioden-Laser ein weiteres wichtiges Werkzeug. Mit einer Wellenlänge von 655 nm bestrahltes kariöses Zahnhartgewebe kann zu einem stärkeren Fluoreszenzleuchten angeregt werden als gesundes Gewebe (Krause, 2007a). Die Laserfluoreszenzmessung ist eine sinnvolle Ergänzung zur klinischen, taktilen und radiologischen Kariesdiagnostik, insbesondere im Bereich der okklusalen Karies sowie bei der Kontrolle von Fissurenversiegelungen (Krause et al. 2007b; Twetman et al., 2013)

Diodenlaser bieten ein großes Anwendungsspektrum, können allerdings derzeit nur konventionelle Therapien sinnvoll ergänzen, aber häufig nicht vollständig ersetzen (Krause et al., 2007a). Der in dieser Studie verwendete 445 nm-Diodenlaser hat bisher noch keine Anwendung in der Zahnheilkunde gefunden und war noch nicht Gegenstand systematischer wissenschaftlicher Untersuchungen in diesem Bereich.

1.4 Methoden zur Darstellung von Laserinteraktion an Zahnhartsubstanz

1.4.1 Temperatursonde

Als Temperatursonden bezeichnet man elektrische Bauteile, die durch verschiedene Verfahren ein elektrisches Signal als Maß für die Temperatur liefern. In der Laserzahnheilkunde werden sie erfolgreich benutzt, um unter in-vitro Bedingungen die Temperatur der Pulpakammer während der Laserbestrahlung zu überwachen (Al-Batayneh et al., 2014; Sozzi et al., 2013).

1.4.2 Thermographie

Alle Objekte mit einer Temperatur über dem absoluten Nullpunkt senden Infrarotstrahlen aus. Die Intensität der Strahlung ist abhängig von der vorhandenen Temperatur. Thermographische Kameras können diese Strahlung messen und in Form von Bildern darstellen. Diese Technik bietet vielfältige Einsatzmöglichkeiten für die Zahnmedizin. Es gibt vielversprechende Berichte über die Untersuchung von Neuralgien, atypischen Zahnschmerzen, dem Kiefergelenk und iatrogenen Nervverletzungen (Gratt und Sickles, 1991). Thermographie ist außerdem dazu geeignet die Temperaturentwicklung von Knochen und Implantaten während der Implantation zu beurteilen (Marković et al., 2014). Da der Einsatz von Lasern zur Bearbeitung von Zahnhartsubstanz in der Regel eine Temperaturerhöhung verursacht, ist es wichtig die genauen Ausmaße der Hitzeentwicklung zu kennen. Zmuda et al., (2006) setzten die Thermographie ein, um die Temperaturerhöhung durch einen Er:YAG-Laser zu quantifizieren. In Kombination mit Ultraschall ist es möglich Mikrorisse im Dentin zu finden, da es dort durch die Vibration zu einer messbaren Temperatursteigerung kommt (Matsuhita-Tokugawa et al., 2013). Zakian et al. (2010) haben herausgefunden, dass es möglich ist mittels Thermographie zu entscheiden, ob eine kariöse Läsion lediglich in der äußeren Hälfte des Zahnschmelz ist oder ob sie bereits bis in die innere Hälfte vorgedrungen ist.

1.4.3 Untersuchung der Morphologie

1.4.3.1 Lichtmikroskopie/Dünnschliffe

Mit Hilfe der Dünnschliff-Technik können Schliffpräparate von Zahnhartgewebe hergestellt werden ohne es dabei zu entkalken. Mit dieser Technik können auch Lasereffekte untersucht werden, die unter der Oberfläche liegen (Koort und Frentzen, 1993). Die Auswertung der Präparate findet mit dem Lichtmikroskop statt.

Bei dem Konfokalmikroskop handelt es sich um ein spezielles Lichtmikroskop. Es wird das Präparat lediglich mit einem kleinen Lichtfleck beleuchtet. Dieser Lichtfleck wird schrittweise über das Präparat gerastert. Befindet sich das Objekt im Fokus, registriert der Detektor die maximale Intensität. Durch die schrittweise Verschiebung des Fokus ist es möglich sehr genaue Höheninformationen zu bekommen und ein vollständiges Bild zu konstruieren (Cox, 2006).

1.4.3.2 Rasterelektronenmikroskopie

Zur Bilderzeugung wird bei dem Rasterelektronenmikroskop ein Elektronenstrahl über das abzubildende Objekt geführt. Dabei entsteht ein sekundärer Elektronenstrahl und Wärme. Die Wechselwirkungen der Elektronen mit dem Objekt können gemessen werden um dadurch ein Bild zu erzeugen. Um unerwünschte Wechselwirkungen mit den Atomen in der Luft zu vermeiden, findet der Prozess im Hochvakuum statt. Bei der Untersuchung von Isolatoren kann es zu Aufladungsprozessen kommen, die ein scharfes Bild verhindern. Deshalb ist es notwendig, diese Proben mit einer sehr dünnen leitfähigen Edelmetallschicht zu überziehen (*sputtern*). Das Rasterelektronenmikroskop bietet eine starke Vergrößerung mit hoher Auflösung sowie hoher Tiefenschärfe. Allerdings ist eine aufwendige Probenvorbereitung notwendig, welche im ungünstigsten Fall zu einer Veränderung bzw. Zerstörung der Probe führen kann.

Das Rasterelektronenmikroskop ist ein wertvolles Werkzeug zur Beurteilung der Oberflächenmorphologie von Zahnhartsubstanz. Es findet vielfach Einsatz, um die Laserinteraktion an Schmelz und Dentin zu beurteilen. Sowohl bei der Betrachtung der Auswirkung von Er:YAG-Lasern als auch bei Diodenlasern sowie UltrakurzpulsLasern findet es Anwendung (Al-Batayneh et al., 2014; Faria et al., 2013; Schelle et al., 2013; Soares et al., 2013).

1.4.3.4 Rasterkraftmikroskopie

Bei dem Rasterkraftmikroskop (AFM) handelt es sich nicht um ein Mikroskop im herkömmlichen Sinne. Die klassische Mikroskopie basiert auf dem Einfangen von Strahlung (z.B. Licht oder Elektronen) die von den untersuchten Proben abgestrahlt wird oder durch sie hindurchgeht. Das limitiert das Auflösungsvermögen dieser Geräte auf die Wellenlängen der entsprechenden Strahlung. Die maximale Auflösung bei der Lichtmikroskopie beträgt deshalb etwa 200 nm. Elektronenmikroskope können eine deutlich höhere Auflösung bieten, haben dafür aber den Nachteil, dass die Probekörper unter Hochvakuum untersucht werden müssen. Im Gegenzug dazu wird bei der Rasterkraftmikroskopie die Probe abgetastet. Es ist möglich, sie in Echtzeit unter natürlichen Bedingungen abzubilden, mit einer Auflösung bis in den submolekularen Bereich. Im Gegensatz zu anderen Mikroskopen ist es möglich, ein dreidimensionales Bild zu erstellen (Morris et al., 1999).

Die Probe wird mit einer an einem Hebelarm (Cantilever) befestigten Spitze aus Silizium, Siliziumnitrid oder Diamant (Tip) abgetastet. Eine präzise Ausrichtung ist möglich, indem die Probe auf ein Piezostellelement befestigt wird. Durch Anlegen von Spannungen kann es in alle drei Raumrichtungen bewegt werden. Sie kann so extrem nahe an die AFM-Spitze gebracht werden. Die Morphologie der Oberfläche wird durch die Auslenkung des Cantilevers infolge der Kraftwechselwirkung bestimmt, indem ein Laserstrahl auf die Rückseite des Cantilevers gerichtet ist und die Reflektion mittels einer Photodiode gemessen wird. Die Auflösung des AFM hängt vom Krümmungsradius und der Größe des Tips ab. Es ist möglich einzelne Atome abzubilden (Morris et al., 1999). Verschiedene Betriebsarten stehen zur Verfügung. Beim *Contact Mode* kommt es zu einem direkten physischen Kontakt zwischen Spitze und Probe. Im *Non-Contact Mode* wird der Tip berührungslos über die Probenoberfläche geführt und es kommt zu Wechselwirkung mit der Probe z.B. durch van der Waals Kräfte. Im *intermittent contact mode* wird der Cantilever in Schwingung versetzt und es kommt nur zu kurzem Kontakt mit der Probe. Bei Kontakt kommt es zu einem Energieverlust der Oszillationsbewegung. Durch die Verringerung der Schwingungsamplitude kann die Oberflächentopographie der Probe gemessen werden. Das Rasterkraftmikroskop eignet sich sehr gut, um Zahnhartsubstanz zu untersuchen. Die Oberflächenmorphologie von Schmelz und Dentin lässt sich hochauflösend darstellen (Cheng et al., 2009; Cui und Ge, 2007; Habelitz et al., 2001; Silikas et al. 1999). Da es sich bei der AFM um eine relativ neue Technik handelt, liegen erst eine verhältnismäßig

geringe Anzahl an Studien vor, die das Rasterkraftmikroskop nutzen, um die Veränderung der Oberflächenmorphologie von Zahnhartsubstanz nach Bestrahlung mit Laserstrahlen zu beurteilen. Swift et al. (2001) haben das AFM genutzt, um den Mittenrauwert von Zahnschmelz nach Bestrahlung mit einem Freie-Elektronen-Laser zu messen. Watari (2001) hat mittels AFM den Einfluss eines CO₂-Lasers auf Schmelz und Dentin untersucht. Den Einfluss auf die Morphologie und strukturelle Veränderungen von Zahnschmelz nach Bestrahlung mit einem Er:YAG-Laser haben Rodríguez-Vilchis et al. (2011) untersucht. Durch das Rasterkraftmikroskop war es möglich, die tiefe der entstehenden Risse zu messen. Neben dem vorher genannten CO₂-Laser wurden bisher lediglich die Wirkung des Er,Cr:YSGG-Lasers und des Nd:YAG-Lasers auf Dentin mit dem AFM untersucht (Botta et al., 2011; Kubínek et al., 2007; Lin et al., 2011).

1.5 Ziel der Untersuchung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, den Einfluss von Laserbestrahlung auf die Oberflächenstruktur von Zahnhartgewebe zu untersuchen. Das Rasterkraftmikroskop stellt eine relativ neue Methode dar, die Rauheit von Schmelz und Dentin in einer höheren Ordnung als bisher möglich zu vermessen.

Der Er:YAG-Laser und der Ultrakurzpulslaser werden eingesetzt, um Zahnhartsubstanz abzutragen. Neue Erkenntnisse über die Oberflächenmorphologie im Rahmen des Materialabtrags können bei der Entwicklung und Beurteilung von Abhässivsystemen helfen. Die handelsüblichen 980 nm-Diodenlaser eignen sich nicht für die Bearbeitung von Zahnhartsubstanz. Da eine akzidentelle Bestrahlung durch Reflexionen oder fehlerhafte Handhabung aber nicht ausgeschlossen werden kann, sind die Kenntnisse der Auswirkung dieses Lasertyps auf Schmelz und Dentin essentiell. Auch hier kann mit dem Rasterkraftmikroskop bereits bestehendes Wissen vertieft werden. Bevor neue Technologien wie der Ultrakurzpulslaser und der 445 nm-Diodenlaser in den klinischen Einsatz kommen, ist es notwendig, ihren medizinischen Nutzen nachzuweisen und potentielle Schädlichkeit auszuschließen.

2. Material und Methode

2.1 Material

2.1.1 Lasersysteme

2.1.1.1 Er:YAG-Laser

Der Kavo Key Laser III (KaVo, Biberach, Deutschland) ist ein Er:YAG-Laser, der eine Wellenlänge von $2,94 \mu\text{m}$ bei einer Pulsdauer von $250 \mu\text{s}$ nutzt. Es können Pulsenergien zwischen 10 und 600 mJ gewählt werden. Wiederholungsraten zwischen 1 Hz und 25 Hz sind einstellbar und eine Wasserkühlung kann zugeschaltet werden. Es wird das Nonkontakt-Handstück 2060 in einem Abstand von 10 mm verwendet, um eine realitätsnahe Situation zu simulieren. Der Laser bietet verschiedene Voreinstellung zu Dentin und Schmelzpräparationen. Es steht ein Pilotlaser mit 655 nm und einer Leistung von 1 mW zur Verfügung (Abb. 2).



Abb. 2: Links: Er:YAG-Laser von Typ Kavo Key III. Rechts: Nonkontakt-Handstück 2060 des Kavo Key III Lasers positioniert über dem Probenhalter. Im Vordergrund ist die Mikrometerschraube zur Einstellung des Abstands zwischen Proben und Austrittsfenster des Handstücks zu sehen.

2.1.1.2 Ultrakurzpulslaser

Der in dieser Studie verwendete Laser mit der Bezeichnung „Super Rapid“ (Lumera Laser GmbH, Kaiserslautern, Deutschland) ist ein Dioden-gepumpter Nd:YVO₄-Laser. Er bietet eine Leistung von bis zu 10 Watt bei einer Wellenlänge von 1064 nm, einer Pulsdauer von 8 – 10 ps und einer Repetitionsrate von 500 kHz. Bevor der Laserstrahl auf den Probekörper trifft, wird er zunächst über einen Aufbau von 9 Spiegeln umgeleitet. Dies soll den für einen praxisbezogenen Einsatz nötigen Spiegelgelenkarm simulieren. Anschließend durchläuft der Laserstrahl ein Scanner-System (Scan Cube 7, Scanlab AG, Puchheim, Deutschland), welches ermöglicht, mit der entsprechenden Scansoftware (SAMLIGHT, Scaps GmbH, Deisenhofen, Deutschland) ein spezifisches Ablationsmuster einzustellen. Das Testobjekt ist auf einem Verschiebetisch (xyz-Tisch VT – 80, Micos, Eschbach, Deutschland) mit einer Justierbarkeit von 0,001 mm montiert. Eine Absauganlage befindet sich neben dem Verschiebetisch (Abb. 3).

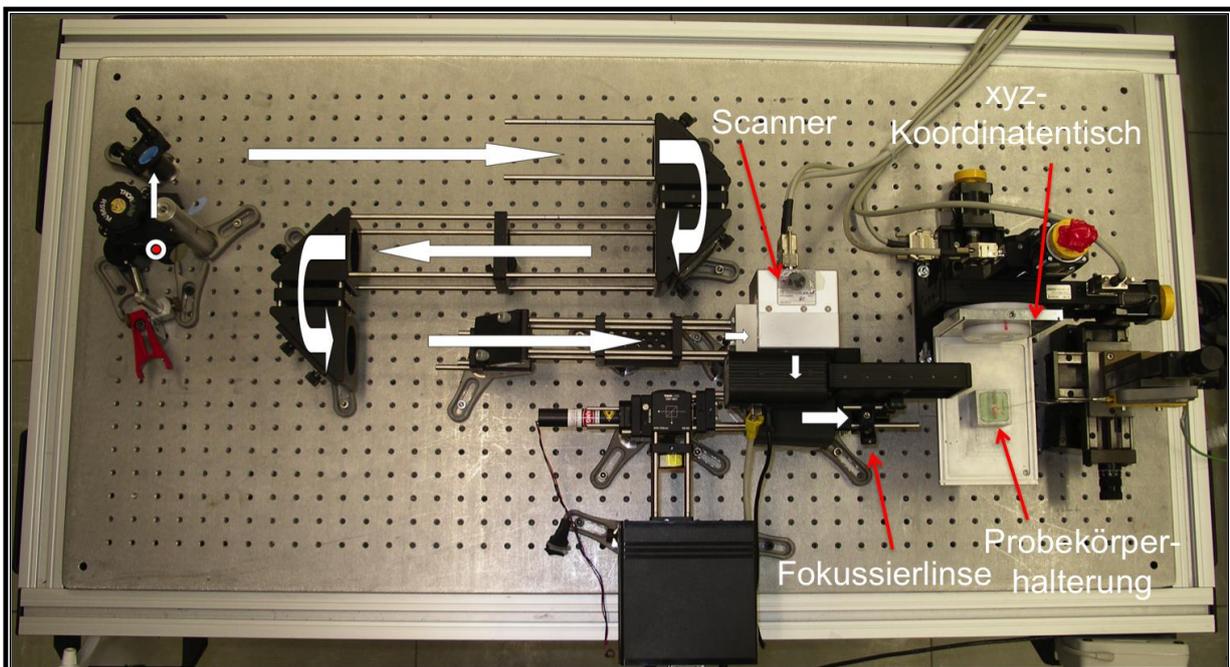


Abb. 3: Versuchsaufbau des UKPL. Der Laserstrahl wird durch die Umlenkspiegel entlang der weißen Pfeile in den Scanner geleitet. Von dort geht der Strahl durch die Fokussierlinse und trifft auf den Probekörper, der mittels der Probekörperhalterung auf dem xyz-Koordinatentisch befestigt ist (modifiziert nach Wehry, 2012).

2.1.1.3 980 nm-Diodenlaser

Bei dem SIROLaser Advance (Sirona Dental Systems GmbH, Bensheim, Deutschland) handelt es sich um einen Diodenlaser der Klasse 4. Laserpulsenergien zwischen 0,5 und 7 Watt sind wählbar. Der Laser arbeitet bei einer Wellenlänge 970 ± 15 nm. Die Impulsdauer kann zwischen 0,05 ms und cw (Dauerstrich) eingestellt werden. Pulsfolgefrequenzen zwischen 1 Hz – 10 kHz sind möglich. Als Lichtleiter wird eine Glasfaser mit einem Durchmesser von $320 \mu\text{m}$ verwendet (Abb. 4).

2.1.1.4 445 nm-Diodenlaser

Der 445 nm-Laser (Sirona Dental Systems GmbH, Bensheim, Deutschland) arbeitet mit einer Laserpulsenergie von bis zu 2,5 W bei einer Wellenlänge von 445 ± 5 nm. Er ist mit einem Pilotlaser ausgestattet mit einer Leistung von 1 mW und einer Wellenlänge von 636 nm. Der Laser wird im cw-Modus betrieben. Als Lichtleiter werden die gleichen $320 \mu\text{m}$ Glasfasern genutzt wie beim 980 nm-Laser (Abb. 4).

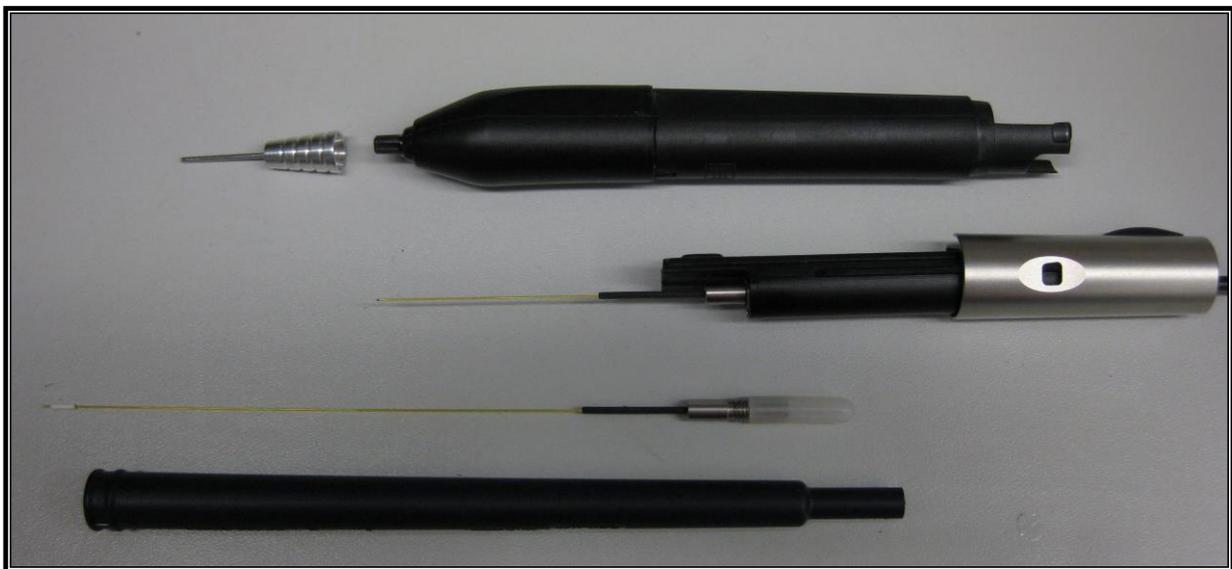


Abb. 4: Handstück und $320 \mu\text{m}$ Glasfaser der beiden Diodenlaser im auseinandergebauten Zustand. Die Glasfaser kann mittels eines Keramikschnegers beliebig eingekürzt werden.

2.1.2 Probekörperherstellung

Zur Herstellung der 34 Probekörper wurden kariesfreie, frisch extrahierte, menschliche Zähne ausgewählt und bei 4 °C in isotonischer Kochsalzlösung (0,9 %) mit Natriumazid-Zusatz (0,001 %) gelagert. Die Zähne wiesen weder kariöse Veränderungen noch andere pathologische Veränderungen oder Restaurationsmaterialien auf. Die Studie wurde unter Beachtung erklärter ethischer Prinzipien (niedergelegt in der World Medical Association Declaration of Helsinki, Version VI, 2002) durchgeführt. Die Patienten wurden informiert, dass ihre extrahierten Zähne im Rahmen eines Studienprojektes verwendet würden. Nach der Entfernung von Geweberesten wurden sie mit 3-Komponenten-Kunststoff (Technovit 4000, Heraeus Kulzer GmbH, Werheim) auf einem Objektträger fixiert. Mittels einer diamantierten Säge (E-TS, EXAKT, Norderstedt) wurden 3 planparallele Scheiben von jedem Zahn abgeschnitten. Diese Scheiben wurden ebenfalls mit 3-Komponenten-Kunststoff auf Objektträgern befestigt, so dass aus jedem Zahn 4 Probekörper entstehen, jeweils 2 Schmelz und 2 Dentinpräparate mit einer Schichtstärke von 2 - 4 mm. Anschließend wurden die Präparate mit Nassschleifpapier 1200er Körnung kurz abgeschliffen und anschließend mit Nassschleifpapier 4000er Körnung kurz poliert (beides Fa. Struers GmbH, Willich). Um Beschädigungen zu verhindern ist es wichtig, dass die Zahnscheiben nicht austrocknen und zwischen den Versuchen feucht und kühl in NaCl gelagert werden. Zum Schutz der Oberfläche werden sie mit feuchter Gaze bedeckt. Bei einem der beiden Dentinpräparate, die pro Zahn entstanden sind, wurde zusätzlich der „smearlayer“ entfernt. Es wurde 1 ml EDTA 17 % für eine Minute appliziert und anschließend mit 3%igen Natriumhypochlorid abgespült (Crumpton et al., 2005).

2.1.2.1 Fotodokumentation

Die Proben wurden mit einem Lichtmikroskop (Wild, Heerbrugg, Schweiz) bei 6-facher und bei 50-facher Vergrößerung fotografisch dokumentiert (Leica DFC 420C, Wetzlar) (Abb. 5).

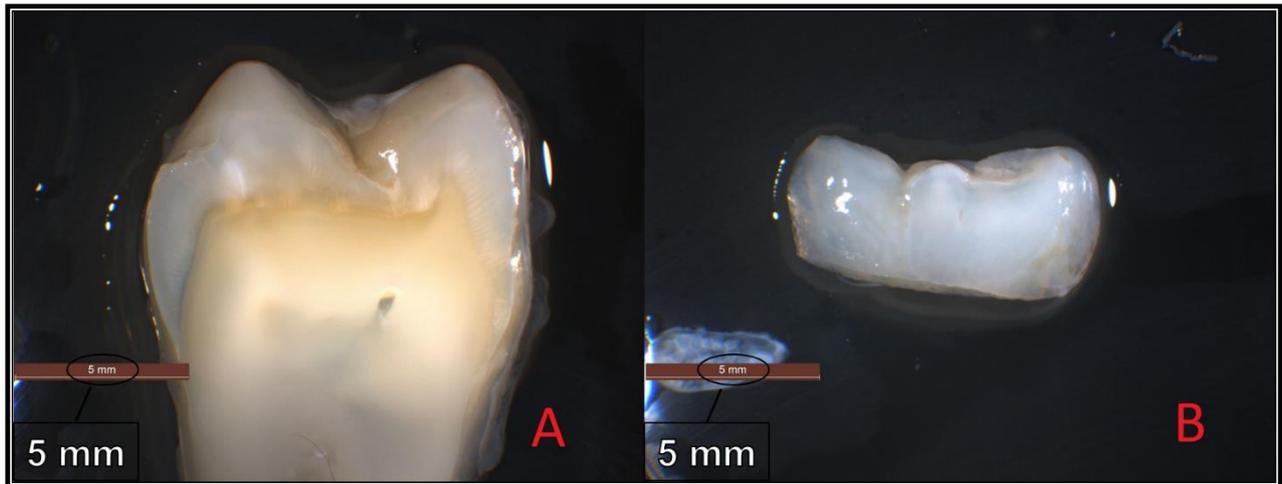


Abb. 5: Das Präparat ist mittels des 3-Komponenten-Kunststoffs auf einem Objektträger befestigt. Die fotografische Aufnahme zeigt den Probekörper in 6-facher Vergrößerung. Es handelt sich um Dentin (A) und Zahnschmelz (B). Die polierten Flächen sind deutlich in der Mitte der Präparate zu erkennen.

2.2 Bearbeitung der Präparate mit den verschiedenen Lasersystemen

2.2.1 Er:YAG-Laser

Zur Bestrahlung mit dem Er:Yag-Laser wurden die Präparate in einen speziellen Objektträgerhalter mit Mikrometerschraube gelegt. Das Handstück wurde mittels einer Stativklemme im Abstand von 10 mm zwischen Austrittsfenster und Probenoberfläche fixiert. Durch den Pilotlaser konnten die Proben präzise unter dem Laser ausgerichtet werden. Die Proben wurden jeweils entsprechend der Voreinstellungen für Schmelz und Dentin wie in Tab. 3 beschrieben bestrahlt:

Tab. 3: Laserparameter des Er:YAG-Lasers gemäß den Voreinstellungen der Lasersoftware.

	Schmelz	Dentin
Pulse	2	2
Frequenz	1 [Hz]	1 [Hz]
Wellenlänge	2,94 [μm]	2,94 [μm]
Pulsdauer	250 [μs]	250 [μs]
Pulsenergie	600 [mJ]	250 [mJ]

2.2.2 Ultrakurzpuls laser

Die Präparate wurden mittels einer Knetmasse auf einem Probenhalter aus Metall befestigt, der lagestabil magnetisch auf dem Verschiebetisch befestigt wurde. Der Abstand zwischen Fokussierlinse und der Oberfläche der Proben betrug 75 mm entsprechend der Brennweite der Fokussierlinse. Durch den Pilotlaser konnten die Proben präzise ausgerichtet werden. Auf den Schmelzpräparaten wurden der Laser in Form einer Linie mit einer Breite von 0,2 mm und einer Länge von 1,5 mm appliziert. Während der Bestrahlung wurde der Verschiebetisch mit einer Geschwindigkeit von 0,1 mm/s um eine Strecke von 1,0 mm in der y-Achse bewegt. So konnte eine Kavität in Form eines Linienrasters erstellt werden. Das gleiche Vorgehen wurde bei den Dentinpräparaten durchgeführt. Zusätzlich wurden auf diesen Proben jeweils 2 rechteckige Kavitäten mit einer Kantenlänge von 1 mm präpariert (Abb. 6). Folgende Parameter wurden verwendet (Tab. 4).

Tab. 4: Laserparameter des UKPL

	Schmelz	Dentin		
Form	Linienraster	Linienraster	Rechteck	Rechteck
Repetitionsrate	500.000 [Hz]	500.000 [Hz]	500.000 [Hz]	500.000 [Hz]
Leistung	5 [W]	5 [W]	8,6 [W]	8,6 [W]
Bearbeitungszeit	10 [s]	10 [s]	0,6 [s]	1,2 [s]
Wiederholungen	1	1	5	10
Bewegung	0,1 mm/s	0,1 mm/s	/	/
Kantenlänge	ca. 1,5 x 1 mm	ca. 1,5 x 1 mm	1 x 1 mm	1 x 1 mm

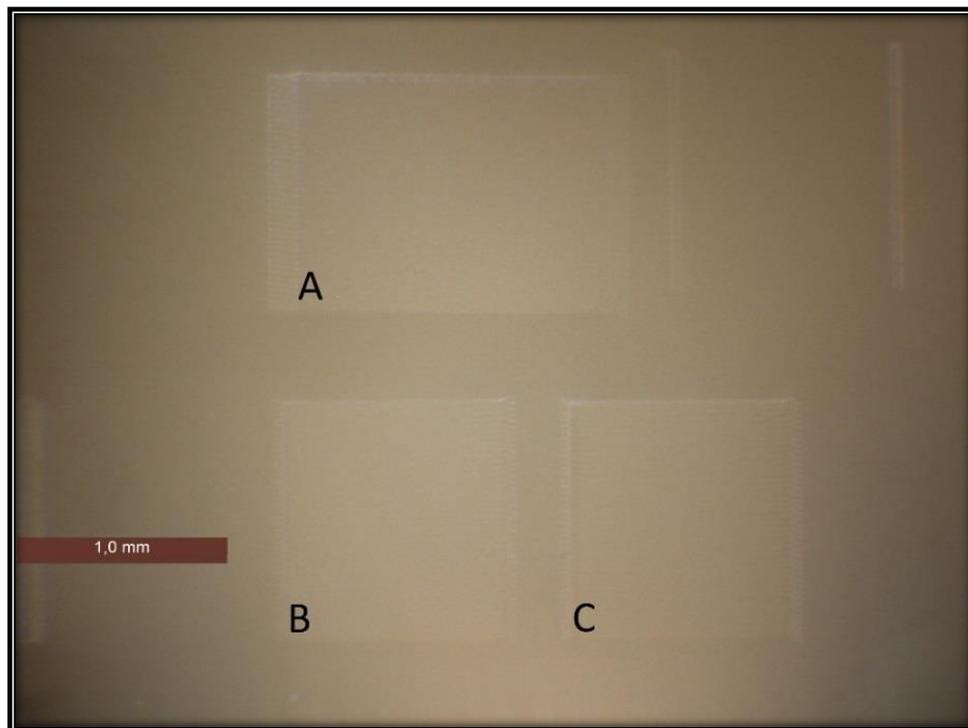


Abb. 6: Die Abbildung zeigt die verschiedenen Applikationsarten des Lasers (siehe Tab. 4) auf die Dentinpräparate. Für den Zahnschmelz wurde lediglich das Linienraster (A) genutzt. Linienraster (A), Rechteck mit 5 Wiederholungen (B), Rechteck mit 10 Wiederholungen (C)

2.2.3 Diodenlaser

Für beide Diodenlaser (Wellenlängen 980 nm und 445 nm) wurden aus Gründen der Vergleichbarkeit identische Parameter verwendet, welche hier exemplarisch beschrieben werden. Die Proben wurden auf einen Objektträger mit Mikrometerschraube platziert und das Handstück des Lasersystems wurde mit einer Stativklemme befestigt. Die Proben wurden in einem Abstand von 1 mm zum Austrittspunkt des Laserstrahls aus der Glasfaser ausgerichtet. Durch den Pilotlaser war eine exakte Positionierung möglich (Abb. 7). Die Proben wurden mit den folgenden Parametern bestrahlt (Tab. 5):

Tab. 5: Laserparameter der Diodenlaser. Die Parameter sind bei beiden Lasern identisch. Sie unterscheiden sich lediglich in der Wellenlänge.

Leistung	0,5 [W]	1 [W]	1,5 [W]	2 [W]
Energie	2,5 [J]	5 [J]	7,5 [J]	10 [J]
Bestrahlungsdauer	5 [s]	5 [s]	5 [s]	5 [s]
Modus	cw	cw	cw	cw
Glasfaser	320 [μm]			

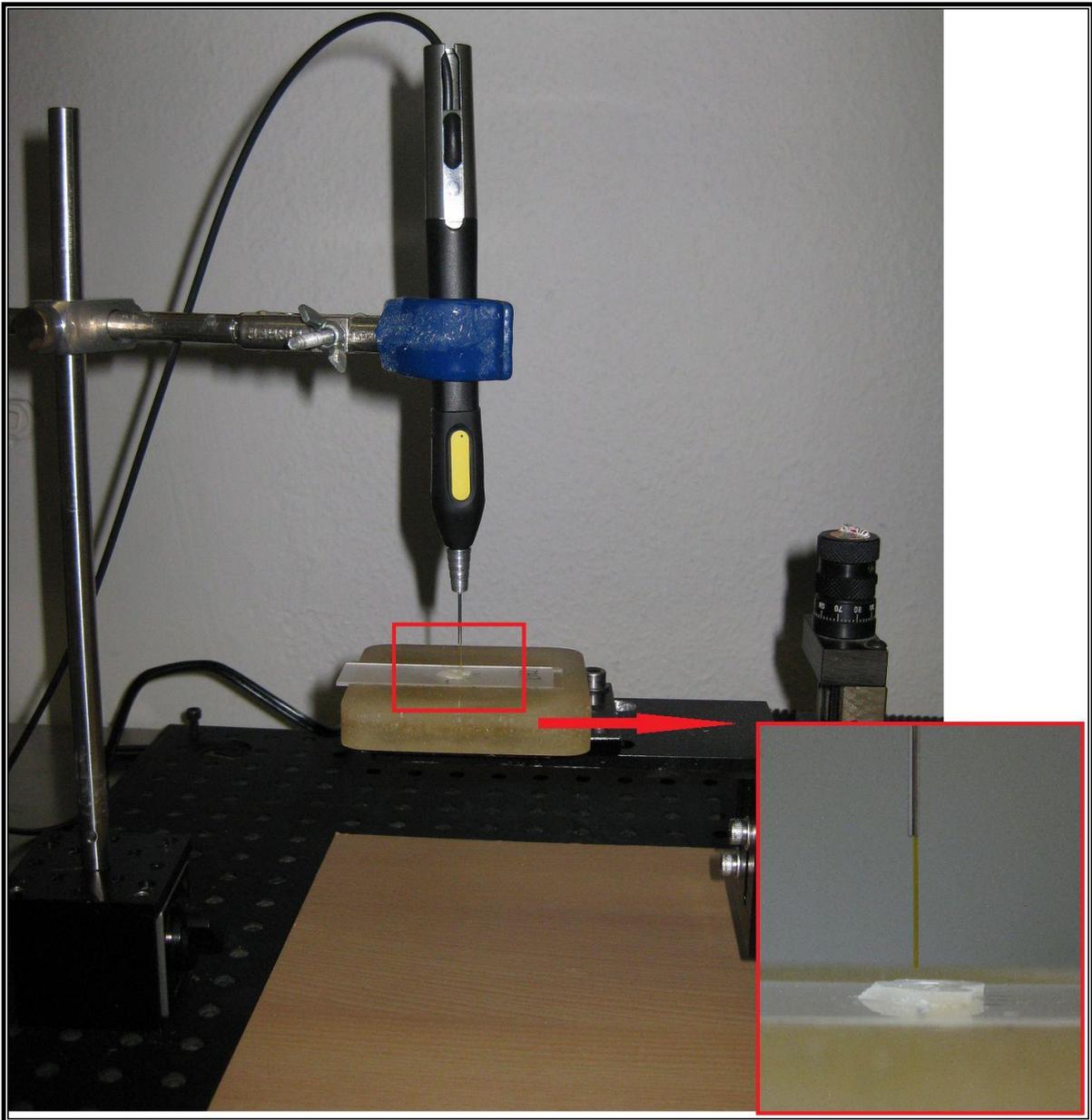


Abb. 7: Versuchsaufbau zur Bestrahlung der Präparate mit den Diodenlasern. Das Handstück ist mit einer Stativklemme befestigt. Die 320 μm Glasfaser ist mit einem Abstand von einem Millimeter über dem Präparat positioniert. Der Abstand lässt sich mit der Mikrometerschraube präzise regulieren.

2.3 Konfokalmikroskopie

Die Präparate wurden mit einem MicroSpy Topo Konfokalmikroskop (FRT, Fries Research & Technology GmbH, Bergisch Gladbach) untersucht. Eine besondere Vorbereitung der Proben war nicht notwendig. Die Untersuchung erfolgte mit einer 100-fachen Vergrößerung. Der xy-Messbereich betrug $356 \mu\text{m} \times 267 \mu\text{m}$ und der z-Messbereich $400 \mu\text{m}$. Die Auflösung war lateral $0,46 \mu\text{m}$ und vertikal 2 nm . Bei der Untersuchung wird das Licht einer Hochleistungs-LED punktförmig auf das Objekt fokussiert, reflektiert und wieder punktförmig auf einem Detektor abgebildet. Wenn sich das Objekt in einer gemeinsamen Fokusebene mit Lichtquelle und Detektor befindet kann ein maximales Signal gemessen werden. Durch schrittweise Verschiebung des Fokus bekommt man sehr genaue Höheninformationen. Die gemittelte Rauhtiefe (R_z) wurde aus insgesamt fünf $125 \mu\text{m}$ langen Messlinien gebildet, die in verschiedenen Teilbereichen des Probekörpers angelegt wurden (Abb. 8). Die Auswertung erfolgt mithilfe einer Auswertesoftware (Mark III, FRT, Bergisch Gladbach).

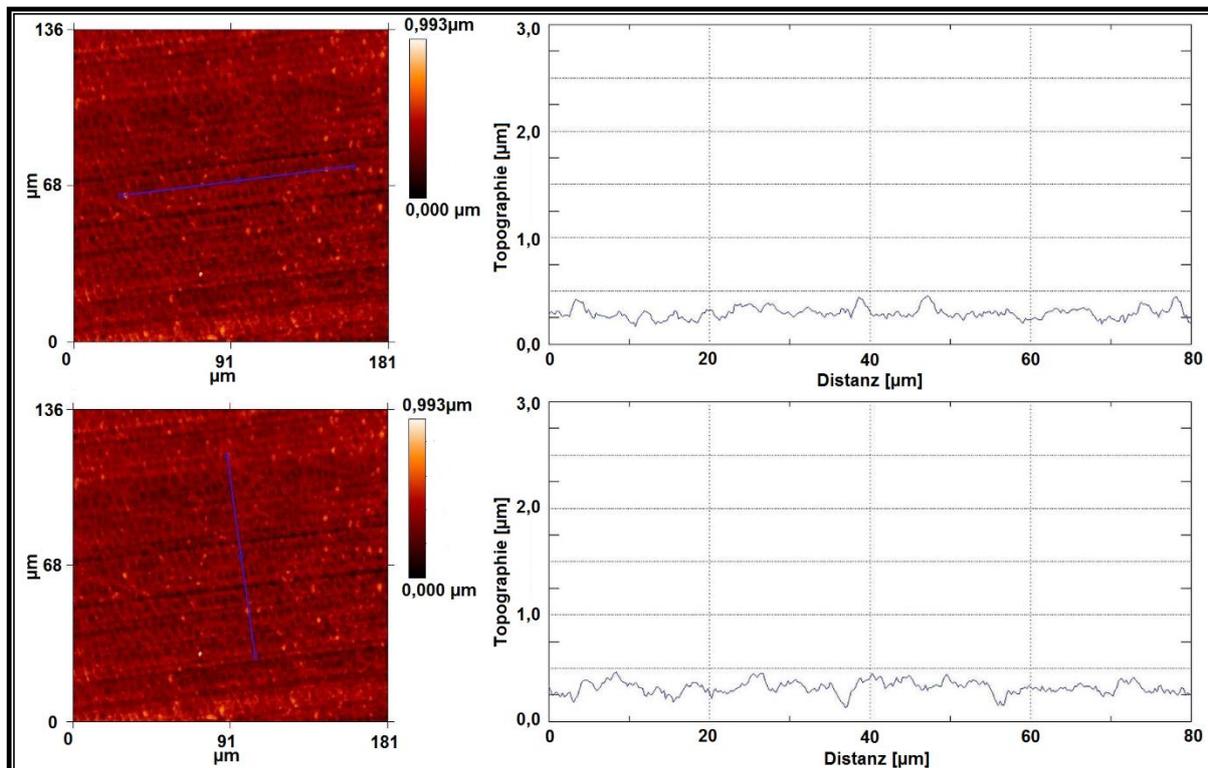


Abb. 8: Bestimmung der gemittelten Rauhtiefe (R_z) anhand einer CFM-Aufnahme am Beispiel einer unbestrahlten Dentinoberfläche. Die Diagramme bilden das Oberflächenprofil der jeweiligen Messlinien ab. Die Farbgebung des Bildes ist in der Analysesoftware frei wählbar.

2.4 Rasterkraftmikroskopie

Die Präparate wurden mit einem Dimension 3000 Rasterkraftmikroskop (Digital Instruments, Santa Barbara, Kalifornien, USA) im Tapping-Mode untersucht. Der xy-Messbereich beträgt $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ und der z-Messbereich beträgt $3\ \mu\text{m}$. Die Proben bedürfen keiner weitergehenden Vorbereitung für die Untersuchung mit dem AFM. Die gemittelte Rauhtiefe (R_z) wurde wie auch schon bei der Konfokalmikroskopie aus fünf $3\ \mu\text{m}$ langen Messlinien gebildet, die in verschiedenen Teilbereichen des Probekörpers angelegt wurden (Abb. 9). Die Auswertung erfolgt mithilfe einer Auswertesoftware (Mark III, FRT, Bergisch Gladbach).

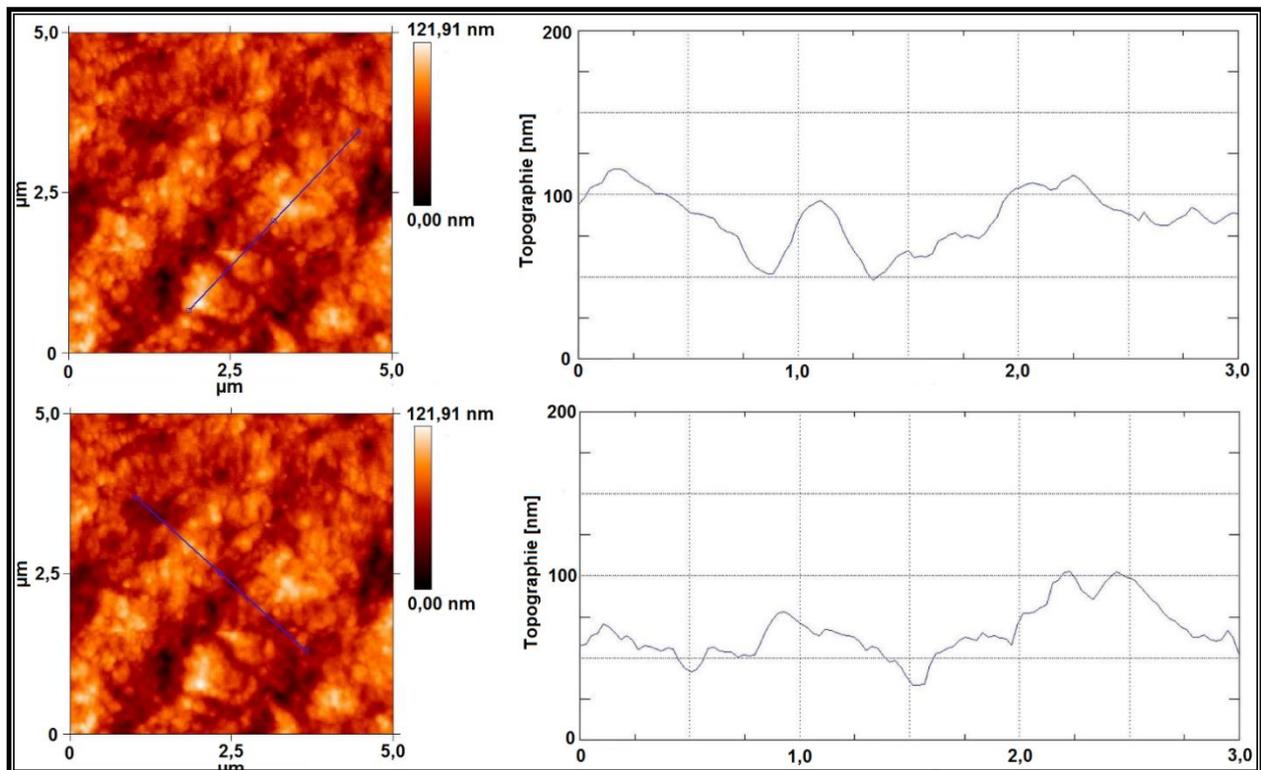


Abb. 9: Bestimmung der gemittelten Rauhtiefe (R_z) anhand einer AFM-Aufnahme am Beispiel einer unbestrahlten Dentinoberfläche. Die Diagramme bilden das Oberflächenprofil der jeweiligen Messlinien ab. Die Farbgebung des Bildes ist in der Analysesoftware frei wählbar.

2.5 Vorbereitung der Präparate für das Rasterelektronenmikroskop

Für die Untersuchung im Rasterelektronenmikroskop müssen die Proben vollständig trocken sein. Da das Risiko besteht, dass durch den starken Wasserverlust Strukturartefakte entstehen, mussten die Proben zunächst mittels 4%igen Paraformaldehyds über 24 Stunden fixiert werden. Anschließend wurden sie in einer aufsteigenden Alkoholreihe (Ethanol absolut, AppliChem, Darmstadt) bei Raumtemperatur nach dem folgenden Schema entwässert:

- 2x 1 h 30 % Ethanol
- 2x 1 h 50 % Ethanol
- 2x 1 h 70 % Ethanol
- 80 % Ethanol über Nacht
- 24 h 90 % Ethanol
- 24 h 95 % Ethanol
- 24 h 100 % Ethanol

Die Proben wurden über Nacht in staubfreier Umgebung an der Luft getrocknet. Dann wurden sie von den Objektträgern gelöst und mittels leitfähigen Haftaufklebern auf Probentellern (25 mm Ø, Plano GmbH, Wetzlar) befestigt. Je nach Größe war es möglich, bis zu zwei Zahnschnitte auf einem Teller unterzubringen. Zur Verbesserung der Leitfähigkeit wurde Leit-C (Plano GmbH, Wetzlar) verwendet. Da es bei isolierenden Präparaten wie Zahnhartgewebe zu Aufladungen und damit zu Bildstörungen kommen kann, mussten die Proben mit einer leitfähigen Schicht überzogen werden. Dies geschah im Rahmen des Sputterprozesses, in dem unter Vakuum für eine Dauer von 160 s eine dünne Schicht aus einem Platin-Gold-Gemisch aufgetragen wurde (Scancoat six, Edwards, Crawley, England).

2.6 Rasterelektronenmikroskopie

Zur Analyse wurde das Rasterelektronenmikroskop Philips XL30 (Philips, Amsterdam, Niederlande) benutzt (Abb. 10). Es wurden Bilder in 1000- und 5000-facher Vergrößerung angefertigt.



Abb. 10: Das Philips XL30 Rasterelektronenmikroskop kam in dieser Studie zum Einsatz.

Zunächst wurde der Zustand der Zahnhartsubstanz vor der Bestrahlung mit den unterschiedlichen Lasersystemen dokumentiert (Abb. 11, 12, 13). Da die Untersuchungen der Präparate mit dem Konfokal- und dem Rasterkraftmikroskop keine Veränderungen der Proben benötigen oder verursachen, wurde die Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop als letztes durchgeführt. Alle Bilder wurden dahingehend untersucht, ob es zu morphologischen Veränderungen der Zahnhartsubstanz gekommen ist. Dazu wurden Aufnahmen der bestrahlten Präparate mit den Aufnahmen der unbestrahlten Oberflächen verglichen.

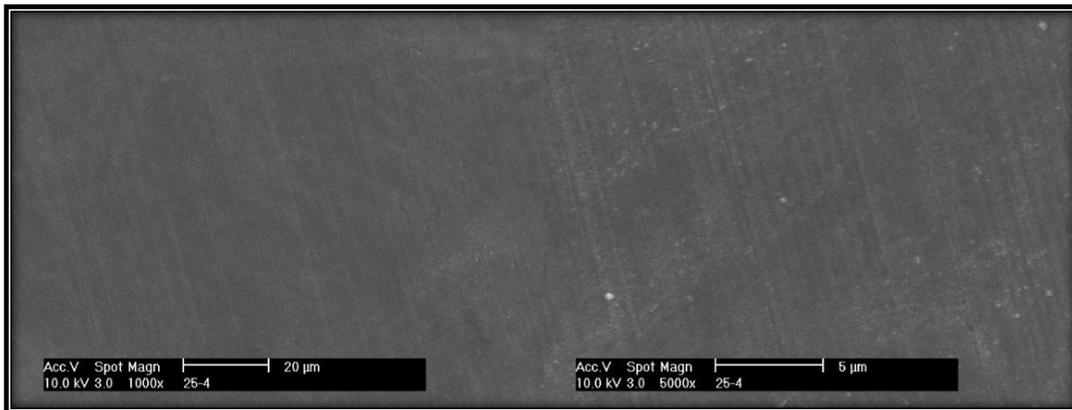


Abb. 11: Unbehandelte Schmelzoberfläche in 1000- und 5000-facher Vergrößerung. Es sind deutliche Schleifspuren vom Polierprozess zu sehen. Im rechten Bild ist Detritus zu sehen.

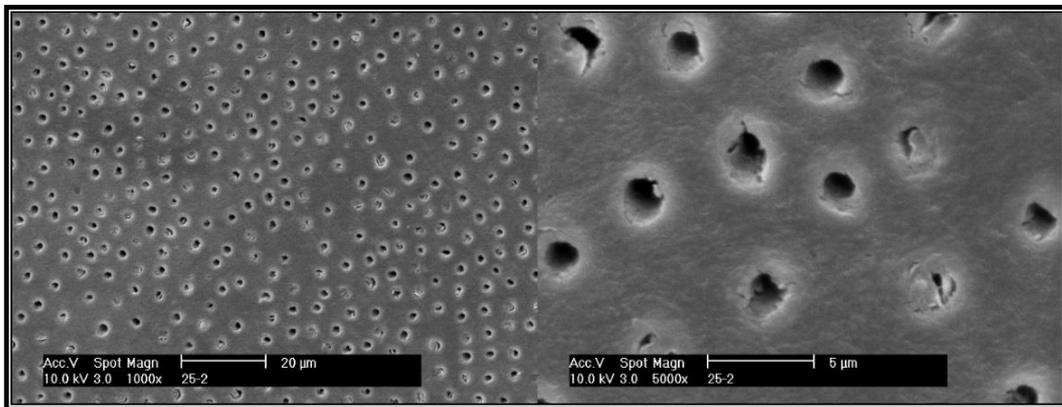


Abb. 12: Dentinoberfläche ohne „smear layer“ in 1000- und 5000-facher Vergrößerung. Es sind deutlich die Dentinkanäle zu sehen. Sie stellen sich als geöffnete Tunnel dar und sind gleichmäßig über die Probe verteilt. Es sind keine Polierspuren zu sehen.

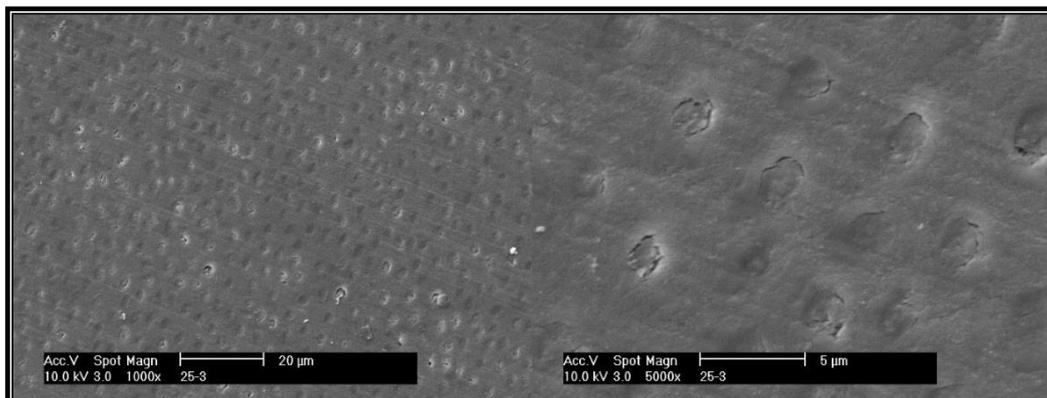


Abb. 13: Unbehandelte Dentinoberfläche in 1000- und 5000-facher Vergrößerung. Der „smear layer“ ist deutlich zu sehen. Die Dentinkanäle sind deutlich sichtbar verschlossen, ihre Umrisse sind zu erkennen. Spuren des Polierens sind zu sehen.

2.7 Versuchssystematik

2.7.1 Vorbereiten der Dentin- und Schmelzproben

Nach Art der Proben wurden sie zunächst in die Gruppen Schmelz und Dentin eingeteilt. Es gibt 11 Schmelzproben und 23 Dentinproben. Bei 13 dieser Proben wurde der „smear layer“ wie in 2.1.2 beschrieben entfernt (Abb. 14).

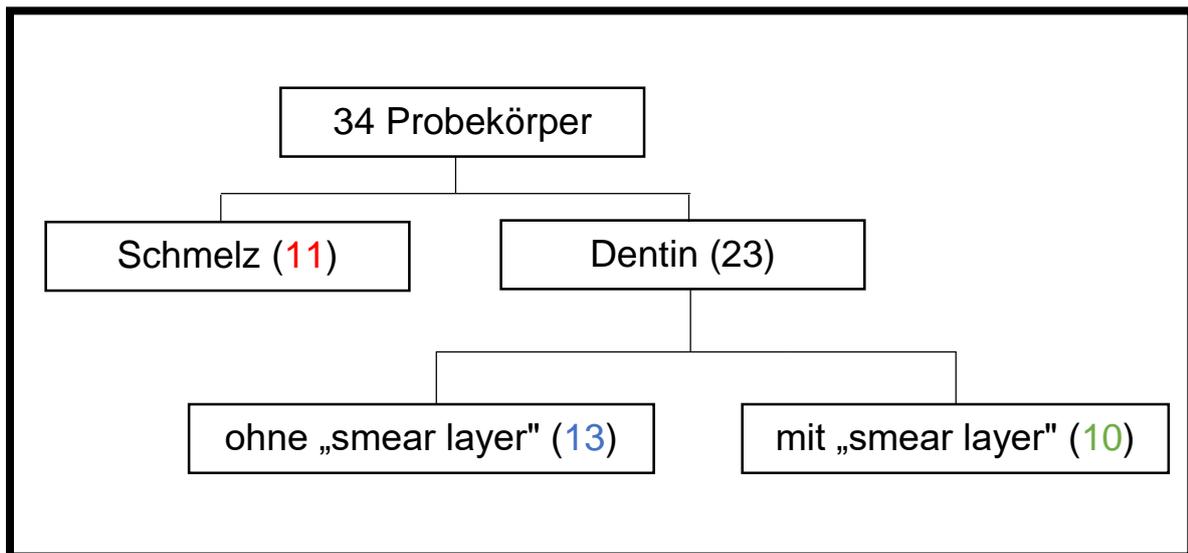


Abb. 14: Das Ablaufdiagramm zeigt Art und Anzahl der Proben die zur Analyse mit den verschiedenen Lasertypen bestrahlt wurden. Die Anzahl der hergestellten Proben ist jeweils nach Probentyp farblich markiert. Schmelzproben sind in **rot**, Dentinproben ohne „smear layer“ in **blau** und Dentinproben mit „smear layer“ in **grün** dargestellt.

2.7.2 Bestrahlen der Proben mit den unterschiedlichen Lasersystemen

Anschließend wurden die Proben mit den verschiedenen Lasertypen bestrahlt. Ein Probekörper jeden Typs wurde nicht bestrahlt. Er wird im Folgenden als Referenz bezeichnet. Die weiteren Proben wurden mit den im Kapitel 2.2 genannten Parametern bestrahlt. Für jeden Parameter wurde eine Probe Zahnschmelz, eine Probe Dentin ohne „smear layer“ und eine Probe Dentin mit „smear layer“ verwendet. Abb. 15 zeigt eine Übersicht.

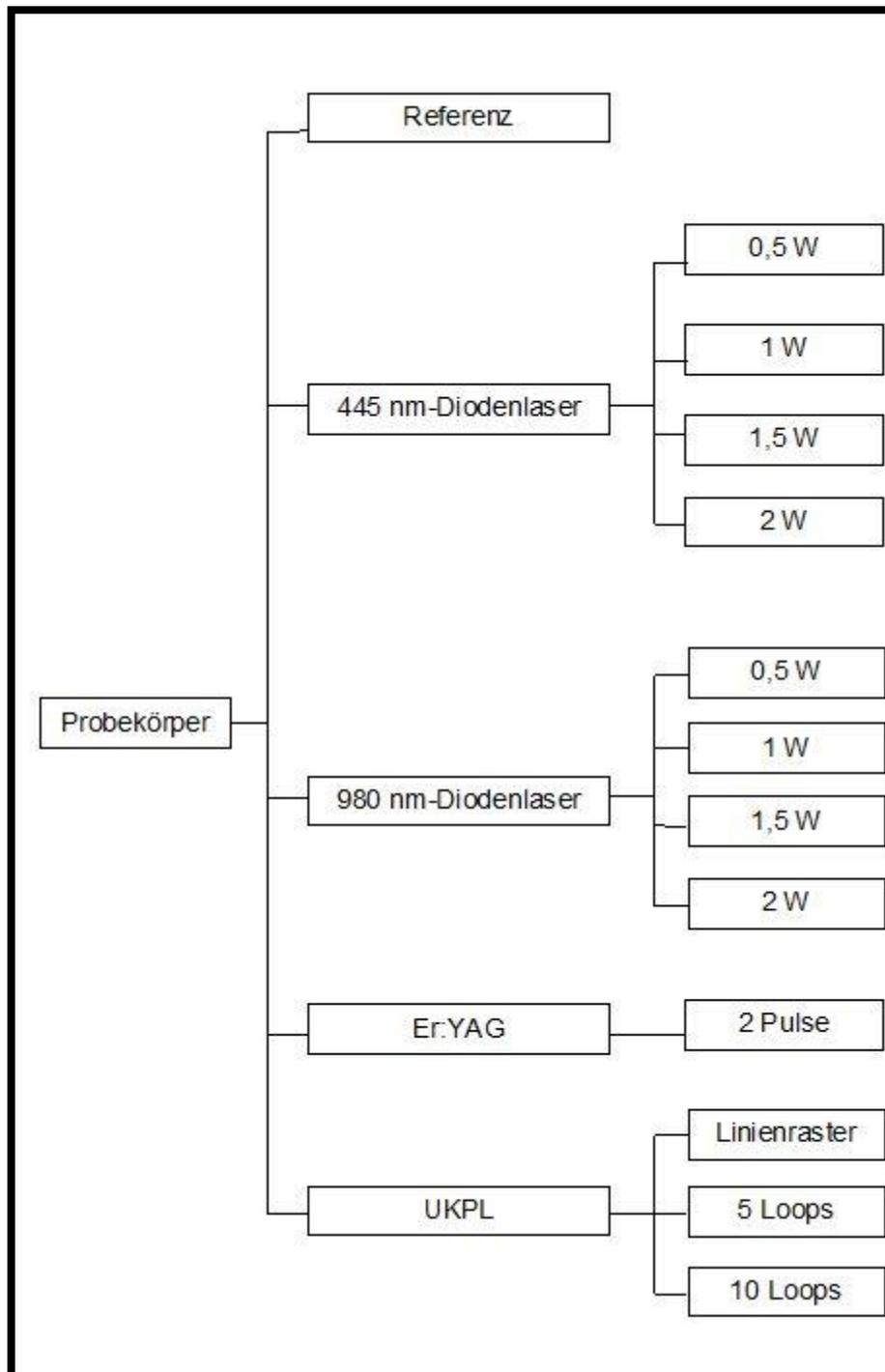


Abb. 15: Übersicht über die verwendeten Lasertypen und Parameter. Bei beiden Arten von Diodenlasern wurde jeweils bei gleichbleibender Bestrahlungszeit die Leistung von 0,5 W in 0,5 W Schritten bis auf 2 W erhöht. Beim Er:YAG-Laser wurden gemäß der Voreinstellungen für Schmelz und Dentin jeweils 2 Pulse auf die entsprechende Probe appliziert. Beim UKPL wurden beide Typen von Dentinprobekörpern entsprechend der in der Abbildung dargestellten Systematik bestrahlt. Die Schmelzprobe wurde lediglich einmal bestrahlt.

2.7.3 Untersuchung der Proben

Nach der Herstellung der Proben wurden diese zunächst fotografisch dokumentiert. Anschliessend wurden die Proben mit dem Konfokalmikroskop untersucht. Dann mit dem Rasterkraftmikroskop. Für die nachfolgende Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop wurden die Probekörper zuerst im Rahmen des Sputterprozesses mit einer leitfähigen Schicht überzogen (Abb. 16).

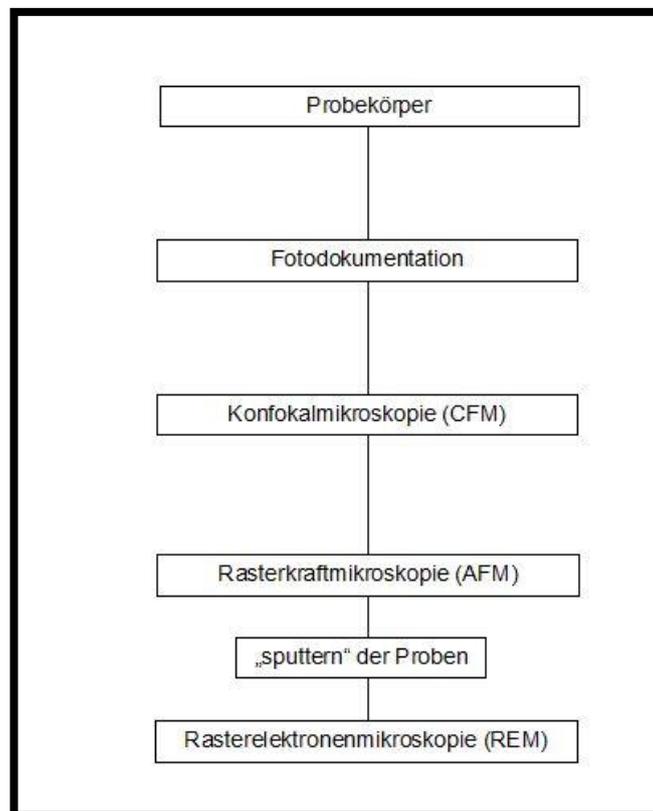


Abb. 16: Die Reihenfolge der in dieser Studie verwendeten Dokumentations- und Untersuchungsmethoden. Erst beim Zwischenschritt „sputtern“ kommt es zu einer gewollten Manipulation der Probekörper.

2.8 Datenerfassung und Statistik

Die Ergebnisse der Rauhtiefenmessung wurden zusammen mit den verwendeten Laser-Parametern in tabellarischer Form erfasst (Excel, Microsoft, Seattle, Washington, USA). Für die statistische Auswertung wurden mittels des Programms SPSS (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) Median, Maximum und Minimum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) bestimmt. Die ermittelten Werte der mit den verschiedenen Lasern bestrahlten Proben wurden mit den Referenzpräparaten verglichen. Außerdem wurden Rauhtiefen der unterschiedlichen Laser gegeneinander verglichen. Die grafische Auswertung erfolgte in Boxplot-Diagrammen. Angezeigt werden der Medianwert, erstes und drittes Quartil, sowie die oberen und unteren Haarlinien (Minimum und Maximum). Ausreißer, die das 1,5-fache des Interquartilsabstands überschreiten, wurden mit einem Kreis markiert. Ein Stern bedeutet ein dreifaches Überschreiten des Interquartilsabstands.

3. Ergebnisse

3.1 Fotodokumentation

Bereits bei 6-facher Vergrößerung lassen sich unter dem Lichtmikroskop deutliche Veränderungen der Oberflächenmorphologie bei den Schmelz und Dentinproben beobachten, die mit dem Er:YAG-Laser (Abb. 17) und mit dem UKPL (Abb. 18) bestrahlt wurden. Im Gegensatz dazu ist bei beiden Arten von Diodenlasern mit den gewählten Parametern kein Effekt zu sehen. Im Vorversuch zeigte sich, dass es bei deutlich verlängerter Applikationsdauer des 445 nm-Diodenlasers zu einer sichtbaren Karbonisation kommt (Abb. 19).



Abb. 17: Mit dem Er:YAG-Laser bestrahltes Dentin in 50-facher Vergrößerung. Es zeigt sich eine deutlich sichtbare Kavitätenbildung und eine dachziegelartige Aufrauung der Oberfläche.

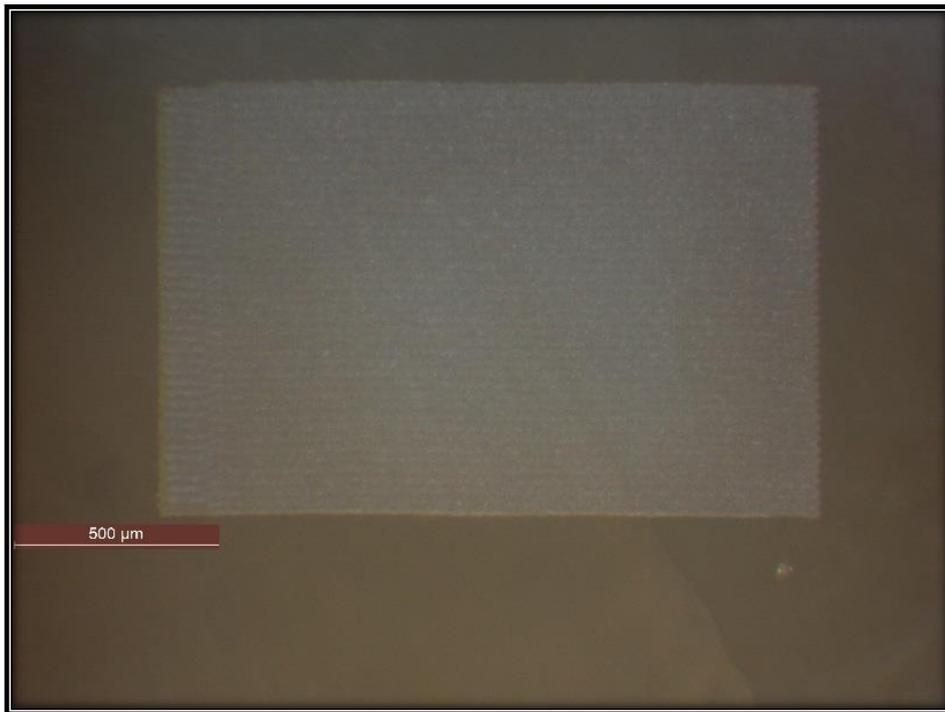


Abb. 18: Mit dem UKPL bestrahlter Zahnschmelz in 50-facher Vergrößerung. Das durch die Scannersoftware und die Bewegung des xyz-Koordinatentisches verursachte Ablationsmuster ist zu erkennen. Es zeigt sich ein deutlich zu erkennender Substanzabtrag.



Abb. 19: Karbonisation und Kavitätenbildung im Zahnschmelz nach Bestrahlung mit dem 445 nm-Diodenlaser für 15 Sekunden mit einer Leistung von 2 W. Es haben sich deutlich sichtbare Risse gebildet. (50-fache Vergrößerung)

3.2 Konfokalmikroskopie

Die Oberfläche des unbehandelten Dentinpräparats mit intaktem „smear layer“ weist im Median eine gemittelte Rauhtiefe (R_z) von 195 nm auf (Min: 169 nm, Max: 226 nm). Bei den Dentinpräparaten mit intaktem „smear layer“, die mit den beiden Diodenlasern bestrahlt wurden, zeigt sich nur eine geringe Abweichung von R_z im Vergleich zum Referenzpräparat (Tab. 6, Tab. 7). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 20

Tab. 6: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 455 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“.

	445 nm 0,5 W	445 nm 1,5 W	445 nm 1 W	445 nm 2 W
Median [nm]	169	214	155	242
Minimum [nm]	156	172	143	209
Maximum [nm]	220	217	180	277

Tab. 7: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“.

	980 nm 0,5 W	980 nm 1 W	980 nm 1,5 W	980 nm 2 W
Median [nm]	195	226	196	185
Minimum [nm]	169	178	141	145
Maximum [nm]	253	280	253	221

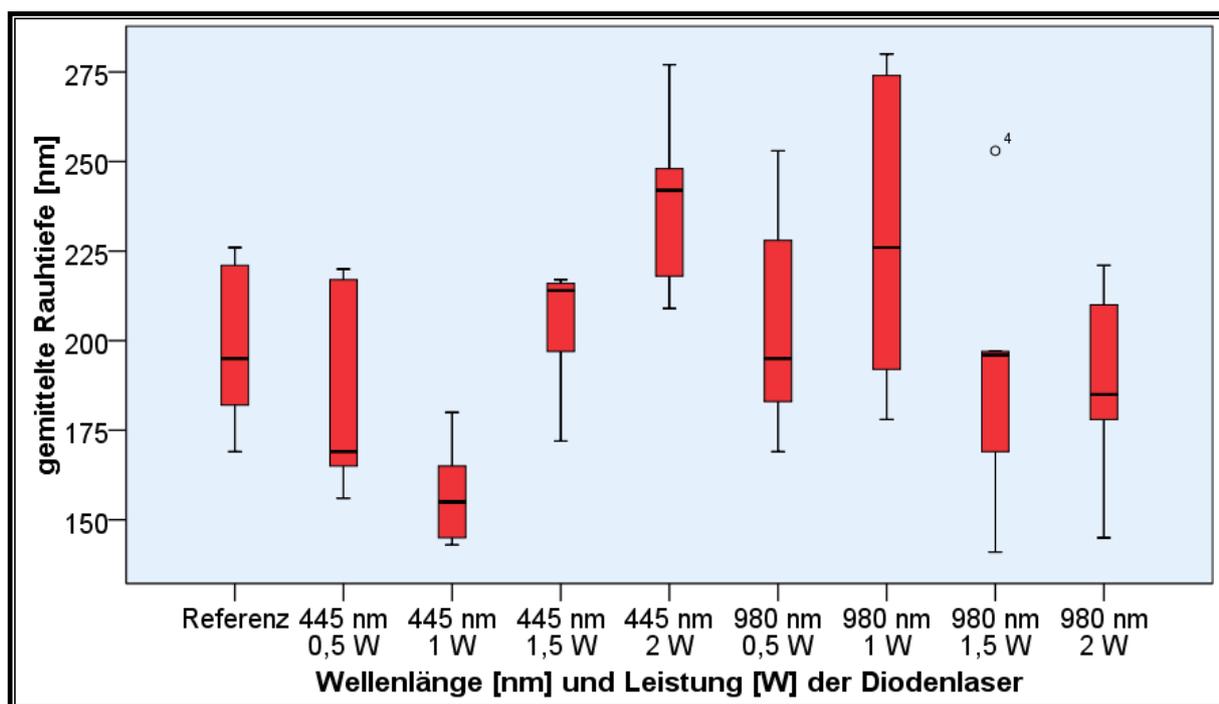


Abb. 20: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Die Oberfläche des unbehandelten Dentinpräparats ohne „smear layer“ weist im Median eine gemittelte Rauhtiefe (R_z) von 174 nm auf (Min: 155 nm, Max: 210 nm). Bei den Dentinpräparaten ohne „smear layer“, die mit den beiden Diodenlasern bestrahlt wurden, zeigt sich ebenfalls nur eine geringe Abweichung von R_z im Vergleich zum Referenzpräparat (Tab. 8, Tab. 9). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 21.

Tab. 8: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“.

	445 nm 0,5 W	445 nm 1,5 W	445 nm 1 W	445 nm 2 W
Median [nm]	111	157	115	187
Minimum [nm]	94	150	97	167
Maximum [nm]	168	226	140	247

Tab. 9: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“.

	980 nm 0,5 W	980 nm 1 W	980 nm 1,5 W	980 nm 2 W
Median [nm]	178	171	204	250
Minimum [nm]	143	159	163	170
Maximum [nm]	206	202	334	552

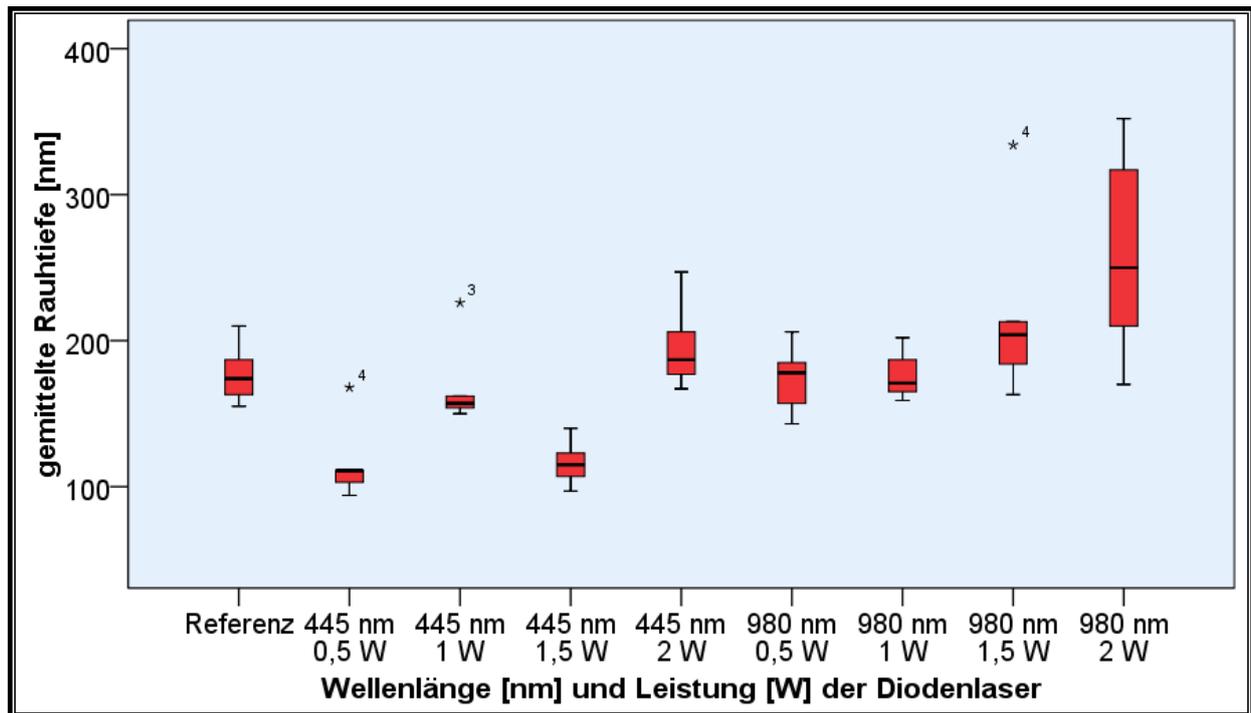


Abb. 21: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Die Oberfläche des Zahnschmelz weist im Median eine gemittelte Rauhtiefe (R_z) von 73 nm auf (Min: 65 nm, Max: 85 nm). Bei den Schmelzpräparaten, die mit den beiden Diodenlasern bestrahlt wurden, zeigt sich ebenfalls nur eine geringe Abweichung von R_z im Vergleich zum Referenzpräparat (Tab. 10, Tab. 11). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 22.

Tab. 10: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Zahnschmelzpräparate.

	445 nm 0,5 W	445 nm 1,5 W	445 nm 1 W	445 nm 2 W
Median [nm]	59	83	73	64
Minimum [nm]	43	50	51	62
Maximum [nm]	67	104	76	89

Tab. 11: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Zahnschmelzpräparate.

	980 nm 0,5 W	980 nm 1 W	980 nm 1,5 W	980 nm 2 W
Median [nm]	64	69	72	59
Minimum [nm]	55	57	48	53
Maximum [nm]	80	95	78	67

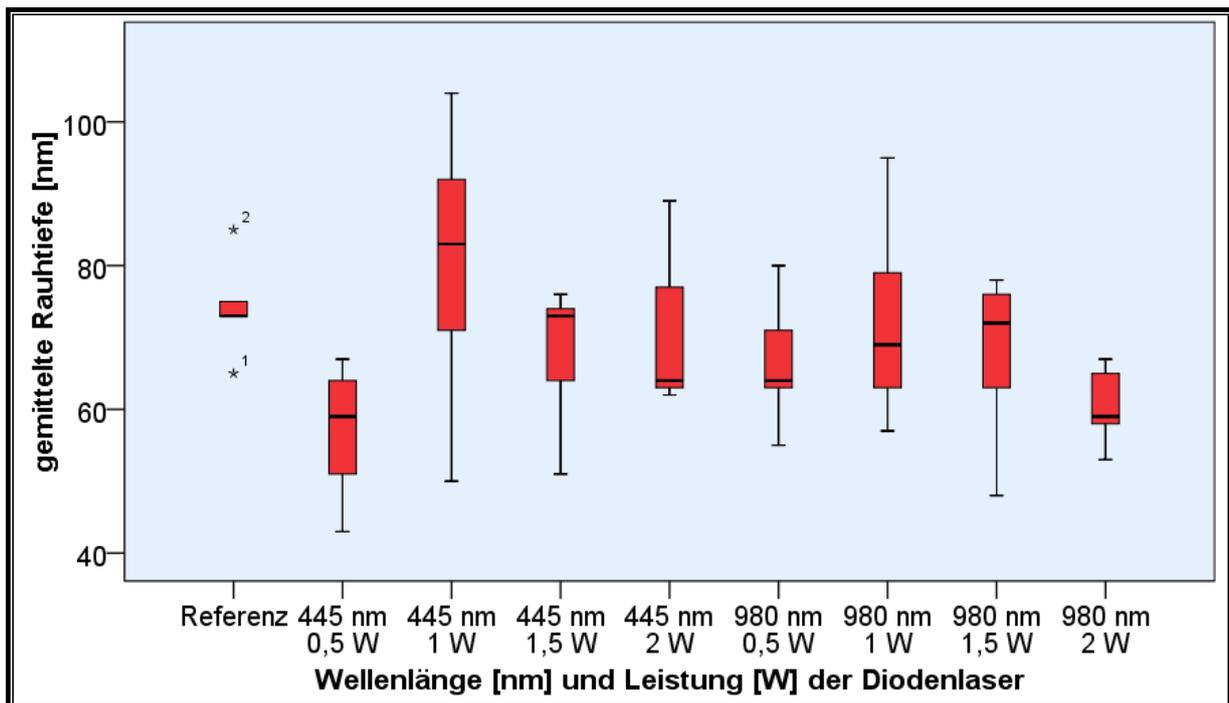


Abb. 22: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Zahnschmelzpräparate. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Bei den mit dem UKPL bestrahlten Präparaten ist die gemittelte Rauhtiefe (R_z) sowohl auf dem Dentin als auch auf dem Zahnschmelz deutlich erhöht. Die unterschiedlichen Einstellungen der Scannersoftware bei den Dentinproben resultieren nicht in unterschiedlichen Ergebnissen. Die Rauhtiefe bei allen drei Varianten ist annähernd identisch. Es ist zu beachten, dass R_z im Vergleich zum Referenzpräparat um eine ganze Größenordnung erhöht ist (Tab. 12). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 23.

Tab. 12: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem UKPL bestrahlten Präparate.

	Dentin 5 Loops	Dentin 10 Loops	Dentin Linien- raster	Schmelz Linien- raster
Median [μm]	5,9	5,4	5,3	2,3
Minimum [μm]	4,9	4,4	3,9	1,9
Maximum [μm]	7,5	5,8	6,2	3,0

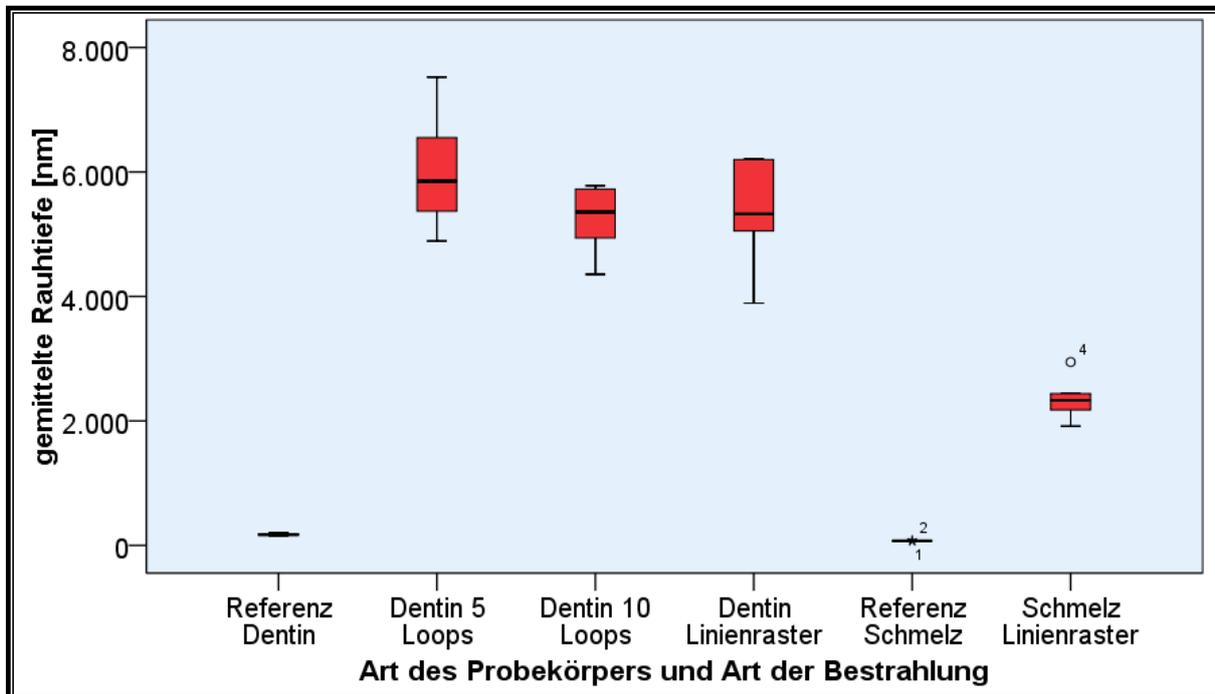


Abb. 23: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit dem UKPL bestrahlten Präparate. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Bei den mit den Er:YAG-Laser bestrahlten Präparaten kam es zu einer deutlichen Veränderung der Oberflächenmorphologie. Die Dentinpräparate weisen eine um eine Größenordnung erhöhte gemittelte Rauhtiefe (R_z) auf, dass Schmelzpräparat sogar eine um zwei Größenordnungen erhöhte (Tab. 13). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 24.

Tab. 13: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem Er:YAG bestrahlten Präparate.

	Schmelz	Dentin ohne SL	Dentin mit SL
Median [μm]	40,0	1,7	1,1
Minimum [μm]	32,2	1,5	0,9
Maximum [μm]	43,0	2,3	1,5

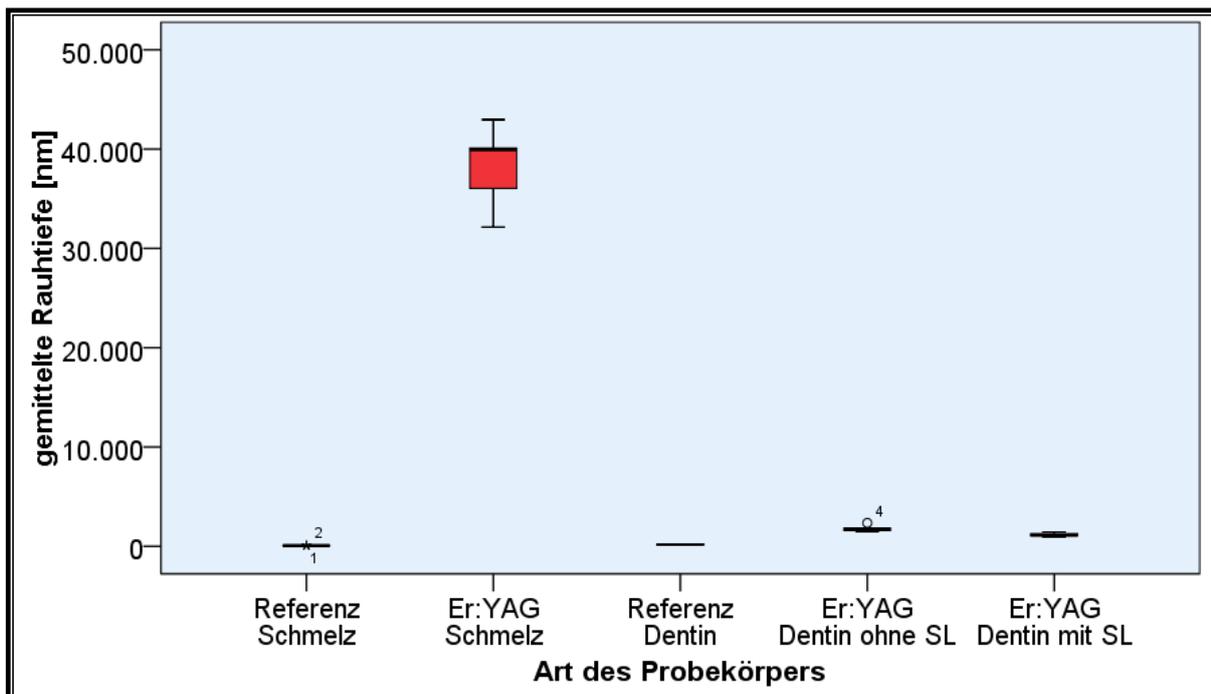


Abb. 24: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Präparate. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

3.3 Rasterkraftmikroskopie

Bei den in der AFM-Aufnahme zu sehenden „Strahlen“ an der Oberfläche handelt es sich um Bildartefakte. Diese Technik erlaubt die Vermessung von Oberflächen mit einer maximalen Differenz von $3\ \mu\text{m}$ in der Z-Achse. Diese technische Begrenzung kann im Zusammenhang mit steilen Kavitätenwänden zur Bildung dieser Bildartefakte führen (Abb. 25). Aus diesem Grund wurde das Oberflächenprofil zur Bestimmung der gemittelten Rauhtiefe (R_z) nicht durch gegebenenfalls vorhandene Dentinkanäle gelegt.

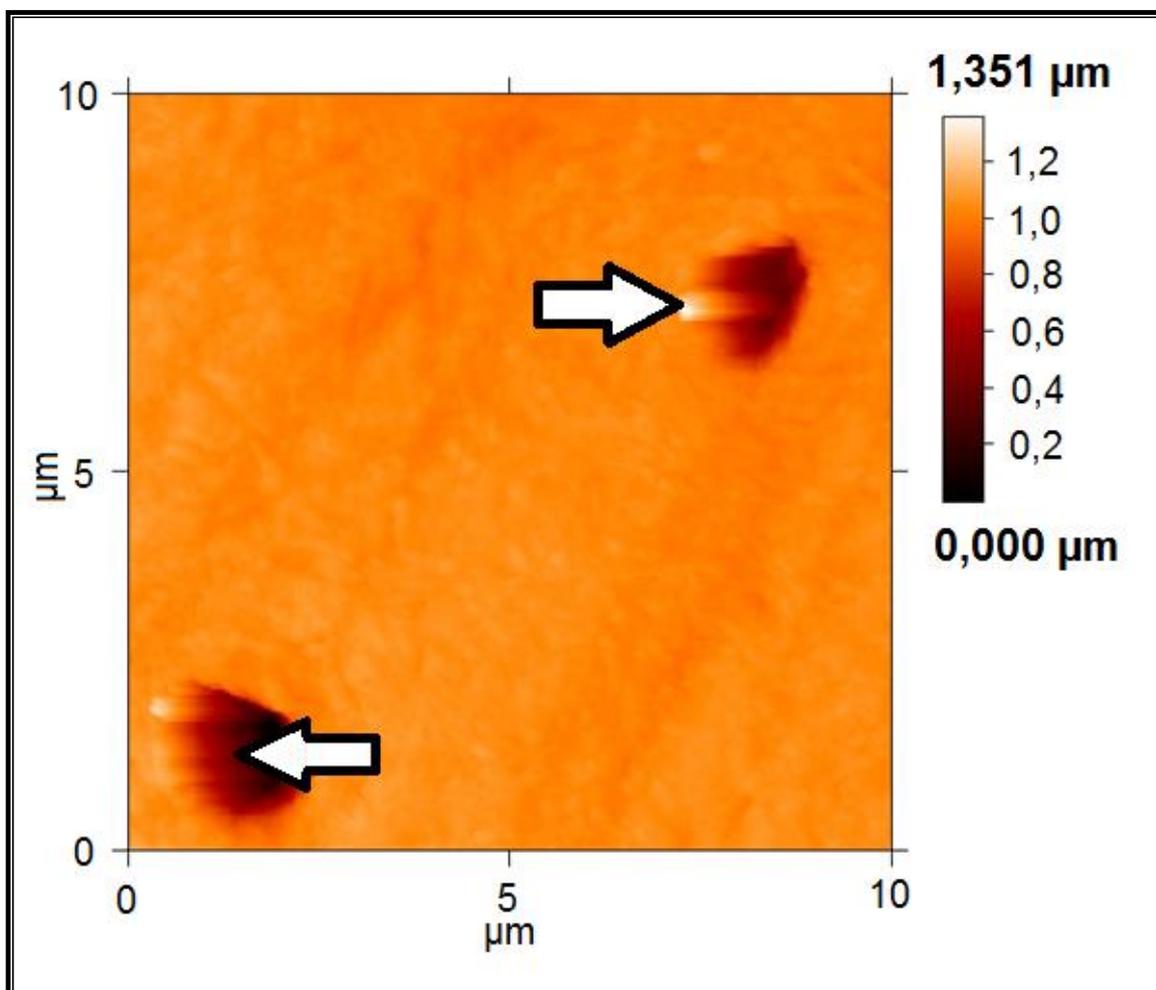


Abb. 25: AFM-Aufnahme einer Dentinoberfläche. In den Bereichen um die Dentinkanäle sind deutliche Bildartefakte zu sehen (Pfeilmarkierungen).

Die Oberfläche des unbehandelten Dentinpräparats mit intaktem „smear layer“ weist im Median eine gemittelte Rauhtiefe (R_z) von 18,51 nm auf (Min: 16,04 nm, Max: 33,09 nm). Bei den Dentinpräparaten mit intaktem „smear layer“, die mit den beiden Diodenlasern bestrahlt wurden, zeigt sich nur eine geringe Abweichung von R_z im Vergleich zum Referenzpräparat (Tab. 14, Tab. 15). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 26.

Tab. 14: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“.

	445 nm 0,5 W	445 nm 1 W	445 nm 1,5 W	445 nm 2 W
Median [nm]	15,2	14,2	19,1	17,0
Minimum [nm]	14,4	11,9	12,8	15,8
Maximum [nm]	17,8	21,6	27,5	18,1

Tab. 15: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“.

	980 nm 0,5 W	980 nm 1 W	980 nm 1,5 W	980 nm 2 W
Median [nm]	24,5	15,2	14,8	10,7
Minimum [nm]	16,2	10,5	11,1	9,0
Maximum [nm]	33,4	20,0	16,4	11,5

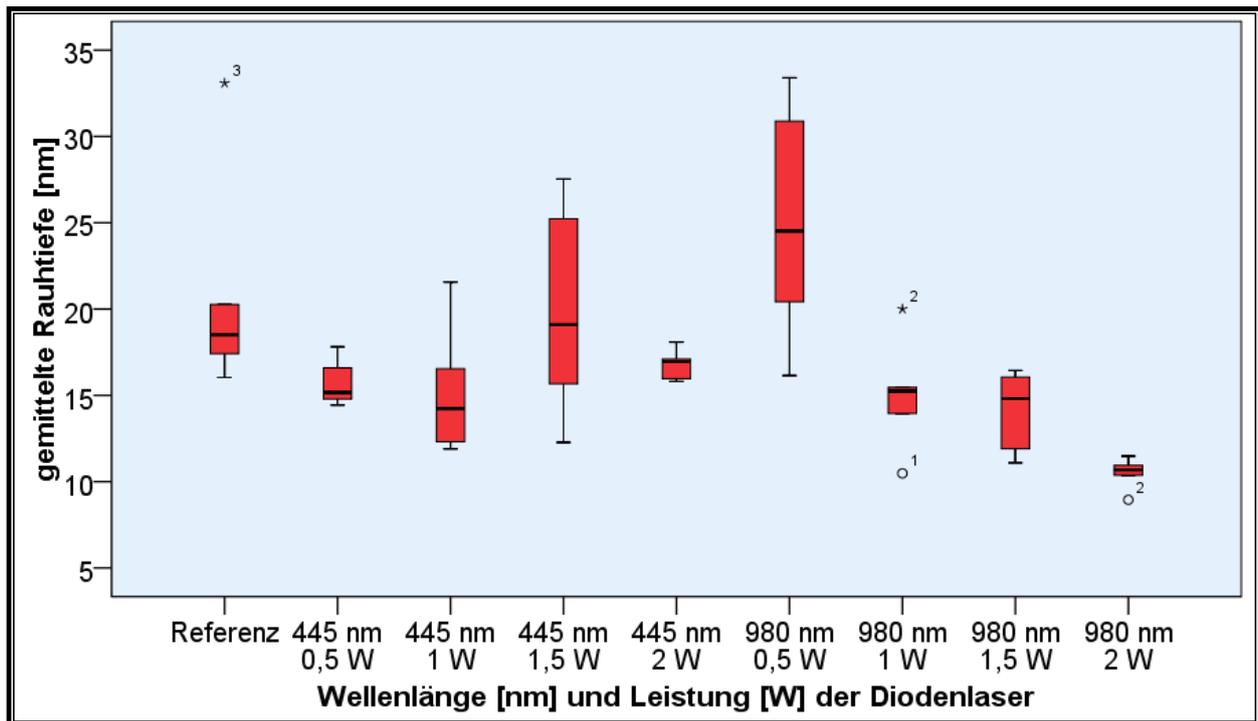


Abb. 26: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparaten mit intaktem „smear layer“. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Die Oberfläche des unbehandelten Dentinpräparats ohne „smear layer“ weist im Median eine gemittelte Rauhtiefe (R_z) von 18,27 nm auf (Min: 13,19 nm, Max: 22,15 nm). Bei den Dentinpräparaten ohne „smear layer“, die mit den beiden Diodenlasern bestrahlt wurden, zeigt sich nur eine geringe Abweichung von R_z im Vergleich zum Referenzpräparat (Tab. 16, Tab. 17). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 27.

Tab. 16: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“.

	445 nm 0,5 W	445 nm 1,5 W	445 nm 1 W	445 nm 2 W
Median [nm]	26,0	13,1	16,8	25,0
Minimum [nm]	23,7	10,9	16,5	20,8
Maximum [nm]	28,6	19,9	18,1	25,9

Tab. 17: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“.

	980 nm 0,5 W	980 nm 1 W	980 nm 1,5 W	980 nm 2 W
Median [nm]	15,4	29,6	22,9	23,4
Minimum [nm]	14,2	22,7	18,6	19,2
Maximum [nm]	28,0	34,0	32,8	27,8

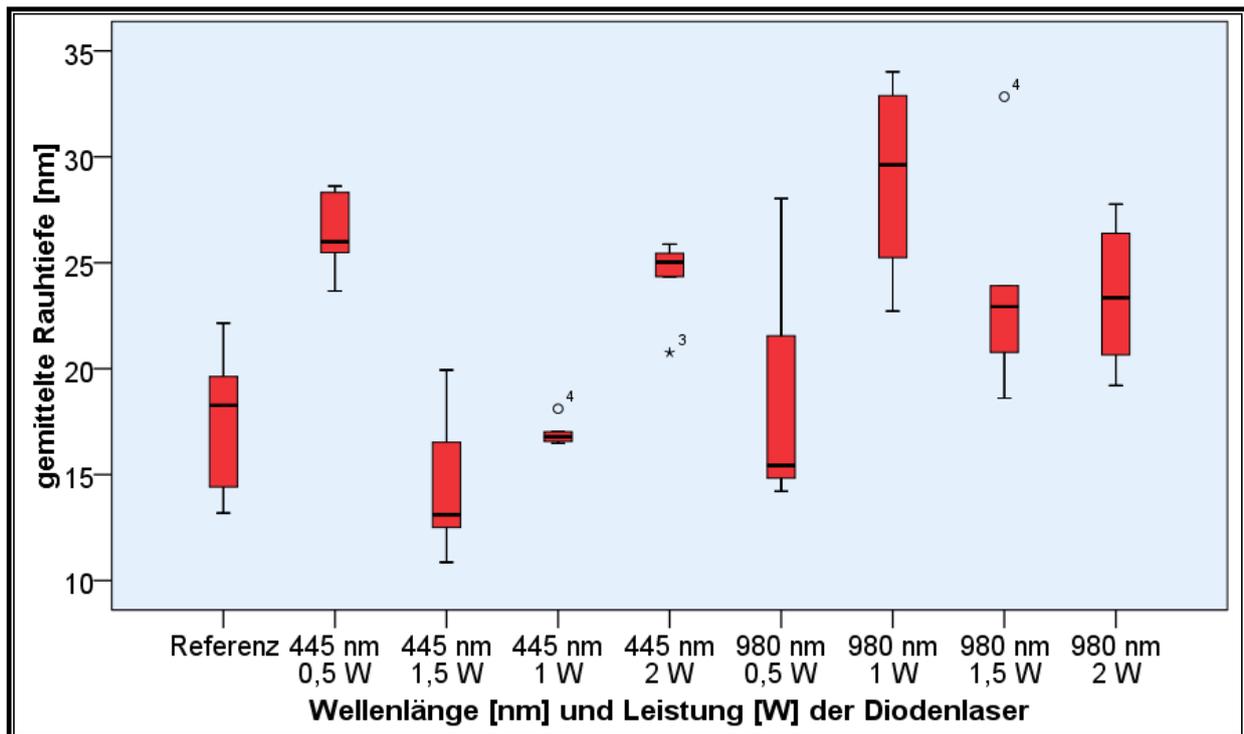


Abb. 27: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Die Oberfläche des Zahnschmelz weist im Median eine gemittelte Rauhtiefe (R_z) von 24,13 nm auf (Min: 13,93 nm, Max: 30,26 nm). Bei den Schmelzpräparaten, die mit den beiden Diodenlasern bestrahlt wurden, zeigt sich nur eine geringe Abweichung von R_z im Vergleich zum Referenzpräparat (Tab. 18, Tab. 19). Eine Übersicht über die ermittelten Werte für R_z in den verschiedenen Teilbereichen der Proben gibt Abb. 28.

Tab. 18: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzpräparate.

	445 nm 0,5 W	445 nm 1,5 W	445 nm 1 W	445 nm 2 W
Median [nm]	12,8	19,4	14,2	17,1
Minimum [nm]	11,0	15,3	12,2	11,0
Maximum [nm]	13,1	21,0	16,2	23,2

Tab. 19: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzpräparate.

	980 nm 0,5 W	980 nm 1 W	980 nm 1,5 W	980 nm 2 W
Median [nm]	25,5	19,1	14,2	18,5
Minimum [nm]	25,3	17,8	12,4	15,4
Maximum [nm]	32,6	23,1	15,7	20,0

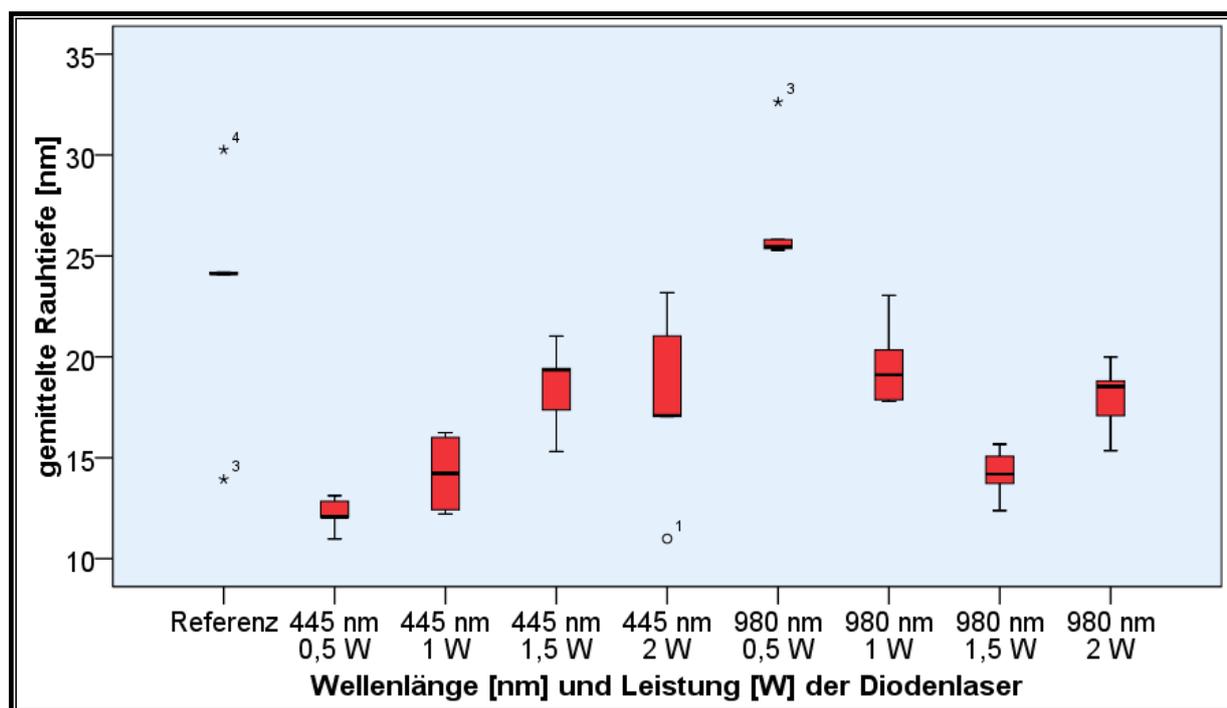


Abb. 28: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Schmelzpräparate. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Die gemittelte Rauhtiefe (R_z) ist im Vergleich zu dem Referenzpräparat deutlich erhöht. Durch die Einschränkung des AFM in der z-Achse auf einen Bereich von 3 μm musste ein Ausschnitt des Dentinpräparats gewählt werden, das keine besonders große, durch das Ablationsmuster verursachte Steilheit besitzt. Tab. 20 zeigt Median, Maximum und Minimum der ermittelten Werte für R_z . Abb. 29 zeigt eine Übersicht der gemittelten Rauhtiefen.

Tab. 20: Median, Minimum und Maximum der gemittelten Rauhtiefen (R_z) der mit dem UKPL bestrahlten Schmelz und Dentinpräparate.

	Schmelz	Dentin
Median [nm]	90	93
Minimum [nm]	63	76
Maximum [nm]	96	139

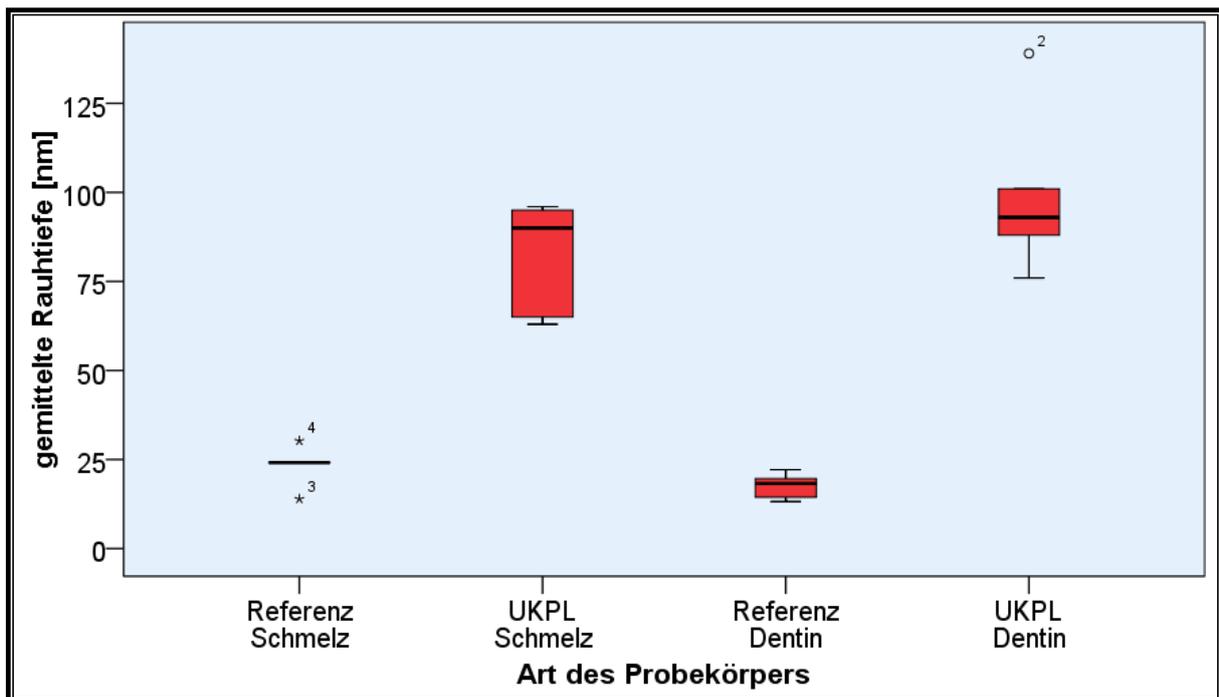


Abb. 29: Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit dem UKPL bestrahlten Präparate. Auf jeder Probe wurde jeweils in 5 Teilbereichen R_z bestimmt.

Durch die hohe Auflösung, die das Rasterkraftmikroskop bietet, ist es möglich aus den gemessenen Oberflächendaten eine dreidimensionale Aufnahme zu rekonstruieren. Diese Aufnahme eignet sich dafür, neben der Topographie auch die Morphologie der untersuchten Proben zu betrachten. Abbildung 30 zeigt die Oberfläche eines Dentinpräparates, auf der mit EDTA der „smear layer“ entfernt wurde. Im Dentin sind parallel angeordnet Polierspuren zu sehen.

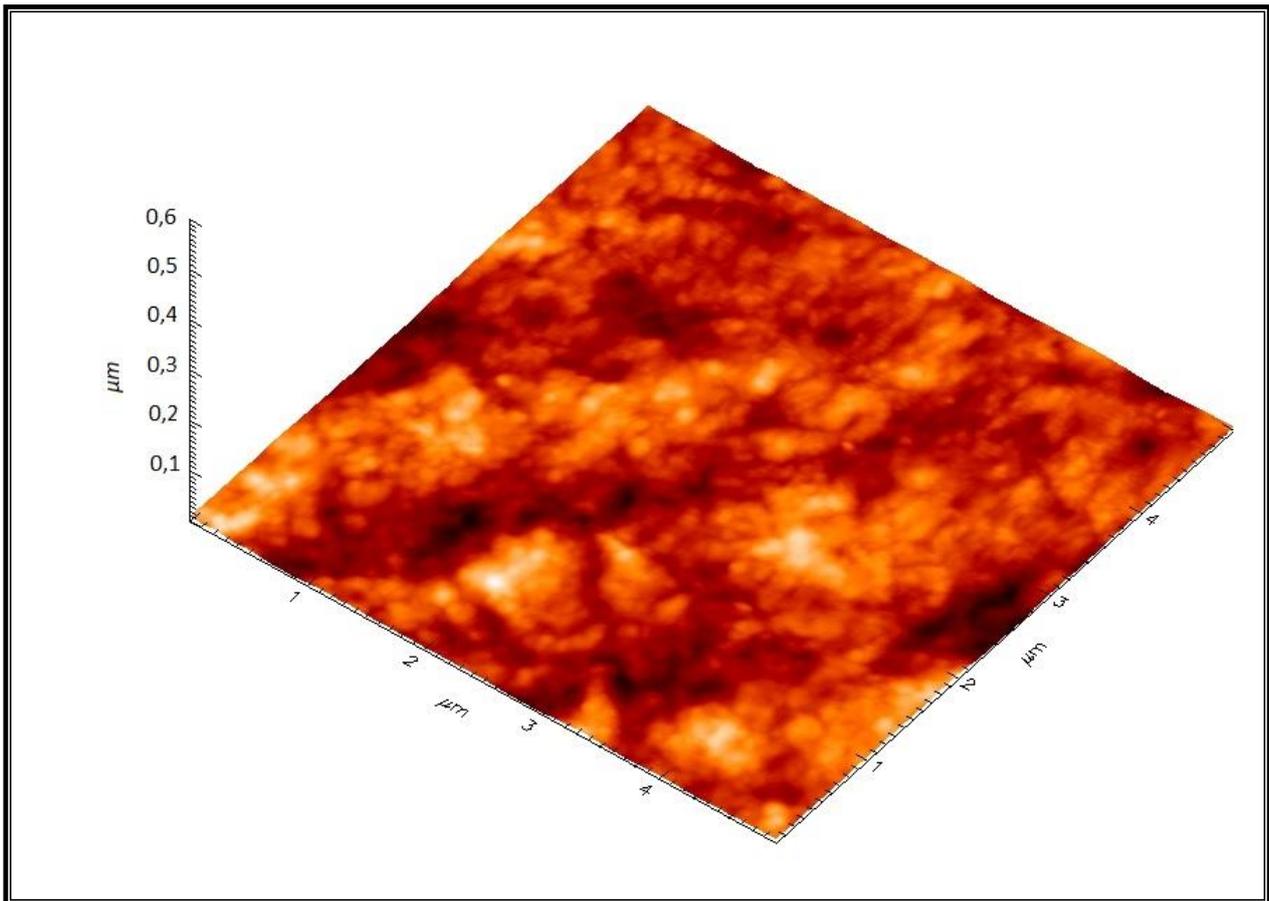


Abb. 30: Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Dentin ohne „smear layer“, mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen.

Beim unbestrahlten Schmelzpräparat zeigen sich ebenfalls Polierspuren. Die Oberfläche zeigt sich homogen zerklüftet. An einigen Stellen sind besonders hohe „Berge“ zu sehen. Durch die gewählte Farbgebung stellen sich diesen Stellen als sehr hell dar. Es handelt sich um Bildartefakte, die möglicherweise durch sehr steile Bereiche der Oberfläche oder durch Detritus verursacht wurden (Abb. 31).

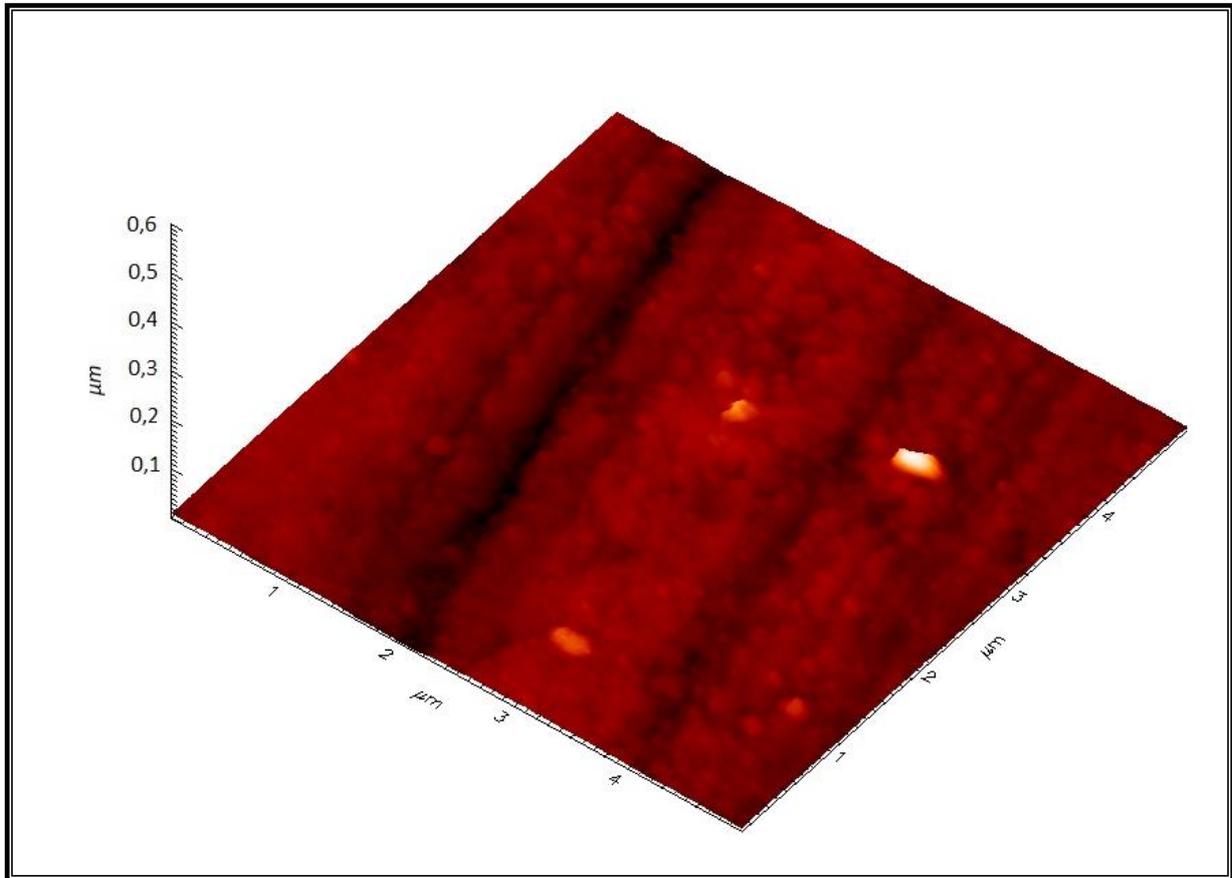


Abb. 31: Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Zahnschmelz, mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen. Je heller ein Bereich ist, desto höher ist die Oberfläche an dieser Stelle.

Bei den beiden mit dem UKPL bestrahlten Schmelz und Dentinpräparaten ist festzustellen, dass das AFM aufgrund der starken Höhenunterschiede und steilen Kavitätenwände an seine Grenzen stößt. Es zeigen sich vermehrt Unschärfen, die in dieser Ausprägung auf den Referenzpräparaten nicht zu sehen sind. (Abb.32 und 33).

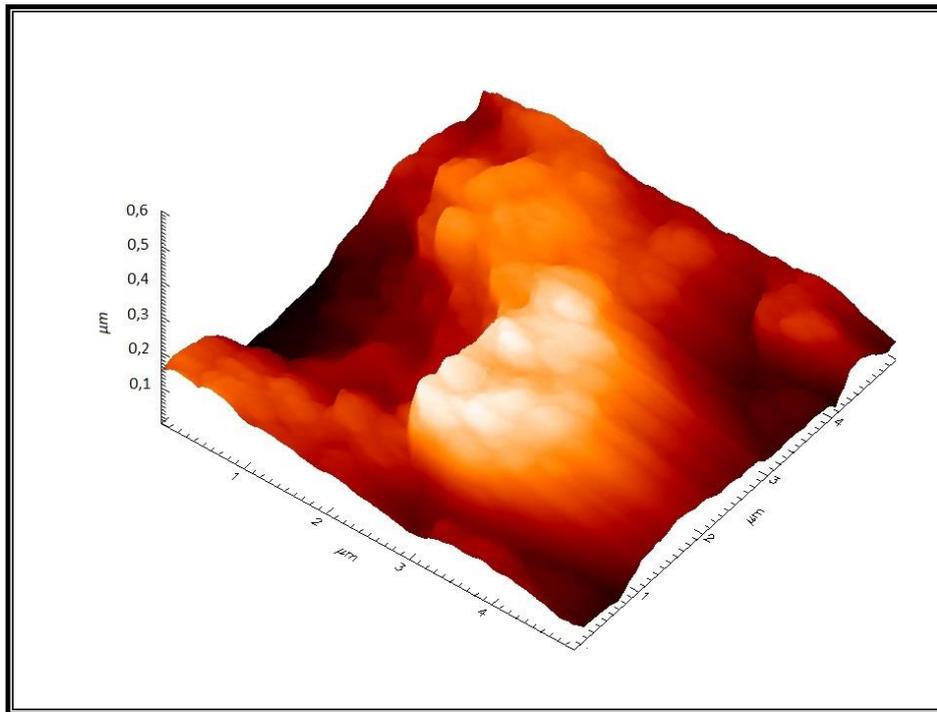


Abb. 32: Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Dentin nach Bestrahlung mit dem UKPL mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen. Die parallel angeordneten Linien am rechten Bildrand sind vermutlich Artefakte. Die Veränderung der Oberfläche durch den Laser ist eindrucksvoll zu sehen.

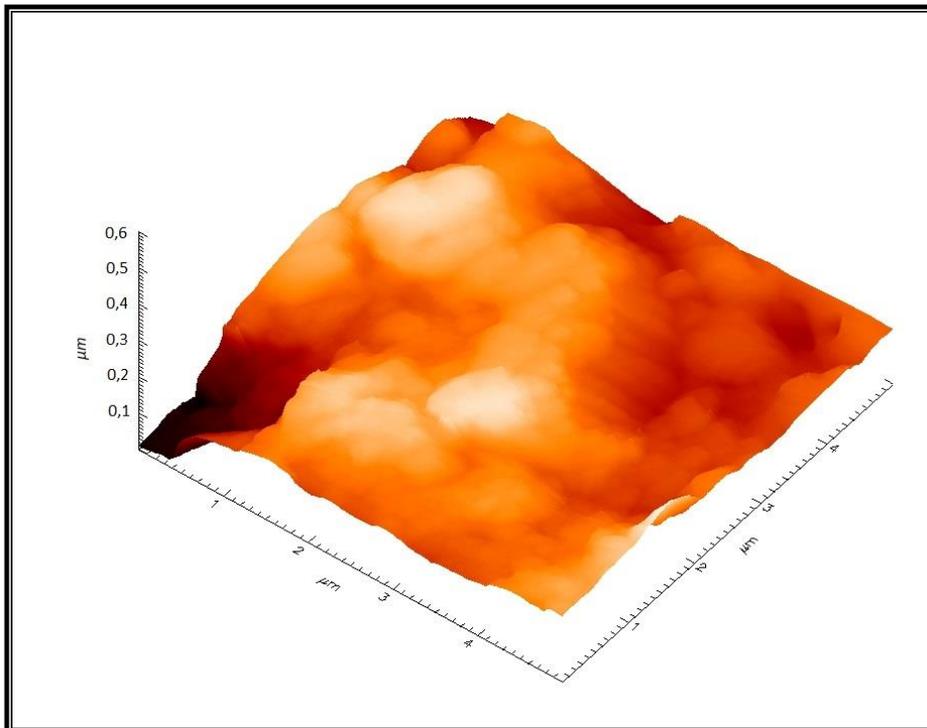


Abb. 33: Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Zahnschmelz nach Bestrahlung mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen. Die „Zacken“ auf den höchsten Stellen und die gleichmäßig parallel angeordneten Linien sind Bildartefakte.

3.4 Rasterelektronenmikroskopie

Auf dem unbehandelten Schmelzpräparat lassen sich parallel angeordnete Vertiefungen erkennen (Abb. 34). Diese Rillen sind eine Folge der Politur mit der rotierenden Schleifpapierscheibe. Auch einzelne aufgelagerte Partikel sind Folgen des Polierprozesses. Bei den mit EDTA vorbehandelten Probekörpern sind die Dentinkanäle als Folge der Entfernung des „smear layer“ deutlich dargestellt, ebenso wie die Dentinoberfläche zwischen den Kanälen (Abb. 35). Bei den übrigen Dentinpräparaten sind die Dentinkanäle zu sehen, sie sind deutlich mit dem „smear layer“ belegt. Die unterschiedliche Form der Kanäle ist eine Folge des Schneideprozesses. Werden die Dentinkanäle quer angeschnitten, stellen sie sich kreisförmig dar, wenn sie längs angeschnitten sind, stellen sie sich eher länglich dar. Die Morphologie der Präparate ist im Rahmen einer gewissen Varianz, die bei der Verwendung von biologischen Proben obligat ist, identisch. Alle mit den Diodenlasern bestrahlten Präparate weisen keine morphologischen Unterschiede zur Referenz auf. Bei deutlicher Verlängerung der Bestrahlungszeit mit dem 445 nm-Diodenlaser kommt es wie in Kapitel 3.1 beschrieben zu einer deutlichen Kavitätenbildung mit Karbonisation der umliegenden Oberfläche. In Abb. 36 sind die Auswirkungen dieser Effekte deutlich zu sehen.

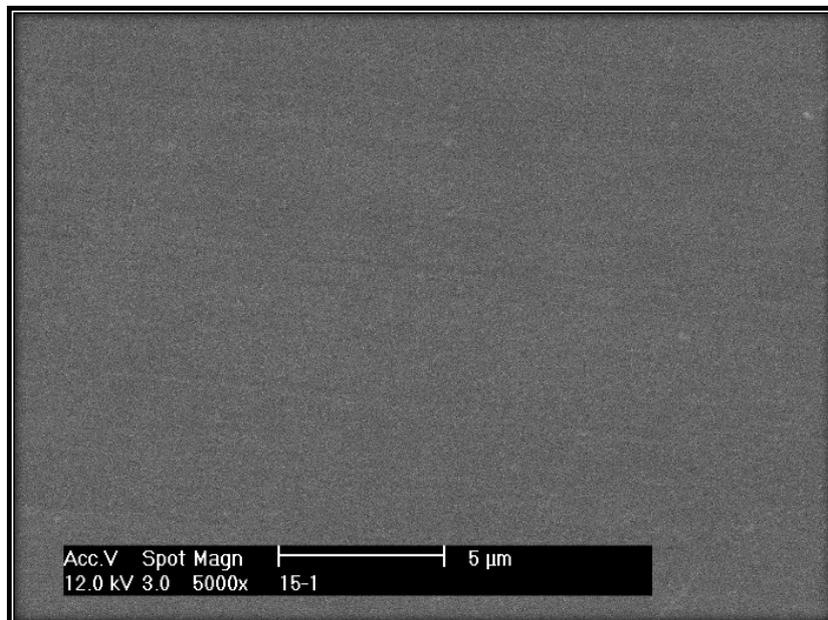


Abb. 34: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000-facher Vergrößerung einer mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzprobe (Parameter: 2 W, 5 s). Es sind keine Veränderungen im Vergleich zum Referenzpräparat zu sehen.

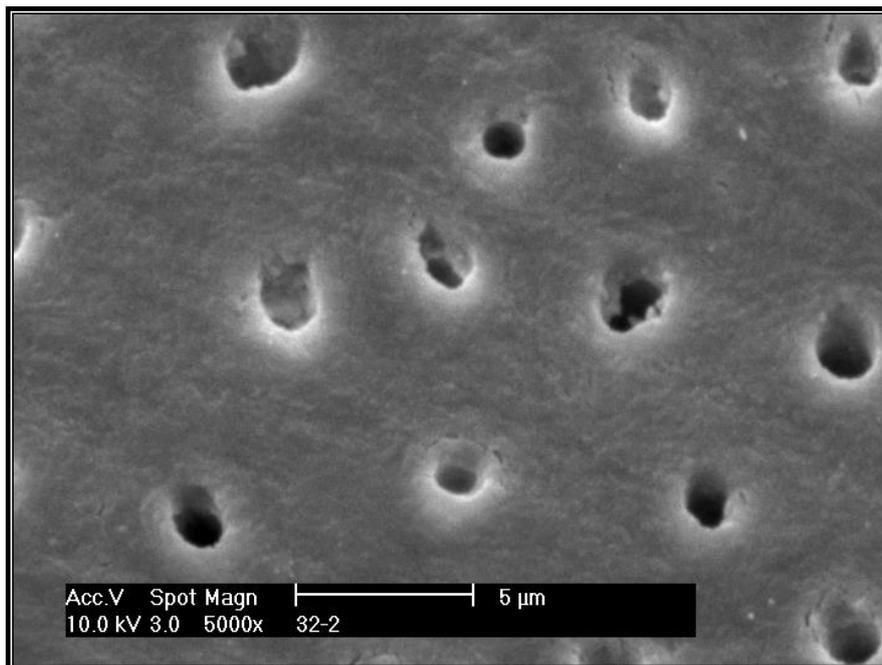


Abb. 35: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000-facher Vergrößerung einer mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinprobe ohne „smear layer“ (Parameter: 1 W, 5 s). Es sind keine Veränderungen im Vergleich zum Referenzpräparat zu sehen.

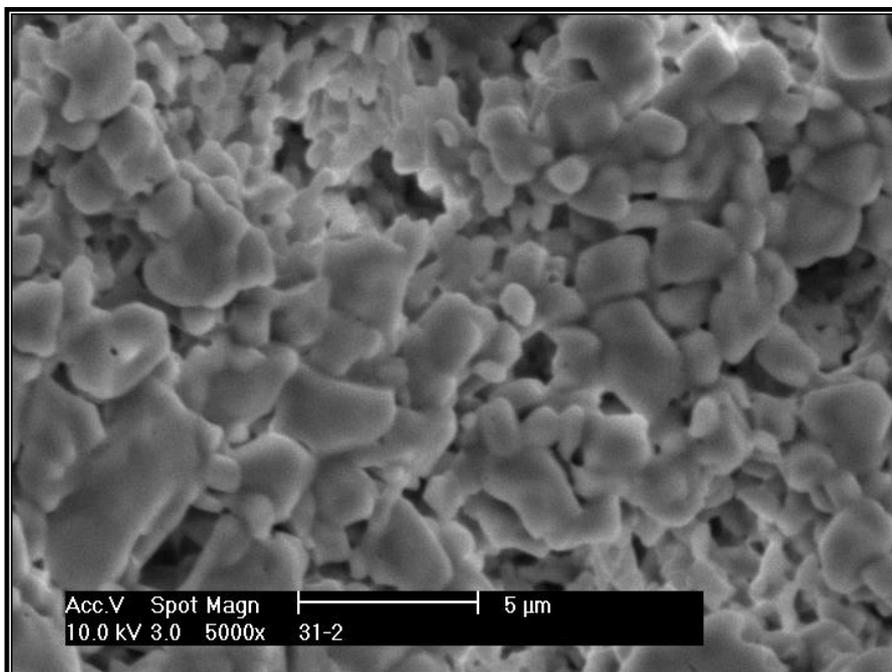


Abb. 36: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000-facher Vergrößerung einer mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzprobe ohne „smear layer“ (Parameter: 2 W, 15 s). Es ist eine deutliche Veränderung der Oberfläche zu sehen. Die Zahnhartsubstanz ist regelrecht eingeschmolzen.

Die mit dem UKPL bestrahlten Präparate zeigen bei 1000-facher Vergrößerung eine homogene Veränderung der Oberflächenmorphologie. Es ist eine gitterartige Struktur mit gleichmäßig angeordneten Erhöhungen und Vertiefungen entstanden. Dieses Muster ist die Folge des im zu dem UKPL gehörenden Scanner-System eingestellten nutzerspezifischen Ablationsmusters (Abb. 37). Bei 5000-facher Vergrößerung folgt die Veränderung der Oberfläche keinem bestimmten Muster. Es sind diffuse Strukturen sichtbar und es scheint als wäre der Schmelz herausgesprengt worden. Die relativ scharfen Kanten deuten darauf hin, dass es zu keiner thermischen Reaktion gekommen ist. Des Weiteren imponieren punktförmige Vertiefungen (Abb. 38). Dabei handelt es sich um Folgen der in Kapitel 1.2.3 beschriebenen Photoablation. Bei den Dentinpräparaten sind die Dentinkanäle klar zu sehen. Dazwischenliegende punktförmige Vertiefungen sind als Folge der Photoablation zu erkennen. Diese Vertiefungen lassen sich leicht mit Dentinkanälen verwechseln, ihre Anzahl und Lage zeigen aber, dass sie erst durch Bestrahlung mit dem UKPL entstanden sein müssen (Abb. 39). Es sind keine auffällig abgerundete Kanten zu erkennen, welche auf eine thermische Reaktion hinweisen würden. Besonders in der REM-Aufnahme mit 5000-facher Vergrößerung würden derartige Veränderungen deutlich hervorstechen. Die Entfernung des „smear layer“ hat keinen Einfluss auf die Veränderung der Morphologie nach Laserbestrahlung.

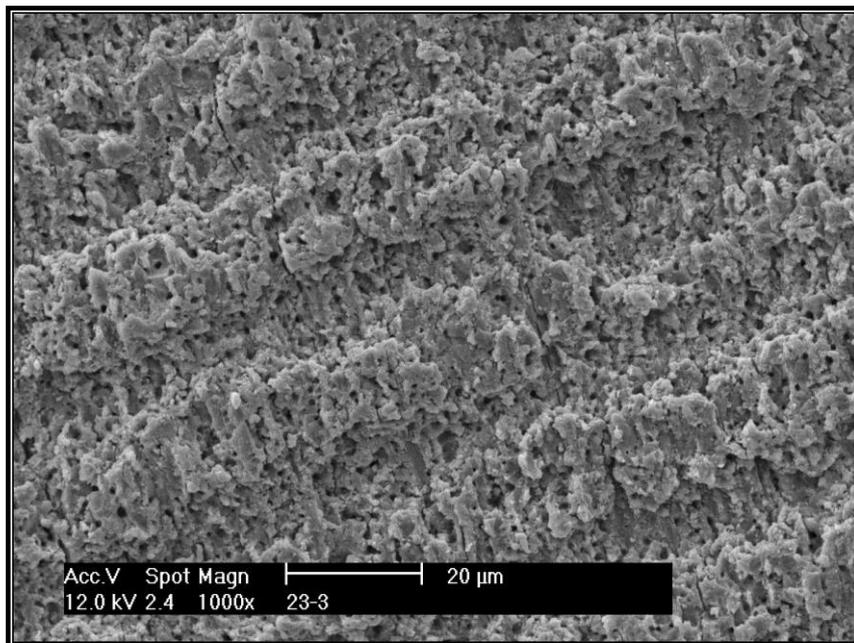


Abb. 37: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme mit 1000-facher Vergrößerung einer mit dem UKPL bestrahlten Dentinprobe. Es ist eine homogene Veränderung der Oberfläche zu sehen.

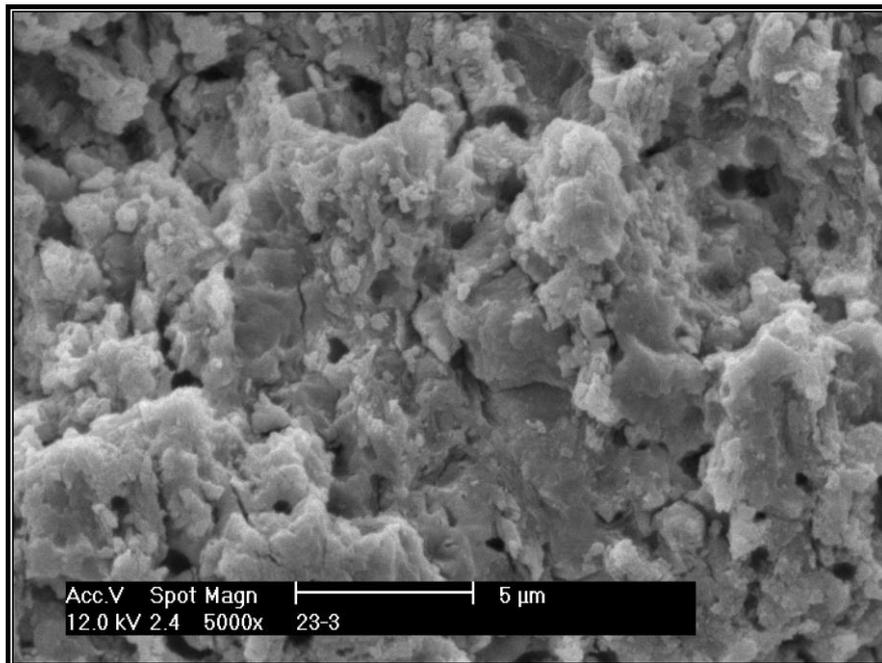


Abb. 38: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000-facher Vergrößerung einer mit dem UKPL bestrahlten Dentinprobe. Es ist eine diffuse Veränderung des Dentins zu sehen. Die Oberfläche ist scharfkantig und es sind vereinzelt Dentinkanäle zu sehen.

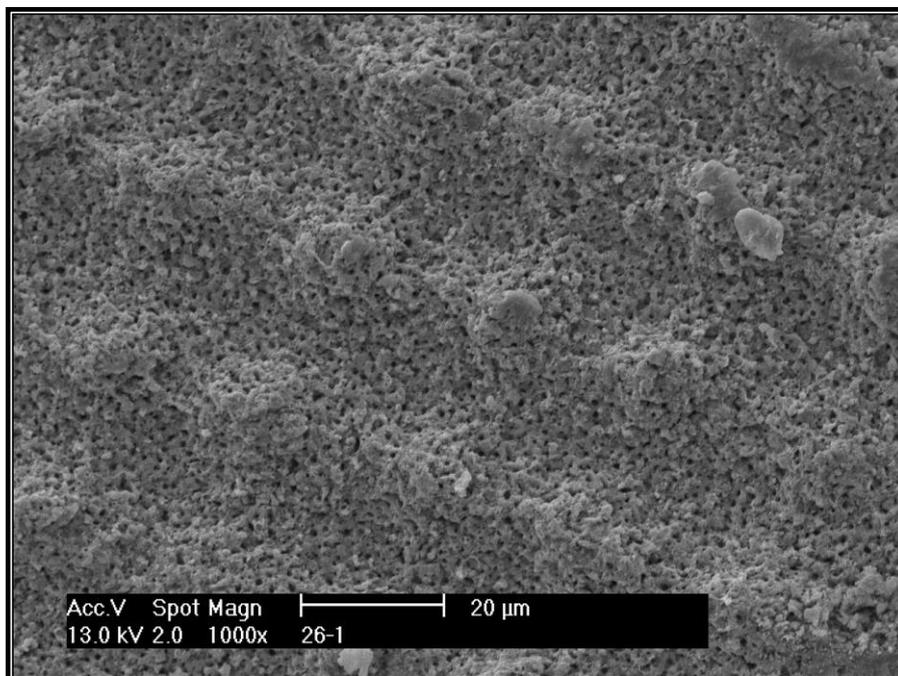


Abb. 39: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 1000-facher Vergrößerung einer mit dem UKPL bestrahlten Schmelzprobe. Es ist eine homogene Veränderung der Oberfläche zu sehen. Die kleinen punktförmigen Vertiefungen sind eine Folge des Ablationsprozesses. Die Entstehung der homogenen Struktur der Oberfläche ist dem Ablationsmuster der Scannersoftware zuzuordnen.

Bei den mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Präparaten sind deutliche Veränderungen zur unbehandelten Oberfläche zu erkennen. Es sind Teile der Zahnhartsubstanz herausgesprengt worden. Es sind deutlich aufgeraute dachziegelartige Bereiche zu erkennen und Bereiche die sich in 1000-facher Auflösung relativ glatt zeigen (Abb. 40). In 5000-facher Vergrößerung zeigt sich eine aufgeraute Oberfläche. Die Kanten sind abgerundet (Abb. 41). Auf dem Schmelzpräparat eine netzartige eingeschmolzene Struktur zu sehen (Abb. 42). Auch hier gibt es keinen Unterschied zwischen Dentinpräparaten mit und ohne „smear layer“. Die starke Veränderung der Oberfläche hat die Untersuchung dieser Proben mit dem Rasterkraftmikroskop aus technischen Gründen unmöglich gemacht.

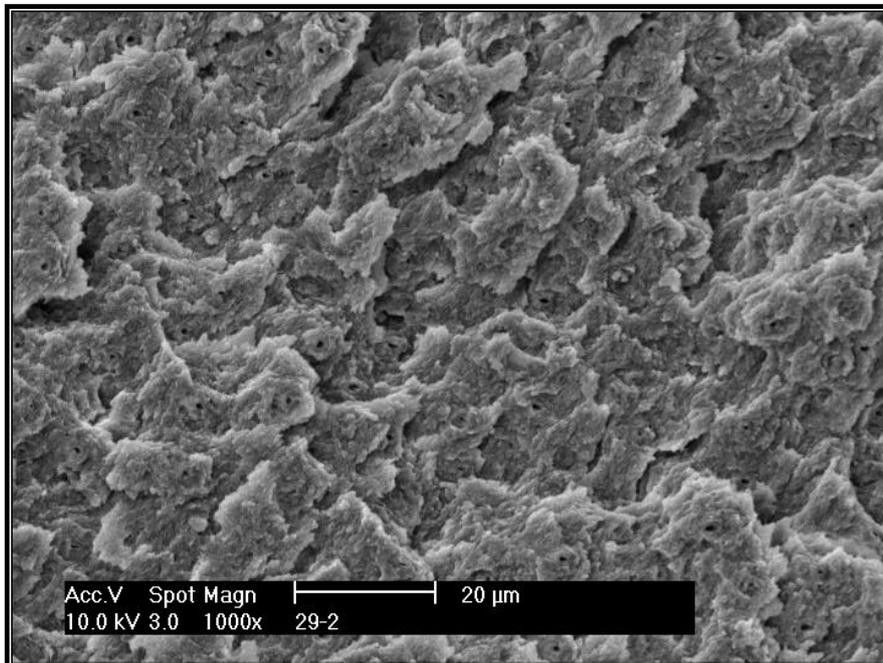


Abb. 40: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 1000-facher Vergrößerung einer mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Dentinprobe ohne „smear layer“. Es ist eine gleichmäßige dachziegelartige Struktur zu erkennen.

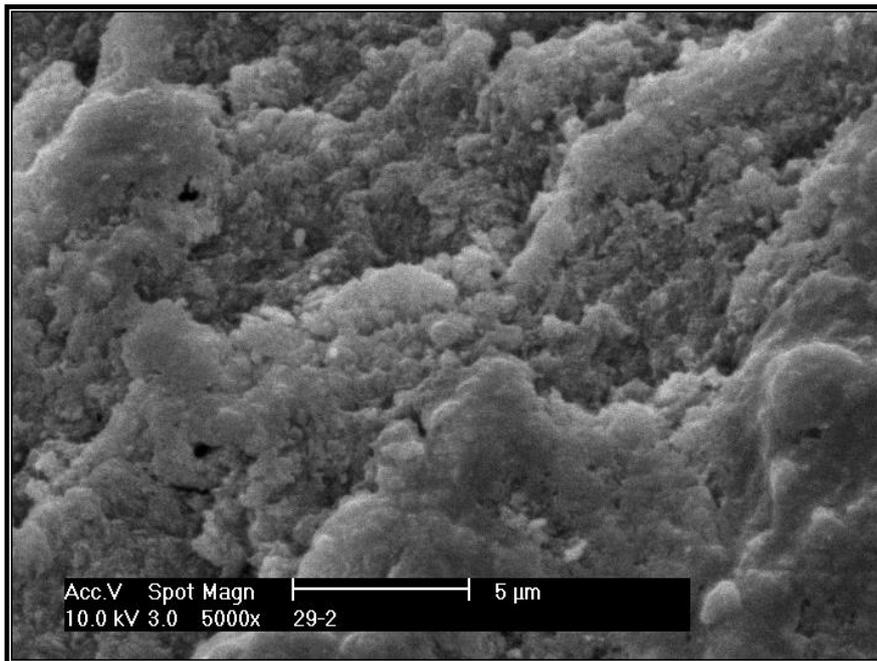


Abb. 41: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000-facher Vergrößerung einer mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Dentinprobe ohne „smear layer“. Es zeigt sich eine heterogene Oberfläche. Die abgerundeten Kanten sind deutlich zu sehen.

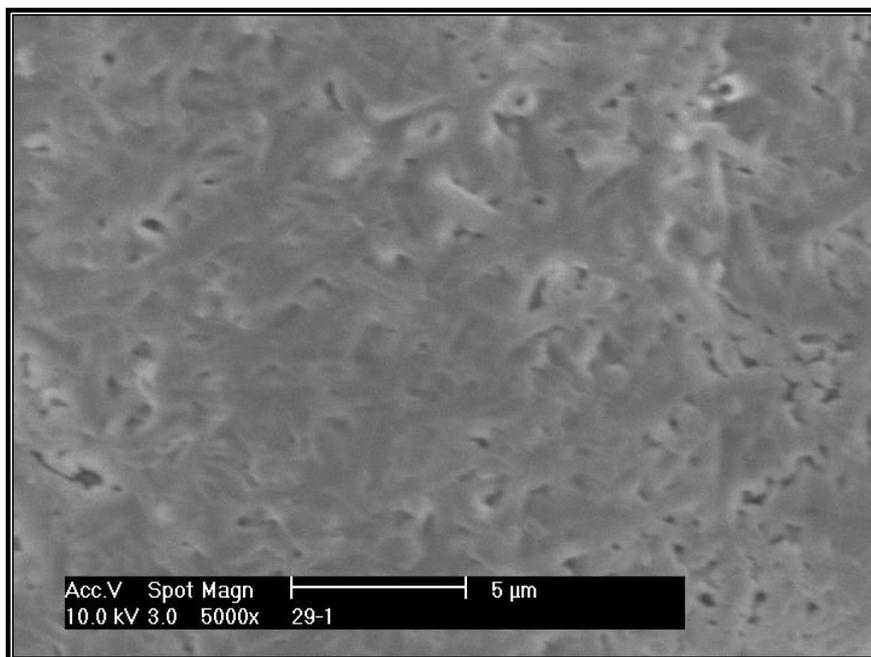


Abb. 42: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000-facher Vergrößerung einer mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Schmelzprobe. Es ist eine gitterartige, relativ homogen eingeschmolzene Struktur zu sehen.

4. Diskussion

4.1 Methodenkritik

Bei der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine In-vitro-Studie. Da es sich bei den verwendeten Zähnen um extrahierte obere und untere dritte Molaren vor oder kurz nach dem Durchbruch handelt, kann eine Veränderung der Zahnhartsubstanz durch pathologische Prozesse wie zum Beispiel Karies weitestgehend ausgeschlossen werden. Die Übertragbarkeit der Ergebnisse auf die klinische Situation ist gegeben, da die Struktur und physikalische Eigenschaften der Zahnhartgewebe bei Lagerung in physiologischer Lösung über einen längeren Zeitraum erhalten bleiben. Die Verwendung von 0,9 % Kochsalzlösung mit Natriumazidzusatz ist ein anerkanntes und erfolgreich verwendetes Verfahren zur Lagerung von Zähnen, bei dem es zu keiner Veränderung der Proben kommt und sie gegen eine mikrobielle Besiedelung geschützt sind (Haller et al., 1993). Deshalb entsprechen die Probekörpereigenschaften annähernd der Situation in-vivo.

Die Wahl der Laserparameter erfolgte nach Durchführung einiger Vorversuche hauptsächlich aus klinischen Erwägungen. Die für den Er:YAG-Laser gewählten Parameter entsprechen den durch das Gerät vorgegebenen Voreinstellungen für die Schmelz- und Dentinbearbeitung. Die Parameter für den 980 nm-Diodenlaser entsprechen exemplarisch den typischen Parametern bei der nicht chirurgischen Parodontitistherapie (Slot et al., 2014). Da der 445 nm-Laser bisher noch keine klinische Anwendung in der Zahnheilkunde gefunden hat, wurden hier die identischen Parameter gewählt, um bestmögliche Vergleichbarkeit zu erzielen. Bei dem UKPL wurden die Parameter entsprechend der Voruntersuchungen von Engelbach et al. (2014) gewählt. Diese Parameter haben sich in Bezug auf Nebenwirkungen als besonders günstig erwiesen. Die Zahl der abgetragenen Schichten wurde so gewählt, dass makroskopisch ein entsprechendes Ablationsmuster zu sehen war, ohne dass eine tiefere Kavität entstand. Für die Oberflächenkonditionierung wurde unter diesen Gesichtspunkten nur ein 5-facher Laserscan der Oberfläche gewählt. Aufgrund der bereits bestimmten Ablationsraten lag daher der Abtrag bei $< 0,5$ mm (Schelle et al., 2014).

Pro Parameter wurde jeweils ein Probekörper untersucht. Dieses Vorgehen wurde gewählt, um die vorhandenen Mittel möglichst effektiv zu nutzen; Untersuchungen mit dem Rasterkraftmikroskop sind sehr aufwendig. Zur Kontrolle der Versuchsbedingungen

wurde deshalb eine Versuchsreihe mit allen auch später im Hauptversuch verwendeten Parametern durchgeführt und mit dem Rasterelektronenmikroskop analysiert. Nachdem die Proben im Hauptversuch mit dem AFM untersucht wurden, wurde von diesem Proben ebenfalls Bilder mit dem REM gemacht und verglichen. Da die Oberflächenmorphologie hier identisch mit den Proben des Vorversuches war, kann von einer korrekten Versuchsdurchführung ausgegangen werden.

Das Rasterkraftmikroskop ist in der zahnmedizinischen Forschung relativ neu und dementsprechend nicht weit verbreitet. Morris et al. (1999) haben gezeigt, dass das AFM gut geeignet ist, um sowohl Zahnschmelz als auch Dentin zu untersuchen. Als großer Nachteil ist zu erwähnen, dass das in dieser Studie verwendete AFM in der Z-Achse lediglich Höhenunterschiede im Bereich bis maximal 3 µm vermessen kann. Bei größeren Differenzen kommt es zur Bildung von Bildartefakten und die Messspitze kann mechanisch beschädigt werden. Aufgrund der starken Veränderung der Oberfläche nach Bestrahlung mit dem Er:YAG-Laser musste deshalb auf eine Untersuchung dieser Probekörper mit dem AFM verzichtet werden.

Da sowohl das AFM als auch das CFM keine Präparation der Proben erfordern, war es möglich eine Probe mit allen drei Mikroskoptechniken zu untersuchen.

4.2 Bewertung der Ergebnisse und Literaturvergleich

Direkte Vergleiche mit anderen Studien sind nur sehr eingeschränkt möglich. Lediglich im Bereich der Erbium-Laser wurden bereits Untersuchungen mittels eines AFM durchgeführt. Hier unterscheiden sich allerdings die gewählten Parameter deutlich, was eine Vergleichbarkeit schwierig macht (Botta et al., 2011; Rodríguez-Vilchis et al., 2011). Meister (2011) hat außerdem gezeigt, dass es bei Veränderung der Energiedichte zu einer Veränderung der Modenstruktur des Laserstrahls des Erbium-Lasers kommt und sich das Ablationsmuster verändern kann. Es wurden bereits Versuche unternommen, die Säureresistenz und damit die Widerstandsfähigkeit von Zahnschmelz gegen Karies durch Bestrahlung von Zähnen mit einem Erbium-Laser im subablativen Bereich zu erhöhen (Cecchini et al., 2005). Da es dabei zu der Entstehung von Rissen im Zahnschmelz kam, wurde diese Theorie wieder verworfen (Apel et al., 2005). Rodríguez-Vilchis et al. (2011)

haben ein AFM benutzt um weitergehende Erkenntnisse über diese Schmelzrisse zu erlangen. Auch in dieser Studie wurde nur eine sehr geringe Anzahl an Proben verwendet. Im Gegensatz zu dem von Apel et al. (2005) angewandten SEM können mit dem AFM nicht nur Aussagen über morphologische Veränderungen getroffen werden, sondern auch über die dreidimensionale Struktur. Es ist möglich, Strukturveränderungen nicht nur festzustellen, sondern sie auch zu quantifizieren. Die Oberflächenmorphologie der mit dem AFM untersuchten unbehandelten Schmelzproben von Rodríguez-Vilchis et al. (2011) ist identisch zur Oberflächenmorphologie der in der vorliegenden Studie verwendeten Schmelzproben. Im Gegensatz zu der vorstehend genannten Studie wurde in der vorliegenden Arbeit mit höheren Energiedichten gearbeitet, die zu einer Ablation von Zahnhartgewebe geführt haben. Wie in 4.1 erläutert, war die Messung der mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Proben mit dem AFM unter den gewählten Versuchsparametern nicht möglich. Sowohl im REM als auch im CFM konnten die von Apel et al. (2005) beobachteten Schmelzrisse festgestellt werden. Mehl et al. (1997) konnten beim Einsatz eines Er:YAG-Lasers mit ähnlichen Parametern wie in der vorliegenden Arbeit keine signifikante Temperaturerhöhung feststellen. Gleichzeitig ist durch den Aufbau ihrer Studie keine exakte Übertagbarkeit der Temperaturmessung möglich. Besonders für die Oberflächenstruktur nahe der Oberfläche sei eine größere Temperaturerhöhung möglich.

In der vorliegenden Arbeit zeigen sich im Dentin keine Anzeichen auf das Entstehen von thermischen Effekten. Im Schmelz hingegen sind in den REM-Aufnahmen im Zentrum der Ablation deutlich abgerundete Kanten zu sehen. Diese weichen abgerundeten Kanten können auf ein Schmelzen des Zahnschmelzes als Folge eines thermischen Effekts hindeuten. Aufgrund von selektiver Absorption des Er:YAG-Lasers in Wasser und Hydroxylapatit kommt es aufgrund des größeren Gehaltes dieser Substanzen in Dentin zu einer stärkeren Veränderung der Gewebemorphologie (Shigetami et al., 2002).

Da die Oberfläche der Zahnhartsubstanz nach Bestrahlung mit einem Er:YAG-Laser eine deutlich erhöhte Rauheit aufweist, wird sie als alternative zur klassischen Säure-Ätz-Technik diskutiert. Alavi et al. (2014) zeigten, dass die Haftstärke von kieferorthopädischen Brackets identisch ist, wenn anstatt der typischen Säureätzung der Zahnschmelz mit einem Er:YAG-Laser konditioniert wird. Yassaei et al. (2014) bestätigen dies. Die aktuelle Studienlage zur Auswirkung der Laserbestrahlung im Vergleich zu konventionell rotieren-

den Instrumenten ist unklar. Während einige Studien eine Gleichwertigkeit bei der Haftstärke von Adhäsivsystemen attestieren, stellten andere Autoren eine verringerte Haftstärke fest (De Munck et al., 2005; Dunn et al., 2005; Moldes et al., 2009).

Im Gegensatz zu der ausgeprägten Oberflächenveränderung bei der Benutzung des Er:YAG-Lasers konnte bei der Verwendung des 980 nm-Diodenlasers keine signifikante Veränderung der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche und keine Veränderung der Morphologie festgestellt werden. Dies deckt sich mit der eingangs formulierten Vermutung. Laser der Wellenlängen zwischen 800 nm und 980 nm werden kaum von Wasser und Hydroxylapatit absorbiert, dafür aber besonders gut von Melanin und Hämoglobin (Marchesan et al., 2008; Gutknecht et al., 2007; Parker, 2007). Die typische Domäne des 980 nm-Diodenlasers, sowie aller Laser, die im infraroten Spektrum arbeiten, ist der Einsatz im Rahmen der Endodontie, der Parodontologie und der Weichgewebschirurgie (E-lanchezhiyan et al., 2013; Lee et al., 2004; Slot et al., 2014).

Kenntnisse über die Auswirkungen dieser Laser auf die Zahnhartsubstanz sind unerlässlich für eine Anwendung „lege artis“, da es bei Verwendung im oralen Bereich immer auch dazu kommen kann, dass Schmelz und Dentin dem Laserstrahl ausgesetzt sind. Im Gegensatz zu der vorliegenden Arbeit konnten Umana et al. (2013) mit einem 980 nm-Diodenlaser und ähnlichen Bestrahlungsparametern eine Veränderung der Oberflächenmorphologie von Zahnschmelz durch eine Untersuchung mit einem SEM feststellen. Auch dort wurde der smear layer durch die einminütige Applikation von EDTA entfernt. Sie sehen in dem Diodenlaser eine neue Möglichkeit, Dentinhypersensivitäten zu behandeln. Die unterschiedlichen Ergebnisse können durch die doppelt so lange Bestrahlungszeit und die Verwendung einer dünneren Glasfaser verursacht sein. Des Weiteren stellten sie fest, dass es bei der Bestrahlung von Dentin mit einem 980 nm-Diodenlaser bis zu einer Leistung von 2 Watt zu keiner kritisch zu sehenden Erhöhung der Pulpentemperatur kommt. Verwendet man anstatt eines gepulsten Lasers einen Dauerstrichlaser kommt es bereits bei einer Leistung von 1,5 W und einer Frequenz von 100 Hz zu einer Veränderung der Dentinmorphologie (Faria et al., 2013). Die Vorbehandlung der Dentinoberfläche mit verschiedenen Spülflüssigkeiten hat Einfluss auf die Oberflächenmorphologie (Alfredo et al., 2009). Während eine Vorbehandlung mit Natriumhypochlorid den „smear layer“ intakt lässt, führt eine Spülung mit EDTA zu einer Auflösung des „smear layer“ und damit zu einem freilegen der Dentinkanäle. Im Gegensatz zur vorliegenden Arbeit zeigte sich bei

Alfrede et al. (2009) signifikante Veränderungen der Oberflächenmorphologie nach Laserbestrahlung. Dies kann auf die unterschiedlichen Laserparameter und Bestrahlungszeiten im Vergleich zur vorliegenden Arbeit zurückgeführt werden. Grundsätzlich ist eine Veränderung der Morphologie von Zahnschmelz und Dentin mit dem 980 nm-Diodenlaser möglich. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass es bei den gewählten Laserparametern zu keiner Veränderung der Zahnhartsubstanz kommt.

Zum 445 nm-Diodenlaser gibt es wie bereits eingangs erwähnt noch keine Untersuchungen im Bereich der Zahnmedizin. Im Vergleich zum 980 nm-Laser gibt es auch bei diesem Lasertyp keine morphologischen oder topographischen Veränderungen der Zahnhartsubstanz bei den gewählten Parametern. Im Vorversuch zeigte sich bei längerer Bestrahlungszeit eine deutlich erkennbare Kavitätenbildung mit ausgeprägter Karbonisation. Der 445 nm-Diodenlaser arbeitet ähnlich wie moderne Polymerisationslampen nahe des Absorptionsmaximum von Campherchinon (Mills et al., 2005). Dieses könnte ein interessanter Ansatz für weitere Forschungen sein.

Das Ultrakurzpulslasersystem bietet gegenüber anderen Lasersystemen den deutlichen Vorteil, dass es keine signifikanten thermischen Effekte verursacht und erst bei sehr hohen Pulsenergien disruptive Effekte und damit Rissbildung verursacht (Niemz et al., 1993; Niemz, 2002). Während der Er:YAG-Laser seine Wirkung durch thermomechanische Wechselwirkung entfaltet, ist die Ablation von Zahnhartgewebe beim UKPL eine Folge der Photoablation. Dies erlaubt die Präparation von hochpräzisen Kavitäten ohne Schädigung der umliegenden Gewebe (Schelle et al., 2013). Zudem ist durch die unterschiedlichen Ablationsraten von gesunder und kariös veränderter Zahnhartsubstanz eine selektive Ablation von kariösem Gewebe prinzipiell möglich (Engelbach et al., 2014). Engelbach et al. (2014) konnten zeigen, dass die gemittelte Rauhtiefe R_z der präparierten Kavitäten signifikant höher ist als bei unbehandelter Oberfläche. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen der vorliegenden Arbeit. Die Rauheit ist besonders beim Einsatz von adhäsiven plastischen Füllungsmaterialien von Bedeutung. Um eine randspaltfreie Kompositversorgung zu schaffen, ist es notwendig die Oberfläche zu konditionieren. Dabei erzielt man eine bessere Oberflächenbenetzbarkeit, eine Oberflächenvergrößerung und ein Mikroretentionsrelief (Hellwig et al., 2009). Dies geschieht üblicherweise durch das Auftragen von 37%iger Phosphorsäure. Verschiedene Studien konnten eine große Ähnlich-

keit zwischen Säure-Ätz-Muster und laserbestrahlter Oberfläche zeigen und eine gleichwertige Haftstärke des Komposit (Staninec et al., 2003 Staninec et al., 2006). Andere Studien konnten nur eine verringerte Haftstärke feststellen (Hedayatollahnajafi et al., 2009; Sheth et al., 2004). Für den in der vorliegenden Arbeit benutzten UKPL sind weitere Untersuchungen notwendig, um Aussagen über die Haftstärke von Kompositrestaurationen an der bestrahlten Oberfläche treffen zu können. Auch wenn es sich um einen photoablativen Prozess handelt, darf die Temperaturentwicklung der Zahnhartsubstanz insbesondere im Hinblick auf die Unversehrtheit der Pulpa nicht außer Acht gelassen werden. Braun et al. (2013) haben gezeigt, dass es bei der Bestrahlung mit einem UKPL zu einer messbaren Temperaturerhöhung kommen kann. Bereits bei einer Erhöhung der intrapulpalen Temperatur um 5,5 K kann es zu einer irreversiblen Schädigung kommen (Zach und Cohen, 1965). Allerdings wurde bei dieser die Blutzirkulation in der Pulpa nicht berücksichtigt. Kodonas et al. (2009) haben gezeigt, dass diese Blutzirkulation einen entscheidenden Einfluss auf die Temperaturerhöhung hat.

Alle verwendeten Mikroskoptechniken haben ihren Wert bei der Untersuchung von Zahnhartsubstanz bewiesen. Sowohl das Konfokalmikroskop als auch das Rasterkraftmikroskop bieten neben einer qualitativen Untersuchung von Oberflächen auch die Möglichkeit die Topografie der Oberflächen zu quantifizieren. Durch die deutlich höhere Auflösung des Rasterkraftmikroskops ist die Analyse der Gestaltabweichung einer höheren Ordnung möglich als beim Konfokalmikroskop. Um Nanostrukturen in der Zahnhartsubstanz mit dem Rasterkraftmikroskop sichtbar zu machen ist eine relativ ebene Oberfläche notwendig. Besonderes aufgeraute Flächen oder Unebenheiten wie Risse und Sprünge im zu untersuchenden Bereich können Ergebnisse verfälschen oder sogar verhindern. Sowohl beim Rasterkraftmikroskop als auch beim Konfokalmikroskop ist keine Vorbehandlung der Oberflächen notwendig. Da das Rasterkraftmikroskop die Probe mit dem „tip“ abtastet, ist es nicht auszuschließen, dass die Messung selber Effekte auf die Oberfläche hat (Morris et al., 1999). Im Gegensatz zu den genannten Techniken ist für die Untersuchung mit dem Rasterelektronenmikroskop immer eine Präparation der Proben notwendig. Die Oberfläche der Probe muss mit einer leitfähigen Schicht versehen werden um eine Wechselwirkung mit dem vom Rasterelektronenmikroskop emittierten Elektronen zu erreichen. Besonders Probekörper, die auf ein feuchtes Milieu angewiesen sind können hierbei beschä-

diget werden. Vor allem im Zahnschmelz konnte an einigen Proben eine Rissbildung beobachtet werden. Stark aufgeraute Oberflächen stellen kein Hindernis für das Rasterelektronenmikroskop dar. Es zeichnet sich durch eine besonders große Tiefenschärfe aus. Das Auflösungsvermögen eines Rasterelektronenmikroskops kann bis in den Nanometerbereich gehen (Zhou und Wang, 2006). Das Rasterkraftmikroskop liefert sogar Auflösungen bis in den atomaren Bereich und ermöglicht es Nanostrukturen von Oberflächen zu erfassen (Morris et al., 1999). Im Vergleich dazu bietet das Konfokalmikroskop die Möglichkeit sich in geringerer Auflösung eine Übersicht über die Oberflächentopografie eines größeren Bereichs zu verschaffen. Insgesamt sind die in der vorliegenden Arbeit verwendeten Mikroskoptechniken als komplementär zu sehen. Alle sind grundsätzlich geeignet um Zahnhartsubstanz zu untersuchen (Kinney et al., 2003; Schaad et al., 1993; Schelle et al., 2013; Watson, 1997).

4.3 Ausblick

Der verwendete Ultrakurzpulslaser ist in der Lage, Zahnhartsubstanz präzise abzutragen (Schelle et al., 2014). Außerdem ist ein effektiver Abtrag von kariösem Gewebe möglich (Engelbach et al., 2014). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit geben Aufschluss über Morphologie und Topografie der mit dem Laser geschaffenen Kavitäten. Weitere Untersuchungen müssen klären, ob die so geschaffene aufgeraute Oberfläche einen mikroretentiven Verbund mit Kompositrestaurationmaterialien und den dazugehörigen Haftvermittlern ermöglicht. Das könnte eine Alternative zur klassischen Konditionierung von Zahnschmelz und Dentin mit Phosphorsäure darstellen. Die vorliegende Arbeit soll als Teil der Grundlagenforschung dazu beitragen, zukünftig den hier eingesetzten Ultrakurzpulslaser sicher und effektiv zur Ablation von Zahnhartsubstanz verwenden zu können.

Der 445 nm-Diodenlaser ist ebenfalls Teil der zahnmedizinischen Grundlagenforschung. Bei den verwendeten Parametern in dieser Studie kam es zu keiner Veränderung der Zahnhartsubstanz. Außerdem liegt die Wellenlänge des Diodenlasers nah an dem Absorptionsmaximum von Camperchinon (Mills et al., 2005). Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob ein 445 nm-Diodenlaser geeignet sein könnte um Kompositfüllungsmaterialien auszuhärten und als Grundlage für neuartige Polymerisationslampen dienen kann.

Das Rasterkraftmikroskop ist eine effektive Methode die Oberfläche von Zahnhartsubstanz zu untersuchen. Aufgrund der technischen Voraussetzungen ist eine relativ ebene Oberfläche der Probekörper notwendig. Beachtet man diese Einschränkung, kann das Rasterkraftmikroskop in zukünftigen Studien neue Erkenntnisse über Veränderung von Oberflächen im Nanometerbereich liefern.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es unter anderem, einen ersten Einblick in die Nutzung der AFM-Technologie zur Beurteilung von Zahnschmelz und Dentin nach Bestrahlung mit unterschiedlichen Lasersystemen zu geben. Für aussagekräftigere Ergebnisse der einzelnen Teilbereiche dieser Studie müssen weitere Untersuchungen mit größerer Probenzahl durchgeführt werden. Die vorliegende Arbeit liefert dabei Anhaltspunkte zur Planung zukünftiger Studien.

5. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Studie war die Analyse der Oberflächenmikrostruktur von Zahnhartgewebe nach Bestrahlung mit insgesamt 4 unterschiedlichen, zum Teil neuartigen Lasersystemen unter anderem mithilfe der Rasterkraftmikroskopie im Vergleich mit anderen Analysemethoden.

Es wurden insgesamt 34 Probekörper aus extrahierten menschlichen Zähnen verwendet. Diese unterteilten sich in Proben aus Zahnschmelz, Dentin und Dentin bei dem mit 17% EDTA der „smear layer“ entfernt wurde. Zum Einsatz kam ein Er:YAG-Laser (Kavo Key III), ein dioden-gepumpter Nd:YVO₄-Laser (Ultrakurzpuls laser) und zwei Diodenlaser (Wellenlängen 445 nm und 980 nm). Mit dem Er:YAG-Laser wurden zwei Pulse bei einer Pulsenergie von 600 mJ und einer Pulsdauer von 250 µs und einer Frequenz von 1 Hz appliziert. Der Ultrakurzpuls laser wurde bei einer Repetitionsrate von 500 kHz mit der maximalen Leistung von 8,6 W verwendet. Es wurden 5 und 10 Wiederholungen des Scanprozesses durchgeführt, sodass es gerade zu einer makroskopisch sichtbaren Ablation kam. Die beiden Diodenlaser wurden mit identischen Parametern verwendet. Die Proben wurden 5 Sekunden bestrahlt; die gewählten Leistungen betragen 0,5, 1, 1,5 und 2 Watt. Nach der Laserapplikation wurden die Proben fotografisch bei einer 6- und 50-fachen Vergrößerung dokumentiert. Anschließend wurden die bestrahlten Flächen mit einem Konfokalmikroskop untersucht. Außerdem wurden die bestrahlten Oberflächen mit einem Rasterkraftmikroskop im Tapping-Mode und mit einem Rasterelektronenmikroskop untersucht. Für alle Oberflächen wurde die gemittelte Rauhtiefe (R_z) anhand der AFM und CFM-Aufnahmen bestimmt und miteinander verglichen. Außerdem wurden Oberflächen auf Veränderungen der Morphologie untersucht.

Die Bestrahlung mit den Diodenlasern hatte weder Einfluss auf die gemittelte Rauhtiefe noch auf die Morphologie. Sowohl beim Er:YAG-Laser als auch beim Ultrakurzpuls laser kommt es zu auffälligen morphologischen Veränderungen sowie zu einer starken Erhöhung von R_z im Vergleich mit dem Referenzpräparat sowohl bei den AFM- als auch bei den CFM-Aufnahmen. Solange die Oberfläche der bestrahlten Probekörper nicht zu rau ist, liefert das Rasterkraftmikroskop hochauflösende Bilder der Zahnhartsubstanz. Bei den

mit dem UKPL bestrahlten Präparaten gelangte das Rasterkraftmikroskop an die Grenze des Messbereichs auf der Z-Achse (3 μm). Es traten dann vermehrt Bildartefakte auf. Alle verwendeten Mikroskoptechniken sind geeignet, um damit Zahnhartsubstanz nach Laserbestrahlung zu analysieren. Die aufgeraute Oberfläche von Zahnschmelz und Dentin könnte Einfluss auf die Mikroretention im Sinne einer Konditionierung haben. Die beiden Diodenlaser verursachen mit den verwendeten Parametern keine Veränderung der Oberflächen. Das ist eine relevante Erkenntnis in Bezug auf den intraoralen Einsatz dieser Laser. Weitere Untersuchungen der einzelnen Teilbereiche dieser Pilotstudie mit größerer Probenzahl sind notwendig.

6. Tabellenverzeichnis

	Seite
Tab. 1: Laserwirkung und Gewebeveränderungen in Abhängigkeit von der Temperatur	12
Tab. 2: Anwendungsgebiet der Diodenlaser in der Zahnmedizin.	17
Tab. 3: Laserparameter des Er:YAG-Lasers	29
Tab. 4: Laserparameter des UKPL	30
Tab. 5: Laserparameter der Diodenlaser	31
Tab. 6: Median, Minimum und Maximum der mit dem 455 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“	44
Tab. 7: Median, Minimum und Maximum der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“	44
Tab. 8: Median, Minimum und Maximum der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“	45
Tab. 9: Median, Minimum und Maximum der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“	45
Tab. 10: Median, Minimum und Maximum der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Zahnschmelzpräparate	46
Tab. 11: Median, Minimum und Maximum der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Zahnschmelzpräparate	46
Tab. 12: Median, Minimum und Maximum der mit dem UKPL bestrahlten Präparate	47
Tab. 13: Median, Minimum und Maximum der mit dem Er:YAG bestrahlten Präparate	48
Tab. 14: Median, Minimum und Maximum der mit dem 455 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“	50

Tab. 15:	Median, Minimum und Maximum der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“	50
Tab. 16:	Median, Minimum und Maximum der mit dem 455 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“	51
Tab. 17:	Median, Minimum und Maximum der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“	51
Tab. 18:	Median, Minimum und Maximum der mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzpräparate	52
Tab. 19:	Median, Minimum und Maximum der mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzpräparate	52
Tab. 20:	Median, Minimum und Maximum der mit dem UKPL bestrahlten Schmelz und Dentinpräparate	53

7. Abbildungsverzeichnis

	Seite
Abb. 1: Laser-Gewebe-Interaktion in Abhängigkeit von Leistungsdichte pro Zeiteinheit.	11
Abb. 2: Er:YAG-Laser des Typs Kavo Key III und das Handstück 2060.	24
Abb. 3: Versuchsaufbau des UKPL.	25
Abb. 4: Handstück und 320 µm Glasfaser der beiden Diodenlaser.	26
Abb. 5: Polierte Schmelz und Dentinscheibe in 6facher Vergrößerung.	28
Abb. 6: Dentinpräparat nach Bestrahlung mit dem UKPL.	30
Abb. 7: Versuchsaufbau der Diodenlaser mit Objektträger und Mikrometerschraube.	32
Abb. 8: Oberfläche und Oberflächenprofil von Dentin bestimmt Anhand einer CFM-Aufnahme.	33
Abb. 9: Oberfläche und Oberflächenprofil von Dentin bestimmt Anhand einer AFM-Aufnahme.	34
Abb. 10: Philips XL30 Rasterelektronenmikroskop.	36
Abb. 11: REM-Aufnahme der unbehandelten Schmelzoberfläche in 1000- und 5000-facher Vergrößerung.	37
Abb. 12: REM-Aufnahme der Dentinoberfläche ohne „smear layer“ in 1000- und 5000facher Vergrößerung.	37
Abb. 13: REM-Aufnahme der Dentinoberfläche mit „smear layer“ in 1000- und 5000-facher Vergrößerung.	37
Abb. 14: Art und Anzahl der verwendeten Proben.	38
Abb. 15: Übersicht über die verwendeten Lasertypen und Parameter.	39
Abb. 16: Reihenfolge der verwendeten Dokumentations- und Untersuchungsmethoden.	40

- Abb. 17:** Mit dem Er:YAG-Laser bestrahltes Dentin in 50-facher Vergrößerung. 42
- Abb. 18:** Mit dem UKPI bestrahlter Zahnschmelz in 50-facher Vergrößerung. 43
- Abb. 19:** Karbonisation und Kavitätenbildung im Zahnschmelz nach Bestrahlung mit dem 445 nm-Diodenlaser für 15 Sekunden in 50-facher Vergrößerung. 43
- Abb. 20:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparate mit intaktem „smear layer“. 44
- Abb. 21:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparate ohne „smear layer“. 45
- Abb. 22:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Zahnschmelzpräparate. 46
- Abb. 23:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit dem UKPL bestrahlten Präparate. 47
- Abb. 24:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Präparate. 48
- Abb. 25:** AFM-Aufnahme einer Dentinoberfläche mit Bildartefakten im Bereich der Dentinkanäle. 49
- Abb. 26:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparaten mit intaktem „smear layer“. 50
- Abb. 27:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Dentinpräparaten ohne „smear layer“. 51
- Abb. 28:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit den beiden Diodenlasern bestrahlten Schmelzpräparate. 52

- Abb. 29:** Boxplot-Diagramm der gemittelten Rauhtiefe (R_z) der Oberfläche der mit dem UKPL bestrahlten Präparate. 53
- Abb. 30:** Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Dentin ohne „smear layer“ mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen. 54
- Abb. 31:** Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Zahnschmelz mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen. 55
- Abb. 32:** Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Dentin nach Bestrahlung mit dem UKPL mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen. 56
- Abb. 33:** Dreidimensionales Bild der Oberfläche von Zahnschmelz nach Bestrahlung mit dem Rasterkraftmikroskop aufgenommen. 56
- Abb. 34:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000facher Vergrößerung einer mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzprobe. 57
- Abb. 35:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000facher Vergrößerung einer mit dem 980 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzprobe. 58
- Abb. 36:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000facher Vergrößerung einer mit dem 445 nm-Diodenlaser bestrahlten Schmelzprobe ohne „smear layer“. 58
- Abb. 37:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 1000facher Vergrößerung einer mit dem UKPL bestrahlten Dentinprobe. 59
- Abb. 38:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000facher Vergrößerung einer mit dem UKPL bestrahlten Dentinprobe. 60
- Abb. 39:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 1000facher Vergrößerung einer mit dem UKPL bestrahlten Schmelzprobe. 60
- Abb. 40:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 1000facher Vergrößerung einer mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Dentinprobe ohne „smear layer“ 61
- Abb. 41:** Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000facher Vergrößerung einer mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Dentinprobe ohne „smear layer“. 62

Abb. 42: Rasterelektronenmikroskopaufnahme mit 5000facher Vergrößerung einer mit dem Er:YAG-Laser bestrahlten Schmelzprobe. 62

8 Literaturverzeichnis

Alavi S, Birang R, Hajizadeh F. Shear bond strength of orthodontic brackets after erbium-doped yttrium aluminum garnet laser-etched. *Dent Res J (Isfahan)* 2014; 11: 321-326

Altschuler GB, Grisimov VN, Ermolaev VS, Vityaz IV. Human tooth as an optical device. *Proceedings SPIE. Holography, Interferometry and Optical Pattern Recognition in Biomedicine*. Halina Podbielska 1991; 1429: 95-104, 224-225

Al-Qudah AA, Mitchell CA, Biagioni PA, Hussey DL. Thermographic investigation of contemporary resin-containing dental materials. *J Dent* 2005; 33: 593-602

Al-Batayneh OB, Seow WK, Walsh LJ. Assessment of Er:YAG Laser for Cavity Preparation in Primary and Permanent Teeth: A Scanning Electron Microscopy and Thermographic Study. *Pediatr Dent* 2014; 36: 90-94

Alfredo E, Souza-Gabriel AE, Silva SR, Sousa-Neto MD, Brugnera-Junior A, Silva-Sousa YT. Morphological alterations of radicular dentine pretreated with different irrigating solutions and irradiated with 980-nm diode laser. *Microsc Res Tech* 2009; 72: 22-27

Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. *J Clin Dent* 2007; 18: 34-38

Ando Y, Aoki A, Watanabe H, Ishikawa I. Bactericidal effect of erbium: YAG laser on periodontopathic bacteria. *Lasers Sug Med* 1996; 19: 190-200

Apel C, Meister J, Gotz H, Duschner H, Gutknecht N. Structural changes in human dental enamel after subablative erbium laser irradiation and its potential use for caries prevention. *Caries Res* 2005; 39: 65-70

van As G. Erbium lasers in dentistry. *Dent Clin N* 2004; 48: 1017-1059

Berlien H, Müller G. Angewandte Lasermedizin. Lehr- und Handbuch für die Praxis und Klinik. Landsberg: Ecomed Verlagsgesellschaft, 1989

Bertrand MF, Semez G, Leforestier E. Er:YAG laser cavity preparation and composite resin bonding with a single-component adhesive system: Relationship between shear bond strength and microleakage. *Laser Surg Med* 2006; 38: 615-623

Bonsor SJ, Nichol R, Reid TM, Pearson GJ. Microbiological evaluation of photo-activated disinfection in endodontics (an in vivo study). *Br Dent J* 2006; 200: 337-341

Borrajo JL, Varela LG, Castro GL, Rodriguez- Nunez I, Torreira MG. Diode Laser (980nm) as adjunct to scaling and root planning. *Photomed Laser Surg* 2004; 22: 509-512

Botta SB, Ana PA, de Sa Teixeira F, da Silveira Salvadori MC, Matos AB. Relationship between surface topography and energy density distribution of Er,Cs:YSGG beam on irradiated dentin: an atomic force microscopy study. *Photomed Laser Surg* 2011; 29: 261-269

Braun A. Anwendungen und Möglichkeiten der antimikrobiellen Photodynamischen Therapie (aPDT). *LaserZahnheilkunde* 2007; 4: 159-164

Braun A, Krillke RF, Frentzen M, Bourauel, C, Stark H, Schelle F. Heat generation caused by ablation of dental hard tissues with an ultrashort pulse laser (USPL) system. *Lasers Med Sci* 2013; 30: 475-481

Braun A, Wehry, RJ, Brede O, Dehn C, Frentzen M, Schelle F. Heat generation caused by ablation of restorative materials with an ultrashort pulse laser (USPL) system. *Lasers Med Sci* 2012; 27: 297-303

Castro GL, Gallas M, Nunez IR, Borrajo JL, Varela LG. Histological evaluation of the use of diode laser as an adjunct to traditional periodontal treatment. *Photomed Laser Surg* 2006; 24: 64-68

Cecchini RCM, Zezell DM, de Oliveira E, de Freitas PM, Eduardo C.D. Effect of Er:YAG laser on enamel acid resistance: Morphological and atomic spectrometry analysis. *Lasers Surg Med* 2005; 37: 366-372

Cheng ZJ, Wang XM, Cui FZ, Ge J, Yan JX. The enamel softening and loss during early erosion studied by AFM, SEM and nanoindentation. *Biomed Mater* 2009; 4: 015020

Cox G. *Optical Imaging Techniques in Cell Biology*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2006

Crompton BJ, Goodell GG, McClanahan SB. Effects on smear layer and debris removal with varying volumes of 17% REDTA after rotary instrumentation. *J Endod* 2005; 31: 536-538

Cui FZ, Ge J. New observations of the hierarchical structure of human enamel, from nanoscale to microscale. *J Tissue Eng Regen Med* 2007; 1: 185-191

Dunn WJ, Davis JT, Bush AC. Shear bond strength and SEM evaluation of composite bonded to Er:YAG laser-prepared dentin and enamel. *Dent Mater* 2005; 21: 616-624

De Munck J, Van Meerbeek B, Yudhira R, Lambrechts P, Vanherle G. Micro-tensile bond strength of two adhesives to Erbium: YAG-lased vs. bur-cut enamel and dentin. *Eur J Oral Sci* 2002; 110: 322-329

Elanchezhian S, Renukadevi R, Vennila K. Comparison of diode laser-assisted surgery and conventional surgery in the management of hereditary ankyloglossia in siblings: a case report with scientific review. *Lasers Med Sci* 2013; 28: 7-12

Engelbach C, Dehn C, Bourauel C, Meister J, Frentzen M. Ablation of carious dental tissue using an ultrashort pulsed laser (USPL) system. *Laser Med Sci* 2014; 30: 1427-1434

Faria MI, Sousa-Neto MD, Souza-Gabriel AE, Alfredo E, Romeo U, Silva-Sousa YT. Effects of 980-nm diode laser on the ultrastructure and fracture resistance of dentine. *Lasers Med Sci* 2013; 28: 275-280

Fernando S, Hill CM, Walker R. A randomized double blind comparative study of low level laser therapy following surgical extraction of lower third molar teeth. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1993; 31: 170-172

Frentzen M, Koort HJ. Lasertechnik in der Zahnheilkunde. *Dtsch Zahnärztl Z* 1991; 46: 443-454

Fontana CR, Kurachi C, Mendonca CR, Bagnato VS. Temperature variation at soft periodontal and rat bone tissues during a medium-power diode laser exposure. *Photomed Laser Surg* 2004; 22: 519-522

Glockner K, Rumpler J, Ebeleseder K, Stadler P. Intrapulpal temperature during preparation with the Er:YAG laser compared to the conventional bur: an in vitro study. *Lasers Surg Med* 1999; 17: 153-157

Goldman L, Hornby P, Mayer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature* 1964; 203: 417

Gratt BM, Sickles EA. Future applications of electronic thermography. *J Am Dent Assoc* 1991; 122: 28-36

Gutknecht, N. Proceedings of the 1st international workshop of evidence based dentistry on lasers in dentistry. New Maiden: Quintessence, 2007

Haller B, Hofmann N, Klaiber B, Bloching U. Effect of storage media on microleakage of five dentin bonding agents. *Dent Mater* 1993; 9: 191-197

Habelitz S, Marshall SJ, Marshall GW Jr, Balooch M. Mechanical properties of human enamel of the nanometer scale. *Arch Oral Biol* 2001; 46: 173-183

Hedayatollahnajafi S, Staninec M, Watanabe L, Lee C, Fried D. Dentin bond strength after ablation using a CO2 laser operating at high pulse repetition rates. *Proc SPIE Int Soc Opt Eng* 2009; 18: 7162: 71620F

Hellwig E, Klimek J, Attin T. Einführung in die Zahnerhaltung. Köln: Deutscher Zahnärzte Verlag, 2009

Hibst R, Stock K, Gall R, Keller U. Controlled tooth surface heating and sterilization by the Er:YAG laser. In: Altshuler GB, editor. *Laser applications in medicine and dentistry*. *Proc SPIE* 1996; 2922: 119-126

Jones AH, Diaz-Arnold AM, Vargas MA, Cobb DS: Colorimetric assessment of laser and home bleaching techniques. *J Esthet Dent* 1999; 11: 87-94

Keller U, Hibst R, Geurtsen W, Schilke R, Heidemann D, Klaiber B, et al. Erbium:YAG laser application in caries therapy. Evaluation of patient perception and acceptance. *J Dent* 1998; 26: 649-656

Kinney JH, Balooch M, Marshall GW, Marshall SJ. Atomic-force microscopic study of dimensional changes in humane dentine during drying. *Arch Oral Biol* 1993; 38: 1003-1007.

Kodonas K, Gogos C, Tziafa C. Effect of simulated pulpal microcirculation on intrapulpal temperature changes following application of heat on tooth surfaces. *Int Endod J* 2009; 42: 247-252

Koort HJ. Die Wirkung von Laserstrahlung auf Gewebe. *Dtsch Zahnärztl Z* 1994; 49: 100-105

Koort HJ, Frentzen M. Histological techniques to study laser effects in mineralized tissues. Proc SPIE1882 1993; Laser-Tissue Interaction IV: 412

Krause F, Frentzen M. Dioden-Laser in der zahnmedizinischen Anwendung. LaserZahnheilkunde 2007a; 4: 151-158

Krause F, Braun A, Frentzen M, Jepsen S: Effects of composite fissure sealants on IR-laser fluorescence measurements. Lasers Med Sci 2007b; 23: 133-139

Kreisler M, Al-Haj H, Daubländer M, Duscher H, Willershausen B, d'Hoedt B. Effect of diode laser irradiation on the root surfaces in vitro. J Clin Laser Med Surg 2002b; 20: 63-69

Kreisler M, Al-Haj H, d'Hoedt B. Intrapulpal temperature changes during root surface irradiation with 809nm GaAlAs laser. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2002a; 93: 730-735

Kubínek R, Zapletalová Z, Vůjtek M, Novotný R, Kolárová H, Chmelícková H, Perina J Jr. Sealing of open dentinal tubules by laser irradiation: AFM and SEM observations of dentine surfaces. J Mol Recognit 2007; 20: 476-482

Lee MT, Bird PS, Walsh LJ. Photo-activated disinfection of the root channel: a new role for lasers in endodontics. Aust Endod J 2004; 30: 93-98.

Lin S, Pan D, Lin Q, Yin S, Chen D, Liu Q, Yu L, Lin Z. Evaluation of phase, microstructure und composition of human dentine after Er,Cr:YSGG laser irradiation. J Nanosci Nanotechnol 2011; 11: 2421-2426

Marchesan MA, Brugnera-Junior A, Souza-Gabriel AE, Silva SRC, Sousa-Neto MD Ultrastructural analysis of root canal dentine irradiated with 980-nm diode laser energy at different parameters. Photomed Laser Surg 2008; 26: 235-240

Matsumoto K, Wang X, Zhang C, Kinoshita J. Effect of a novel Er:YAG laser in caries removal and cavity preparation: a clinical observation. *Photomed Laser Surg* 2007; 25: 8-13

Maiman TH. Stimulated Optical Radiation in Ruby. *Nature* 1960; 187: 493-494

Marković A, Mišić T, Mančić D, Jovanović I, Šćepanović M, Jezdić Z. Real-time thermographic analysis of low-density bone during implant placement: a randomized parallel-group clinical study comparing lateral condensation with bone drilling surgical technique. *Clin Oral Implants Res* 2014; 25: 910-918

Matsushita-Tokugawa M, Miura J, Iwami Y, Sakagami T, Izumi Y, Mori N, Hayashi M, Imazato S, Takeshige F, Ebisu S. Detection of dentinal microcracks using infrared thermography. *J Endod* 2013; 39: 88-91

Mehl A, Kremers L, Salzmann K, Hickel R. 3D volume-ablation and thermal side effects with the Er:YAG and Nd:YAG laser. *Dent Mater* 1997; 13: 246-251.

Mehl A, Folwaczny M, Haffner C, Hickel R. Bactericidal effects of 2.94 microns Er:YAG-laser radiation in dental root canals. *J Endod* 1999; 25: 490-493

Meister J, Apel C, Franzen R, Gutknecht K. Influence of the spatial beam profile on hard tissue ablation Part I: Multimode emitting Er:YAG lasers. *Lasers Med Sci* 2003; 18: 112-118

Meister J, Franzen R, Forner K, Grebe H, Stanzel S, Lampert f, Apel C. Unfluence of the water content in dental enamel and dentin an ablation with erbium YAG and erbium YSGG lasers. *J Biomed Opt* 2006; 11: 1-7

Meister J. Untersuchungen zum Einsatz von Blitzlampen- und diodengepumpten Erbiumlasern. Habilitationsschrift, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen, 2011

Mills RW, Uhl A, Blackwell GB, Jandt KD. High power light emitting diode (LED) arrays versus halogen light polymerisation of oral biomaterials: Barcol hardness, compressive strength and radiometric properties. *Biomaterials* 2002; 23: 2955-2963

Miserendino L, Cozean C. Histological results following in-vivo cavity preparation with an Er:YAG laser. *Lasers in dentistry. Proc SPIE* 1998; 3248: 46-50

Moldes VL, Capp CI, Navarro RS, Matos AB, Youssef MN, Cassoni A. In vitro microleakage of composite restorations prepared by Er:YAG/Er, Cr: YSGG lasers and conventional drills associated with two adhesive systems. *J Adhes Dent* 2009; 11: 221-229.

Morris VJ, Kirgy AR, Gunning AP. *Atomic Force Microscopy for Biologists*. London: Imperial College Press, 1999

Moritz A, Goharkhay K, Schoop U, Strassl M. *Orale Lasertherapie*. Berlin: Quintessenz Verlags-GmbH, 2006

Moritz A, Gutknecht N, Schoop U, Goharkhay K, Doertbudak O, Sperr W. Irradiation of infected root canals with a diode laser in vivo: results of microbiological examinations. *Lasers Surg Med* 1997; 21: 221-226

Moritz A, Schoop U, Goharkhay K, Schauer P, Doertbudak O, Wernisch J, Sperr W. Treatment of periodontal pockets with a diode laser. *Lasers Surg Med* 1998; 22: 302-311

Neiburger EJ, Miserendino L. Laser reflectance: Hazard in the dental operator. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 66: 659-661

Niemz MH, Eisenmann L, Pioch T. Vergleich von drei Lasersystemen zur Abtragung von Zahnschmelz. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 1993; 103: 10

Niemz MH. Laser-tissue interactions – Fundamentals and applications. Second, Revised Edition. Berlin, Heidelberg, New York: Springer Verlag, 2002

Niemz MH. Cavity Preparation with the Nd:YLF Picosecond Laser. J Dent Res 1995; 74: 1194-1199

Parker, S. Verifiable CPD paper: laser-tissue interaction. Br Dent J 2007; 202: 73-81

Plötz C, Schelle F, Bourauel C, Frentzen M, Meister J. Ablation of porcine tissue with an ultrashort pulsed laser (USPL) system. Lasers Med Sci 2014; 30: 977-983

Ramos RP, Chimello DT, Chinelatti MA, Nonaka T, Percora JD, Palma Dibb RG. Effect of Er:YAG laser on bond strength to dentin of a self-etching primer and two single-bottle adhesive systems. Lasers Surg Med 2002; 31: 164-170

Riess H. Die Präparation von Klasse-V-Kavitäten mit dem Er:YAG-Laser – zwei Kasuistiken mit Langzeitbeobachtungen. LaserZahnheilkunde 2005; 2: 89-97

Raucci-Neto W, Chinelatti MA, Ito IY. Influence of Er:YAG Laser Frequency on Dentin Caries Removal Capacity. Microscopy Research and Technique 2011; 74: 281-280

Rodríguez-Vilchis LE, Contreras-Bulnes R, Olea-Mejía OF, Sánchez-Flores I, Centeno-Pedraza C. Morphological and structural changes on human dental enamel after Er:YAG laser irradiation: AFM, SEM, and EDS evaluation. Photomed Laser Surg 2011; 29: 493-500

Røynesdal AK, Björnland T, Barkvoll P, Haanaes HR. The effect of soft-laser application on postoperative pain and swelling. A double-blind, crossover study. Int J Oral Maxillofac Surg 1993; 22: 242-245

Schaad P, Paris E, Cuisinier FJ, Voegel JC. Atomic force microscopy study of human tooth enamel surfaces. Scanning Microsc 199; 7: 1149-1152

Schelle F, Polz S, Haloui H, Braun A, Dehn C, Frentzen M, Meister J. Ultrashort pulsed laser (USPL) application in dentistry: basic investigations of ablation rates and thresholds on oral hard tissue and restorative materials. *Lasers Med Sci* 2013; 29: 1775-1783

Schwarz F, Sculean A, Berakdar M, Szathmari L, Geörg T, Becker J. In vivo and in vitro effects of an Er:YAG laser, a diode laser, and scaling and root planing on periodontally diseased root surfaces: a comparative histologic study. *Lasers Surg Med* 2003; 32: 359-366

Sheth KK, Staninec M, Sarma AV, Fried D. Selective targeting of protein, water, and mineral in dentin using UV and IR pulse lasers: the effect on the bond strength to composite restorative materials. *Lasers Surg Med* 2004; 35: 245-253

Shigetami Y, Okamoto A, Abu-Bakr N, Iwaku M. A study of cavity preparation by Er:YAG laser observation of hard tooth structure by laser scanning microscope and examination of the time necessary to remove caries. *Dent Mater J* 2002; 21: 20-31

Sievers M, Frentzen M, Kosina A, Koort HJ. Scaling of Root Surfaces with lasers- an in vitro study. *SPIE Dentl Appl Lasers* 1993; 2080: 82-87

Silikas N, Watts D, England K, Jandt K. Surface finestructure of treated dentine investigated with tapping mode atomic force microscopy (TMAFM). *J Dent* 1999; 27: 137-144

Slot D, Jorritsma K, Cobb C, Van der Weijden F. The effect of the thermal diode laser (wavelength 808-980 nm) in non-surgical periodontal therapy: a systematic review and meta-analyses. *J Clin Periodontol* 2014; 41: 681-692

Soares L, Martin O, Moriyama L, Kurachi C, Martin AA. Relationship between the chemical and morphological characteristics of human dentin after Er:YAG laser irradiation. *J Biomed Opt* 2013; 18: 068001

Sozzi M, Fornaini C, Cucinotta A, Merigo E, Vescovi P, Selleri S. Dental ablation with 1064 nm, 500 ps, Diode pumped solid state laser: A preliminary study. *Laser Ther* 2013; 22: 195-199

Stern R, Sognnaes RF. Laser beam effect on dental hard tissues. *J Dent Res* 1964; 43: 873

Staninec M, Xie J, Le CQ, Fried D. Influence of an optically thick water layer on the bond-strength of composite resin to dental enamel after IR laser ablation. *Lasers Surg Med* 2003; 33: 264-269

Staninec M, Gardner AK, Le CQ, Sarma AV, Fried D. Adhesion of composite to enamel and dentin surfaces irradiated by IR laser pulses of 0.5-35 micros duration. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2006; 79: 193-201

Stübinger S, Saldamli B, Jürgens P, Ghazal G, Zeilhofer HF. Weichteilchirurgie mit dem Diodenlaser – theoretische und klinische Aspekte. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2006; 116: 813-817

Sulieman M. An overview of the use of lasers in general dental practice: 2. Laser wavelengths, soft and hard tissue clinical applications. *Dent Update* 2005; 32: 286-288, 291-294, 296

Swift E Jr, Edwards G, Perdigão J, Thompson J, Nunes M, Ruddell D, Negishi A. Free-electron laser etching of dental enamel. *J Dent* 2001; 29: 347-353

Twetman S, Axelsson S, Dahlén G, Espelid I, Mejàre I, Norlund A, Tranæus S. Adjunct methods for caries detection: a systematic review of literature. *Acta Odontol Scand* 2013; 71: 388-397

Umana M, Heyselaer D, Tielemans M, Compere P, Zeinoun T, Nammour S. Dentinal tubules sealing by means of diode lasers (810 and 980 nm): a preliminary in vitro study. *Photomed Laser Surg* 2013; 31: 307-314

Visuri S, Gilbert J, Wright D, Wigdor H, Walsh J. Shear strength of composite bonded to Er:YAG laser prepared dentin. *J Dent Res* 1996; 75: 599-605

Walsh LJ: The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Aust Dent J* 1997; 42: 247-254

Watari F. Compositional and morphological imaging of CO₂ laser irradiated human teeth by low vacuum SEM, confocal laser scanning microscopy and atomic force microscopy. *J Mater Sci Mater Med* 2001; 12: 189-194

Watson TF. Fact and artefact in confocal microscopy. *Adv Dent Res* 1997; 11: 433-441

Wetter NU, Barroso MC, Pelino JE: Dental bleaching efficacy with diode laser and LED irradiation: an in vitro study. *Lasers Surg Med* 2004; 35: 254-258

Yassaei S, Fekrazad R, Shahraki N, Goldani Moghadam M. A Comparison of Shear Bond Strengths of Metal and Ceramic Brackets using Conventional Acid Etching Technique and Er:YAG Laser Etching. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects* 2014; 8: 27-34

Zach L, Cohen G. Pulp response to externally applied heat. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1965; 19: 515-530

Zakian CM, Taylor AM, Ellwood RP, Pretty IA. Occlusal caries detection by using thermal imaging. *J Dent* 2010; 38: 788-795

Zhou W, Wang ZL. *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications*. New York: Springer Verlag, 2006

Zmuda S, Ignatowicz E, Stankiewicz J, Marczyńska-Stolarek M, Dabrowski M. Thermographic assessment of thermal effects of Er:YAG laser in periodontal surgery. *Pol Merkur Lekarski* 2006; 20: 192-194

9. Danksagung

- Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. dent. Matthias Frentzen für die Überlassung des Themas sowie für die engagierte und immer freundliche Betreuung. Insbesondere dafür, dass er bei sämtlichen Fragen und Probleme immer kurzfristig zur Verfügung stand.
- Herrn PD Dr. rer. nat. Jörg Meister für die Unterstützung bei der Handhabung der Lasersysteme und des Rasterelektronenmikroskops und dafür, dass er mir immer mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat.
- Frau MTA Beate Schiermayer-Dunkhase für die Anfertigung der Probekörper und viele hilfreiche Ratschläge.
- Frau Chemielaborantin Anna Weber für die Unterstützung bei der Handhabung des Rasterelektronenmikroskops und bei der Auswertung der Daten.
- Meinen Eltern, Cäcilia und Werner Schäper, die mir das Studium ermöglicht haben und mich immer in allen Lebenslagen unterstützen.