

Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktorin: Univ.-Prof. Dr. Stefanie Ritz-Timme

Lebensaltersschätzung aufgrund des Razemisierungsgrades  
der Asparaginsäure: Einfluss von Dentinkaries

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Nazan Sirin  
(2018)

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: Prof. Dr. med. Stefanie Ritz-Timme

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. dent. Alfons Hugger

Für meine Familie

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Sirin N, Matzenauer C, Reckert A, Ritz-Timme S (2018): Age estimation based on aspartic acid racemization in dentine: What about caries-affected teeth? *Int J Leg Med* 132:623–628

Sirin N, Reckert A, Ritz-Timme S (2018): Reply to the letter by Kumar and Kanchan „Age estimation based on aspartic acid racemization in cariesaffected teeth: need for further explorations“ *Int J Leg Med*  
DOI 10.1007/s00414-018-1837-1

## Zusammenfassung

Eines der präzisesten Verfahren zur Altersschätzung an Erwachsenen ist die Lebensaltersschätzung aufgrund des Razemisierungsgrades von Asparaginsäure (AAR) in Dentin. Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieses Verfahrens ist die Verfügbarkeit geeigneten Untersuchungsmaterials. Bislang fordern einschlägige Vorgaben zur Qualitätssicherung, dass nur gesunde (nicht-kariöse) Zähne analysiert werden dürfen, was die Einsatzmöglichkeiten der Methode natürlich reduziert. Diese Einschränkung erfolgte vor dem Hintergrund der Annahme, dass die kariesinduzierte Proteindegradation zu Veränderungen der Razemisierungskinetik führt und die Ergebnisse der biochemischen Altersschätzung beeinflusst. Bislang war allerdings unklar, in welchem Ausmaß dies tatsächlich der Fall ist.

Ziel der vorliegenden Arbeit war deshalb die Klärung der Frage, ob und unter welchen Bedingungen Dentinproben aus kariös veränderten Zähnen zur forensischen Altersschätzung aufgrund der AAR in Dentin genutzt werden können. Zur Klärung dieser Frage wurden systematische Untersuchungen an standardisiert präparierten Dentinproben aus 25 kariösen sowie 38 gesunden Weisheitszähnen von Individuen mit bekanntem Lebensalter durchgeführt.

43,43 % der untersuchten kariösen Zähne (Gesamtdentin) lieferten zuverlässige Altersschätzwerte und befanden sich im gleichen Vertrauensintervall wie die gesunden Zähne von +/- 4 Jahren. Die restlichen Werte führten ausnahmslos zu falsch hohen Ergebnissen bis hin zu Fehlschätzungen von + 20 Jahren. Es zeigte sich kein klarer Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Streuung der Analyseergebnisse und dem makroskopischen Befund. Einerseits führte die Analyse auch stark kariös veränderter Zähne teils zu zuverlässigen Ergebnissen, andererseits betrafen die größten Abweichungen wider Erwarten Zahnproben, die makroskopisch kariesfrei erschienen.

Offenbar führte also eine kariesbedingte Proteindegradation zu einer Beschleunigung der Razemisierung von Asparaginsäure auch in Dentinarealen, die morphologisch unauffällig waren. Aus diesen Befunden und unter Berücksichtigung der Literatur lässt sich schließen, dass Karies offenbar deutlich umfassender zur Proteindegradation führt als der makroskopische, klinische Befund indiziert; dies betrifft auch Areale, die sich weit weg von der eigentlichen kariösen Läsion finden („Fernwirkung“). Der makroskopische Befund ist also weder klinisch bei der Präparation vor Restaurationen noch bei der biochemischen Altersschätzung geeignet, die Schädigung des Dentins auf molekularer Ebene zu erfassen.

Bei der biochemischen Altersschätzung können demnach Messergebnisse an kariösen Zähnen falsch hoch sein, ohne dass das Risiko einer solchen Abweichung aus dem Ausmaß des Kariesbefundes selbst ableitbar wäre. Für die Praxis wird deshalb empfohlen, möglichst kariesfreie Zähne zur Altersschätzung aufgrund der AAR in Dentin einzusetzen. In Fällen, in denen ausschließlich kariöse Zähne zur Verfügung stehen, sollten möglichst zwei oder mehr Zähne eines Individuums untersucht werden. Diskrepanzen in den Altersdiagnosen wären dann als Indiz für kariesinduzierte Fehler zu interpretieren.

## Abstract

Aspartic acid racemization (AAR) in dentine is the basis of one of the most accurate methods for age estimation in adult age. The usage of teeth with carious lesions for age estimation by this method has been questioned because caries induces protein degradation.

The aim of this work was to clarify (1.) the question whether and to what extent caries may influence the results of age estimation based on AAR and (2.) the question, if the analysis of dentine samples from caries-affected teeth may be useful after removal of the caries-affected tissue according to clinical standards.

Standardized prepared dentine samples from 38 healthy wisdom teeth and 25 caries-affected wisdom teeth were examined.

43,43 % of the caries-affected teeth (total protein) delivered satisfying results of age estimation with deviations up to  $\pm 4$  years. However, the analyses of the remaining caries-affected teeth resulted in falsely high age estimates within up to + 20 years. The extent of deviations between estimated and real ages did not depend on the dimensions of the carious lesions; on the one hand caries-affected teeth with huge destructions delivered partly good results, on the other hand parts of the teeth with macroscopic sound dentine delivered falsely high results.

These data indicate a relevant protein degradation by caries even in dentinal tissue that appears healthy after preparation according to clinical standards. This means that the macroscopical appearance of dentinal tissue cannot give reliable information about the extent of damage on the molecular level.

Caries may induce falsely high results of age estimation based on AAR, even if the caries-affected tissue is removed according to clinical standards. Therefore we recommend to use only dentine samples from healthy teeth. If only caries-affected teeth are available, dentine samples from at least two or, if possible, more teeth from the same individual should be analyzed; relevant discrepancies in the results indicate caries-induced errors.

## Abkürzungsverzeichnis

<b>AAR</b>	engl., Aspartic Acid Racemization, Razemisierung der Asparaginsäure
<b>AGFAD</b>	Arbeitsgemeinschaft für forensische Altersdiagnostik
<b>Asn</b>	Asparagin
<b>Asp</b>	Asparaginsäure
<b>Asx</b>	Asparaginsäure, Asparaginsäure- und Asparaginreste
<b>C</b>	Kohlenstoff
<b>°C</b>	Grad Celsius
<b>COO-</b>	Summenformel einer deprotonierten Carboxylgruppe
<b>CP</b>	engl., soluble collageneous Protein, unlösliches kollagenes Protein
<b>D</b>	Asparaginsäure
<b>D-</b>	vorangestellt, lat. dexter, rechts
<b>DGZMK</b>	Deutsche Gesellschaft für Zahn-, Mund-, und Kiefererkrankungen
<b>DMP-1</b>	Dentin-Matrix-Protein-1
<b>DPP</b>	Dentin Phosphoprotein
<b>DSP</b>	Dentin Sialoprotein
<b>DSPP</b>	Dentin Sialophosphoprotein
<b>et al.</b>	lat., et alii, und andere
<b>etc.</b>	lat., et cetera, und weitere
<b>G</b>	Glycin
<b>Gly</b>	Glycin
<b>H</b>	Wasserstoff
<b>HCl</b>	Salzsäure
<b>I</b>	Isoleucin
<b>ICDAS</b>	International Carious Detection Assessment System
<b>Iso-</b>	vorangestellt, Isomerisierte Form der genannten Aminosäure
<b>L-</b>	vorangestellt, lat. laevus, links
<b>Lfd. Nr.</b>	Laufende Nummer
<b>mg</b>	Milligramm
<b>ml</b>	Milliliter
<b>MMP</b>	Matrix Metalloprotease
<b>N</b>	Asparagin
<b>N</b>	Normalität
<b>NCP</b>	engl., non-collageneous Protein, Nichtkollagenes Protein
<b>NH<sub>3</sub></b>	Ammoniak
<b>pH</b>	pondus Hydrogenii, potentia Hydrogenii
<b>PIMT</b>	Protein-L-Isoaspartyl-Methyltransferase
<b>R</b>	Rest, Substituent einer Hauptkette in der organischen Chemie
<b>R<sup>2</sup></b>	Bestimmtheitsmaß
<b>SDS</b>	engl., Sodium Dodecyl Sulfate, Natriumlaurylsulfat
<b>TFAA</b>	Trifluoressigsäureanhydrid
<b>TP</b>	engl., Total Protein, Gesamtprotein

# **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1 EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
<b>1.1 LEBENSALTERSSCHÄTZUNG BEI UNBEKANNTEN LEICHEN UND LEBENDEN PERSONEN MIT TATSÄCHLICH ODER VORGEGLICH UNBEKANNTEM ALTER</b>	<b>1</b>
<b>1.2 GRUNDLAGEN DER BIOCHEMISCHEN ALTERSSCHÄTZUNG AN DENTIN</b>	<b>4</b>
1.2.1 RAZEMISIERUNG VON ASPARAGINSÄURE (AAR)	4
1.2.1.1 DENTIN ALS UNTERSUCHUNGSGUT	9
1.2.1.2 BIOCHEMISCHE ALTERSSCHÄTZUNG	10
<b>1.3 HAT KARIES EINEN EINFLUSS AUF DIE ALTERSSCHÄTZUNG AUFGRUND DER RAZEMISIERUNG VON ASPARAGINSÄURE (AAR) IM DENTIN?</b>	<b>11</b>
<b>1.4 ZIEL DER VORLIEGENDEN ARBEIT</b>	<b>13</b>
<b>2 PUBLIKATION</b>	<b>14</b>
<b>AGE ESTIMATION BASED ON ASPARTIC ACID RACEMIZATION IN DENTINE: WHAT ABOUT CARIES-AFFECTED TEETH?</b>	<b>14</b>
<b>3 WEITERE ERHOBENE DATEN</b>	<b>21</b>
<b>3.1 RAZEMISIERUNG VON ASPARAGINSÄURE (AAR) AN GESUNDEN ZÄHNEN</b>	<b>22</b>
3.1.1 METHODE	22
3.1.2 ERGEBNISSE	23
<b>3.2 RAZEMISIERUNG DER ASPARAGINSÄURE (AAR) IN DER NICHTKOLLAGENEN DENTINPROTEINFRAKTION (NCP) DER KARIÖSEN ZÄHNE</b>	<b>25</b>
3.2.1 METHODE	25
3.2.2 ERGEBNISSE	25
<b>3.3 THEORETISCHE SPALTUNG DES KOLLAGENS TYP I DURCH DIE MATRIX METALLOPROTEASE 8 (MMP8), TRYPSIN UND PEPSIN</b>	<b>33</b>
3.3.1 METHODE	33
3.3.2 ERGEBNISSE	35
3.3.2.1 VERDAU DES ERSTEN FRAGMENTS DER AMINOSÄUREN-SEQUENZ DES HUMANEN KOLLAGEN A1 (TYP I), AMINOSÄUREN 1 - 953	35
3.3.2.1.1 VERDAU DURCH TRYPSIN	35

3.3.2.1.2 VERDAU DURCH PEPSIN PH 1,3	35
3.3.2.1.3 VERDAU DURCH PEPSIN PH > 2	36
3.3.2.2 VERDAU DES ZWEITEN FRAGMENTS DER AMINOSÄUREN-SEQUENZ DES HUMANEN KOLLAGEN A1 (TYP I), AMINOSÄUREN 954 - 1464	36
3.3.2.2.1 VERDAU DURCH TRYPSIN	36
3.3.2.2.2 VERDAU DURCH PEPSIN PH 1,3	36
3.3.2.2.3 VERDAU DURCH PEPSIN PH > 2	37
<b>4 DISKUSSION</b>	<b>38</b>
<b>4.1 WARUM IST DIE UNTERSUCHUNG DES EINFLUSSES DER FOLGEN VON KARIES AUF DIE ALTERSSCHÄTZUNG AUFGRUND DER RAZEMISIERUNG VON ASPARAGINSÄURE (AAR) IN DENTIN WICHTIG?</b>	<b>38</b>
<b>4.2 KARIES <u>KANN</u> ZU UNPRÄZISEN ERGEBNISSEN DER ALTERSSCHÄTZUNG AUFGRUND DER RAZEMISIERUNG VON ASPARAGINSÄURE (AAR) IN DENTIN FÜHREN - AUCH WENN MAKROSKOPISCH UNAUFFÄLLIGES GEWEBE ANALYSIERT WIRD</b>	<b>42</b>
<b>4.3 SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>44</b>
4.3.1 AUFFÄLLIGE AAR-WERTE AUCH IN MAKROSKOPISCH KARIESFREIEM DENTIN: KLINISCHE IMPLIKATIONEN?	44
4.3.2 FAZIT FÜR DIE RECHTSMEDIZINISCHE PRAXIS	46
<b>5 LITERATUR- UND QUELLENVERZEICHNIS</b>	<b>47</b>
<b>6 ANHANG</b>	<b>56</b>
<b>6.1 TABELLEN</b>	<b>56</b>
6.1.1 ERGEBNISSE DES KOLLEKTIVS „GESUNDE ZÄHNE“	56
6.1.2 ERGEBNISSE DES KOLLEKTIVS „KARIÖSE ZÄHNE“	60
6.1.3 ERGEBNISSE DES KOLLEKTIVS „GESUNDE ZÄHNE IN QUADRANTEN“	68
6.1.4 TRYPSIN-VERDAUTES COLLAGEN ALPHA 1(I) FRAGMENT 1-953	70
6.1.5 TRYPSIN-VERDAUTES COLLAGEN 1(I) FRAGMENT 954-1464	72
6.1.6 PEPSIN (PH 1,3)-VERDAUTES COLLAGEN 1(I) FRAGMENT 1-953	74
6.1.7 PEPSIN (PH 1,3)-VERDAUTES COLLAGEN 1(I) FRAGMENT 954-1464	76
6.1.8 PEPSIN (PH > 2)-VERDAUTES COLLAGEN 1(I) FRAGMENT 1-953	78
6.1.9 PEPSIN (PH > 2)-VERDAUTES COLLAGEN 1(I) FRAGMENT 954-1464	80

## **7 DANKSAGUNG**

---

# 1 Einleitung

## 1.1 Lebensaltersschätzung bei unbekanntem Leichen und lebenden Personen mit tatsächlich oder vorgeblich unbekanntem Alter

Die „Globalisierung“ unserer Zeit mit hoher Reisetätigkeit und Migrationsbewegungen über die Kontinente hinweg führt dazu, dass Lebensaltersschätzungen bei unbekanntem Leichen und auch bei lebenden Personen mit tatsächlich oder vorgeblich unbekanntem Alter immer häufiger durchgeführt werden müssen.

In Deutschland waren im Jahre 1998 1214 Fälle nicht identifizierter Leichen bekannt (Ritz-Timme et al., 2000). Zu den aktuellen Zahlen teilte das Bundeskriminalamt mit, dass derzeit 1335 unbekannte Leichen in Deutschland registriert seien (Stand 17.05.2017, Bundeskriminalamt). Ohne Kenntnis der Identität einer verstorbenen Person fehlt der Polizei eine zentrale Grundlage für ihre Ermittlungen. Die Lebensaltersschätzung ist - neben der Bestimmung von Geschlecht und Körpergröße - von großer Bedeutung für die Identifikation einer unbekanntem Leiche. Das Ergebnis der Altersschätzung hat hier die größte diskriminierende Bedeutung und muss so präzise wie möglich sein. Große Fehler können dazu führen, dass bei Abgleich der Leichendaten (Geschlecht, Körperhöhe und eben Lebensalter) in Vermisstendatenbanken eine zugehörige Person nicht gefunden wird.

Auch Lebensaltersschätzungen an lebenden Probanden werden immer wichtiger. Immer mehr Menschen sind seit den 50er Jahren des letzten Jahrhunderts nach Deutschland eingewandert oder – aus dem Ausland stammend – in Deutschland vorübergehend aufhältig. Diese „Arbeitsmigration“ erfolgte in den stärker industrialisierten Ländern Westeuropas, wie auch Deutschland, durch Anwerben von preiswerten und flexiblen Arbeitskräften, vorwiegend aus Italien, Spanien, Portugal und der Türkei (Angenendt, 1997). Jedoch ist nicht allein die Arbeitsmigration ursächlich für den hohen Zuzug aus dem Ausland. Bis Mitte der 1990er Jahre folgte eine große Einwanderungswelle von Spätaussiedlern aus

## Einleitung

---

Osteuropa und Kriegsflüchtlingen aus dem ehemaligen Jugoslawien (Migrationsbericht 2015). 2015 konnte das Bundesamt für Migration und Flüchtlinge im Zeitraum von 1991 bis 2015 beinahe 24,9 Millionen Zuzüge vom Ausland nach Deutschland registrieren (Migrationsbericht 2015). Aktuell führen die Ereignisse in Krisengebieten wie beispielsweise Syrien zu einem Anstieg der Anzahl von Menschen, die (oft ohne Papiere) als Flüchtlinge nach Deutschland kommen. Laut Migrationsbericht stieg 2015 die Anzahl der Schutzsuchenden aus Syrien von 64.925 auf 326.872 (um 403,3 %) an. Unter all diesen über die Jahre hinweg aus dem Ausland nach Deutschland kommenden Personen gibt es Menschen, die ihr Alter tatsächlich oder vorgeblich nicht wissen oder auch falsch angeben, um unter oder über gesetzlich vorgegebene Altersgrenzen zu fallen. Bei der Altersdiagnostik an Lebenden geht es um die Frage, ob bestimmte, rechtlich relevante Altersgrenzen erreicht sind, oder nicht. Wichtige Altersgrenzen in Deutschland sind z.B. 14 Jahre (Kinder unter 14 Jahre sind schuldunfähig, §19 Strafgesetzbuch), 18 Jahre (Handlungsfähigkeit im Asylverfahren, §12 Asylgesetz), 18 und 21 Jahre (Anwendbarkeit von Jugend- oder Erwachsenenstrafrecht, §1(2) Jugendgerichtsgesetz) und 65 Jahre (Regelaltersrente, §235 Sozialgesetzbuch VI).

Es gibt eine Vielzahl publizierter Verfahren zur Altersschätzung von denen sich aber nur einige Methoden zum Einsatz in der forensischen Praxis eignen (Ritz-Timme et al., 2000). Eine zuverlässige Methode zur Altersschätzung muss laut Ritz-Timme et al. (2000) folgende vier Voraussetzungen erfüllen: (1) Sie muss in anerkannten wissenschaftlichen Zeitschriften veröffentlicht sein; (2) Sie muss genauestens beschrieben sein; (3) Das Ergebnis der Altersschätzung muss präzise und reproduzierbar sein; (4) Bei einer Altersschätzung an Lebenden müssen ethische Grundsätze und die Gesetzeslage berücksichtigt werden. Die Arbeitsgemeinschaft für Forensische Altersdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (AGFAD) hat Empfehlungen zur Altersschätzung unter verschiedenen Fragestellungen publiziert (<https://campus.uni-muenster.de/agfad/empfehlungen/>).

Eines der derzeit genauesten Verfahren zur Altersschätzung im Erwachsenenalter ist die biochemische Altersschätzung aufgrund des Razemisierungsgrades von

## Einleitung

---

Asparaginsäure (AAR) (Meissner und Ritz-Timme 2010; Ohtani, 1995; Ritz-Timme, 2000). Ihr Indikationsbereich ist vor allem die Lebensaltersschätzung bei unbekanntem Leichen sowie unter bestimmten Bedingungen die Klärung der Frage des Rentenalters ([https://campus.uni-muenster.de/fileadmin/einrichtung/agfad/empfehlungen/empfehlung\\_rentenverfahren.pdf](https://campus.uni-muenster.de/fileadmin/einrichtung/agfad/empfehlungen/empfehlung_rentenverfahren.pdf)).

In den folgenden Abschnitten der Einleitung wird diese Methode erläutert und das Ziel der vorliegenden Arbeit dargestellt.

### 1.2 Grundlagen der biochemischen Altersschätzung an Dentin

#### 1.2.1 Razemisierung von Asparaginsäure (AAR)

Aminosäuren sind gekennzeichnet durch einen Aufbau aus jeweils einer Amino- und Carboxylgruppe sowie aus einer Seitenkette. Bei physiologischem pH liegt die Aminogruppe als Kation ( $-\text{NH}_3^+$ ) und die Carboxylgruppe als Anion ( $-\text{COO}^-$ ) vor. Die Seitenkette ( $-\text{R}$ ) ist kennzeichnend für jede einzelne Aminosäure, befindet sich am  $\alpha$ -C-Atom und bildet ein Asymmetriezentrum (Löffler, 2014).

Mit Ausnahme der Aminosäure Glycin, bei der die Seitenkette ein Wasserstoffatom darstellt ( $\text{R} = \text{H}$ ), sind alle 21 proteinogenen Aminosäuren chiral aufgebaut, das heißt, dass das  $\alpha$ -C-Atom vier unterschiedliche Substituenten trägt (Zeeck, 2014). Sie liegen als Enantiomere mit „gespiegelter“ Struktur und chemisch nahezu identischen Eigenschaften vor. Diese Enantiomerenpaare werden durch Voranstellen der Großbuchstaben D (lat. dexter, rechts) und L (lat. laevus, links) an den Namen der betroffenen Aminosäure charakterisiert (Horton et al., 2008). Befindet sich das  $\alpha$ -C-Atom in der Fischer-Projektion auf der linken Seite, so handelt es sich um das L-Enantiomer der genannten Aminosäure.

Bei der Biosynthese menschlicher Proteine werden ausschließlich L-Aminosäuren eingebaut (Bada und Schroeder, 1975 und 1976; Ritz-Timme, 1999). Im weiteren Verlauf des Lebens unterliegen viele Proteine einer Vielzahl von posttranslationalen Modifikationsprozessen wie z.B. Deamidierung, Isomerisierung, Oxidation und Razemisierung (Geiger und Clarke, 1987; Ritz-Timme und Collins, 2002). Durch die Deamidierung von L-Asparagin (L-Asn) entsteht ein metastabiles L-Succinimid, welches sich durch eine spontane Razemisierung in sein D-Enantiomer umwandeln kann. Aus dem L-Succinimid kann dann im Weiteren durch Hydrolyse L-Asparaginsäure (L-Asp) entstehen, welche sich durch Isomerisierung in L-Iso-Asparaginsäure (L-Iso-Asp) umwandeln kann (Carter und Aswad, 2008). Gleichermäßen gilt das für das D-Succinimid, durch Hydrolyse kann die Bildung von D-Asp erfolgen, welche sich dann analog

zum L-Asp und durch Isomerisierung in D-Iso-Asp umwandeln kann (Abbildung 1.1).

Die Reparatur von L-Iso-Asp-Resten durch das Reparaturenzym Protein-L-Isoaspartyl-Methyltransferase (PIMT) ist faktisch insuffizient (Ritz-Timme und Collins, 2002; Vigneswara et al., 2006; Zhu et al., 2006). L-Iso-Asp-Reste, welche durch PIMT zu einem Methylester umgewandelt werden, zerfallen spontan zu L-Succinimid, woraus erneut L-Asp und ebenfalls dessen Isomer L-Iso-Asp entstehen (Carter und Aswad, 2008). Allerdings kann sich in jedem Reparaturprozess das metastabile L-Succinimid auch in sein D-Enantiomer umwandeln, woraus folglich dann ebenso D-Asp und D-Iso-Asp entstehen können, was dann ebenfalls zu einer Akkumulation von D-Asparaginsäureresten führen kann (Reissner und Aswad, 2003; Reissner et al., 2006) (Abbildung 1.2).

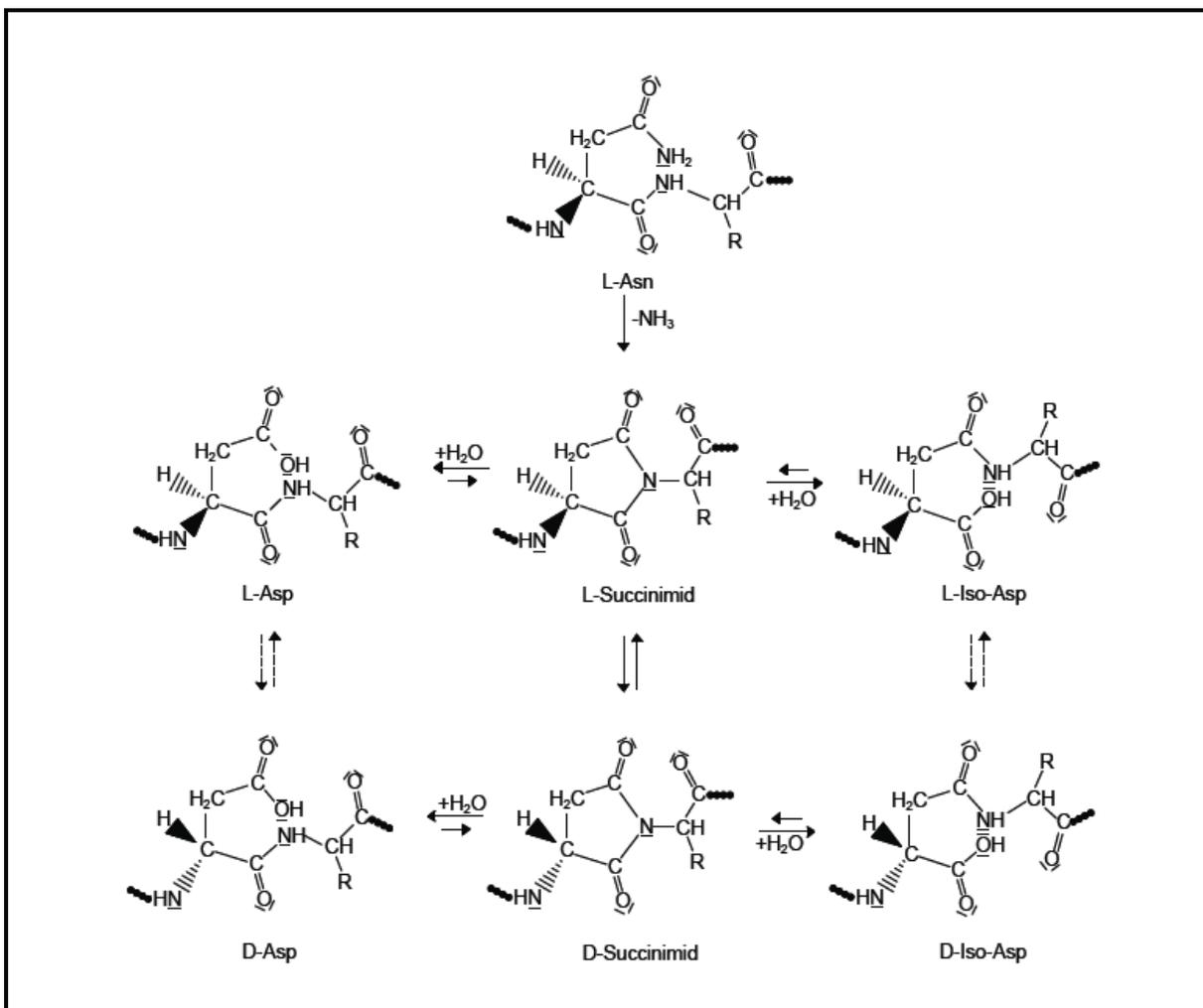


Abb. 1.1

**Posttranslationale Modifikationen von Asn- und Asp-Resten:** Deamidierung, Razemisierung, Isomerisierung (verändert nach Geiger und Clarke, 1987): L-Asparagin (L-Asn) wird durch Abspaltung eines Amids in ein instabiles L-Succinimid umgewandelt. Dieses kann sich nun durch eine spontane Razemisierung in sein D-Enantiomer bzw. durch Oxidation in L-Asparaginsäure (L-Asp) umwandeln. L-Asp kann wiederum zu L-Iso-Asparaginsäure (L-Iso-Asp) isomerisiert werden. Ebenso kann sich das D-Succinimid durch Hydrolyse in D-Asp und dieses sich wiederum durch Isomerisierung in D-Iso-Asp umwandeln.

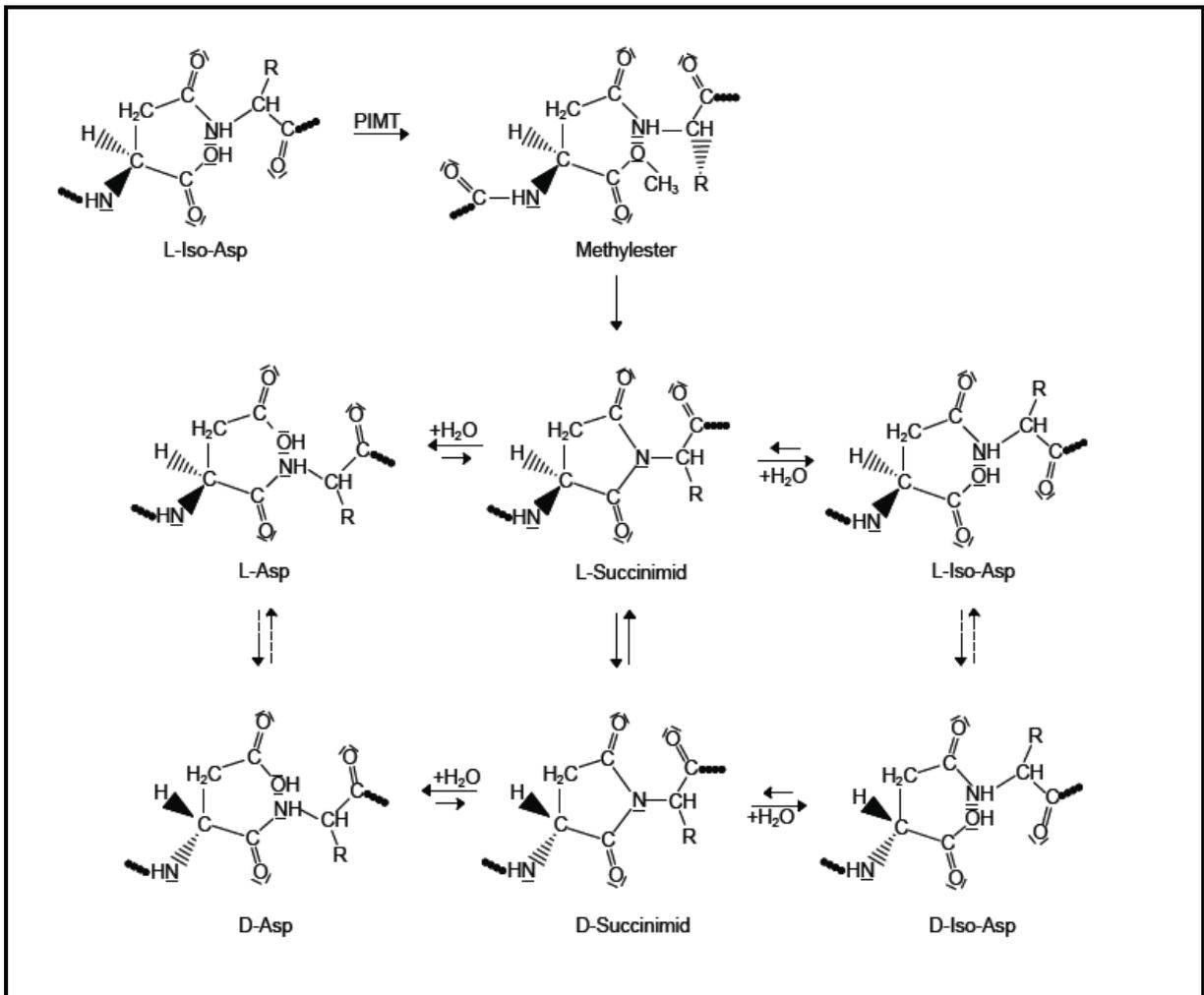


Abb. 1.2

Methylierung von L-Iso-Asp mittels PIMT (verändert nach Reissner et al., 2006): Das Reparaturenzym Protein-L-Isoasparty-Methyltransferase (PIMT) wandelt L-Iso-Asp-Reste zu einem Methylester um. Dieser zerfällt spontan zu L-Succinimid, woraus erneut L-Asp sowie dessen Isomer L-Iso-Asp entstehen können. Das L-Succinimid kann sich in sein D-Enantiomer umwandeln. Aus dem D-Succinimid entsteht dann ebenso D-Asp sowie D-Iso-Asp.

Durch die Razemisierung von Aminosäuren kann es zu einer allmählichen Akkumulation von D-Aminosäuren in bestimmten Proteinen kommen. Ob und in welchem Umfang dies geschieht, hängt - bei gegebener Körpertemperatur um 37 °C und eng kontrolliertem pH - v.a. von Struktur und Metabolismus des „Mutterproteins“ ab (Ritz-Timme, 1999).

Der Razemisierungsprozess läuft i.d.R. in großen und komplexeren Proteinen langsamer ab als in kleinen Peptiden (Clarke, 1987, Groenen et al., 1990; Kimber und Hare, 1992; Lowenson und Clarke, 1988; Stephenson und Clarke, 1989). Proteine mit sehr kurzer Lebensdauer werden schnell abgebaut oder ausgetauscht, bevor eine relevante Messung der intravitalen Razemisierung ihrer Asparaginsäurereste überhaupt möglich ist. Proteine mit längerer Halbwertszeit unterscheiden sich von permanenten Proteinen dadurch, dass sie in unterschiedlichen Abständen gegen neu synthetisierte Proteine mit hohem L-Asparaginsäuregehalt ausgewechselt werden. Hier ist keine enge Beziehung zwischen Razemisierungsgrad von Asparaginsäure und Proteinalter zu beobachten. Permanente Proteine, welche nicht ausgetauscht werden, zeigen einen engen Zusammenhang zwischen AAR und Lebensalter, der zur Altersschätzung genutzt werden kann (Ritz-Timme, 1999).

Die Bestimmung des Razemisierungsgrades der Asparaginsäure in permanenten Proteinen stellt die Grundlage der Altersschätzung aufgrund der AAR dar. Permanente Proteine mit einer altersabhängigen Zunahme der AAR gibt es in zahlreichen menschlichen Geweben. Hierzu zählen Zahnhartgewebe wie Schmelz, Dentin, Zement sowie auch zahlreiche andere Gewebe in verschiedenen Strukturen und Organen des menschlichen Organismus wie u.a. Aortenwand, Augenlinse und Sklera, Disci intervertebrales, Epiglottis, Haut, Erythrozyten, (Alveolar-) Knochen, Knorpel, Elastin, Ligamentum Flavum und Lungengewebe (Barber und Clarke, 1983; Brunauer und Clarke, 1986; Dobberstein et al., 2010; Garner und Spector, 1978; Griffin et al., 2008; Helfman und Bada, 1975, 1976, 1977; Klumb et al., 2016; Laumeier, 2004; Lowenson und Clarke, 1988; Maroudas et al., 1975; Masters et al., 1978; Matzenauer et al., 2014; Ohtani, 1995; Ohtani et al., 1995; Pfeiffer et al., 1995; Powell et al., 1992; Ritz und Schütz, 1993; Ritz et

al., 1993, 1994, 1996; Ritz-Timme et al., 2003; Shapiro et al., 1991; Tiemeyer, 2002).

Die dieser Arbeit zugrunde liegenden Untersuchungen wurden an Dentin durchgeführt, das sich als ideales Gewebe für Altersschätzungen aufgrund der AAR erwiesen hat (Ohtani und Yamamoto, 2005; Ritz-Timme, 1999; Ritz-Timme et al., 2000).

### **1.2.1.1 Dentin als Untersuchungsgut**

Dentin besteht aus anorganischem (70 %) und organischem (20 %) Material sowie Wasser (10 %). Im anorganischen Anteil überwiegen Phosphat und Kalzium. Der organische Anteil wird zu etwa 92 % aus Kollagen (davon etwa 90 % Kollagen Typ I, etwa 3 % Kollagen Typ V) und kollagenartigen Verbindungen gebildet (Arnold, 2006; Hellwig et al., 2013; Kleter et al., 1994; Märten, 2010; Peschel, 2008).

Kollagen ist in Fasern organisiert, welche durch die Zusammensetzung von Fibrillen entsteht. Fibrillen wiederum stellen ein Gefüge aus Kollagenmolekülen, bestehend aus drei etwa 1050 Aminosäure langen Peptidketten, aus zwei  $\alpha$ 1-Ketten sowie einer  $\alpha$ 2-Kette, dar (Kühn, 1974; Traub und Piez, 1971). Diese formen sich durch Verbindung mittels Wasserstoffbrücken und der Aminosäure Glycin an jeder dritten Position sowie durch Drehungen um eine gemeinsame Hauptachse zu einer sogenannten Tripelhelix (Löffler, 2014; Traub und Piez, 1971).

Nach Arnold (2006) unterscheidet man drei verschiedene Gruppen nichtkollagener Matrixproteine: (1) dentinspezifische Matrixproteine, welche sich ausschließlich in der extrazellulären Matrix des Dentins befinden; (2) knochenspezifische Matrixproteine, sowie (3) Matrixproteine, welche auch in anderen nicht-mineralisierten Geweben gebildet werden können.

Zur ersten Gruppe zählen unter anderem das stark phosphorylierte Dentin-Phosphoprotein (DPP), welches mit etwa 50 % den größten Anteil der extrazellulären Matrix ausmacht (MacDougall et al., 1997), das stark negativ geladene Dentin-Matrix-Protein-1 (DMP-1) sowie das Glykoprotein Dentin-Sialoprotein (DSP). DPP und DSP werden zusammengefasst auch als Dentin-Sialophosphoprotein (DSPP) bezeichnet. Während der Dentinogenese werden

nichtkollagene Matrixproteine in das Kollagennetzwerk eingelagert und sind für die Förderung bzw. Hemmung der Biomineralisation der Hydroxylapatite im Dentin verantwortlich (MacDougall et al., 1997; Butler, 1995; Arnold, 2006).

Eine altersabhängige Razemisierung von Asparaginsäure ist sowohl im unfraktionierten Gesamtdentin (TP) als auch in der säurelöslichen, nichtkollagenen Fraktion (NCP) des humanen Dentins zu beobachten. Wobei die säurelösliche Fraktion (NCP) im Vergleich zum Gesamtdentin (TP) und der unlöslichen kollagenen Proteinfraction (CP) einen deutlich höheren Razemisierungsgrad von Asparaginsäure aufweist (Ritz-Timme et al., 1999; Masters, 1983).

### **1.2.1.2 Biochemische Altersschätzung**

Die biochemische Altersschätzung aufgrund der AAR an Dentin gilt wegen ihrer Präzision und Praktikabilität als Standardmethode zur biochemischen Lebensaltersschätzung (Ritz-Timme, 1999).

Der Razemisierungsgrad von Asparaginsäure im Gesamtdentin wird vorwiegend durch die hohe Razemisierungsrate der Asparaginsäure in der nicht-kollagenen Fraktion (NCP) bestimmt (Ritz-Timme, 1999), obwohl diese nur einen sehr geringen Anteil der organischen Dentinmatrix ausmacht (etwa 8 %) (Hellwig, 2013). Daraus folgt, dass der Razemisierungsgrad im Gesamtdentin als Summenwert aus nicht-kollagener und kollagener Dentinfraktion verstanden wird (Ritz-Timme, 1999). Die nicht-kollagene Fraktion allein sowie auch das Gesamtdentin zeigen einen engen Zusammenhang zwischen AAR und Lebensalter (Ritz-Timme, 1999), der Basis der biochemischen Altersschätzung an Dentin ist.

### **1.3 Hat Karies einen Einfluss auf die Altersschätzung aufgrund der Razemisierung von Asparaginsäure (AAR) im Dentin?**

Der genaue Ablauf der Kollagendegradation im kariösen Dentin ist bislang noch nicht vollständig geklärt (Hedenbjörk Lager, 2014). Allgemein anerkannt ist die Theorie, dass in der menschlichen Mundhöhle (Makrobiotop) unter physiologischen Bedingungen ein Gleichgewicht zwischen Wirt (Zahnoberfläche) und der bakteriellen, oralen Flora existiert. Dieses Gleichgewicht kann durch unterschiedliche Faktoren (z.B. stetiger Konsum von niedrigmolekularen Kohlenhydraten) verschoben werden und kann als Folge eine Demineralisation der Zahnoberfläche hervorrufen. Der kritische pH-Wert, welcher eine Keimbesiedlung (u.a. durch *Streptokokkus mutans*, *Streptokokkus sobrinus* und Lactobazillen) begünstigt, liegt bei unter dem pH-Wert 5.5 (Chaussain-Miller et al., 2006). Wenn die Phase der Demineralisation länger andauert, kann es durch proteolytische Enzyme wie Proteasen und Kollagenasen zu einer irreparablen Destruktion der Kollagenstruktur kommen, die zur Folge hätte, dass eine Remineralisation nicht mehr möglich ist (Fiedler, 2009; Peschel, 2008; Wefel, 1994).

Zu den einschlägigen Proteasen, zählen die Matrix Metalloproteasen (MMP), welche im Zusammenspiel mit Cystein Cathepsin die wesentlichen Verursacher der Proteindegradation in Dentinkaries darstellen (Tjäderhane et al., 1998). Von den insgesamt elf humanen Cystein Cathepsinen ist z.B. das Cathepsin K einerseits für die Aktivierung der MMP's sowie andererseits für die Trennung von Telopeptiden verantwortlich (Tjäderhane et al., 2013). MMP's sind Endopeptidasen, welche u.a. in Fibro-, Osteo- sowie Odontoblasten produziert werden und in der Lage sind, Peptidverbindungen zu spalten (Hannas et al., 2007). Im Dentin findet man die Matrix Metalloproteasen 2, 3, 8, 9, 14 und 20, wobei der MMP8 die größte kollagenolytische Eigenschaft zugesprochen wird (Sulkala et al., 2007; Hedenbjörk Lager, 2014). Nach Hedenbjörk Lager (2014) setzt die Kollagendegradation im kariösen Dentin ein, wenn das Hydroxylapatit bereits durch die bakteriell verursachten Säuren beschädigt wurde und das Kollagen deshalb nicht mehr gut genug geschützt ist. Durch den säurebedingten

niedrigen pH-Wert von nur noch 4-5 wird die Vorläuferprotease proMMP aktiv, jedoch nicht das Hauptprodukt, die MMP. Es ist zwar in der Lage, im sauren Milieu bestehen zu bleiben, allerdings ist es erst ab einem neutralen pH-Wert aktiv tätig (Mazzoni et al., 2015). Daraus folgernd, ist die Denaturierung des Kollagens durch MMP8 erst bei erneutem Steigen des pH-Wertes möglich. Hier entstehen dann Kollagenfragmente (Gelatine), welche durch die Gelatinasen MMP2 bzw. MMP9 weiter degradiert werden.

Karies kann also Proteindegradation bedingen (Kleter et al., 1998). Dadurch kann es zu einer Beeinflussung der Kinetik der Razemisierung der Aminosäuren in den jetzt veränderten „Mutterproteinen“ bei geänderter physikochemischer Umgebung kommen (Collins et al., 1999).

Die daraus resultierende Möglichkeit einer Beeinflussung der Ergebnisse der Altersschätzung aufgrund der AAR wurde bereits diskutiert (Collins et al., 1999; Griffin et al., 2008; Kleter et al., 1994, 1998; Masters, 1986; Ritz-Timme, 1997, 1999; Tiemeyer, 2002), aber bislang noch nicht systematisch untersucht.

Die Frage, ob und unter welchen Bedingungen Dentinproben aus kariös veränderten Zähnen für forensische Altersschätzungen genutzt werden können, ist von großer praktischer Relevanz, weil in vielen Fällen lediglich kariöse Zähne als Untersuchungsmaterial verfügbar sind.

Falls Karies tatsächlich die Kinetik der AAR beeinflusst, könnte es bei Analyse betroffener Dentinproben zu falschen Ergebnissen bei der Altersschätzung aufgrund der AAR in Dentin kommen.

### **1.4 Ziel der vorliegenden Arbeit**

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Klärung der Frage, ob und unter welchen Bedingungen Dentinproben aus kariös veränderten Zähnen zur forensischen Altersschätzung aufgrund der Razemisierung von Asparaginsäure in Dentin genutzt werden können.

Zur Klärung dieser Frage wurden systematische Untersuchungen an standardisiert präparierten Dentinproben aus 25 kariösen Weisheitszähnen sowie an 38 gesunden Weisheitszähnen von Probanden mit bekanntem Lebensalter durchgeführt. Die Ergebnisse werden zur Formulierung von Empfehlungen zum Umgang mit kariösen Zähnen bei der Altersschätzung aufgrund der AAR in Dentin genutzt.

## 2 Publikation

### **Age estimation based on aspartic acid racemization in dentine: What about caries-affected teeth?**

Nazan Sirin<sup>1</sup>, Christian Matzenauer, Alexandra Reckert, Stefanie Ritz-Timme  
Institute of Legal Medicine, University Hospital Düsseldorf, 40225 Düsseldorf,  
Germany

International Journal of Legal Medicine (2018) 132:623–628  
DOI 10.1007/s00414-017-1667-6

---

<sup>1</sup> Corresponding author. Tel.: 0049 211 8119388; Fax: 0049 211 8119366. E-mail  
address: nazansirin@outlook.com



## Age estimation based on aspartic acid racemization in dentine: what about caries-affected teeth?

Nazan Sirin<sup>1</sup> · Christian Matzenauer<sup>1</sup> · Alexandra Reckert<sup>1</sup> · Stefanie Ritz-Timme<sup>1</sup>

Received: 11 April 2017 / Accepted: 9 August 2017 / Published online: 19 August 2017  
© Springer-Verlag GmbH Germany 2017

**Abstract** Age estimation based on aspartic acid racemization (AAR) in dentine is one of the most precise methods in adult age. Caries induces protein degradation and may have an impact on the kinetics of AAR in dentine. We systematically examined standardized prepared dentine samples from caries-affected teeth to clarify the question, if caries-affected teeth should not be used for age estimation based on AAR at all, or if the analysis of dentine samples from such teeth may be useful after removal of the caries-affected tissue according to clinical standards. Our results suggest that caries may lead to an extensive protein degradation even in macroscopically healthy-appearing dentine samples from caries-affected teeth and may significantly affect the precision of age estimation. To ensure the quality of age estimation based on AAR in forensic practice, we recommend using dentine samples from healthy teeth. If only caries-affected teeth are available, dentine samples from at least two teeth from the same individual should be analyzed as it seems unlikely that caries-induced protein degradation occurred with identical kinetics in two different teeth. In any case, results of the analysis of caries-affected teeth must be interpreted with caution.

**Keywords** Age estimation · Aspartic acid racemization · Caries-affected teeth · Dentine

✉ Nazan Sirin  
nazansirin@outlook.com

<sup>1</sup> Institute of Legal Medicine, University Hospital Düsselndorf, 40225 Düsseldorf, Germany

### Introduction

Estimation of age is an important task in forensic practice, regarding identification of unidentified bodies as well as age estimation of living persons of unknown age. One of the most precise methods (in adult age) is based on aspartic acid racemization (AAR) [1–3].

The molecular basis of AAR has extensively been described [4–6]. In permanent and long-living proteins, an accumulation of D-aspartic acid residues may occur with increasing age. If the relationship of D-aspartic acid content and age is close enough, it can be used for age estimation [7, 8]. An age-dependent accumulation of D-aspartic acid has been observed, e. g., in dentine [9, 10], enamel [11–13], tooth cementum [14], erythrocytes [15–17], bone [18, 19], intervertebral discs [20, 21], lens [22–24], sclera [25], elastic cartilage from epiglottis [26], and rib [27], as well as in purified proteins, e. g., osteocalcin from bone [28] and elastin from lungs [29], artery walls [30], human skin [31], and ligamenta flava [32].

In forensic practice, dentine is the tissue of choice for age estimation based on AAR, as it is a bradytrophic tissue exhibiting a very close relationship of D-aspartic acid content and age [2, 33]. For reasons of quality assurance, the analysis of healthy intact teeth is strongly recommended [34]. However, completely unaffected teeth are often unavailable in forensic case work. The question arises if caries-affected teeth should not be used for age estimation based on AAR at all, or if the analysis of dentine samples from such teeth may be useful after removal of the caries-affected tissue.

Experimental evidence for a relevant influence of caries on AAR already comes from data presented by Tiemeyer [13] and Griffin et al. [12]. Tiemeyer described elevated AAR values in enamel from teeth with carious lesions, even if the samples had been taken from caries-unaffected areas. Griffin et al. [12] analyzed acid-extracted fractions of

enamel; samples from carious teeth exhibited a higher deviation of estimated from real ages than healthy teeth. Tiemeyer [13] as well as Griffin et al. [12] recommended further investigation of the influence of caries on the precision of the method.

The precise implications of the effects of caries on AAR in dentine have not yet been examined in detail. Therefore, we examined the influence of caries-induced protein degradation on AAR by analysis of standardized prepared dentine samples from caries-affected teeth. Under consideration of the results of these analyses we discuss, if caries-affected teeth are at least suitable after removal of the caries-affected dentinal tissue according to clinical standards, or if such teeth are not suitable for forensic age estimation based on AAR in dentine at all.

## Materials and methods

### AAR in standardized prepared dentine samples from caries-affected teeth

To investigate the relationship between the severity of a carious lesion (as detectable by morphological methods according to clinical standards) and the risk of false results of age estimation, AAR was determined in standardized prepared and categorized samples.

Ninety-nine standardized prepared root dentine samples (cube) from 25 wisdom teeth with carious lesions (23 individuals, with known ages between 21 and 79 years) were analyzed. To check the influence of the preparation method, three sound wisdom teeth (from 3 individuals, with known ages between 17 and 35 years) were analyzed in addition.

The samples were taken from vital teeth free of fillings and root fillings. All teeth were extracted by dentists due to carious or periodontal diseases, or for orthodontic and other medical reasons. Patients consented to the analysis of their extracted teeth for scientific purposes. Each extracted carious tooth was X-rayed to assess the severity of the carious lesions. For classification, the International Caries Detection Assessment System (ICDAS) was used ([www.icdas.org](http://www.icdas.org)). Only teeth with a score of 5 and 6 were selected for further analysis.

The samples were processed and analyzed as in the procedure described by Ritz-Timme [35] as follows:

### Preparation of root dentine samples

All teeth were cleaned with water and stored dry at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Root dentine samples were prepared using a dental drill under constant cooling. The roots were separated from the crown at the enamel-dentine junction. The lower third of the root was removed. The remaining root dentine was freed from cementum and pulp tissue. The precision of the

preparation was checked using an UV lightener at a wavelength of 366 nm; at this wavelength, dentine is fluorescent, while cementum is not.

Root dentine samples were separated into four “cubes” of about 3 mm height each (see Fig. 1). The prepared cube samples were classified with regard to the extent of the carious lesions visible:

- category 0: no carious lesions visible in the concerned cube,
- category a: carious lesions cover 30% or more of the cube,
- category b: carious lesions cover less than 30% of the cube.

### Washing procedure

The prepared cubes were rinsed in distilled water and washed in 15% sodium chloride solution for 1 h, in ethanol-diethylether (3:1) for 15 min, and in 2% sodium lauryl sulfate (SDS) for 1 hour. The samples were then lyophilized and stored at  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  until further processing.

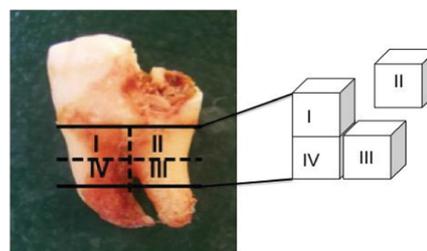
### Pulverization of dentine samples

Pulverization of dentine was performed by a hydraulic press (P/O/Weber, Remshalden) at 20 kN. Four milligrams of the pulverized dentine was used for the following steps.

### Hydrolysis, derivatization, and chromatographic analysis

After pulverization of dentine, all samples were hydrolyzed in 1 ml 6 N hydrochloric acid for 6 h at  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  and dried in a vacuum desiccator.

For derivatization, 1 ml isopropanol and 1  $\mu\text{l}$  sulfuric acid were added to each sample, and the samples were heated at



**Fig. 1** Preparation of dentine samples: roots were separated from the crown at the enamel-dentine junction. The lower third of the root was removed. The remaining parts were separated into four cubes according to “cubes” I–IV

110 °C for 1 h. Isopropanol was removed by a nitrogen stream. After adding 1 ml 4 N ammonia solution and 1 ml dichloromethane, the samples were centrifuged and the resulting two phases were separated and dried again. One milligram dichloromethane and 50 µl trifluoroacetic acid (TFAA) were added; the samples were heated for 15 min at 60 °C and dried using a nitrogen stream.

Separation and quantification of D- and L-aspartic acid were performed on a chiral capillary column in a gas chromatograph (GC: Shimadzu GC-2014, column: Chirasil-L-Val, Varian). A defined sample of aspartic acid with known D/L ratio (Merck, Darmstadt) was used as a standard for quality assurance. Each sample was analyzed at least twice. D/L ratio was calculated by using the arithmetic mean. The extent of AAR was calculated as  $\ln((1 + D/L)/(1 - D/L))$  [11].

### Age estimation

D/L values were used to estimate the individuals' ages using the regression equation established by Ritz-Timme et al. [35] ( $\ln((1 + D/L)/(1 - D/L)) = 0.00165 t + 0.00716$ ). Deviations of estimated ages from real ages were determined.

## Results

### AAR in samples from sound wisdom teeth

Age estimation based on AAR in the prepared cubes from the sound teeth resulted in deviations between estimated and real ages between  $-1.87$  and  $3.69$  years.

### AAR in samples from caries-affected teeth

Figures 2, 3, and 4 depict the deviations of estimated from true ages in the prepared cubes from caries-affected teeth under consideration of the observed degree of caries affection.

In all categories (of visible carious lesions), precise age estimates as well as remarkably large deviations of estimated from real ages were observed:

Deviations of less than  $\pm 3$  years were observed in 33 (out of 99) analyzed cubes from caries-affected teeth.

62 (out of 99) cubes exhibited deviations of less than  $\pm 6$  years.

The analyses of 15 (out of 99) cubes resulted in deviations of more than 10 years.

Overall, deviations from  $-12.67$  to  $20.39$  years were observed.

In c. 92% of the cases with deviations of more than  $\pm 6$  years, false high AAR values were observed.

There was no relationship between the severity of the carious lesions in the prepared cubes and the precision of age estimation; in each defined category of affection, very precise as well as very imprecise results of age estimation were observed:

Samples in category "0" (no caries lesions visible in the concerned cube) exhibited deviations of 0.02 years at best and 20.39 years at worst (see Fig. 2).

Samples of category "a" (caries lesion covered 30% or more of the cube) exhibited deviations of estimated from true age of 0.02 years at best and 14.33 years at worst (see Fig. 3).

In samples of category "b" (caries lesion covered less than 30%), deviations between  $-1.10$  years at best and 15.08 years at worst were observed (see Fig. 4).

## Discussion

Tiemeyer [13] and Griffin et al. [12] already concluded from their data on AAR in enamel of caries-affected teeth that caries may have an impact on the precision of age estimation based on AAR. However, the precise implications of the effects of caries on AAR in dentine remained unclear.

The results of the analysis of dentine samples from caries-affected teeth (Figs. 2, 3, and 4) confirm the assumption of a relevant impact of caries on the quality of age estimation based on AAR. Deviations between estimated and real ages of up to 20.39 years were observed. Deviations in these dimensions have not been observed in age estimation based on the analysis of healthy dentine in large sample series by our group using the method employed here [10, 34], and also other experienced groups did not report such high deviations (e.g., Ohtani et al. [36, 37]).

Most deviations of estimated from real ages were caused by remarkably high AAR values resulting in falsely high age estimates (see Figs. 2, 3, and 4). This is in line with the assumption that caries-induced protein degradation generates small fragments with lower steric hindrance, promoting a faster accumulation of D-aspartic acid [4, 5].

However, there were also samples with relatively low AAR values resulting in falsely low age estimates. In these cases, dentine samples may already have lost small protein fragments with high AAR rates due to further degradation and elimination.

The observed deviations of estimated from real ages in samples from caries-affected teeth prove that caries may indeed influence the precision of age estimation by AAR in dentine considerably. The question arises, whether precise age estimation based on AAR is even possible in

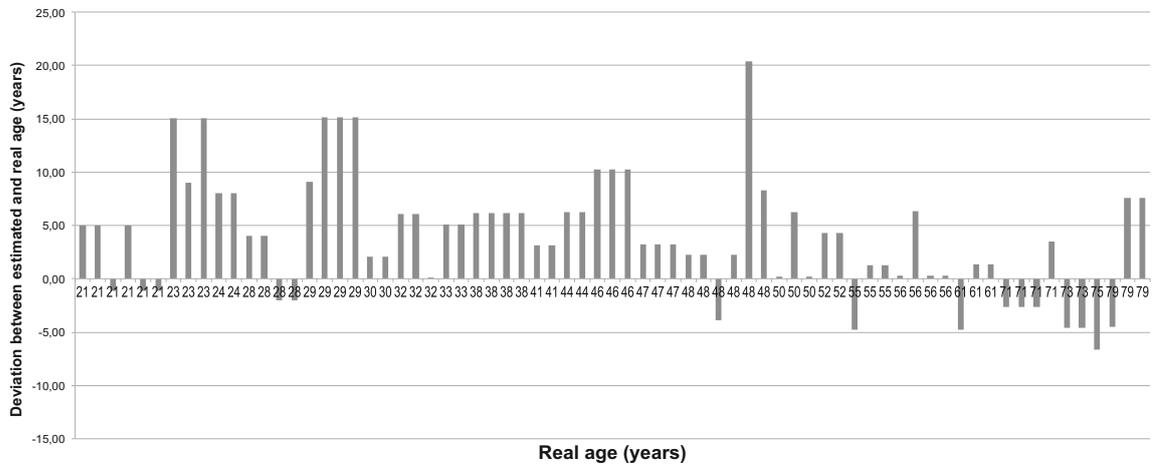


Fig. 2 Deviation of estimated ages from true ages in samples from caries-affected teeth. Samples of category 0 (no caries in the concerned cube,  $n = 71$ )

caries-affected teeth, if macroscopically healthy dentine is prepared from these affected teeth according to clinical standards. According to our results, this is not possible. Cubes labeled as “category 0” (no caries visible) exhibited very precise as well as very imprecise results of age estimation (Fig. 2). Our findings indicate that caries may lead to extensive changes on a molecular level (protein degradation) even

in regions that appear “healthy” in the morphological examination according to clinical standards. On the other hand, cubes with visible carious lesions also presented very precise as well as very imprecise results of age estimation. There was no relationship between the severity of a carious lesion (as detectable by morphological methods) and the risk of false results of age estimation based on AAR.

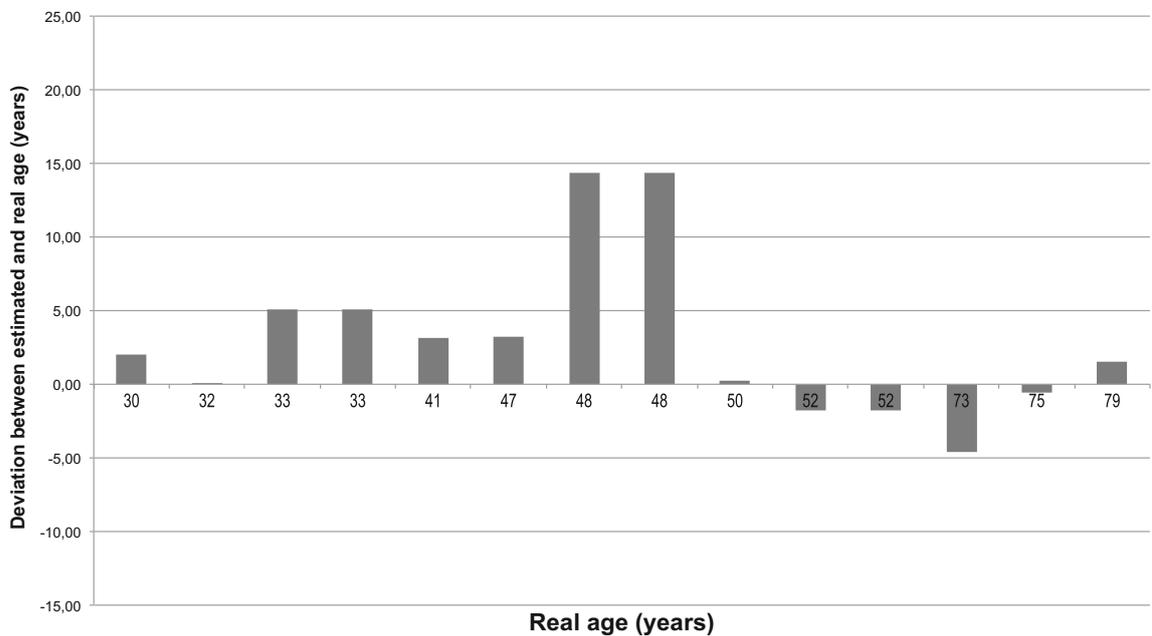
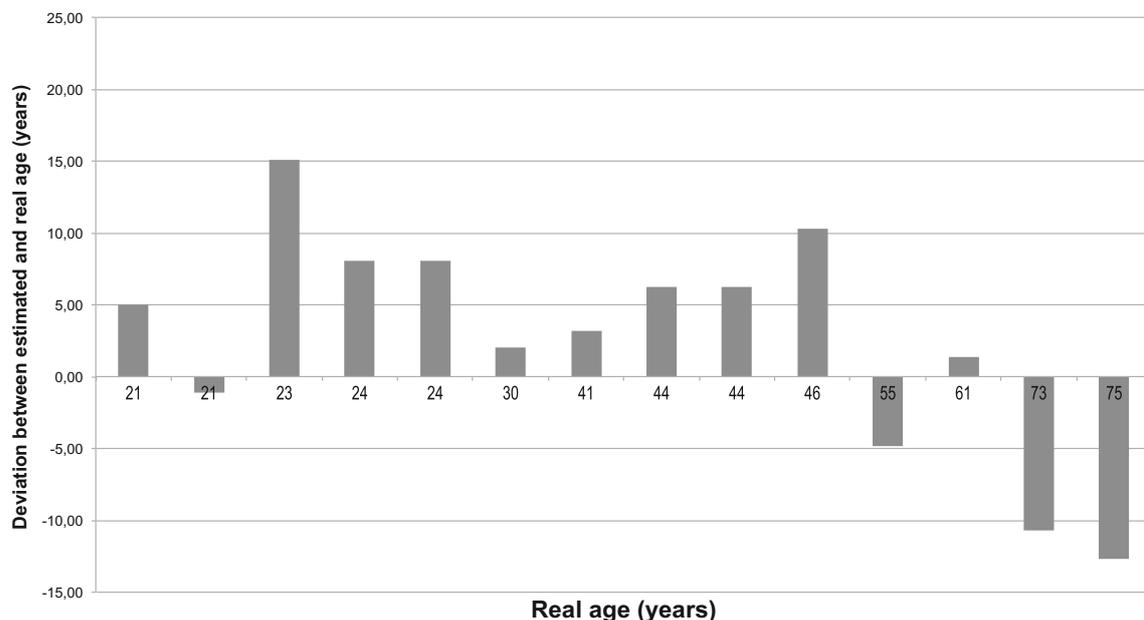


Fig. 3 Deviation of estimated ages from true ages in samples from caries-affected teeth. Samples of category a (caries covers 30% and more in the cube,  $n = 14$ )



**Fig. 4** Deviation of estimated ages from true ages in samples from caries-affected teeth. Samples of category b (caries covers less than 30% in the cube,  $n = 14$ )

Considering these results, the analysis of caries-affected teeth should be avoided in forensic practice. Nevertheless, in some cases, only carious teeth are available. In these cases, at least two teeth from the same individual should be analyzed. Since carious lesions are the result of complex biological processes, it seems highly unlikely that caries produces the same extent of protein degradation in two affected teeth from the same individual. If the analysis of two carious teeth from the same individual yields roughly the same results, we would consider these results as being plausible, although they should still be interpreted with caution.

#### Compliance with ethical standards

**Ethical approval** All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

#### References

- Meissner C, Ritz-Timme S (2010) Molecular pathology and age estimation. *Forensic Sci Int* 203:34–43
- Ritz-Timme S, Cattaneo C, Collins MJ, Waite ER, Sch tz HW, Kaatsch HJ, Bormann HIM (2000) Age estimation: the state of the art in relation to the specific demands of forensic practise. *Int J Legal Med* 113:129–136
- Ohtani S (1995) Estimation of age from the teeth of unidentified corpses using the amino acid racemization with reference to actual cases. *Am J Forensic Med Pathol* 16:238–242
- Collins MJ, Waite ER, van Duin ACT (1999) Predicting protein decomposition: the case of aspartic-acid racemization kinetics. *Phil Trans R Soc Lond B* 354:51–64
- Robinson NE, Robinson AB (2004) *Molecular clocks. Deamidation of asparaginyl and glutaminyl residues in peptides and proteins*. Althouse Press, Cave Junction
- Stephenson RC, Clarke S (1989) Succinimide formation from aspartyl and asparaginyl peptides as a model for the spontaneous degradation of proteins. *J Biol Chem* 11:6164–6170
- Truscott RJW (2011) Macromolecular deterioration as the ultimate constraint on human lifespan. *Ageing Res Rev* 10:397–403
- Truscott RJW, Schey KL, Friedrich MG (2016) Old proteins in man: a field in its infancy. *Trends Biochem Sci* 41(8):654–664
- Helfman PM, Bada JL (1976) Aspartic acid racemization in dentine as a measure of ageing. *Nature* 262:279–281
- Ritz S, Sch tz HW, Peper C (1993) Postmortem estimation of age at death based on aspartic acid racemization in dentin: its applicability for root dentin. *Int J Legal Med* 105:289–293
- Helfman PM, Bada JL (1975) Aspartic acid racemization in tooth enamel from living humans. *Proc Nat Acad Sci USA* 72:2891–2894
- Griffin RC, Moody H, Penkman KEH, Collins MJ (2008) The application of amino acid racemization in the acid soluble fraction of enamel to the estimation of the age of human teeth. *For Sci Int* 175(1):11–16
- Tiemeyer H (2002) *Razemisierung von Asparagins ure in Schmelzproteinen: Forensische Nutzbarkeit zur biochemischen Lebensaltersschätzung und grundlagenwissenschaftliche Aspekte*. Dissertation, University of Kiel
- Ohtani S, Sugimoto H, Sugeno H, Yamamoto S, Yamamoto K (1995) Racemization of asparagin acid in human cementum with age. *Archs oral Biol* 40(2):91–94

15. Barber JR, Clarke S (1983) Membrane protein carboxyl methylation increases with human erythrocyte age. *J Biol Chem* 258:1189–1196
16. Brunauer L, Clarke S (1986) Age-dependent accumulation of protein residues which can be hydrolyzed to D-aspartic acid in human erythrocytes. *J Biol Chem* 261:12538–12543
17. Lowenson J, Clarke S (1988) Does the chemical instability of aspartyl and asparaginyl residues in proteins contribute to erythrocyte aging? *Blood Cells* 14:103–117
18. Pfeiffer H, Mørstad H, Teivens A (1995) Estimation of chronological age using the aspartic acid racemization method. II. On human cortical bone. *Int J Legal Med* 108:24–26
19. Ritz S, Turzynski A, Schütz HW (1994) Estimation of age at death based on aspartic acid racemization in noncollagenous bone proteins. *Forensic Sci Int* 69:149–159
20. Maroudas A, Stockwell RA, Nachemson A, Urban J (1975) Factors involved in nutrition of the human lumbar intervertebral disc: cellularity and diffusion of glucose in vitro. *J Anat* 120:113–130
21. Ritz S, Schütz HW (1993) Aspartic acid racemization in intervertebral discs as an aid to postmortem estimation of age at death. *J Forensic Sci* 38:633–640
22. Garner WH, Spector A (1978) Racemization in human lens: evidence of rapid insolubilization of specific polypeptides in cataract formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 75:3618–3620
23. Helfman PM, Bada JL (1977) Aspartic acid racemization in the human lens during ageing and in cataract formation. *Nature* 268:71–73
24. Masters PM, Bada JL, Zigler JS Jr (1978) Aspartic acid racemization in heavy molecular weight crystallins and water-insoluble protein from normal human lenses and cataracts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 75:1204–1208
25. Klumb K, Matzenauer C, Reckert A, Lehmann K, Ritz-Timme S (2016) Age estimation based on aspartic acid racemization in human sclera. *Int J Legal Med* 130:207–211
26. Matzenauer C, Reckert A, Ritz-Timme S (2014) Estimation of age at death based on aspartic acid racemization in elastic cartilage of the epiglottis. *Int J Legal Med* 128:995–1000
27. Pfeiffer H, Mørstad H, Teivens A (1995) Estimation of chronological age using the aspartic acid racemization method. I. On human rib cartilage. *Int J Legal Med* 108:19–23
28. Ritz S, Turzynski A, Schütz HW, Hollmann A, Rochholz G (1996) Identification of osteocalcin as a permanent aging constituent of the bone matrix: basis for an accurate age at death determination. *For Sci Int* 770:13–26
29. Shapiro SD, Endicott SK, Province MA, Pierce JA, Campbell EJ (1991) Marked longevity of human lung parenchymal elastic fibers deduced from prevalence of D-aspartate and nuclear weapons-related radiocarbon. *J Clin Invest* 87:1828–1834
30. Powell JT, Vine N, Crossman M (1992) On the accumulation of D-aspartate in elastin and other proteins of the ageing aorta. *Atherosclerosis* 97:201–208
31. Ritz-Timme S, Laumeier I, Collins MJ (2003) Aspartic acid racemization: evidence for marked longevity of elastin in human skin. *Brit J Derm* 149:951–959
32. Ritz-Timme S, Laumeier I, Collins MJ (2003) Age estimation on aspartic acid racemization in elastin from the yellow ligaments. *Int J Legal Med* 117:96–101
33. Ohtani S, Yamamoto T (2005) Strategy for the estimation of chronological age using the aspartic acid racemization method with special reference to coefficient of correlation between D/L ratios and ages. *J Forensic Sci* 50:1–7
34. Ritz-Timme S, Rochholz G, Schütz HW, Collins MJ, Waite ER, Cattaneo C, Kaatsch HJ (2000) Quality assurance in age estimation based on aspartic acid racemisation. *Int J Legal Med* 114:83–86
35. Ritz-Timme S (1999) Lebensaltersbestimmung aufgrund des Racemisierungs-grades von Asparaginsäure. Grundlagen, Methodik, Möglichkeiten, Grenzen, Anwendungsbereiche. In: Berg S, Brinkmann B (eds) *Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik*, 23rd edn. L. Beck, Schmidt-Rohmhild, pp 1–84
36. Ohtani S (1995) Estimation of age from dentin by using the racemization reaction of aspartic acid. *Am J Forensic Med Pathol* 16:158–161
37. Ohtani S, Yamamoto K (1991) Age estimation using the racemization of amino acid in human dentin. *J Forensic Sci* 36:792–800

### 3 Weitere erhobene Daten

Zur Klärung der Frage, ob und unter welchen Bedingungen Karies Einfluss auf die Ergebnisse der biochemischen Altersschätzung aufgrund der Razemisierung von Asparaginsäure (AAR) in Dentin hat, wurden 38 morphologisch gesunde Weisheitszähne von 31 Individuen im Alter zwischen 15 und 65 Jahren sowie 25 kariöse Weisheitszähne von 23 Individuen im Alter zwischen 21 und 79 Jahren untersucht.

In die unter 2 dargestellte Publikation ging nur ein Teil der erhobenen Daten ein, nämlich lediglich die am Gesamtdentin der kariösen Zähne ermittelten Werte.

Im Folgenden werden weitere erhobene Daten, die eben nicht in die Publikation eingingen dargestellt. Es handelt sich hierbei um

- Daten zur Razemisierung von Asparaginsäure (AAR) an gesunden Weisheitszähnen: Diese Daten wurden im Sinne einer „Kalibrierung“ erhoben, um sicherzustellen, dass die Methode beherrscht wird und mit anderen Publikationen vergleichbare Daten ergibt.
- Daten zur Razemisierung von Asparaginsäure (AAR) in der nicht-kollagenen Proteinfraction (NCP) der kariösen Weisheitszähne: Die korrespondierenden Daten für die Gesamtdentinproben (TP) gingen in die unter 2. zitierte Publikation ein.
- Daten aus dem theoretischen Verdau des Kollagen Typ I durch die Matrix Metalloprotease 8 (MMP8): Diese simulierte Proteolyse wurde durchgeführt, um einen Überblick zu der Frage zu erhalten, wie durch eine kariesinduzierte Proteindegradation kleine Proteinfragmente und Peptide entstehen können.

### **3.1 Razemisierung von Asparaginsäure (AAR) an gesunden Zähnen**

Die Analyse des Dentins gesunder Weisheitszähne diente der Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Methode und war erforderlich, um publizierte Regressionsgleichungen zur Altersschätzung auf die Gruppe der kariösen Weisheitszähne anwenden zu können.

Das durchschnittliche Alter der 31 Individuen lag bei 29,5 Jahren. Alle Weisheitszähne wurden ausnahmslos aus zahnärztlicher Indikation durch Zahnärzte extrahiert und mit Einverständnis der Patienten für die vorliegende Arbeit zur Verfügung gestellt. Es wurden ausschließlich anonymisierte Daten verwendet. Dementsprechend machten alle Zahnärzte ausschließlich Angaben über das Alter der Person ohne weiteren Bezug auf jegliche Daten, welche Hinweise auf die Identität der zugehörigen Person geben könnten.

Die Befundung an den extrahierten Zähnen erfolgte durch makroskopische Inspektion sowie über persönlich in der Westdeutschen Kieferklinik Düsseldorf angefertigte Zahnfilme (vgl. Sirin et al., 2018a); Einsicht in Krankenunterlagen erfolgte nicht.

#### **3.1.1 Methode**

Das Vorgehen bei der Präparation der Dentinproben sowie die Bestimmung des Razemisierungsgrades von Asparaginsäure in Dentin (AAR) folgten im Wesentlichen dem von Ritz-Timme (2000) sowie Sirin et al. (2018a) beschriebenen Verfahren.

Abweichend von der beschriebenen und auf die kariösen Zähne angewendeten Methode (Sirin et al., 2018a,b) wurden die Zähne des gesunden Zahnkollektivs nicht in vier Quadranten geteilt. Somit konnten höhere Einwaagen von Dentin verwendet werden. Für das Gesamtdentin (TP) wurden 40 mg und für die nichtkollagene Dentinproteinfraktion (NCP) 100 mg Dentinpulver eingesetzt.

Im Anschluss an die Einwaage wurde das NCP durch Säureextraktion präpariert. Hierzu wurden die NCP-Proben mit je 3,5 ml 0,6 N HCl versetzt. Der Überstand mit der säurelöslichen, nicht-kollagenen Proteinfraction wurde durch Filtration ( $\varnothing$  9 mm, Schleicher & Schuell, Dassel) von der Säure abgenommen und im Vakuum mittels Exsiccator getrocknet.

Nach der Säureextraktion der NCP-Proben erfolgten die weiteren Arbeitsschritte für TP sowie NCP wieder einheitlich, wie bei Sirin et al. (2018a) beschrieben.

Zur Prüfung der Reproduzierbarkeit der Methode wurden die für die 38 gesunden Zähne erhaltenen Daten mit publizierten Daten von Ritz-Timme (1999) verglichen.

### 3.1.2 Ergebnisse

Abbildung 3.1 stellt die erhobenen Daten der gesunden Gruppe im Vergleich zu den von Ritz-Timme (1999) publizierten Daten dar.

Die AAR-Werte der Zähne nahmen in beiden Fraktionen (TP und NCP) mit steigendem Lebensalter zu, der Zusammenhang zwischen AAR und Alter war jeweils eng ( $R^2 = 0,95499$  für NCP und  $R^2 = 0,90186$  für TP). Die für das gesamte Kollektiv erhobenen Daten zeigten keine auffälligen Abweichungen von den publizierten Referenzdaten (Ritz-Timme, 1999).

Die erhobenen AAR-Daten wurden in die von Ritz-Timme (1999) publizierten Regressionsgleichungen zur Altersschätzung eingesetzt. Die Ergebnisse dieser „Altersschätzungen“ waren sehr präzise: Der arithmetische Mittelwert der Differenz von tatsächlichem und gemessenem Alter beträgt für NCP +1,45 Jahre und für TP +1,29 Jahre. 78 % der Ergebnisse lagen innerhalb des von Ritz-Timme (1999) beschriebenen 95 %-Vertrauensintervalls von +/-4 Jahren.

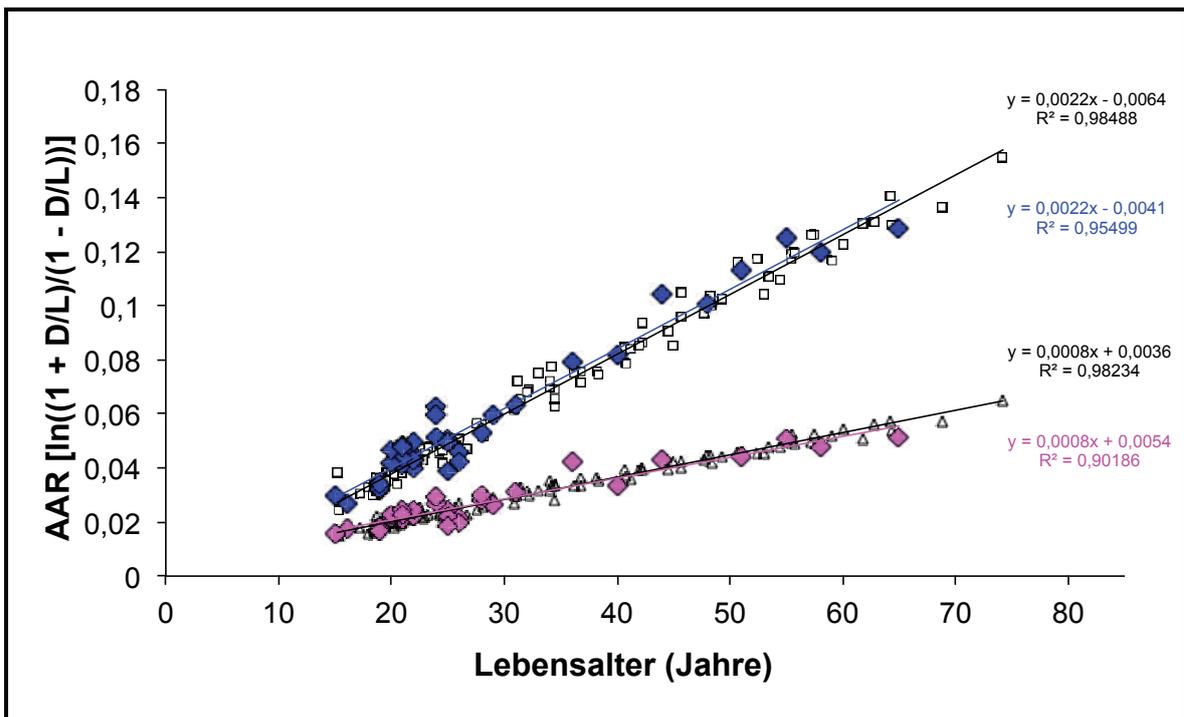


Abb. 3.1

**Reproduzierbarkeit der Methode bei Analyse von gesundem Dentin:** Razemisierung der Asparaginsäure (AAR als  $\ln((1+D/L)/(1-D/L))$ ) aufgetragen gegen das Lebensalter in Jahren (Rauten: Nichtkollagene Proteinfraction (NCP) blau, Gesamtprotein (TP) rosa) im Vergleich zu den Referenzwerten von Ritz-Timme (1999) (Quadrate: NCP, Dreiecke: TP).

## **3.2 Razemisierung der Asparaginsäure (AAR) in der nichtkollagenen Dentinproteinfraktion (NCP) der kariösen Zähne**

In die Publikation von Sirin et al. (2018a,b) gingen nur die Gesamtdentinwerte (TP) des Kollektivs kariöser Zähne ein. Im Folgenden werden die korrespondierenden Ergebnisse der Untersuchung der nicht-kollagenen Dentinproteinfraktion dargestellt.

### **3.2.1 Methode**

Für die Gewinnung der nichtkollagenen Dentinproteinfraktion (NCP) wurden je 10 mg Dentinpulver eingesetzt.

Nach der Einwaage wurde das NCP analog wie in 3.1.1 bereits beschrieben, durch Säureextraktion präpariert. Dafür wurden die Proben mit je 3,5 ml 0,6 N HCl versetzt. Der Überstand mit der säurelöslichen, nicht-kollagenen Proteinfraktion wurde durch Filtration ( $\varnothing$  9 mm, Schleicher & Schuell, Dassel) von der Säure abgenommen und im Vakuum mittels Exsiccator getrocknet.

Nach der Säureextraktion der NCP-Proben erfolgten die weiteren Arbeitsschritte für TP sowie NCP wieder einheitlich, beschrieben wie bei Sirin et al. (2018a).

Auch die Auswertung folgte dem bei Sirin et al. (2018a) beschriebenen Vorgehen. Durch Einsetzen der NCP-Werte in die von Ritz-Timme (1999) publizierte Gleichung (1999) wurden "Altersschätzungen" durchgeführt.

### **3.2.2 Ergebnisse**

Die kariösen Zähne zeigten eine größere Streuung der NCP-Werte ( $R^2 = 0,8652$ ) als die gesunden Zähne (vgl. 3.1,  $R^2 = 0,95499$ ) mit einer Tendenz zum Abweichen der Werte nach oben. In der Gruppe der kariösen Zähne fanden sich Abweichungen der berechneten Altersdiagnosen von bis zu 34,12 Jahren (Abbildung 3.2), die weit außerhalb des von Ritz-Timme (1999) beschriebenen 95 %-Vertrauensintervalls von +/-4 Jahren für gesunde Zähne lagen.

## Weitere erhobene Daten

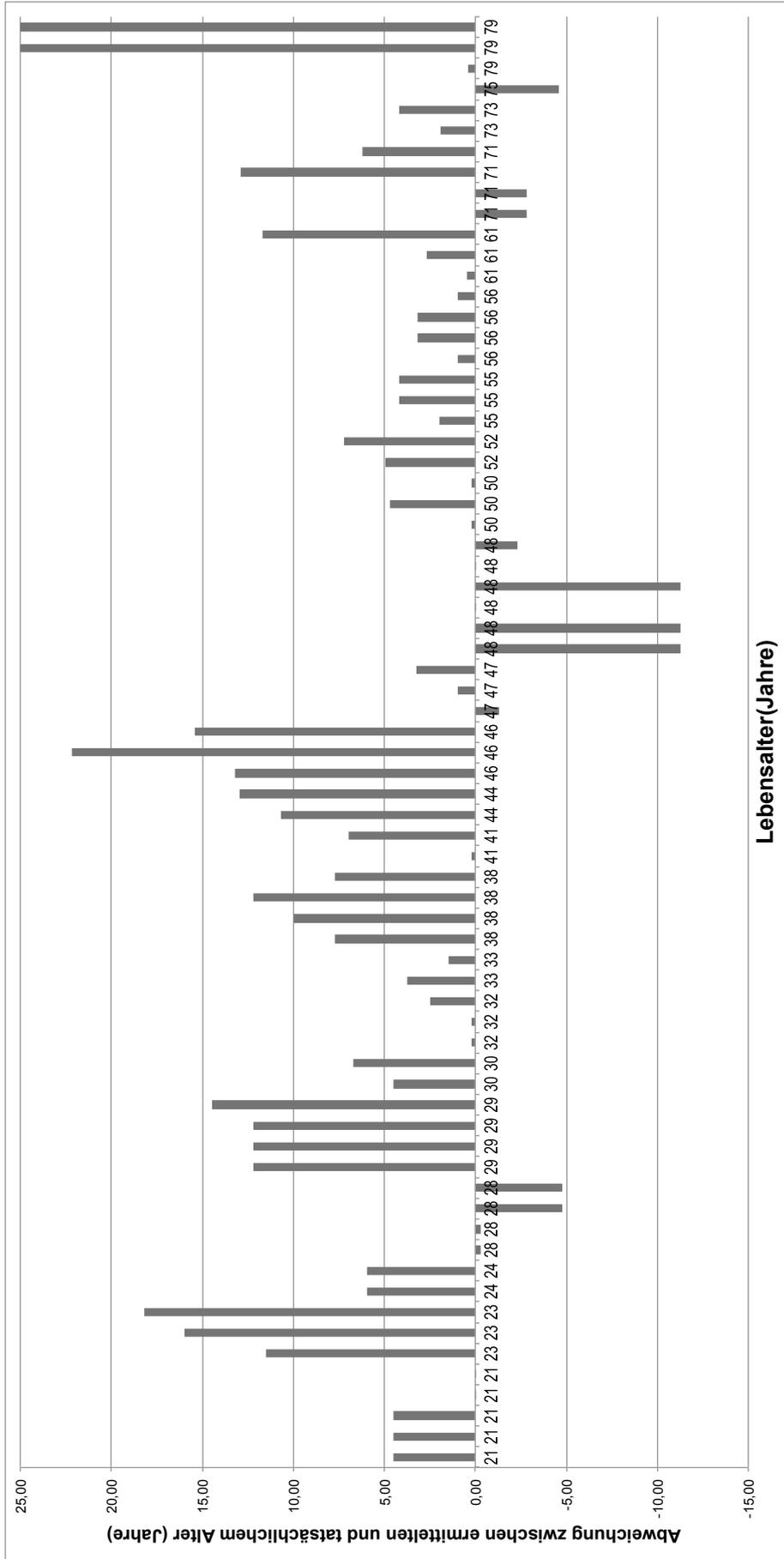
---

Weiter wurde geprüft, ob ein Zusammenhang zwischen Ausmaß und Lokalisation der kariösen Läsion und Qualität der Altersdiagnosen bestand.

Wie aus den Abbildungen 3.2 bis 3.4 ersichtlich wird, zeigte sich kein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Streuung der Analyseergebnisse und der Ausdehnung der kariösen Läsion.

- In den Messergebnissen der Klasse 0 (kariesfrei im analysierten Bereich) fanden sich Abweichungen von bis zu 34,12 Jahren; die geringste Abweichung lag bei -0,01 Jahren (Abbildung 3.2).
- In Messergebnissen der Klasse „a“ (Karies umfasst mehr als 30 % des Quadranten) fanden sich Abweichungen zwischen -0,02 bis 16,15 Jahren (Abbildung 3.3).
- In Messergebnissen der Klasse „b“ (Karies umfasst weniger als 30 % des Quadranten) von bis zu 17,69 Jahren; die geringste Abweichung lag bei -0,01 Jahren (Abbildung 3.4).

Die Abweichungen waren überwiegend positiv, d.h. dass meist ein zu hohes Alter geschätzt wurde.



**Abb. 3.2** Abweichungen zwischen ermittelten und tatsächlichem Alter der Klasse „0“ (Kariesfrei im untersuchten Gebiet). Die Abweichung (in Jahren) der insgesamt 70 Messwerte ist aufgetragen gegen das tatsächliche Lebensalter (in Jahren).

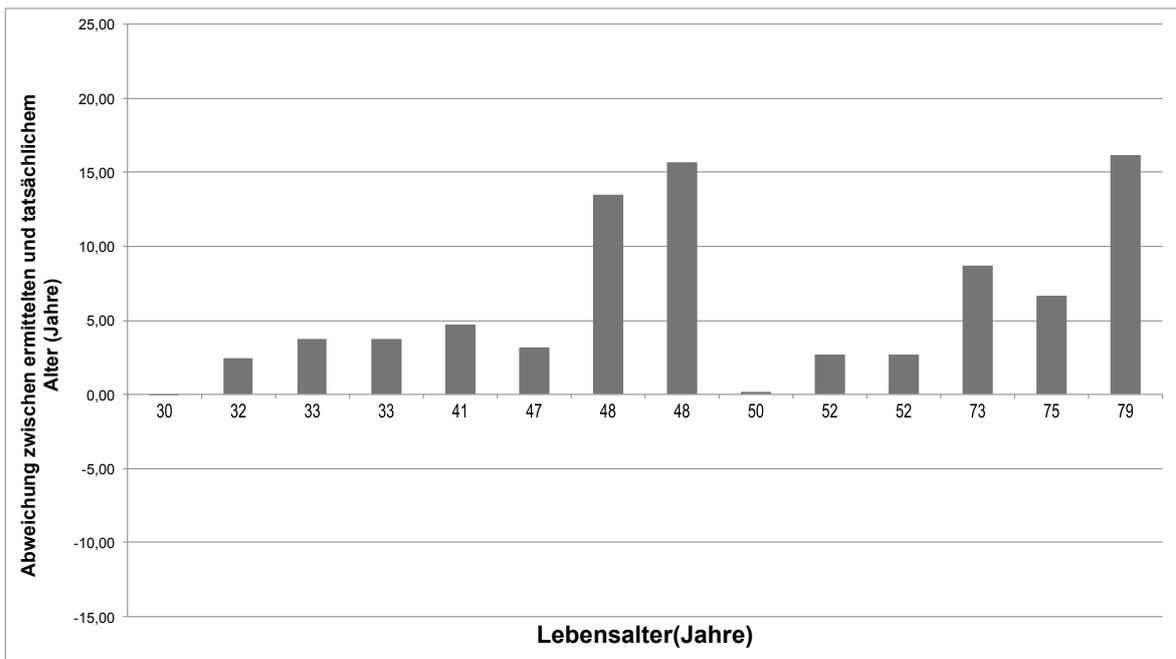


Abb. 3.3

Abweichungen zwischen ermitteltem und tatsächlichem Alter der Klasse „a“ (Karies umfasst mehr als 30 % des Quadranten). Die Abweichung (in Jahren) der insgesamt 14 Messwerte ist aufgetragen gegen das tatsächliche Lebensalter (in Jahren).

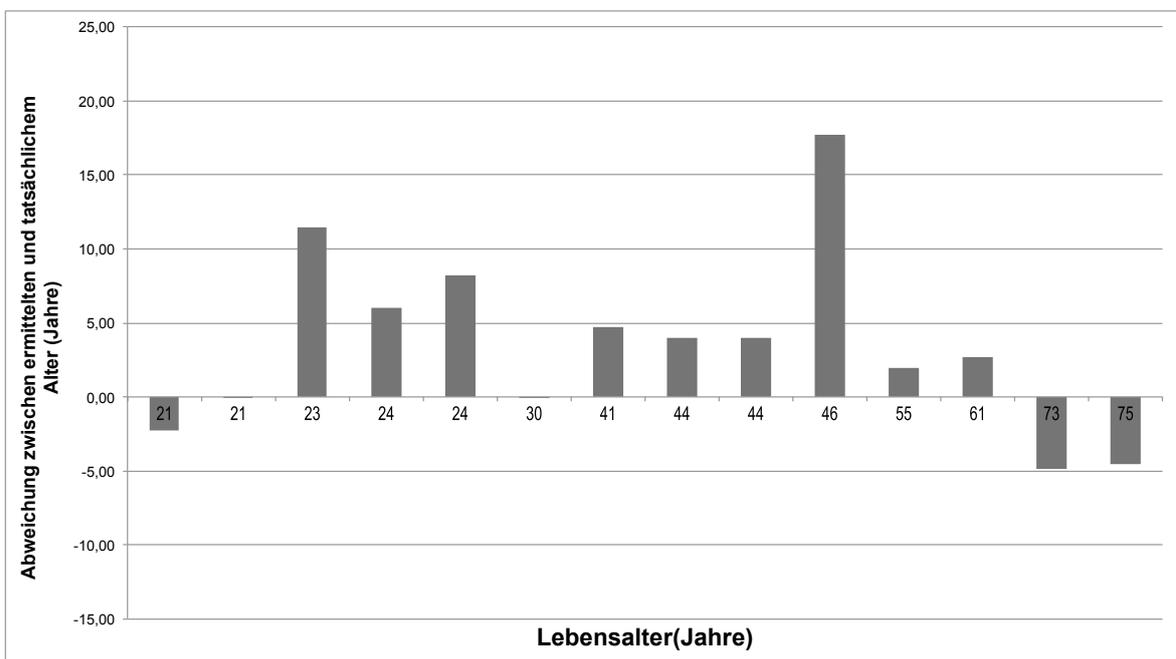


Abb. 3.4

Abweichungen zwischen ermitteltem und tatsächlichem Alter der Klasse „b“ (Karies umfasst weniger als 30 % des Quadranten). Die Abweichung (in Jahren) der insgesamt 14 Messwerte ist aufgetragen gegen das tatsächliche Lebensalter (in Jahren).

## Weitere erhobene Daten

---

Anhand der Tabellen 3.1 - 3.4 soll exemplarisch gezeigt werden, dass die Qualität der Altersschätzung in keinem Zusammenhang zum Ausmaß der festgestellten kariösen Läsionen stand.

Aus Tabelle 3.1 wird ersichtlich, dass der kariöse Zahn mit der Nummer 15 in allen vier Quadranten kariesfrei (Klasse „0“) war. Die Abweichungen zwischen dem aufgrund der Analyseergebnisse ermitteltem und dem tatsächlichen Alter variieren zwischen 12,21 und 14,46 Jahren und liegen damit *außerhalb* des 95 %-Vertrauensintervalls von +/-4 Jahren nach Ritz-Timme (1999). Zahn 15 ist somit ein Beispiel dafür, dass das Dentin eines kariös veränderten Zahnes durch falsch hohe Razemisierungsgrade (und damit vom wahren Dentinealter stark abweichende Altersdiagnosen) zeigen kann, obwohl die analysierte Probe aus einem Dentinbereich ohne makroskopisch sichtbare Karies entnommen wurde (Klasse „0“).

**Tabelle 3.1** Beispielzahn 15: Keine kariöse Läsion (Klasse „0“) in allen Quadranten und dennoch hohe Abweichungen der Altersdiagnose vom wahren Alter

---

Lfd. Nr.	Quadrant	Klasse	Tatsächliches Alter	Ermitteltes Alter	Abweichung (Jahre)
15	I	0	29	41,21	12,21
15	II	0	29	41,21	12,21
15	III	0	29	41,21	12,21
15	IV	0	29	43,46	14,46

---

Der kariöse Zahn Nummer 15 zeigt Kariesfreiheit (Klasse „0“) im kompletten Untersuchungsgebiet, also den Quadranten I bis IV. Das tatsächliche Alter beträgt 29 Lebensjahre. Die Differenz zwischen tatsächlichem und gemessenem Alter liegt in einem Rahmen zwischen 12,21 und 14,46 Lebensjahren.

## Weitere erhobene Daten

---

Aus Tabelle 3.2 ergibt sich ein anderes Bild für den Beispielzahn 25, bei dem ebenfalls alle analysierten Quadranten kariessfrei waren (Klasse „0“) und - im Gegensatz zu dem Fall des Zahnes 15 in Tabelle 3.1 - sehr präzise Altersdiagnose lieferten. Die Abweichungen des gemessenen Alters zum tatsächlichen Alter lagen im Bereich zwischen nur 0,94 bis 3,19 Jahren.

**Tabelle 3.2** Beispielzahn 25: Keine kariöse Läsion (Klasse „0“) in allen Quadranten und sehr gute Ergebnisse der Altersschätzung

---

Lfd. Nr.	Quadrant	Klasse	Tatsächliches Alter	Ermitteltes Alter	Abweichung (Jahre)
25	I	0	56	56,94	0,94
25	II	0	56	59,19	3,19
25	III	0	56	59,19	3,19
25	IV	0	56	56,94	0,94

---

Der kariöse Zahn Nummer 25 zeigt Kariesfreiheit (Klasse „0“) in den Quadranten I bis IV. Das tatsächliche Alter beträgt 56 Lebensjahre. Die Differenz zwischen tatsächlichem und gemessenem Alter liegt zwischen 0,94 bis 3,19 Lebensjahren.

## Weitere erhobene Daten

---

Eine weitere Ergebniskonstellation ist in Tabelle 3.3 für den Beispielzahn 19 dargestellt, der in den Quadranten I und II eine Karies der Klasse „b“ und in den Quadranten III und IV keine Karies, also entsprechend Klasse „0“ aufweist. Die Abweichungen des gemessenen Alters zum tatsächlichen Alter liegen in den Quadranten I und II mit kariösem Dentin (Klasse „b“) bei jeweils 3,96 Jahren. In den kariesfreien Quadranten III und IV liegt die Differenz bei 10,7 und 12,94 Jahren.

**Tabelle 3.3** Beispielzahn 19: Unterschiedlicher Kariesbefall in den Quadranten, unterschiedliche Qualitäten der Altersdiagnose

---

Lfd. Nr.	Quadrant	Klasse	Tatsächliches Alter	Ermitteltes Alter	Abweichung (Jahre)
19	I	b	44	47,96	3,96
19	II	b	44	47,96	3,96
19	III	0	44	54,70	10,70
19	IV	0	44	56,94	12,94

---

Der kariöse Zahn Nummer 19 weist in den Quadranten I und II eine Karies auf, die weniger als 30% des untersuchten Gebiets umfasst (Klasse „b“). Kariesfreiheit (Klasse „0“) liegt in den Quadranten III und IV vor. Das tatsächliche Alter beträgt 44 Lebensjahre. Die Differenz zwischen tatsächlichem und gemessenem Alter liegt bei den kariösen Quadranten I und II bei 3,96 Lebensjahren. Bei den kariesfreien Quadranten III und IV liegt die Abweichung bei 10,7 und 12,94 Lebensjahren.

## Weitere erhobene Daten

---

Tabelle 3.4 beinhaltet die Ergebnisse des kariösen Beispielzahns 23, der in den Quadranten I und II eine Karies der Klasse „a“ und in den Quadranten III und IV die Klasse „0“ aufweist. Obwohl zwei Quadranten also kariesbefallenes Dentin zeigten, lieferten alle Proben präzise Altersdiagnosen; die Abweichungen des gemessenen Alters zum tatsächlichen Alter lagen in den kariesbefallenen Quadranten I und II bei 3,72 Jahren, in den kariesfreien Quadranten III und IV bei 3,72 und 1,47 Jahren.

**Tabelle 3.4** Beispielzahn 23: Unterschiedlicher Kariesbefall in den Quadranten, dennoch hohe Präzision der Altersschätzung

---

Lfd. Nr.	Quadrant	Klasse	Tatsächliches Alter	Ermitteltes Alter	Abweichung (Jahre)
23	I	a	33	36,72	3,72
23	II	a	33	36,72	3,72
23	III	0	33	36,72	3,72
23	IV	0	33	34,47	1,47

---

Der kariöse Zahn Nummer 23 weist in den Quadranten I und II eine Karies auf, die mehr als 30% des untersuchten Gebiets umfasst (Klasse „a“). Kariesfreiheit im untersuchten Gebiet (Klasse „0“) liegt in den Quadranten III und IV vor. Das tatsächliche Alter beträgt 33 Lebensjahre. Die Differenz zwischen tatsächlichem und gemessenem Alter liegt bei den kariösen Quadranten I und II bei 3,72 Lebensjahren. Bei den kariesfreien Quadranten III und IV liegt die Abweichung bei jeweils 3,72 sowie 1,47 Lebensjahren.

### **3.3 Theoretische Spaltung des Kollagens Typ I durch die Matrix Metalloprotease 8 (MMP8), Trypsin und Pepsin**

#### **3.3.1 Methode**

Die theoretische Untersuchung der Kollagendenaturierung bzw. -fragmentierung (Auflösung der Tripelhelix-Struktur) nach Spaltung durch MMP8 erfolgte mit Hilfe der Datenbank „The Universal Protein Resource“ ([www.uniprot.org](http://www.uniprot.org); Collagen alpha-1(I) Kette (human) trägt die Eintragsnummer P02452, hierüber ist u.a. die Aminosäuren-Sequenz des Proteins ablesbar). Die Aminosäuren-Sequenz des humanen Kollagen  $\alpha 1$  (Typ I) wurde abgerufen und aus den Datenbankeinträgen die Angriffsstelle für MMP8 ermittelt. Diese schneidet das Protein zwischen den Aminosäuren Glycin953 und Isoleucin954. Die entstandenen zwei Fragmente (Abbildung 3.5) wurden weiter analysiert und einem weiteren theoretischen Verdau durch Trypsin, Pepsin (pH 1,3 und pH >2,0) zugeführt.

```
MFSFVDLRLLLLLAATALLTHGQEEGQVEGQDEDIIPPITCVQNGRLRYHD
RDVWKPEPCRICVCDNGKVLCDDEVICDETKNCPGAEVPEGECCPVCP
DGSESPTDQETTGVGPKGDTGPRGPRGPAGPPGRDGIPIQGPLPG
PPGPPGPPGPPGLGGNFAPQLSYGYDEKSTGGISVPGPMGPPSGPRGL
PGPPGAPGPQGFQGPPEGEPGASGPMGPRGPPGPPGKNGDDGE
AGKPGRPGERGPPGPQGARGLPGTAGLPGMKGHRGFSGLDGAKGDA
GPAGPKGEPGSPGENGAPGQMGRPLPGERGRPGAPGAPARGND
GATGAAGPPGPTGPAGPPGFPGAVGAKGEAGPQGPRGSEGPQGVV
GEPGPPGAGAAGPAGNPGADGQPGAKGANGAPGIAGAPGFPGARG
PSGPQGGPPGPKGNSGEPGAPGSKGDTGAKGEPGPVGVQGGPPG
PAGEEGKRGARGEPGPTGLPGGGERGGPGSRGFPGADGVAGPKGP
AGERGSPGPAGPKGSPGEAGRPGEAGLPGAKGLTGSPPGPPDGKT
GPPGPAGQDGRPGPPGPPGARGQAGVMGFPGPKGAAGEPGKAGER
GVPGPPGAVGPAGKDGEGAQGGPPGPAGPAGERGEQGPAGSPGFQ
GLPGPAGPPGEAGKPGEQGVPGDLGAPGSPGARGERGFPGERGVQ
GPPGPAGPRGANGAPGNDGAKGDAGAPGAPGSQGAPGLQGMPGER
GAAGLPGPKGDRGDAGPKGADGSPGKDGVRGLTGPIGPPGPAGAPG
DKGESGSPGAPGTGARGAPGDRGEPGPPGPAGFAGPPGADGQPG
AKGEPGDAGAKGDAGPPGPAGPAGPPGPIGNVAPGAKGARGSGAP
PGATGFPGAAGRVGPPGSPGNAGPPGPPGPAGKEGGKGRGETGPA
GRPGEVGGPPGPPGAGEKGGSPGADGPAGAPGTPGPQGIAGQRGVV
GLPGQRGERGFPLPGPSGEPGKQGPSGASGERGPPGPMGPPGLAG
PPGESGREGAPGAEGSPGRDGGSPGAKGDRGETGPAGPPGAPGAPGA
PGPVGPAGKSGDRGETGPAGPTGPVGPVGARGPAGPQGRGDKGET
GEQGDRIKGHGHRGFSGLQGPPGPPGSPGEGQGPSGASGPAGPRGPPG
SAGAPGKDGLNGLPGPIGPPGPRGRTGDAGVPVGGPPGPPGPPGP
PSAGFDFSFLPQQPEKAHDGGRYRADDANVVRDRDLEVDTTLSLS
QQIENIRSPGSRKNPARTCRDLKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCNLDAI
KVFCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHVWFGESMTDG
FQFEYGGQSDPADVAIQLTFLRLMSTEASQNITYHCKNSVAYMDQQT
GNLKKALLLQGSNEIEIRAEGNSRFTYSVTVDGCTSHTGAWGKTVEYK
TTKTSRLPIIDVAPLDVVGAPDQEFGFDVGPVCF
```

Abb. 3.5

Aminosäuren-Sequenz des humanen Kollagen alpha 1 (Typ I) im 1-Buchstaben-Code bestehend aus 1464 Aminosäuren. Die Schnittstelle an der Position „GI“ (G = Glycin, I = Isoleucin) ist quadratisch umrahmt. Fragment 1 (blau) besteht nach Schnitt durch MMP8 aus den Aminosäuren 1-953. Fragment 2 (rot) besteht nach dem Schnitt durch Cystein Cathepsin aktiviertes MMP8 aus den Aminosäuren 954-1464. Die instabilen Verbindungen „DG“ und „NG“ (N = Asparagin, D = Asparaginsäure und G = Glycin) sind grau unterlegt.

### 3.3.2 Ergebnisse

Aus der durch MMP8 induzierten Proteolyse gehen zwei Fragmente des humanen Kollagen  $\alpha 1$  (Typ I) hervor (Abbildung 3.5). Das erste Fragment besteht aus 953 Aminosäuren und das zweite kleinere Fragment umfasst 511 Aminosäuren.

#### 3.3.2.1 Verdau des ersten Fragments der Aminosäuren-Sequenz des humanen Kollagen $\alpha 1$ (Typ I), Aminosäuren 1 - 953

##### 3.3.2.1.1 Verdau durch Trypsin

Bei der theoretischen Proteolyse mittels Trypsin entstehen 71 Schnittstellen. Daraus resultieren 48 kleine Fragmente mit 1 bis 15 Aminosäuren sowie 23 größere Fragmente, mit 16 bis 45 Aminosäuren.

Unter diesen Schnittstellen befinden sich 19 Fragmente (26,8 %), die mindestens eine Sequenzfolge mit Asparagin und Glycin (Asn-Gly bzw. NG) oder mit Asparaginsäure und Glycin (Asp-Gly bzw. DG), so genannte „Hot-Spots“ vorweisen, welche für weitere spontane Aminosäurenmodifikationen besonders anfällig sind.

##### 3.3.2.1.2 Verdau durch Pepsin pH 1,3

42 theoretische Schnittstellen entstehen durch die Proteolyse mittels Pepsin (pH 1,3). Es ergeben sich 25 kleine Fragmente mit 1 bis 15 Aminosäuren und 17 weitere Fragmente mit einer Größe zwischen 21 bis 72 Aminosäurenresten.

13 von 42 Fragmenten (31,0 %) enthalten eine bzw. mehrere „Hot-Spot“-Sequenzfolgen mit Asparagin und Glycin (Asn-Gly bzw. NG) oder mit Asparaginsäure und Glycin (Asp-Gly bzw. DG).

### **3.3.2.1.3 Verdau durch Pepsin pH > 2**

Die Schnittstellen bei der theoretischen Proteolyse mit Pepsin bei pH > 2 belaufen sich auf 47. Sie umfassen 30 kleine Fragmente mit 1 bis 15 Aminosäuren sowie 17 weitere Fragmente mit einer Größe zwischen 21 bis 77 Aminosäuren.

Von den genannten 47 Fragmenten beinhalten 13 Fragmente (27,7 %) eine bzw. mehrere „Hot-Spots“ mit den Sequenzfolgen Asparagin und Glycin (Asn-Gly bzw. NG) oder Asparaginsäure und Glycin (Asp-Gly bzw. DG).

### **3.3.2.2 Verdau des zweiten Fragments der Aminosäuren-Sequenz des humanen Kollagen $\alpha 1$ (Typ I), Aminosäuren 954 - 1464**

#### **3.3.2.2.1 Verdau durch Trypsin**

Die Proteolyse mit Trypsin ergibt 51 Schnittstellen. Es resultieren daraus theoretisch 40 kleine Fragmente zwischen 1 bis 15 Aminosäuren und weitere 11 Fragmente mit einer Größe zwischen 16 bis 38 Aminosäuren.

Von diesen 51 Fragmenten enthalten 5 Fragmente (9,8 %) mindestens einen „Hot-Spot“ mit den Sequenzfolgen Asparagin und Glycin (Asn-Gly bzw. NG) oder Asparaginsäure und Glycin (Asp-Gly bzw. DG).

#### **3.3.2.2.2 Verdau durch Pepsin pH 1,3**

Bei der Proteolyse mit Pepsin (pH 1,3) entstehen 46 theoretische Schnittstellen. Sie bestehen aus 35 kleinen Fragmenten mit weniger als 16 Aminosäuren sowie 11 weiteren Fragmenten mit einer Größe zwischen 16 bis 110 Aminosäuren.

7 von 46 Fragmenten (15,2 %) enthalten je eine Sequenzfolge mit Asparagin und Glycin (Asn-Gly bzw. NG) oder mit Asparaginsäure und Glycin (Asp-Gly bzw. DG).

### 3.3.2.2.3 Verdau durch Pepsin pH > 2

Theoretisch 65 Schnittstellen ergibt die Proteolyse mit Pepsin bei pH > 2. Es resultieren daraus 59 kleine Fragmente von 1 bis 14 Aminosäuren und 6 weitere Fragmente mit einer Größe zwischen 16 bis 110 Aminosäuren.

Hier findet man 6 Fragmente (9,2 %) mit „Hot-Spots“, also mit der Aminosäurefolge Asparaginsäure/ Glycin (Asp-Gly bzw. DG).

## 4 Diskussion

### 4.1 Warum ist die Untersuchung des Einflusses der Folgen von Karies auf die Altersschätzung aufgrund der Razemisierung von Asparaginsäure (AAR) in Dentin wichtig?

Die Lebensaltersschätzung aufgrund des Razemisierungsgrades von Asparaginsäure in Dentin ist eines der präzisesten Verfahren zur Altersschätzung an Erwachsenen (Meissner und Ritz-Timme, 2010; Ohtani, 1995; Ritz-Timme et al., 2000).

Voraussetzung für die Anwendbarkeit dieses Verfahrens ist die Verfügbarkeit geeigneten Untersuchungsmaterials. Bislang fordern einschlägige Vorgaben zur Qualitätssicherung (Ritz-Timme et al., 2000), dass nur gesunde (nicht-kariöse) Zähne analysiert werden dürfen, was die Einsatzmöglichkeiten der Methode natürlich reduziert. Bei Verstorbenen sind kariesfreie Zähne nicht immer vorhanden. Bei Lebenden ist die Indikation für die Extraktion eines Zahns erst dann gegeben, wenn dieser Zahn nicht mehr „erhaltungsfähig“ ist (Oehler, 2009). Weitere Indikationen stellen die prophylaktische Extraktion bei Gefahr für infektiöse Komplikationen (z.B. Zahnsanierung vor Immunsuppression, Radiatio, Chemotherapie etc.) und die kieferorthopädische Extraktion dar (Schwenzer und Ehrenfeld, 2008). Eine Zahnextraktion nur zur Altersschätzung, d.h. ohne medizinische Indikation, wird als problematisch oder gar obsolet angesehen (Ritz und Kaatsch, 1996; Ritz-Timme et al., 2002).

Vor diesem Hintergrund wurde zwar eine standardisierte Methode zur minimalinvasiven in-vivo-Dentinentnahme („Dentinbiopsie“) entwickelt (Ritz et al., 1995); diese hat sich in der Praxis aber als wenig praktikabel erwiesen, weil die erforderliche Standardisierung und Präzision der Probenentnahme sowie deren Qualitätssicherung enorm aufwändig sind.

Werden kariöse Zähne untersucht, ist mit einer höheren Fehlerbreite bei der Altersschätzung aufgrund der AAR zu rechnen. Die festgestellte Tendenz für eine Abweichung der Werte nach oben weist auf eine kariesinduzierte

Proteindegradation als Ursache für die größere Streuung hin. Um die Plausibilität dieser Annahme zu prüfen, stellt sich die Frage, welche Peptidfragmente durch die pathophysiologischen Vorgänge der Kariogenese entstehen könnten und ob eine beschleunigte AAR in diesen Fragmenten zu erwarten wäre.

Physiologischerweise herrscht ein Gleichgewicht zwischen De- und Remineralisation von Schmelz und Dentin (Fiedler, 2009). Die natürliche Mineralisation erfolgt u.a. durch den Speichel, welcher eine übersättigte Kalziumlösung darstellt (Hellwig et al., 2013). Ein irreversibler Substanzverlust erfolgt erst dann, wenn eine unzureichende Remineralisation vorhanden ist oder die Demineralisation länger andauert (Fiedler, 2009). Klont et al. beschrieben 1991, dass nach der Demineralisation der Dentinmatrix diese durchlässig für proteolytische Enzyme ist und somit erst durch die Demineralisation die Proteindegradation der Dentinmatrix erfolgen kann (Klont und ten Cate, 1991). Bisher sind zwei proteolytische Enzyme im Dentin beschrieben, die für die Proteindegradation des Dentinkollagens verantwortlich seien (Kleter et al., 1994; Tang et al., 1973; Tonami und Ericson, 2005): Trypsin ist bei neutralem pH aktiv und Pepsin arbeitet im sauren Milieu (Kleter et al., 1997; Merz, 2011). Allerdings spielt im kariösen Dentin Pepsin eine größere Rolle. Pepsin ist eine Endopeptidase (Aspartatprotease), welche im sauren Milieu (pH Optimum bei pH 2) durch Abgabe von Wasser Peptidbindungen spaltet. Sie kann große Polypeptidketten in Einzelpeptide zerlegen (Tang et al., 1973; Merz, 2011).

Karies induziert Proteindegradation (Kleter et al., 1998) und degradierte „Mutterproteine“ können eine völlig andere Kinetik bei der Razemisierung zeigen als die intakten Ausgangsmoleküle. Kleinere Degradationsfragmente zeigen in der Regel eine beschleunigte Aminosäurenrazemisierung (Collins et al., 1999) sowie Deamidierung (Robinson und Robinson, 2001). Auch Verschiebungen des pH-Wertes könnten die Razemisierungskinetik theoretisch beeinflussen (Geiger und Clarke, 1987).

Im theoretischen Verdau von Kollagen durch die Matrix Metalloprotease 8 (MMP8), Trypsin sowie Pepsin (pH 1,3 und pH > 2) entstehen nach Auflösen der Tripelhelix-Struktur des Kollagens viele (u.a. kleine) Fragmente (s. Kapitel 3.3), die

einzelne oder sogar mehrere instabile Aminosäurenkompositionen, so genannte „Hot-Spots“ (Asn-Gly) enthalten. Diese „Hot-Spots“ zeigen nach Robinson (2002) eine schnellere Deamidierung von Asparaginresten (und damit auch eine Razemisierung der entstandenen Asparaginsäurereste), wenn diese sich nicht mehr in einer dreidimensionalen Struktur wie der Tripelhelix befinden. Es sei darauf hingewiesen, dass es sich bei diesen Untersuchungen um theoretische Modelle handelt, die nicht den tatsächlichen Prozess der Proteindegradation wiedergeben müssen, da diese, vor allem was die Mechanismen der Degradation von Kollagen im Dentin betrifft, noch weitgehend ungeklärt sind (Hedenbjörk Lager, 2014). Weiterhin ist davon auszugehen, dass pH-Werte von 2 sowie 1,3 in vivo nicht zu erwarten sind, um das pH Optimum für das im sauren Milieu arbeitende Pepsin zu erreichen. Das ist u.a. auch der Grund, weshalb Kleter et al. (1997) der Ansicht sind, dass vielmehr Trypsin als Pepsin für die Kollagendegradation im kariösen Dentin verantwortlich ist.

Auch wenn der genaue Mechanismus unklar ist, ist letztlich davon auszugehen, dass es in kariösen Dentinläsionen enzymatisch sowie durch Reduktion des pH-Wertes zur Proteindegradation, also zur Entstehung von z.B. kleineren Kollagenfragmenten kommt (u.a. Kleter et al., 1998). Wegen der geringeren sterischen Behinderung in kleineren Proteinfragmenten razemisieren Aminosäurenreste hier schneller als in großen Proteinen mit komplexer Tertiärstruktur; für degradiertes Kollagen wurde das bereits gezeigt (Collins et al., 2009). Letztendlich ist davon auszugehen, dass in der vorliegenden Arbeit sowohl die größere Streuung der Werte als auch die Tendenz zu höheren Werten im Karieskollektiv Folge der kariesinduzierten Proteindegradation ist.

Konkrete Hinweise auf einen Einfluss von Karies auf die Qualität der Ergebnisse der Lebensaltersschätzung aufgrund der AAR wurden bereits von Tiemeyer (2002) beschrieben. In ihrer Arbeit untersuchte sie die Nutzbarkeit der Razemisierung von Asparaginsäure im Zahnschmelz zur biochemischen Altersschätzung und stellte fest, dass die Analyse von Schmelzproben aus kariös veränderten Zähnen ausnahmslos zu erhöhten AAR-Werten führte – auch wenn die Proben nicht unmittelbar aus der kariösen Läsion entnommen wurden, sondern aus dem umgebenden, makroskopisch unauffälligen (!) Bereich.

Weitere konkrete Hinweise auf eine mögliche Beeinflussung der Präzision der Altersschätzung aufgrund der AAR durch Karies ergeben sich aus den Ergebnissen von Griffin et al. (2008). Diese Gruppe untersuchte die Nutzbarkeit der AAR im säurelöslichen Anteil von Zahnschmelz zur biochemischen Altersschätzung. Zur Untersuchung wurden 31 gesunde und 13 kariöse Zähne herangezogen. Die Autoren verglichen einerseits kariesfreie Schmelzareale von kariösen Zähnen mit Schmelz von gesunden Zähnen verschiedener gleichaltriger Probanden miteinander und andererseits kariesfreie Schmelzareale von kariösen Zähnen mit jenen gesunder Zähne derselben Person. Während die Ergebnisse der gesunden Zähne insgesamt gute Ergebnisse lieferten (Standardabweichung von +/- 6,2 Jahren bei Probanden, die jünger waren als 35 Lebensjahre), wurden im Vergleich von kariösen und gesunden Zähnen wenige, aber signifikante Abweichungen der kariösen Proben festgestellt. Auffallend war allerdings, dass lediglich zwei kariöse Proben nach unten abwichen, die restlichen Ergebnisse wichen, wie bei Tiemeyer (2002), nach oben ab. Sie vertraten deshalb die Auffassung, dass prinzipiell eine biochemische Altersschätzung anhand kariöser Zähne möglich sei, allerdings weitere Untersuchungen über die Auswirkung von kariösen Defekten auf das Ergebnis nötig seien (Griffin et al., 2008).

Letztlich ist vor dem Hintergrund der dargestellten Überlegungen zum Einfluss von Karies auf die AAR in Zahnhartgeweben sowie der publizierten Ergebnisse der Untersuchung von Schmelzproben aus kariös veränderten Zähnen (Tiemeyer, 2002; Griffin et al., 2008) davon auszugehen, dass Karies ebenfalls einen Einfluss auf die Qualität der Altersschätzung aufgrund der AAR in Dentin hat, ohne dass das Ausmaß dieses Einflusses bislang konkret eingeschätzt werden konnte. Damit waren Altersschätzungen an kariesverändertem Dentin in der forensischen Praxis nicht brauchbar. Denn im forensischen Kontext müssen (1.) Altersschätzungen möglichst präzise sein und (2.) die Fehlerbreiten der Methode benannt werden können (Ritz-Timme et al., 2000).

Vor diesem Hintergrund war es für die forensische Praxis wichtig, den Einfluss von Karies auf die Razemisierung von Aminosäuren in Dentin zu untersuchen und das Risiko für eine Verfälschung von Altersdiagnosen zu beschreiben.

### **4.2 Karies *kann* zu unpräzisen Ergebnissen der Altersschätzung aufgrund der Razemisierung von Asparaginsäure (AAR) in Dentin führen - auch wenn makroskopisch unauffälliges Gewebe analysiert wird**

Die durchgeführten Untersuchungen bestätigen, dass Karies die Qualität der Lebensaltersschätzung aufgrund der AAR in Dentin erheblich beeinflussen kann: Während die kariesfreien Zähne des gesunden Zahnkollektivs exzellente Ergebnisse für eine Altersschätzung lieferten (s. Kapitel 3.1), zeigte sich in der Karies-Gruppe eine deutlich größere Streuung der Werte mit einer Tendenz zum Abweichen der Werte nach oben (s. Kapitel 3.2 sowie Sirin et al., 2018a,b). In dieser Gruppe fanden sich Abweichungen der Altersdiagnosen von bis zu 34,12 Jahren (s. Kapitel 3.2.2, Abbildung 3.2), die weit außerhalb des von Ritz-Timme (1999) beschriebenen 95 %-Vertrauensintervalls von +/- 4 Jahren lagen.

Karies kann also über die dargestellten Einflüsse auf die Razemisierungskinetik zu unpräzisen Altersdiagnosen führen. Andererseits lieferten hier zahlreiche der untersuchten kariösen Zähne auch zuverlässige Altersschätzwerte. 43,43 % der TP Werte sowie 44,90 % der NCP Werte im Karies-Kollektiv befanden sich im beschriebenen Vertrauensbereich von +/- 4 Jahren (s. Anlage 2).

Dabei ergab sich allerdings kein klarer Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Streuung der Analyseergebnisse und dem makroskopisch sichtbaren Kariesbefall der analysierten Probe aus kariösen Zähnen (s. Tabellen 3.1, 3.2, 3.3, 3.4 und Sirin et al., 2018a,b). In Proben der Klasse „a“ (Karies umfasst mehr als 30 % des untersuchten Gebiets) gab es unter den NCP-Proben Abweichungen von bis zu 16,15 Jahren. Klasse „b“ (Karies umfasst weniger als 30 % des untersuchten Gebiets) lieferte Abweichungen von bis zu 17,69 Jahren und Klasse 0 (Keine Karies im untersuchten Gebiet) wies sogar Abweichungen von bis zu 34,12 Jahren auf.

Letztlich war der makroskopische Befund am Zahnmaterial also nicht geeignet, die Qualität der Altersschätzung an kariösen Zähnen einzuschätzen. Einerseits führte die Analyse auch stark kariös veränderter Zähne (Klasse a und b) teils zu

zuverlässigen Ergebnissen, andererseits betrafen die größten Abweichungen wider Erwarten Proben aus makroskopisch kariesfreien Regionen primär kariöser Zähne (s. Kapitel 3 und Sirin et al., 2018a,b). Ganz offenbar führt Karies also auch in vom Zentrum der Läsion entfernten, makroskopisch unauffälligen Dentinarenalen zu so erheblichen molekularen Veränderungen (Proteindegradation), dass sich die Kinetik der Razemisierung von Asparaginsäure als Folge einer „Fernwirkung“ der Karies ändern kann.

### **4.3 Schlussfolgerungen**

Letztendlich war das Ziel der vorliegenden Arbeit, die Klärung der rechtsmedizinischen Frage, ob für die biologische Altersschätzung kariöse Zähne verwendet werden können. Allerdings sind die erhobenen Ergebnisse auch im klinischen Kontext der Zahnmedizin interessant.

#### **4.3.1 Auffällige AAR-Werte auch in makroskopisch kariesfreiem Dentin: Klinische Implikationen?**

Die festgestellten, meist abnorm hohen AAR-Werte auch in weit entfernt von der eigentlichen kariösen Läsion gelegenen und makroskopisch unauffälligen Proben deuten auf eine für den klinischen Untersucher nicht sichtbare „Fernwirkung“ der Karies auf molekularer Ebene hin. Daraus ergibt sich die Hypothese, dass klinische Probleme wie Sekundärkaries, die – unabhängig von der Art der Restauration - als häufigste Ursache für das Misslingen von Restaurationen gilt (Mjör et al., 2002, Tsotsoria, 2012), in Zusammenhang mit makroskopisch unsichtbaren, molekularen Folgen der primären Karies zu stehen scheinen.

Kuboki et al. (1977) fanden keinen Unterschied in der summarischen Aminosäurenkomposition im gesunden Dentin sowie in den zwei Schichten von kariösem Dentin (innere und äußere Schicht) (Kuboki et al., 1977; Marshall et al., 1997). Allerdings wurde eine signifikante Veränderung der Quervernetzungs-komponenten des Kollagens in den zwei kariösen Schichten und im gesunden Dentin festgestellt (Armstrong, 1964; Kuboki et al., 1977). Dies ist als deutlicher Hinweis auf Proteindegradation in beiden Schichten zu werten.

Peschel (2008) zeigte, dass die Dentintubuli der äußeren Dentinschicht in kariösen Läsionen mit Bakterien besiedelt und das peritubuläre Dentin sogar vollständig aufgelöst war. Aufgrund dieser irreparablen Destruktion der Kollagenstruktur samt Quervernetzungs-komponenten sei keine Remineralisation mehr möglich (Kuboki et al., 1977; Peschel, 2008).

Aus diesen Studien lässt sich folgern, dass Karies zu deutlich umfassenderer Proteindegradation führt als der makroskopische, klinische Befund es indiziert. Die auffallend hohen AAR-Werte im Karies-Kollektiv belegen diese Annahme; hier hat die kariesbedingte Proteindegradation offenbar zu einer Beschleunigung der Razemisierung von Asparaginsäure auch in Dentinarenalen geführt, die morphologisch unauffällig waren.

Wenn also eine signifikante Schädigung auch makroskopisch unauffälligen Dentins auf molekularer Ebene als „Fernwirkung“ kariöser Läsionen angenommen werden kann, stellt sich die Frage, wie dieses Phänomen klinisch zu adressieren ist, um die Entfernung kariösen Gewebes auch im „molekular Gesunden“ zu erreichen.

Klinisch erfolgt die Entfernung einer Karies für den behandelnden Zahnarzt immer subjektiv visuell (Farbe) und taktil (Härte). Die am häufigsten verwendete Methode zur Kariesexkavation stellt noch immer die Benutzung eines Hartmetall-Rosenbohrers dar (Kunzelmann und Koch, 2011). Die Kontrolle nach Entfernen der aktiven weichen Karies erfolgt dann in der Regel mithilfe einer Sonde. Diese „klirrt“ beim Streichen über das Dentin („cri dentaire“) und impliziert die Kariesfreiheit (Kunzelmann und Koch, 2011). Allerdings wird ebenfalls beschrieben, dass die Sondengeometrie sowie der Anpressdruck das Ergebnis beeinflussen kann, weshalb es zu großen individuellen Schwankungen kommen kann (Anderson und Charbeneau, 1985; Kielbassa et al., 1994; Kunzelmann und Koch, 2011).

Faktisch wird die Intaktheit des Dentins mit oben dargestellter klinischer Untersuchungstechnik „nur“ über die feststellbare Härte überprüft, es wird also nur der Mineralisationsstatus erfasst, der zwar in Beziehung zur Schwere der Gewebsschädigung steht, aber nicht in unmittelbarem Zusammenhang mit Veränderungen auf der Proteinebene stehen muss - was bedeutet, dass auch klinisch hartes Dentin proteolytisch geschädigt sein kann. Es wurde bereits darauf hingewiesen, dass die Konsistenz des Dentins nicht direkt mit der Eindringtiefe der Bakterien und der Kollagen denaturierung korreliert, sondern mit der Demineralisierung des Dentins (Peschel, 2008).

Die vorgelegten Daten zur Razemisierung von Asparaginsäure belegen eindrucksvoll, dass der visuelle und taktile klinische Befund nicht ausreichend ist, um zu erkennen, ob bis zum (molekular) gesunden Gewebe präpariert wird; auch klinisch unauffälliges Gewebe kann auf molekularer Ebene bereits erheblich durch Proteindegradation geschädigt sein. Dadurch dürfte es unweigerlich in der Praxis nicht selten zu einer funktionellen Über- oder Unterexkavation kommen. Dieses Problem ließe sich nur lösen, wenn neben einer klinischen Beurteilung auch eine Beurteilung auf molekularer Ebene erfolgen könnte. Zahlreiche Forschungsgruppen arbeiten derzeit an der Entwicklung einer Problemlösung (Almahdy, 2015; Cebe et al., 2016; Erhardt et al., 2008; Hamama et al., 2014, 2015; Hannas et al., 2016; Hedenbjörk et al., 2016; Kumar et al., 2016; Mazzoni et al., 2015; Medioni et al., 2016; Schwendicke et al., 2013). Eine vielversprechende Möglichkeit, scheint für diese Arbeitsgruppen die Entwicklung eines Matrix Metalloproteinase-Inhibitors auf molekularer Ebene zu sein, die allerdings in vivo derzeit nicht praktikabel ist. Die Entwicklung von klinisch einsetzbaren Indikatoren für die Proteindegradation wäre wünschenswert.

### **4.3.2 Fazit für die rechtsmedizinische Praxis**

Der Befund, dass Proteindegradation auch in klinisch unauffälligem Gewebe vorliegen kann, ist auch für die biochemische Altersschätzung von großer Bedeutung. Bei der Untersuchung kariöser Zähne muss mit (in seltenen Fällen auch erheblichen) Verfälschungen der Altersdiagnose (insbesondere nach oben) gerechnet werden; eine großzügige Präparation mit der Entnahme makroskopisch unauffälligen Dentins in Abstand zur ursprünglichen kariösen Läsion löst dieses Problem eben nicht.

Deshalb sollten möglichst kariesfreie Zähne zur Altersschätzung aufgrund der AAR in Dentin eingesetzt werden. In Fällen, in denen ausschließlich kariöse Zähne zur Verfügung stehen, sollten möglichst zwei oder mehr Zähne eines Probanden in die Analytik aufgenommen werden. Kariesinduzierte Abweichungen der Altersdiagnosen würden mit höchster Wahrscheinlichkeit (bei unterschiedlich hohem Ausmaß der Proteindegradation von Zahn zu Zahn) unterschiedliche Werte induzieren, deren Diskrepanz auf die Verfälschung hinweisen würde.

## 5 Literatur- und Quellenverzeichnis

Almahdy A, Koller G, Festy F, Bartsch JW, Watson TF, Banerjee A (2015): An MMP-inhibitor modified adhesive primer enhances bond durability to carious dentin. *Dental Materials* 31(5):594-602

Anderson MH, Charbeneau GT (1985): A comparison of digital and optical criteria for detecting carious dentin. *The Journal of prosthetic dentistry*, 53(5):643-646

Angenendt, S (1997): Migration und Flucht : Aufgaben und Strategien für Deutschland, Europa und die internationale Gemeinschaft. Steffen Angenendt (Hrsg.), 1. Auflage, Bundeszentrale für Politische Bildung

Arbeitsgemeinschaft für Forensische Altersdiagnostik der Deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin (<https://campus.uni-muenster.de/agfad/empfehlungen/>, Stand 17.08.2017)

Armstrong WG (1964): Modifications of the properties and composition of the dentin matrix caused by dental caries. *Adv Oral Biol* 1:309-32

Arnold WH (2006): Mikromorphologie und Molekularbiologie der Dentinogenese und Amelogenese. Deutscher Ärzte-Verlag, Köln *Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift* Ausgabe 61:524-534

<http://www.asylgesetz.de/§/12-handlungsfahigkeit.html>, Stand 24.08.2017

Bada JL, Schroeder RA (1975): Amino Acid Racemization Reactions and their Geochemical Implications. *Naturwissenschaften* 62:71-79

Bada JL, Schroeder RA (1976): A review of the geochemical applications of the amino acid racemization reaction. *Earth-Science Reviews* 12.4:347-391

Barber JR, Clarke S (1983): Membrane Protein Carboxyl Methylation Increases with Human Erythrocyte Age. *J Biol Chem* 258:1189-1196

Brunauer L, Clarke S (1986): Age-dependent Accumulation of Protein Residues which can be Hydrolyzed to D-Aspartic Acid in Human Erythrocytes. *J Biol Chem* 261:12538-12543

Bundesministerium des Innern (2016): Migrationsbericht 2015 des Bundesamtes für Migration und Flüchtlinge im Auftrag der Bundesregierung

Butler WT (1995): Dentin Matrix Proteins and Dentinogenesis. *Connective Tissue Research* 33:381-387

Cebe MA, Ozturk B, Sirin Karaarslan E (2016): Effect of caries removal techniques on bond strength to caries affected dentin on gingival wall: AFM observation of dentinal surface. *Journal of Adhesion Science and Technology*

30(2):157-170

Chaussain-Miller C, Fioretti F, Goldberg M, Menashi S (2006): The Role of Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Human Caries. *J dent Res* 85 (1):22-32

Clarke S (1987): Propensity for spontaneous succinimide formation from aspartyl and asparaginyl residues in cellular proteins. *Int J Peptide Protein Res* 30:808-821

Carter WG, Aswad DW (2008): Formation, Localization, and Repair of L-Isoaspartyl Sites in Histones H2A and H2B in Nucleosomes from Rat Liver and Chicken Erythrocytes. *Biochemistry* 47:10757-10764

Collins MJ, Penkman KEH, Rohlan N, Shapiro B, Dobberstein RC, Ritz-Timme S, Hofreiter M (2009): Is amino acid racemisation a useful tool for screening for ancient DNA in bone? *Proc R Soc B* 276:2971-2977

Collins MJ, Waite ER, van Duin ACT (1999): Predicting protein decomposition: the case of aspartic-acid racemization kinetics. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 354:51-64

Dobberstein RC, Tung SM, Ritz-Timme S (2009): Aspartic Acid racemization in purified elastin from arteries as basis for age estimation. *Int J Legal Med* 124(4):269-275

Erhardt MCG, Osorio R, Toledano M (2008): Dentin treatment with MMPs inhibitors does not alter bond strengths to caries-affected dentin. *Journal of dentistry* 36(12):1068-1073

Fiedler T (2009): Der Einfluss von Zahnrestorationen auf die Entstehung von Karies an bestrahltem Schmelz und Dentin. (Diss.) Halle-Wittenberg

Garner WH, Spector A (1978): Racemization in human lens: Evidence of rapid insolubilization of specific polypeptides in cataract formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:3618-3620

Geiger T, Clarke S (1987): Deamidation, Isomerization, and Racemization at Asparaginyl and Aspartyl Residues in Peptides. *J Biol Chem* 262:785-794

[https://www.gesetze-im-internet.de/jgg/\\_\\_\\_1.html](https://www.gesetze-im-internet.de/jgg/___1.html), Stand 15.03.2018

[https://www.gesetze-im-internet.de/stgb/\\_\\_\\_19.html](https://www.gesetze-im-internet.de/stgb/___19.html), Stand 15.02.2018

Griffin RC, Moody H, Penkman KEH, Collins MJ (2008): The application of amino acid racemization in the acid soluble fraction of enamel to the estimation of the age of human teeth. *Forensic Science International* 175 (1):11-16

Groenen PJTA, van den Ijssel PRLA, Voorter CEM, Bloemendal H, de Jong WW (1990): Site-specific racemization in aging aA-crystallin. *FEBS Letters* 269:109-112

Hamama HHH, Yiu CKY, Burrow MF **(2014)**: Current update of chemomechanical caries removal methods. Australian dental journal, 59(4):446-456

Hamama HHH, Yiu CKY, Burrow MF, King NM **(2015)**: Systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials on chemomechanical caries removal. Operative dentistry, 40(4):167-178

Hannas AR, Kato MT, Cardoso CDAB, Magalhães AC, Pereira JC, Tjäderhane L, Buzalaf MAR **(2016)**: Preventive effect of toothpastes with MMP inhibitors on human dentine erosion and abrasion in vitro. Journal of Applied Oral Science 24(1):61-66

Hannas AR, Pereira JC, Granjeiro JM, Tjäderhane L **(2007)**: The role of matrix metalloproteinases in the oral environment. Acta Odontologica Scandinavica 65(1):1-13

Hedenbjörk Lager, A **(2014)**: Dentine Caries: Acid-Tolerant Micro-Organisms And Aspects On Collagen Degradation. Swedish Dental Journal 233 (Diss) Malmö University, Sweden

Hedenbjörk-Lager A, Hamberg K, Pääkkönen V, Tjäderhane L, Ericson D **(2016)**: Collagen degradation and preservation of MMP-8 activity in human dentine matrix after demineralization. Archives of oral biology 68:66-72

Helfman PM, Bada JL **(1975)**: Aspartic acid racemization in tooth enamel from living humans. Proc Nat Acad Sci USA 72:2891-2894

Helfman PM, Bada JL **(1976)**: Aspartic acid racemization in dentine as a measure of ageing. Nature Vol. 262:279-281

Helfman PM, Bada JL **(1977)**: Aspartic Acid Racemization in the human lens during ageing and in cataract formation. Nature Vol. 268:71-73

Hellwig E, Klimek J, Attin T **(2013)**: Einführung in die Zahnerhaltung. 6. Auflage, Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln

Horton HR, Moran LA, Gray Scrimgeour K, Perry MD, Rawn JD **(2008)**: Biochemie. 4. Auflage. Verlag Pearson Studium, Hallbergmoos

International Caries Detection and Assessment System (<https://www.iccms-web.com/content/icdas>, Stand 15.03.2018)

Kielbassa A, Attin T, Hellwig E **(1994)**: Der Einsatz des Kariesdetektors als diagnostisches Hilfsmittel bei der Therapie der Caries profunda. Endodontie 3:207-215

Kimber RWL, Hare PE **(1992)**: Wide range of racemization of amino acids in peptides from human fossil bone and its implications for amino acid racemisation dating. Geochim Cosmochim Acta 56:739-743

Kleter GA, Damen JJM, Everts V, Niehof, ten Cate JM **(1994)**: The influence of the organic matrix on demineralization of bovine root dentin in vitro. *Journal of Dental Research* 73:1523-1529

Kleter GA, Damen JJM, Buijs MJ, Ten Cate JM **(1998)**: Modification of Amino Acid Residues in Carious Dentin Matrix. *J Dent Res* 77 (3):488-495

Kleter GA, Damen JJM, Buijs MJ, ten Cate JM **(1997)**: The Maillard reaction in demineralized dentin in vitro. *European Journal of Oral Sciences* 105:278-284

Klont B, Ten Cate JM **(1991)**: Remineralization of bovine incisor root lesions in vitro: the role of the collagenous matrix. *Caries research* 25(1):39-45

Klumb K, Matzenauer C, Reckert A, Lehmann K, Ritz-Timme S **(2016)**: Age estimation based on aspartic acid racemization in human sclera. *Int J Legal Med* 130:207-211

Kuboki Y, Ohgushi K and Fusuyama T **(1977)**: Collagen biochemistry of the two layers of carious dentin. *J Dent Res* 56:1233-1237

Kühn, K **(1974)**: Struktur und Biochemie des Kollagens. *Chemie in unserer Zeit* 8:97-103

Kumar KS, Prasad MG, Sandeep RV, Reddy SP, Divya D, Pratyusha K **(2016)**: Chemomechanical caries removal method versus mechanical caries removal methods in clinical and community-based setting: A comparative in vivo study. *European journal of dentistry* 10(3):386

Kunzelmann KH, Koch JH **(2011)**: Kariesexkavation: Neue Erkenntnisse und selbstlimitierende Methoden. *zm* 101, Nr. 13 A

Laumeier I **(2004)**: Intravitale Razemisierung von Asparaginsäure in Elastin: Grundlagenwissenschaftliche Aspekte und forensische Nutzbarkeit zur Lebensaltersschätzung (Diss.). Kiel

Löffler G **(2014)**: Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie. In: Heinrich PC, Müller M, Graeve L (Hrsg.) *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*, 9. Auflage, Springer Medizin Verlag, Heidelberg

Lowenson J, Clarke S **(1988)**: Does the chemical instability of aspartyl and asparaginyl residues in proteins contribute to erythrocyte aging? *Blood Cells* 14(1):103-118

MacDougall M, Simmons D, Luan X, Nydegger J, Feng J, Gu TT **(1997)**: Nucleic Acids, Protein Synthesis, and Molecular Genetics: Dentin Phosphoprotein and Dentin Sialoprotein Are Cleavage Products Expressed from a Single Transcript Coded by a Gene on Human Chromosome 4: Dentin Phosphoprotein DNA Sequence Determination. *J Biol Chem* 272:835-842

Märten A (2010): Dreidimensionale Charakterisierung der Mikrostruktur des Dentins. Südwestdeutscher Verlag für Hochschulschriften, Saarbrücken

Maroudas A, Stockwell RA, Nachemson A, Urban J (1975): Factors involved in nutrition of the human lumbar intervertebral disc: cellularity and diffusion of glucose in vitro. *J Anat* 120:113-130

Marshall Jr. GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M (1997): The dentin substrate: structure and properties related to bonding. *Journal of Dentistry* 25:441-487

Masters PM (1986): Age at death determinations for autopsied remains based on aspartic acid racemization in tooth dentin: Importance of postmortem conditions. *Forensic Sci Int* 32:179-184

Masters PM (1983): Stereochemically altered noncollagenous protein from human dentine. *Calcif Tissue Int* 35:43-47

Masters PM, Bada JL, Zigler Jr. JS (1978): Aspartic acid racemization in heavy molecular weight crystallins and water-insoluble protein from normal human lenses and cataracts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 75:1204-1208

Matzenauer C, Reckert A, Ritz-Timme S (2014): Estimation of age at death based on aspartic acid racemization in elastic cartilage of the epiglottis. *Int J Legal Med* 128:995-1000

Mazzoni A, Tjärdehane L, Checchi V, Di Lenarda R, Salo T, Pashley DH, Breschi (2015): Role of Dentin MMPs in Caries Progression and Bond Stability. *Journal of Dental Research* 94(2):241-251

Medioni E, Rocca JP, Fornaini C, Merigo E (2016): Histological evaluation of three techniques for caries removal. *Journal of oral science* 58(4):583-589

Meissner C, Ritz-Timme S (2010): Molecular pathology and age estimation. *Forensic Science International* 203:34-43

Merz JM (2011): Die Degradation der organischen Dentinmatrix durch Pepsin unter erosiven Bedingungen in vitro. (Diss.) Gießen, Marburg

Mjör I (2002): *Pulp-Dentin Biology in Restorative Dentistry*. Quintessenz Verlag, Berlin

Oehler K (2009): *Der Zahnarzt in der Wirtschaftlichkeitsprüfung*. 3. Auflage, Deutscher Zahnärzte Verlag, Köln

Ohtani S (1995): Estimation of age from dentin by using the racemization reaction of aspartic acid. *Am J Forensic Med Pathol* 16:158-161

Ohtani S (1995): Estimation of age from the teeth of unidentified corpses using the amino acid racemization method with reference to actual cases. *Am J*

Forensic Med Pathol 16:238-242

Ohtani S (**1995**): Studies on age estimation using racemization of aspartic acid in cementum. J Forensic Sci 40:805-807

Ohtani S, Sugimoto H, Sugeno H, Yamamoto S, Yamamoto K (**1995**): Racemization of aspartic acid in human cementum with age. Archs Oral Biol 40:91-95

Ohtani S, Yamamoto T (**2005**): Strategy for the Estimation of Chronological Age Using the Aspartic Acid Racemization Method with Special Reference to Coefficient of Correlation Between D/L Ratios and Ages. J Forensic Sci 50:1-7

Peschel T (**2008**): Biochemische Analyse des residualen Dentins nach selektiver Kariesentfernung mit einem fluoreszenzgesteuerten Er:YAG Laser (Diss.) Bonn

Pfeiffer H, Mörnstad H, Teivens A (**1995**): Estimation of chronologic age using the aspartic acid racemization method. I. On human rib cartilage. Int J Legal Med 108:19-23

Pfeiffer H, Mörnstad H, Teivens A (**1995**): Estimation of chronologic age using the aspartic acid racemization method. II. On human cortical bone Int J Legal Med 108: 24-26

Powell JT, Vine N, Crossman M (**1992**): On the accumulation of D-aspartate in elastin and other proteins of the ageing aorta. Atherosclerosis 97:201-208

Reissner KJ, Aswad DW (**2003**): Deamidation and isoaspartate formation in proteins: unwanted alterations or surreptitious signals? CMLS, Cell Mol Life Sci 60:1281-1295

Reissner KJ, Paranandi MV, Luc TM, Doyle HA, Mamula MJ, Lowenson JD, Aswad DW (**2006**): Protein Synthesis, Post-Translation Modification, and Degradation: Synapsin I Is a Major Endogenous Substrate for Protein L-Isoaspartyl Methyltransferase in Mammalian Brain. J Biol Chem 281:8389-8398

Ritz S, Kaatsch HJ (**1996**): Methoden der Altersbestimmung an lebenden Personen: Möglichkeiten, Grenzen, Zulässigkeit und ethische Vertretbarkeit. Rechtsmedizin, 6:171-176

Ritz S, Schütz HW (**1993**): Aspartic acid racemization in intervertebral discs as an aid to postmortem estimation of age at death. J Forensic Sci 38:633-640

Ritz S, Schütz HW, Peper C (**1993**): Postmortem estimation of age at death based on aspartic acid racemization in dentin: its applicability for root dentin. Int J Legal Med 105:289-293

Ritz S, Stock R, Schütz HW, Kaatsch HJ (**1995**): Age estimation in biopsy specimens of dentin. Int J Legal Med 108:135-139

Ritz S, Turzynski A, Schütz HW (1994): Estimation of age at death based on aspartic acid racemization in noncollagenous bone proteins. *Forensic Sci Int* 69:149-159

Ritz S, Turzynski A, Schütz HW, Hollmann A, Rochholz G (1996): Identification of osteocalcin as a permanent aging constituent of the bone matrix: basis for an accurate age at death determination. *Forensic Sci Int* 770:13-26

Ritz-Timme S (1997): Nutzbarkeit der in-vivo-Razemisierung von Asparaginsäure zur Lebensaltersschätzung. (Habil.), Kiel

Ritz-Timme S (1999): Lebensaltersbestimmung aufgrund des Razemisierungsgrades von Asparaginsäure. Grundlagen, Methodik, Möglichkeiten, Grenzen, Anwendungsbereiche. In: Berg, S., Brinkmann, B. (Hrsg.) *Arbeitsmethoden der medizinischen und naturwissenschaftlichen Kriminalistik*, Band 23. Schmidt-Römhild, Lübeck

Ritz-Timme S, Cattaneo C, Collins MJ, Waite ER, Schütz HW, Kaatsch HJ, Borrmann HIM (2000): Age estimation: The state of the art in relation to the specific demands of forensic practise. *Int J Legal Med* 113:129-136

Ritz-Timme S, Collins MJ (2002): Racemization of aspartic acid in human proteins. *Ageing research reviews* 1:43-59

Ritz-Timme S, Laumeier I, Collins MJ (2003): Age estimation on aspartic acid racemization in elastin from the yellow ligaments. *Int J Legal Med* 117:96-101

Ritz-Timme S, Laumeier I, Collins MJ (2003): Aspartic acid racemization: evidence for marked longevity of elastin in human skin. *Brit J Derm* 149:951-959

Ritz-Timme S, Rochholz G, Schütz HW, Collins MJ, Waite ER, Cattaneo C, Kaatsch HJ (2000): Quality assurance in age estimation based on aspartic acid racemisation. *Int J Legal Med* 114:83-86

Ritz-Timme S, Rochholz G, Stammert R, Ritz HJ (2002): Biochemische Altersschätzung. Zur Frage genetischer und soziokultureller (ethnischer) Einflüsse auf die Razemisierung von Asparaginsäure in Dentin. *Rechtsmedizin* 12:203-206

Robinson NE (2002): Protein deamidation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99(8):5283-5288

Robinson NE, Robinson AB (2001): Deamidation of human proteins. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(22):12409-12413

Robinson NE, Robinson AB (2001): Prediction of protein deamidation rates from primary and three-dimensional structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98(8):4367-4372

Schwendicke F, Dörfer CE, Paris S **(2013)**: Incomplete caries removal: a systematic review and meta-analysis. *Journal of dental research* 92(4):306-314

Schwenzer N, Ehrenfeld M **(2008)**: Zahnärztliche Chirurgie. 4. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

Shapiro SD, Endicott SK, Province MA, Pierce JA, Campbell EJ **(1991)**: Marked Longevity of Human Lung Parenchymal Elastic Fibers Deduced from Prevalence of D-Aspartate and Nuclear Weapons-related Radiocarbon. *J Clin Invest* 87:1828-1834

Sirin N, Matzenauer C, Reckert A, Ritz-Timme S **(2018a)**: Age estimation based on aspartic acid racemization in dentine: What about caries-affected teeth? *Int J Leg Med* 132:623-628

Sirin N, Reckert A, Ritz-Timme S **(2018b)**: Reply to the letter by Kumar and Kanchan „Age estimation based on aspartic acid racemization in caries-affected teeth: need for further explorations“ *Int J Leg Med* DOI 10.1007/s00414-018-1837-1

<http://www.sozialgesetzbuch-sgb.de/sgbvi/235.html>, Stand 15.03.2018

Stephenson RC, Clarke S **(1989)**: Succinimide Formation from Aspartyl and Asparaginyl tides as a Model for the Spontaneous Degradation of Proteins. *J Biol Chem* 11:6164-6170

Sulkala M, Tervahartiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L **(2007)**: Matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. *Archives of oral biology* 52:121-127

Tang J, Lanier JP, Liu D, Huang WY, Chen K, Marcinişzyn J, Sepulveda P, Tao N **(1973)**: Amino-acid sequence of porcine pepsin. *Proc Natl Acad Sci USA* 70:3437-3439

Tjäderhane L, Larjava H, Sorsa T, Uitto VJ, Larmas M, Salo T **(1998)**: The activation and function of host matrix metalloproteinases in dentin matrix breakdown in caries lesions. *Journal of dental research* 77(8):1622-1629

Tjäderhane L, Nascimento FD, Breschi L, Mazzoni A, Tersariol IL, Geraldini S, Pashley DH **(2013)**: Optimizing dentin bond durability: control of collagen degradation by matrix metalloproteinases and cysteine cathepsins. *Dental Materials* 29(1):116-135

Tiemeyer H **(2002)**: Razemisierung Von Asparaginsäure in Schmelzproteinen: : Forensische Nutzbarkeit zur biochemischen Lebensaltersschätzung und grundlagenwissenschaftliche Aspekte. (Diss.) Kiel

Tonami KI, Ericson D **(2005)**: Protein profile of pepsin-digested carious and sound human dentine. *Acta Odontol Scand* 63:17-20

Traub W, Piez KA (1971): The chemistry and structure of collagen. Advances in protein chemistry 25:243-352

Tsotsoria M (2012): De- und Remineralisation von Zahnhartsubstanz unter Anwesenheit von antibakteriellen Füllungswerkstoffen (Untersuchungen in einem biofilmbasierten In-vitro-Kariesmodell). (Diss.) München

<http://uniprot.org/uniprot/Q9NZW4>, Stand 15.03.2018

Vigneswara V, Lowenson JD, Powell CD, Thakur M, Bailey K, Clarke S, Ray DE, Carter WG (2006): Proteomic Identification of Novel Substrates of a Protein Isoaspartyl Methyltransferase Repair Enzyme. J Biol Chem 281:32619-32629

Wefel, JS (1994): Root caries histopathology and chemistry. American journal of dentistry 7.5:261-265

Zeeck A (2014): Chemie für Mediziner. 9. Auflage, Urban & Elsevier GmbH, München

Zhu JX, Doyle HA, Mamula MJ, Aswad DW (2006): Mouse Brain Protein L-Isoaspartyl Methyltransferase in Analysis of Endogenous Substrates for Protein Repair in the Brain, Proteomic Modification, and Degradation: Protein Synthesis, Post-Translation J Biol Chem 281:33802-33813

Schriftliche Angaben des Bundeskriminalamtes, welche in der vorliegenden Arbeit verwendet wurden:

**Von:** xxx.Nxxx@bka.bund.de im Auftrag von Oeffentlichkeitsarbeit@bka.bund.de <Oeffentlichkeitsarbeit@bka.bund.de>

**Gesendet:** Montag, 15. Mai 2017 16:30

**An:** nazansirin@outlook.com

**Betreff:** Ihre Anfrage zur Anzahl nicht identifizierter Leichen, 2017-0009839940

Sehr geehrte Frau Sirin,

[...]

Zu Ihrer Fragestellung:

Mit Stand von heute (15.05.2017) sind im Bundeskriminalamt insgesamt 3.589 nicht identifizierte Leichen registriert; hiervon 1.335 nicht identifizierte Leichen in Deutschland.

Ich hoffe, diese Informationen helfen Ihnen weiter.

Für Rückfragen stehe ich gerne zur Verfügung.

Mit freundlichen Grüßen

Im Auftrag

Nxxx

Kriminalhauptkommissarin

Bundeskriminalamt

IZ 35 - Informationsdienste

## **6 Anhang**

### **6.1 Tabellen**

#### **6.1.1 Ergebnisse des Kollektivs „Gesunde Zähne“**

# Anhang

Lfd. Nr.	Probenname	Batch	Alter	Area L-Asx	Area D-Asx	%D/L-Asx	MW L	MW D	D/L	TP & NCP: In ((1+D/L)/(1-D/L))	TP (Wert-0,00716/0,00165)	NCP (Wert+0,0134/0,00445)	Abweichung Reales-Gemessenes Alter
1a	TP 1a	821zz	22	30312	686	2,2631	28690,0	642,67	0,02240037	0,04	22,82		0,82
1a	TP 1a	822z	22	22254	496	2,2288							
1a	TP 1a	824z	22	33504	746	2,2266							
1a	NCP 1a	836z	22	9324	407	4,3651	14259,5	638,50	0,04477717	0,09		23,15	1,15
1a	NCP 1a	838z	22	19195	870	4,5324							
1b	TP 1b	832zz	22	47320	1077	2,2760	49196,5	1110,00	0,02256258	0,05	23,01		1,01
1b	TP 1b	833z	22	51073	1143	2,2380							
1b	NCP 1b	839z	22	15375	663	4,3122	17395,5	748,00	0,04299963	0,09		22,35	0,35
1b	NCP 1b	840z	22	19416	833	4,2903							
3	TP 3	915z	25	40601	970	2,389103717	44908,0	1094,50	0,02437205	0,05	25,21		0,21
3	TP 3	920z	25	49641	1220	2,457645898							
3	TP 3	921zz	25	46565	1153	2,476108665							
3	TP 3	922z	25	42825	1035	2,416812609							
3	NCP 3	949z	25	13310	669	5,026296018	16136,0	820,00	0,05081805	0,10		25,87	0,87
3	NCP 3	950z	25	18962	971	5,120767851							
4	TP 4	923z	22	44664	1021	2,2860	41621,0	919,00	0,02208020	0,04	22,43		0,43
4	TP 4	924z	22	38578	817	2,1178							
4	NCP 4	956zz	22	12744	513	4,0254	16894,0	676,50	0,04004380	0,08		21,02	-0,98
4	NCP 4	957zz	22	21044	840	3,9916							
5	TP 5	925z	16	33621	595	1,7697	36709,5	636,50	0,01733884	0,03	16,68		0,68
5	TP 5	931z	16	39798	678	1,7036							
5	NCP 5	959z	16	26443	672	2,5413	35862,5	979,00	0,02729871	0,05		15,28	-0,72
5	NCP 5	960z	16	45282	1286	2,8400							
6	TP 6	927z	21	33052	688	2,0816	33266,5	699,00	0,02101213	0,04	21,13		0,13
6	TP 6	928z	21	33481	710	2,1206							
6	NCP 6	962z	21	25335	995	3,9274	30469,7	1253,67	0,04114475	0,08		21,51	0,51
6	NCP 6	963z	21	31890	1353	4,2427							
6	NCP 6	964z	21	34184	1413	4,1335							
7	TP 7	932z	22	29156	637	2,1848	29116,7	644,33	0,02212936	0,04	22,49		0,49
7	TP 7	933z	22	35093	782	2,2284							
7	TP 7	934z	22	23101	514	2,2250							
7	NCP 7	965z	22	13427	591	4,4016	14256,0	615,00	0,04313973	0,09		22,41	0,41
7	NCP 7	966z	22	15085	639	4,2360							
8	TP 8	936zz	19	28896	549	1,8999	31379,0	581,50	0,01853150	0,04	18,13		-0,87
8	TP 8	937zz	19	33862	614	1,8132							
8	NCP 8	968z	19	26064	812	3,1154	28876,0	919,50	0,03184305	0,06		17,33	-1,67
8	NCP 8	969z	19	31688	1027	3,2410							
9	TP 9	978z	21	26637	616	2,3126	32331,7	741,33	0,02292902	0,05	23,46		2,46
9	TP 9	982z	21	33208	817	2,4603							
9	TP 9	983z	21	37150	791	2,1292							
9	NCP 9	1000z	21	11491	498	4,3338	12536,0	547,00	0,04363433	0,09		22,63	1,63
9	NCP 9	1001z	21	13581	596	4,3885							
10a	TP 10a	939z	20	44134	964	2,1843	43825,7	953,67	0,02176046	0,04	22,04		2,04
10a	TP 10a	940z	20	42885	929	2,1663							
10a	TP 10a	941z	20	44458	968	2,1773							
10a	NCP 10a	971z	20	13405	559	4,1701	15551,5	651,50	0,04189306	0,08		21,85	1,85
10a	NCP 10a	972z	20	17698	744	4,2039							
10b	TP 10b	987z	20	31005	699	2,254475085	37492,0	853,50	0,02276486	0,05	23,26		3,26
10b	TP 10b	990z	20	43979	1008	2,292003001							
10b	NCP 10b	996z	20	13653	565	4,138284626	16930,5	707,50	0,04178849	0,08		21,80	1,80
10b	NCP 10b	997z	20	20208	850	4,206254949							
11b	TP 11b	1008z	19	54611	955	1,74873194	54033,5	960,50	0,01777601	0,04	17,21		-1,79
11b	TP 11b	1010z	19	53456	966	1,807093685							
11b	NCP 11b	1021z	19	21617	732	3,386223805	26784,0	906,50	0,03384483	0,07		18,23	-0,77
11b	NCP 11b	1024z	19	31951	1081	3,383305687							
11c	TP 11c	1013z	19	54362	907	1,66844487	52189,0	870,00	0,01667018	0,03	15,87		-3,13
11c	TP 11c	1014z	19	50016	833	1,665467051							
11c	NCP 11c	1022z	19	23788	805	3,38405919	26635,0	857,00	0,03217571	0,06		17,48	-1,52
11c	NCP 11c	1023zz	19	29482	909	3,083237229							
12aa	TP 12a	1478z	26	27701	602	2,173206743	31441,0	677,33	0,02154300	0,04	21,78		-4,22
12aa	TP 12a	1479z	26	38259	831	2,172037952							
12aa	TP 12a	1480zz	26	28363	599	2,111906357							
12aa	NCP 12a	1495z	26	17433	792	4,543107899	18465,0	846,50	0,04584349	0,09		23,63	-2,37
12aa	NCP 12a	1496z	26	19497	901	4,621223778							
12bb	TP 12b	1512z	26	34303	700	2,040637845	33378,0	668,33	0,02002317	0,04	19,93		-6,07
12bb	TP 12b	1513z	26	38269	765	1,999007029							
12bb	TP 12b	1519z	26	27562	540	1,959219215							
12bb	NCP 12b	1524zz	26	32864	1398	4,253894839	27263,5	1163,00	0,04265777	0,09		22,19	-3,81
12bb	NCP 12b	1525z	26	21663	928	4,283801874							
13	NCP 13	1408z	24	10930	579	5,297346752	8159,5	422,50	0,05178013	0,10		26,30	2,30
13	NCP 13	1411zz	24	5389	266	4,935980701							

# Anhang

14	TP 14	1394zz	22	27397	683	2,4930	28717,5	707,00	0,02461913	0,05	25,51	3,51
14	TP 14	1395	22	30038	731	2,433584127						
14	NCP14	1405z	22	28153	1410	5,008347245	29665,5	1474,50	0,04970420	0,10	25,37	3,37
14	NCP14	1406zz	22	31178	1539	4,936172942						
15	TP 15	1396z	25	33915	773	2,27922748	32207,5	724,00	0,02247924	0,04	22,91	-2,09
15	TP 15	1397	25	30500	675	2,213114754						
15	NCP 15	1403zz	25	22304	1110	4,976685796	22494,5	1110,00	0,04934540	0,10	25,21	0,21
15	NCP 15	1404	25	22685	1110	4,893101168						
16b	TP 16b	1444zz	19	45677	744	1,628828513	48613,5	805,50	0,01656947	0,03	15,75	-3,25
16b	TP 16b	1445zz	19	51550	867	1,68186227						
16b	NCP 16b	1456z	19	36757	1255	3,414315641	25045,5	854,00	0,03409794	0,07	18,34	-0,66
16b	NCP 16b	1462zz	19	13334	453	3,397330133						
17b	TP 17b	1447zz	24	37126	1001	2,696223671	36339,5	975,50	0,02684407	0,05	28,21	4,21
17b	TP 17b	1448zz	24	35553	950	2,672067055						
17b	NCP 17b	1459z	24	21965	1381	6,287275211	20808,0	1304,50	0,06269223	0,13	31,22	7,22
17b	NCP 17b	1460zz	24	19651	1228	6,24904585						
19	TP 19	1470z	20	34474	790	2,291582062	33573,0	769,00	0,02290531	0,05	23,43	3,43
19	TP 19	1471zz	20	32672	748	2,289422135						
19	NCP 19	1493z	20	14935	707	4,733846669	20588,0	961,50	0,04670196	0,09	24,02	4,02
19	NCP 19	1494z	20	26241	1216	4,633969742						
20	TP 20	1520z	29	49874	1348	2,702811084	40355,0	1077,50	0,02670053	0,05	28,03	-0,97
20	TP 20	1521z	29	30836	807	2,617070956						
20	NCP 20	1528z	29	9877	590	5,973473727	9493,5	567,50	0,05977774	0,12	29,91	0,91
20	NCP 20	1529z	29	9110	545	5,982436883						
21a	TP 21a	1481zz	21	60057	1468	2,444344539	38460,7	935,00	0,02431055	0,05	25,13	4,13
21a	TP 21a	1482zz	21	22409	549	2,449908519						
21a	TP 21a	1483z	21	32916	788	2,393972536						
21a	NCP 21a	1490z	21	18891	922	4,880630988	17168,5	829,50	0,04831523	0,10	24,74	3,74
21a	NCP 21a	1491z	21	15446	737	4,771461867						
21b	TP 21b	1515zz	21	20971	501	2,389013399	29808,5	671,50	0,02252713	0,05	22,97	1,97
21b	TP 21b	1516z	21	38646	842	2,178750712						
21b	NCP 21b	1530z	21	20439	1005	4,917070307	21658,0	1040,67	0,04804999	0,10	24,62	3,62
21b	NCP 21b	1531z	21	19148	901	4,705452267						
21b	NCP 21b	1532z	21	25387	1216	4,789853074						
22a	TP 22a	1485z	15	41144	620	1,506902586	41271,3	652,67	0,01581404	0,03	14,83	-0,17
22a	TP 22a	1486z	15	50213	810	1,613128074						
22a	TP 22a	1484	15	32457	528	1,626767723						
22a	NCP 22a	1500zz	15	30762	924	3,003705871	36463,5	1079,50	0,02960495	0,06	16,32	1,32
22a	NCP 22a	1501z	15	42165	1235	2,928969524						
23a	TP 23a	1476zz	25	38097	706	1,853164291	38604,5	711,50	0,01843049	0,04	18,00	-7,00
23a	TP 23a	1477z	25	39112	717	1,833196973						
23a	NCP 23a	1502z	25	22760	890	3,910369069	21708,5	846,50	0,03899394	0,08	20,55	-4,45
23a	NCP 23a	1503z	25	20657	803	3,887302125						
24a	TP 24a	1940	24	41435	1203	2,903342585	39355,0	1142,50	0,02903062	0,06	30,86	6,86
24a	TP 24a	1941	24	37275	1082	2,902749832						
24a	NCP24a	50mg-1839	24	18267	1096	5,999890513	17795,5	1063,50	0,05976230	0,12	29,90	5,90
24a	NCP24a	50mg-1840	24	17324	1031	5,951281459						
25a	TP 25a	1937z	28	38086	1070	2,809431287	39843,3	1115,33	0,02799297	0,06	29,60	1,60
25a	TP 25a	1938	28	39740	1086	2,732762959						
25a	TP 25a	1939	28	41704	1190	2,853443315						
25b	TP 25b	1958z	28	20515	607	2,958810626	22937,0	681,00	0,02969002	0,06	31,66	3,66
25b	TP 25b	1959	28	22451	648	2,886285689						
25b	TP 25b	1963	28	25845	788	3,048945637						
25b	NCP 25b	1857z	28	11204	608	5,426633345	13164,3	700,00	0,05317398	0,11	26,93	-1,07
25b	NCP 25b	1858	28	13247	706	5,329508568						
25b	NCP 25b	1859z	28	15042	786	5,225368967						
27	TP 27	1956	44	21947	957	4,360504853	22830,3	983,33	0,04307135	0,09	47,90	3,90
27	TP 27	1957	44	24329	1047	4,303506104						
27	TP 27	1962	44	22215	946	4,258383975						
27	NCP 27	1854	44	10686	1105	10,3406326	11807,3	1230,67	0,10422901	0,21	50,03	6,03
27	NCP 27	1855z	44	11336	1186	10,46224418						
27	NCP 27	1856z	44	13400	1401	10,45522388						
29	TP 29	1953	51	67645	2899	4,285608692	37727,0	1640,33	0,04347903	0,09	48,40	-2,60
29	TP 29	1954	51	22304	989	4,434182209						
29	TP 29	1955	51	23232	1033	4,446453168						
29	NCP 29	1861	51	5195	576	11,08758422	7699,7	873,00	0,11338153	0,23	54,19	3,19
29	NCP 29	1864	51	7947	903	11,36277841						
29	NCP 29	1865z	51	9957	1140	11,4492317						
30	TP 30	1960	36	21416	915	4,272506537	21040,0	898,00	0,04268061	0,09	47,43	11,43
30	TP 30	1961z	36	20664	881	4,263453349						
30	NCP 30	1866	36	12453	977	7,845499077	12428,3	984,33	0,07920075	0,16	38,68	2,68
30	NCP 30	1867z	36	12522	992	7,922057179						
30	NCP 30	1868z	36	12310	984	7,993501219						
31	TP 31	2035	40	22288	747	3,351579325	23831,5	791,50	0,03321235	0,07	35,93	-4,07
31	TP 31	2036	40	25375	836	3,294581281						
31	NCP 31	2037	40	5411	469	8,667529107	8459,7	681,33	0,08053903	0,16	39,29	-0,71
31	NCP 31	2038z	40	9742	767	7,873126668						
31	NCP 31	2039z	40	10226	808	7,901427733						

# Anhang

32	TP 32	2026z	58	19266	925	4,801204194	18394,0	880,00	0,04784169	0,10	53,69	-4,31
32	TP 32	2027	58	20641	978	4,738142532						
32	TP 32	2030	58	15275	737	4,82487725						
32	NCP 32	2032z	58	7840	936	11,93877551	6439,7	771,67	0,11983022	0,24	57,13	-0,87
32	NCP 32	2033	58	6272	760	12,11734694						
32	NCP 32	2034z	58	5207	619	11,88784329						
34	TP 34	2040z	55	14604	744	5,094494659	14515,5	740,50	0,05101443	0,10	57,55	2,55
34	TP 34	2043z	55	14427	737	5,108477161						
34	NCP 34	2044z	55	7547	942	12,48178084	7719,5	964,00	0,12487855	0,25	59,43	4,43
34	NCP 34	2045z	55	7892	986	12,49366447						
26	NCP 26	2437	48	7799	782	10,02692653	7741,0	778,33	0,10054687	0,20	48,35	0,35
26	NCP 26	2438	48	8506	856	10,0634846						
26	NCP 26	2439	48	6918	697	10,07516623						
33b	TP 33b	2454z	31	24684	751	3,042456652	28339,7	877,00	0,03094602	0,06	33,18	2,18
33b	TP 33b	2457	31	29220	917	3,138261465						
33b	TP 33b	2458	31	31115	963	3,094970272						
33b	NCP 33b	2446	31	20699	1304	6,299821247	18546,0	1175,33	0,06337395	0,13	31,53	0,53
33b	NCP 33b	2447	31	18467	1189	6,43851194						
33b	NCP 33b	2448z	31	16472	1033	6,271248179						
35	TP 35	2460	65	16925	867	5,122599705	20535,7	1056,00	0,05142273	0,10	58,05	-6,95
35	TP 35	2461	65	20125	1045	5,192546584						
35	TP 35	2462	65	24557	1256	5,114631266						
35	NCP 35	2452	65	8090	1042	12,88009889	8790,0	1131,50	0,12872582	0,26	61,19	-3,81
35	NCP 35	2453	65	9490	1221	12,86617492						

### **6.1.2 Ergebnisse des Kollektivs „Kariöse Zähne“**

# Anhang

Lfd. Nr.	Fraktion	Proben- name	Quadrant	Karies	Batch	Alter	Area L-Asx	D- Area Asx	%D/L- Asx	MW L	MW D	D/L	TP & NCP: In (1+D/L)/(1- D/L)	TP (Wert- 0,00716/0,00 166)	NCP (Wert+0,0134 /0,00445)	Abweichung Reales- Gemessenes Alter
1	TP	C4-1	I	0	1538zz	38	39262	1484	3,7797	27078,33	1025,33	0,03786545	0,08	44,145		6,15
1	TP	C4-1	I	0	1539zz	38	22904	884	3,8596							
1	TP	C4-1	I	0	1540z	38	19069	708	3,7128							
1	NCP	C4-1	I	0	1552z	38	6436	658	10,2237	6846,00	659,00	0,09626059	0,19		45,708	7,71
1	NCP	C4-1	I	0	1558zz	38	7402	683	9,2272							
1	NCP	C4-1	I	0	1559z	38	6700	636	9,4925							
1	TP	C4-1	II	0	1580z	38	23951	971	4,0541	21300,33	878,67	0,04125131	0,08	44,145		6,15
1	TP	C4-1	II	0	1581z	38	13461	563	4,1825							
1	TP	C4-1	II	0	1582z	38	26489	1102	4,1602							
1	NCP	C4-1	II	0	1609z	38	8481	872	10,2818	8710,67	886,00	0,10171437	0,20		47,955	9,96
1	NCP	C4-1	II	0	1610z	38	7989	809	10,1264							
1	NCP	C4-1	II	0	1611z	38	9662	977	10,1118							
1	TP	C4-1	III	0	1595z	38	26532	1113	4,1949	25989,00	1081,33	0,04160735	0,08	44,145		6,15
1	TP	C4-1	III	0	1603z	38	20248	827	4,0844							
1	TP	C4-1	III	0	1604z	38	31187	1304	4,1812							
1	NCP	C4-1	III	0	1615z	38	6058	634	10,4655	6753,67	707,33	0,10473323	0,21		50,202	12,20
1	NCP	C4-1	III	0	1616z	38	7848	805	10,2574							
1	NCP	C4-1	III	0	1618z	38	6355	683	10,7474							
1	TP	C4-1	IV	0	1662z	38	23260	897	3,8564	25551,00	989,50	0,03872647	0,08	44,145		6,15
1	TP	C4-1	IV	0	1663z	38	27842	1082	3,8862							
1	NCP	C4-1	IV	0	1641z	38	11948	1158	9,6920	8220,33	793,67	0,09654921	0,19		45,708	7,71
1	NCP	C4-1	IV	0	1642z	38	6067	593	9,7742							
1	NCP	C4-1	IV	0	1643z	38	6646	630	9,4794							
2	TP	C4-2	I	0	1541zz	46	17322	862	4,9763	15648,67	780,33	0,04986580	0,10	56,267		10,27
2	TP	C4-2	I	0	1543z	46	13167	655	4,9746							
2	TP	C4-2	I	0	1554zz	46	16457	824	5,0070							
2	NCP	C4-2	I	0	1560z	46	10288	1286	12,5000	8420,75	1041,25	0,12365288	0,25		59,191	13,19
2	NCP	C4-2	I	0	1561z	46	7202	870	12,0800							
2	NCP	C4-2	I	0	1565z	46	7965	999	12,5424							
2	NCP	C4-2	I	0	1574z	46	8228	1010	12,2752							
2	TP	C4-2	II	b	1584z	46	19178	969	5,0527	20634,00	1046,50	0,05071726	0,10	56,267		10,27
2	TP	C4-2	II	b	1587z	46	22090	1124	5,0883							
2	NCP	C4-2	II	b	1605z	46	9663	1307	13,5258	8708,50	1181,00	0,13561463	0,27		63,685	17,69
2	NCP	C4-2	II	b	1606z	46	7754	1055	13,6059							
2	TP	C4-2	III	0	1601z	46	18594	952	5,1199	14051,50	727,00	0,05173825	0,10	56,267		10,27
2	TP	C4-2	III	0	1602z	46	9509	502	5,2792							
2	NCP	C4-2	III	0	1619z	46	4799	705	14,6906	5327,00	812,50	0,15252487	0,31		72,674	26,67
2	NCP	C4-2	III	0	1620z	46	6352	920	14,4836							
2	NCP	C4-2	III	0	1626z	46	4830	709	14,6791							
2	TP	C4-2	IV	0	1660z	46	23330	1185	5,0793	21205,00	1065,50	0,05024758	0,10	56,267		10,27
2	TP	C4-2	IV	0	1661z	46	19080	946	4,9581							
2	NCP	C4-2	IV	0	2469	46	4659	606	13,0071	6526,67	844,00	0,12931563	0,26		61,438	15,44
2	NCP	C4-2	IV	0	2470	46	7618	985	12,9299							
2	NCP	C4-2	IV	0	2471	46	7303	941	12,8851							
3	TP	C4-3	I	0	1544z	50	29780	1339	4,4963	22642,50	1017,50	0,04493762	0,09	50,206		0,21
3	TP	C4-3	I	0	1545zz	50	15505	696	4,4889							
3	NCP	C4-3	I	0	1562z	50	11057	1162	10,5092	9631,67	1008,00	0,10465478	0,21		50,202	0,20
3	NCP	C4-3	I	0	1563z	50	9187	955	10,3951							
3	NCP	C4-3	I	0	1564z	50	8651	907	10,4843							
3	TP	C4-3	II	a	1586z	50	20832	936	4,4931	22903,50	1029,00	0,04492763	0,09	50,206		0,21
3	TP	C4-3	II	a	1588z	50	24975	1122	4,4925							
3	NCP	C4-3	II	a	1607z	50	10024	1068	10,6544	9981,50	1058,50	0,10604619	0,21		50,202	0,20
3	NCP	C4-3	II	a	1608z	50	9939	1049	10,5544							
3	TP	C4-3	III	0	1599z	50	25710	1254	4,8775	24264,50	1176,00	0,04846587	0,10	56,267		6,27
3	TP	C4-3	III	0	1600z	50	22819	1098	4,8118							
3	NCP	C4-3	III	0	1623z	50	5777	666	11,5285	6463,50	745,00	0,11526263	0,23		54,697	4,70
3	NCP	C4-3	III	0	1624z	50	7150	824	11,5245							
3	TP	C4-3	IV	0	1664z	50	19007	880	4,6299	16923,50	784,00	0,04632611	0,09	50,206		0,21
3	TP	C4-3	IV	0	1665z	50	14840	688	4,6361							
3	NCP	C4-3	IV	0	1644z	50	6226	636	10,2152	6686,33	694,33	0,10384366	0,21		50,202	0,20
3	NCP	C4-3	IV	0	1645z	50	6940	720	10,3746							
3	NCP	C4-3	IV	0	1646z	50	6893	727	10,5469							
4	TP	C4-4	I	0	1547z	71	16768	981	5,8504	18339,50	1066,00	0,05812590	0,12	68,388		-2,61
4	TP	C4-4	I	0	1548z	71	19911	1151	5,7807							
4	NCP	C4-4	I	0	1566z	71	5574	801	14,3703	5063,50	729,00	0,14397156	0,29		68,180	-2,82
4	NCP	C4-4	I	0	1567z	71	4553	657	14,4300							
4	TP	C4-4	II	0	1589z	71	11300	687	6,0796	12776,00	770,00	0,06026925	0,12	68,388		-2,61
4	TP	C4-4	II	0	1590z	71	14252	853	5,9851							
4	NCP	C4-4	II	0	1617z	71	10314	1480	14,3494	10314,00	1480,00	0,14349428	0,29		68,180	-2,82
4	TP	C4-4	III	0	1655z	71	17980	1148	6,3849	17317,00	1075,67	0,06211622	0,12	68,388		-2,61



# Anhang

7	TP	C4-6B	I	a	1898	48	20295	1108	5,4595								
7	TP	C4-6B	I	a	1899	48	26418	1444	5,4660								
7	NCP	C4-6B	I	a	1690z	48	10398	1348	12,9640	10357,50	1347,50	0,13009896	0,26	61,438	13,44		
7	NCP	C4-6B	I	a	1693zz	48	10317	1347	13,0561								
7	TP	C4-6B	II	a	1742	48	17592	941	5,3490	20188,67	1068,00	0,05290097	0,11	62,327	14,33		
7	TP	C4-6B	II	a	1746z	48	23798	1239	5,2063								
7	TP	C4-6B	II	a	1747	48	19176	1024	5,3400								
7	NCP	C4-6B	II	a	1709	48	5737	778	13,5611	5978,00	810,50	0,13558046	0,27	63,685	15,69		
7	NCP	C4-6B	II	a	1711	48	6219	843	13,5552								
7	TP	C4-6B	III	0	1771z	48	18463	1065	5,7683	20740,50	1200,00	0,05785781	0,12	68,388	20,39		
7	TP	C4-6B	III	0	1772	48	23018	1335	5,7998								
7	NCP	C4-6B	III	0	1725z	48	6663	896	13,4474	8836,00	1207,67	0,13667572	0,28	65,933	17,93		
7	NCP	C4-6B	III	0	1727z	48	11221	1529	13,6262								
7	NCP	C4-6B	III	0	1729z	48	8624	1198	13,8915								
7	TP	C4-6B	IV	0	2615	48	18119	905	4,9948	19362,33	1009,33	0,05212870	0,10	56,267	8,27		
7	TP	C4-6B	IV	0	2616	48	19837	1062	5,3536								
7	TP	C4-6B	IV	0	2617	48	20131	1061	5,2705								
7	NCP	C4-6B	IV	0	2004	48	8369	1118	13,3588	6890,67	912,67	0,13244969	0,27	63,685	15,69		
7	NCP	C4-6B	IV	0	2005	48	6405	846	13,2084								
7	NCP	C4-6B	IV	0	2006z	48	5898	774	13,1231								
8	TP	C4-8	I	0	1888	61	28018	1421	5,0717	21248,67	1093,67	0,05146990	0,10	56,267	-4,73		
8	TP	C4-8	I	0	1889	61	20402	1065	5,2201								
8	TP	C4-8	I	0	1890z	61	15326	795	5,1873								
8	NCP	C4-8	I	0	1696z	61	8273	1087	13,1391	6861,00	901,50	0,13139484	0,26	61,438	0,44		
8	NCP	C4-8	I	0	1697z	61	5449	716	13,14002569								
8	TP	C4-8	II	b	1740z	61	24152	1328	5,49850944	23454,67	1275,67	0,05438861	0,11	62,327	1,33		
8	TP	C4-8	II	b	1741z	61	19242	1030	5,352873922								
8	TP	C4-8	II	b	1743z	61	26970	1469	5,446792733								
8	NCP	C4-8	II	b	1715z	61	7559	1023	13,53353618	7135,67	965,33	0,13528285	0,27	63,685	2,69		
8	NCP	C4-8	II	b	1720z	61	6159	847	13,75223251								
8	NCP	C4-8	II	b	1721z	61	7689	1026	13,34373781								
8	TP	C4-8	III	0	1775	61	20287	1109	5,466554937	19635,00	1068,50	0,05441813	0,11	62,327	1,33		
8	TP	C4-8	III	0	1776z	61	18983	1028	5,415371648								
8	NCP	C4-8	III	0	2008z	61	7231	971	13,42829484	5793,67	788,00	0,13601059	0,27	63,685	2,69		
8	NCP	C4-8	III	0	2009z	61	4754	664	13,96718553								
8	NCP	C4-8	III	0	2010	61	5396	729	13,51000741								
8	TP	C4-8	IV	0	1911	61	23290	1302	5,590382138	19046,67	1085,33	0,05698285	0,11	62,327	1,33		
8	TP	C4-8	IV	0	1912z	61	15270	878	5,74983628								
8	TP	C4-8	IV	0	1913	61	18580	1076	5,791173305								
8	NCP	C4-8	IV	0	2595	61	3339	493	14,76489967	5010,67	775,67	0,15480309	0,31	72,674	11,67		
8	NCP	C4-8	IV	0	2596	61	6053	958	15,82686271								
8	NCP	C4-8	IV	0	2597	61	5640	876	15,53191489								
10	TP	C4-10A	I	0	1901z	21	35173	837	2,379666221	37374,50	891,50	0,02385316	0,05	25,964	4,96		
10	TP	C4-10A	I	0	1902z	21	39576	946	2,390337578								
10	NCP	C4-10A	I	0	1702z	21	11549	579	5,013421075	17281,50	866,00	0,05011139	0,10	25,483	4,48		
10	NCP	C4-10A	I	0	1704	21	23014	1153	5,009993917								
10	TP	C4-10A	II	0	1752	21	27073	638	2,356591438	35661,67	802,67	0,02250783	0,05	25,964	4,96		
10	TP	C4-10A	II	0	1754	21	43208	961	2,224125162								
10	TP	C4-10A	II	0	1756	21	36704	809	2,204119442								
10	NCP	C4-10A	II	0	1714	21	12836	628	4,892489872	14618,50	813,00	0,05561446	0,11	27,730	6,73		
10	NCP	C4-10A	II	0	1717z	21	16401	806	4,914334492								
10	TP	C4-10A	III	0	1783z	21	40465	872	2,154948721	38806,50	813,00	0,02095010	0,04	19,903	-1,10		
10	TP	C4-10A	III	0	1784zz	21	37148	819	2,204694735								
10	TP	C4-10A	IV	0	1785z	21	34874	825	2,36565923	33315,67	780,00	0,02341241	0,05	25,964	4,96		
10	TP	C4-10A	IV	0	1786z	21	31689	724	2,284704472								
10	TP	C4-10A	IV	0	1787zz	21	33384	791	2,369398514								
10	NCP	C4-10A	IV	0	2011z	21	15875	839	5,28503937	16714,00	857,33	0,05129432	0,10	25,483	4,48		
10	NCP	C4-10A	IV	0	2012z	21	16228	846	5,213211733								
10	NCP	C4-10A	IV	0	2013	21	18039	887	4,917124009								
10	TP	C4-10B	I	b	1942	21	29944	674	2,250868287	31265,00	813,00	0,02600352	0,05	25,964	4,96		
10	TP	C4-10B	I	b	1943z	21	32586	740	2,270913889								
10	NCP	C4-10B	I	b	1917	21	12033	543	4,512590376	15595,00	512,00	0,03283104	0,07	18,742	-2,26		
10	NCP	C4-10B	I	b	1918z	21	16369	725	4,429103794								
10	NCP	C4-10B	I	b	1919	21	18383	268	1,457868683								
10	TP	C4-10B	II	b	1944	21	31384	693	2,208131532	30428,67	666,67	0,02190916	0,04	19,903	-1,10		
10	TP	C4-10B	II	b	1945	21	27869	584	2,095518318								
10	TP	C4-10B	II	b	1946	21	32033	723	2,25704742								
10	NCP	C4-10B	II	b	1915z	21	26767	1149	4,292599096	25209,00	1066,33	0,04229971	0,08	20,989	-0,01		
10	NCP	C4-10B	II	b	1916	21	27410	1146	4,180955856								
10	NCP	C4-10B	II	b	1929z	21	21450	904	4,214452214								
10	TP	C4-10B	III	0	1949z	21	33945	727	2,141699809	37970,50	813,00	0,02141136	0,04	19,903	-1,10		
10	TP	C4-10B	III	0	1950	21	41996	894	2,128774169								
10	NCP	C4-10B	III	0	1923z	21	36816	1525	4,142220774	32218,67	1343,00	0,04168391	0,08	20,989	-0,01		
10	NCP	C4-10B	III	0	1924	21	27912	1157	4,145170536								
10	NCP	C4-10B	III	0	1928z	21	31928	1347	4,218867452								
10	TP	C4-10B	IV	0	1951	21	34659	710	2,048529963	31613,00	813,00	0,02571727	0,05	25,964	4,96		
10	TP	C4-10B	IV	0	1952	21	28567	577	2,019813071								

# Anhang

10	NCP	C4-10B	IV	0	1925z	21	13654	503	3,683902153	29569,33	1140,33	0,03856473	0,08	20,989	-0,01
10	NCP	C4-10B	IV	0	1926	21	34123	1307	3,830261114						
10	NCP	C4-10B	IV	0	1927	21	40931	1611	3,935892111						
11	TP	C4-24B	I	b	1968z	24	32809	946	2,883355177	32884,67	993,67	0,03021672	0,06	32,024	8,02
11	TP	C4-24B	I	b	1969z	24	35638	1110	3,114652899						
11	TP	C4-24B	I	b	1970	24	30207	925	3,062204125						
11	NCP	C4-24B	I	b	1870z	24	13779	835	6,059946295	14029,00	836,33	0,05961461	0,12	29,978	5,98
11	NCP	C4-24B	I	b	1871z	24	14290	832	5,822253324						
11	NCP	C4-24B	I	b	1872z	24	14018	842	6,00656299						
11	TP	C4-24B	II	b	1971	24	35048	1076	3,070075325	30098,67	937,33	0,03114202	0,06	32,024	8,02
11	TP	C4-24B	II	b	1974	24	31289	991	3,167247275						
11	TP	C4-24B	II	b	1977z	24	23959	745	3,109478693						
11	NCP	C4-24B	II	b	1873z	24	8385	507	6,046511628	16174,67	1019,67	0,06304097	0,13	32,225	8,22
11	NCP	C4-24B	II	b	1874z	24	17993	1145	6,363585839						
11	NCP	C4-24B	II	b	1875z	24	22146	1407	6,353291791						
11	TP	C4-24B	III	0	1975z	24	27056	793	2,930958013	28914,00	847,00	0,02929377	0,06	32,024	8,02
11	TP	C4-24B	III	0	1976z	24	30772	901	2,927986481						
11	NCP	C4-24B	III	0	1878z	24	12539	733	5,845761225	15842,33	922,67	0,05824058	0,12	29,978	5,98
11	NCP	C4-24B	III	0	1879z	24	17829	1039	5,827584273						
11	NCP	C4-24B	III	0	1880z	24	17159	996	5,804534064						
11	TP	C4-24B	IV	0	1979	24	23111	680	2,942321838	21096,33	610,00	0,02891498	0,06	32,024	8,02
11	TP	C4-24B	IV	0	1980z	24	22640	649	2,866607774						
11	TP	C4-24B	IV	0	2016	24	17538	501	2,856654122						
11	NCP	C4-24B	IV	0	1881	24	12694	748	5,89254766	13624,50	802,50	0,05890124	0,12	29,978	5,98
11	NCP	C4-24B	IV	0	1882	24	14555	857	5,888010993						
12	TP	C4-25C	I	0	1981	28	22318	605	2,710816381	24660,00	685,67	0,02780481	0,06	32,024	4,02
12	TP	C4-25C	I	0	1982z	28	24304	690	2,839038841						
12	TP	C4-25C	I	0	1983	28	27358	762	2,785291322						
12	NCP	C4-25C	I	0	2552	28	25820	1349	5,224632068	18654,67	980,00	0,05253377	0,11	27,730	-0,27
12	NCP	C4-25C	I	0	2553	28	19641	1030	5,244132172						
12	NCP	C4-25C	I	0	2555	28	10503	561	5,341331048						
12	TP	C4-25C	II	0	1984z	28	24665	689	2,793431989	24936,00	701,50	0,02813202	0,06	32,024	4,02
12	TP	C4-25C	II	0	1985z	28	25207	714	2,832546515						
12	NCP	C4-25C	II	0	2556	28	27733	1496	5,394295605	17866,75	941,50	0,05269565	0,11	27,730	-0,27
12	NCP	C4-25C	II	0	2557	28	17441	943	5,406800069						
12	NCP	C4-25C	II	0	2563	28	12217	627	5,132192846						
12	NCP	C4-25C	II	0	2564	28	14076	700	4,973003694						
12	TP	C4-25C	III	0	1986	28	34533	915	2,649639475	33852,00	889,00	0,02626137	0,05	25,964	-2,04
12	TP	C4-25C	III	0	1988z	28	33171	863	2,601670134						
12	NCP	C4-25C	III	0	2560	28	17521	827	4,720050225	19209,33	904,00	0,04706046	0,09	23,236	-4,76
12	NCP	C4-25C	III	0	2561z	28	19356	913	4,716883654						
12	NCP	C4-25C	III	0	2562	28	20751	972	4,684111609						
12	TP	C4-25C	IV	0	1989	28	32065	824	2,569780134	33489,00	886,67	0,02647636	0,05	25,964	-2,04
12	TP	C4-25C	IV	0	1990	28	28432	767	2,697664603						
12	TP	C4-25C	IV	0	1991	28	39970	1069	2,674505879						
12	NCP	C4-25C	IV	0	2565	28	12072	552	4,572564612	15952,00	747,00	0,04682798	0,09	23,236	-4,76
12	NCP	C4-25C	IV	0	2566	28	18771	912	4,858558415						
12	NCP	C4-25C	IV	0	2567	28	17013	777	4,56709575						
13	TP	C4-20	I	0	2046	55	31306	1446	4,61892289	27656,00	1281,00	0,04631906	0,09	50,206	-4,79
13	TP	C4-20	I	0	2047	55	24006	1116	4,648837791						
13	NCP	C4-20	I	0	2118	55	11592	1391	11,99965493	9961,00	1203,67	0,12083793	0,24	56,944	1,94
13	NCP	C4-20	I	0	2119	55	9186	1109	12,07271936						
13	NCP	C4-20	I	0	2120	55	9105	1111	12,20208677						
13	TP	C4-20	II	b	2048	55	30489	1428	4,683656401	26063,00	1215,50	0,04663699	0,09	50,206	-4,79
13	TP	C4-20	II	b	2049z	55	21637	1003	4,635577945						
13	NCP	C4-20	II	b	2123	55	12050	1424	11,81742739	9202,33	1102,33	0,11978846	0,24	56,944	1,94
13	NCP	C4-20	II	b	2124	55	7516	902	12,0010644						
13	NCP	C4-20	II	b	2125	55	8041	981	12,19997513						
13	TP	C4-20	III	0	2050z	55	26462	1281	4,840903938	28627,50	1385,00	0,04838005	0,10	56,267	1,27
13	TP	C4-20	III	0	2051	55	30793	1489	4,835514565						
13	NCP	C4-20	III	0	2127z	55	7244	872	12,03754832	8076,67	986,67	0,12216261	0,25	59,191	4,19
13	NCP	C4-20	III	0	2128z	55	8269	1014	12,2626678						
13	NCP	C4-20	III	0	2129z	55	8717	1074	12,32075255						
13	TP	C4-20	IV	0	2052z	55	22592	1131	5,006196884	23701,67	1186,33	0,05005274	0,10	56,267	1,27
13	TP	C4-20	IV	0	2053	55	18065	888	4,915582618						
13	TP	C4-20	IV	0	2054	55	30448	1540	5,057803468						
13	NCP	C4-20	IV	0	2130z	55	10706	1363	12,73117878	8694,33	1100,33	0,12655753	0,25	59,191	4,19
13	NCP	C4-20	IV	0	2131z	55	7056	872	12,35827664						
13	NCP	C4-20	IV	0	2132z	55	8321	1066	12,81096022						
14	TP	C4-11	I	0	2062z	29	24916	876	3,515813132	29075,67	1026,33	0,03529870	0,07	38,085	9,08
14	TP	C4-11	I	0	2063	29	31685	1121	3,537951712						
14	TP	C4-11	I	0	2064z	29	30626	1082	3,532945863						
14	NCP	C4-11	I	0	2486	29	6871	618	8,99432397	8028,33	691,33	0,08611169	0,17	43,461	14,46
14	NCP	C4-11	I	0	2487	29	8182	705	8,616475189						
14	NCP	C4-11	I	0	2488	29	9032	751	8,314880425						
14	TP	C4-11	II	0	2065z	29	30619	1146	3,742774095	27598,67	1039,00	0,03764675	0,08	44,145	15,15
14	TP	C4-11	II	0	2066z	29	22858	864	3,779858255						

# Anhang

14	TP	C4-11	II	0	2067z	29	29319	1107	3,775708585									
14	NCP	C4-11	II	0	2491	29	6887	580	8,421664005	7727,00	665,33	0,08610500	0,17	41,213	12,21			
14	NCP	C4-11	II	0	2492	29	8393	750	8,93601811									
14	NCP	C4-11	II	0	2493	29	7901	666	8,429312745									
14	TP	C4-11	III	0	2068z	29	20327	747	3,674915138	20927,33	789,33	0,03771782	0,08	44,145	15,15			
14	TP	C4-11	III	0	2069z	29	21719	819	3,770891846									
14	TP	C4-11	III	0	2070z	29	20736	802	3,867669753									
14	NCP	C4-11	III	0	2494	29	7196	591	8,212896053	8811,00	756,67	0,08587750	0,17	41,213	12,21			
14	NCP	C4-11	III	0	2496	29	8772	772	8,800729594									
14	NCP	C4-11	III	0	2497	29	10465	907	8,666985189									
14	TP	C4-11	IV	0	2071z	29	30766	1126	3,659884288	31690,00	1198,67	0,03782476	0,08	44,145	15,15			
14	TP	C4-11	IV	0	2072z	29	33315	1270	3,812096653									
14	TP	C4-11	IV	0	2073z	29	30989	1200	3,872341799									
14	NCP	C4-11	IV	0	2498	29	7771	703	9,046454768	7618,00	693,67	0,09105627	0,18	43,461	14,46			
14	NCP	C4-11	IV	0	2499	29	6728	612	9,096313912									
14	NCP	C4-11	IV	0	2500	29	8355	766	9,168162777									
15	TP	C4-12	I	a	2074z	32	20341	635	3,121773757	22175,67	700,00	0,03156613	0,06	32,024	0,02			
15	TP	C4-12	I	a	2075z	32	25036	793	3,167438888									
15	TP	C4-12	I	a	2086z	32	21150	672	3,177304965									
15	NCP	C4-12	I	a	2105	32	7613	511	6,712202811	11593,67	788,00	0,06796814	0,14	34,472	2,47			
15	NCP	C4-12	I	a	2106	32	13013	893	6,862368401									
15	NCP	C4-12	I	a	2107	32	14155	960	6,782055811									
15	TP	C4-12	II	0	2078z	32	20878	685	3,28096561	19657,67	643,33	0,03272684	0,07	38,085	6,08			
15	TP	C4-12	II	0	2079z	32	18786	631	3,358884276									
15	TP	C4-12	II	0	2087z	32	19309	614	3,179864312									
15	NCP	C4-12	II	0	2108z	32	9526	643	6,749947512	9683,00	649,33	0,06705911	0,13	32,225	0,22			
15	NCP	C4-12	II	0	2109z	32	9946	668	6,716267846									
15	NCP	C4-12	II	0	2110	32	9577	637	6,651352198									
15	TP	C4-12	III	0	2080z	32	25231	803	3,182592842	27175,33	887,67	0,03266443	0,07	38,085	6,08			
15	TP	C4-12	III	0	2081z	32	28619	951	3,32296726									
15	TP	C4-12	III	0	2082z	32	27676	909	3,284434167									
15	NCP	C4-12	III	0	2112	32	11946	807	6,755399297	12234,67	815,33	0,06664124	0,13	32,225	0,22			
15	NCP	C4-12	III	0	2113z	32	11349	744	6,555643669									
15	NCP	C4-12	III	0	2114z	32	13409	895	6,674621523									
15	TP	C4-12	IV	0	2083	32	25166	820	3,25836446	29331,33	946,67	0,03227493	0,06	32,024	0,02			
15	TP	C4-12	IV	0	2084z	32	30955	1014	3,275722823									
15	TP	C4-12	IV	0	2085z	32	31873	1006	3,156276472									
15	NCP	C4-12	IV	0	2115z	32	8139	552	6,782159971	10192,33	688,67	0,06756713	0,14	34,472	2,47			
15	NCP	C4-12	IV	0	2116	32	11312	771	6,815770863									
15	NCP	C4-12	IV	0	2117	32	11126	743	6,678051411									
16	TP	C4-9	I	b	2218z	41	22582	931	4,122752635	18017,33	749,67	0,04160808	0,08	44,145	3,15			
16	TP	C4-9	I	b	2219z	41	15627	650	4,159467588									
16	TP	C4-9	I	b	2220z	41	15843	668	4,216373162									
16	NCP	C4-9	I	b	2248	41	12635	1208	9,560743965	12596,00	1196,33	0,09497724	0,19	45,708	4,71			
16	NCP	C4-9	I	b	2249	41	12384	1168	9,431524548									
16	NCP	C4-9	I	b	2250	41	12769	1213	9,499569269									
16	TP	C4-9	II	a	2223	41	16867	674	3,995968459	17659,67	725,00	0,04105400	0,08	44,145	3,15			
16	TP	C4-9	II	a	2224	41	16993	700	4,119343259									
16	TP	C4-9	II	a	2229	41	19119	801	4,189549663									
16	NCP	C4-9	II	a	2246	41	13226	1273	9,624981098	12111,50	1170,00	0,09660240	0,19	45,708	4,71			
16	NCP	C4-9	II	a	2247	41	10997	1067	9,702646176									
16	TP	C4-9	III	0	2225z	41	23864	938	3,930606772	25188,50	992,00	0,03938305	0,08	44,145	3,15			
16	TP	C4-9	III	0	2226	41	26513	1046	3,945234413									
16	NCP	C4-9	III	0	2257	41	12244	1047	8,551127083	11561,00	991,00	0,08571923	0,17	41,213	0,21			
16	NCP	C4-9	III	0	2258	41	10878	935	8,595330024									
16	TP	C4-9	IV	0	2227	41	20651	855	4,14023534	22710,67	950,00	0,04183056	0,08	44,145	3,15			
16	TP	C4-9	IV	0	2228	41	22909	972	4,24287398									
16	TP	C4-9	IV	0	2230	41	24572	1023	4,163275273									
16	NCP	C4-9	IV	0	2259	41	9131	901	9,867484394	10180,50	1003,00	0,09852168	0,20	47,955	6,96			
16	NCP	C4-9	IV	0	2260z	41	11230	1105	9,839715049									
17	TP	C4-14	I	b	2232z	23	15406	523	3,394781254	17224,00	587,50	0,03410938	0,07	38,085	15,08			
17	TP	C4-14	I	b	2239	23	19042	652	3,424010083									
17	NCP	C4-14	I	b	2267	23	12204	858	7,030481809	13263,50	935,50	0,07053191	0,14	34,472	11,47			
17	NCP	C4-14	I	b	2268	23	14323	1013	7,072540669									
17	TP	C4-14	II	0	2234	23	34849	1149	3,297081695	28189,33	926,00	0,03284930	0,07	38,085	15,08			
17	TP	C4-14	II	0	2238	23	25145	806	3,20540863									
17	TP	C4-14	II	0	2269	23	24574	823	3,349068121									
17	NCP	C4-14	II	0	2252	23	13064	926	7,088181261	10391,00	726,33	0,06990023	0,14	34,472	11,47			
17	NCP	C4-14	II	0	2255z	23	9326	642	6,88398027									
17	NCP	C4-14	II	0	2256	23	8783	611	6,956620745									
17	TP	C4-14	III	0	2240	23	42992	1295	3,012188314	41421,50	1244,50	0,03004478	0,06	32,024	9,02			
17	TP	C4-14	III	0	2241z	23	39851	1194	2,996160699									
17	NCP	C4-14	III	0	2517	23	7256	584	8,048511577	7822,67	640,67	0,08189876	0,16	38,966	15,97			
17	NCP	C4-14	III	0	2518	23	8766	708	8,076659822									
17	NCP	C4-14	III	0	2519	23	7446	630	8,460918614									
17	TP	C4-14	IV	0	2242	23	35386	1160	3,278132595	33041,50	1083,00	0,03277696	0,07	38,085	15,08			
17	TP	C4-14	IV	0	2243	23	30697	1006	3,277193211									

# Anhang

17	NCP	C4-14	IV	0	2261	23	13683	1130	8,25842286	13740,50	1135,00	0,08260253	0,17	41,213	18,21
17	NCP	C4-14	IV	0	2262z	23	13798	1140	8,262066966						
18	TP	C4-16	I	b	2274	44	18262	789	4,320446829	19729,33	864,33	0,04380956	0,09	50,206	6,21
18	TP	C4-16	I	b	2275	44	19654	897	4,563956447						
18	TP	C4-16	I	b	2279	44	21272	907	4,263820985						
18	NCP	C4-16	I	b	2287	44	10013	1010	10,08688705	10781,50	1088,50	0,10095998	0,20	47,955	3,96
18	NCP	C4-16	I	b	2288	44	11550	1167	10,1038961						
18	TP	C4-16	II	b	2277z	44	28101	1302	4,633287072	25643,00	1184,00	0,04617244	0,09	50,206	6,21
18	TP	C4-16	II	b	2278	44	23185	1066	4,597800302						
18	NCP	C4-16	II	b	2289z	44	10298	1029	9,992231501	9653,00	966,00	0,10007252	0,20	47,955	3,96
18	NCP	C4-16	II	b	2290	44	9008	903	10,02442274						
18	TP	C4-16	III	0	2282	44	21091	946	4,485325494	20106,00	898,00	0,04466328	0,09	50,206	6,21
18	TP	C4-16	III	0	2283z	44	19121	850	4,445374196						
18	NCP	C4-16	III	0	2291	44	8860	1026	11,58013544	9269,00	1070,00	0,11543856	0,23	54,697	10,70
18	NCP	C4-16	III	0	2292	44	9678	1114	11,51064269						
18	TP	C4-16	IV	0	2284	44	22021	1017	4,618318877	20664,00	959,50	0,04643341	0,09	50,206	6,21
18	TP	C4-16	IV	0	2285	44	19307	902	4,671880665						
18	NCP	C4-16	IV	0	2293	44	6101	729	11,94886084	6188,33	728,33	0,11769459	0,24	56,944	12,94
18	NCP	C4-16	IV	0	2294	44	5461	628	11,49972533						
18	NCP	C4-16	IV	0	2295	44	7003	828	11,82350421						
19	TP	C4-13	I	a	2301	75	22402	1432	6,392286403	18228,50	1172,00	0,06429492	0,13	74,448	-0,55
19	TP	C4-13	I	a	2302	75	14055	912	6,488794023						
19	NCP	C4-13	I	a	2319	75	5377	933	17,35168309	4212,00	725,33	0,17220639	0,35	81,663	6,66
19	NCP	C4-13	I	a	2320	75	4333	743	17,14747288						
19	NCP	C4-13	I	a	2328	75	2926	500	17,08817498						
19	TP	C4-13	II	b	2303	75	15669	885	5,648094965	15802,50	898,00	0,05682645	0,11	62,327	-12,67
19	TP	C4-13	II	b	2304z	75	15936	911	5,716616466						
19	NCP	C4-13	II	b	2321	75	4758	719	15,11139134	5216,00	789,00	0,15126534	0,30	70,427	-4,57
19	NCP	C4-13	II	b	2322	75	5674	859	15,13923158						
19	TP	C4-13	IV	0	2305	75	18926	1134	5,991757371	16870,50	1008,50	0,05977890	0,12	68,388	-6,61
19	TP	C4-13	IV	0	2306	75	14815	883	5,960175498						
19	NCP	C4-13	IV	0	2323z	75	6737	1005	14,91761912	6417,50	958,00	0,14927931	0,30	70,427	-4,57
19	NCP	C4-13	IV	0	2324	75	6098	911	14,93932437						
20	TP	C4-15	I	b	2308	73	14984	833	5,559263214	16617,33	947,33	0,05700875	0,11	62,327	-10,67
20	TP	C4-15	I	b	2309	73	14955	853	5,703778001						
20	TP	C4-15	I	b	2314	73	19913	1156	5,80525285						
20	NCP	C4-15	I	b	2326	73	6423	920	14,32352483	6933,50	993,00	0,14321771	0,29	68,180	-4,82
20	NCP	C4-15	I	b	2327z	73	7444	1066	14,32025793						
20	TP	C4-15	II	a	2310	73	14770	875	5,924170616	13983,67	818,33	0,05852066	0,12	68,388	-4,61
20	TP	C4-15	II	a	2311z	73	14988	850	5,67120363						
20	TP	C4-15	II	a	2331	73	12193	730	5,987041745						
20	NCP	C4-15	II	a	2332	73	7506	1309	17,43938183	6337,50	1104,00	0,17420118	0,35	81,663	8,66
20	NCP	C4-15	II	a	2333	73	5169	899	17,39214548						
20	TP	C4-15	III	0	2315	73	16110	960	5,959031657	17718,00	1048,00	0,05914889	0,12	68,388	-4,61
20	TP	C4-15	III	0	2316	73	19326	1136	5,87809169						
20	NCP	C4-15	III	0	2334	73	3735	607	16,25167336	5169,00	818,00	0,15825111	0,32	74,921	1,92
20	NCP	C4-15	III	0	2335	73	5820	922	15,8419244						
20	NCP	C4-15	III	0	2338	73	5952	925	15,54099462						
20	TP	C4-15	IV	0	2317	73	15846	944	5,957339392	18222,50	1084,00	0,05948690	0,12	68,388	-4,61
20	TP	C4-15	IV	0	2318	73	20599	1224	5,942036021						
20	NCP	C4-15	IV	0	2336	73	4676	772	16,50983747	4186,50	692,00	0,16529320	0,33	77,169	4,17
20	NCP	C4-15	IV	0	2337	73	3697	612	16,55396267						
21	TP	C4-17	I	a	2349	52	31849	1495	4,69402493	28061,00	1316,00	0,04689783	0,09	50,206	-1,79
21	TP	C4-17	I	a	2350	52	24273	1137	4,684217031						
21	NCP	C4-17	I	a	2366	52	12348	1393	11,28117914	11915,00	1350,00	0,11330256	0,23	54,697	2,70
21	NCP	C4-17	I	a	2367	52	11482	1307	11,38303431						
21	TP	C4-17	II	a	2347	52	22745	1054	4,633985491	23390,00	1084,50	0,04636597	0,09	50,206	-1,79
21	TP	C4-17	II	a	2348	52	24035	1115	4,639068026						
21	NCP	C4-17	II	a	2368	52	6566	736	11,20925982	7675,33	876,33	0,11417528	0,23	54,697	2,70
21	NCP	C4-17	II	a	2369	52	8665	1002	11,56376226						
21	NCP	C4-17	II	a	2370	52	7795	891	11,43040411						
21	TP	C4-17	III	0	2351	52	31018	1512	4,874588948	24942,00	958,00	0,03840911	0,08	44,145	-7,85
21	TP	C4-17	III	0	2352	52	18866	935	4,956005513						
21	NCP	C4-17	III	0	2371	52	5014	596	11,88671719	5213,00	631,33	0,12110749	0,24	56,944	4,94
21	NCP	C4-17	III	0	2372	52	4545	550	12,10121012						
21	NCP	C4-17	III	0	2390	52	6080	748	12,30263158						
21	TP	C4-17	IV	0	2353	52	17805	858	4,818871104	16911,67	837,67	0,04953188	0,10	56,267	4,27
21	TP	C4-17	IV	0	2354	52	15925	799	5,017268446						
21	TP	C4-17	IV	0	2388	52	17005	856	5,033813584						
21	NCP	C4-17	IV	0	2373z	52	4100	510	12,43902439	5758,67	708,67	0,12306089	0,25	59,191	7,19
21	NCP	C4-17	IV	0	2374	52	8489	1035	12,19224879						
21	NCP	C4-17	IV	0	2389	52	4687	581	12,39598891						
22	TP	C4-18	I	a	2355	33	18489	651	3,521012494	20844,33	741,33	0,03556522	0,07	38,085	5,08
22	TP	C4-18	I	a	2356	33	21848	775	3,547235445						
22	TP	C4-18	I	a	2391	33	22196	798	3,595242386						
22	NCP	C4-18	I	a	2377	33	7465	574	7,689216343	8391,50	645,50	0,07692308	0,15	36,719	3,72

# Anhang

22	NCP	C4-18	I	a	2378	33	9318	717	7,694784288									
22	TP	C4-18	II	a	2357	33	18006	665	3,693213373	20088,00	741,50	0,03691258	0,07	38,085				5,08
22	TP	C4-18	II	a	2358z	33	22170	818	3,689670726									
22	NCP	C4-18	II	a	2379	33	8272	603	7,289651838	8787,50	640,50	0,07288762	0,15		36,719			3,72
22	NCP	C4-18	II	a	2380	33	9303	678	7,287971622									
22	TP	C4-18	III	0	2359	33	23141	783	3,383604857	26298,00	891,00	0,03388090	0,07	38,085				5,08
22	TP	C4-18	III	0	2360	33	29455	999	3,391614327									
22	NCP	C4-18	III	0	2383	33	11178	837	7,487922705	11047,00	827,50	0,07490721	0,15		36,719			3,72
22	NCP	C4-18	III	0	2384z	33	10916	818	7,493587395									
22	TP	C4-18	IV	0	2363	33	28767	937	3,257204436	26010,50	846,50	0,03254455	0,07	38,085				5,08
22	TP	C4-18	IV	0	2364	33	23254	756	3,251053582									
22	NCP	C4-18	IV	0	2386	33	9805	705	7,190209077	9913,00	712,50	0,07187532	0,14		34,472			1,47
22	NCP	C4-18	IV	0	2387	33	10021	720	7,184911685									
23	TP	C4-21	I	b	2405	30	25496	758	2,973015375	28748,00	855,00	0,02974120	0,06	32,024				2,02
23	TP	C4-21	I	b	2406	30	32000	952	2,975									
23	NCP	C4-21	I	b	2412	30	13677	845	6,178255465	14620,00	902,50	0,06173051	0,12		29,978			-0,02
23	NCP	C4-21	I	b	2413	30	15563	960	6,168476515									
23	TP	C4-21	II	a	2401	30	38581	1190	3,084419792	34381,00	1061,50	0,03087461	0,06	32,024				2,02
23	TP	C4-21	II	a	2402	30	30181	933	3,091348862									
23	NCP	C4-21	II	a	2415	30	10990	673	6,123748863	12738,67	787,33	0,06180657	0,12		29,978			-0,02
23	NCP	C4-21	II	a	2416	30	12246	756	6,17344439									
23	NCP	C4-21	II	a	2417	30	14980	933	6,228304406									
23	TP	C4-21	III	0	2403	30	36519	1151	3,151784003	34654,50	1090,50	0,03146777	0,06	32,024				2,02
23	TP	C4-21	III	0	2404	30	32790	1030	3,141201586									
23	NCP	C4-21	III	0	2410	30	17089	1243	7,273684826	17243,33	1246,33	0,07227914	0,14		34,472			4,47
23	NCP	C4-21	III	0	2411	30	17870	1274	7,129266928									
23	NCP	C4-21	III	0	2420	30	16771	1222	7,286387216									
23	TP	C4-21	IV	0	2407	30	32293	1021	3,161675905	30168,50	955,00	0,03165553	0,06	32,024				2,02
23	TP	C4-21	IV	0	2408	30	28044	889	3,170018542									
23	NCP	C4-21	IV	0	2421	30	12885	963	7,473806752	13211,00	971,67	0,07354982	0,15		36,719			6,72
23	NCP	C4-21	IV	0	2422	30	12601	906	7,189905563									
23	NCP	C4-21	IV	0	2423	30	14147	1046	7,393793737									
24	TP	C4-19	I	0	2600z	56	11262	559	4,963594388	12781,33	661,33	0,05174212	0,10	56,267				0,27
24	TP	C4-19	I	0	2601	56	11674	605	5,182456741									
24	TP	C4-19	I	0	2602	56	15408	820	5,321910696									
24	NCP	C4-19	I	0	2425	56	9395	1112	11,83608302	8291,00	977,67	0,11791903	0,24		56,944			0,94
24	NCP	C4-19	I	0	2426	56	8280	975	11,77536232									
24	NCP	C4-19	I	0	2466	56	7198	846	11,7532648									
24	TP	C4-19	II	0	2603	56	21344	1137	5,327023988	17927,00	949,00	0,05293691	0,11	62,327				6,33
24	TP	C4-19	II	0	2604	56	13321	691	5,187298251									
24	TP	C4-19	II	0	2605	56	19116	1019	5,330613099									
24	NCP	C4-19	II	0	2427	56	9917	1234	12,44327922	9694,33	1193,00	0,12306158	0,25		59,191			3,19
24	NCP	C4-19	II	0	2428	56	9583	1157	12,07346342									
24	NCP	C4-19	II	0	2467	56	9583	1188	12,39695294									
24	TP	C4-19	III	0	2606	56	11252	550	4,888019908	13762,00	681,67	0,04953253	0,10	56,267				0,27
24	TP	C4-19	III	0	2607	56	19098	947	4,958634412									
24	TP	C4-19	III	0	2610	56	10936	548	5,010972933									
24	NCP	C4-19	III	0	2431z	56	7087	869	12,26188796	8151,67	994,33	0,12197915	0,25		59,191			3,19
24	NCP	C4-19	III	0	2432	56	8329	1018	12,22235562									
24	NCP	C4-19	III	0	2433	56	9039	1096	12,12523509									
24	TP	C4-19	IV	0	2611	56	13956	683	4,893952422	14370,00	700,67	0,04875899	0,10	56,267				0,27
24	TP	C4-19	IV	0	2612	56	13513	665	4,921187005									
24	TP	C4-19	IV	0	2613	56	15641	754	4,82066364									
24	NCP	C4-19	IV	0	2434	56	9693	1207	12,45228515	8750,00	1064,00	0,12160000	0,24		56,944			0,94
24	NCP	C4-19	IV	0	2435	56	8682	1067	12,28979498									
24	NCP	C4-19	IV	0	2436	56	7875	918	11,65714286									

### **6.1.3 Ergebnisse des Kollektivs „Gesunde Zähne in Quadranten“**

# Anhang

Lfd. Nr.	Probenname	Batch	Alter	Area L-Asx	Area D-Asx	%D/L-Asx	MW L	MW D	D/L	TP & NCP: In ((1+D/L)/(1-D/L))	TP (Wert-0,00716/0,00165)	NCP (Wert+0,0134/0,00445)	Abweichung Reales-Gemessenes Alter
1	TP-1-C0-I	4453n	17	28851	553	1,9167	28771	549,50	0,01909909	0,04	18,81		1,81
1	TP-1-C0-I	4492n	17	28691	546	1,9030							
1	NCP-1-C0-I	4504n	17	20637	585	2,8347	24525	705,00	0,02874618	0,06		15,93	-1,07
1	NCP-1-C0-I	4505n	17	28413	825	2,9036							
1	TP-1-C0-II	4454n	17	23886	500	2,0933	26180,5	526,00	0,02009129	0,04	20,02		3,02
1	TP-1-C0-II	4496n	17	28475	552	1,9385							
1	NCP-1-C0-II	45056n	17	18781	539	2,8699	23722,5	683,00	0,02879123	0,06		15,95	-1,05
1	NCP-1-C0-II	4507n	17	28664	827	2,8852							
1	TP-1-C0-III	4456n	17	26777	514	1,9196	32633	592,33	0,01815136	0,04	17,66		0,66
1	TP-1-C0-III	4457n	17	39679	702	1,7692							
1	TP-1-C0-III	4494n	17	31443	561	1,7842							
1	NCP-1-C0-III	4511n	17	24539	710	2,8934	34920	970,33	0,02778732	0,06		15,50	-1,50
1	NCP-1-C0-III	4512b	17	39280	1083	2,7571							
1	NCP-1-C0-III	4513n	17	40941	1118	2,7308							
1	TP-1-C0-IV	4458n	17	41358	711	1,7191	43565	753,50	0,01729599	0,03	16,63		-0,37
1	TP-1-C0-IV	4459n	17	45772	796	1,7391							
1	NCP-1-C0-IV	4514n	17	18484	525	2,8403	23738	651,33	0,02743843	0,05		15,35	-1,65
1	NCP-1-C0-IV	4515n	17	18569	503	2,7088							
1	NCP-1-C0-IV	4516n	17	34161	926	2,7107							
2	TP-2-C0-I	4460n	23	31781	756	2,3788	31526,67	744,67	0,02362022	0,05	24,30		1,30
2	TP-2-C0-I	4461n	23	23635	560	2,3694							
2	TP-2-C0-I	4491n	23	39164	918	2,3440							
2	NCP-2-C0-I	4518b	23	12191	561	4,6018	14118	652,00	0,04618218	0,09		23,78	0,78
2	NCP-2-C0-I	4519n	23	16045	743	4,6307							
2	TP-2-C0-II	4462n	23	33160	808	2,4367	30824,5	756,00	0,02452595	0,05	25,39		2,39
2	TP-2-C0-II	4463n	23	28489	704	2,4711							
2	NCP-2-C0-II	4520n	23	18820	871	4,6281	21178,33	967,00	0,04565987	0,09		23,55	0,55
2	NCP-2-C0-II	4521n	23	17885	815	4,5569							
2	NCP-2-C0-II	4523n	23	26830	1215	4,5285							
2	TP-2-C0-III	4468n	23	31056	723	2,3281	30900	717,00	0,02320388	0,05	23,79		0,79
2	TP-2-C0-III	4469n	23	30744	711	2,3126							
2	NCP-2-C0-III	4525n	23	13883	611	4,4011	16640,5	728,50	0,04377873	0,09		22,70	-0,30
2	NCP-2-C0-III	4526n	23	19398	846	4,3613							
2	TP-2-C0-IV	4470n	23	24910	564	2,2642	27365	612,50	0,02238261	0,04	22,80		-0,20
2	TP-2-C0-IV	4471n	23	29820	661	2,2166							
2	NCP-2-C0-IV	4527n	23	12255	507	4,1371	18399	701,50	0,03812707	0,08		20,16	-2,84
2	NCP-2-C0-IV	4528n	23	24543	896	3,6507							
3	TP-3-C0-I	4472b	35	29564	984	3,3284	23646,83	770,00	0,03256250	0,07	35,14		0,14
3	TP-3-C0-I	4474b	35	21289	675	3,1707							
3	TP-3-C0-I	4475b	35	27947	931	3,3313							
3	TP-3-C0-I	4488n	35	21897	678	3,0963							
3	TP-3-C0-I	4489b	35	17179	560	3,2598							
3	TP-3-C0-I	4490n	35	24005	792	3,2993							
3	NCP-3-C0-I	4531n	35	18163	1240	6,8271	14665,75	1004,00	0,06845882	0,14		33,83	-1,17
3	NCP-3-C0-I	4532n	35	14984	1014	6,7672							
3	NCP-3-C0-I	4535n	35	10692	726	6,7901							
3	NCP-3-C0-I	4536n	35	14824	1036	6,9887							
3	TP-3-C0-II	4476n	35	29202	971	3,3251	27104	896,00	0,03305785	0,07	35,75		0,75
3	TP-3-C0-II	4477n	35	25006	821	3,2832							
3	NCP-3-C0-II	4561n	35	15519	1079	6,9528	14506,60	1009,60	0,06959591	0,14		34,34	-0,66
3	NCP-3-C0-II	4562n	35	15690	1081	6,8897							
3	NCP-3-C0-II	4563n	35	19790	1380	6,9732							
3	NCP-3-C0-II	4565b	35	9265	645	6,9617							
3	NCP-3-C0-II	4566n	35	12269	863	7,0340							
3	TP-3-C0-III	4478b	35	30960	997	3,2203	33827,5	1086,50	0,03211884	0,06	34,61		-0,39
3	TP-3-C0-III	4479n	35	36695	1176	3,2048							
3	NCP-3-C0-III	4567n	35	10776	741	6,8764	11902,5	816,00	0,06855703	0,14		33,87	-1,13
3	NCP-3-C0-III	4568n	35	13029	891	6,8386							
3	TP-3-C0-IV	4482n	35	20142	639	3,1725	19529,33	630,67	0,03229330	0,06	34,82		-0,18
3	TP-3-C0-IV	4483n	35	14853	485	3,2653							
3	TP-3-C0-IV	4485b	35	23593	768	3,2552							
3	NCP-3-C0-IV	4569n	35	9713	665	6,8465	6405	436,00	0,06807182	0,14		33,65	-1,35
3	NCP-3-C0-IV	4570n	35	3097	207	6,6839							

## 6.1.4 Trypsin-verdautes Collagen alpha 1(I) Fragment 1-953

Nr.	Von	Bis	Anz-AA	Sequenz im 1-Buchstaben-Code
1	1	8	8	MFSFVDLR
2	9	46	38	LLLLLAATALLTHGQEEGQVEGQDEDIPPITCVQNGLR
3	47	50	4	YHDR
4	51	59	9	DVWKPEPCR
5	60	67	8	ICVCDNGK
6	68	79	12	VLCDDVICDETK
7	80	114	35	NCPGAEVPEGECCPVC PDGSESPTDQETTGVGPK
8	115	120	6	GDTGPR
9	121	123	3	GPR
10	124	131	8	GPAGPPGR
11	132	170	39	DGIPGQPGLPGPPGPPGPPGPPGLGGNFAPQLSYGY DEK
12	171	187	17	STGGISVPGPMGPPGPR
13	188	220	33	GLPGPPGAPGPQGFQPPGEPGEPGASGPMGPR
14	221	228	8	GPPGPPGK
15	229	244	16	NGDDGEAGKPGRPGER
16	245	253	9	GPPGPQGAR
17	254	265	12	GLPGTAGLPGMK
18	266	268	3	GHR
19	269	277	9	GFSGLDGAK
20	278	286	9	GDAGPAGPK
21	287	304	18	GEPGSPGENGAPGQMGR
22	305	310	6	GLPGER
23	311	322	12	GRPGAPGPAGAR
24	323	352	30	GNDGATGAAGPPGPTGPAGPPGFPGAVGAK
25	353	361	9	GEAGPQGPR
26	362	370	9	GSEGPQGV
27	371	397	27	GEPGPPGPAGAAGPAGNPGADGQPGAK
28	398	415	18	GANGAPGIAGAPGFPGAR
29	416	430	15	GPSGPQGGPPGPK
30	431	442	12	GNSGEPGAPGSK
31	443	448	6	GDTGAK
32	449	468	20	GEPGPVGVQGGPPGAGEEGK
33	469	469	1	R
34	470	472	3	GAR

## Anhang

---

35	473	487	15	GEPGPTGLPGPPGER
36	488	493	6	GGPGSR
37	494	505	12	GFPGADGVAGPK
38	506	511	6	GPAGER
39	512	520	9	GSPGPAGPK
40	521	538	18	GSPGEAGRPGEAGLPGAK
41	539	552	14	GLTGSPGSPGPDGK
42	553	574	22	TGPPGPAGQDGRPGPPGPPGAR
43	575	586	12	GQAGVMGFPGPK
44	587	594	8	GAAGEPGK
45	595	598	4	AGER
46	599	612	14	GVPGPPGAVGPAGK
47	613	631	19	DGEAGAQQPPGPAGPAGER
48	632	676	45	GEQGPAGSPGFQGLPGPAGPPGEAGKPGEQGVPDGL GAPGPSGAR
49	677	679	3	GER
50	680	685	6	GFPGER
51	686	697	12	GVQGPPGPAGPR
52	698	709	12	GANGAPGNDGAK
53	710	733	24	GDAGAPGAPGSQGAPGLQGMPPER
54	734	742	9	GAAGLPGPK
55	743	745	3	GDR
56	746	751	6	GDAGPK
57	752	759	8	GADGSPGK
58	760	763	4	DGVR
59	764	781	18	GLTGPIGPPGPAGAPGDK
60	782	796	15	GESGPSGPAGPTGAR
61	797	802	6	GAPGDR
62	803	826	24	GEPGPPGPAGFAGPPGADGQPGAK
63	827	835	9	GEPGDAGAK
64	836	862	27	GDAGPPGPAGPAGPPGPIGNVGAPGAK
65	863	865	3	GAR
66	866	882	17	GSAGPPGATGFPGAAGR
67	883	903	21	VGPPGPSGNAGPPGPPGPAGK
68	904	907	4	EGGK
69	908	910	3	GPR
70	911	934	24	GETGPAGRPGEVGPAGPPGPAGEK
71	935	953	19	GSPGADGPAGAPGTPGPQG

## 6.1.5 Trypsin-verdautes Collagen 1(I) Fragment 954-1464

Nr.	Von *	Bis *	Anz-AA	Sequenz im 1-Buchstaben-Code
1	1	5	5	IAGQR
2	6	14	9	GVVGLPGQR
3	15	17	3	GER
4	18	31	14	GFPGLPGPSGEPGK
5	32	41	10	QGPSGASGER
6	42	61	20	GPPGPMGPPGLAGPPGESGR
7	62	73	12	EGAPGAEGSPGR
8	74	80	7	DGSPGAK
9	81	83	3	GDR
10	84	109	26	GETGPAGPPGAPGAPGAPGPVGPAGK
11	110	113	4	SGDR
12	114	131	18	GETGPAGPTGPVGPVGAR
13	132	140	9	GPAGPQGPR
14	141	143	3	GDK
15	144	152	9	GETGEQGDR
16	153	155	3	GIK
17	156	158	3	GHR
18	159	188	30	GFSGLQGPPGPPGSPGEGQPSGASGPAGPR
19	189	199	11	GPPGSAGAPGK
20	200	215	16	DGLNGLPGPIGPPGPR
21	216	217	2	GR
22	218	255	38	TGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAGFDFSFLPQPPQE K
23	256	261	6	AHDGGR
24	262	264	3	YYR
25	265	272	8	ADDANVVR
26	273	274	2	DR
27	275	283	9	DLEVDTTLK
28	284	293	10	SLSQQIENIR
29	294	299	6	SPEGSR
30	300	300	1	K
31	301	304	4	NPAR
32	305	307	3	TCR
33	308	310	3	DLK
34	311	317	7	MCHSDWK
35	318	335	18	SGEYWIDPNQGCNLDAIK
36	336	357	22	VFCNMETGETCVYPTQPSVAQK

## Anhang

---

37	358	363	6	NWYISK
38	364	366	3	NPK
39	367	368	2	DK
40	369	369	1	R
41	370	403	34	HVWFGESMTDGFQFEYGGQGSDPADVAIQLTFLR
42	404	418	15	LMSTEASQNITYHCK
43	419	432	14	NSVAYMDQQTGNLK
44	433	433	1	K
45	434	446	13	ALLQGSNEIEIR
46	447	452	6	AEGNSR
47	453	471	19	FTYSVTVDGCTSHTGAWGK
48	472	477	6	TVIEYK
49	478	480	3	TTK
50	481	483	3	TSR
51	484	511	28	LPIIDVAPLDVGAPDQEFQFDVGPVCFL

\*Das Fragment beginnt bei 954 und endet bei 1464. Die Bezeichnung „1“ bis „511“ ist ein Darstellungsproblem bei Excel.

## 6.1.6 Pepsin (pH 1,3)-verdautes Collagen 1(I) Fragment 1-953

Nr.	Von	Bis	Anz-AA	Sequenz im 1-Buchstaben-Code
1	1	1	1	M
2	2	2	1	F
3	3	3	1	S
4	4	4	1	F
5	5	6	2	VD
6	7	7	1	L
7	8	9	2	RL
8	10	11	2	LL
9	12	12	1	L
10	13	13	1	L
11	14	17	4	AATA
12	18	18	1	L
13	19	19	1	L
14	20	44	25	THGQEEGQVEGQDEDIPPITCVQNG
15	45	45	1	L
16	46	68	23	RYHDRDVWKPEPCRICVCDNGKV
17	69	140	72	LCDDVICDETKNCPGAEVPEGECCPVC PDGSESPTDQ ET TGVEGPKGDTGPRGPRGPAGPPGRD GIPGQPGL
18	141	155	15	PGPPGPPGPPGPPGL
19	156	158	3	GGN
20	159	163	5	FAPQL
21	164	200	37	SYGYDEKSTGGISVPGPMGPGS GPRGLPGPPGAPGPQ G
22	201	201	1	F
23	202	261	60	QGPPGEPGEPGASGPMGPRGPPGPPGKNGDDGEAG KPG RPGERGPPGPQGARGLPGTAGL
24	262	272	11	PGMKGHRGFSG
25	273	273	1	L
26	274	345	72	DGAKGDAGPAGPKGEPGSPGENGAPGQM GPRGLPG ERG RPGAPGPAGARGNDGATGAAGPPGPTGPAGPPGF
27	346	411	66	PGAVGAKGEAGPQGPRGSEGPQGV RGEPPGPAG AAGP AGNPGADGQPGAKGANGAPGIAGAPGF
28	412	480	69	PGARGPSGPQGPGGPPGPKGNSGEPGAPGSKGDTG AKGEP GPVGVQGP PGPAGEEGKRGARGEPGPTGL

## Anhang

---

29	481	534	54	PGPPGERGGPGSRGFFPGADGVAGPKGPAGERGSPG PAGPK GSPGEAGRPGEAGL
30	535	539	5	PGAKG
31	540	582	43	LTGSPGSPGPDGKTGPPGPAGQDGRPGPPGPPGARG QAGVMGF
32	583	642	60	PGPKGAAGEPGKAGERGVPGPPGAVGPAGKDGEAGA QGPPG PAGPAGERGEQGPAGSPGF
33	643	645	3	QGL
34	646	666	21	PGPAGPPGEAGKPGEQQGVPGD
35	667	667	1	L
36	668	726	59	GAPGPSGARGERGFPGERGVQGPPGPAGPRGANGA PGNDG AKGDAGAPGAPGSQGAPGL
37	727	738	12	QGMPGERGAAGL
38	739	764	26	PGPKGDRGDAGPKGADGSPGKDGVRG
39	765	812	48	LTGPIGPPGPAGAPGDKGESGPSGPAGPTGARGAPG DRGEP GPPGPAG
40	813	813	1	F
41	814	876	63	AGPPGADGQPGAKGEPGDAGAKGDAGPPGPAGPAG PPGPIGN VGAPGAKGARGGARGPPGATGF
42	877	953	77	PGAAGRVPVPPGPSGNAGPPGPPGPAGKEGGKGPRG ETGPAG RPGEVGPVPPGPPGPAGEKGSPPGADGPAGAPGTPGPQ G

## 6.1.7 Pepsin (pH 1,3)-verdautes Collagen 1(I) Fragment 954-1464

Nr.	Von*	Bis*	Anz-AA	Sequenz im 1-Buchstaben-Code
1	1	10	10	IAGQRGVVGL
2	11	22	12	PGQRGERGFPGL
3	23	52	30	PGPSGEPGKQGPSGASGERGPPGPMGPPGL
4	53	162	110	AGPPGESGREGAPGAEGSPGRDGSPPGAKGDRGETGP AG PPGAPGAPGAPGPVGPAGKSGDRGETGPAGPTGPVG PVG ARGPAGPQGPRGDKGETGEQGDRGIKGHRGFSG
5	163	163	1	L
6	164	202	39	QGPPGPPGSPGEGQGPSGASGPAGPRGPPGSAGAPGK DGL
7	203	205	3	NGL
8	206	242	37	PGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAG
9	243	243	1	F
10	244	244	1	D
11	245	245	1	F
12	246	246	1	S
13	247	248	2	FL
14	249	275	27	PQPPQEKAHDGGRYRADDANVVRDRD
15	276	281	6	LEVDTT
16	282	282	1	L
17	283	284	2	KS
18	285	308	24	LSQQIENIRSPEGSRKNPARTCRD
19	309	330	22	LKMCHSDWKSGEYWIDPNQGCN
20	331	331	1	L
21	332	336	5	DAIKV
22	337	373	37	FCNMETGETCVYPTQPSVAQKNWYISKNPDKRHWVF
23	374	380	7	GESMTDG
24	381	381	1	F
25	382	382	1	QGPPGPPGSPGEGQGPSGASGPAGPRGPPGSAGAPGK DGL
26	383	383	1	F
27	384	398	15	EYGGQGSDDPADVAIQ
28	399	399	1	L
29	400	400	1	T
30	401	401	1	F
31	402	402	1	L
32	403	404	2	RL

## Anhang

---

33	405	430	26	MSTEASQNITYHCKNSVAYMDQQTGN
34	431	431	1	L
35	432	436	5	KKALL
36	437	437	1	L
37	438	453	16	QGSNEIEIRAEGNSRF
38	454	484	31	TYSVTVDGCTSHTGAWGKTVIEYKTTKTSRL
39	485	491	7	PIIDVAP
40	492	500	9	LDVGAPDQE
41	501	501	1	F
42	502	502	1	GESMTDG
43	503	503	1	F
44	504	509	6	DVGPVC
45	510	510	1	F
46	511	511	1	L

\*Das Fragment beginnt bei 954 und endet bei 1464. Die Bezeichnung „1“ bis „511“ ist ein Darstellungsproblem bei Excel.

## 6.1.8 Pepsin (pH &gt; 2)-verdautes Collagen 1(I) Fragment 1-953

Nr.	Von	Bis	Anz-AA	Sequenz im 1-Buchstaben-Code
1	1	1	1	M
2	2	2	1	F
3	3	3	1	S
4	4	4	1	F
5	5	6	2	VD
6	7	7	1	L
7	8	9	2	RL
8	10	11	2	LL
9	12	12	1	L
10	13	13	1	L
11	14	17	4	AATA
12	18	18	1	L
13	19	19	1	L
14	20	44	25	THGQEEGQVEGQDEDIPPITCVQNG
15	45	45	1	L
16	46	47	2	RY
17	48	68	21	HDRDVWKPEPCRICVCDNGKV
18	69	140	72	LCDDVICDETKNCPGAEVPEGECCPVC PDGSESPTD QETTGVVEGPKGDTGPRGPRGPAGPPGRDGIPGQPG L
19	141	155	15	PGPPGPPGPPGPPGL
20	156	158	3	GGN
21	159	163	5	FAPQL
22	164	164	1	S
23	165	165	1	Y
24	166	166	1	G
25	167	167	1	Y
26	168	200	33	DEKSTGGISVPGPMGSPRGLPGPPGAPGPQG
27	201	201	1	F
28	202	261	60	QGPPGEPGEPGASGPMGPRGPPGPPGKNGDDGEA GKPRPGERGPPGPQGARGLPGTAGL
29	262	272	11	PGMKGHRGFSG
30	273	273	1	L
31	274	345	72	DGAKGDAGPAGPKGEPGSPGENGAPGQMGRGLP G ERGRPGAPGPAGARGNDGATGAAGPPGPTGPAGPP GF

32	346	411	66	PGAVGAKGEAGPQQPRGSEGPQQVVRGEPGPPGPAG A AGPAGNPGADGQPGAKGANGAPGIAGAPGF
33	412	480	69	PGARGPSGPQGGPPGPKGNSGEPGAPGSKGDTG A KGEPGPVGVQGGPPPAGEEGKRGARGEPGPTGL
34	481	534	54	PGPPGERGGPGRGFPGADGVAGPKGPAGERGSPG P AGPKGSPGEAGRPGEAGL
35	535	539	5	PGAAG
36	540	582	43	LTGSPGSPGPDGKTGPPGPAGQDGRPGPPGPPGAR G QAGVMGF
37	583	642	60	PGPKGAAGEPGKAGERGVGPPGAVGPAGKDGEAG A QGPPGPAGPAGERGEQGPAGSPGF
38	643	645	3	QGL
39	646	666	21	PGPAGPPGEAGKPGEQGVPGD
40	667	667	1	L
41	668	726	59	GAPGPSGARGERGFPGERGVQGGPPGPAGPRGANGA PGNDGAKGDAGAPGAPGSQGAPGL
42	727	738	12	QGMPGERGAAGL
43	739	764	26	PGPKGDRGDAGPKGADGSPGKDGVRG
44	765	812	48	LTGPIGPPGPAGAPGDKGESGSPGAPPTGARGAPG D RGEPPGPPGPAG
45	813	813	1	F
46	814	876	63	AGPPGADGQPGAKGEPGDAGAKGDAGPPGPAGPAG P PGPIGNVGAPGAKGARGGAGPPGATGF
47	877	953	77	PGAAGRIVGPPGPSNAGPPGPPGPAGKEGGKGRG ETGP AGRPGEVGPVGGPPGAGEKGSPPGADGPAGAPGTPG PQG

## 6.1.9 Pepsin (pH &gt; 2)-verdautes Collagen 1(I) Fragment 954-1464

Nr.	Von*	Bis*	Anz-AA	Sequenz im 1-Buchstaben-Code
1	1	10	10	IAGQRGVVGL
2	11	22	12	PGQRGERGFPGL
3	23	52	30	PGPSGEPGKQGPPSGASGERGPPGPMGPPGL
4	53	162	110	AGPPGESGREGAPGAEGSPGRDGSPPGAKGDRGETGP AGPP GAPGAPGAPGPVGPAGKSGDRGETGPAGPTGPVGPV GARG PAGPQGPRGDKGETGEQGDRIKGRHGFSG
5	163	163	1	L
6	164	202	39	QGPPGPPGSPGEGQPSGASGPAGPRGPPGSAGAPGK DGL
7	203	205	3	NGL
8	206	242	37	PGPIGPPGPRGRTGDAGPVGPPGPPGPPGPPGPPSAG
9	243	243	1	F
10	244	244	1	D
11	245	245	1	F
12	246	246	1	S
13	247	248	2	FL
14	249	262	14	PQPPQEKAHDGGRY
15	263	275	13	YRADDANVVRDRD
16	276	281	6	LEVDTT
17	282	282	1	L
18	283	284	2	KS
19	285	308	24	LSQQIENIRSPEGSRKNPARTCRD
20	309	316	8	LKMCHSDW
21	317	320	4	KSGE
22	321	321	1	YRADDANVVRDRD
23	322	322	1	W
24	323	330	8	IDPNQGCN
25	331	331	1	L
26	332	336	5	DAIKV
27	337	348	12	FCNMETGETCVY
28	349	358	10	PTQPSVAQKN
29	359	360	2	WY
30	361	373	13	ISKNPKDKRHVWF
31	374	380	7	GESMTDG
32	381	381	1	F
33	382	382	1	QGPPGPPGSPGEGQPSGASGPAGPRGPPGSAGAPGK

## Anhang

---

				DGL
34	383	383	1	F
35	384	384	1	E
36	385	385	1	Y
37	386	398	13	GGQGSDPADVAIQ
38	399	399	1	L
39	400	400	1	T
40	401	401	1	F
41	402	402	1	L
42	403	404	2	RL
43	405	414	10	MSTEASQNIT
44	415	415	1	Y
45	416	422	7	HCKNSVA
46	423	423	1	Y
47	424	430	7	MDQQTGN
48	431	431	1	L
49	432	436	5	KKALL
50	437	437	1	L
51	438	453	16	QGSNEIEIRAEGNSRF
52	454	455	2	TY
53	456	468	13	SVTVDGCTSHTGA
54	469	469	1	W
55	470	475	6	GKTVIE
56	476	476	1	Y
57	477	484	8	KTTKTSRL
58	485	491	7	PIIDVAP
59	492	500	9	LDVGAPDQE
60	501	501	1	F
61	502	502	1	G
62	503	503	1	F
63	504	509	6	DVGPVC
64	510	510	1	F
65	511	511	1	L

\*Das Fragment beginnt bei 954 und endet bei 1464. Die Bezeichnung „1“ bis „511“ ist ein Darstellungsproblem bei Excel.

### 7 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich ganz besonders bei meiner Doktormutter Prof. Dr. Stefanie Ritz-Timme neben der Überlassung des Themas, für Ihre intensive Unterstützung, Beratung, Hilfsbereitschaft und nicht zu vergessen ihre uneingeschränkte Geduld sowie die kontinuierliche Motivation bedanken.

Für die liebevolle, freundschaftliche und herzengute Unterstützung bedanke ich mich ganz herzlich bei Dr. Alexandra Reckert und Bärbel Seeling. Ihre fachliche Beratung und Betreuung sowie die fortwährend motivierende Anteilnahme haben das Gelingen dieser Arbeit erst möglich gemacht.

Bei Frau PD Dr. Hildegard Graß möchte ich mich für die Hilfe beim Zusammentragen meines Zahnkollektivs bedanken. Ein herzliches Dankeschön an das Praxisteam Dr. Schwarzmann für die zahlreichen extrahierten Weisheitszähne. Ohne diese hätte ich meine Untersuchungen nicht durchführen können.

Ein weiterer, besonderer Dank gilt der Heinrich-Böll-Stiftung für die materielle sowie ideelle Förderung als auch freundliche sowie hervorragende Beratung und Unterstützung durch ihre Mitarbeiterinnen während meiner gesamten Studien- und Promotionszeit.

Für die vielen motivierenden Worte und das Interesse an der Weiterentwicklung meiner Arbeit danke ich all meinen Freunden sowie meiner gesamten Familie.

Nicht zuletzt möchte ich meinem liebevollen Mann Coşkun Şirin für seine grenzenlose Geduld und sein unversiegbares Verständnis danken mit denen er mich beim Erstellen der Arbeit begleitet, gestärkt und unterstützt hat.

Und meinen Eltern Gülten und Haluk Aksu werde ich niemals genug dafür danken können, dass sie mir das Studium und die Dissertation ermöglicht haben und mir stets die Kraft geben, jedes Ziel erreichen zu können.

---